

均匀设计在中药复方研究中的应用分析

徐维佳, 周海虹*, 陈少东
(厦门大学医学院中医系, 福建 厦门 361005)

[摘要] 均匀设计(Uniform design)是一种适用于多因素-多水平试验的试验设计方法,其在减少试验次数、防止试验意外和便于现代统计数据处理方面具有优势,较之以往的试验设计方法更加方便、可操作性强、预测性好,为中药复方的配伍理论研究及制剂工艺优化展开了一条新的探索思路和方法。但是均匀设计的应用在指标评价、复方药物(因素)范围的选择、因素和水平的设定以及因素间的交互作用等方面具有一定局限性,该法在中药复方的研究运用尚有很大空间有待发展。

[关键词] 均匀设计; 中药复方; 应用; 优势; 局限性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2010)13-0236-04

Uniform Design Research on Complex Prescription of Chinese Medicine

XU Wei-jia, ZHOU Hai-hong*, CHEN Shao-dong

(Traditional Chinese Medicine Department, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

[Abstract] Uniform design is an experimental design suitable for test of multi-factor and multiple levels. It helps to reduce the number of trials, to prevent accidents and to accelerate data analysis in modern statistics. Instead of a large number of tests in orthogonal test, the application of Uniform design in complex prescription of Chinese medicine can greatly reduce the number of tests, which makes research on prescription with complex Chinese medicine easier. However, there are limitation on Index evaluation, range of compound drugs choices, setting of factors and level and interaction of factors. There is still much room for development of the method.

[Key words] uniform design; complex prescription of Chinese medicine; application; advantages; limitation

均匀设计是由我国著名数学家王元和方开泰创立的一种将数论与多元统计相结合的试验设计方法。该法主要通过让试验点在其试验范围内“均匀分散”,使每个试验点更具代表性,从而大大减少了试验次数,同时,可通过计算机运用多元逐步回归统计分析各实验因素对实验结果的影响,得出理论的最佳优化实验参数。主要适用于多因素-多水平试验、零星样品的快速分析、试验费用昂贵或实际需要尽量少做试验的场合、筛选因素或收缩试验范围进行逐步寻优的场合、复杂数学试验的寻优计算等^[1]。近年来,随着学科交叉、

渗透的发展,这一试验设计方法已被逐渐应用于中药复方的研究中^[2-3],主要涉及优化中药复方制剂的制备工艺、探索中药复方配伍理论科学内涵、明确复方多途径、多环节综合药理效应的物质基础等方面。

1 均匀设计在中药复方研究中的应用现况

1.1 用于优化中药复方制剂的制备工艺 张洪娟等^[4]用 β -环糊精对参苏颗粒剂中紫苏挥发油进行包结,用均匀设计法探索包结工艺的最佳条件为:油与 β -CD用量比1:9,搅拌速度 $8\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,包合时间5 min,包合温度 $30\ ^\circ\text{C}$,结果包结率为95%,收得率达82%,使挥发油利用率较之传统工艺提高了10%~20%。薛宝娟等^[5]采用均匀设计法,以黏着力和外观(膜残留、均匀性、涂展性、追随性)为主要考察指标,对玄麝止痛巴布剂配方进行优选,得出各基质最佳比例:NP-700-氢氧化铝-甘油-0.1%酒石酸水溶液3:0.3:25:5。王海波等运用本法对以丹参、槐花等中药组成的复方进行提取工艺的研究。试验以乙醇浓度、乙醇含量、提取时间、提取次数为主要考察因素,得出最优醇提条件为:90%醇,5倍量,3 h,

[收稿日期] 20100525(002)

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2009J05089);福建省自然科学基金项目(2010J01239)

[第一作者] 徐维佳,研究方向:中药方剂,Tel:13559248257,E-mail: xwj1707@gmail.com

[通讯作者] *周海虹,教授,Tel:0592-2183069,E-mail: hhzhou@xmu.edu.cn

3 次^[6]。王长虹等应用均匀设计法对影响龙胆苦苷(gentiopicroside, GPS)煎出率的因素加水量、pH、煎煮时间及煎煮次数等进行考察,得出结果:在加水量 30 倍、溶液 pH 3.52、煎煮 3 次、煎煮 25 min 的条件下,GPS 的煎出率为(99.53 ± 0.41)%^[7],较传统煎煮 GPS 煎出率(93.87 ± 2.76)%明显提高。

1.2 对“君臣佐使”配伍的现代诠释 宋小莉等采用均匀设计法对半夏泻心汤进行拆方,测定各配比组方对胃酸含量、胃蛋白酶活性及胃黏液分泌的影响,建立药味与药效指标的非线性影射模型,分析半夏泻心汤中各药味在全方背景下的量-效关系,结果:半夏对正常大鼠胃蛋白酶活性具有抑制作用,随剂量的增加抑制作用增强;对大鼠胃酸分泌具有抑制作用,剂量小于 21 g 时随剂量增加抑制作用增强,试验显示半夏对胃液分泌的影响的药效学作用与半夏泻心汤相似^[8],为半夏作为半夏泻心汤的君药提供了科学依据。此外,对生姜泻心汤进行拆方,测定各组分对正常、肠运动抑制模型、肠运动亢进模型小鼠小肠推进率的影响,发现半夏对小鼠肠运动抑制及亢进模型具有双向调节作用,而生姜对小鼠肠运动仅有轻微的促进作用^[9],提示半夏可能在生姜泻心汤中起着君药作用。林瑞红等^[10]采用均匀设计,给小鼠变应性鼻炎模型卵清蛋白滴鼻后 10 min 内小鼠的挠鼻次数作为行为学疗效判定指标,探讨加味麻黄附子细辛汤组方合理性及配比剂量。结果各药物在方中的重要性地位依次为:附子 > 黄芪 > 防风 > 麻黄 > 细辛 > 白术,提示该方以附子、黄芪共为君药,防风、麻黄为臣,细辛、白术为佐使药最为合理。

1.3 用于中药复方有效组分的筛选 余日跃等^[11]采用正交试验设计和均匀试验设计对四物汤体外抗大鼠肝过氧化脂质(LPO)作用进行拆方分析。试验以白芍(A)、川芎(B)、当归(C)、熟地黄(D)为考察因子,拟合 LPO 降低率(Y)的方程。均匀试验拟合结果为 $Y = 15.15 + 20.44 \ln A + 2.89 \ln B$ (前进法)、 $Y = 17.48 + 21.89 \ln A$ (后退法)、正交试验拟合结果为 $Y = 17.66 + 15.64 \ln A + 7.13 \ln B$ (前、后法)。由此得出白芍对于降低 LPO 作用有显著贡献,而川芎有部分贡献,当归、熟地则无贡献。田维毅等^[12]运用混料均匀设计法将小儿泻停方的四味药物(三颗针、黄芩、苦参、五倍子)配制成 12 种不同比例的复方,以对致病性大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌、白色葡萄球菌的体外抑制作用为指标,筛选出三颗针和五倍子以 19.56 g:5.31 g 组方时抗菌效果最佳,而黄芩和苦参抗菌作用不显著。高艳青等采用均匀设计法对半夏泻心汤及其类方进行组方变化研究,以胃液分析(胃酸、胃液黏液成分、胃蛋白酶活性)为药理学指标,结果:大枣可以显著促进胃酸分泌和胃蛋白酶活性,半夏可以显著抑制胃酸分泌和胃液黏液结合量,生姜甘草配伍可显著促进胃蛋白酶活性,大枣甘草可明显抑制胃蛋白酶活性等^[13],提示中药复方多途径、多环节药理效应存在着特定的有效组分。贺祝英等运用混料均匀设计研究麻杏石甘汤的不同配伍对甘草酸含量的影响,逐步回归分析得出处方中甘草酸含量的影响

因素主要为麻黄^[14]。陈少东等^[15]运用均匀设计,对祛湿化痰复方(茵陈、栀子、虎杖、田基黄、姜黄)抗游离脂肪酸(FFA)、诱导肝癌细胞株(HepG2)、脂毒性损伤的主效应中药进行筛选,结果:茵陈为降低细胞内甘油三酯(TG)含量及细胞上清肿瘤坏死因子(TNF- α)含量的主效应中药,田基黄为次效应中药,可协助茵陈增强降低 TG 含量的作用。李雪梅等^[16]以抗肝纤维化中药复方“扶正化痰胶囊”中 4 种已知的有效成分(虫草多糖、丹酚酸 B 盐、苦杏仁苷、绞股蓝总皂苷)按均匀设计法分组对二甲基亚硝胺和四氯化碳诱导的 2 种大鼠肝纤维化模型进行干预,以肝组织胶原含量羟脯氨酸(Hyp)测定为筛选指标,回归分析获得 2 个模型各自的“最佳配方”:A 配方(虫草多糖 60 mg,苦杏仁苷 80 mg,绞股蓝总皂苷 50 mg)和 B 配方(虫草多糖 20 mg,苦杏仁苷 160 mg,绞股蓝总皂苷 50 mg),皆提示虫草多糖、苦杏仁苷、绞股蓝总皂苷 3 种有效组分配伍为最佳。验证试验显示 A、B 配方均疗效显著,与扶正化痰胶囊相当,而 A、B 配方添加被筛选的丹酚酸 B 盐后,显示疗效下降。

1.4 用于复方最佳配比的筛选 李智勇^[17]等以初黏力、剥离强度和外观综合得分为指标进行综合考察,采用均匀设计法 U17(1716)对癌痛巴布剂的基质配方进行优选实验,得出癌痛巴布剂基质的最佳配比为:聚丙烯酸钠-明胶-高岭土-甘羟铝-蓖麻油-甘油-聚乙炔醇 6.46:6.0:4.1:0.08:0.1:56:0.05。刘俊等^[18]运用均匀设计确定了“秘方茶调散”以有效部位投料的最优剂量配比:黄芩总黄酮 800 mg,荆芥挥发油 120 μ L,薄荷油 50 μ L,白芷提取物 30 mg,川芎挥发油 40 μ L。余日跃等^[19]对大承气汤四味药(大黄、芒硝、枳实、厚朴)进行均匀设计安排,以大鼠小肠容积、排便均数、腹泻小鼠数、大肠推进率、肠套叠解除率为观察指标,回归分析发现大承气汤泻下作用优化配比为:大黄、厚朴可取原方最大值,芒硝可取 4.5~6 g,不宜过大,枳实可从方中剔除。高鹏等^[20]应用均匀设计处理手段与药效学相结合,以大鼠急性心肌缺血模型确定了丹心痛 4 种成分在处方中的最佳配比:川芎-香附-冰片-丹皮酚为 5:1.7:1.4:4.4。凤良元等^[21]按均匀设计法安排实验,通过观察肝纤康 A 不同配比组方对肝纤维化模型小鼠肝组织羟脯氨酸(Hyp)含量和血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活力的影响,确定最佳配比组方——肝纤康 F(90:75:24)。经筛选优化的最佳配比在显著降低肝纤维化小鼠肝组织(Hyp)和血清(ALT)水平方面比原方更有效。边洪荣等^[22]采用均匀设计法考察不同配伍组成对复方汤剂中主要有效成分总多糖含量的影响,结果:各单味药对总多糖含量影响大小分别为大枣(20.0%),白芍(12.1%),黄芪(10.2%),桂枝(6.25%),干姜(0.183%),指出多糖提取量并不与药物总量成正比,而存在一个最佳剂量配比。武孔云等^[23]运用混料均匀设计将组成“七缬和胃胶囊”的 3 个成分(七叶一枝花的水提浓缩物浸膏粉、宽叶缬草挥发油的乳化液、宽叶缬草水提物浸膏粉)配制成 9 种不同的复方,通过冰醋酸导致小鼠疼痛后小鼠平均扭体次数、

剪尾法测定平均出血时间的方法对各成分所占比例进行筛选,得到七叶一枝花浸膏、宽叶缬草挥发油乳化液、宽叶缬草水提物浸膏粉的最佳配比为 5:89:6(质量百分比)。严继贵等^[24]利用正交 t 值法结合均匀设计法,以胃黏膜组织丙二醛(MDA)和前列腺素 E_2 (PGE_2) 为检测指标,对胃得健原方药味(10 味药)组成和剂量配比进行优化,得到药味间 ACEG 最佳剂量配比为 10:9.2:3:60,对比原方疗效无统计学意义,但药味减少使得配比更加合理。姚广涛等^[25]采用该法以痛阈提高百分率为考察指标,对中药复方冰茶栓中起主要镇痛作用的江浙蝮蛇毒、茶叶提取物、冰片的组成进行研究,筛选优化所得的处方为蛇毒 8 mg,茶咖啡碱 80 mg,冰片 56 mg。曾晓会等^[26]采用均匀设计法进行分组,检测小鼠眼球血清三酰甘油(TG)和胆固醇(TC)的含量,得出姜黄素与胡椒碱降脂作用的最佳配比是 $13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $5.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 应用均匀设计研究中药复方的优点

较之传统的正交设计,均匀设计有如下优点:①试验次数减少。而传统正交试验设计安排的试验次数是水平数平方的整数倍;②因素水平可以适当调整,避免高档次水平或低档次水平相遇,以防试验中发生意外或反应速度太慢。尤其适合在反应剧烈的情况下考察工艺条件;③可利用电子计算机处理试验数据,方便、准确、快速地求得定量的回归方程式。便于分析各因素对试验结果的影响;可以定量地预报复方制剂的优化条件或复方剂量的最优配比区间估计^[27]。

中药复方中小复方占少数,多味药物组成的复方便试验次数变得让人望而生畏。而均匀设计每个因素的每个水平只做 1 次试验,试验次数与水平数相等。这一优势,在药味数量越大的复方研究中显得越明显,不仅减少了试验成本,更降低了试验条件、缩短了试验周期。因此,均匀设计法可作为揭示中药复方药理作用与其效应中药之间关系的现代技术方法之一。

3 均匀设计应用时存在的问题

3.1 指标的评价具有局限性

现有的均匀设计研究中药复方,不论是对配伍研究还是剂量的最优配比,都是以某项(或某几项)已知指标作为评判标准筛选而来。这使得指标的选择对复方及其组分的效用大小与否、剂量变化具有主观决定性。而个别指标对整个疾病致病途径的描述必然具有一定的偏颇性,且限于现有知识的局限,人们对疾病的病理生理认识有限,相关生化指标的确立仍有待不断改进。以目前已知的指标作为对一个复方及其各组分的绝对评价标准,其准确性不免遭到质疑。如有关文献^[28]以对痢疾杆菌抑制作用作为考察指标,对苗药倍针汤进行组方研究,筛选优化处方。但笔者认为,苗药倍针汤对疾病的作用不仅是抑菌这一条途径,对症状的改善可存在多条作用路径,并在临床上可能更具价值。因此以单一指标筛选优选方的准确性尚有待临床验证。

另外,在部分文献中存在多指标算分评价体系,如在优选玄麝止痛巴布剂基质配方时,黏着力和外观为主要考察指

标,其中外观指标主要是对膜残留、均匀性、涂展性、追随性这 4 个方面进行评分,各为 0~25 分^[5]。在此,对各个指标均匀打分的方式,虽在某种程度上体现了其使用质量,但无法区分各个指标间的轻重主次,其评分标准有待进一步改进。

3.2 复方药物(因素)范围的选择

如有关文献运用均匀设计对丹参、槐花等中药组成的复方进行提取工艺优化的试验中,经计算求得回归方程式 $Y = 9.394 + 0.007A - 0.233B + 0.610C + 0.910D$,故所得最佳提取条件是,在考察范围内 A, C, D 取最大值, B 取最小值。该筛选试验结果,优于用原方法的各试验组,且同时优于正交设计的最佳组^[6]。但是,各因素均取极值,不禁令人考虑:如果将 A, C, D 的取值范围再扩大一些, B 的取值再缩小一些,是否会得到更好的结果?因此,对上述工艺条件考察有必要继续进行下去,将各因素的考察范围再扩展一些,以求得更好的结果^[27]。

由此可见,在进行均匀设计前确定好各因素范围的必要性。复方中药的使用剂量标准从古至今一直存在争议。目前较常使用主要有 2 种,一是国家药典规定的标准波动范围,二是临床使用的经验用量范围。临床用药因各家而异,但多数在药典规定范围上下波动,另尚有部分医家使用剂量比较极端,具有一定特殊性。由于临床用药剂量难以统一,故在现行试验中被广泛接受和使用的多为国家药典规定的剂量范围。但由此也不得不使人提出质疑:是否国家药典规定的剂量范围就一定是最优剂量范围了呢?笔者认为,试验求真时不当局限于药典剂量范围,在参考药典剂量的情况下,适当参考临床用药扩大药味的设计范围,更为恰当、准确、合理,也便于操作。

3.3 因素和水平的设定

$m \cdot 2^{-1} + 1$ 为 $U_n(n^m)$ 的使用表中最多能安排的因素个数,故最小水平数 n 的确定取决于因素数。当因素为 3 时, $m \cdot 2^{-1} + 1 = 3$, $m = 4$, $n = 5$,故选择 $U_5(5^4)$ 表可以使用试验次数最少。但是,为了便于试验结果数据的统计处理,试验次数不应小于因素数的 2 倍。这就是说,如果是 3 因素的问题,必须选用 $U_6(6^6)$ 表或者是 $n > 6$ 的均匀设计表,做 6 次以上的试验。如果复方中存在一些有毒性的药物剂量范围较小,不易分成 n 个水平,可以采用正交设计中的拟水平方式,将水平数少者重复(或循环)一次或几次达到 n 个水平即可^[27]。

另外,在水平设定时,需充分考虑试验度量的精确度(如温度的量度量、固体物料的称量等)。若水平间隔很小,而度量的精确度不足,则很可能导致相对误差很大,而无法进行试验数据的回归分析。

3.4 因素间的交互作用

回归分析是均匀设计数据分析的主要手段。常规的均匀设计数据通常采用最小二乘法进行数学建模^[10,29]。但是,方剂中各药物组合属于组合变量,它们之间存在有严重的多重共线性,用最小二乘法回归分析的结果很不稳定,以致有时某个因素是否入选对回归方程产生很大的影响。所得的结果有时与期望有较大出入,从专业知

识方面认为是重要的变量往往落选。所建立的回归方程模型,有的因素的回归系数符号反常,这与专业背景不符合^[30]。对于方剂研究中存在的十分普遍甚至严重的多重变量相关性的情况下,常见的删除部分变量的做法常导致模型的解释误差增大,模型和预测的可靠性大大降低,将本应保留的系统信息舍弃,使得接受一个错误结论的可能性和风险性大大增加。

药物之间的相互作用普遍存在,包括协同效应(1+1>2)、叠加效应(1+1=2)、拮抗效应(1+1<2)3种。在试验设计的统计推断中,普遍采用如下的原则:保证估计诸因素主效应,尽量能估计两两因素之间的交互作用,如有余力,可估计部分高阶交互作用^[31]。

总之,均匀设计为中药复方的配伍理论及制剂工艺优化展开了一条新的探索思路和方法,较之以往的试验设计方法更加方便、可操作性强、预测性好,并为复方中各味中药的剂量配比优化提供了可能,为研究复方作用于临床疾病的已知途径的效应组分提供理论依据。该法在中药复方的研究运用尚有很大空间有待发展。

[参考文献]

[1] 任露泉. 试验设计及其优化[M]. 北京:科学出版社, 2009.

[2] 林桂涛,尹宁宁,马承严. 灰色系统理论与均匀设计结合在补阳还五汤处方筛选中的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(4):16.

[3] 余日跃,朱家谷,谢文光. 均匀设计法对大承气汤泻下作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(5):7.

[4] 张洪娟,王伟明. 均匀设计法优选β-环糊精包结紫苏挥发油最佳工艺的研究[J]. 中国中医药科技, 1997, 4(5):291.

[5] 薛宝娟,龙致贤. 均匀设计法优选玄麝止痛巴布剂基质配方研究[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(6):499.

[6] 王海波,沙明,邸学. 均匀设计法与正交设计法在复方工艺中应用比较[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(1):71.

[7] 王长虹,王峥涛. 均匀设计法考察影响龙胆苦苷煎出率的因素[J]. 中医药学报, 2005, 33(1):9.

[8] 宋小莉,牛欣. 半夏泻心汤君药的药效学研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7):1584.

[9] 宋小莉,牛欣,高艳青. 从对肠运动的影响探讨生姜泻心汤的君药[J]. 山东中医药大学学报, 2007, 31(5):428.

[10] 林瑞红,樊晖,田原,等. 加味麻黄附子细辛汤的组方合理性及药物配比剂量研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(1):123.

[11] 余日跃,吴兴华,何雁,等. 正交和均匀设计对四物汤配伍体外抗LPO作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(3):46.

[12] 田维毅,冯华,蔡琨,等. 小儿泻停方的抗菌效应及其

优化组方研究[J]. 四川中医, 2006, 24(8):97.

[13] 高艳青,司银楚,牛欣,等. 半夏泻心汤及其类方不同配伍对正常大鼠胃液成分的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(3):168.

[14] 贺祝英,武孔云. 麻杏石甘汤的不同配伍对甘草酸含量的影响[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(4):264.

[15] 陈少东,胡义扬,冯琴,等. 基于均匀设计的祛湿化痰复方抗脂毒性作用的主效应中药分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(5):422.

[16] 李雪梅,胡义扬,段小华,等. 基于均匀设计的抗肝纤维化中药有效组分配伍研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(1):58.

[17] 李智勇,孙冬梅,杜建平. 均匀设计法优选癌痛巴布剂的基质处方研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3):1.

[18] 刘俊,沈映君,魏玉平,等. 均匀设计法在复方剂量配比筛选中的运用[J]. 中成药, 1996, 18(10):.

[19] 余日跃,朱家谷,谢文光,等. 均匀设计法对大承气汤泻下作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(5):7.

[20] 高鹏,安宁飞,赵明宏,等. 均匀设计法在丹心痛最佳配比筛选中的应用[J]. 中草药, 2003, 34(2):123.

[21] 凤良元,鄢顺琴,段瑞. 肝纤康A抗小鼠肝纤维化作用的拆方研究[J]. 安徽中医学院学报, 2005, 24(2):36.

[22] 边洪荣,姜桂芹,张庆波,等. 黄芪桂枝五物汤不同剂量配比多糖含量测定[J]. 中药材, 2007, 30(6):729.

[23] 武孔云,黄勇其,李星,等. 混料均匀设计法优化七厘和胃胶囊处方[J]. 贵州科学, 2007, 25(增刊):427.

[24] 严继贵,俞丽霞,凤良元,等. 正交t值法结合均匀设计法优化胃得健药味组成和剂量配比[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(11):7.

[25] 姚广涛,冯燕,魏雄辉,等. 应用均匀设计优化中药复方冰茶栓[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(5):609.

[26] 曾晓会,赵自明,陈玉兴,等. 采用均匀设计法研究姜黄素与胡椒碱降脂作用的最佳配比[J]. 吉林医学, 2009, 30(9):772.

[27] 曾昭钧. 均匀设计及其应用[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2005:8.

[28] 蔡琨,冯华,田维毅,等. 苗药倍针汤不同比例组方的抑菌效果的实验研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2006, 28(1):52.

[29] 王鹏,王玉珠,沈建民. 均匀设计及其在药学中的应用[J]. 沈阳药学院学报, 1989, 6(4):297.

[30] 徐培平,符林春,张奉学,等. 方剂配伍作用“耦合效应”的数理分析方法[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2009, 11(1):22.

[31] 方开泰,马长兴. 正交与均匀试验设计[M]. 北京:科学出版社, 2001:16.

[责任编辑 邹晓翠]