

本文引用: 何艳娟, 陈李凤, 雷玉诚, 贺宇康, 曹志, 邹登, 邓发文, 钟梓妮, 袁立明, 李湘. 一种新型负载淫羊藿苷的普鲁兰纳米粒制备及其性能研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(8): 1385-1390.

一种新型负载淫羊藿苷的普鲁兰纳米粒制备及其性能研究

何艳娟¹, 陈李凤², 雷玉诚², 贺宇康², 曹志², 邹登¹, 邓发文¹, 钟梓妮², 袁立明^{2*}, 李湘²

1. 长沙市第四医院儿科, 湖南长沙 410006; 2. 湖南师范大学医学院, 湖南长沙 410000

[摘要] **目的** 设计一种新型淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物, 通过化学连接和物理包埋的方式高效装载淫羊藿苷, 制备一种具有缓释性的纳米球形载体, 并对其性能进行初步探讨。**方法** 淫羊藿苷通过丁二酸酐作为连接臂接枝亲水性普鲁兰形成淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物, 通过傅里叶红外光谱对终产物鉴定。采用透析法制备负载淫羊藿苷的普鲁兰纳米粒。测量空白纳米粒和载药纳米粒的粒径和 Zeta 电位, 利用透射电镜观察其形貌, 并测定其在不同 pH 条件下的体外药物释放行为。**结果** 纳米粒具有规则的形态、均匀的尺寸。空白纳米粒电位为 +2.23 mV, 载药纳米粒电位为 +3.98 mV; 空白纳米粒平均粒径为 122 nm, 载药纳米粒粒径为 190 nm。纳米粒能明显延长淫羊藿苷的缓释作用时间, 在 pH 6.8 的酸性条件下更有利于淫羊藿苷的释放。**结论** 通过两性性聚合物自组装行为, 成功制备了尺寸均匀的纳米粒。通过聚合物化学连接方式丁二酸将中药单体淫羊藿苷连接普鲁兰制备为纳米递送系统, 淫羊藿苷的普鲁兰纳米递送系统该系统能使疏水性药物成为纳米型的水溶性药物, 药物具有缓释性, 并在弱酸度环境下可以定向释放。

[关键词] 淫羊藿苷; 普鲁兰多糖; 纳米递送系统; 药物释放; 化学连接; 缺血性心脏病

[中图分类号] R283.6

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.08.005

Preparation and performance study of a novel icariin-loaded pullulan nanoparticle

HE Yanjuan¹, CHEN Lifeng², LEI Yucheng², HE Yukang², CAO Zhi², ZOU Deng¹, DENG Fawen¹,

ZHONG Zini², YUAN Liming^{2*}, LI Xiang²

1. Department of Pediatrics, The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410006, China;

2. School of Medicine, Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410000, China

[Abstract] **Objective** To design and preliminarily explore a novel icariin-modified pullulan polymer for efficient loading of icariin via chemical linkage and physical encapsulation, so as to prepare a nanospherical carrier with sustained release properties and investigate its performance. **Methods** Icariin was grafted onto hydrophilic pullulan via succinic anhydride as a linker arm to form icariin-modified pullulan polymers, and the end products were identified by Fourier infrared spectroscopy. The dialysis method was used to prepare icariin-loaded pullulan nanoparticles. The particle size and zeta potential of the blank and drug-loaded nanoparticles were measured, and their morphology was observed using transmission electron microscopy, and their in vitro drug release behavior was determined under different pH conditions. **Results** The nanoparticles had regular morphology, uniform size, and homogeneous dimensions. The potential of blank nanoparticles was +2.23 mV, and that of drug-loaded nanoparticles was +3.98 mV; the average particle size of blank nanoparticles was 122 nm, and that of drug-loaded nanoparticles was 190 nm. The nanoparticles

[收稿日期] 2023-10-24

[基金项目] 长沙市自然科学基金项目(kq2202021); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202212652014); 湖南师范大学树达学院教学改革项目(院行发教字[2022]35号6)。

[通信作者] *袁立明, 男, 硕士, 副教授, E-mail: yuanlimingtian@163.com。

could significantly prolong the sustained release time of epimedium glycosides, and it was more favorable for icariin release in the acidic condition of pH 6.8. **Conclusion** Nanoparticles with uniform size were successfully prepared by amphiphilic polymer self-assembly behavior. The Chinese medicine monomer icariin connected with pullulan was prepared as a nano-delivery system through the polymer chemical linkage mode of succinic acid, and the pullulan nano-delivery system loaded with icariin could make the hydrophobic drug into a nano type of water-soluble drug, and the drug had a slow-release and could be directed to be released under the environment of weak acidity.

[**Keywords**] icariin, pullulan polysaccharide, nanodelivery system, drug release, chemical connection, ischemic heart disease

缺血性心脏病是一种需要长期治疗的慢性疾病,因此,药物治疗是一种关键的治疗方法^[1]。缺血性心脏病是全球主要死因,根据世界卫生组织的估计,2016年有>900万人死亡^[2]。淫羊藿苷是从中药植物淫羊藿中提取的单体(图1),研究发现,淫羊藿苷对缺血性心脏病有显著作用^[3],可增加心血管血流量,促进造血功能,扩张血管以降低血压^[4-5]。在临床实践中常用于治疗动脉粥样硬化、脑缺血等疾病^[6-7]。研究表明,淫羊藿苷通过改善炎症反应和氧化应激、调节细胞增殖和凋亡、抑制血管内皮细胞损伤和细胞衰老以及动员干细胞分化和迁移等方式,对心血管疾病具有广泛的保护作用^[8]。由于淫羊藿苷的首过效应和水溶性差,导致其生物利用度低,在临床应用中受到限制^[9]。因此,将淫羊藿苷纳米化制备成水溶性的淫羊藿苷纳米药物,能够提高其在体内的递送效率,是提高其生物利用度的理想选择^[10]。

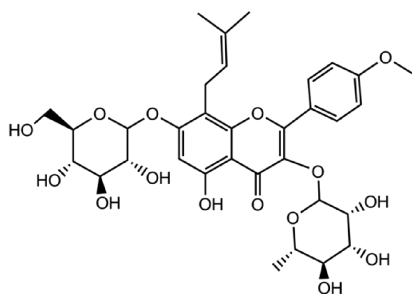


图1 淫羊藿苷化学结构图

Fig.1 The chemical structure of icariin

普鲁兰由重复的麦芽三糖单元组成。麦芽三糖的每个吡喃糖环通过 α -(1,4)糖苷键连接,一个麦芽三糖单元通过 α -(1,6)糖苷键连接到另一个麦芽三糖单元^[11]。每个麦芽三糖单元有9个OH基团,可以用具有不同官能团的基团代替^[12]。普鲁兰具有生物可降解性、无毒、易修饰等特性,作为药物载体有广泛的研究^[13]。丁二酸酐是常用的连接臂,将疏水性的淫羊藿苷通过丁二酸酐连接臂和亲水性的普鲁兰接枝形成两亲性的聚合物(图2)。两亲性聚合物

可以在自组织过程中形成纳米粒,纳米粒在疏水性药物负载及定位递送方面具有独特的优势^[14]。与肿瘤组织相似,心肌缺血区具有类似的通透性和滞留功能增强的通透性和滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR),由于纳米级的小尺寸效应,纳米粒可以通过被动靶向将药物递送到心肌缺血组织^[15-16]。因此,将淫羊藿苷包载到普鲁兰纳米递送系统中可以通过靶向作用提高生物利用度,更好地发挥其治疗心肌缺血病的作用。

两亲性聚合物纳米粒子属于纳米胶体体系,是一种新型的药物载体,具有较高的载药能力和独特的体内靶向作用^[17]。聚合物纳米粒由于其两亲性可以自组装形成核壳结构;核部分可以用作疏水药物的容器,外壳可以保护药物,提高药物的稳定性,并形成水溶性的悬浮颗粒,并达到缓释效果^[18-19]。提高基于蛋白质和基因的生物治疗药物的稳定性,并降低化疗药物的全身毒性^[20]。心肌缺血病灶组织缺血缺氧,是弱酸性环境,淫羊藿苷纳米递送系统被动靶向病灶组织,可以加速在病灶组织心肌细胞外释放,增强疏水性药物淫羊藿苷进入细胞的效率。因此,本研究设计了淫羊藿苷的疏水改性普鲁兰多糖聚合物,自组装负载淫羊藿苷,通过化学连接和物理包埋的方式提高其载药能力,通过纳米技术提高其组织靶向和心肌细胞聚集效力,提高淫羊藿苷的治疗效力。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

丁二酸酐(纯度99%,货号:S24348,上海源叶生物科技有限公司);4-二甲氨基吡啶(纯度99%,货号:D109207)、普鲁兰(纯度99%,货号:P121048)均购自阿拉丁控股集团;淫羊藿苷(纯度95%,货号:S24348,上海麦克林生化科技);Malvem激光粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司);紫外可见分光光度计(北京莱伯特科仪器有限公司);傅里叶红外光谱仪 NEXUS670(美国尼力高公司)。

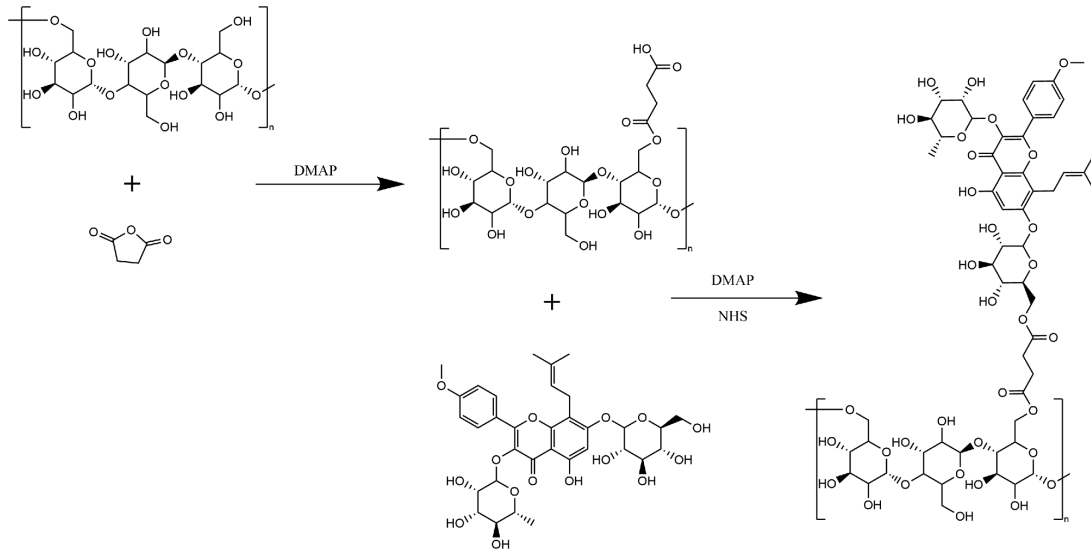


图2 淫羊藿苷疏水修饰普鲁兰聚合物合成示意图

Fig.2 Schematic diagram of the synthesis of hydrophobic modified pullulan polymer of icariin

1.2 普鲁兰的羧化

称取 3.20 g 普鲁兰、0.50 g 琥珀丁二酸酐、0.60 g 4-二甲氨基吡啶于 250 mL 圆底烧瓶中,加入 35 mL 二氯甲烷,在 50 ℃的圆底烧瓶中冷凝回流,反应 2 h。将反应物置于旋转蒸发仪中,温度调至 40 ℃,放置 12 h,得到白色固体。将白色固体转移至透析袋中,随后用去离子水透析两天,白天每 2 h 换去离子水 1 次。将滤液冷冻干燥得到羧基化的普鲁兰,称重。

1.3 淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物的合成

分别称取 3 份 0.4 g 羧化普鲁兰、0.03 g N-羧基琥珀酰亚胺、0.03 g 4-二甲氨基吡啶,加至 250 mL 圆底烧瓶中,并向其加入 10 mL 二甲基亚砜,恒温加热(30 ℃),磁力搅拌器充分搅拌 12 h;取 100 mg 淫羊藿苷标准品放置于 15 mL 试管中,加入 5 mL 二甲基亚砜充分溶解,将溶解混合物倒入圆底烧瓶中,室温下搅拌反应 48 h。透析,每 2 h 换 1 次水,直至无任何气味。然后将透析得到的溶液倒入培养皿,冷冻干燥成粉末,得到产物。

1.4 傅里叶红外光谱

将淫羊藿苷、普鲁兰、羧化普鲁兰和淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物样品在研磨碗中研磨成粉末,并与干燥的 KBr 粉末混合;将每一种都压制成薄膜进行红外扫描,扫描的范围设定为 400~4000 cm^{-1} 。

1.5 淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒的制备

称取 20 mg 淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物于小烧杯中,再称取 5 mg 淫羊藿苷溶于适量二甲亚

砷中,放入小烧杯中,将烧杯置于恒温加热磁力搅拌器上,混合搅拌 5 min 后,加入 5 mL 蒸馏水,在 25 ℃下搅拌 15 min 后停止搅拌。然后将反应物盛于 3 kDa 透析袋中,于去离子水中透析 24 h,每 2 h 换 1 次水,直至无二甲亚砜气味,得到物理包埋淫羊藿苷的纳米粒。20 mg 淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物通过上述方法透析得到淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒。

1.6 动态光散射

取纳米粒样品 2 mL,用微孔滤膜过滤,用超声波清洗机超声分散,将其倒入烧杯中,打开动态光散射仪,将样品放置于样品池中,并将其放入散射仪中,用动态光散射仪测定纳米粒子样品的粒径和电位。

1.7 透射电镜

将纳米粒子溶解于去离子水中,浓度为 1 mg/mL,取制成的纳米粒子溶液 1 mL 滴在涂铜网上,放置于烘箱中干燥至无水珠,然后通过 Tecnai F20 透射电子显微镜观察其形态特征。

1.8 体外药物释放量

本实验利用 PBS 模拟人体内生理环境,取纳米粒子 5 mg,溶于 10 mL 的 PBS 中,将其平均分为两份,每份 5 mL,装入截留量为 3 000 Da 透析袋,再将透析袋分别放入 50 mL pH=7.4 的 PBS 缓冲液中,在预定时间间隔取样($T_n, n=0, 1, 2, 4, 8, 12, 24,$

48、72 h),每次取样 3 mL 溶液,同时加入同等 3 mL 的 PBS 缓冲液。然后用紫外分光光度计在最大吸收波长处测量溶液的吸光度,测得淫羊藿苷浓度,然后将其带入下列公式中,计算药物释放百分率($Q\%$):

$$Q\% = \frac{(C_n \times V \sum_{i=0}^n C_i)}{(W_{np} \times LC\%)}$$

其中, W_{np} —纳米粒子的重量, C_n — T_n 时的样品浓度, V —释放介质的总体积; V_n —样品取样量; C_i — T_i 处的样品浓度($i=0,1,2,4,5,12,24,48$ h, V_0 和 C_0 均等于零)。

1.9 纳米粒中淫羊藿苷的释放

精确量取载药纳米粒溶液放入透析袋(4~8 kDa, 截取分子量)中,并分别置于 37 °C 的 pH 7.4、pH 6.8 的 25 mL 的 PBS(释放介质)中透析,在预定的时间间隔($T_n, n=0,0.5,1,2,4,8,12,24,48$ h)取 2 mL 的释放介质进行采样,并补充等量的溶液,用紫外分光光度法测定在 270 nm 波长处溶液吸光度值,淫羊藿苷释放百分比($Q\%$)按前述公式计算。

2 实验结果

2.1 纳米材料红外分析

普鲁兰与淫羊藿苷结合制成纳米粒:一方面,从淫羊藿苷标准样品的红外光谱来看,主要特征峰出现在 3 440、2 960、2 840、1 650、1 600、1 350、1 260、1 180 cm^{-1} 。3 440 cm^{-1} 是淫羊藿苷中酚羟基的伸缩振动峰。由于分子中含有大量的羟基,出现了缔合现象,产生了一个强而宽的吸收峰。2 960、2 840 cm^{-1} 是淫羊藿苷中甲基的伸缩振动峰。光谱 1 650 cm^{-1} 是淫羊藿苷中的 C=C 伸缩振动峰值,1 600 cm^{-1} 是 C=O 拉伸振动峰,因 C=C 和 C=O 的共轭效应使其峰值有所降低;1 260 cm^{-1} 是酚 C—O 伸缩振动峰值。上述峰在淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物光谱中有所体现。另一方面,聚合物与羧化普鲁兰相比多了碳碳双键与酚羟基。从淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物光谱来看,与普鲁兰羧化红外光谱相比,在 1 650 cm^{-1} 处存在过量的 C=C 伸缩振动峰,1 260 cm^{-1} 是酚 C—O 伸缩振动峰值。淫羊藿苷修饰的普鲁兰光谱中有特征官能团的波峰,碳碳双键与酚羟基的波峰,淫羊藿苷修饰的普鲁兰合成是成功的。详见图 3。

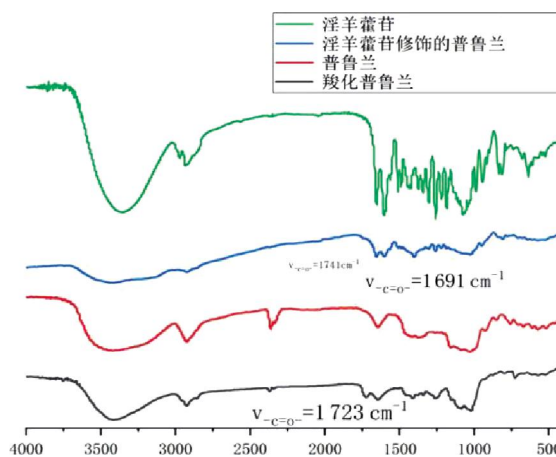


图 3 纳米材料的红外光谱图

Fig.3 The Infrared Spectrum of the nanomaterials

2.2 纳米粒的尺寸与形态

通过动态光散射仪测得,如图 4 所示,淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒电位为 2.23 mV(图 4A),物理负载淫羊藿苷纳米粒电位为 3.98 mV(图 4D);淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒尺寸为 122 nm(图 4B),物理负载淫羊藿苷纳米粒电位为 190 nm(图 4E)。因为载药的缘故,物理包埋药物后,纳米粒尺寸增大。采用透射电镜观察纳米粒形态。如图 4F 所示,两种纳米粒纳米形状规则,呈现为均匀的球形,分散均匀。

2.3 72 h 药物释放率

由图 5 可知,游离淫羊藿苷在 12 h 内释放率达到了 78.67%,淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒在 72 h 内释放率为 20.84%,物理负载淫羊藿苷纳米粒在 72 h 内释放率达到 52.80%,由于物理负载淫羊藿苷纳米粒内层负载淫羊藿苷药物,可以使纳米粒的释药量增加,与游离药物相比,物理负载淫羊藿苷纳米粒能明显延长淫羊藿苷的缓释作用时间,增强治疗效果。淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒,由于化学连接,药物释放更加缓慢。

2.4 不同 pH 下纳米粒在 72 h 内药物释放率

如图 6 所示,在 pH 6.8 的缓冲溶液中物理负载淫羊藿苷纳米粒 72 h 内累积药物释放量达到了 68.55%,淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒药物释放量 30.56%,在 pH 7.4 的缓冲溶液中物理负载淫羊藿苷纳米粒的药物释放量为 52.80%,淫羊藿苷修饰的普鲁兰纳米粒药物释放量 20.84%。由此说明在 pH 6.8 的酸性条件下更有利于淫羊藿苷的释放,化学连接方式负载的药物释放呈现长效缓释性。

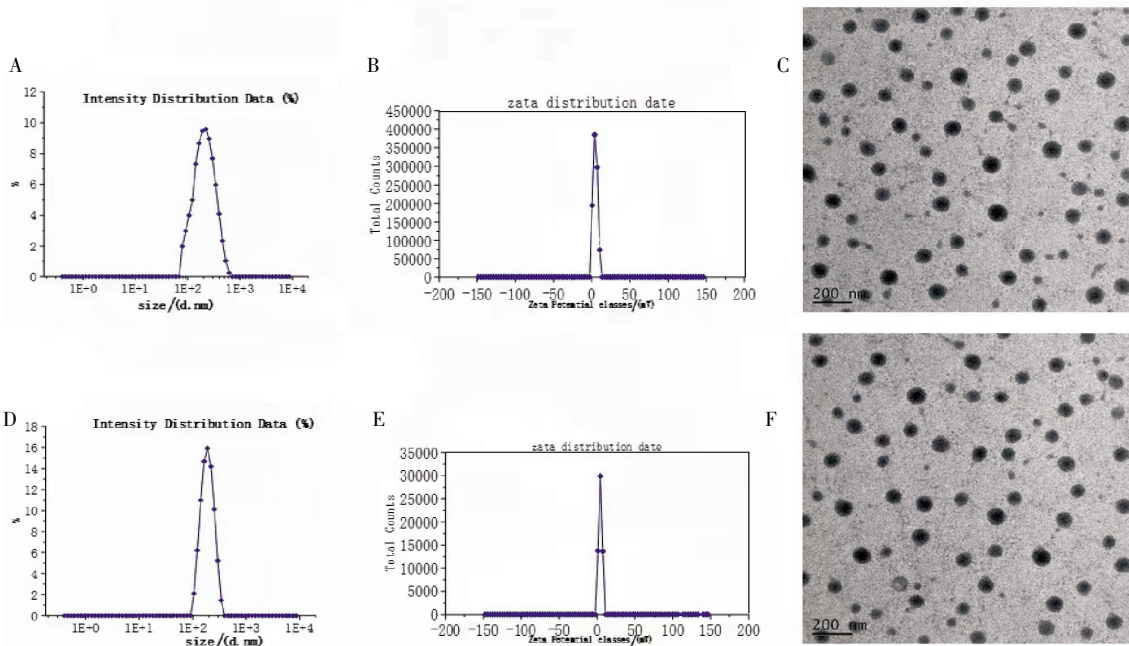


图 4 纳米颗粒的电位(A,D)、尺寸(B,E)和电镜图(C,F)

Fig.4 The potential (A, D), dimensions (B, E) and electron microscopy (C, F) of nanoparticle

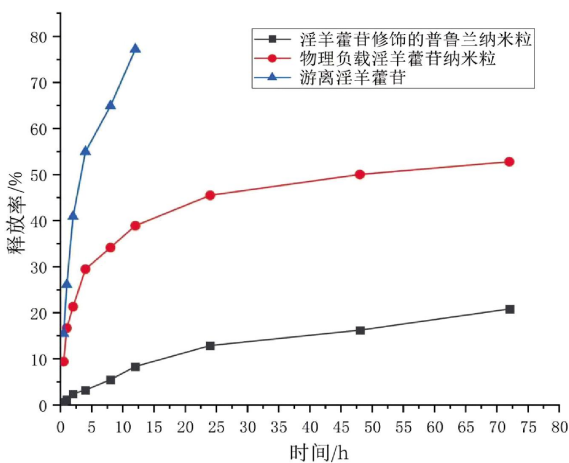


图 5 72 h 药物释放率

Fig.5 Drug release rate at 72 h

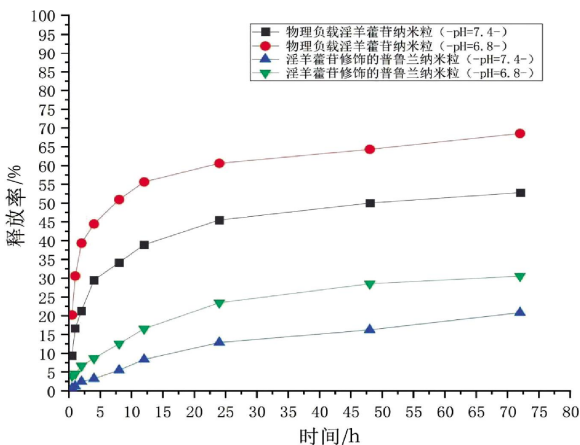


图 6 不同 pH 下纳米粒在 72 h 内药物释放率

Fig.6 Drug release rate of nanoparticles at different pH within 72 h

3 讨论

负载淫羊藿苷的聚合物纳米颗粒可以提高药物的载药量,通过化学连接和物理包埋显著提高了药物包埋效率。淫羊藿苷是疏水性药物,体内递送效力低,通过制备纳米递送系统可以显著提高其递送效率。本项目通过疏水性的淫羊藿苷对普鲁兰进行疏水化修饰,得到双亲性的负载淫羊藿苷的普鲁兰聚合物。淫羊藿苷在连接到亲水性的普鲁兰上后,可以显著提高淫羊藿苷的水溶性,提高其递送效率,并且淫羊藿苷修饰普鲁兰聚合物的合成路线简单易行,红外验证了其结构。使用透析法使其自组装聚合物纳米粒,纳米粒是由亲水性的普鲁兰多糖为骨架作为纳米粒的外壳,疏水性药物淫羊藿苷为内核的壳-核球形结构,透视电镜下展示均匀的球形。淫羊藿苷修饰的普鲁兰聚合物自组装形成纳米粒出现疏水性空腔,空腔可以进一步装载淫羊藿苷,可以提高药物负载效率,通过载药量的测定,显示了较高的封装率和载药量。物理包埋和化学连接两种方式负载淫羊藿苷形成的纳米粒,在药物释放过程中展现不同的释放特征。纳米粒在病灶的药物释放,对于心肌缺血病而言,病灶的弱酸性环境,对于递送到病灶的纳米粒中物理包埋的药物可以促使其在细胞外释放,药物以游离的方式通过扩散进入细胞内发挥作用。化学连接的药物在到达病灶,有少量药物释放,

在病灶时间的延长,材料逐步降解后,持续发挥作用。纳米粒负载的药物具有缓释性,在血浆循环过程中较少释放,特别是化学连接的药物组织的纳米载体,在血浆运行过程中不释放,从而高效的节约了用药成本。在病灶酸性环境中,物理包埋的药物快速释放,化学连接的药物缓慢释放,实现定位释放药物,从而提高治疗效率,节约药物成本的目标。本项实验内容验证了淫羊藿苷纳米递送系统的高载药量和独特的释放特点。因此,本研究设计的纳米粒针对心肌缺血病的治疗药物淫羊藿苷,主要是提高其递送效率,及维持其长效作用。该纳米递送系统是一种在心肌缺血性疾病新型的中药单体运输系统,一种新型的治疗策略。

参考文献

- [1] SEVERINO P, D'AMATO A, PUCCI M, et al. Ischemic heart disease pathophysiology paradigms overview: From plaque activation to microvascular dysfunction[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21): 8118.
- [2] NOWBAR A N, GITTO M, HOWARD J P, et al. Mortality from ischemic heart disease[J]. *Circulation Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2019, 12(6): e005375.
- [3] HE C Y, WANG Z, SHI J S. Pharmacological effects of icariin [J]. *Advances in Pharmacology*, 2020, 87: 179–203.
- [4] EL-SHITANY N A, EID B G. Icariin modulates carrageenan-induced acute inflammation through HO-1/Nrf2 and NF- κ B signaling pathways[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2019, 120: 109567.
- [5] TANG Y H, LI Y F, XIN D W, et al. Icariin alleviates osteoarthritis by regulating autophagy of chondrocytes by mediating PI3K/AKT/mTOR signaling[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 2984–2999.
- [6] ANGELONI C, BARBALACE M C, HRELIA S. Icariin and its metabolites as potential protective phytochemicals against Alzheimer's disease[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10: 271.
- [7] KIM D H, JUNG H A, SOHN H S, et al. Potential of icariin metabolites from *Epimedium koreanum nakai* as antidiabetic therapeutic agents[J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 986.
- [8] HE C Y, WANG Z, SHI J S. Pharmacological effects of icariin[J]. *Advances in Pharmacology*, 2020, 87: 179–203.
- [9] BI Z Y, ZHANG W, YAN X Y. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2022, 151: 113180.
- [10] 黄莉芳, 刘超权. 基于 mTOR-p70S6K/4EBP1 信号通路探讨淫羊藿苷抑制病毒性心肌炎模型小鼠心肌损伤的实验研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(9): 52–56.
- [11] COLTELLI M B, DANTI S, DE CLERCK K, et al. Pullulan for advanced sustainable body- and skin-contact applications[J]. *Journal of Functional Biomaterials*, 2020, 11(1): 20.
- [12] AGRAWAL S, BUDHWANI D, GURJAR P, et al. Pullulan based derivatives: Synthesis, enhanced physicochemical properties, and applications[J]. *Drug Delivery*, 2022, 29(1): 3328–3339.
- [13] ZHANG Y, JIANG Q, LIU X Y, et al. A study of hydrophobically modified pullulan nanoparticles with different hydrophobic densities on the effect of anti-colon cancer cell efficiency[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2021, 17(10): 1972–1983.
- [14] 蒽慧荣, 马慧萍, 陈克明, 等. 淫羊藿苷纳米混悬液冻干粉的制备及表征[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(20): 4902–4908.
- [15] 刘磊, 孙卫东, 黄利华, 等. 壳聚糖/普鲁兰多糖/聚乙烯醇/胶原蛋白食品膜的理化性质及结构特征[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(5): 81–88.
- [16] ZHANG S L, GAO H J, BAO G. Physical principles of nanoparticle cellular endocytosis[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(9): 8655–8671.
- [17] HAN Q Q, NIU M, WU Q R, et al. Real-time monitoring of nanoparticle-based therapeutics: A review[J]. *Current Drug Metabolism*, 2018, 19(2): 124–130.
- [18] CHEN X Q, LIU Y H, LIU X T, et al. Nanoparticle-based single molecule fluorescent probes[J]. *Luminescence*, 2022, 37(11): 1808–1821.
- [19] CAMERON S J, SHENG J, HOSSEINIAN F, et al. Nanoparticle effects on stress response pathways and nanoparticle-protein interactions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(14): 7962.
- [20] MIKHAIL A S, ALLEN C. Block copolymer micelles for delivery of cancer therapy: Transport at the whole body, tissue and cellular levels[J]. *Journal of Controlled Release*, 2009, 138(3): 214–223.

(本文编辑 苏维)