

## HPLC 法同时测定锥叶柴胡中 6 个主要皂苷类成分的含量

魏晓萌<sup>1,2</sup>, 严华<sup>2</sup>, 陆以云<sup>2</sup>, 麻思宇<sup>2</sup>, 程显隆<sup>2</sup>, 魏锋<sup>2\*</sup>, 杜树山<sup>3\*</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;

3. 北京师范大学中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100875)

**摘要 目的:** 采用 HPLC 法同时测定锥叶柴胡中 6 个皂苷类成分柴胡皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 的含量。**方法:** 采用 InertSustain AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 210 nm, 柱温 25 °C。**结果:** 柴胡皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 质量浓度分别在 8.32~208、3.50~88.2、24.0~600、13.2~331、31.3~783、6.65~166 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内呈良好的线性关系 ( $r \geq 0.999$ ); 平均回收率为 91.1%~107.7% (RSD < 3%, n=6)。12 批样品中上述 6 个成分含量分别为 0.11%~0.34%、0.05%~0.20%、0.35%~1.92%、0.13%~0.87%、0.18%~1.49%、0.04%~0.37%。**结论:** 新建立的含量测定方法准确可靠, 可用于锥叶柴胡的质量控制。

**关键词:** 锥叶柴胡; 柴胡皂苷; 柴胡次皂苷; 含量测定; 质量控制; 高效液相色谱法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 04-0618-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.04.08

## HPLC simultaneous determination of 6 main saponins in *Bupleurum bicaule* Helm

WEI Xiao-meng<sup>1,2</sup>, YAN Hua<sup>2</sup>, LU Yi-yun<sup>2</sup>, MA Si-yu<sup>2</sup>, CHENG Xian-long<sup>2</sup>,  
WEI Feng<sup>2\*</sup>, DU Shu-shan<sup>3\*</sup>

(1. Faculty of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 3. Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Protection and Utilization, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**Abstract Objective:** To establish an HPLC method for simultaneous determination of saikosaponin A, saikosaponin C, saikosaponin D, prosaikogenin F, prosaikogenin G and prosaikogenin I in *Bupleurum bicaule* Helm. **Methods:** HPLC analysis was performed on an InertSustain AQ-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with a gradient elution of acetonitrile and water. The flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 210 nm and the column temperature was 25 °C. **Results:** The linear ranges of saikosaponin A, saikosaponin C, saikosaponin D, prosaikogenin F, prosaikogenin G and prosaikogenin I were 8.32~208 μg · mL<sup>-1</sup>, 3.50~88.2 μg · mL<sup>-1</sup>, 24.0~600 μg · mL<sup>-1</sup>,

\* 通信作者 魏 锋 Tel: (010) 67095432; E-mail: weifeng@nifdc.org.cn

杜树山 Tel: (010) 62208032; E-mail: dushushan@bnu.edu.cn

第一作者 Tel: 18811789725; E-mail: wxm3243@163.com

13.2–331  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 31.3–783  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 6.65–166  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. The average recoveries were 91.1%–107.7% (RSD<3%, n=6). The contents of the six components in 12 samples of *B. bicaule* were 0.11%–0.34%, 0.05%–0.20%, 0.35%–1.92%, 0.13%–0.87%, 0.18%–1.49%, 0.04%–0.37%, respectively. **Conclusion:** The newly established method is accurate and reliable, which can be used for the quality control of *B. bicaule*.

**Keywords:** *Bupleurum bicaule* Helm; saikosaponin; prosaikogenin; content determination; quality control; HPLC

锥叶柴胡是伞形科柴胡属锥叶柴胡 *Bupleurum bicaule* Helm 的干燥根,是收载于内蒙古中药材标准的地方习用药材,主产于内蒙古、东北地区。柴胡在《中华人民共和国药典》<sup>[1]</sup>中收载 2 个种,即柴胡 *B. chinense* DC. (又称北柴胡)和狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd. (又称南柴胡),锥叶柴胡在原植物特征及药材外观性状上与《中华人民共和国药典》南柴胡的特征相近,极易混淆。由于近年来柴胡需求量大,资源紧缺,锥叶柴胡常混充南柴胡在全国多个药材市场流通,亳州药市、安国祁州药市以及哈尔滨三棵树药材市场均见到锥叶柴胡冒充南柴胡大量出售。皂苷类成分为柴胡属药用植物的主要活性成分,现代药理学研究表明柴胡皂苷具有抗炎<sup>[2]</sup>、镇痛镇静<sup>[3]</sup>、保肝<sup>[4]</sup>、抗抑郁<sup>[5]</sup>、抗菌<sup>[6]</sup>、抗癌<sup>[7-9]</sup>等作用,《中华人民共和国药典》通过考察柴胡皂苷 A 和 D 的含量评价其质量。锥叶柴胡具有较悠久的历史,市场流通量较大,开展其化学成分及质量控制方法等方面的研究对扩充柴胡资源,提高质量控制水平均具有重要的意义。锥叶柴胡主要化学成分为皂苷类,已发现其含有柴胡皂苷元 D、E、F、G,柴胡次皂苷 A、D、F、G,柴胡皂苷 A、C、D、b<sub>2</sub>、b<sub>4</sub> 等皂苷类成分,此外有少量甾醇类、酚酸类、醌类、黄酮类化合物被分离鉴定<sup>[10-13]</sup>。但关于其质量控制方法鲜有报道,少数学者仅对锥叶柴胡中柴胡皂苷 A、C、D 的含量进行了测定<sup>[13-14]</sup>,但对其他皂苷类成分未作研究,另外前处理较为烦琐,易导致操作误差。

本文在前期化学成分提取、分离、鉴定的研究基础上,对锥叶柴胡中含量较高的柴胡皂苷 A、C、D,柴胡次皂苷 F、G 以及首次从柴胡属植物中分离得到的 3-[(6-去氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖)氧基]-13, 28-环氧-23-羟基-11-齐墩果烯-16-酮(本文中将其命名为柴胡次皂苷 I)进行了含量测定研究,建立了 6 个成分的测定方法,方法经验证简便可行,为锥叶柴胡的质量控制及推广应用提供了科学依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

沃特世公司 Waters 2695–2998 高效液相色谱仪;梅特勒托利多公司 METTLER XS105Du 型十万分之一电子天平, METTLER AE240 型万分之一电子天平;岛津技迹(上海)商贸有限公司 InertSustain AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; 填料:十八烷基硅烷键合硅胶);密理博中国有限公司 Millipore Milli-Q Academic 超纯水机;昆山市超声仪器有限公司 KQ-300DA 型数控超声波清洗器。

### 1.2 试剂

对照品柴胡皂苷 A(批号 110777–201510, 纯度 93.20%)、柴胡皂苷 D(批号 110778–201510, 纯度 97.30%)来自中国食品药品检定研究院;柴胡皂苷 C(批号 MUST-17031402, 纯度 98.47%)购自成都曼思特生物科技有限公司;柴胡次皂苷 F、柴胡次皂苷 G、3-[(6-去氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖)氧基]-13, 28-环氧-23-羟基-11-齐墩果烯-16-酮(柴胡次皂苷 I)为从锥叶柴胡根中分离所得,纯度分别 91.10%、95.20%、89.22%,结构式见图 1。

乙腈为色谱纯(Fisher 公司),水为超纯水,甲醇为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

锥叶柴胡样品由产地采集及药材市场或饮片加工厂收集,其中 1~6 号样品采集自内蒙古海拉尔, 7~10 号样品收集自亳州药材市场, 11 号样品收集自哈尔滨市盛泰中药饮片加工厂, 12 号样品来自杭州桐君堂医药药材有限公司中药饮片厂,所有样品由中国食品药品检定研究院严华副主任药师鉴定为伞形科柴胡属植物锥叶柴胡(*Bupleurum bicaule* Helm)的干燥根。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液配制

**2.1.1 混合对照品溶液** 分别取柴胡皂苷 A、C、D 和柴胡次皂苷 F、G、I 的对照品适量,精密称定,用 80% 甲醇水溶液配制得质量浓度(经对照品纯度

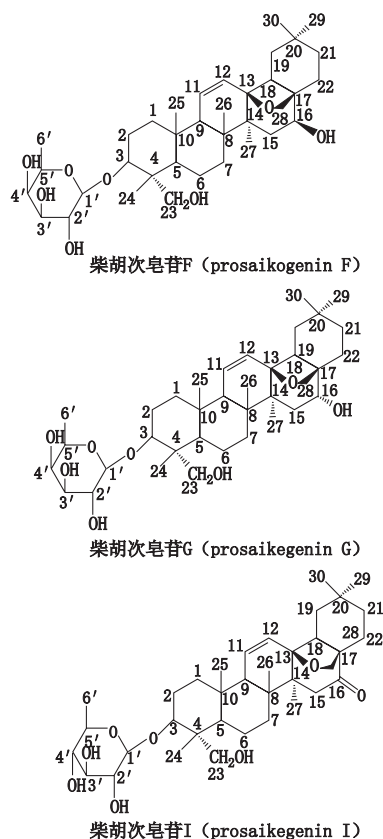


图1 分离的化合物结构

Fig. 1 The structures of isolated compounds

折算)为每1 mL含柴胡皂苷A 0.208 0 mg,柴胡皂苷C 0.088 2 mg,柴胡皂苷D 0.600 0 mg,柴胡次皂苷F 0.331 0 mg,柴胡次皂苷G 0.783 0 mg,柴胡次皂苷I 0.166 3 mg的混合溶液,即得。

**2.1.2 供试品溶液** 取锥叶柴胡样品粉末(过4号筛)约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入80%甲醇水溶液15 mL,密塞,称量,超声(功率200 W,频率40 kHz)提取45 min,放冷至室温,称量后用80%甲醇水溶液补足减失的量,摇匀,用微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

**2.2 色谱条件**

采用InertSustain AQ-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-水作为流动相进行梯度洗脱,梯度程序见表1,流速1.0 mL · min<sup>-1</sup>,柱温25 °C,检测波长210 nm。色谱图见图2。

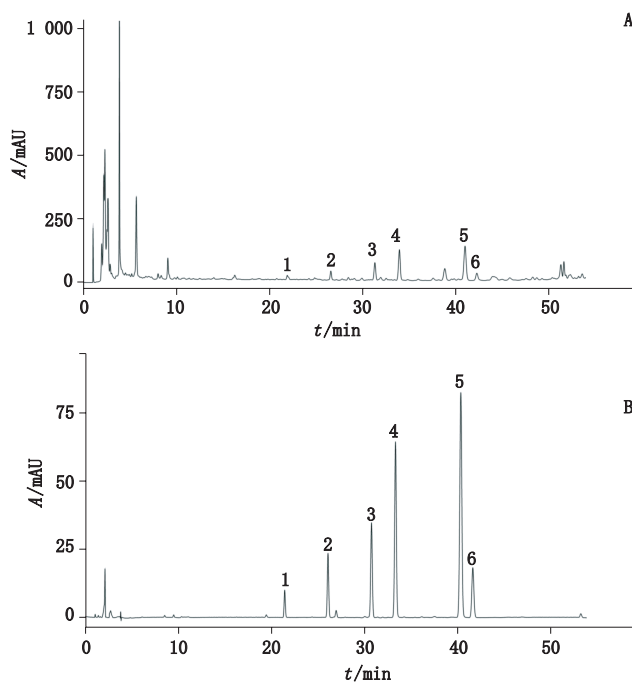
**2.3 方法学考察**

**2.3.1 线性关系考察及检测下限和定量下限的测定** 分别精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mL至5 mL量瓶中,加80%甲醇水溶液定容至刻度;分别精密吸取10 μL注入HPLC

表1 梯度洗脱时间表

Tab. 1 Gradient elution

时间 (time) /min	流动相比比例 (ratio of mobile phase) /%	
	乙腈 (acetonitrile)	水 (water)
0~10	20 → 30	80 → 70
10~20	30 → 40	70 → 60
20~45	40 → 60	60 → 40
45~55	60 → 90	40 → 10



1. 柴胡皂苷C (saikosaponin C) 2. 柴胡皂苷A (saikosaponin A) 3. 柴胡次皂苷F (prosaikogenin F) 4. 柴胡皂苷D (saikosaponin D) 5. 柴胡次皂苷G (prosaikogenin G) 6. 柴胡次皂苷I (prosaikogenin I)

图2 1号样品(A)及混合对照品(B)色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of sample No. 1 (A) and mixed reference substances (B)

仪进行分析,以峰面积Y对进样浓度X进行回归方程计算。另取“2.1.1”项下混合对照品溶液逐级稀释,进样测定,当信噪比10:1时测得定量下限(LOQ),信噪比3:1时测得检测下限(LOD)。结果见表2。

**2.3.2 精密度试验** 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积,柴胡皂苷A、C、D及柴胡次皂苷F、G、I峰面积的RSD分别为0.98%、2.0%、0.70%、0.67%、0.40%、0.59%,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 取锥叶柴胡(1号样品)粉末,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件分别于0、2、4、8、12、24 h进样分析,柴胡

表 2 6 个成分的回归方程、线性范围、相关系数和检出下限、定量下限

Tab. 2 Linear regression data, LODs and LOQs of six compounds

成分 (component)	线性方程 (regression equation)	线性范围 (linear range)/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	$r$	LOD/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
柴胡皂苷 A (saikosaponin A)	$Y=2.966 \times 10^6 X+830.9$	8.32~208	1.000 0	2.75	9.90
柴胡皂苷 C (saikosaponin C)	$Y=2.582 \times 10^6 X+1.057 \times 10^3$	3.50~88.2	0.999 9	3.53	9.80
柴胡皂苷 D (saikosaponin D)	$Y=3.477 \times 10^6 X+5.862 \times 10^3$	24.0~600	0.999 9	2.99	12.0
柴胡次皂苷 F (prosaikogenin F)	$Y=3.248 \times 10^6 X+967.3$	13.2~331	1.000 0	3.46	13.2
柴胡次皂苷 G (prosaikogenin G)	$Y=4.496 \times 10^6 X+1.153 \times 10^3$	31.3~783	1.000 0	4.03	11.5
柴胡次皂苷 I (prosaikogenin I)	$Y=4.097 \times 10^6 X+6.614 \times 10^3$	6.65~166	0.999 9	4.03	10.7

皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 峰面积的 RSD 分别为 1.2%、1.5%、2.7%、1.8%、0.71%、2.3%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.4 重复性试验** 取同一批次的锥叶柴胡(1 号样品)粉末,按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,计算平均含量及 RSD。结果显示柴胡皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 的平均含量分别为 1.122、0.546、3.953、2.046、4.676、0.947  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 2.6%、2.7%、1.6%、2.2%、1.7%、1.1%,表明该方法重复性良好。

**2.3.5 加样回收试验** 精密称取已知含量的同一批

次锥叶柴胡(1 号样品)粉末 6 份,每份 0.25 g,加入约与样品中待测成分含量等量的对照品,按“2.1.2”项下方法制备供试溶液,按“2.2”项下色谱条件进样分析,计算回收率。结果显示柴胡皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 的平均回收率分别 96.8%、107.7%、107.6%、93.4%、98.0%、91.1%, RSD 分别为 2.7%、0.73%、1.2%、2.8%、0.78%、1.7%。

**2.4 样品含量测定**

按“2.1.2”项下方法制备 12 批样品的供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进行测定,外标法计算 6 个成分的含量,结果见表 3。

表 3 12 批锥叶柴胡中 6 个成分含量测定结果

Tab. 3 Contents of six components from 12 batches of *B. bicaule*

样品号 (sample No.)	6 个成分含量 (content of six components) /%						总量 (total) / %
	柴胡皂苷 A (saikosaponin A)	柴胡皂苷 C (saikosaponin C)	柴胡皂苷 D (saikosaponin D)	柴胡次皂苷 F (prosaikogenin F)	柴胡次皂苷 G (prosaikogenin G)	柴胡次皂苷 I (prosaikogenin I)	
1	0.11	0.05	0.40	0.20	0.47	0.09	1.23
2	0.13	0.06	0.44	0.20	0.46	0.09	1.38
3	0.34	0.20	1.92	0.87	1.49	0.37	5.19
4	0.29	0.18	1.62	0.69	1.41	0.31	4.50
5	0.25	0.18	1.51	0.57	1.08	0.20	3.79
6	0.14	0.13	0.67	0.35	0.64	0.17	2.10
7	0.21	0.13	0.80	0.41	0.96	0.17	2.68
8	0.20	0.13	0.81	0.42	0.95	0.18	2.69
9	0.19	0.14	0.86	0.42	0.89	0.18	2.68
10	0.18	0.14	0.78	0.38	0.84	0.16	2.48
11	0.15	0.11	0.71	0.29	0.51	0.12	1.89
12	0.11	0.07	0.35	0.13	0.18	0.04	0.88

**3 讨论**

**3.1 提取条件的考察**

结合《中华人民共和国药典》和文献方法,在提取柴胡皂苷时常加入一定量的碱性试剂以防止原生

皂苷次生化,本实验中考察了 5% 氨水-甲醇,100% 甲醇和 80% 甲醇水溶液对 6 个成分的提取效果,结果表明,加入氨水与否 6 个成分的含量无明显差别,而以 80% 甲醇水溶液提取效果最好。在提取时间

上,考察了 30、45、60 min 的提取效果,结果表明,提取 45 和 60 min 含量相近,因此选择 45 min 作为提取时间。回收率考察结果证明成分提取完全。

### 3.2 检测波长及流动相的选择

根据柴胡皂苷类化合物的结构特点,最大吸收波长通常在 210 nm 左右,因此选择 210 nm 为检测波长。甲醇的最大吸收波长与检测波长相近,易造成对测定的干扰,故本实验选择乙腈和水作为流动相。

### 3.3 含量测定

含量测定结果显示,不同批次的锥叶柴胡均含有上述 6 个成分,且大部分成分含量较为稳定。由表 3 可以看出,12 批锥叶柴胡中柴胡皂苷 D 含量(0.35%~1.92%)明显高于柴胡皂苷 A(0.11%~0.34%),与文献结果<sup>[14-15]</sup>一致;总体来看柴胡次皂苷 G 的含量(0.18%~1.49%)与柴胡皂苷 D 相当,柴胡次皂苷 F 含量(0.13%~0.87%)略高于柴胡皂苷 A,柴胡皂苷 C 含量较低(0.05%~0.20%),而柴胡次皂苷 I 为首次从柴胡属植物中分离得到,其含量虽然也相对较低(0.04%~0.37%),但对于锥叶柴胡的鉴别和质量控制仍具有一定的指导意义。产地采集和市场收集样品各成分含量差异明显,同产地不同批次相同成分含量也存在一定差异,因此对锥叶柴胡的质量控制进行深入研究,建立合理的含量测定限度尤为重要。此外,为扩大锥叶柴胡应用,仍需收集更多产地和批次的样品,对其化学成分和药理作用等多方面进行分析。

### 3.4 小结

本文建立了同时测定锥叶柴胡中柴胡皂苷 A、C、D 及柴胡次皂苷 F、G、I 6 个皂苷类成分含量的分析方法,操作简便准确,重复性好,所考察的 6 个成分可作为锥叶柴胡的特征性成分用于其质量控制与评价,为其进一步开发利用提供理论基础。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 280  
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 280
- [2] ZHAO H, LI S, ZHANG H, *et al.* Saikosaponin A protects against experimental sepsis *via* inhibition of NOD<sub>2</sub>-mediated NF- $\kappa$ B activation[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(2): 823
- [3] 陈伟军. 柴胡皂苷 a 的抗惊厥及镇静催眠作用的实验研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013  
CHEN WJ. Experiment Studies on Anticonvulsant and Sedative-hypnotic Effect of Saikosaponin a [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013
- [4] 黄伟, 赵燕, 孙蓉. 基于柴胡皂苷类成分的保肝作用与肝毒性研

究进展[J]. *中国药物警戒*, 2011, 8(1): 38

- HUANG W, ZHAO Y, SUN R. Research development on hepatoprotective effect and hepatotoxicity based on *Bupleurum saikosaponin* components [J]. *Chin J Pharmacovigil*, 2011, 8(1): 38
- [5] 戈宏焱. 柴胡皂苷抗抑郁作用及其机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2010  
GE HY. Studies on the Antidepressant Effect and Mechanisms of Saikosaponin a [D]. Changchun: Jilin University, 2010
- [6] 陈志宝, 欧阳红生, 邓旭明, 等. 柴胡皂苷 a 对金黄色葡萄球菌基因转录表达谱的影响[J]. *中国兽医学报*, 2010, 30(7): 966  
CHEN ZB, OUYANG HS, DENG XM, *et al.* Effects of saikosaponin a on gene transcriptional expression spectrum in *Staphylococcus aureus* [J]. *Chin J Vet Sci*, 2010, 30(7): 966
- [7] 袁鹏. 柴胡皂甙 D 诱导 HeLa 细胞自噬及其机制初步研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014  
YUAN P. A Preliminary Study on the Saikosaponin D Induced HeLa Cells Autophagy And Its Mechanisms [D]. Changchun: Jilin University, 2014
- [8] 王艳丽, 宋涛, 胡雅楠, 等. 柴胡皂甙 d 对实验性大鼠肝癌 Ang-2 及 VEGF 表达的影响[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2013, 34(5): 664  
WANG YL, SONG T, HU YN, *et al.* Effects of saikosaponins d on Ang-2 and VEGF expressions in experimental hepatocarcinoma in rats [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2013, 34(5): 664
- [9] YAO M, YANG J, CAO L, *et al.* Saikosaponin d inhibits proliferation of DU145 human prostate cancer cells by inducing apoptosis and arresting the cell cycle at G0/G1 phase [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 365
- [10] 许研, 钟旭, 石亚囡, 等. 锥叶柴胡化学成分的分离与鉴定[J]. *沈阳药科大学学报*, 2014, 31(4): 256  
XU N, ZHONG X, SHI YN, *et al.* Isolation and identification of chemical constituents from *Bupleurum bicaule* Helm [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2014, 31(4): 256
- [11] XU N, SHI YN, ZHONG X, *et al.* A new saikogenin from the roots of *Bupleurum bicaule* [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(4): 305
- [12] 朱占军, 潘瑞乐, 斯建勇, 等. 锥叶柴胡化学成分研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2008, 20(5): 833  
ZHU ZJ, PAN RL, SI JY, *et al.* Study on the chemical constituents of *Bupleurum bicaule* Helm [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2008, 20(5): 833
- [13] 唐智芳. 锥叶柴胡化学成分和质量研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010  
TANG ZF. Study on Chemical Composition and Quality of *Bupleurum bicaule* Helm [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2010
- [14] 林东昊, 茅仁刚, 王智华, 等. 23 种国产柴胡属植物中柴胡皂苷 a、c、d 含量的 RP-HPLC 测定[J]. *药物分析杂志*, 2004, 24(5): 479  
LIN DH, MAO RG, WANG ZH, *et al.* Quantitative analysis of saikosaponin a, c, d from 23 species of *Radix Bupleuri* in China by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2004, 24(5): 479
- [15] 潘瑞乐, 陈迪华, 陈建民, 等. RP-HPLC 法测定中柴 1 号及其他产地柴胡中柴胡皂苷 a、d 的含量[J]. *中南药学*, 2004, 2(4): 198  
PAN RL, CHEN DH, CHEN JM, *et al.* Determination of saikosaponin a and d in *Radix Bupleuri* by RP-HPLC [J]. *Cent South Pharm*, 2004, 2(4): 198

(本文于 2018 年 1 月 17 日收到)