

# 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的制备

余静 (中建三局武汉中心医院药剂科 武汉 430022)

**摘要** 目的: 制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液, 并评价其理化性质。方法: 采用热熔乳化-高压均质法制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液, 并对脂肪乳的粒径分布、PdI、Zeta 电位和微观形态进行评价; 初步考察地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的稳定性。结果: 制备的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的平均粒径为  $(215.1 \pm 38.2)$  nm, PdI 为 0.218, Zeta 电位为  $(-18.1 \pm 2.3)$  mV; 经透射电镜观察显示, 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳呈球形, 大小分布较为均匀; 长期稳定性试验结果表明, 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在 6 个月内稳定性良好。结论: 采用热熔乳化-高压均质法制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液工艺简单易行, 有望应用于工业化生产之中。

**关键词** 地塞米松棕榈酸酯; 脂肪乳; 热熔乳化-高压均质法

中图分类号: R944.9 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2016)12-2262-05

## Preparation of Dexamethasone Palmitate Lipid Emulsion Injection

Yu Jing (Department of Pharmacy, Wuhan Central Hospital of China Construction Third Engineering Bureau, Wuhan 430022, China)

**ABSTRACT Objective:** To prepare dexamethasone palmitate lipid emulsion injection and evaluate its physicochemical properties.

**Methods:** Dexamethasone palmitate lipid emulsion injection was prepared by a melt-emulsion and high pressure homogenization method. The physicochemical properties of lipid emulsion were evaluated including the particle size distribution, polydispersity index (PdI), zeta potential and morphology. And the long term stability was studied as well. **Results:** The particle size distribution, PdI and zeta potential of dexamethasone palmitate lipid emulsion was  $(215.1 \pm 38.2)$  nm, 0.218 and  $(-18.1 \pm 2.3)$  mV, respectively. The lipid emulsion was found to be spherical with smooth surface as seen under a transmission electron microscope. The long term stability studies showed that the lipid emulsion was stable in 6 months. **Conclusion:** The preparation technology of dexamethasone palmitate lipid emulsion injection by melt-emulsion and high pressure homogenization method is feasible, which can be used in industrial production.

**KEY WORDS** Dexamethasone palmitate; Lipid emulsion; Melt-emulsion and high pressure homogenization method

地塞米松属于甾体激素类抗炎药物, 临床上主要用于哮喘、全身感染和各种恶性淋巴瘤等疾病方面的治疗, 特别是在治疗关节炎方面, 疗效更为显著<sup>[1]</sup>。目前, 地塞米松应用于临床主要为醋酸地塞米松混悬型注射液和地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液。醋酸地塞米松混悬液不能静脉注射, 只能肌内注射, 当进行关节腔内局部给药时, 药物溶解速度较慢, 容易沉积在骨膜上。而将地塞米松用棕榈酸酯化, 增加地塞米松的脂溶性, 并溶解到大豆油中制成脂肪乳注射液, 载药脂肪乳静注后易浓集于炎症部位, 起到靶向作用, 提高抗炎活性, 降低不良反应<sup>[2]</sup>。地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液是日本三菱制药公司首先开发上市的, 临床上主要用于治疗重症风湿性关节炎。本研究以上市销售的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液为参比制剂进行仿制。报道如下。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪(沃特世公司);

NanoGenizer 高压匀质机(苏州微流纳米生物技术有限公司); 高速剪切机(德国 IKA 集团公司); PF-101T 集热式恒温磁力搅拌器(河南巩义英峪予华仪器厂); GL-22M 高速冷冻离心机(南京莱步科技实业有限公司); BP211D 电子天平(德国赛多利斯集团公司); PHS-3C 型酸度计(上海伟业仪器厂); Nicomp380 Z30000 激光粒度测定仪(苏州微流纳米生物技术有限公司); JEM-2100 透射电镜(日本电子公司)。

### 1.2 药品与试剂

地塞米松棕榈酸酯原料药(北京托毕西药业有限公司赠送, 含量 99.4%, 批号: S004140812); 地塞米松棕榈酸酯对照品(自制, 含量 99.5%, 批号: S004140812-1); 注射用大豆油(铁岭北亚药用油有限公司, 批号: 20150601); 蛋黄卵磷脂 E80(德国 Lipoid 公司, 批号: 28493P002); 蛋黄卵磷脂 PC-98T(德国 Lipoid 公司, 批号: F2639173); 油酸钠(德国 Lipoid 公司, 批号: 4829102); 蛋黄卵磷脂 PL-100M(上海艾韦特医药有限公司, 批号: 84928172); 注射

通讯作者: 余静 Tel: 18707130217 E-mail: 1126015226@qq.com

用甘油(浙江遂昌惠康药业有限公司,批号:20150107);氢氧化钠(浙江湖州展望化学药业有限公司,批号:14071201);盐酸(浙江湖州展望化学药业有限公司,批号:15020602);注射用水(自制);甲醇(默克公司,色谱纯);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的制备

参考市售地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的处方组成(地塞米松棕榈酸酯浓度为  $4 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,磷脂浓度为  $12.0 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,大豆油浓度为  $100.0 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,甘油浓度为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ;油酸钠浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ )并结合本试验的前期研究结果,确定地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的制备工艺,具体操作如下:①含药油相制备:将处方量的地塞米松棕榈酸酯加入到大豆油中搅拌溶解,再称取处方量的卵磷脂加入到上述油相中,氮气保护,控制水浴温度加热搅拌溶解;②水相制备:分别将处方量甘油、油酸钠加至适量注射用水中,控制水浴温度加热搅拌溶解;③含药初乳制备:开启高速剪切分散机,剪切刀速度调整为  $20\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,控制水浴温度,将含药油相缓慢加入到水相中,持续剪切乳化 10 min,制得含药初乳;④地塞米松棕榈酸酯脂肪乳制备:将含药初乳 pH 调节至 7.5~8.5 之间,用注射用水稀释定容至全量,转移至高压均质机中进行均质,通过调节均质压力和均质次数,即可制备成地塞米松棕榈酸酯脂肪乳;⑤将脂肪乳分装到安瓿瓶中,冲氮气,封口,121 °C 高压灭菌 15 min,冷水浴迅速降温即得。

### 2.2 蛋黄卵磷脂种类的筛选

根据文献报道,脂肪乳中的乳化剂常用的种类有 E80, PL-100M, PC-98T 三种类型的蛋黄卵磷脂<sup>[3]</sup>,本研究分别以 E80, PL-100M, PC-98T 蛋黄卵磷脂作为乳化剂,按照“2.1”项下地塞米松棕榈酸酯脂肪乳制备工艺制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液,并参考市售制剂“利美达松<sup>®</sup>”的外观、粒径分布、PdI 和 Zeta 电位各项指标,确定选择制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳所用蛋黄卵磷脂的类型。

试验筛选结果表明,使用 PC-98T 蛋黄卵磷脂作为乳化剂制备的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液极不稳定,静置过程中出现油水分层;使用 E80 蛋黄卵磷脂制备的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在静置过程没有出现油水分层现象,但有少量油滴漂浮在液面上,且乳剂粒径分布也比较大;使用 PL-100M 蛋黄卵磷脂制备的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在静置过程没有出现油水分层和漂油现象,粒径分布和 PdI 值较小,因此本研究选择 PL-100M 蛋黄卵

磷脂作为乳化剂,制备的注射用地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的理化性质与市售制剂相似(见表 1、表 2)。

表 1 利美达松<sup>®</sup>的理化性质

品名	外观	粒径分布 /nm	PdI	Zeta 电位 /mv	pH
利美达松 <sup>®</sup>	乳白色	216.4 ± 37.9	0.218 ± 0.031	-18.8 ± 1.7	7.24

表 2 蛋黄卵磷脂种类的筛选

蛋黄卵磷脂类型	外观	粒径分布 (nm)	PdI
PC-98T	分层	未测定	未测定
E80	乳白色,液面漂浮少量油滴	521.7 ± 93.3	0.471
PL-100M	乳白色,未见油滴漂浮	206.7 ± 51.5	0.207

### 2.3 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液制备工艺考察

2.3.1 制备温度对脂肪乳性质的影响 根据文献报道,制备温度对脂肪乳的粒度分布和 PdI 有重要影响,因此需要考察制备温度对脂肪乳的粒度分布和 PdI 有重要影响<sup>[4]</sup>。根据“2.2”项下方法制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳初乳,制备温度分别控制为 50, 60, 70, 80, 90, 100 °C,以粒径分布和 PdI 为评价指标,筛选出制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液较为合适的制备温度。

图 1 结果表明,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的粒径随着温度的升高首先降低,然后逐渐增大,在 70 °C 下达到最佳值,即亚微乳剂的平均粒径最小,粒度分布最均匀。这可能是由于制备温度会改变乳化剂的亲水亲油基团与水相和油相之间的相互作用力<sup>[5]</sup>。随着温度的升高,非离子表面活性剂的水合能力不断增强,温度继续升高,水合能力又不断减弱,改变了非离子表面活性剂在油水界面的吸附能力以及与磷脂的相互作用,从而使粒径发生了一系列改变,因此确定制备温度为 70 °C。

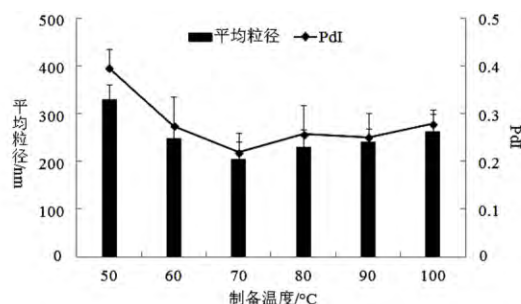


图 1 制备温度对脂肪乳粒径分布的影响 (n=3)

高压均质法是目前制备脂肪乳的常用方法,脂肪乳在高压下通过 25~30 μm 的狭缝形成大小较为均一的乳滴。高压均质过程中影响样品粒径及稳定性的主要因素包括:均质压力和均质次数,因此需

要考察均质压力和均质次数对脂肪乳的粒度分布和PdI有重要影响。

**2.3.2 均质压力对脂肪乳性质的影响** 根据“2.2”项下方法制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳初乳6份,将制备好的脂肪乳初乳分别在400、600、800、1000、1200 bar的压力下均质6次,以粒度分布和PdI为评价指标,筛选出制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液较为合适的均质压力。

图2结果表明,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的粒径随着均质压力的增加逐渐减小,当均质压力达到800 bar后,继续增加均质压力,脂肪乳粒径不再降低,因此确定均质压力为800 bar。

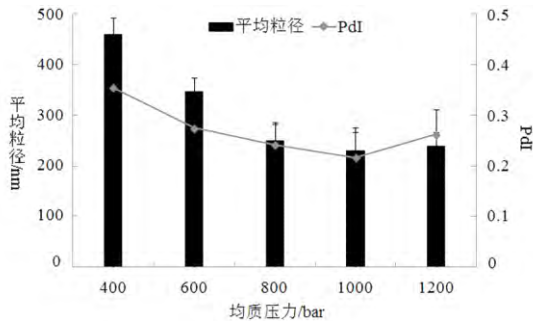


图2 均质压力对脂肪乳粒径分布的影响( $n=3$ )

**2.3.3 均质次数对脂肪乳性质的影响** 根据“2.2”项下方法制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳初乳1份,将制备好的脂肪乳初乳在1000 bar均质压力下均质,并分别在均质第2、4、6、8、10次测定脂肪乳的粒径分布,以粒度分布和PdI为评价指标,筛选出制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳较为合适的均质次数。

图3结果表明,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液随着均质次数的增加逐渐减小,当均质8次后继续增加均质次数,脂肪乳粒径不再降低,因此确定高压均质的次数为6次。

**2.3.4 灭菌工艺对脂肪乳性质的影响** 脂肪乳在高温灭菌操作参数选择不当可能降低乳化剂的水溶性,从而改变其乳化能力而导致乳滴聚集合并,容易造成脂肪乳的破裂、分层等现象<sup>[6]</sup>,因此需对灭菌工艺进行考察。分别选择常用的湿热灭菌参数:100℃/45 min、115℃/30 min和121℃/15 min,

表3 灭菌工艺对脂肪乳理化性质影响( $n=3$ )

灭菌工艺参数	评价指标					
	外观	包封率(%)	粒径分布(nm)	Zeta 电位(mv)	pH	$\Delta$ pH
灭菌前	乳白色	95.4 ± 1.8	215.6 ± 36.8	-18.8 ± 2.7	8.04	0
100℃/45 min	分层/漂油	ND	ND	ND	ND	ND
115℃/30 min	漂油	94.8 ± 2.6	357.1 ± 48.2	-18.3 ± 1.9	7.08	0.96
121℃/15 min	乳白色	96.1 ± 2.1	226.1 ± 38.5	-19.7 ± 1.4	7.19	0.85

注 “ND”液面出现油滴或分层现象,未进行检测。

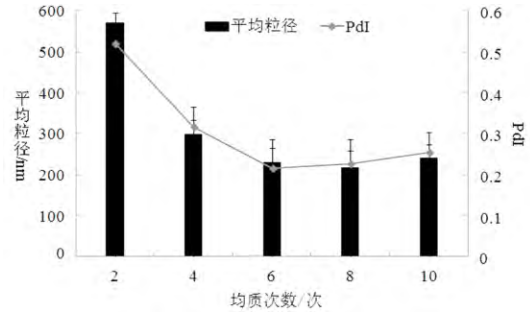


图3 均质次数对脂肪乳粒径分布的影响( $n=3$ )

考察灭菌前后对地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的包封率、粒径分布、PdI、Zeta 电位、pH 变化值( $\Delta$ pH)的影响,筛选出地塞米松棕榈酸酯脂肪乳较为合适的灭菌工艺参数。

由表3结果表明,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在100℃/45 min和115℃/30 min两种灭菌条件下会发生脂肪乳的分层或者漂油现象;地塞米松棕榈酸酯脂肪乳在121℃/15 min的灭菌工艺下各指标较灭菌前相似,且脂肪乳未发生分层或者漂油现象。因此确定地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的灭菌工艺参数为121℃/15 min。

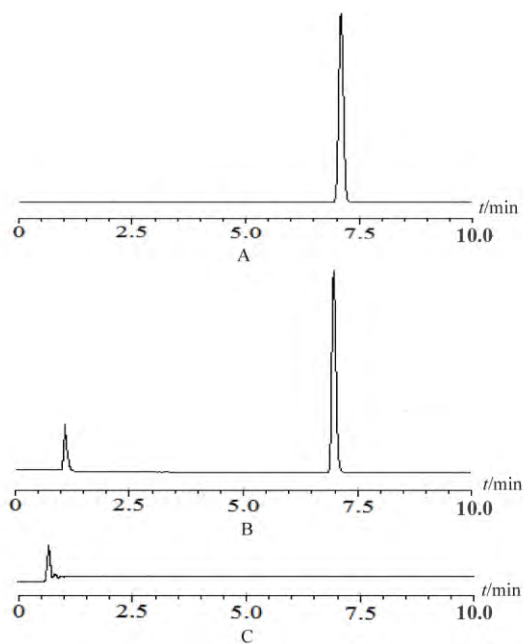
制备地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的最佳关键工艺参数为:在水浴温度为70℃制备含药初乳,将含药初乳经高压均质机中进行均质,均质压力为800 bar,均质次数为6次,并在121℃高压灭菌15 min,按照上述关键工艺参数连续制备3批地塞米松棕榈酸酯脂肪乳,并对其表征。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 色谱条件** 色谱柱:岛津 Shim VP-ODS C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱;流动相:甲醇-水(70:30, v/v);流速:1.0 ml · min<sup>-1</sup>;检测波长:240 nm;柱温:30℃;进样量:20 μl。

**2.4.2 对照品溶液制备** 精密称取15.0 mg地塞米松棕榈酸酯对照品置50 ml量瓶中,加入少量甲醇振荡溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(300.0 μg · ml<sup>-1</sup>)。精密移取对照品贮备液5.0 ml至100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即得地塞米松棕榈酸酯对照品溶液。每1 ml中含地塞米松棕榈酸酯15.0 μg。

2.4.3 供试品溶液制备 精密移取0.5 ml地塞米松棕榈酸酯脂肪乳置于100 ml量瓶中,加入少量甲醇振摇破乳,0.22 μm微孔滤膜过滤,既得地塞米松棕榈酸酯供试品溶液。另取处方量的辅料混合均匀,按供试品溶液处理方法,处理空白辅料,得到辅料供试品溶液。色谱图见图4。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 辅料溶液  
图4 HPLC 色谱图

2.4.4 线性关系考察 称取地塞米松棕榈酸酯对照品15.0 mg,置50 ml量瓶中,加入少量甲醇振摇溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,作对照品贮备液(300 μg · ml<sup>-1</sup>)。精密量取对照品贮备液0.5,1.0,2.0,5.0,10.0,20.0 ml至100 ml量瓶中,以流动相稀释成1.5,3.0,6.0,15.0,30.0,60.0 μg · ml<sup>-1</sup>的系列标准溶液,摇匀,滤过,精密吸取20 μl,按“2.1.1”色谱条件测定。以地塞米松棕榈酸酯浓度(C, μg · ml<sup>-1</sup>)对峰面积(A)作线性回归,得回归方程为: A = 49 381C - 5 265.8 (r = 0.999 9),结果表明地塞米松棕榈酸酯在1.5 ~ 60.0 μg · ml<sup>-1</sup>浓度范围内药物浓度与峰面积积关系良好。

2.4.5 重复性试验 按“2.4.2”项下操作方法配制并测定6份供试品溶液中地塞米松棕榈酸酯的平均含量及RSD。结果表明,地塞米松棕榈酸酯平均含量为? RSD为0.78% (n = 6),表明重复性较好。

2.4.6 回收率试验 按制剂处方量的80%、100%、120%比例精密称取地塞米松棕榈酸酯对照品,各3份,加入辅料,制成低、中、高浓度的回收率试验溶液,进样测定,计算地塞米松棕榈酸酯的回收率。结果表明,高、中、低3个浓度的平均回收率为

100.1% RSD为0.97% (n = 9),回收率良好。

### 2.5 包封率的测定方法

根据文献<sup>[7]</sup>报道,本研究使用低温超速离心法测定地塞米松棕榈酸酯脂肪乳中的药物包封率。具体操作如下:①游离药物含量测定:精密移取地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液5 ml置低温超速离心机中,在55 000 r · min<sup>-1</sup>条件下离心2.0 h,吸取下层澄清溶液1 ml至10 ml量瓶中,加入甲醇稀释,定容,0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,按“2.4.1”项下色谱条件测,计算游离药物浓度(C<sub>w</sub>)。②脂肪乳中药物总量的测定:精密移取地塞米松棕榈酸酯脂肪乳2 ml至50 ml量瓶中,加入甲醇适量,超声破坏10 min,定容,0.22 μm微孔滤膜过滤,取续滤液,按“2.4.1”项下色谱条件测定,计算药物总浓度(C<sub>t</sub>):

$$\text{计算公式: } EE\% = (1 - A \times \frac{C_w}{C_t}) \times 100\%$$

式中:A为脂肪乳中水相所占比例;C<sub>w</sub>为游离地塞米松棕榈酸酯浓度;C<sub>t</sub>为地塞米松棕榈酸酯总浓度。

### 2.6 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的表征

2.6.1 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳粒径分布及Zeta电位测定 取3批地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液适量,加入适量蒸馏水稀释后用ZetaSizer 2000HS激光粒度测定仪测定其粒径分布和Zeta电位(图5)。

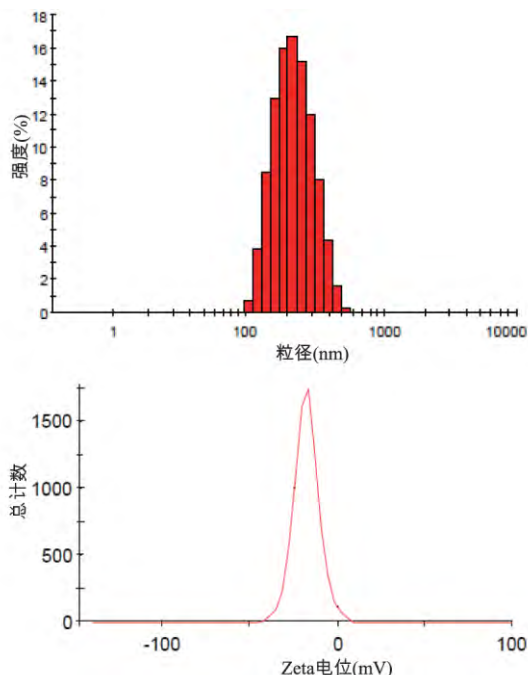


图5 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液粒径分布和Zeta电位

地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的平均粒径为(215.1 ± 38.2) nm, PDI为0.218, Zeta电位为(-18.1 ± 2.3) mV。

2.6.2 透射电镜观察 取地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液样品少均匀铺展在铜网上,滴加2%的磷钨酸水溶液负染10 min,自然干燥后,取出铜网,在透射电镜下观察地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的表面形态与结构,并拍摄照片(图6)。

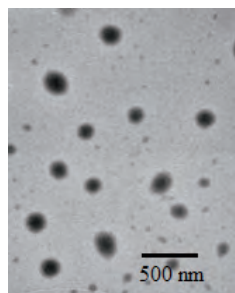


图6 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的透射电镜照片

由透射电镜照片可知:制备的地塞米松棕榈酸酯脂肪乳大小较为均匀,呈圆整、规则球形,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳粒径大部分在200 nm左右。

表4 地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液稳定性考察试验结果( $n=3$ )

测定周期	25 °C /60%				40 °C /75%			
	粒径( nm)	PdI	电位( mV)	pH	粒径( nm)	PdI	电位( mV)	pH
0	218.5 ± 39.9	0.215 ± 0.025	-20.4 ± 3.2	7.15	218.5 ± 39.9	0.215 ± 0.025	-20.4 ± 3.2	7.15
1	215.7 ± 32.7	0.221 ± 0.035	-19.6 ± 3.5	7.14	271.5 ± 47.3	0.272 ± 0.031	-19.1 ± 3.5	7.04
2	222.1 ± 37.2	0.217 ± 0.033	-18.2 ± 3.7	7.21	357.1 ± 52.1	0.324 ± 0.042	-20.1 ± 3.6	7.01
3	225.9 ± 41.4	0.218 ± 0.041	-19.1 ± 3.2	7.19	ND	ND	ND	ND
6	236.1 ± 43.1	0.225 ± 0.039	-20.1 ± 3.1	7.13	ND	ND	ND	ND

注 “ND”液面出现油滴或分层现象,未进行检测。

### 3 讨论

油酸钠在处方中是作为稳定剂,加入油酸钠可以降低脂肪乳的Zeta电位,增加脂肪乳微粒间的静电斥力,从而提高脂肪乳的稳定性;油酸钠作为脂肪乳的稳定剂已在上市的多个处方中得到应用,对人体无毒性。

本研究采用低温超速离心法测定地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的药物包封率,在超速离心过程中,形成的极微小囊泡的密度与水相接近,即使提高超速离心速度也不会与水相发生分离,始终在水相中存在;而超速离心力能够破坏脂肪乳的结构,脂肪乳破裂后,分布在油水界面膜中的药物会进入水相。因此,采用低温超速离心法测定药物包封率会比实际的包封率要低。虽然低温超速离心法测定的包封率不是真实的包封率,但是可以作为处方筛选和工艺优化的评价手段之一。

### 2.7 稳定性考察

地塞米松棕榈酸酯脂肪乳属于热力学不稳定体系,在长时间的高温放置过程中容易发生破乳或漂油,因此需要对其进行加速和长期稳定性考察。按中国药典2015年版关于药物稳定性试验指导原则要求,考察地塞米松棕榈酸酯脂肪乳在加速条件(40 °C /75%)和长期条件(25 °C /60%)下的稳定性,稳定性考察时间为6个月,分别在0,1,2,3,6个月取样,检测地塞米松棕榈酸酯脂肪乳的各理化性质指标,评价地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液的稳定性。

由表4结果表明,地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在25 °C条件下放置6个月,外观、平均粒径、PdI、Zeta电位、pH的改变均在可接受范围内,说明地塞米松棕榈酸酯脂肪乳注射液在室温下保存是比较合理的。

### 参 考 文 献

- 1 黄建林,徐莉,罗敏琪,等. 地塞米松棕榈酸酯注射液膝关节腔注射治疗类风湿关节炎疗效和安全性观察[J]. 广东医学, 2010, 31(11): 1474-1475
- 2 王丁丁,陈建明,张仰眉. 药用静脉注射乳剂的研究进展[J]. 药学服务与研究, 2005, 5(4): 157-159
- 3 赵明明,苏敏,唐星. 载药脂肪乳注射液的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(12): 1014-1022
- 4 何海冰,殷春阳,徐丽双,等. 丁酸氯维地平亚微乳注射液的制备与理化性质考察[J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(10): 760-766
- 5 Khalid N, Kobayashi I, Neves MA. Microchannel emulsification study on formulation and stability characterization of monodisperse oil-in-water emulsions encapsulating quercetin [J]. *Food Chem*, 2016, 212: 27-34
- 6 兰洁,管璐晗,朱学琳. 帕立骨化醇亚微乳注射液的处方和工艺研究[J]. 中国药房, 2014, 25(29): 2743-2746
- 7 赵明明,孙亚欣,朱旭,等. 葫芦素B脂肪乳注射液处方及制备工艺的研究[J]. 中南药学, 2013, 11(6): 428-432

(2016-07-03 收稿 2016-08-14 修回)