

2023 年省精品在线开放课程申报



《药物化学》课程团队成员
近 5 年发表论文佐证材料

目 录

1. 万欣-Discovery and structural optimization of 3-O- β -Chacotriosyl betulonic acid saponins as potent fusion inhibitors of Omicron virus infections(SCI).....	1
2. 万欣-Phospholipid peroxidation-driven modification of chondrogenic transcription factor mediates alkoxyl radicals-induced impairment of embryonic bone development (SCI).....	22
3. 徐英辉-忍冬藤胶囊的制备及质量标准(中文核心).....	35
4. 莫颖华-枇杷叶胶囊的制备及质量标准研究(科技核心).....	45
5. 莫颖华-响应面法优化一种中药养胃饼干的配方(科技核心).....	52
6. 莫颖华-HPLC 法同时测定凉粉草中四种成分的含量(科技核心).....	59
7. 申茹-山东省不同区域桔梗药材中桔梗皂苷 D 的测定(科技核心).....	65
8. 申茹-达原饮胃漂浮片的提取工艺研究(科技核心).....	68
9. 郭林-多学科合作模式下胃部及结直肠手术预防性应用抗菌药物的效果评价(科技核心).....	73
10. 郭林-惠州地区 3 家综合医院 2015~2016 年细菌耐药情况分析(科技核心).....	80
11. 徐英辉-弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践.....	85
12. 徐英辉-基于职业能力的高职药学专业课程标准研究.....	91
13. 徐英辉-高职院校教学管理信息化创新研究-以惠州卫生职业技术学院药学部为例.....	96
14. 莫颖华-探究新冠肺炎疫情背景下课程思政在药剂学教学中实施.....	101
15. 莫颖华-移动互联网背景下《药物化学》实验教学改革模式的探索.....	105
16. 莫颖华-HPLC 法同时测定明日叶干品和茶叶中 3 种成分的含量.....	109
17. 莫颖华-明日叶的研究进展.....	115
18. 万欣-合作授课模式在临床药物治疗学教学中的效果评价.....	122
19. 万欣-基于混合式教学模式的教学实践研究——以高职实用药物学基础课程为例.....	125
20. 申茹-高职高专院校药剂学教学方法改革探讨与实践.....	128
21. 申茹-浅析现代中药新剂型的研究概况.....	130
22. 申茹-杉寄生中黄酮类成分薄层色谱鉴别研究.....	132
23. 申茹-小陷胸汤胃内漂浮片的提取工艺研究.....	134
24. 申茹-小陷胸汤治疗心血管疾病的药理机制研究进展.....	138
25. 申茹-药品生产技术专业人才需求与职业岗位能力分析.....	142
26. 申茹-以职业能力为导向的高职药品生产技术专业“药物制剂设备”课程标准制定研究.....	144
27. 冯白茹-凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究.....	148
28. 冯白茹-凉粉草抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分快筛法的初步研究.....	155
29. 冯白茹-凉粉草降糖颗粒的成型工艺研究.....	162
30. 冯白茹-后疫情时期下职业院校实训室安全管理模式的研究——以惠州卫生职业技术学院为.....	165
31. 郭林-循环管理模式在合理控制医院收入占比药品的应用分析.....	171



Discovery and structural optimization of 3-O- β -Chacotriosyl betulonic acid saponins as potent fusion inhibitors of Omicron virus infections

Mingjian Liu^{a,1}, Jinshen Wang^{b,1}, Xin Wan^{c,1}, Baixi Li^a, Mingming Guan^a, Xiaoyun Ning^a, Xiaojie Hu^a, Sumei Li^{d,*}, Shuwen Liu^{b,e,*}, Gaopeng Song^{a,*}

^a Key Laboratory for Biobased Materials and Energy of Ministry of Education, College of Materials and Energy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

^b Guangdong Provincial Key Laboratory of New Drug Screening, School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China

^c Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China

^d Department of Human anatomy, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China

^e State Key Laboratory of Organ Failure Research, Guangdong Provincial Institute of Nephrology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

ARTICLE INFO

Keywords:

Betulonic acid derivatives
Omicron
Membrane fusion
Structure–activity relationships

ABSTRACT

The recent global Omicron epidemics underscore the great need for the development of small molecule therapeutics with appropriate mechanisms. The trimeric spike protein (S) of SARS-CoV-2 plays a pivotal role in mediating viral entry into host cells. We continued our efforts to develop small-molecule SARS-CoV-2 entry inhibitors. In this work, two sets of BA derivatives were designed and synthesized based on the hit **BA-1** that was identified as a novel SARS-CoV-2 entry inhibitor. Compound **BA-4**, the most potent one, showed broad inhibitory activities against pOmicron and other pseudotyped variants with EC₅₀ values ranging 2.73 to 5.19 μ M. Moreover, pSARS-CoV-2 assay, SPR analysis, Co-IP assay and the cell–cell fusion assay coupled with docking and mutagenesis studies revealed that **BA-4** could stabilize S in the pre-fusion step to interfere with the membrane fusion, thereby displaying promising inhibition against Omicron entry.

1. Introduction

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) that leads to the coronavirus disease 2019 (COVID-19), has rapidly spread around the world, devastating consequences for the health sector and the economy since the late December of 2019 [1,2]. Currently, the public become more aware of the devastation caused by the emerging variants and mutations of SARS-CoV-2, as exemplified by Omicron variant, which is posing a great challenge to public health and safety globally [3–5]. As of September 2022, there have been >610 million confirmed cases and 6.5 million deaths worldwide despite a ring vaccination program with the FDA-approved BNT162b2 and others, underlining the urgency for developing effective antiviral agents to prevent these lethal infections. Remdesivir [6], a RdRp inhibitor, was approved by the United States Food and Drug Administration (FDA) in May 2020 for the treatment of severe COVID-19 patients. In December 2021, a nucleoside

analog molnupiravir that was originally used for influenza, was also approved by FDA [7]. The third drug approved by FDA is paxlovid, which was found to reduce the risk of hospitalization and death by 89 % in the Phase 2/3 EPIC-HR study [8]. In addition, other small-molecule drugs targeting the replication cycle of SARS-CoV-2 are currently being developed in clinic [9,10]. For example, small-molecule inhibitors GC373 and GC376 can effectively inhibit the enzymatic activity of 3CLpro by covalent modification with the amino acid residue Cys145 of the catalytic site to display potent inhibitory potency coupled with low toxicity, which represent potential candidate drugs for the treatment of COVID-19 [11].

SARS-CoV-2 is a new member of single-stranded RNA and enveloped β -coronaviruses family, of which infection process starts from the viral entry into host cells. Evidence has shown that the spike protein (S) of SARS-CoV-2 is a “Type I” viral transmembrane glycoprotein, which plays a vital role in viral entry [12,13]. The S protein consists of two

* Corresponding authors at: Department of Human anatomy, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou, 510632, China (S. Li); Guangdong Provincial Key Laboratory of New Drug Screening, School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China (S. Liu); Key Laboratory for Biobased Materials and Energy of Ministry of Education, College of Materials and Energy, South China Agricultural University, Guangzhou, 510642, China (G. Song).

E-mail addresses: liusumei1234@163.com (S. Li), liusw@smu.edu.cn (S. Liu), songgp1021@scau.edu.cn (G. Song).

¹ These authors contributed equally to this work.

subunits, namely S1 and S2, of which the former can recognize and bind to human angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor of host cells through RBD domain and the latter is responsible for regulating S-mediated viral/cell membrane fusion [14,15]. Structurally, S2 subunit is composed of fusion peptide (FP), heptapeptide repeat 1 (HR1), heptapeptide repeat 2 (HR2), transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain (CP) [16]. After SARS-CoV-2 S1 binds to ACE2, the S protein needs to be activated by cellular proteases to permit insertion of FP into the host membrane, the anchoring process. Subsequently, the HR1 and HR2 regions of the trimeric viral transmembrane protein interact to form a six-helix bundle, which pulls the viral and cellular membranes together and mediates fusion, thereby leading to the release of the viral genome into the cytoplasm [17]. All these steps, attachment to the cellular receptors, conformational changes of S1/S2, FP insertion, rearrangement, and 6HB formation, are critical for SARS-CoV-2 infection and more importantly, the S2 subunit sequence is more conservative than the S1 subunit sequence [18]. Collectively, the SARS-CoV-2 S2 subunit mediates viral fusion and entry, which represents the main target for the development of neutralizing antibodies, and small-molecule fusion inhibitors.

So far, multiple potential SARS-CoV-2 fusion inhibitors have been identified, which showed good antiviral activities *in vivo/vitro*, as exemplified by HR-derived peptides EK1 and its analogs [19], niclosamide [20], bergamottin (1, Fig. 1A) [3], clofazimine [21], and other natural products such as angeloylgomisin O (2, Fig. 1A), schisandrin B (3, Fig. 1A) [22]. For example, EK1 and its analogs have been shown to target the HR1 or HR2 domain to interact with virus-cell fusion, thereby exhibiting potent inhibition against SARS-CoV-2 and its variants *in vivo* [19]. Zhou and co-workers reported that bergamottin could act at multiple stages of the SARS-CoV-2 life cycle to reduce viral entry into cells by both blocking the S-mediated membrane fusion stage and inhibiting the expression of ACE2 [3]. Angeloylgomisin O and schisandrin B that were extracted from *Schisandra chinensis*, a plant used to treat hepatitis, were found to exhibit strong inhibitory effects on membrane fusion and show more potent antiviral activity against SARS-CoV-2 than remdesivir [22]. In addition, our group has previously conducted multiple high-throughput screens of various small-molecule libraries to identify salvianolic acid C (Sal-C, 4, Fig. 1A) [23] and estradiol (5, Fig. 1A) [24] as potential anti-SARS-CoV-2 agents, which could inhibit SARS-CoV-2 infection *in vitro* by blocking the formation of six-helix bundle core of S to block S-mediated membrane fusion. However, only a few SARS-CoV-2 fusion inhibitors have advanced to clinical trials up to now.

Betulonic acid (BA, 6, Fig. 1B), a naturally occurring pentacyclic triterpene, represents a promising structure type for a wide variety of

agents with good antiviral use against HIV, influenza virus, HSV and others [25–27]. For example, the BA core is present in bevirimat, an HIV maturation inhibitor, which has undergone phase 2 clinical evaluation. Interestingly, BA was found to possess anti-SARS-CoV activity in the μM range *in vitro* and in particular, betulonic acid (7, Fig. 1B), an oxidized analog at C-3 position of BA, exhibited improved anti-SARS-CoV potency with an EC_{50} of $0.63 \mu\text{M}$ [28]. Recently, a class of BA derivatives with a 1, 2, 3-triazolo-fused BA structure have been shown to be potent inhibitors of HCoV-229E nsp15 replication by Naesens and co-workers [29]. Encouraged by these results, we decided to investigate if BA and its derivatives will also have anti-SARS-CoV-2 activity *in vitro*.

Here, we report identification of a class of SARS-CoV-2 fusion inhibitors with a 3-O- β -chacotriosyl BA structure based on the hit BA-1. We describe their hit-to-lead modification, structure–activity relationship (SAR), and the mechanistic findings, giving rise to the lead compound BA-4 that can directly target S protein as a novel Omicron fusion inhibitor. These biological data consisted well with the binding model that we obtained by the lead compound BA-4 docking in the Omicron S protein structure, which was supported by site-specific mutation. We demonstrate that the interface in Omicron S where the lead BA-4 binds, can be as a potential target for developing Omicron and other SARS-CoV-2 fusion inhibitors.

2. Results and discussion

2.1. Chemical synthesis

Compound BA-1 was prepared according to our previous procedure [34]. The synthetic routes for title compounds BA-3 – BA-16 and amide analogs BA-N-1 as well as BA-N-2 were illustrated in Scheme 1. Esterification of BA with benzyl bromide in the presence of potassium carbonate afforded the known intermediate 8 [35]. 3 β -acetoxyilup-20 (29)-ene-3, 28-diol 9 [36] was obtained from the commercially available betulin following literature procedures. The TfOH catalyzed coupling reaction between 9 and benzyl 2, 2, 2-trichloroacetimidate furnished benzyl-substituted ether 10, which then went through the hydrolysis reaction under basic conditions (LiOH) to yield the intermediate 11.

With glycosyl acceptor 8 or 11 as well as the known the glycosyl donor 2, 3, 4, 6-tetra-O-benzoyl-D-glucopyranosyl trichloroacetimidate 12 [30] in hand, TMSOTf-catalyzed glycosylations were performed to provide compound 13 or 14, followed by the hydrolysis reaction under basic conditions (CH_3ONa in MeOH) to yield 3-O- β -glucopyranoside 15 or 16, respectively. Subsequently, the pivaloyl (Piv) group could be selectively installed at the 3, 6-OHs of the β -glucopyranosyl residues in 15 or 16 at a controlled low temperature to afford 17 or 18, respectively.

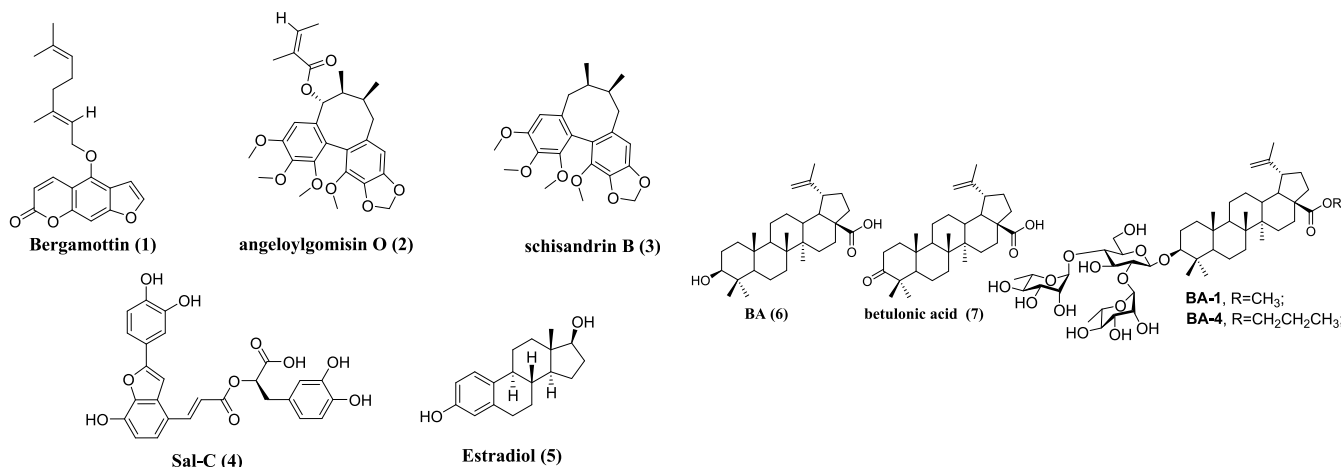
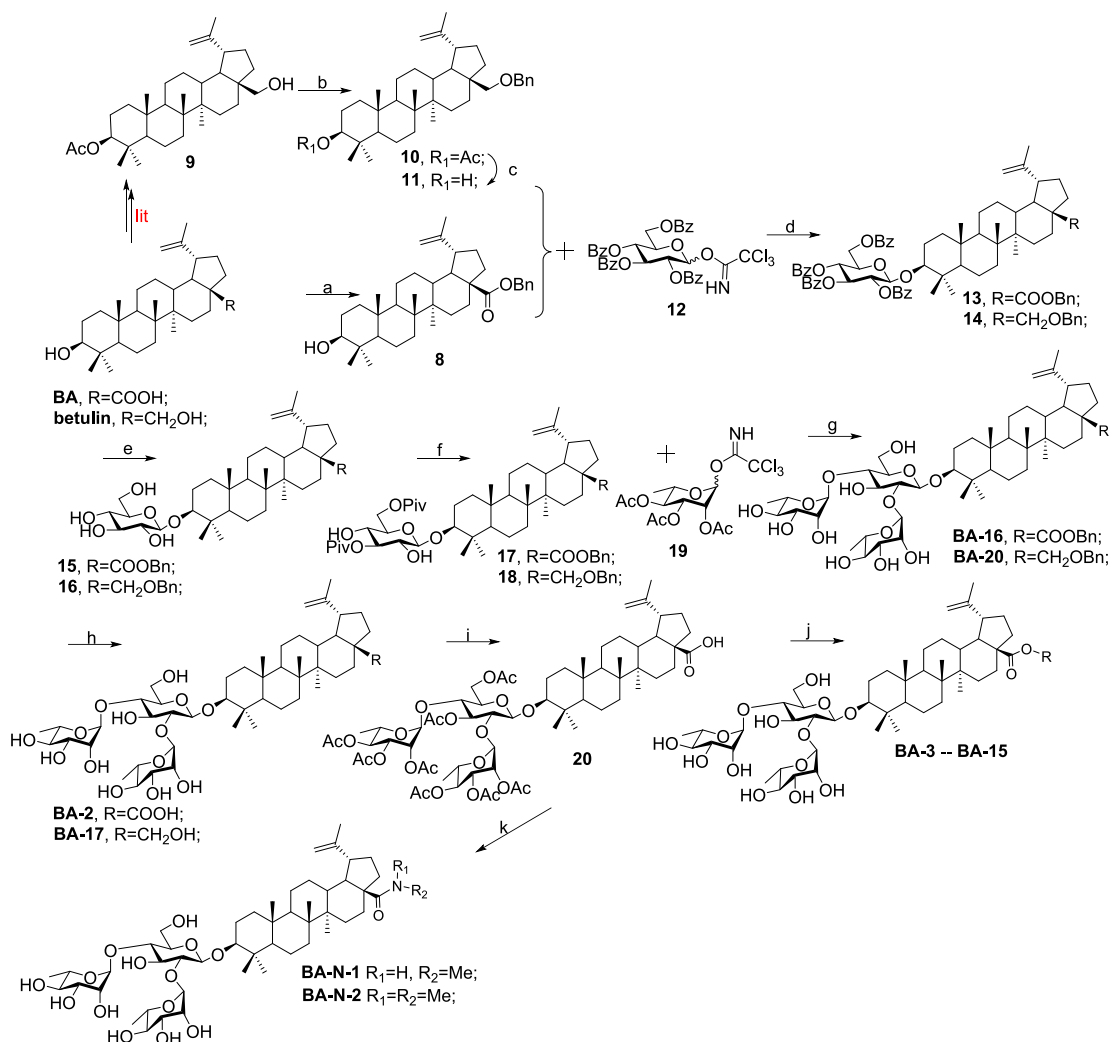


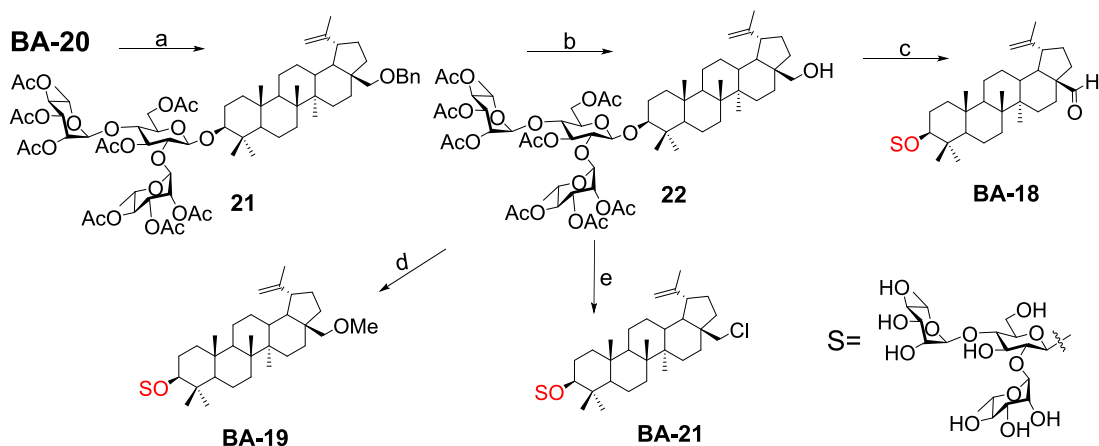
Fig. 1. A. Chemical structures of representative small-molecule SARS-CoV-2 fusion inhibitors 1–5 Fig. 1B. Chemical structures of betulonic acid 6, betulonic acid 7, the hit compound BA-1 and the lead compound BA-4.



Scheme 1. Reagents and conditions: (a) BnBr, K₂CO₃, DMF; (b) benzyl 2, 2, 2-trichloroacetimidate, TFOH, CH₂Cl₂; (c) LiOH, THF-MeOH-H₂O; (d) TMSOTf, 4 Å Ms, CH₂Cl₂; (e) CH₃ONa, MeOH; (f) PivCl, CH₂Cl₂; (g) (i) TMSOTf, 4 Å Ms, CH₂Cl₂; (ii) NaOH, MeOH-THF-H₂O; (h) 10 % Pd/C, H₂, MeOH-THF; (i) (i) Ac₂O, DMAP, pyridine; (j) (i) various bromide alkanes, K₂CO₃, DMF; (ii) CH₃ONa, MeOH; (k) (i) (COCl)₂, CH₂Cl₂ (ii) R₁R₂N•HCl, Et₃N, CH₂Cl₂; (iii) CH₃ONa, CH₃OH.

With the glycosyl donor 2, 3, 4-tri-*O*-acetyl-L-rhamnopyranosyl trichloroacetimidate **19** [30] and acceptor **17** or **18**, the glycosylation reaction was then performed under TMSOTf activation to provide crude trisaccharides, followed by sodium hydroxide (NaOH)-mediated

deprotection to give the title compound **BA-16** or **BA-20**, respectively. Using 10 % Pd/C as a catalyst, hydrogenolysis of the benzyl group in **BA-16** or **BA-20** was carried out smoothly to provide the title saponin **BA-2** or **BA-17**, respectively. Then the intermediate **20** was obtained from **BA-**



Scheme 2. Reagents and conditions: (a) Ac₂O, DMAP, pyridine; (b) 10 % Pd/C, H₂, MeOH-THF; (c) (i) PCC, CH₂Cl₂; (ii) CH₃ONa, MeOH; (d) (i) CH₃I, Ag₂O, ACN; (ii) CH₃ONa, MeOH; (e) (i) SOCl₂, CH₂Cl₂; (ii) CH₃ONa, MeOH.

2 through a direct acetylation reaction with acetic anhydride, which served as the coupling partner for subsequent diversifications, respectively. Under the basic conditions, the corresponding alkyl residues were incorporated at the C-28 position of BA in **20**, followed by removing all the acetyl groups using the similar method as **15** and **16** to afford the subseries **BA-3** – **BA-15** (Table 2), with different hydrophobic substituents at the C-28 position of BA core. On the other hand, **20** was treated with oxalyl chloride to furnish 28-acyl chloride, which was then condensed with appropriate amines, followed by removal of all the Ac groups with MeONa to give the corresponding target saponins **BA-N-1** and **BA-N-2**, respectively.

The following attempts were made to decorate the hydroxymethylene moiety at the C-17 position of **BA-17** to expand our chemical diversity. As depicted in Scheme 2, treatment of **BA-20** with acetic anhydride as did **20** gave rise to **21**, followed by hydrogenolysis of the benzyl group in **21** over palladium/carbon to yield the important intermediate **22**, which served as the starting partner for subsequent diversifications, respectively. On the one hand, **BA-17** was converted to the corresponding aldehyde **BA-18** by reaction of **22** with the freshly prepared PCC reagent, which then undergo hydrolysis reaction with CH₃ONa similarly as compounds **15** and **16**. On the other hand, nucleophilic substitution of **22** with methyl iodide, followed by CH₃ONa-mediated deprotection of all Ac groups gave rise to **BA-19**. In addition, by treating with thionyl chloride, compound **22** was readily converted into chlorides, of which all the Ac groups were then hydrolyzed using CH₃ONa to afford the title saponin **BA-21**.

2.2. Hit discovery

Previous screening efforts focused on human CoVs (SARS-CoV, HCoV-229E) and consequently revealed these BA-based molecules with potential could inhibit SARS-CoV-2 or other variants in the SARS-CoV-2 family. Since the chacotrioside moiety, a 2, 4-branched trisaccharide residue, has been characterized as an antiviral-privileged fragment [30,31], we supposed that introducing this moiety into BA might enhance the potency of pharmacologically active molecules. Thus, we decided to fuse this unique fragment to BA at the C-3 position, giving rise to the saponin **BA-1** (Fig. 1B). Initial attempts to confirm the inhibitory effects of BA and **BA-1** on infectious SARS-CoV-2 virus (wuhan-HU-1 variant) were made in a BSL-3 facility, wherein we determined their EC₅₀ values against authentic SARS-CoV-2 in Vero-E6 cells using a full-time treatment model. Encouragingly, **BA-1** proved to be a highly effective SARS-CoV-2 inhibitor with an EC₅₀ value of 0.51 μM, which did not exhibit cytotoxicity against Vero E6, even at a concentration of 50 μM (Fig. 2A). This data demonstrated that **BA-1** might interfere only slightly with the growth of Vero E6 cells and could inhibit specifically SARS-CoV-2 in cell cultures. In contrast to **BA-1**, the starting compound BA was virtually inactive (Table 1), implying that the privileged

Table 1
anti-SARS-CoV-2 and inhibitory activities against 3CL of BA and **BA-1**.

Compound	Anti-SARS-CoV-2 EC ₅₀ ^a (μM)	inhibition rate against 3CL (%) ^b		
		100	50	25
BA	>20	72.2	51.4	30.2
BA-1	0.51 ± 0.19	31.3	22.6	18.5
Ebselen	0.08 ± 0.01	98.5	97.6	96.2

^a The samples were examined in Vero-E6 cells in triplicate. Vero-E6 cells were incubated with test compounds and SARS-CoV-2 (wuhan-HU-1 variant), and the concentration of test compound resulting in 50 % cell protection was reported as the EC₅₀. Values are the mean of three experiments, presented as the mean ± standard deviation (SD). ^b Inhibitory rate against 3CL based on the FRET assay. Data are expressed as the mean ± SD of three experiments.

β-chacotriosyl moiety is critical for the anti-SARS-CoV-2 activity. Briefly, these results suggested that the 3-*O*-β-chacotriosyl betulonic acid methyl ester **BA-1** possessed excellent efficiency against SARS-CoV-2 and promising safety, which should be identified as a hit for further development.

Due to its pivotal role in the SARS-CoV-2 life cycle that is involved in the viral maturation process to cleave the virus-encoded polyproteins, the 3CL protease has become a key target for discovery of anti-SARS-CoV-2 agents. It has been confirmed that BA possessed moderate inhibitory effects on SARS 3CL protease activity with an IC₅₀ value of 10 μM [28]. SARS 3CL and SARS-CoV-2 3CL are structurally similar members of the human CoV family, sharing high homology and similarity in sequences, structures, and functions [32]. Thus, in parallel, these two compounds were also evaluated for inhibition of SARS-CoV-2 3CL protease activity based on a quenched fluorescence energy transfer (FRET) method where Ebselen was used as a positive control. As expected, BA displayed an acceptable enzyme inhibitory effect, especially at a high concentration 100 μM (Table 1). In contrast, **BA-1** only exhibited weak inhibitory ability with a 31.3 % inhibition rate at 100 μM, consistent with a low equilibrium dissociation constant (*K_D*) value of 46.3 μM (Fig. 2B) on the basis of a surface plasmon resonance (SPR) analysis, suggesting that **BA-1** inhibited replication of SARS-CoV-2 through a different mechanism or pathway from BA and the positive control Ebselen. Collectively, these results demonstrate that **BA-1** has a potent anti-SARS-CoV-2 activity with a high selectivity index in cell culture models but its antiviral potency is independent of inhibition toward 3CL protease.

2.3. Target identification

Evidence from several reports has illustrated that BA derivatives could effectively interfere with the fusion of the incoming virus to the host cell membrane to block HIV/H5N1/SARS and other viral entry into

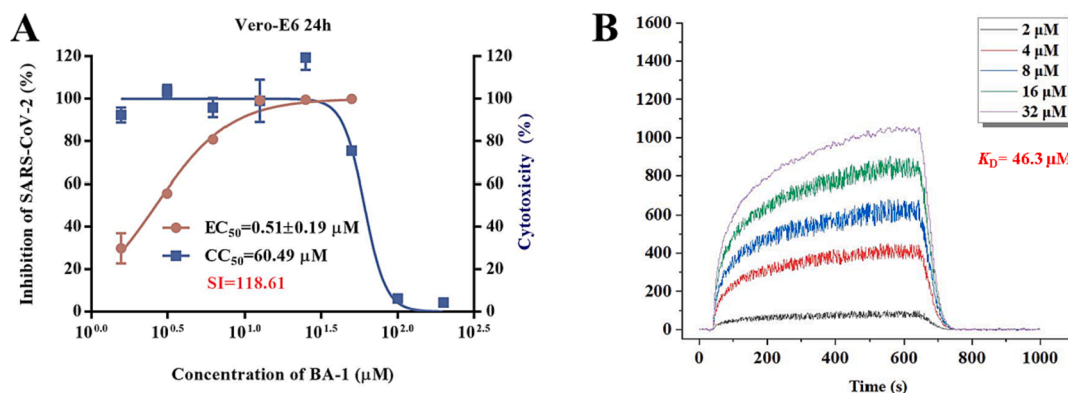
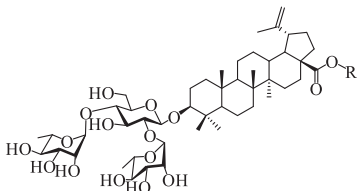
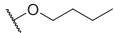
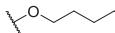
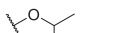
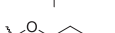
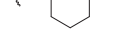
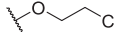
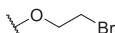
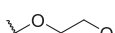


Fig. 2. (A) Evaluation on cytotoxicity of **BA-1** and inhibitory activity against authentic SARS-CoV-2 virus (wuhan-HU-1 variant) infection in Vero-E6 cells. (B) SPR analysis of the interaction between **BA-1** with SARS-CoV-2 3CL.

Table 2Inhibitory activities of saponins **BA-1**–**BA-16** against infection of 293 T-ACE2 cells by pSARS-CoV-2.

Compound	R	EC ₅₀ ^a (μM)	CC ₅₀ ^b (μM)	SI ^c
BA-1	CH ₃	4.64 ± 0.52	40.88 ± 0.25	8.81
BA-2	OH	> 20.00	NT	NT
BA-3	Et	3.70 ± 0.72	36.12 ± 1.05	9.76
BA-4	<i>n</i> -propyl	3.12 ± 0.40	39.13 ± 0.73	12.54
BA-5		6.42 ± 0.20	76.49 ± 1.23	11.91
				
BA-6		5.37 ± 0.37	24.36 ± 0.33	4.54
BA-7		5.54 ± 0.81	16.39 ± 0.19	2.96
BA-8		6.05 ± 0.38	47.25 ± 0.63	7.81
BA-9		> 20.00	NT	NT
BA-10		7.67 ± 0.31	51.81 ± 1.35	6.75
BA-11		9.03 ± 0.56	46.12 ± 0.31	5.11
BA-12		> 20.00	NT	NT
BA-13		8.61 ± 0.47	36.21 ± 0.75	4.21
BA-14		8.23 ± 0.55	84.62 ± 0.76	10.28
BA-15		15.90 ± 0.82	75.52 ± 1.63	4.75
BA-16		3.13 ± 0.42	12.79 ± 0.25	4.09
Sal-C	/	4.06 ± 0.51	>100.00	>24.63

^a The samples were examined in 293 T-ACE2 cells in triplicate. 293 T-ACE2 cells were incubated with test compounds and pSARS-CoV-2, and the concentration of test compound resulting in 50 % cell protection was reported as the EC₅₀. Values are the mean of three experiments, presented as the mean ± standard deviation (SD).

^b 50% cellular cytotoxicity concentration (CC₅₀). ^cSI: selectivity index as CC₅₀/EC₅₀.

test cells in the low micromolar range [28,33]. Considering the similarity between the viral fusion proteins such as gp41/HIV-1, HA2/H5N1, GP/EBOV and S2 of SARS-CoV-2, all of which play key roles in virus-induced membrane fusion, we speculated that a further anti-SARS-CoV-2 mechanism of **BA-1** might be the blocking of SARS-CoV-2 entry by inhibiting the membrane fusion, thereby disrupting viral entry into the host cells. To confirm our hypothesis, **BA-1** was firstly evaluated in a luciferase-expressing pseudovirus encoding SARS-CoV-2 S protein (pSARS-CoV-2) inhibition assay, which allowed for direct comparison of S protein function with a common lentiviral core and reporter [23]. Notably, we found that **BA-1** exhibited the similar capability in effectively inhibiting pSARS-CoV-2 as the positive control Sal-C, a small-molecule SARS-CoV-2 entry inhibitor previously shown to bind S directly [23], and the inhibitory effect was concentration-dependent with an EC₅₀ value of 4.64 μM (Fig. 3A). It was interesting that **BA-1** displayed not only negligible inhibition toward VSV-G pseudovirus (Fig. 3A) but also marginal cytotoxicity against 293 T-ACE2 cells (HEK293T cells overexpressing human angiotensin-converting enzyme 2) within the effective concentration range (Fig. 3B). These results highlighted that **BA-1** could exert inhibitory activity against SARS-CoV-2 entry by targeting the S protein and the similarity in the potency of **BA-1** between the pseudovirus and infectious virus assays supported the validity of the S/HIV-based anti-SARS-CoV-2 assay used in 293 T-ACE2 cells.

Having identified S as the potential target, we then utilized the cell–cell fusion assay mediated by SARS-CoV-2 S protein to explore

whether **BA-1** had any effect on the viral membrane fusion, the critical step for entry of SARS-CoV-2 viruses into host cells for initiation of virus infection. As shown in Fig. 3C, **BA-1** was identified to potently interfere with the membrane fusion of S-overexpressed-HEK293T and Vero-E6 cells in a marked dose-dependent manner at 24 h, demonstrating that its antiviral potency apparently involved action on SARS-CoV-2 S-mediated membrane fusion. Taken together, **BA-1** represents a novel SARS-CoV-2 fusion inhibitor, which was selected as a promising structure for further research and optimization.

2.4. Proposed binding mode of hit to the spike protein

In view of SARS-CoV-2 S as the important target and the membrane fusion interaction between virus and host cells as the critical interruption event, we performed blind docking calculations based on the X-ray crystal structures of SARS-CoV-2 S (PDB code: 6VXX) to investigate the potential binding site. A proposed binding mode of **BA-1** was established (Fig. 4), which indicated that **BA-1** could occupy well a cavity between the S1 and S2 subunits at the entrance to a large tunnel that links with equivalent tunnels from the other monomers of the trimer at the threefold axis. As shown in Fig. 4, at the upper region of the cavity, the hydrophilic chactriosyl residue of **BA-1** made multiple stable hydrogen bonds with the backbone of residues Thr961, Leu303, Arg765, and Lys964 to result in increased interaction with S, further supporting the proposition that the trisaccharide moiety was vital to improve antiviral activity. Hydrophobic pentacyclic triterpenoid skeleton of **BA-**

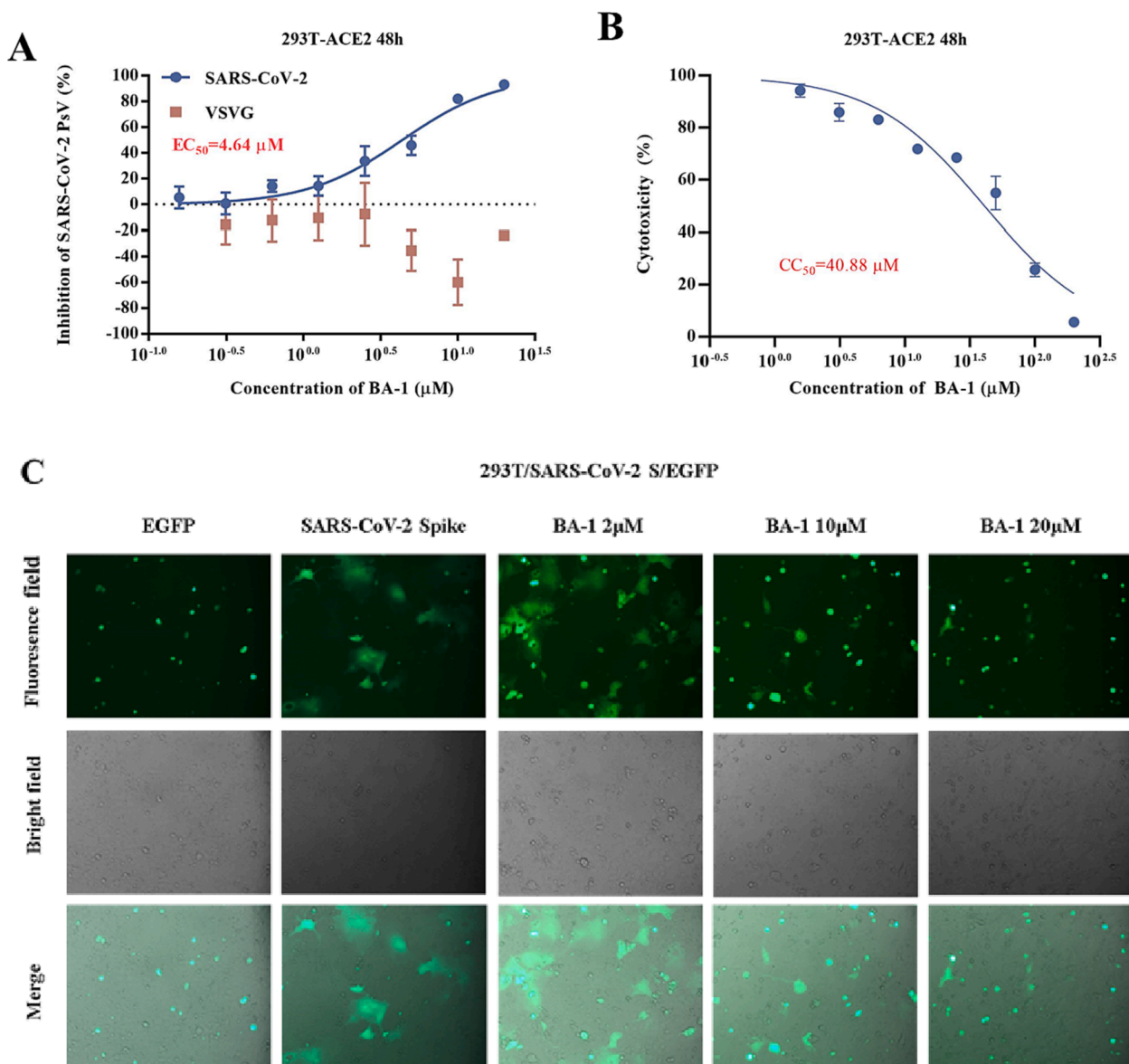


Fig. 3. (A) Dose-response curves and EC₅₀ of BA-1 on inhibiting the entry of SARS-CoV-2 PsV and VSVG in 293 T-ACE2 cells. (B) Evaluation on cytotoxicity of BA-1 in 293 T. (C) BA-1 inhibited pSARS-CoV-2 infection by dose-dependent blocking of S-mediated membrane fusion.

1 occupied a large lipophilic region located in the middle of the cavity, creating a tight hydrophobic interaction with the side chain of Val772 to maintain the active conformation of BA-1.

To further confirm the above binding mode, we conducted the single amino acid mutagenesis of pSARS-CoV-2 S to understand the molecular basis of fusion inhibition by the hit BA-1. As indicated by the preliminary mutagenesis studies (Fig. 5), the pSARS-CoV-2 N764A/R765A/Q957A/K964 A mutations resulted in a significant loss of potency toward BA-1 in dose-dependent fashion relative to WT S. In short, the docking result, supported by the mutagenesis studies, led us to propose a potential SARS-CoV-2-S binding pose of BA-1, which reflected some characteristics that could guide subsequent structural modification and optimization.

2.5. Design of novel SARS-CoV-2 fusion inhibitors

The proposed mode analysis indicated that the hit BA-1 fitted well in the binding region, where important hydrogen-bond networks were observed between the chactriosyl moiety and the cavity. However, there was still some space for further modification to fit better in the

binding site. On the basis of the proposed mode, we identified a hydrophobic region under the aglycone core that is formed by D663, P665, V772, D775 and K776 residues. As depicted in Fig. 4, the C-17 position of BA-1 seemed well positioned to extend into this pocket but there is no chemical structure that can form stable interactions with this region. We reasoned that this cavity could be presumably occupied by an alternative bulky group like an ethyl ester substituent or another type of linear/ring structure to yield better intermolecular interactions to improve potency. Here, our strategy was to enhance antiviral activity by extending from the 17-position of the aglycone BA to fill the bottom area of the binding cavity. At the other side of the molecule, the β -chactriosyl fragment moiety probably needs to be kept since it forms multiple hydrogen bonds with S protein. It is noteworthy that most of the pocket residues are conserved, which highlights the relevance of this S interface pocket for new SARS-CoV-2 fusion inhibitors design. Briefly, we attempted to improve potency further by increasing steric bulk to more completely occupy this area of the binding pocket and derive additional hydrophobic contacts, which resulted in a set of 3-O- β -chactriosyl BA derivatives.

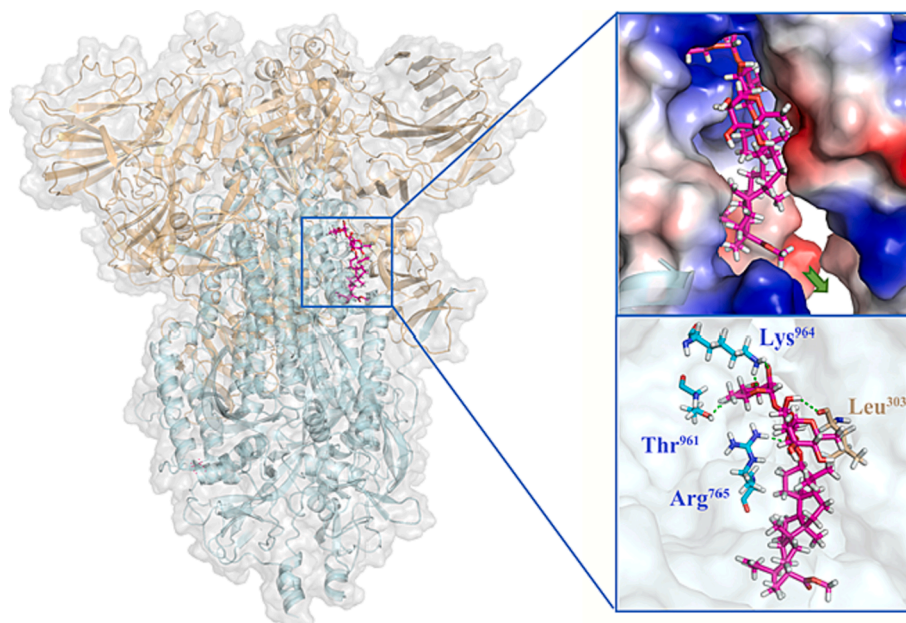


Fig. 4. Molecular docking of **BA-1** to spike protein (PDB: 6VXX). S1 subunit, S2 subunit, and **BA-1** were shown as orange ribbon, blue ribbon, magenta sticks, respectively. Green dashes in the interaction plot indicating hydrogen bond. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

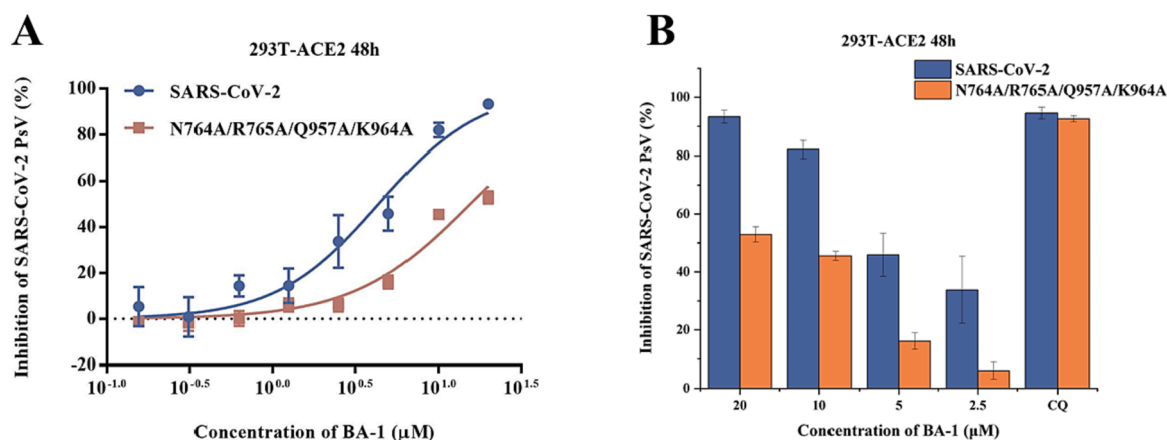


Fig. 5. (A) Inhibitions of **BA-1** against SARS-CoV-2 PsV and its mutants infections in 293 T-ACE2 cells, including N764A/R765A/Q957A/K964A. (B) Antiviral efficacy of **BA-1** against SARS-CoV-2 PsV mutants caused by site-directed mutation, including N764A/R765A/Q957A/K964A.

2.6. Sars of the BA saponins modified at 28-position

We focused our SAR campaign on investigating the alkyl groups at the C-28 position of BA, to a lesser extent, the linker at the C-17 position. Initially, we changed the ester moiety at the C-17 position of **BA-1** into amide moiety as its bioisosteric surrogates (compound **BA-N-1** and **BA-N-2**) to investigate their influence on biological activity. Unexpectedly, **BA-N-1** and **BA-N-2** showed significantly reduced inhibition against pSARS-CoV-2 entry relative to **BA-1** (Figure S1), presumably due to unfavorable conformation. For example, **BA-N-1** and **BA-N-2** only exhibited about 50 % inhibition rate against pSARS-CoV-2 at high concentration 20 μM . Thus, further amide modifications incorporated at the 17-position of BA were not pursued and we turned attention to the ester linker in this study. To identify novel and potent SARS-CoV-2 entry inhibitors, we performed a screen of the above two series of 3-O- β -chacotriosyl BA derivatives **BA-2**–**BA-16** based on the established pseudovirus model of SARS-CoV-2 (S/HIV) under low level containment (biosafety level 2) while VSVG/HIV pseudoviral transduction was used

as a specificity control to exclude inhibitory effect on post-entry for HIV infection. As shown in Table 2, the variety of structural modifications described herein, especially the incorporation of bulky alkyl or aryl substituents, furnished compounds either almost equipotent or more potent against pSARS-CoV-2 virus while no effects on VSVG (Figure S2). Among these analogs, the 28-*n*-propyl-substituted analogue **BA-4** showed the strongest inhibition toward pSARS-CoV-2 virus coupled with the highest selectivity index (SI = 12.54).

To continue probing interactions with the potential binding pocket, our initial efforts were made by changing the length, size or type of the fragments linked by ester group at the C-28 position of BA to fine-tune the hydrophobicity effects on the antiviral activities, exemplified by the analogs **BA-2**–**BA-16**. As illustrated in Table 2, the free carboxylic acid **BA-2** exhibited a significant decrease in potency against pSARS-CoV-2 relative to **BA-1** ($\text{EC}_{50} > 20.00 \mu\text{M}$), probably due to limited membrane permeability. Careful examination on the chemical structure of **BA-2** revealed that the carboxylic acid moiety may be responsible for its inferior cellular activities, which is known to negatively impact cell

membrane permeability. However, ethyl ester **BA-3** displayed a slight increased potency ($EC_{50} = 3.63 \mu\text{M}$) compared to **BA-1**. These findings reveal that the substitutions at the C-28 position of BA may play an important role in the drug-target interactions and appropriate C-28 substitutions are helpful in improving the antiviral potency, especially against SARS-CoV-2 virus. Based on the docking analysis, we inferred that this cavity could accommodate an alternative larger substituent than ethyl group and further chemical optimization at the side chain of **BA-1** probably led to more potent entry inhibitors. This hypothesis gave rise to analogs **BA-4–BA-8** (Table 2) with improved (**BA-4** vs **BA-1**) or maintained inhibitory activities. Notably, augmenting the length and hydrophobicity of R substituent with *n*-propyl group (**BA-4**) led to 1.5-fold enhanced inhibitory activity ($EC_{50} = 3.12 \mu\text{M}$) **BA-1**, rendering compound **BA-4** as the most potent candidate against pSARS-CoV-2 entry identified in the preliminary SAR optimization attempt. The improvement in potency may be attributed to the fact that the *n*-propyl group (**BA-4**) can occupy the binding pocket more because of its bigger bulk than methyl group to enhance the intermolecular hydrogen and hydrophobic interactions with SARS-CoV-2 S (see Fig. 9B). However, an increase in the length (**BA-5**, **BA-6** and **BA-7**) or volume (**BA-8**) of the hydrophobic side chain via the inclusion of a *n*-butyl, *n*-pentyl, *n*-hexyl or isopropyl moiety at the 28-position of BA did not lead to more active compounds but coupled with different effects on cytotoxicity against 293 T-ACE2 cells. For example, the replacement of methyl moiety with *n*-butyl group (**BA-5**) or isopropyl residue (**BA-8**) resulted in a slight drop in antiviral potency while there was concomitant decrease in cytotoxicity against 293 T-ACE2 cells. In contrast to compound **BA-5**, the replacement by longer *n*-pentyl (**BA-6**) or *n*-hexyl (**BA-7**) presented a 1.7- to 2.5-fold increased toxic while keeping similar anti-SARS-CoV-2 activities. These data suggest that the side chain length at the C-28 position of BA is a critical component of both antiviral activity and selectivity index for this chemotype. In addition to these linear alkyl residues, the substitution of the methyl group in **BA-1** with ring structures such as a cyclohexyl moiety generated **BA-9**, and surprisingly, the activity observed in pseudoviruses was entirely lost against pSARS-CoV-2 (Table 2). This data revealed that the volume size of R subsite was limited and this moiety was intolerant to cyclic alkyl chains. Collectively, these results demonstrated that a hydrophobic alkyl side chain with a length between 1 and 4 atoms at the position 28 of BA is optimal for inhibition against SARS-CoV-2 entry, which seems to accept a short and linear structure.

The encouraging antiviral profiles of compounds with small linear alkyl substituents, exemplified by **BA-3** and **BA-4** prompted an examination of introduction of functional groups into the preferred ethyl or *n*-propyl substituent to form additional potential interactions, exemplified by the analogs **BA-10–BA-16** (Table 2). With the exception of 2'-hydroxyl derivative **BA-12**, these analogs exhibited comparable or slightly reduced antiviral activity compared to **BA-4**, as a result, their potency was still potent enough to emphasize the significance of the modification of side chains attached to C-28 position of BA. Among this set of derivatives, chlorine derivative **BA-10** was more active than the corresponding bromine derivative **BA-11** though 2.4-fold decreased potency relative to **BA-4**. However, insertion of a hydroxyl group into ethyl moiety (**BA-12**) led to a total loss of potency, of while oxidic product **BA-13** could maintain comparable potency to **BA-1**, supporting the need for the general high hydrophobicity required for the side scaffold at the C-28 position of BA. To weaken cytotoxic activity, we incorporated in our chemical optimization campaign modifications to the preferred **BA-4** based on the conformational constraints strategy, anticipated to enhance selectivity index. As shown in Table 2, the incorporation of a rigid carbon-carbon double bond (**BA-14**) led to a 2.6-fold reduced potency coupled with remarkably decreased cytotoxicity compared to **BA-4**, thereby displaying a similar SI as **BA-4** but superior to **BA-1**. This result implied that the unsaturated fragment was tolerated on the alkyl side chain region in this set of SARS-CoV-2 entry inhibitors. In contrast to compound **BA-14**, the cyclized derivative **BA-15** suffered a significant

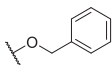
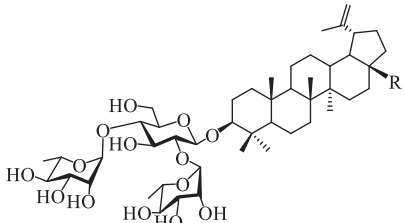
4.9-fold loss of inhibition against pSARS-CoV-2 probably due to steric clashes with S protein, though it displayed reduced cytotoxicity as did **BA-14**. To address this gap, we hypothesized that it was better to incorporate the cyclized aromatic group through a flexible linker at the C-28 position of BA to form additional interaction with S protein. As expected, benzyl ester (**BA-16**) demonstrated comparable potency to **BA-4** against pSARS-CoV-2 ($EC_{50} = 3.13 \mu\text{M}$) while showing increased cytotoxicity. As seen in Fig. S3A, the docking model demonstrated that the introduced benzyl moiety was extended to the inside of hydrophobic pockets and formed tight Van der Waals interactions with Pro665 and Val772 residues, and thus made a good functional ligand-protein interaction. In short, these results again emphasize the importance of the property, type, and size of the R substituent at the C-28 position of BA for exhibiting inhibition against pSARS-CoV-2.

2.7. Sars of the betulin derivatives

For better orientation of the tail region of **BA-1** into the new hydrophobic pocket, we then shifted our focus onto the more flexible ether linker moiety at the 17-position of BA. Firstly, we proceed to investigate the effect of the 17-COOH of BA on the anti-SARS-CoV-2 activity through reduction of the carboxyl group. As depicted in Table 3, the betulin saponin **BA-17** displayed no potencies in cellular assays as did the unsubstituted acid analogue **BA-2**, supporting the highly hydrophobic nature of the potential new SARS-CoV-2-S binding site. Interestingly, further optimization for potencies through oxidation of hydroxyl group at the 28 position of **BA-17** was achieved in betulinaldehyde saponin **BA-18** with an EC_{50} value of $5.12 \mu\text{M}$, which indicated the requirement of the hydrophobic properties at the 17 position of the aglycone skeleton to maintain highly potent inhibitory activity against pSARS-CoV-2. The observation prompted us to examine the potential of more hydrophobic modification around the hydroxyl group in betulin at the 28 position. Therefore, a small set of 3-*O*- β -chacotriosyl betulin derivatives **BA-19–BA-21** differing only in the substituent at the 17 position were picked for the preliminary SARs study. Although a bit less potent than the ester analogue **BA-1**, methyl ether of OH (**BA-19**) induced a markedly increase in inhibitory activity relative to **BA-17**, again highlighting that the enhancement of potency appeared to be correlated to the lipophilicity of the substituents at the 17 position. Interestingly, the introduction of benzyl group at the 28-position of **BA-17** yielded compound **BA-20** with moderate potency, which was 4.81-fold less active than its benzyl ester analogue **BA-16**. As seen in Fig. S3B, reduction of carbonyl group to methylene resulted in more flexible conformation of side chain linked at the 28 position, which would not stabilize the BA skeleton orientation and make the head chacotriosyl moiety shift toward the inside of the binding cavity, thus failing to form hydrogen bond with the critical residue Lys964. Since the hydrophobic interaction between the side chain and the new hydrophobic pocket was critical for increased potency of these SARS-CoV-2 entry inhibitors, we attempted to enhance the hydrophobic interaction by replacing hydroxyl group at the 28 position of **BA-17** with one chlorine atom to produce **BA-21**. Surprisingly, **BA-21** presented a substantial increase in SARS-CoV-2 entry inhibitory potency though it exhibited poor SI because of high toxic. One possible reason for the increased antiviral activity of **BA-21** was that the incorporation of chlorine atom into the end of the side chain at the 28 position led to a greater binding interaction energy with the active pocket in the S protein, as illustrated in Fig. S3C. This result reinforced the importance of the chlorine atom as a versatile design element for lead optimization while needing to balance between the potency and cytotoxicity.

Taken together, through our SARs effort, we discovered that the introduction of hydrophobic side chain at the 17 position of the aglycone BA was favorable to enhance anti-SARS-CoV-2 activities as a result of increased interaction with S. In the present SARs study, the type of linker at the 17 position of the aglycone may affect the preferential binding conformation between saponins and the S protein, which in turn affects

Table 3Inhibitory activities of saponins **BA-17**–**BA-21** against infection of 293 T-ACE2 cells by pSARS-CoV-2.

Compound	R	EC ₅₀ ^a (μM)	CC ₅₀ ^b (μM)	SI ^c
BA-17		>20.00	NT	NT
BA-18		5.12 ± 0.31	29.86 ± 0.22	5.83
BA-19		11.38 ± 1.41	34.18 ± 0.93	3.01
BA-20		15.07 ± 1.05	96.20 ± 1.88	6.38
BA-21		3.53 ± 0.18	15.01 ± 0.24	4.25
Sal-C	/	4.06 ± 0.51	>100.00	>24.63

^a The samples were examined in 293 T-ACE2 cells in triplicate. 293 T-ACE2 cells were incubated with test compounds and pSARS-CoV-2, and the concentration of test compound resulting in 50 % cell protection was reported as the EC₅₀. Values are the mean of three experiments, presented as the mean ± standard deviation (SD).

^b 50% cellular cytotoxicity concentration (CC₅₀). ^c SI: selectivity index as CC₅₀/EC₅₀.

inhibitory potency toward pSARS-CoV-2. Similarly, the intensity of the hydrogen bond between the chactriosyl residue and the binding pocket as well as hydrophobic interaction formed by the aglycone with S may also change due to the introduction of the different substituent group at the 28 position, which will lead to changes in compound activity. In addition, the potency change was probably attributed to various factors including the length, volume and type of the substituent group at the 28 position, not just the hydrophobic properties. In general, the substitution of short and small-volume hydrophobic groups did improve the inhibitory effects of these saponins. Among them, **BA-4** stood out with the most potent antiviral activity *in vitro* and best selectivity index, rendering compound **BA-4** as the lead compound against SARS-CoV-2 entry identified in the SARs optimization attempt.

2.8. Broad inhibitory activities against Omicron and other variants

More recently, the emerged Omicron and Delta variants that bear multiple mutations in their S proteins have exhibited increased adaptability and transmissibility. The good potencies of representative compounds **BA-1** and **BA-4** against pSARS-CoV-2 prompted us to examine the inhibitory activity of these two saponins against emerging variants such as Omicron, Delta, and other variants with N501Y, D614G, E484K, or P681H single mutation in their S proteins, respectively. As shown in Table 4, the broad antiviral effects of **BA-1** and **BA-4** against these SARS-CoV-2 pseudoviruses containing multiple mutations in S protein were observed in micromole levels, implying that these newly developed BA

Table 4Inhibitory activities of **BA-1** and **BA-4** against Omicron pseudovirus and other variants.

varians comps	EC ₅₀ ^a (μM)					
	Omicron	Delta	N501Y	D614G	E484K	P681H
BA-1	7.04 ± 0.35	8.79 ± 0.22	5.84 ± 0.60	7.70 ± 0.41	8.41 ± 0.63	9.62 ± 0.50
BA-4	4.66 ± 0.52	4.25 ± 0.37	2.73 ± 0.31	3.01 ± 0.25	4.75 ± 0.58	5.19 ± 0.86

^a The samples were examined in 293 T-ACE2 cells in triplicate. 293 T-ACE2 cells were incubated with test compounds and pSARS-CoV-2, and the concentration of test compound resulting in 50 % cell protection was reported as the EC₅₀.

saponins are broad-spectrum anti-SARS-CoV-2 agents that can block the S-mediated SARS-CoV-2 entry process. Notably, saponins **BA-1** and **BA-4** demonstrated comparable potency against Omicron pseudovirus to pSARS-CoV-2 with EC₅₀s of 7.04 μM and 4.66 μM, which was in good agreement with the SARs. Briefly, broad and appreciable inhibition of viral entry for all pSARS-CoV-2 variants tested, along with good selectivity index, highlights the lead compound **BA-4** as a potential antiviral candidate for the treatment of Omicron infections.

2.9. Validation of Omicron s binding

Given the robust activity of the lead compound **BA-4** against Omicron, we used this virus to reveal its mechanism of action and appreciate how its anti-SARS-CoV-2 was. To explore whether the findings in the present SARS-CoV-2 study could be extended to Omicron, a similar VSV-based Omicron S protein-bearing pseudovirus (pv) was firstly used to assess the efficacy of **BA-4** on virus entry. As shown in Fig. 6A, **BA-4** exhibited a dose-dependent inhibition of Omicron pv infection while no inhibition was observed on VSV-G pseudoviral transduction. Moreover, it was found that **BA-4** showed strong binding affinity to S of Omicron variant with a K_D value of 0.36 μM based on a SPR assay (Fig. 6B), demonstrating that **BA-4** could directly target the Omicron S protein to block virus entry into hose cells.

2.10. BA-4 could mediate membrane fusion of viral entry

Omicron entry into host cells can divided into two major steps: virus attachment to host cell receptor and virus-cell membrane fusion. As the lead compound **BA-4** could inhibit Omicron entry into hose cells by targeting S, we further dissected which steps were blocked by **BA-4**. As shown in Fig. 7A, **BA-4** displayed little effect on the interaction of Omicron S1 subunit with its ACE2 receptor based on a Co-Immunoprecipitation (Co-IP) assay, the critical step for recognition and attachment of Omicron to host cells for initiation of virus infection, suggesting that **BA-4** may be acting during Omicron S2 mediated fusion stage. Notably, **BA-4** was able to interfere with the membrane fusion of A549 cells mediated by Omicron S in a concentration-dependent fashion (as seen in Fig. 7B), supporting our hypothesis. Interestingly, we found that **BA-4** bound strongly to the Omicron S2 subunit, displaying a potent dose-dependent response, with a much higher K_D value of 85.2 pM (Fig. 7C) relative to S; no specific binding to Omicron S1 subunit was

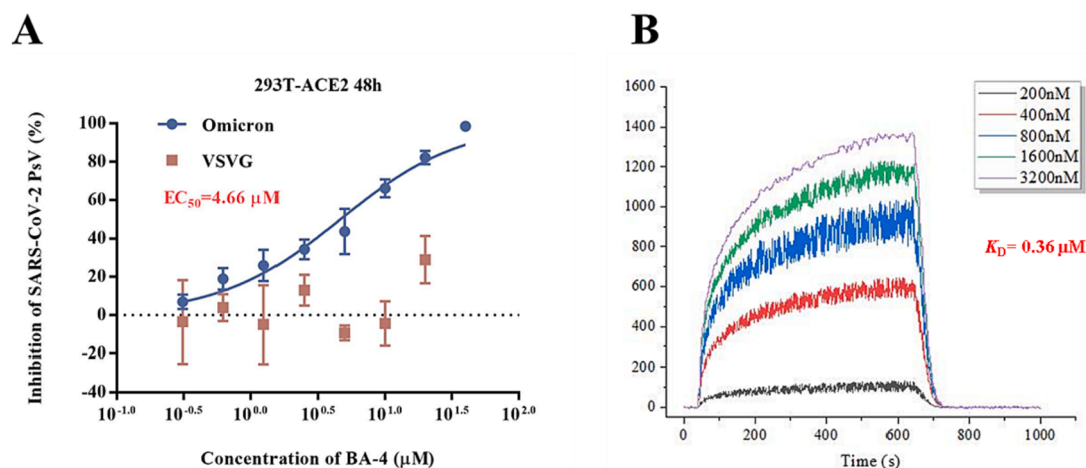


Fig. 6. (A) Dose-response curves and EC₅₀ of BA-4 on inhibiting the entry of Omicron and VSV-G in 293 T-ACE2 cells. (B) SPR analysis of the interaction between BA-4 with Omicron S-trimer.

found for BA-4 in the parallel experiment (Fig. 7D). Taken together, these results revealed that the lead compound BA-4 had a specific affinity to S2, and thus interfered with the viral and cell membrane fusion, by which Omicron entry into host cells could be blocked.

2.11. BA-4 could target the prefusion state during viral-host fusion

Receptor engagement by RBD will induce conformation change of Omicron S2 subunit from the pre-fusion state to a post-fusion trimer-of-hairpins conformation to result in viral membrane fusion, where the 6-HB structure formed by HR1 and HR2 regions in the S2 subunit has been identified as a critical element of the trimer-of-hairpins [18]. For a better understanding of possible mechanism during the fusion of Omicron with cellular membranes treated by BA-4, we determined the biophysical change of 6-HB by using circular-dichroism (CD) spectroscopy as described before [23]. Unlike Sal-C that can target the 6-HB of SARS-CoV-2 (Figure S4), BA-4 had negligible effect on inhibiting viral 6-HB formation (Fig. 8), demonstrating that BA-4 exerted potent inhibitory effect on Omicron-cell membrane fusion by the different action mechanism from Sal-C. Based on these data, we speculated that a further anti-Omicron mechanism of BA-4 might be the maintaining S protein in the pre-fusion step during the fusion of virus particle into host cells to inhibit Omicron entry.

To investigate the potential binding mode of our new compounds, selected BA-4 was docked into Omicron S (PDB code: 7TF8) that is physically blocked in the pre-fusion state. As depicted in Fig. 9A, at the head region, stable hydrogen bonds between the β -chacotrioxyl moiety and Lys964, Thr761, Arg765, Thr302, Glu309 as well as Leu303 are formed to create a critical interaction with the Omicron S protein, which is conducive to stabilizing the pre-fusion state of S to prevent its conformational rearrangements. In the center of the binding pocket, BA aglycone makes multiple Van der Waals interactions with Arg765, Val772, Pro665 and Ile312 residues, which is helpful in maintaining the active conformation of BA-4. In the underpart region, the *n*-propyl side chain at the 28 position of BA forms additional hydrophobic contacts with Lys310, validating that extension of methyl side chain in BA-1 is contributing positively to binding with S. Consistent well with this result, BA-4 adopts the similar binding mode with SARS-CoV-2 S (Fig. 9B), suggesting that there is a general similarity between the structure of the SARS-CoV-2 S binding pocket and that of other variants bearing S mutants. While a hydrophobic interaction between Lys310 in the binding cavity and the *n*-propyl residue appears to be weakened, both chacotrioxyl moiety and BA skeleton of BA-4 are able to be involved in multiple similar interactions with Lys964, Leu303, and other residues in this corresponding hydrophobic pocket as that with Omicron

S. Thus, we hypothesize that the observed broad inhibition against pSARS-CoV-2 Omicron and other variants maybe results from the similar binding mode in this region with corresponding S protein. Taken together, the high conservation of residues located in this binding cavity among different SARS-CoV-2 strains, makes this cavity an ideal target for designing novel SARS-CoV-2 fusion inhibitors that can disrupt the the viral and cell membrane fusion to display broad antiviral activities.

2.12. Site-specific mutation of Omicron-S supports s binding as blocking inhibition of viral entry

Based on the CD spectroscopy and docking analysis, the potential mechanism of antiviral activity of the lead compound BA-4 against SARS-CoV-2 is more intriguing as BA-4-binding site is physically blocked in the Omicron-S prefusion state. We next used the single amino acid mutagenesis of pOmicron S to confirm our hypothesis, where the representative residues K964 and R765 in the fusion loop of conserved S2 subunit were evaluated. When compared to WT Omicron, pOmicron S mutant K964A caused a right shift and an over 2.5-fold loss of potency in response to BA-4 (Fig. 10A). Similarly, the pOmicron S mutant R765A showed only a modest right shift of the dose-response curve, possibly due to weaker hydrogen bond between R765 and S relative to K964 as seen in Fig. 9A. Furthermore, the similar trend of the response to BA-1 in the pOmicron S mutant K964A or R765A was observed (Fig. 10B). The SARs and docking, supported by the mutagenesis studies, confirmed the binding of BA-4 to the site near the key residue K964 in the binding cavity between the attachment (S1) and fusion (S2) subunits.

2.13. Compound BA-4 exhibited promising liver microsomes, intestinal S9-UDPGA and stability in mouse plasma

Given that the lead compound BA-4 displayed broad and promising anti-SARS-CoV-2 activities *in vitro*, we further evaluated the stability of BA-4 *in vitro* metabolic stability in mouse liver, mouse intestinal S9-UDPGA and in mouse plasma, respectively. First, we evaluated the metabolic stability of BA-4 in a mouse liver microsomes assay while propafenone with moderate metabolic stability was used as the control compound. As depicted in Table 5, compound BA-4 displayed acceptable metabolic stability with a half-life value of 16.1 min in mouse liver microsomes, which was superior to 6.8 min of propafenone. Meanwhile, BA-4 also exhibited reasonable clearance rates with the intrinsic clearance (CL) value of 59.3 μ L/min/mg, which was 4-fold lower than that of propafenone in the same assay (CL = 201.6 μ L/min/mg). In addition, the stability of BA-4 in mouse intestinal S9-UDPGA was also evaluated where clozapine was tested for comparison. Notably, 35 showed

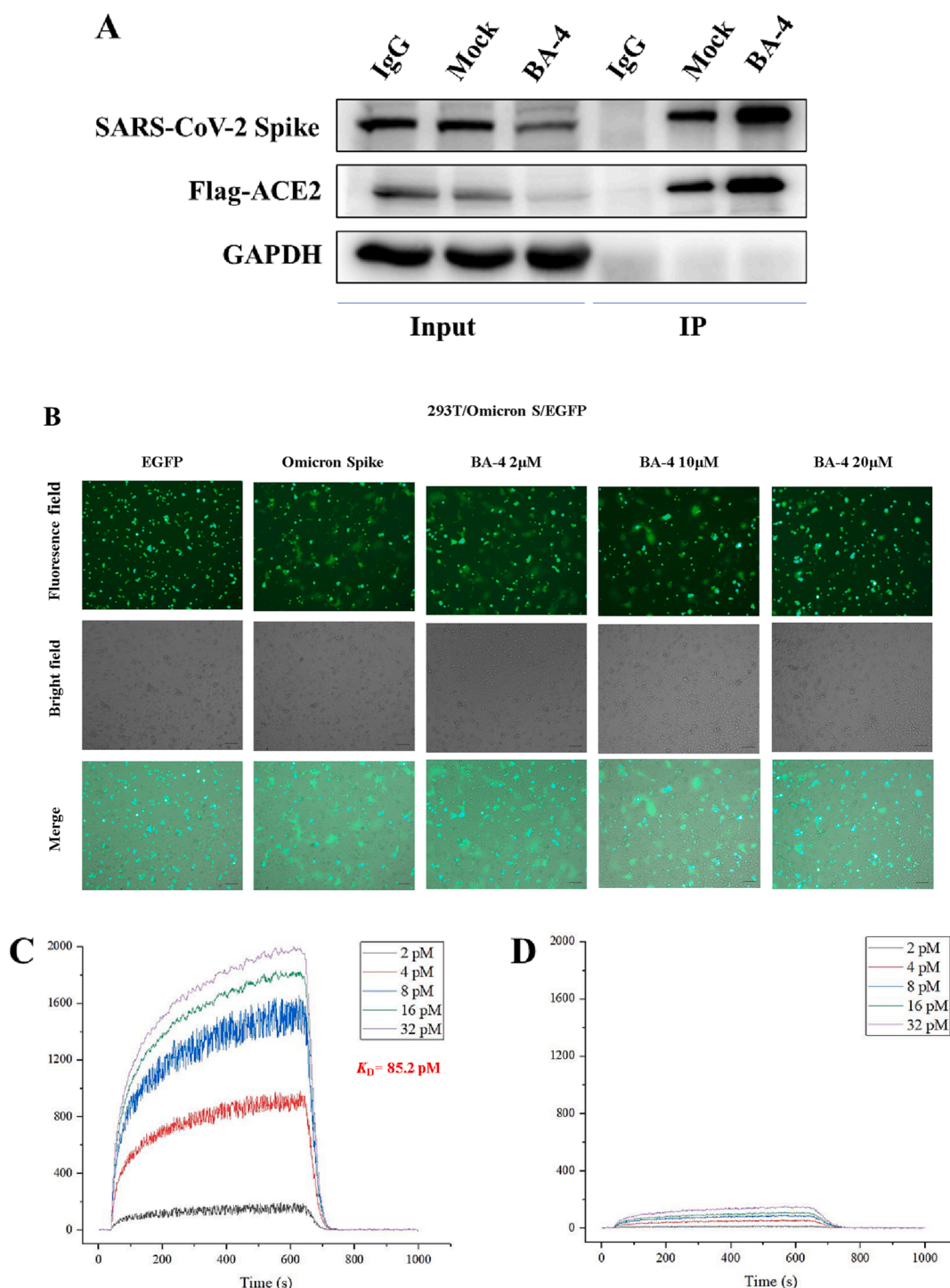


Fig. 7. (A) With addition of **BA-4** (20 μ M), Co-IP assays showed no affection of the binding of SARS-CoV-2 S protein and ACE2 (anti-Flag). (B) **BA-4** inhibited SARS-CoV-2 Omicron mutant infection via blocking Omicron protein-mediated membrane fusion. (C) SPR analysis of the interaction between **BA-4** with Omicron S2. (D) SPR analysis of the interaction between **BA-4** with Omicron S1.

promising stability in mouse intestinal S9-UDPGA with higher half-life values of 77.8 min and lower CL value of 14.1 μ L/min/mg compared to that of microsomal stability, though was inferior to those of clozapine.

Then we examined the stability of **BA-4** in mouse plasma using propantheline bromide as a reference. As shown in Table 6, **BA-4** exhibited moderate stability in mouse plasma, displaying an approximately 50 % compound retention after 120 min incubation, which was superior to that of the reference propantheline bromide. Collectively, these results reveal that the lead compound **BA-4** possesses acceptable

metabolic stability in mouse liver microsomes and stability in mouse plasma as well as reasonable S9-UDPGA, which meets the basic requirements of ADMET.

3. Conclusions

This study presented here discovered a hit compound **BA-1** that showed good inhibition against infectious and pseudotyped SARS-CoV-2 virus by directly targeting the S protein. Based on the structure **BA-1**,

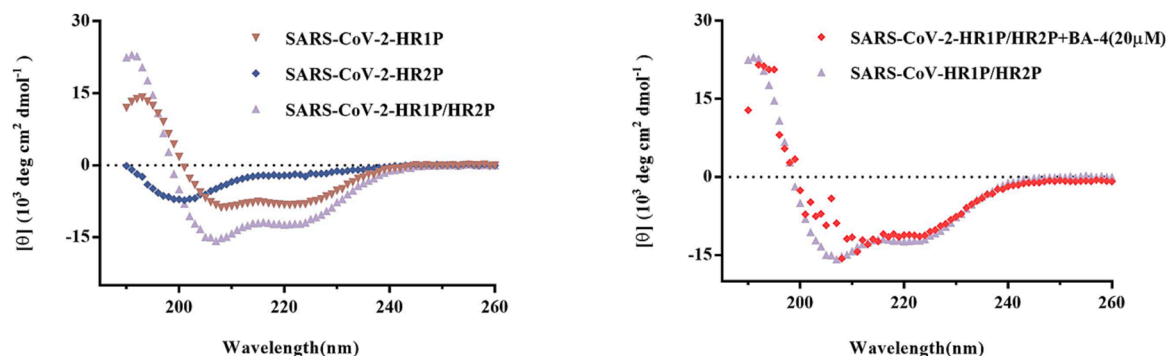


Fig. 8. The CD curve of the SARS-CoV Omicron HR1P/HR2P complex (purple) shows a characteristic α -helix spectrum with a minimum at 208 or 222 nm. The secondary structure of 6-HB in the HR1P/HR2P mixture was unaffected by the addition of BA-4 (20 μ M), as shown by the purple and red models. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

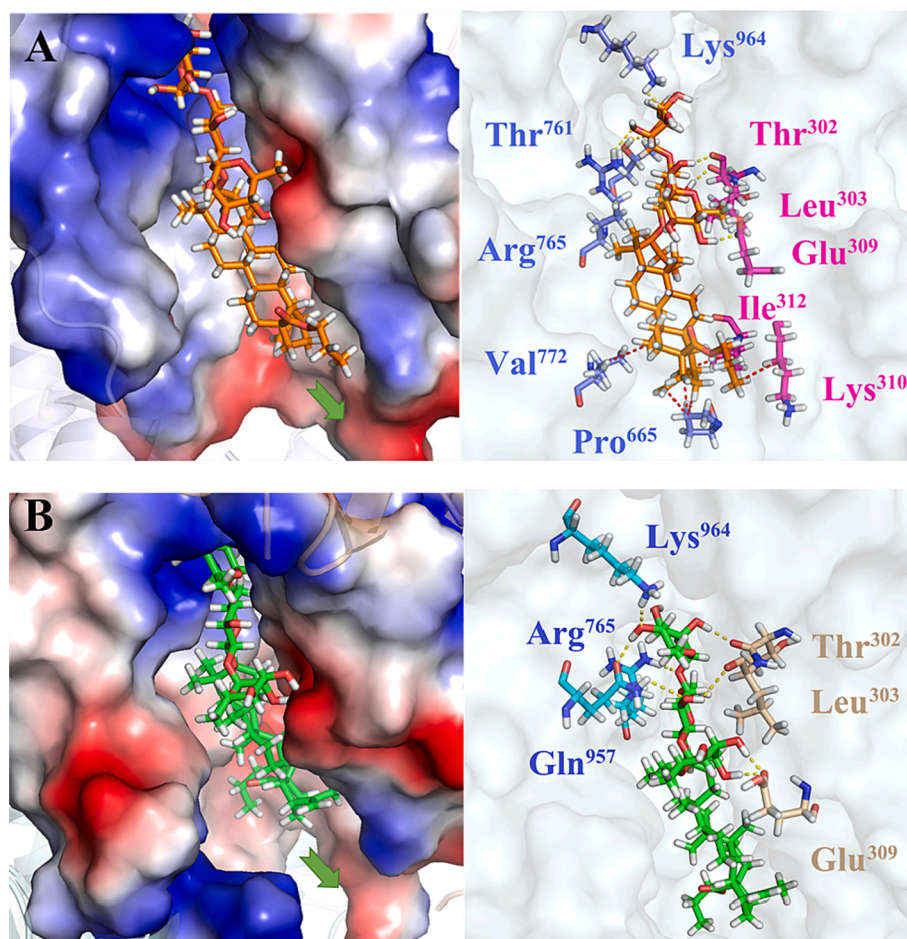


Fig. 9. (A) Molecular docking of BA-4 to Omicron spike protein (PDB: 7TF8). S1 subunit, S2 subunit, and BA-4 were shown as magenta ribbon, purple ribbon, orange sticks, respectively. Yellow dashes in the interaction plot indicating hydrogen bond. Red dashes in the interaction plot indicating hydrophobic interaction. (B) Molecular docking of BA-4 to spike protein (PDB: 6VXX). S1 subunit, S2 subunit, and BA-4 were shown as orange ribbon, blue ribbon, green sticks, respectively. Yellow dashes in the interaction plot indicating hydrogen bond. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

rational drug design and subsequent chemical optimization resulted in the development of the lead compound BA-4, as a novel Omicron fusion inhibitor. Utilizing the SPR assay, CD spectroscopy, docking and mutagenesis studies, we confirmed that the anti-Omicron mechanism of BA-4 was through directly binding to the S protein, which was capable of stabilizing S in the pre-fusion step to block Omicron entry into host cells. Moreover, the lead compound BA-4 was found to have a broad-spectrum entry inhibition against all SARS-CoV-2 variants tested and display favorable SI values. Overall, BA-4 represents a novel and potent Omicron fusion inhibitor and justifies further development as a potential candidate for treatment of SARS-CoV-2 infections.

4. Experimental

4.1. Chemistry

Solvents were purified in a conventional manner. Thin layer chromatography (TLC) was performed on precoated E. Merck silica gel 60 F254 plates. Flash column chromatography was performed on silica gel (200–300 mesh, Qingdao, China). ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were taken on a JEOL JNM-ECP 600 spectrometer with tetramethylsilane as an internal standard, and chemical shifts are recorded in ppm values. Mass spectra were recorded on a Q-TOF Global mass spectrometer.

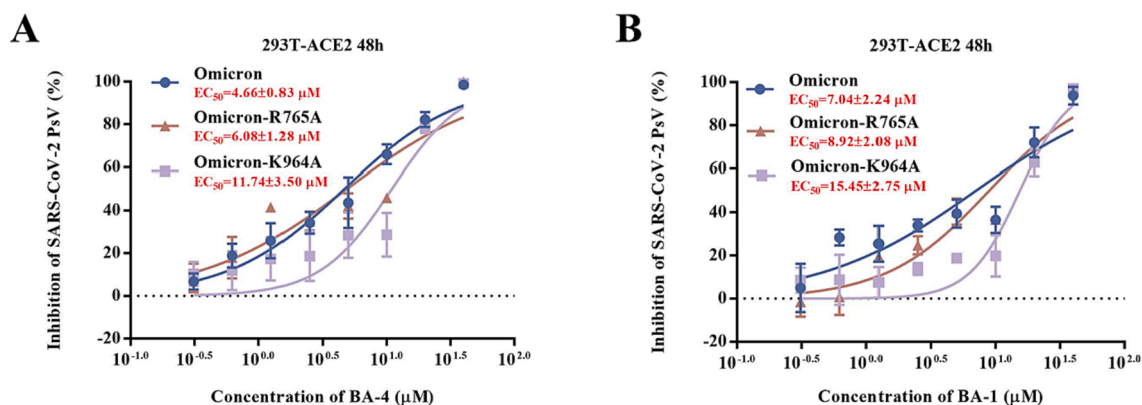


Fig. 10. (A) Inhibitions of BA-4 against SARS-CoV-2 PsV mutants caused by site-directed mutation, including R765A, K964A. (B) Inhibitions of BA-1 against SARS-CoV-2 PsV mutants caused by site-directed mutation, including R765A, K964A.

Table 5

Metabolic stability in the presence of mouse liver microsomes and stability in the intestinal S9-UDPGA of BA-4.

compd	mouse liver microsomes		mouse S9-UDPGA	
	T _{1/2} ^a (min)	CL _{int} ^b (μL/min/mg)	T _{1/2} ^a (min)	CL _{int} ^b (μL/min/mg)
BA-4	16.1	59.3	77.8	14.1
propafenone	6.8	201.6	/	/
clozapine	/	/	>145	<6.8

^a T_{1/2} is the half-life and CL_{int} (mic) is the intrinsic clearance. ^b CL_{int} (mic) = 0.693/half-life/mg microsome protein per milliliter.

Table 6

Stability of compound BA-4 in mouse plasma.

incubation time (min)	BA-4 remained mouse plasma (%)	Propantheline bromide remained mouse plasma (%)
0	100	100
30	73.6	45.5
60	61.3	18.2
90	53.4	10.3
120	47.5	2.0

4.1.1. 28-(Benzyloxy)-3β-acetoxy-lup-20 (29)-ene-3-ol (10)

To a solution of **9** (3.00 g, 6.19 mmol), benzyl 2, 2, 2-trichloroacetimidate (3.42 g, 13.62 mmol) and 4 Å molecular sieves in dry CH₂Cl₂ (50 mL) was added TFOH (0.14 g, 0.93 mmol) at −10 °C under N₂ atmosphere. The reaction mixture was kept at −10 °C for 2 h and warmed to room temperature for 1 h. After the reaction was complete detected by TLC, triethylamine was added to quench the reaction. The mixture was filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether-EtOAc-CH₂Cl₂, 30:1:1) to yield **10** (3.16 g, 89 %) as a white solid. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.45–7.20 (m, 5H, Ar-H), 4.64 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.56 (s, 2H, Ar-CH₂), 4.48 (s, 1H, C = CH₂-2), 3.51 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 3.09 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 2.35 (td, 1H, J = 10.6, 5.6 Hz), 2.03 (s, 3H, COCH₃), 1.66 (s, 3H, CH₃), 0.94 (s, 6H, 2 × CH₃), 0.84 (s, 9H, 3 × CH₃), 0.79 (d, 1H, J = 9.5 Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 171.14, 150.85 (C-20), 139.13, 128.43 (two), 127.67 (two), 127.56, 109.64 (C-29), 81.07, 73.50, 68.15, 55.47, 50.38, 48.94, 48.10, 47.38, 42.71, 40.96, 38.47, 37.91, 37.54, 37.16, 34.98, 34.21, 30.10, 30.05, 28.07, 27.22, 25.25, 23.81, 21.44, 20.94, 19.18, 18.31, 16.62, 16.27, 15.89, 14.86. HRMS (ESI) *m/z*: calcd for C₃₉H₅₉O₃ [M + H]⁺, 575.4464; found, 575.4478.

4.1.2. 28-(Benzyloxy)-3β-hydroxy-lup-20 (29)-ene-3-ol (11)

To a solution of **10** (3.16 g, 5.50 mmol) and LiOH (2.87 g, 0.12

mmol) in THF-MeOH-H₂O (90 mL) and then the reaction mixture was stirred at 50 °C for 12 h. After the reaction was complete detected by TLC, 1 M HCl was added to adjust pH = 7. The mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in EtOAc (150 mL), then extracted with water (3 × 50 mL) and brine (3 × 50 mL). The combined organic layer was concentrated under vacuum after drying over Na₂SO₄. The resulting crude was then purified by column chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 30:1) to give **11** (2.1 g, 72 %) as a white solid. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.37–7.31 (m, 5H, Ar-H), 4.64 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.55 (s, 2H, Ar-CH₂), 4.48 (s, 1H, C = CH₂-2), 3.51 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 3.09 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 2.35 (td, 1H, J = 10.7, 5.6 Hz), 1.66 (s, 3H, CH₃), 0.96, 0.94, 0.84, 0.79, 0.75 (each s, each 3H, CH₃), 0.66 (d, 1H, J = 9.4 Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 150.85 (C-20), 139.11, 128.43 (two), 127.67 (two), 127.56, 109.61 (C-29), 79.07, 73.50, 68.14, 55.38, 50.47, 48.96, 48.07, 47.38, 42.71, 40.94, 38.97, 38.79, 37.55, 37.24, 34.98, 34.28, 30.11, 30.06, 28.11, 27.50, 27.23, 25.29, 20.92, 19.20, 18.43, 16.20, 15.89, 15.49, 14.89. HRMS (MALDI) *m/z*: calcd for C₃₇H₅₆O₂Na [M + Na]⁺, 555.4178; found, 555.4192.

4.1.3. General procedure for 13 and 14

To a solution of **8** or **11** (1 eq), 2, 3, 4, 6-tetra-O-benzoyl-*D*-glucopyranosyl trichloroacetimidate **12** (1.5 eq) and 4 Å molecular sieves in dry CH₂Cl₂ (30 mL) was added TMSOTf (0.15 eq) at −5 °C under N₂ atmosphere. The reaction mixture was kept at −5 °C for 0.5 h and then warmed to room temperature for 1 h. After the reaction was complete detected by TLC, the reaction was quenched with trimethylamine. The mixture was filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. Then the residue was purified by silica gel column chromatography (petroleum ether-EtOAc-CH₂Cl₂, 8:1:1) to produce **13** or **14** as a white solid, respectively.

4.1.3.1. Benzyl-3β-O-(2, 3, 4, 6-tetra-O-benzoyl-*D*-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (13). Compound **13** was obtained as a white solid. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.95–7.65 (m, 15H, Ar-H), 7.46–7.09 (m, 10H, Ar-H), 5.77 (t, 1H, J = 9.7 Hz, H-3'), 5.45 (t, 1H, J = 9.5 Hz, H-4'), 5.00 (d, 1H, J = 12.2 Hz, Ar-CH₂-1), 4.95 (d, 1H, J = 12.3 Hz, Ar-CH₂-2), 4.72 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.70 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.64–4.59 (m, 1H, H-1'), 4.51–4.48 (m, 1H, H-2'), 4.46 (dd, 1H, J = 11.9, 3.4 Hz, H-6'-1), 4.40 (dd, 1H, J = 11.9, 6.6 Hz, H-6'-2), 4.06–3.96 (m, 1H, H-5'), 2.92 (dd, 1H, J = 11.7, 4.5 Hz, H-3), 2.13 (d, 1H, J = 12.4 Hz), 1.57, 0.77, 0.59, 0.56, 0.52, 0.47 (each s, each 3H, CH₃), 0.40 (d, 1H, J = 9.7 Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 175.85 (C-28), 166.12, 165.96, 165.40, 165.11, 150.69 (C-20), 136.53, 133.56, 133.32, 133.18, 130.16, 129.93 (two), 129.84 (four), 129.82 (three), 129.74, 129.66, 129.47, 128.91, 128.85, 128.58 (three), 128.52 (two), 128.47 (three), 128.37 (two), 128.34 (three), 128.16 (two), 109.64 (C-29), 103.31 (C-1'), 90.81, 73.05, 72.22, 72.05, 70.37, 65.83, 63.52, 56.62,

55.65, 50.61, 49.52, 46.97, 42.41, 40.68, 38.93, 38.67, 38.23, 37.03, 36.86, 34.30, 32.19, 30.71, 29.60, 27.58, 26.06, 25.63, 20.92, 19.60, 18.12, 16.11, 16.06, 15.87, 14.69. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{71}H_{81}O_{12}$ $[M + H]^+$, 1125.5728; found, 1125.5750.

4.1.3.2. 28-(Benzyloxy)-3- β -O-(2, 3, 4, 6-tetra-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-3-ol (14). Compound **14** was obtained as a white solid. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 8.05–7.80 (m, 10H, Ar-H), 7.56–7.22 (m, 15H, Ar-H), 5.91 (t, 1H, J = 9.9, H-3'), 5.56 (t, 1H, J = 10.1 Hz, H-4'), 4.86 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.84 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.68–4.63 (m, 1H, H-1'), 4.62–4.56 (m, 3H, H-2', Ar- CH_2), 4.58–4.49 (m, 1H, H-6'-1), 4.50–4.42 (m, 1H, H-6'-2), 4.19–4.10 (m, 1H, H-5'), 3.49 (d, 2H, J = 8.9 Hz, C- CH_2), 3.07 (dd, 1H, J = 11.2, 6.6 Hz, H-3), 2.40–2.31 (m, 1H), 1.69, 0.90, 0.78, 0.72, 0.67, 0.61 (each s, each 3H, CH_3), 0.54 (d, 1H, J = 10.1 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 166.05, 165.90, 165.34, 165.06, 150.76 (C-20), 138.98, 133.48, 133.24, 133.10, 133.08, 129.87 (two), 129.78 (four), 129.75 (three), 129.71, 129.44, 128.88, 128.82, 128.45 (two), 128.38 (three), 128.32 (four), 127.56 (three), 127.47, 109.49 (C-29), 103.26 (C-1'), 90.70, 73.40, 73.01, 72.19, 72.01, 70.33, 68.02, 63.46, 55.54, 50.36, 48.86, 47.92, 47.28, 42.56, 40.80, 38.87, 38.59, 37.41, 36.76, 34.89, 34.12, 30.01, 27.52, 27.09, 25.99, 25.21, 20.79, 19.20, 18.06, 15.98 (two), 15.74, 14.72. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{71}H_{81}O_{11}$ $[M + H]^+$, 1111.5935; found, 1111.5947.

4.1.4. Benzyl 3- β -O-(D-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (15)

To a stirred solution of compound **13** (12.11 g, 10.7 mmol) in CH_2Cl_2 (60 mL) and MeOH (60 mL), CH_3ONa was added until pH = 10. Stirring was continued overnight at room temperature. Then, the mixture was neutralized with Dowex 50 $\times$ 8 (H^+) resin until pH = 7, filtered and then evaporated to remove excess solvent under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH, 10:1) to give **15** (7.05 g, 92 %) as a white solid. 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.42–7.29 (m, 5H, Ar-H), 5.16 (d, 1H, J = 12.1 Hz, Ar- CH_2 -1), 5.08 (d, 1H, J = 12.1 Hz, Ar- CH_2 -2), 4.70 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.59 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.30 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1'), 3.90 (s, 1H), 3.83 (dd, 1H, J = 11.9, 2.3 Hz, H-6'-1), 3.67 (dd, 1H, J = 11.9, 5.2 Hz, H-6'-2), 3.38–3.27 (m, 1H, H-5), 3.19–3.09 (m, 1H), 3.07–2.96 (m, 1H, H-3), 2.28–2.21 (m, 2H), 1.68, 1.02, 0.97, 0.83, 0.82, 0.74 (each s, each 3H, CH_3), 0.71 (d, 1H, J = 9.7 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 177.06 (C-28), 151.67 (C-20), 137.90, 129.61 (two), 129.54 (two), 129.23, 110.40 (C-29), 106.73 (C-1'), 90.73, 78.18, 77.58, 75.57, 71.50, 66.80, 62.71, 57.77, 57.09, 51.90, 50.60, 48.44, 43.49, 41.88, 40.25, 39.55, 38.00, 37.88, 35.53, 33.13, 31.62, 30.69, 28.43, 27.64, 27.61, 27.16, 26.82, 22.06, 19.65, 19.26, 16.86, 16.62, 15.22. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{43}H_{65}O_8$ $[M + H]^+$, 709.4679; found, 709.4691.

4.1.5. 28-(Benzyloxy)-3- β -O-(D-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-3-ol (16)

Compound **16** was obtained from **14** as a white solid using the similar method as **15**. 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.32–7.00 (m, 5H, Ar-H), 4.60 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.50 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.34 (dd, 1H, J = 12.3, 6.8 Hz, H-6'-1), 4.24 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.90–3.72 (m, 1H, H-6'-2), 3.67–3.40 (m, 2H), 3.21–3.04 (m, 6H), 1.92 (s, 2H), 1.60 (s, 3H, CH_3), 0.97 (s, 6H, 2 $\times$ CH_3), 0.76 (s, 9H, 3 $\times$ CH_3), 0.65 (d, 1H, J = 10.0 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 150.38 (C-20), 138.82, 128.04 (two), 127.60 (two), 127.57, 108.98 (C-29), 105.36 (C-1'), 89.38, 76.86, 76.23, 74.25, 72.97, 70.19, 67.69, 67.53, 61.40, 55.68, 50.38, 48.74, 42.33, 40.69, 38.90, 38.62, 37.43, 36.61, 34.07, 33.92, 29.83, 29.66, 27.10, 26.91, 25.82, 25.17, 20.62, 17.93, 15.53, 15.48, 15.22, 14.02. HRMS (MALDI) m/z : calcd for $C_{43}H_{66}O_7Na$ $[M + Na]^+$, 717.4706; found, 717.4732.

4.1.6. General procedure for 17 and 18

To a stirred solution of **15** or **16** (1.00 mmol) in 30 mL of dry pyridine and CH_2Cl_2 (V: V = 1: 1), PivCl (5.00 mmol) was added slowly to the

mixture at $-15^\circ C$ under argon atmosphere. Stirring was continued for 12 h at that temperature and then the reaction was quenched with CH_3OH . Excess solvent was removed *in vacuo*. The residue was extracted with dichloromethane and washed with saturated $NaHCO_3$ solution and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and concentrated under vacuum to furnish a crude product that was further purified by column chromatography (petroleum ether-EtOAc- CH_2Cl_2 , 8:1:1) to produce **17** or **18**, respectively.

4.1.6.1. Benzyl-3- β -O-(3, 6-di-O-pivaloyl- β -D-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (17). Compound **17** was obtained in 84 % yield as white solid. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.39–7.28 (m, 5H, Ar-H), 5.14 (d, 1H, J = 12.3 Hz, Ar- CH_2 -1), 5.08 (d, 1H, J = 12.3 Hz, Ar- CH_2 -2), 4.91–4.81 (m, 1H), 4.72 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.60 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.45 (dd, 1H, J = 11.8, 2.2 Hz, H-6'-1), 4.39 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1'), 4.18 (dd, 1H, J = 12.0, 7.2 Hz, H-6'-2), 3.62–3.50 (m, 1H, H-5'), 3.45 (t, 1H, J = 9.4 Hz), 3.12 (dd, 1H, J = 11.9, 4.5 Hz), 3.03 (dd, 1H, J = 10.9, 4.4 Hz, H-3), 2.27 (d, 2H, J = 12.3 Hz), 1.68 (s, 3H, CH_3), 1.24 (s, 9H, C (CH_3)₃), 1.20 (s, 9H, C (CH_3)₃), 0.96, 0.93, 0.79, 0.78, 0.74 (each s, each 3H, CH_3), 0.66 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 180.42, 178.72 (C-28), 175.92, 150.78 (C-20), 136.57, 128.61 (two), 128.36 (two), 128.18, 109.67 (C-29), 104.84 (C-1'), 90.54, 78.07, 74.21, 72.76, 70.26, 65.86, 63.93, 56.67, 55.72, 50.61, 49.55, 47.04, 42.47, 40.76, 39.17, 38.70, 38.26, 36.99, 34.34, 32.21, 30.72, 29.66, 28.29, 27.20 (two), 26.00, 25.65, 20.98, 19.54, 18.27, 16.59, 16.21, 15.94, 14.74. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{53}H_{81}O_{10}$ $[M + H]^+$, 877.5830; found, 877.5862.

4.1.6.2. 28-(Benzyloxy)-3- β -O-(3, 6-di-O-pivaloyl- β -D-glucopyranosyl)-lup-20 (29)-ene-3-ol (18). Compound **18** was obtained as a white solid. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 7.41–7.18 (m, 5H, Ar-H), 4.89–4.87 (m, 1H), 4.65 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 4.61–4.52 (m, 2H, C = CH_2), 4.47 (d, 1H, J = 6.1 Hz), 4.47–4.41 (m, 1H), 4.40 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1'), 4.18 (dd, 1H, J = 11.8, 7.2 Hz, H-6'-1), 3.62–3.40 (m, 4H), 3.17–3.06 (m, 1H, H-3), 2.39 (d, 1H, J = 12.9 Hz), 1.67 (s, 3H, CH_3), 1.24 (s, 9H, C (CH_3)₃), 1.20 (s, 9H, C (CH_3)₃), 0.97, 0.93, 0.83 (each s, each 3H, CH_3), 0.80 (s, 6H, 2 $\times$ CH_3), 0.67 (d, 1H, J = 10.0 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 180.29, 178.62, 150.83 (C-20), 138.99, 128.33 (two), 127.56 (two), 127.47, 109.47 (C-29), 104.73 (C-1'), 90.38, 77.95, 74.12, 73.39, 72.70, 70.14, 68.01, 63.83, 55.56, 50.32, 48.86, 47.96, 47.29, 42.58, 40.84, 39.07 (two), 38.84, 38.57, 37.42, 36.85, 34.12, 29.99, 28.18, 27.17 (four), 27.10 (five), 25.95, 25.19, 20.81, 19.14, 18.18, 16.48, 16.04, 15.78, 14.73. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{53}H_{83}O_9$ $[M + H]^+$, 863.6037; found, 863.6051.

4.1.7. General procedure for BA-16 and BA-20

To a mixture of **17** or **18** (1.0 mmol) and 4 Å molecular sieves in dried CH_2Cl_2 (20 mL) at $-40^\circ C$ under argon was added TMSOTf (0.20 mmol), followed by a solution of the 2, 3, 4-tri-O-acetyl-L-rhamnopyranosyl trichloroacetimidate **19** (5.00 mmol) in dry CH_2Cl_2 (5 mL). After stirring at $-40^\circ C$ for 3 h, the reaction mixture was warmed to $0^\circ C$ and stirred for 5 h under argon. After the reaction was complete detected by TLC, the reaction was quenched with Et_3N . The solid was filtered, and the filtrate was concentrated in reduced pressure and then purified by column chromatography (petroleum ether-EtOAc, 1:1) to afford the crude trisaccharide product. Subsequently, to a stirred solution of this crude product in 20 mL THF and CH_3OH (V:V = 1:1), 4 M NaOH (10 mL) was added. After stirred at $45^\circ C$ for 10 h, 1 M HCl was added to adjust pH = 7. The resulting precipitate was filtered off and washed with CH_3OH , and then concentrated under vacuum. The obtained crude product was further purified by column chromatography, eluting with CH_2Cl_2/CH_3OH mixtures, with gradient from 8:1 to 4:1, to furnish the target compound **BA-16** or **BA-20**, respectively.

4.1.7.1. Benzyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-16). Compound **BA-16** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.42–7.30 (m, 5H, Ar-H), 5.35 (d, 1H, J = 1.7 Hz, Rha-H-1), 5.17 (d, 1H, J = 12.1 Hz, Ar-CH₂-1), 5.09 (d, 1H, J = 12.1 Hz, Ar-CH₂-2), 4.82 (d, 1H, J = 1.1 Hz, Rha-H-1), 4.70 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.60 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.41 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.11 (s, 1H), 4.03–3.93 (m, 2H), 3.92–3.90 (m, 2H), 3.90–3.79 (m, 1H, H-5'), 3.75 (dd, 1H, J = 9.6, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.68 (d, 1H, J = 3.7 Hz), 3.63 (dd, 1H, J = 9.6, 3.2 Hz, Rha-H-3), 3.57–3.53 (m, 2H), 3.48–3.33 (m, 2H), 3.34–3.25 (m, 2H), 3.12 (dd, 1H, J = 11.7, 4.4 Hz, H-3), 3.05–2.96 (m, 1H), 2.29–2.35 (m, 1H), 1.68 (s, 3H, CH₃), 1.27 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.02 (s, 3H, CH₃), 0.97 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 6H, 2 $\times$ CH₃), 0.74 (s, 3H, CH₃), 0.70 (d, 1H, J = 9.8 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 177.16 (C-28), 151.71 (C-20), 137.88, 130.21, 129.93, 129.61 (two), 129.55 (two), 129.25, 110.37 (C-29), 105.48 (C-1'), 103.02 (Rha-C-1), 101.98 (Rha-C-1), 90.40, 80.29, 79.19, 78.10, 76.40, 73.91, 73.66, 72.41, 72.10, 71.97, 70.72, 69.99, 66.83, 61.94, 57.80, 57.39, 51.96, 50.62, 47.81, 43.49, 41.89, 40.32, 39.58, 38.01, 37.87, 35.53, 33.12, 31.62, 30.68, 28.39, 27.35, 26.85, 22.05, 19.61, 19.24, 18.03, 17.90, 16.99, 16.92, 16.59, 15.18. HRMS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{84}\text{O}_{16}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺, 1023.5657; found, 1023.5623.

4.1.7.2. 28-(Benzyloxy)-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3-ol (BA-20). Compound **BA-20** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.39–7.21 (m, 5H, Ar-H), 5.37 (d, J = 1.7 Hz, 1H, Rha-H-1), 4.86 (d, 1H, J = 1.1 Hz, Rha-H-1), 4.72 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.66 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.58 (d, 2H, J = 12.5 Hz, Ar-CH₂), 4.43 (d, 1H, J = 7.9 Hz, H-1'), 4.40 (d, 1H, J = 2.3 Hz), 4.01–3.93 (m, 2H), 3.95–3.87 (m, 1H, H-5'), 3.84 (t, 1H, J = 9.4 Hz, Rha-H-4), 3.76 (dd, 1H, J = 9.7, 3.5 Hz, Rha-H-3), 3.66 (dd, 1H, J = 9.7, 3.6 Hz, Rha-H-3), 3.66–3.58 (m, 3H), 3.60–3.48 (m, 3H), 3.48–3.35 (m, 3H), 3.15–3.09 (m, 1H, H-3), 2.45–2.33 (m, 2H), 1.98 (s, 1H), 1.67 (s, 3H, CH₃), 1.26 (d, 3H, J = 6.3 Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.02 (s, 3H, CH₃), 0.96 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 6H, 2 $\times$ CH₃), 0.82 (s, 3H, CH₃), 0.70 (d, 1H, J = 9.5 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 150.40 (C-20), 138.78, 128.03 (two), 127.66 (two), 127.31, 108.92 (C-29), 104.10 (C-1'), 101.60 (Rha-C-1), 100.55 (Rha-C-1), 94.36, 89.03, 78.91, 77.83, 76.72, 75.03, 72.92, 72.83, 72.53, 72.29, 71.05, 70.74, 70.62, 69.33, 68.61, 67.82, 67.43, 60.56, 55.95, 50.43, 42.29, 40.67, 38.96, 38.89, 37.42, 36.59, 34.51, 34.02, 29.75, 29.60, 27.02, 26.87, 25.98, 25.16, 20.57, 18.07, 17.88, 16.75, 16.65, 16.53, 15.63, 15.50, 15.11, 13.93. HRMS (MALDI) m/z : calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{86}\text{O}_{15}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺, 1009.5864; found, 1009.5882.

4.1.8. General procedure for BA-2 and BA-17

To a stirred solution of **BA-16** or **BA-20** (1.00 mmol) in 20 mL of dry methanol and tetrahydrofuran (V: V = 1:1), 10 % Pd/C (100 mg) was added at r.t. under argon atmosphere. Then the solution was stirred at room temperature for 12 h under hydrogen atmosphere. The mixture was filtered and concentrated under reduced pressure. The resultant crude material was purified by column chromatography (CH_2Cl_2 - CH_3OH , 5:1) to afford the title compound **BA-2** or **BA-17** as a white solid, respectively.

4.1.8.1. 3 β -O-[2, 4-Di-O-(α -l-Rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-2). Saponin **BA-2** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.38 (s, 1H, Rha-H-1), 4.86 (d, 1H, J = 1.1 Hz, Rha-H-1), 4.70 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.59 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.42 (d, 1H, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.03–3.96 (m, 2H), 3.98–3.85 (m, 1H, H-5'), 3.79 (t, 1H, J = 10.0 Hz, Rha-H-4), 3.67–3.63 (m, 2H), 3.57 (t, 1H, J = 9.8 Hz, Rha-H-4), 3.48–3.37 (m, 1H), 3.35–3.32 (m, 2H), 3.23–3.19 (m, 4H), 3.14 (dd, 1H, J = 11.5, 4.2 Hz, H-3), 3.05–3.03 (m, 1H), 2.23 (d, 1H, J = 12.0 Hz), 1.69 (s, 3H, CH₃), 1.27 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, J = 6.0 Hz, Rha-H-6), 1.03, 1.00, 0.96, 0.86, 0.83 (each

s, each 3H, CH₃), 0.76–0.70 (m, 1H, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 172.73 (C-28), 151.99 (C-20), 110.19 (C-29), 105.48 (C-1'), 102.81 (Rha-C-1), 101.77 (Rha-C-1), 90.38, 80.07, 79.13, 78.02, 76.38, 74.16, 73.84, 73.63, 73.02, 72.40 (two), 72.07, 71.97, 70.58, 69.89, 69.09, 61.83, 57.53, 57.38, 51.98, 50.37, 43.53, 41.90, 40.32 (two), 39.55, 38.01 (two), 35.57, 31.68, 30.83, 28.37, 27.36, 26.86, 22.07, 19.57, 19.26, 18.01, 17.90, 16.98, 16.93, 16.68, 15.15. HRMS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{77}\text{O}_{16}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 909.5290; found, 909.5277.

4.1.8.2. 3 β -O-[2, 4-Di-O-(α -l-Rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3, 28-diol (BA-17). Compound **BA-17** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.16 (s, 1H, Rha-H-1), 4.81 (s, 1H, Rha-H-1), 4.47 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.35 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.20 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.83–3.64 (m, 5H), 3.56 (t, 1H, J = 8.8 Hz), 3.47–3.40 (m, 4H), 3.36 (t, 1H, J = 8.5 Hz), 3.23–3.20 (m, 2H), 3.09 (s, 2H, C-CH₂), 2.89–2.83 (m, 1H, H-3), 2.20 (d, 1H, J = 11.5 Hz), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.05 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.00 (d, 3H, J = 6.0 Hz, Rha-H-6), 0.85, 0.81, 0.78, 0.65, 0.62 (each s, each 3H, CH₃), 0.59–0.48 (m, 1H, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 151.81 (C-20), 110.27 (C-29), 105.45 (C-1'), 102.77 (Rha-C-1), 101.74 (Rha-C-1), 90.39, 80.16, 79.24, 77.98, 76.39, 73.65, 72.41, 72.12, 71.99, 70.57, 69.90, 61.89, 60.32, 57.33, 51.83, 50.00, 43.94, 43.76, 42.16, 42.12, 40.32 (two), 38.64, 37.97, 35.45, 34.98, 30.78, 30.33, 28.38, 27.35, 26.58, 23.45, 22.63, 21.99, 19.39, 19.26, 17.99, 17.88, 16.98, 16.85, 16.53, 15.25, 9.09, 7.84. HRMS (MALDI) m/z : calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{79}\text{O}_{15}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 895.5497; found, 895.5473.

4.1.9. General procedure for 20 and 21

Compound **BA-2** or **BA-20** (1.0 mmol) was dissolved in 20 mL of dry pyridine, Ac_2O (16.0 mmol) and DMAP (0.8 mmol) were added at 0 °C. The reaction mixture was warmed to 60 °C and stirred for 24 h under N_2 atmosphere. After excess solvent was removed *in vacuo*, the crude product was extracted with ethyl acetate, which was then washed with 1 M HCl, saturated NaHCO_3 solution and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and concentrated *in vacuo* to provide a crude residue. The residue was further purified by column chromatography (petroleum ether-EtOAc- CH_2Cl_2 , 3:1:1) to yield **20** or **21**, respectively.

4.1.9.1. 3 β -O-[2, 4-Di-O-(2, 3, 4-tri-O-Acetyl- α -l-rhamnopyranosyl)- β -(3, 6-di-O-acetyl)-d-glucopyranosyl]-lup-20(29)-ene-28-oic acid (20). Compound **20** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 5.28–5.20 (m, 3H), 5.17 (dd, 1H, J = 10.2, 3.2 Hz, Rha-H-3), 5.10 (dd, 1H, J = 3.5, 1.8 Hz, Rha-H-2), 5.05–5.01 (m, 4H), 4.80 (d, 1H, J = 1.7 Hz, Rha-H-1), 4.74 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.62 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.53 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.46 (dd, 1H, J = 12.4, 2.1 Hz, H-6'-1), 4.27 (dd, 1H, J = 13.4, 5.3 Hz, H-6'-2), 4.25–4.17 (m, 1H, H-5'), 3.91–3.81 (m, 2H), 3.76 (t, 1H, J = 9.3 Hz, Rha-H-4), 3.71–3.58 (m, 3H), 3.14–3.12 (m, 1H), 3.05–2.94 (m, 1H, H-3), 2.27 (d, 1H, J = 12.5 Hz), 2.14, 2.13, 2.11, 2.10, 2.04, 2.01, 1.99, 1.97 (each s, each 3H, each CH_3CO), 1.70 (s, 3H, CH₃), 1.17 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.15 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.01, 0.98, 0.92, 0.82, 0.78 (each s, each 3H, CH₃), 0.71 (d, 1H, J = 10.3 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3): δ 181.96, 170.76, 170.37, 170.27, 170.22 (C-28), 170.14 (two), 169.81, 150.48 (C-20), 109.85 (C-29), 103.83 (C-1'), 99.58 (Rha-C-1), 97.03 (Rha-C-1), 90.15, 78.05, 77.48, 77.16, 75.59, 75.43, 72.17, 71.20, 70.59, 70.00, 69.80, 68.69, 68.58, 68.00, 66.75, 62.31, 56.44, 56.07, 50.57, 49.27, 46.98, 42.51, 40.77, 39.24, 39.20, 38.45, 36.99, 34.35, 32.23, 30.65, 29.74, 27.80, 26.23, 25.54, 21.60, 21.07, 21.01, 20.97, 20.94 (three), 20.86, 20.81, 19.45, 18.25, 17.34, 17.24, 16.34, 16.13, 16.02, 14.75. HRMS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{64}\text{H}_{95}\text{O}_{24}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 1247.6213; found, 1247.6235.

4.1.9.2. 28-(Benzyloxy)-3 β -O-[2, 4-Di-O-(2, 3, 4-tri-O-Acetyl- α -l-rhamnopyranosyl)- β -(3, 6-di-O-acetyl)-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3-ol (21). Compound **21** was obtained as a white powder. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 7.37–7.23 (m, 5H, Ar-H), 5.49–5.30 (m, 3H), 5.26 (dd,

1H, $J = 9.7$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 5.15–5.01 (m, 2H), 4.84 (s, 1H, Rha-H-1), 4.65 (s, 1H, Rha-H-1), 4.56 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.48 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.42 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, H-1'), 4.34–4.17 (m, 3H), 4.08 (dd, 1H, $J = 9.8$, 7.0 Hz, H-2'), 3.99 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz), 3.73 (t, 1H, $J = 9.5$ Hz, Rha-H-4), 3.61 (t, 1H, $J = 9.1$ Hz, Rha-H-4), 3.54–3.40 (m, 3H), 3.09 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz), 2.40–2.32 (m, 1H), 2.18–1.94 (m, 24H, 8 × CH₃CO), 1.67 (s, 3H, CH₃), 1.27 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, Rha-H-6), 1.19 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Rha-H-6), 1.05 (s, 3H, CH₃), 0.94 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃), 0.81 (s, 6H, 2 × CH₃), 0.70 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃): δ 171.93 (C-28), 170.20, 170.12 (two), 170.10 (two), 170.00 (two), 169.78, 149.64 (C-20), 140.06, 128.45, 127.69, 127.58, 118.61 (C-29), 104.07 (C-1'), 99.31 (Rha-C-1), 97.63 (Rha-C-1), 85.23, 83.18, 73.99, 71.64, 70.09, 69.45, 69.23, 68.12, 67.33, 65.05, 57.77, 56.60, 54.34, 53.95 (three), 51.52, 50.15, 48.71, 46.99, 45.85, 42.58, 42.15, 42.00, 41.39, 40.82, 39.10, 38.70, 38.22, 36.30, 33.53, 33.14, 30.14, 27.94, 27.52, 25.75, 25.25, 21.62, 21.14 (two), 20.99 (two), 20.91 (three), 17.86, 16.11, 14.78. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₇₁H₁₀₃O₂₃ [M + H]⁺, 1323.6890; found, 1323.6898.

4.1.10. General procedure for BA-3 – BA-15

To a solution of **BA-2** (1.00 mmol) in DMF (20 mL) was added K₂CO₃ (5 mmol) at 30 °C under N₂ atmosphere. After stirring at 30 °C for 2 h, the corresponding halogenated hydrocarbon (3.00 mmol) was added. Stirring was continued overnight at that temperature. After the mixture was evaporated to remove excess solvent under reduced pressure, the residue was dissolved in EtOAc (100 mL), then extracted with water (3 × 50 mL) and brine (3 × 50 mL). The combined organic layer was concentrated *in vacuo* after drying over Na₂SO₄. Then, the residue was re-dissolved in MeOH (10 mL) and CH₂Cl₂ (10 mL), CH₃ONa was added until pH = 10. After the reaction mixture was stirred at r.t. for 5 h, Dowex 50 × 8 (H⁺) resin was added until pH = 7. The reaction mixture was filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (CH₂Cl₂-MeOH, 6:1) to give title saponins **BA-3–BA-15**.

4.1.10.1. Ethyl-3β-O-[2, 4-di-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-β-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-3). Similarly, **BA-3** was prepared as a white solid in 82 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.37 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, Rha-H-1), 4.82 (s, 1H, Rha-H-1), 4.74 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.62 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.43 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.24–4.07 (m, 2H), 4.03–3.96 (m, 2H), 3.92 (dd, 1H, $J = 9.5$, 3.2 Hz, Rha-H-3), 3.86 (dd, 1H, $J = 3.3$, 1.8 Hz, Rha-H-2), 3.81 (dd, 1H, $J = 12.1$, 2.0 Hz, H-6'-1), 3.76 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.70–3.68 (m, 1H), 3.66 (dd, 1H, $J = 3.4$, 1.7 Hz), 3.66–3.60 (m, 1H), 3.58–3.56 (m, 1H), 3.52–3.34 (m, 2H), 3.34–3.29 (m, 2H), 3.15 (dd, 1H, $J = 11.7$, 4.4 Hz, H-3), 2.26 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz), 1.71 (s, 3H, CH₃), 1.28 (s, 3H, CH₃), 1.27 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Rha-H-6), 1.22 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6), 1.05, 1.02, 0.96, 0.88, 0.85 (each s, each 3H, CH₃), 0.75 (d, 1H, $J = 9.8$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.58 (C-28), 151.78 (C-20), 110.34 (C-29), 105.49 (C-1'), 103.03 (Rha-C-1), 101.99 (Rha-C-1), 90.40, 80.30, 79.20, 78.11, 76.42, 73.91, 73.67, 72.41, 72.11, 71.97, 70.73, 69.99, 61.95, 61.02, 57.72, 57.43, 52.00, 50.57, 43.52, 41.97, 40.34 (two), 39.64, 38.05, 37.95, 36.97, 35.57, 33.14, 31.66, 30.75, 28.40, 27.36, 26.88, 22.09, 19.62, 19.27, 18.02, 17.90, 16.99, 16.93, 16.64, 15.21, 14.71 (two). HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₀H₈₂O₁₆Na [M + Na]⁺, 961.5501; found, 961.5423.

4.1.10.2. n-Propyl-3β-O-[2, 4-di-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-β-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-4). Similarly, **BA-4** was prepared as a white solid in 80 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.38 (s, 1H, Rha-H-1), 4.85 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, Rha-H-1), 4.73 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.63 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.44 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.14–4.00 (m, 2H), 4.03–3.95 (m, 2H), 3.92 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.3 Hz, Rha-H-3), 3.88–3.78 (m, 1H), 3.76 (dd, 1H, $J = 9.5$, 3.3 Hz, Rha-H-3), 3.66 (t, 1H, $J = 10.6$ Hz, Rha-H-4), 3.58 (t, 1H, $J = 8.1$ Hz),

3.50–3.38 (m, 3H), 3.38–3.29 (m, 3H), 3.15 (dd, 1H, $J = 11.7$, 4.4 Hz, H-3), 3.10–2.98 (m, 1H), 2.28 (d, 1H, $J = 10.3$ Hz), 1.72 (s, 3H, CH₃), 1.50–1.35 (m, 2H, CH₂), 1.28 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.23 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.05, 1.03, 1.01, 0.96, 0.89, 0.86 (each s, each 3H, CH₃), 0.75 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.69 (C-28), 151.75 (C-20), 110.36 (C-29), 105.50 (C-1'), 103.02 (Rha-C-1), 102.00 (Rha-C-1), 90.40, 80.29, 79.21, 78.11, 76.42, 73.91, 73.67, 72.41, 72.10, 71.96, 70.73, 69.99, 66.78, 61.95, 57.89, 57.43, 51.99, 50.59, 43.54, 41.97, 40.34 (two), 39.70, 38.05, 36.97, 35.58, 33.21, 31.68, 30.79, 28.41, 27.36, 26.88, 23.20 (two), 22.10, 19.63, 19.28, 18.03 (two), 17.90 (two), 16.99, 16.94, 16.67, 15.24. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₁H₈₄O₁₆Na [M + Na]⁺, 975.5557; found, 975.5582.

4.1.10.3. n-Butyl-3β-O-[2, 4-di-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-β-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-5). Similarly, **BA-5** was prepared as a white solid in 78 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.36 (s, 1H, Rha-H-1), 4.86 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 4.72 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.61 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.42 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.17–4.02 (m, 2H), 4.01–3.93 (m, 2H), 3.91 (dd, 1H, $J = 9.5$, 7.7 Hz, H-2'), 3.87–3.77 (m, 1H), 3.75 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.71–3.59 (m, 2H), 3.57 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz, Rha-H-4), 3.48–3.34 (m, 3H), 3.33–3.30 (m, 2H), 3.14 (dd, 1H, $J = 11.6$, 4.3 Hz, H-3), 3.10–2.98 (m, 1H), 1.95 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 1.70 (s, 3H, CH₃), 1.46–1.43 (m, 4H), 1.27 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6), 1.03, 1.01 (each s, each 3H, CH₃), 0.97 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz, CH₃), 0.94, 0.87, 0.84 (each s, each 3H, CH₃), 0.74 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.72 (C-28), 151.76 (C-20), 110.34 (C-29), 105.48 (C-1'), 103.04 (Rha-C-1), 101.99 (Rha-C-1), 90.39, 80.34, 79.21, 78.12, 76.41, 73.91, 73.67, 72.41, 72.11, 71.98, 70.73, 69.99, 64.84, 61.95, 57.89, 57.41, 51.99, 50.59, 43.54, 41.97, 40.34 (two), 39.73, 38.04, 38.00, 35.58, 33.20, 31.96 (two), 31.68, 30.79, 28.39, 27.36, 26.88, 22.09, 20.43 (two), 19.59, 19.26, 18.02, 17.90, 16.99, 16.92, 16.68, 15.20, 14.04. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₂H₈₇O₁₆ [M + H]⁺, 967.5994; found, 967.6018.

4.1.10.4. n-Pentyl-3β-O-[2, 4-di-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-β-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-6). Similarly, **BA-6** was prepared as a white solid in 76 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.38 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, Rha-H-1), 4.83 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, Rha-H-1), 4.73 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.63 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.44 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.19–4.03 (m, 2H), 4.03–3.95 (m, 2H), 3.94–3.92 (m, 1H), 3.86 (dd, 1H, $J = 3.2$, 1.8 Hz, Rha-H-2), 3.82 (dd, 1H, $J = 12.0$, 2.0 Hz, H-6'-1), 3.76 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.72–3.63 (m, 2H), 3.64 (dd, 1H, $J = 3.4$, 1.1 Hz, Rha-H-2), 3.58 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz, Rha-H-4), 3.50–3.38 (m, 2H), 3.35–3.30 (m, 2H), 3.16 (dd, 1H, $J = 11.7$, 4.2 Hz, H-3), 3.10–2.98 (m, 2H), 2.27 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 1.72 (s, 3H, CH₃), 1.47–1.38 (m, 6H), 1.29 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.23 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.05, 1.03, 0.96, 0.96, 0.88, 0.86 (each s, each 3H, CH₃), 0.76 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.77 (C-28), 151.78 (C-20), 110.35 (C-29), 105.49 (C-1'), 103.05 (Rha-C-1), 102.00 (Rha-C-1), 90.38, 80.34, 79.21, 78.13, 76.42, 73.92, 73.68, 72.43, 72.11, 71.99, 70.74, 69.99, 65.13, 61.96, 57.91, 57.41, 51.98, 50.58, 49.85, 43.55, 41.98, 40.34, 39.76, 38.05, 35.59, 33.23, 31.70, 30.79, 29.59 (three), 28.39, 27.36, 26.88, 23.36 (two), 22.09, 19.60, 19.27, 18.02, 17.90, 16.99, 16.92, 16.72, 15.19, 14.43 (two). HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₃H₈₉O₁₆ [M + H]⁺, 981.6151; found, 981.6183.

4.1.10.5. n-Hexyl-3β-O-[2, 4-di-O-(α-l-rhamnopyranosyl)-β-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-7). Similarly, **BA-7** was prepared as a white solid in 75 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.38 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 4.85 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 4.73 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.63 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.44 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.19–4.03 (m, 2H), 4.03–3.95 (m, 2H), 3.93 (dd, 1H, $J = 9.5$, 7.3 Hz, H-2'), 3.86 (dd, 1H, $J = 3.2$, 1.8 Hz, Rha-H-2), 3.82 (dd,

1H, $J = 12.0$, 2.0 Hz, H-6'-1), 3.76 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.72–3.63 (m, 2H), 3.64 (d, 1H, $J = 3.4$ Hz, Rha-H-2), 3.58 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz, Rha-H-4), 3.50–3.38 (m, 2H), 3.33 (brs, 1H), 3.16 (dd, 1H, $J = 11.7$, 4.2 Hz, H-3), 3.10–2.98 (m, 1H), 2.27 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 1.72 (s, 3H, CH₃), 1.47–1.38 (m, 8H), 1.29 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.23 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.05, 1.03, 0.96, 0.96, 0.88, 0.86 (each s, each 3H, CH₃), 0.76 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.80 (C-28), 151.79 (C-20), 110.36 (C-29), 105.50 (C-1'), 103.06 (Rha-C-1), 102.01 (Rha-C-1), 90.39, 80.36, 79.22, 78.14, 76.44, 73.93, 73.68, 72.43, 72.12, 71.99, 70.75, 70.00, 65.15, 61.97, 57.92, 57.42, 51.98, 50.59, 43.55, 41.99, 40.35, 40.31, 39.78, 38.05, 35.59, 33.25, 32.57, 31.71, 30.82, 29.87, 28.40, 27.37, 27.07, 26.88, 23.73 (two), 22.10, 19.60, 19.27, 18.02, 17.90, 16.99, 16.92, 16.73, 15.20, 14.40. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₄H₉₁O₁₆ [M + H]⁺, 995.6307; found, 995.6335.

4.1.10.6. Isopropyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-8). Similarly, **BA-8** was prepared as a white solid in 78 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.36 (s, 1H, Rha-H-1), 4.82 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 5.06–4.94 (m, 1H), 4.72 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.61 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.42 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.03–3.95 (m, 2H), 3.91 (dd, 1H, $J = 9.5$, 7.2 Hz, H-2'), 3.84 (m, 1H), 3.80 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz), 3.75 (dd, 1H, $J = 9.6$, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.71–3.59 (m, 2H), 3.57 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz, Rha-H-4), 3.48–3.34 (m, 2H), 3.32–3.30 (m, 2H), 3.14 (dd, 1H, $J = 11.5$, 4.2 Hz, H-3), 3.07–2.97 (m, 1H), 2.24 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 1.70 (s, 3H, CH₃), 1.28–1.25 (m, 6H), 1.25 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.03, 1.01, 0.95, 0.87, 0.84 (each s, each 3H, CH₃), 0.74 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.14 (C-28), 151.82 (C-20), 110.31 (C-29), 105.48 (C-1'), 103.02 (Rha-C-1), 101.99 (Rha-C-1), 90.39, 80.31, 79.21, 78.11, 76.41, 73.90, 73.66, 72.41, 72.10, 71.97, 70.72, 69.98, 68.36, 61.95, 57.67, 57.42, 51.99, 50.51, 43.53, 42.01, 40.34 (two), 39.69, 38.04 (two), 35.56, 33.14, 31.70, 30.72, 28.40, 27.36, 26.90, 22.11 (three), 22.05 (two), 19.62, 19.26, 18.02, 17.90, 16.98, 16.93, 16.70, 15.20. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₁H₈₅O₁₆ [M + H]⁺, 953.5838; found, 953.5852.

4.1.10.7. Cyclohexyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-9). Similarly, **BA-9** was prepared as a white solid in 73 % yield for two steps; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 5.34 (s, 1H, Rha-H-1), 4.85 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, Rha-H-1), 4.68 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.56 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.40 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 3.98–3.95 (m, 2H), 3.92–3.69 (m, 3H), 3.68–3.46 (m, 3H), 3.46–3.32 (m, 2H), 3.12 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H-3), 2.70–2.66 (m, 10H, cyclohexanol-H), 2.22 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz), 1.67 (s, 3H, CH₃), 1.24 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Rha-H-6), 1.18 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6), 1.00, 0.98, 0.94, 0.83, 0.81 (each s, each 3H, CH₃), 0.71 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD): δ 170.73 (C-28), 152.26 (C-20), 110.12 (C-29), 105.46 (C-1'), 102.97 (Rha-C-1), 101.96 (Rha-C-1), 90.40, 80.22, 79.19, 78.08, 76.40, 73.90, 73.67, 72.41, 72.08 (two), 71.98, 70.70, 69.98, 61.91, 57.40, 52.01, 50.42, 43.56, 41.93, 40.32 (two), 39.57, 38.03, 35.60, 35.38 (two), 31.73, 30.86, 28.38, 27.35, 26.90, 22.09, 19.57, 19.26, 18.01 (two), 17.91 (two), 16.97 (two), 16.90 (two), 16.73, 15.13. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₄H₈₉O₁₆ [M + H]⁺, 993.6151; found, 993.6175.

4.1.10.8. 2'-Chloroethyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-10). Similarly, **BA-10** was prepared as a white solid in 74 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.38 (s, 1H, Rha-H-1), 4.82 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, Rha-H-1), 4.75 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.63 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.44 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.40–4.32 (m, 2H), 3.97–3.95 (m, 2H), 3.82–3.80 (m, 3H), 3.72–3.51 (m, 2H), 3.44–3.41 (m, 2H), 3.16 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, H-3), 2.29 (d, 1H, $J = 10.1$ Hz, H-13), 1.73 (s, 3H, CH₃), 1.29 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-6), 1.23 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-6), 1.05, 1.04, 0.97, 0.89,

0.86 (each s, each 3H, CH₃), 0.76 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.21 (C-28), 151.74 (C-20), 110.38 (C-29), 105.50 (C-1'), 103.06 (Rha-C-1), 102.01 (Rha-C-1), 90.41, 80.35, 79.21, 78.14, 76.44, 73.93, 73.68, 72.43, 72.12 (two), 71.99, 70.75, 70.00, 65.09, 61.97, 57.98, 57.43, 52.00, 50.63, 43.54, 43.26, 42.00, 40.35 (two), 39.72, 38.05, 35.58, 33.08, 31.63, 30.82, 28.40, 27.38, 26.88, 19.60, 19.27, 18.02 (two), 17.91, 16.99 (two), 16.94 (two), 16.65, 15.21. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₀H₈₂O₁₆Cl [M + H]⁺, 973.5291; found, 973.5317.

4.1.10.9. 2'-Bromoethyl 3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-11). Similarly, **BA-11** was prepared as a white solid in 70 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.34 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, Rha-H-1), 4.83 (s, 1H, Rha-H-1), 4.70 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.58 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.40 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.16–4.08 (m, 2H), 3.99–3.91 (m, 2H), 3.89 (dd, 1H, $J = 9.6$, 7.4 Hz, H-2'), 3.83–3.81 (m, 1H), 3.78 (dd, 1H, $J = 12.0$, 2.0 Hz, H-6'-1), 3.72 (dd, 1H, $J = 9.7$, 3.1 Hz, Rha-H-3), 3.64 (dd, 1H, $J = 13.0$, 5.6 Hz, H-6'-2), 3.63–3.56 (m, 2H), 3.59–3.49 (m, 1H), 3.46–3.34 (m, 2H), 3.32–3.27 (m, 2H), 3.16–3.07 (m, 1H, H-3), 3.03–2.93 (m, 1H), 2.27 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz), 1.67 (s, 3H, CH₃), 1.24 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Rha-H-6), 1.19 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6), 1.01, 0.98, 0.92, 0.84, 0.81 (each s, each 3H, CH₃), 0.71 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 177.62 (C-28), 151.83 (C-20), 110.42 (C-29), 105.46 (C-1'), 103.02 (Rha-C-1), 101.97 (Rha-C-1), 90.37, 80.32, 79.20, 78.11, 76.40, 73.90, 73.67, 72.41, 72.10 (two), 71.98, 70.71, 69.97, 66.33, 61.12, 57.88, 57.40, 51.99, 49.85, 43.52, 41.95 (two), 40.32 (two), 39.57, 38.03 (two), 33.04, 30.72, 28.37, 27.35, 26.86, 22.05, 19.57, 19.25, 18.00 (two), 17.90 (two), 16.97 (two), 16.89 (two), 16.59, 15.16. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₀H₈₂O₁₆Br [M + H]⁺, 1017.4786; found, 1017.4803.

4.1.10.10. 2'-Hydroxyethyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-12). Similarly, **BA-12** was prepared as a white solid in 70 % yield for two steps; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 5.37 (s, 1H, Rha-H-1), 4.82 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 4.73 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.61 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.42 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.16–4.14 (m, 2H), 3.97–3.95 (m, 2H), 3.87–3.71 (m, 3H), 3.66–3.64 (m, 1H), 3.57 (t, 1H, $J = 8.7$ Hz), 3.47–3.35 (m, 2H), 3.34–3.32 (m, 3H), 3.19–3.11 (m, 1H, H-3), 3.02–3.00 (m, 2H), 2.31 (d, 1H, $J = 11.9$ Hz), 1.71 (s, 3H, CH₃), 1.27 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-6), 1.22 (d, 3H, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6), 1.04, 1.01, 0.95, 0.87, 0.84 (each s, each 3H, CH₃), 0.73 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 178.06 (C-28), 151.73 (C-20), 110.36 (C-29), 105.48, 105.30 (C-1'), 103.02 (Rha-C-1), 101.97 (Rha-C-1), 90.37, 80.30, 79.17, 78.12, 76.41, 73.91, 73.67, 72.41, 72.11 (two), 71.98, 70.72, 69.97, 61.94, 57.86, 57.41, 56.45, 51.97, 51.84, 50.62, 43.50, 41.90, 40.33 (two), 39.63, 38.04, 37.86, 35.55, 33.13, 31.62, 30.80, 28.40, 27.36, 26.84, 22.06, 19.60, 19.27, 18.03, 17.91, 16.99, 16.92, 16.59, 15.21. HRMS (ESI) m/z : calcd for C₅₀H₈₃O₁₇ [M + H]⁺, 955.5630; found, 955.5658.

4.1.10.11. 2'-Oxopethyl-3 β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-13). Similarly, **BA-13** was prepared as a white solid in 65 % yield for two steps; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 9.60 (s, 1H, CHO), 5.33 (s, 1H, Rha-H-1), 4.87 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, Rha-H-1), 4.82 (brs, 2H), 4.68 (s, 1H, C = CH₂-1), 4.57 (s, 1H, C = CH₂-2), 4.38 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.92–3.87 (m, 3H), 3.74 (dd, 1H, $J = 9.6$, 7.5 Hz, H-2'), 3.63–3.61 (m, 4H), 3.53 (t, 1H, $J = 9.2$ Hz, Rha-H-4), 3.42–3.33 (m, 1H), 3.28–3.26 (m, 2H), 3.20–3.14 (m, 3H), 3.12–3.10 (m, 1H, H-3), 3.01–2.91 (m, 2H), 2.19 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz), 1.66 (s, 3H, CH₃), 1.23 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-6), 1.17 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, Rha-H-6), 0.99, 0.97, 0.90, 0.83, 0.80 (each s, each 3H, CH₃), 0.70 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, H-5); ¹³C NMR (151 MHz, CD₃OD): δ 207.02, 178.08 (C-28), 151.72 (C-20), 110.38 (C-129), 105.49 (C-1'), 103.00 (Rha-C-1), 101.98 (Rha-C-1), 90.39, 80.23, 79.17, 78.10, 76.41, 73.89, 73.65, 72.40, 72.08 (two), 71.96, 70.70, 69.98, 61.91, 57.85, 57.40, 51.96, 51.86, 50.61,

43.49, 41.89, 40.33 (two), 39.62, 38.03 (two), 37.86, 35.54, 33.12, 31.60, 30.79, 28.39, 27.35, 26.82, 22.06, 19.59, 19.26, 18.03 (two), 17.91 (two), 16.99, 16.93, 16.58, 15.21. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{50}H_{81}O_{17}$ $[M + H]^+$, 953.5474; found, 953.5496.

4.1.10.12. Allyl- β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-14). Similarly, **BA-14** was prepared as a white solid in 68 % yield for two steps; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 6.04–5.90 (m, 1H), 5.38 (s, 1H, Rha-H-1), 5.35 (d, 1H, J = 11.7 Hz), 5.25 (d, 1H, J = 10.4 Hz), 4.85 (s, 1H, Rha-H-1), 4.73 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.61 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.58 (d, 2H, J = 8.2 Hz), 4.43 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.03–3.94 (m, 2H), 3.92 (dd, 1H, J = 9.5, 7.2 Hz, H-2'), 3.88–3.77 (m, 2H), 3.75 (dd, 1H, J = 9.6, 3.3 Hz, Rha-H-3), 3.71–3.60 (m, 2H), 3.62–3.53 (m, 1H), 3.49–3.35 (m, 3H), 3.33–3.31 (m, 1H), 3.15 (dd, 1H, J = 11.3, 4.1 Hz, H-3), 3.02–3.00 (m, 1H), 2.89–2.87 (m, 1H), 2.27 (d, 1H, J = 9.4 Hz), 1.71 (s, 3H, CH_3), 1.28 (d, 3H, J = 6.1 Hz, Rha-H-6), 1.22 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.04, 1.02, 0.94, 0.87, 0.85 (each s, each 3H, CH_3), 0.74 (d, 1H, J = 9.5 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 177.18 (C-28), 151.78 (C-20), 61.97, 57.91, 57.42, 52.01, 50.64, 43.53, 42.00, 40.35, 39.66, 38.05, 37.92, 36.97, 35.56, 35.38 (two), 33.13, 31.62, 30.77, 28.38, 27.37, 26.86, 22.07, 19.55, 19.26, 18.01, 17.90, 16.98, 16.89, 16.64, 15.14. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{51}H_{83}O_{16}$ $[M + H]^+$, 951.5681; found, 951.5703.

4.1.10.13. Cyclopropylmethyl- β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oic acid (BA-15). Similarly, **BA-15** was prepared as a white solid in 70 % yield for two steps; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.37 (s, 1H, Rha-H-1), 4.82 (s, 1H, Rha-H-1), 4.74 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.62 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.43 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.04–3.94 (m, 4H), 3.91 (dd, 1H, J = 9.6, 7.2 Hz, H-2'), 3.90–3.78 (m, 1H), 3.76 (dd, 1H, J = 9.6, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.72–3.60 (m, 3H), 3.58 (t, 1H, J = 8.4 Hz), 3.48–3.35 (m, 3H), 3.33–3.31 (m, 2H), 3.15 (dd, 1H, J = 11.4, 4.3 Hz, H-3), 3.10–2.99 (m, 2H), 2.29 (d, 1H, J = 10.1 Hz), 1.71 (s, 3H, CH_3), 1.28 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.22 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.04, 1.02, 0.96, 0.88, 0.85 (each s, each 3H, CH_3), 0.75 (d, 1H, J = 9.7 Hz, H-5), 0.58 (q, 2H, J = 7.7 Hz), 0.32 (q, 2H, J = 7.5 Hz); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 177.72 (C-28), 151.81 (C-20), 110.34 (C-29), 105.50 (C-1'), 103.04 (Rha-C-1), 102.00 (Rha-C-1), 90.40, 80.31, 79.21, 78.12, 76.42, 73.91, 73.67, 72.42, 72.11 (two), 71.98, 70.73, 69.99, 69.68, 61.95, 57.87, 57.43, 52.00, 50.60, 43.56, 41.97, 40.35 (two), 39.71, 38.05, 35.60, 33.21, 31.70, 30.78, 28.41, 27.37, 26.90, 22.12, 19.63, 19.28, 18.03 (two), 17.90 (two), 16.99 (two), 16.94 (two), 16.73, 15.24, 10.99. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{52}H_{85}O_{16}$ $[M + H]^+$, 965.5838; found, 965.5856.

4.1.11 General procedure for BA-N-1 and BA-N-2. To a solution of compound **20** (1.0 mmol) in 10 mL dried CH_2Cl_2 was added oxalyl chloride (1 mL) under argon. Then the mixture was stirred at room temperature for 12 h and concentrated to dryness *in vacuo*. To a dried CH_2Cl_2 (10 mL) solution of methylamine hydrochloride or dimethylamine hydrochloride (2.0 mmol) was added to the crude acid chloride. The reaction mixture was stirred at r.t. for 3 h under argon and then concentrated under reduced pressure. The obtained residue was redissolved in 2:1 MeOH/ CH_2Cl_2 (15 mL) and then NaOMe was added until pH = 10. After stirred at r.t. for 3 h, the solution was neutralized with Dowex 50 $\times$ 8 (H^+) resin until pH = 7, filtered and concentrated *in vacuo*. Then the residue was purified by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH, 6:1) to yield compounds **BA-N-1** and **BA-N-2**, respectively.

4.1.11. N- β -O-[2, 4-Di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -Dglucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-28-oyl]-methylamine (BA-N-1)

BA-N-1 was prepared as a white solid in 85 % yield for three steps. 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.37 (s, 1H, Rha-H-1), 4.83 (s, 1H, Rha-H-1), 4.71 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.59 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.43 (d, 1H, J = 7.4 Hz, H-1'), 3.94–3.90 (m, 3H), 3.83 (d, 1H, J = 12.0 Hz), 3.76 (t, 1H, J = 11.2

Hz), 3.71–3.52 (m, 3H), 3.45–3.36 (m, 3H), 2.70 (s, 3H, $NH-CH_3$), 2.57–2.55 (m, 1H), 2.11 (d, 1H, J = 12.2 Hz), 1.69 (s, 3H, CH_3), 1.25–1.19 (m, 6H, 2 $\times$ Rha-H-6), 1.03, 1.00, 0.96, 0.87, 0.84 (each s, each 3H, CH_3), 0.78–0.70 (m, 1H, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 179.75 (C-28), 152.37 (C-20), 109.93 (C-29), 105.45 (C-1'), 103.04 (Rha-C-1), 101.94 (Rha-C-1), 90.34, 80.34, 79.13, 78.17, 76.42, 73.93, 73.70, 72.44, 72.11 (two), 72.03, 70.74, 69.96, 61.92, 57.43, 56.94, 52.09, 51.43, 48.17, 43.48, 41.97, 40.33 (two), 39.34, 38.97, 38.05, 35.59, 34.13, 31.93, 30.54, 28.39, 27.38, 26.98, 26.42, 22.14, 19.63, 19.27, 18.04, 17.96, 16.99, 16.91, 16.72, 15.09. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{49}H_{81}O_{15}NNa$ $[M + Na]^+$, 946.5498; found, 946.5447.

4.1.12. N- β -O-[2, 4-di-O-(α -l-rhamnopyranosyl)- β -Dglucopyranosyl]-lup-20(29)-ene-28-oyl]-dimethylamine (BA-N-2)

BA-N-2 was prepared as a white solid in 82 % yield for three steps; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.37 (s, 1H, Rha-H-1), 4.81 (s, 1H, Rha-H-1), 4.70 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.58 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.43 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.00–3.95 (m, 3H), 3.92 (dd, 1H, J = 9.5, 6.8 Hz, H-2'), 3.87–3.78 (m, 3H), 3.75 (dd, 1H, J = 9.5, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.70–3.62 (m, 2H), 3.57–3.55 (m, 1H), 3.47–3.35 (m, 2H), 3.2 (s, 6H, 2 $\times$ NCH_3), 3.07–2.95 (m, 1H, H-3), 2.34 (d, 1H, J = 13.4 Hz), 1.70 (s, 3H, CH_3), 1.27 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.21 (d, 3H, J = 6.1 Hz, Rha-H-6), 1.03, 1.00, 0.95, 0.87, 0.84 (each s, each 3H, CH_3), 0.74 (s, 1H, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 177.13 (C-28), 152.63 (C-20), 109.83 (C-29), 105.47 (C-1'), 103.09 (Rha-C-1), 101.98 (Rha-C-1), 90.40, 80.44, 79.19, 78.19, 76.44, 73.94, 73.70, 72.45, 72.13, 72.03, 70.76, 70.00, 61.96, 57.51, 56.09, 53.92, 52.28, 47.49, 43.03, 41.94, 40.36, 38.49, 38.08, 36.83, 35.62, 32.92, 32.44, 31.02, 28.37, 27.38, 27.03, 22.34, 19.75, 19.29, 18.01, 17.91, 17.48, 17.29, 17.10, 16.98, 16.68, 15.10. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{50}H_{83}O_{15}NNa$ $[M + Na]^+$, 960.5660; found, 960.5691.

4.1.13. β -O-[2, 4-Di-O-(2, 3, 4-tri-O-Acetyl- α -l-rhamnopyranosyl)- β -(3, 6-di-O-acetyl)-d-glucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3, 28-diol (22)

Compound **21** (360 mg, 0.27 mmol) dissolved in THF (5 mL) and MeOH (5 mL), and 10 % Pd/C (40 mg) was added to the solution. The reaction mixture was stirred under atmospheric pressure hydrogen at r.t. for 1 h. After Pd/C was filtered off, the mixture was concentrated under vacuum to give a crude residue, which was purified by column chromatography (petroleum ether-EtOAc- CH_2Cl_2 , 2:1:1) to obtain **22** (302 mg, 90 %) as a white powder. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 5.52–5.21 (m, 2H), 5.11–5.07 (m, 3H), 4.86 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.82 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.69–4.67 (m, 1H), 4.58 (d, 1H, J = 7.9 Hz, H-1'), 4.42 (t, 1H, J = 9.7 Hz, Rha-H-4), 4.36–4.16 (m, 3H), 4.16–3.88 (m, 4H), 3.73 (t, 1H, J = 9.2 Hz, H-4'), 3.61 (t, 1H, J = 8.8 Hz, Rha-H-4), 3.55–3.43 (m, 2H, C- CH_2), 3.31 (d, 1H, J = 10.6 Hz), 3.18–3.05 (m, 1H, H-3), 2.15, 2.12, 2.12, 2.06, 2.04, 2.00, 1.99, 1.95 (each s, each 3H, each CH_3CO), 1.67 (s, 3H, CH_3), 1.24 (d, 3H, J = 6.3 Hz, CH_3), 1.17 (d, 3H, J = 6.3 Hz, CH_3), 1.04 (s, 6H, 2 $\times$ CH_3), 1.00 (s, 3H, CH_3), 0.81 (s, 6H, 2 $\times$ CH_3), 0.75 (d, 1H, J = 7.0 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ 170.27, 170.13 (three), 170.09 (three), 169.82, 150.01 (C-20), 111.18 (C-29), 104.02 (C-1'), 99.14 (Rha-C-1), 97.36 (Rha-C-1), 90.28, 82.28, 76.33, 75.63, 75.56, 75.42, 71.67, 71.22, 70.70, 70.02, 69.73, 69.62, 69.28, 69.11, 68.71, 68.21, 66.66, 62.66, 60.42, 56.05, 50.44, 48.92, 47.88, 42.81, 41.08, 39.26, 36.94, 34.26, 34.08, 29.35, 28.28, 27.84, 26.99, 26.29, 25.88, 23.02, 22.58, 21.06, 20.92 (three), 20.88 (three), 20.84 (three), 20.76 (two), 18.29, 17.49 (two), 17.42 (two), 16.24 (two), 16.23, 14.89, 14.80. HRMS (ESI) m/z : calcd for $C_{64}H_{97}O_{23}$ $[M + H]^+$, 1233.6421; found, 1233.6443.

4.1.14. β -O-[2, 4-Di-O-(α -l-Rhamnopyranosyl)- β -d-glucopyranosyl]-lup-20 (30)-en-28-al (BA-18)

To a solution of **21** (0.20 g, 0.16 mmol, 1.0 eq) in CH_2Cl_2 -MeOH (20 mL, V: V = 1: 1) and was added PCC (0.10 g, 0.41 mmol) at 0 °C under argon. After the mixture was stirred at r.t. for 4 h, the reaction mixture was filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in EtOAc (60 mL), then extracted with water (3 $\times$ 30

mL) and brine (3×30 mL). The organic phase was concentrated under reduced pressure. The residue was re-dissolved in MeOH (10 mL) and CH_2Cl_2 (10 mL), CH_3ONa was added until pH = 10. The reaction mixture was stirred at r.t. until the reaction was complete detected by TLC. Then, the mixture was neutralized with Dowex 50×8 (H^+) resin until pH = 7. The reaction mixture was filtered and evaporated to remove excess solvent under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH, 5:1) to produce **BA-18** (0.13 g, 84 % for two steps). ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 9.58 (s, 1H, CHO), 5.29 (s, 1H, Rha-H-1), 4.89 (s, 1H, Rha-H-1), 4.56 (s, 2H, C = CH_2), 4.35 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.87 (m, 2H), 3.79–3.63 (m, 1H), 3.62–3.44 (m, 3H), 3.42–3.29 (m, 3H), 3.25–3.23 (m, 3H), 3.12–3.00 (m, 1H, H-3), 2.86–2.73 (m, 2H), 2.03–1.80 (m, 1H), 1.64 (s, 3H, CH_3), 1.17 (m, 6H, $2 \times$ Rha-H-6), 1.00–0.67 (m, 15H, $5 \times \text{CH}_3$); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 207.06 (CHO), 149.80 (C-20), 110.21 (C-29), 104.09 (C-1'), 101.65 (Rha-C-1), 100.62 (Rha-C-1), 89.04, 78.95, 77.84, 76.74, 75.05, 72.54, 72.30, 71.04, 70.73, 70.61, 69.35, 68.63, 60.58, 59.13, 56.53, 56.00, 50.64, 42.50, 42.28, 42.17, 40.66, 40.55, 38.95, 38.69, 36.66, 34.20, 29.43, 26.99, 25.98, 20.68, 19.76, 18.19, 17.86, 16.63, 16.52, 15.61, 15.51, 15.26, 15.09, 13.75, 13.68, 13.30. HRMS (ESI) m/z : calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{81}\text{O}_{15} [\text{M} + \text{H}]^+$, 909.5575; found, 909.5593.

4.1.15. 28-(Methoxy)- β -O-[2, 4-di-O-(α -l-Rhamnopyranosyl)- β -d-gucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3-al (BA-19)

To a solution of **21** (0.20 g, 0.16 mmol) in ACN (10 mL) was added Ag_2O (0.19 g, 0.81 mmol). After stirring for 20 min, CH_3I (0.12 g, 0.81 mmol) was added quickly while the mixture was at 60 °C under argon atmosphere. Stirring was continued overnight at that temperature. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in EtOAc (100 mL), then extracted with water (3×50 mL) and brine (3×50 mL). The organic phase was concentrated under vacuum. Then, the residue was re-dissolved in MeOH (10 mL) and CH_2Cl_2 (10 mL), CH_3ONa was added until pH = 10. After the reaction mixture was stirred at r.t. for 5 h, Dowex 50×8 (H^+) resin was added until pH = 7. The reaction mixture was filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH, 6:1) to afford **BA-19** (0.12 g, 83 % for two steps). ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.39 (s, 1H, Rha-H-1), 4.85 (d, 1H, J = 1.7 Hz, Rha-H-1), 4.72 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.60 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.44 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.99 (dd, 1H, J = 3.5, 1.7 Hz, Rha-H-2), 3.93 (dd, 1H, J = 9.5, 7.4 Hz, H-2'), 3.86 (dd, 1H, J = 3.3, 1.9 Hz, Rha-H-2), 3.86–3.78 (m, 1H), 3.77 (dd, 1H, J = 9.7, 3.5 Hz, Rha-H-3), 3.67 (dd, 1H, J = 9.7, 3.8 Hz, Rha-H-3), 3.58 (t, 1H, J = 9.3 Hz, Rha-H-3), 3.50–3.38 (m, 3H), 3.36–3.30 (m, 4H), 3.20–3.11 (m, 2H), 2.49–2.45 (m, 1H), 1.71 (s, 3H, CH_3), 1.29 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.23 (d, 3H, J = 6.3 Hz, Rha-H-6), 1.10, 1.06, 1.03, 0.90, 0.87 (each s, each 3H, CH_3), 0.76 (d, 1H, J = 9.8 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 151.77 (C-20), 110.33 (C-29), 105.49 (C-1'), 103.05 (Rha-C-1), 102.00 (Rha-C-1), 90.39, 80.36, 79.21, 78.14, 76.43, 73.93, 73.68, 72.43, 72.12, 72.00, 70.75, 70.00, 61.96, 59.88, 57.38, 51.87, 50.13, 48.41, 43.78, 42.15, 40.35, 40.29, 38.88, 38.01, 35.77, 35.47, 31.07, 30.99, 30.77, 28.40, 28.35, 27.37, 26.59, 22.00, 19.42, 19.28, 18.02, 17.90, 17.00, 16.90, 16.58, 15.33. HRMS (MALDI) m/z : calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{82}\text{O}_{15}\text{Na} [\text{M} + \text{Na}]^+$, 933.5551; found, 933.5573.

4.1.16. 28-Chloro- β -O-[2, 4-di-O-(α -l-Rhamnopyranosyl)- β -d-gucopyranosyl]-lup-20 (29)-ene-3-al (BA-21)

To a solution of **21** (0.20 g, 0.16 mmol, 1.0 eq) in dry CH_2Cl_2 (10 mL) was added SOCl_2 (18 μL , 0.21 mmol) at 0 °C under N_2 atmosphere. After the mixture was stirred at r.t. for 12 h, the reaction was quenched with NaHCO_3 at 0 °C. Then, the reaction mixture was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in EtOAc (60 mL), then extracted with water and brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated in reduced pressure. The obtained crude product was re-dissolved in MeOH (10 mL) and CH_2Cl_2 (10 mL), CH_3ONa was added until pH = 10. The reactant was then held at 30 °C until TLC indicated the reaction was complete.

Dowex 50×8 (H^+) resin was added until pH = 7. Removal of the precipitate by filtration provided a yellowish solution, which was concentrated under vacuum. The residue was purified by silica gel column chromatography (CH_2Cl_2 -MeOH, 6:1) to yield **BA-21** (0.11 g, 76 % for two steps). ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.38 (s, 1H, Rha-H-1), 4.85 (s, 1H, Rha-H-1), 4.70 (s, 1H, C = CH_2 -1), 4.63 (s, 1H, C = CH_2 -2), 4.45 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.04–3.95 (m, 2H), 3.93 (dd, 1H, J = 9.5, 7.4 Hz, H-2'), 3.89–3.78 (m, 2H), 3.77 (dd, 1H, J = 9.6, 3.4 Hz, Rha-H-3), 3.73–3.59 (m, 2H), 3.55–3.56 (m, 1H), 3.53–3.43 (m, 2H), 3.47–3.36 (m, 2H), 3.34–3.31 (m, 2H), 3.18 (dd, 1H, J = 11.7, 4.6 Hz, H-3), 3.03–3.01 (m, 1H), 2.90–2.88 (m, 1H), 2.04–1.94 (m, 1H), 1.32–1.30 (m, 2H), 1.23 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 1.05 (d, 3H, J = 6.2 Hz, Rha-H-6), 0.98, 0.94, 0.92, 0.87, 0.85 (each s, each 3H, CH_3), 0.75 (d, 1H, J = 9.7 Hz, H-5); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD): δ 150.19 (C-20), 108.89 (C-29), 104.25 (C-1'), 101.01 (Rha-C-1), 100.45 (Rha-C-1), 88.45, 87.20, 77.39, 76.90, 75.68, 72.39, 71.19, 71.09, 70.74, 70.62, 69.20, 69.17, 68.55, 60.59, 55.97, 50.93, 46.63, 41.37, 40.72, 39.16, 38.97, 36.94, 36.53, 36.37, 36.27, 34.72, 34.21, 33.90, 33.16, 29.27, 27.68, 26.46, 26.43, 26.36, 26.31, 24.71, 21.25, 18.32 (two), 18.10, 16.89, 16.44, 15.86, 13.75, 11.84. HRMS (MALDI) m/z : calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{79}\text{O}_{14}\text{ClNa} [\text{M} + \text{Na}]^+$, 937.5056; found, 937.5072.

4.2. Biology assay

4.2.1. Cell lines and plasmids

HEK-293 T (Human, embryonic kidney) and Vero-E6 (African green monkey, kidney) cells were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco) supplemented with 10 % fetal bovine serum (Capricorn Scientific) and 1 % penicillin (100 units/mL) /streptomycin (100 μg /mL) (Gibco, USA). 293 T-ACE2 (293 T cells stably expressing human ACE2) were constructed by our laboratory and cultivated under the same conditions as above.

Plasmid pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Sipke and pAAV-IRES-GFP-SARS-CoV-2-Sipke were given by the laboratory of Professor Shibo Jiang. Plasmid pAAV-IRES-EGFP was purchased from Hedghogbio Science and Technology Ltd. Expression plasmids for full-length vesicular stomatitis virus (VSV) glycoprotein (VSV-G) and pNL4-3.Luc.R-E- plasmids were obtained from Addgene (Cambridge, MA). Based on Plasmid pcDNA3.1-SARS-CoV-2 Spike, its mutants N501Y, D614G and Delta were all retained in our laboratory. Plasmid pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Omicron and its 2 mutant plasmids were constructed by our laboratory. In brief, primers containing mutant sites were designed to amplify the specified DNA fragments with pcDNA3.1-SARS-CoV-2-Omicron as a template. The product obtained by PCR in the previous step was subjected to homologous recombination according to the manufacturer's instructions (Vazyme, China). The recombinant plasmids were used to transform *stabl3* and inoculated in culture plates containing the corresponding resistance. After incubation in 37 °C for 12–16 h, single colonies on plates were selected and sequenced. Mutation sites and corresponding primers were shown in followed table [30]:

765-Foward	GCTTCTGCACCCAGCTGAAGGCAGCCCTGACCGGCATCGCCGTGG
765-Reverse	CTTCAGCTGGGTGCAGAAAGCTGCC
964-Foward	CCAGGCCCTGAACACCTGGTGGCGCAGCTGTCCAGCAAGTTCGG
964-Reverse	CACGAGGTGTTTCAGGGCCCTGG
Circ-Foward	GCGTGAAGCTGCACTACACGGCGGCACCGAGACATCTCAGG
Circ-Reverse	GGCTAGCACGGAAGCAGCAGCATC

4.2.2. Pseudotyped SARS-CoV-2 infection assay

HEK293T cells were seeded in 6-well plates and cultured overnight at 37 °C. 1 μg pNL4-3.Luc.R-E-plasmid and 0.5 μg pcDNA3.1-SARS-CoV-2-S plasmid were transfected into 293 T cells, and the supernatant virus liquid was collected after culturing at 37 °C for 48 h. 293 T-ACE2 cells were seeded in 96-well cell plates one day before infection. The concentration gradient drug and SARS-CoV-2 pseudovirus were mixed for

30 min at room temperature, and then added to the cells for 48 h of infection. Cells were lysed and luciferase activities were quantified by Luciferase assay system (Promega, USA) [30].

4.2.3. Cytotoxicity assay

Cells were seeded in a 96-well plate at a density of 1×10^4 cells/well, and cultured at 37 °C overnight. After 48 h of concentration gradient administration, 20 μ L of MTT working solution (5 mg/mL) was added to each well, and cultured at 37 °C for 4 h. After discarding the culture supernatant, 150 μ L of DMSO was added to each well, and the absorbance at 570 nm was measured by a microplate reader after sufficient shaking to dissolve. According to the measured OD value, the survival rate of cells under the action of the corresponding concentration of drugs compared with the control group was calculated, respectively [31].

4.2.4. Authentic SARS-CoV-2 inhibition assay

Authentic SARS-CoV-2 inhibition assay was performed by Wuhan institute of virology, Chinese academy of sciences. Vero-E6 cells were seeded in a 48-well plate at a cell density of 3×10^5 cells/well and cultured overnight at 37 °C, 5 % CO₂. SARS-CoV-2 virus dilution (MOI = 0.05) and serially diluted drugs were pre-incubated at 37 °C for 1 h to infect cells. After that, the supernatant of the infectious material was fully removed and 200 μ L of complete medium was added to each well to continue the culture. After 24 h, 150 μ L of cell culture supernatant was collected and viral RNA was extracted with an RNA extraction kit (Takara, Japan). The reverse transcribed product was determined by qRT-PCR for viral copy number in the supernatant (Takara TB Green® Premix Ex Taq™ II, Japan) [31].

4.2.5. Co-immunoprecipitation and western blotting

HEK-293 T cells were seeded in six-well plates at a density of 4×10^5 cells/well one day in advance. 2 μ g plasmids pcDNA3.1-ACE2-Flag and 2 μ g pcDNA3.1-SARS-Omicron were co-transfected into each well and drugs were added in at the same time. After 48 h, total cell protein was extracted and incubated with protein A Sepharose bound by anti-labeled antibody or mouse IgG. The protein samples were separated by polyacrylamide gel electrophoresis after 12–16 h incubation with the antibody and were transferred to nitrocellulose membranes (Roche, Germany). SARS-Omicron and ACE2 were detected by anti-SARS-CoV-S (Sinol biological Inc., China) and anti-Flag (Sigma, USA) with mouse anti-goat-horseradish peroxidase (HRP) (Fude biological Technology Co., Ltd., China) as the secondary antibody [31].

4.2.6. Cell-cell fusion assays

HEK-293 T cells were seeded in 6-well plates at a density of 4×10^5 /well and cultured overnight. After transfection with pAAV-IRES-GFP-SARS-CoV-2-S plasmid expressing both SARS-CoV-2-S protein and green fluorescent protein GFP or pAAV-IRES-GFP vector plasmid, the cells were cultured at 37 °C for 48 h. Target cells Vero-E6 were seeded in 96-well plates at a density of 1×10^4 cells/well 6 h before cell fusion experiments. 293 T/SARS-CoV-2-S/EGFP or 293 T/EGFP effector cells were incubated with the concentration gradient drug for 30 min and then added to the target cells. After 24 h, three random fields were imaged by inverted fluorescence microscope (Zeiss, Germany) [19].

4.2.7. Surface plasmon resonance (SPR) measurement

Compound **BEA-1**, or **BEA-4** was fixed on the chip by photocrosslinking, then recombinant SARS-CoV-2 S-trimer protein (DRA 47, Novoprotein Inc. Shanghai) at indicated concentrations was injected sequentially into the chamber in buffer PBST (0.1 % Tween 20, pH 7.4). The interaction of S-trimer with **BEA-1**, or **BEA-4** fixed was detected by PlexArray™ HT SPRI (Seattle, US). The reaction temperature was controlled at 4 °C, binding time was 600 s, dissociation time was 360 s, flow rate was 0.5 μ L/s. The chip was regenerated with Glycine Hydrochloride (pH 2.0). The data of interaction signals was retrieved and analyzed with PlexeraDE software [30].

4.2.8. Circular dichroism (CD) spectroscopy

CD spectra were recorded on a Chirascan plus ACD (Applied Photophysics Ltd, England). HR1P and HR2P were dissolved in buffer (0.1 M KCl, 0.05 M KH₂PO₄, pH 7.2) at a final concentration of 10 μ M. Briefly, HR1P was incubated with PBS or **BA-4** (20 μ M) at 25 °C for 30 min, followed by addition of HR2P (10 μ M). After further incubation at 25 °C for 30 min, the CD wave scans were measured from 190 to 260 nm at 4 °C with the bandwidth of 2 nm and the step size of 1 nm [18,19].

4.2.9. Molecular docking

A molecular docking study was performed using Discovery Studio 3.0. The 3D crystal structure of SARS-CoV-2 spike glycoprotein was downloaded from RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) using PDB IDs of 6VXX or 7TF8, water and glycosyl molecules removed by manual. The protein and the ligand were prepared by minimization with CHARMM force field. Then the binding site of the protein was defined and prepared for docking by using Define Site (From Receptor Cavities) protocol. Molecular docking results were carried out using CDOCKER protocol without constraint and ranked by -CDOCKER_ENERGY [37].

4.2.10. Plasma stability, microsomal stability and intestinal S9-UDPGA stability

Plasma stability was determined as following steps [38]: (1) prepare a 10 mM DMSO stock of **BA-4**. (2) Dilute the 10 mM stock to 1 μ M with mouse plasma. (3) Transfer 50 μ L plasma into a new tube and stop reaction using 250 μ L acetonitrile. (4) Incubate the plasma sample in a water bath at 37 °C. (5) Stop reaction at 10, 30, 60, and 90 min, respectively. (6) Measure the compound concentration by LC-MS/MS; microsomal stability was determined using 10 μ M **BA-4** to incubate with mouse microsomes (0.5 mg/mL) for 5 min at 37 °C in phosphate buffer (100 mM, pH = 7.4) before 1 mM NADPH was added to start the reaction. Then, the cold acetonitrile was utilized to precipitate the protein. Lastly, the samples were centrifuged for further analysis by LC-MS/MS; the experimental procedures of mouse intestinal S9-UDPGA were similar as previously reported [39].

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

No data was used for the research described in the article.

Acknowledgments

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82073722 to G.S. and 82130101 to S.L.), Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2022A1515010016) to G.S., the Major scientific and technological projects of Guangdong Province (2019B020202002) and Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine (ZZ13-035-02, 2019XZZX-LG04) to S. L.; Youth Innovative Talents Project from the Department of Education of Guangdong Province (2022KQNCX245) to X. W.; and Science and Technology Program of Huizhou (2022CZ010192) to X. W.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.106316>.

References

- [1] J. Bedford, D. Enria, J. Giesecke, D.L. Heymann, C. Ihekweazu, G. Kobinger, H. C. Lane, Z. Memish, M.D. Oh, A.A. Sall, A. Schuchat, K. Ungchusak, L.H. Wieler, COVID-19: towards controlling of a pandemic, *Lancet* 395 (2020) 1015–1018.
- [2] B. Hu, H. Guo, P. Zhou, Z.L. Shi, Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19, *Nat. Rev. Microbiol.* 19 (2021) 141–154.
- [3] M.M. Zhou, Y. Liu, J.Y. Cao, S.Q. Dong, Y.X. Hou, Y. Yu, Q.Y. Zhang, Y.L. Zhang, X. Y. Jia, B. Zhang, G.F. Xiao, G. Li, W. Wang, Bergamottin, a bioactive component of bergamot, inhibits SARS-CoV-2 infection in golden Syrian hamsters, *Antivir. Res.* 204 (2022), 105365.
- [4] M. Hoffmann, N. Krüger, S. Schulz, A. Cossmann, C. Rocha, A. Kempf, I. Nehlmeier, L. Graichen, A.S. Moldenhauer, M.S. Winkler, M. Lier, A. Dopfer-Jablonka, H. M. Jäck, G.M.N. Behrens, S. Pöhlmann, The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic, *Cell* 185 (2022) 447–456.
- [5] Y. Fan, X. Li, L. Zhang, S. Wan, L. Zhang, F. Zhou, SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives, *Signal. Transduct. Target. Ther.* 7 (2022) 141.
- [6] S. Kundu, D. Sarkar, Synthetic attempts towards eminent anti-viral candidates of SARS-CoV, *Mini. Rev. Med. Chem.* 22 (2022) 232–247.
- [7] A. Jayk Bernal, M.M. Gomes da Silva, D.B. Musungaie, E. Kovalchuk, A. Gonzalez, V. Delos Reyes, A. Martín-Quiros, Y. Caraco, A. Williams-Diaz, M.L. Brown, J. Du, A. Pedley, C. Assaid, J. Strizki, J.A. Grobler, H.H. Shamsuddin, R. Tipping, H. Wan, A. Paschke, J.R. Butters, M.G. Johnson, C. De Anda, MOVE-OUT study group. Molnupiravir for oral treatment of Covid-19 in nonhospitalized patients, *N. Engl. J. Med.* 386 (2022) 509–520.
- [8] R. Najjar-Debbiny, N. Gronich, G. Weber, J. Khoury, M. Amar, N. Stein, L. H. Goldstein, W. Saliba, Effectiveness of paxlovid in reducing severe COVID-19 and mortality in high risk patients, *Clin. Infect. Dis.* (2022) ciac443.
- [9] N. Drayman, J.K. DeMarco, K.A. Jones, S.A. Azizi, H.M. Froggatt, K. Tan, N. I. Maltseva, S. Chen, V. Nicolaescu, S. Dvorkin, K. Furlong, R.S. Kathayat, M. R. Firpo, V. Mastrodomenico, E.A. Bruce, M.M. Schmidt, R. Jedrzejczak, M.A. Muñoz-Alfá, B. Schuster, V. Nair, K.Y. Han, A. O'Brien, A. Tomatsidou, B. Meyer, M. Vignuzzi, D. Missiakos, J.W. Botten, C.B. Brooke, H. Lee, S.C. Baker, B.C. Mounce, N.S. Heaton, W.E. Severson, K.E. Palmer, B.C. Dickinson, A. Joachimski, G. Randall, S. Tay, Masitinib is a broad coronavirus 3CL inhibitor that blocks replication of SARS-CoV-2, *Science* 373 (2021) 931–936.
- [10] H.Z. Tan, Y.M. Hu, P. Jadhav, B. Tan, J. Wang, Progress and challenges in targeting the SARS-CoV-2 papain-like protease, *J. Med. Chem.* 65 (2022) 7561–7580.
- [11] W. Vuong, M.B. Khan, C. Fischer, E. Arutyunova, T. Lamer, J. Shields, H.A. Saffran, R.T. McKay, M.J. van Belkum, M.A. Joyce, H.S. Young, D.L. Tyrrell, J.C. Vederas, M.J. Lemieux, Feline coronavirus drug inhibits the main protease of SARS-CoV-2 and blocks virus replication, *Nat. Commun.* 11 (2020) 4282.
- [12] L.Y. ang, R.J. Pei, H. Li, X.N. Ma, Y. Zhou, F.H. Zhu, P.L. He, W. Tang, Y.C. Zhang, J. Xiong, S.Q. Xiao, X.K. Tong, B. Zhang, J.P. Zuo, Identification of SARS-CoV-2 entry inhibitors among already approved drugs, *Acta Pharmacol. Sin.* 42 (2021) 1347–1353.
- [13] S. Yu, X. Zheng, B. Zhou, J. Li, M. Chen, R. Deng, G. Wong, D. Lavillette, G. Meng, SARS-CoV-2 spike engagement of ACE2 primes S2' site cleavage and fusion initiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 119 (2022) e2111199119.
- [14] M. Gur, E. Taka, S.Z. Yilmaz, C. Kilinc, U. Aktas, M. Golcuk, Conformational transition of SARS-CoV-2 spike glycoprotein between its closed and open states, *J. Chem. Phys.* 153 (2020) 75101.
- [15] L. Braga, H. Ali, I. Secco, E. Chiavacci, G. Neves, D. Goldhill, R. Penn, J. M. Jimenez-Guardaño, A.M. Ortega-Prieto, R. Bussani, A. Cannata, G. Rizzari, C. Collesi, E. Schneider, D. Arosio, A.M. Shah, W.S. Barclay, M.H. Malim, J. Burrone, M. Giacca, Drugs that inhibit TMEM16 proteins block SARS-CoV-2 spike-induced syncytia, *Nature* 594 (2021) 88–93.
- [16] D. Schütz, Y.B. Ruiz-Blanco, J. Münch, F. Kirchhoff, E. Sanchez-Garcia, J.A. Müller, Peptide and peptide-based inhibitors of SARS-CoV-2 entry, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 167 (2020) 47–65.
- [17] J. Shang, Y. Wan, C. Luo, G. Ye, Q. Geng, A. Auerbach, F. Li, Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 117 (2020) 11727–11734.
- [18] S. Xia, M.Q. Liu, C. Wang, W. Xu, Q.S. Lan, S.L. Feng, F.F. Qi, L.L. Bao, L.Y. Du, S. W. Liu, C. Qin, F. Sun, Z.L. Shi, Y. Zhu, S.B. Jiang, L. Lu, Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion, *Cell Res.* 30 (2020) 343–355.
- [19] S. Xia, Q.S. Lan, Y. Zhu, C. Wang, W. Xu, Y.T. Li, L.J. Wang, F. Jiao, J. Zhou, C. Hua, Q. Wang, X. Cai, Y. Wu, J. Gao, H. Liu, G. Sun, J. Münch, F. Kirchhoff, Z. H. Yuan, H. Yo, F. Xie, S.B. Sun, L.L. Jiang, Structural and functional basis for pan-CoV fusion inhibitors against SARS-CoV-2 and its variants with preclinical evaluation, *Signal. Transduct. Target. Ther.* 6 (2021) 288.
- [20] S. Drożdżal, J. Rosik, K. Lechowicz, F. Machaj, B. Szostak, J. Przybyciński, S. Łozadeh, K. Kotfis, S. Ghavami, M.J. Łos, An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment, *Drug Resist. Updat.* 59 (2021), 100794.
- [21] S.F. Yuan, X. Yin, X.Z. Meng, J.F. Chan, Z.W. Ye, L. Riva, L. Pache, C.C. Chan, P. M. Lai, C.C. Chan, V.K. Poon, A.C. Lee, N. Matsunaga, Y. Pu, C.K. Yuen, J. Cao, R. Liang, K. Tang, L. Sheng, Y.S. Du, W. Xu, C.Y. Lau, K.Y. Sit, W.K. Au, R.M. Wang, Y.Y. Zhang, Y.D. Tang, T.M. Clausen, J. Pihl, J. Oh, K.H. Sze, A.J. Zhang, H. Chu, K. H. Kok, D. Wang, X.H. Cai, J.D. Esko, I.F. Hung, R.A. Li, H. Chen, H. Sun, D.Y. Jin, R. Sun, S.K. Chanda, K.Y. Yuen, Clofazimine broadly inhibits coronaviruses including SARS-CoV-2, *Nature* 593 (2021) 418–423.
- [22] J.Y. Cao, Y. Liu, M.M. Zhou, S.Q. Dong, Y.X. Hou, X.Y. Jia, X.H. Lan, Y.L. Zhang, J. Guo, G.F. Xiao, W. Wang, Screening of botanical drugs against SARS-CoV-2 entry reveals novel therapeutic agents to treat COVID-19, *Viruses* 14 (2022) 353.
- [23] C. Yang, X.Y. Pan, X.F. Xu, C. Cheng, Y. Huang, L. Li, S.B. Jiang, W. Xu, G.F. Xiao, S.W. Liu, Salvianolic acid C potentially inhibits SARS-CoV-2 infection by blocking the formation of six-helix bundle core of spike protein, *Signal. Transduct. Target. Ther.* 5 (2020) 220.
- [24] C. Yang, X.Y. Pan, Y. Huang, C. Cheng, X.F. Xu, Y. Wu, Y.X. Xu, W.J. Shang, X. G. Niu, Y.H. Wan, Z.F. Li, R. Zhang, S.W. Liu, G.F. Xiao, W. Xu, Drug repurposing of itraconazole and estradiol benzoate against COVID-19 by blocking SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion, *Adv. Ther. (Weinh.)* 4 (2021) 2000224.
- [25] J. Wang, W.H. Wei, X.F. Zhang, S.Q. Cao, B.T. Hu, Y. Ye, M. Jiang, T.Q. Wang, J. P. Zuo, S.J. He, C.H. Yang, Synthesis and biological evaluation of C-17-amino-substituted pyrazole-fused betulinic acid derivatives as novel agents for osteoarthritis treatment, *J. Med. Chem.* 64 (2021) 13676–13692.
- [26] H. Wang, R.Y. Xu, Y.Y. Shi, L.L. Si, P.X. Jiao, Z.B. Fan, X. Han, X.Y. Wu, X.S. Zhou, F. Yu, D.M. Zhang, L. Zhang, L.R. Zhang, D.M. Zhou, S.L. Xiao, Design, synthesis and biological evaluation of novel L-ascorbic acid-conjugated pentacyclic triterpene derivatives as potential influenza virus entry inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.* 110 (2016) 376–388.
- [27] R.J. Visalli, H. Ziobrowski, K.R. Badri, J.J. He, X.G. Zhang, S.R. Arumugam, H. Zhao, Ionic derivatives of betulinic acid exhibit antiviral activity against herpes simplex virus type-2 (HSV-2), but not HIV-1 reverse transcriptase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25 (2015) 3168–3171.
- [28] C.C. Wen, Y.H. Kuo, J.T. Jan, P.H. Liang, S.Y. Wang, H.G. Liu, C.K. Lee, S.T. Chang, C.J. Kuo, S.S. Lee, C.C. Hou, P.W. Hsiao, S.C. Chien, L.F. Shyr, N.S. Yang, Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus, *J. Med. Chem.* 50 (2007) 4087–4095.
- [29] A. Stevaert, B. Krasniqi, B. Van Loy, T. Nguyen, J. Thomas, J. Vandepuit, D. Jochmans, V. Thiel, R. Dijkman, W. Dehaen, A. Voet, L. Naesens, Betulinic acid derivatives interfering with human coronavirus 229E replication via the nsp15 endoribonuclease, *J. Med. Chem.* 64 (2021) 5632–5644.
- [30] H. Li, C. Cheng, S.S. Shi, Y. Wu, Y.F. Gao, Z.H. Liu, M.J. Liu, Z.D. Li, L.J. Huo, X. Y. Pan, S.W. Liu, G.P. Song, Identification, optimization, and biological evaluation of 3-O- β -chacotriol ursolic acid derivatives as novel SARS-CoV-2 entry inhibitors by targeting the prefusion state of spike protein, *Eur. J. Med. Chem.* 238 (2022), 114426.
- [31] H. Li, C. Cheng, S.M. Li, Y. Wu, Z.H. Liu, M.J. Liu, J.X. Chen, Q.Y. Zhong, X. S. Zhang, S.W. Liu, G.P. Song, Discovery and structural optimization of 3-O- β -chacotriol oleanane-type triterpenoids as potent entry inhibitors of SARS-CoV-2 virus infections, *Eur. J. Med. Chem.* 215 (2021), 113242.
- [32] W.H. Dai, B. Zhang, X.M. Jiang, H.X. Su, J. Li, Y. Zhao, X. Xie, Z.M. Jin, J.J. Peng, F.J. Liu, C.P. Li, Y. Li, F. Bai, H.F. Wang, X. Cheng, X.B. Cen, S.L. Hu, X.N. Yang, J. Wang, X. Liu, G.F. Xiao, H.L. Jiang, Z.H. Rao, L.K. Zhang, Y.C. Xu, H.T. Yang, H. Liu, Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease, *Science* 368 (2020) 1331–1335.
- [33] L.L. Si, K. Meng, Z.Y. Tian, J.Q. Sun, H.Q. Li, Z.W. Zhang, V. Soloveva, H.W. Li, G. Fu, Q. Xia, S.L. Xiao, L.H. Zhang, D.M. Zhou, Triterpenoids manipulate a broad range of virus-host fusion via wrapping the HR2 domain prevalent in viral envelopes, *Sci Adv.* 4 (2018) eaau8408.
- [34] G.P. Song, X.T. Shen, S.M. Li, Y.B. Li, Y.P. Liu, Y.S. Zheng, R.H. Lin, J.H. Fan, H.M. Ye, W. Liu, Structure-activity relationships of 3-O- β -chacotriol ursolic acid derivatives as novel H5N1 entry inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.* 93 (2015) 431–442.
- [35] R.K. Wolfram, L. Heller, R. Csuk, Targeting mitochondria: esters of rhodamine B with triterpenoids are mitocan triggers of apoptosis, *Eur. J. Med. Chem.* 152 (2018) 21–30.
- [36] B. Brandes, S. Hoenke, L. Fischer, R. Csuk, Design, synthesis and cytotoxicity of BODIPY FL labelled triterpenoids, *Eur. J. Med. Chem.* 185 (2020), 111858.
- [37] Z.H. Liu, S.Y. Gu, X. Zhu, M.J. Lu, Z.Q. Cao, P.S. Qiu, S.M. Li, S.W. Liu, G.P. Song, Discovery and optimization of new 6, 7-dihydroxy-1, 2, 3, 4-tetrahydroisquinoline derivatives as potent influenza virus PA_N inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.* 227 (2022), 113929.
- [38] L. Wang, J.S. Jiang, L.X. Zhang, Q.Y. Zhang, J.R. Zhou, L. Li, X.L. Xu, Q.D. You, Discovery and optimization of small molecules targeting the protein-protein interaction of heat shock protein 90 (Hsp90) and cell division cycle 37 as orally active inhibitors for the treatment of colorectal cancer, *J. Med. Chem.* 63 (2020) 1281–1297.
- [39] W.M. Kazmierski, B. Xia, J. Miller, M. De la Rosa, D. Favre, R.M. Dunham, Y. Washio, Z. Zhu, F. Wang, M. Mebrahtu, H. Deng, J. Basilla, L. Wang, G. Evindar, L. Fan, A. Olszewski, N. Prabhu, C. Davie, J.A. Messer, V. Samano, DNA-Encoded library technology-based discovery, lead optimization, and prodrug strategy toward structurally unique indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) inhibitors, *J. Med. Chem.* 63 (2020) 3552–3562.



Phospholipid peroxidation-driven modification of chondrogenic transcription factor mediates alkoxyl radicals-induced impairment of embryonic bone development

Jie Niu^{a,b,c,f,1}, Xin Wan^{a,b,c,g,1}, Gui-Yuan Yu^{a,b,c,1}, Shan Jiang^{a,b,c,f,1}, Ruo-Nan Yi^{a,b,c}, Yan-Ping Wu^{a,b,c,d,f}, Shu-Hua Ouyang^{a,b,c,d,f}, Lei Liang^{a,b,c,d,f}, Hiroshi Kurihara^{a,b,c,f}, Wan-Yang Sun^{a,b,c,f}, Xiao-Feng Zhu^e, Rong-Hua Zhang^e, Yun-Feng Cao^{f,h}, Jian-Bo He^{a,b,c,d,f,****}, Wen-Jun Duan^{a,b,c,d,f,***}, Yi-Fang Li^{a,b,c,f,**}, Rong-Rong He^{a,b,c,d,f,*}

^a Guangdong Engineering Research Center of Chinese Medicine & Disease Susceptibility, Jinan University, Guangzhou, 510632, China

^b International Cooperative Laboratory of Traditional Chinese Medicine Modernization and Innovative Drug Development of Chinese Ministry of Education (MOE), Jinan University, Guangzhou, 510632, China

^c Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of TCM and New Drugs Research, Jinan University, Guangzhou, 510632, China

^d Integrated Chinese and Western Medicine Department, School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou, 510632, China

^e Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Informatization, Jinan University, Guangzhou, 510632, China

^f Joint Laboratory of Dalian Runsheng Kangtai and Jinan University, Jinan University, China

^g Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou, 516025, China

^h Shanghai Institute for Biomedical and Pharmaceutical Technologies, NHC Key Laboratory of Reproduction Regulation, Shanghai 200032, China

ARTICLE INFO

Keywords:

Lipid peroxidation
Ferroptosis
Alkoxyl radicals
Chondrogenic transcription factor
Embryonic bone development
Chondrogenesis

ABSTRACT

Maternal stress has been associated with poor birth outcomes, including preterm birth, infant mortality, and low birth weight. Bone development disorders in the embryo as a result of maternal stress are believed to be mediated through oxidative stress damage. Various species of free radicals, such as alkoxyl radicals, can be formed through endogenous redox response or exogenous stimuli in the womb and transmitted to embryos. Yet, whether these free radicals lead to abnormal fetal bone development is unclear. Here, we demonstrate prenatal bone growth retardation and ferroptosis-related signals of chondrocytes were induced by classic alkoxyl radical generators. We also show that alkoxyl radicals lead to significant accumulation of oxidized phospholipids in chondrocytes, through the iron-mediated Fenton reaction in embryos. We further demonstrate a role for the lipid peroxidation end product, 4-HNE, which forms adducts with the pivotal chondrogenesis transcription factor SOX9, leading to its degradation, therefore dampening chondrogenesis. Our data define a critical role for phospholipid peroxidation in alkoxyl radicals-evoked abnormal chondrogenesis, and pinpoint it being a precise target for treating oxidative stress-related bone development disorders.

1. Introduction

Prenatal maternal stress is a major concern for fetal and infant health

due to its negative consequences in embryonic development [1]. With an estimated birth incidence of 1/10,000 to 1/30,000 [2–4], skeletal dysplasia is a typical developmental disorder and has been implicated in

Abbreviations: 4-HNE, 4-hydroxynonenal; SOX9, SRY-related high-mobility group box 9.

* Corresponding author. Guangdong Engineering Research Center of Chinese Medicine & Disease Susceptibility, Jinan University, Guangzhou, 510632, China.

** Corresponding author. Guangdong Engineering Research Center of Chinese Medicine & Disease Susceptibility, Jinan University, Guangzhou, 510632, China.

*** Corresponding author. Guangdong Engineering Research Center of Chinese Medicine & Disease Susceptibility, Jinan University, Guangzhou, 510632, China.

**** Corresponding author. Guangdong Engineering Research Center of Chinese Medicine & Disease Susceptibility, Jinan University, Guangzhou, 510632, China.

E-mail addresses: hejianbo9@163.com (J.-B. He), duanwj@jnu.edu.cn (W.-J. Duan), liyifang706@jnu.edu.cn (Y.-F. Li), rongronghe@jnu.edu.cn (R.-R. He).

¹ These authors contributed equally.

<https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102437>

Received 20 July 2022; Accepted 9 August 2022

Available online 20 August 2022

2213-2317/© 2022 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

maternal stress [5–9]. By relating with the immature antioxidant system, maternal stress can induce a large amount of free radicals, making the embryos vulnerable to oxidative injury [10,11]. In fact, excessive oxidative injury has been revealed to be an essential pathological factor for maternal stress-provoked bone developmental dysfunction, although the precise mechanisms are enigmatic. Since the discovery of ferroptosis, a type of oxidative cell death, increasing attention has been paid to the pivotal role of phospholipid peroxidation in cell biology and cell pathology [12–14]. The peroxidation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) containing phospholipids (PUFAs-PL) is a free radical-driven chain reaction that can occur in an enzymatic or non-enzymatic manner, comprising of three stages of initiation, propagation, and termination [15,16]. The propagation and amplification of this oxidative reaction largely relies on the accumulation of ferrous iron [17]. The study of ferroptosis opens a new chapter in delineating the pathological mechanisms of oxidative stress-related diseases and greatly contributes to exploiting new targets and therapies [18]. Nevertheless, whether phospholipid peroxidation and ferroptosis are causatively linked to maternal stress-induced bone development defects remain unknown.

During maternal stress, various species of free radicals can be formed through endogenous oxidative stress response and exogenous stimuli, like ionising radiation, ultraviolet radiation, drugs, carcinogenic compounds, and environmental pollutants, among others [19–22]. Of these species, alkoxy radicals play a key role in triggering lipid peroxidation by furnishing PUFA hydroperoxides, which further accelerate the propagation of free radical initiated chain reactions [23]. 2,2'-azobis [2-methylpropionamide] dihydrochloride (AAPH), a classical generator of alkoxy radicals, is extensively utilized in oxidative stress-related *in vivo* and *in vitro* studies [24,25], including studies on embryonic development [26–28]. In particular, it is worth noting that AAPH has been shown to initiate the oxidation of PUFAs-PL in cell-free conditions [29,30], whereas the presence of iron further enhances the decomposition of lipid hydroperoxides to a wide variety of secondary oxidation products [29,31]. Based on the above, in the present study, we took advantage of AAPH to obtain insights into the precise mechanism of alkoxy radicals-induced defective bone development in chicken embryos. Our results unravel the essential role of iron-dependant phospholipid peroxidation in fetal bone development. We further show that these defects are facilitated through 4-hydroxynonenal (4-HNE), which forms adducts with the transcription factor Sry-related high-mobility group box 9 (SOX9), which is pivotal to chondrogenesis. Our findings offer a novel insight on a heretofore undefined role of phospholipid peroxidation and ferroptosis in oxidative stress-related fetal skeletal dysplasia, and provide a potential target for therapeutic intervention.

2. Materials and methods

2.1. Reagents

AAPH was purchased from Wako (Osaka, Japan). Erastin and RSL3 were obtained from Calbiochem (Darmstadt, Germany). Fer-1 and DFO were purchased from Selleck Chemicals (Houston, TX, USA). MTT, Z-vad and Nec-1 were obtained from Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Primary antibodies against SLC7A11, GPX4, SOX9, Ubiquitin (linkage-specific K48), and 4-HNE were purchased from Abcam (Cambridge, UK). Primary antibodies against DMT1 and TFR1 were obtained from Proteintech Group (Rosemont, IL, USA) and GAPDH antibody was obtained from Fude Co., Ltd. (Hangzhou, China). Goat anti-rabbit IgG-HRP and goat anti-mouse IgG-HRP were purchased from Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Dallas, TX, USA). MG132, 3-MA, CHX and 4-HNE were purchased from MedchemExpress (New Jersey, USA).

2.2. Cell culture and chondrogenic differentiation

ATDC5 and SW1353 cells were purchased from RIKEN Cell Bank (Ibaraki, Japan) and cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium

(Thermo Fisher Scientific, MA, USA) containing 5% fetal bovine serum (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) at 37 °C in a 5% CO₂ humidified atmosphere.

The medium was replaced with a chondrogenic-induced medium additionally supplemented with 1 × insulin-transferrin-selenium (ITS, Corning, NY, USA) [32,33]. The chondrogenic culture medium was replaced daily. After differentiation for 14 days, ATDC5 cells were washed with phosphate buffer solution (PBS) and fixed with 4% para-formaldehyde solution for 10 min. Subsequently, stained with 1% alcian blue 8GX (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Shanghai, China) dissolved in 0.1 M HCl overnight. Cells were washed with PBS twice and photographed.

2.3. MTT assay

MTT cell viability assay was performed as described previously [34]. Briefly, cells were cultured in 96-well plates and exposed to various concentrations of cytotoxic compounds for the indicated time. Next, add 10 µl of the MTT labeling reagent (5 mg/mL) to each well for 4 h. Then, 150 µL of dimethyl sulfoxide was added to each well and shaken gently for 10 min. The absorbance was measured at 570 nm using a SpectraMax M5 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

2.4. The detection of lactate dehydrogenase release

Lactate dehydrogenase (LDH) release assay is a widely accepted method for the quantitative determination of cell viability, which was performed using a cytotoxicity detection kit (Abcam, Cambridge, UK) following the manufacturer's instructions. Absorbance was quantified at 490 nm using a SpectraMax M5 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Cytotoxicity was then calculated according to the following equation: Cytotoxicity (%) = (experimental value–media control)/(positive control–media control) × 100.

2.5. Establishment of oxidative stress model in chicken embryos

- (i) *Effect of AAPH on chicken embryos.* Fertilized eggs (South China Agricultural University, Guangzhou, China) were incubated in a humidified incubator (Grumbach, Wentzler, Germany) at 37.5 °C and 68% humidity until they reached the desired developmental stage. Then, a range of dosages of AAPH at 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, and 10.0 µmol/egg or avian saline (control, 0.72% sodium chloride) were injected into the albumen near embryos every other day from embryo development day (EDD) 1.5 to EDD 9.5. The embryos were harvested and their mortality and weight recorded at the desired stages.
- (ii) *Effect of ferroptosis induced oxidative stress on bone development.* A range of dosages of RSL3 at 0.1, 1.0, 10.0 nmol/egg were injected into the albumen near embryos every other day from EDD 1.5 to EDD 5.5. The embryos were harvested and assessed for mortality and weight.
- (iii) *Effects of ferroptosis inhibitors on chicken embryos.* Chicken embryos were treated with Fer-1 (50 nmol/egg) for 2 h before administering AAPH (0.50 µmol/egg), and the embryos were harvested on EDD17. At the same time, eggs were pre-treated with DFO (200 nmol/egg) for 2 h before AAPH administration (0.50 µmol/egg) and the embryos harvested on EDD7. The embryo weight and tibia length were determined.

2.6. iTRAQ labeling proteomics

The chicken embryo cartilage tissues were ground with liquid nitrogen. Protein quantification was performed using the BCA assay. Approximately 200 µg of each sample were digested with trypsin and tetraethylammonium bromide overnight at 37 °C. The sample was then mixed and identified by two-dimensional LC-MS/MS analysis. The

original MS/MS file data were committed to the ProteinPilot™ Software 5.0.1 for analysis using the Paragon™ algorithm (5.0.1.0, 4874 AB Sciex) against Uniprot chicken database for protein identification. The resulting 5% global fits from FDR corresponding to 95% correct protein identification was used as an initial qualification criterion. For biological replicates or technological replicates, the average fold change induced by treatment relative to the control or AAPH group was defined. Statistically significant variances between AAPH group and control group were determined by the Student's *t*-test (two-tailed or unpaired), and the minimal value among replicates were regarded as the final *p*-value. For protein abundance ratios of AAPH to control measured with iTRAQ, *P* < 0.05 was regarded as the differential protein expression. This research was assisted by the FitGene BioTechnology proteomics platform (<http://www.fitgene.com>). For bioinformatic analyses, differentially expressed proteins were classified based on annotations from the UniProt knowledge database. Both Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and the Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were used to uncover the enriched pathways of significantly altered proteins and to identify their functions.

2.7. Alcian blue and alizarin red staining

To visualize fetal skeleton, chicken embryos were stained with either alcian blue alone or alcian blue and alizarin red dyes as previously described [35]. Briefly, 7-day-old chicken embryos were fixed in 95% ethanol for 24 h. The whole embryos were stained in 0.1% alcian blue (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) and washed with PBS. The samples were then treated with 1% KOH solution for 36 h, followed by 50%, 75%, and 100% glycerol ordinally until the embryos sank to the bottom.

Similarly, 17-day-old chicken embryos were fixed in 95% ethanol for 24 h, replacing the liquid with fresh 95% ethanol at 12 h. The embryonic skin and hair were peeled. The whole embryos were stained in 0.1% alcian blue for 10 h, treated with 1% KOH solution until transparency is achieved. Lastly, the embryos were stained with saturated alizarin red dye (Solarbio, Beijing, China) solution in 1% KOH for four days. In order to observe the skeleton more clearly, the fat on the surface of chicken embryos was removed. After the above treatment, the whole embryos were photographed. The tibias were photographed using a MVX10 stereomicroscope (Olympus, Allentown, PA, USA) equipped with an OPT-PRO 2007 image acquisition system. The length of the tibia was quantified by IPP 6.0 software.

2.8. Measurement of MDA content, SOD and GPX activities

Malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) activities in the bone tissues on EDD7 or EDD17 were determined using commercially available kits (Nanjing Jiancheng Institute of Biotechnology, Nanjing, China) according to the manufacturer's instructions.

2.9. Determination of GSH and GSSG contents

Levels of reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) were determined by LC-MS using a Dionex Ultimate 3000 HPLC system coupled with a Q-Exactive Hybrid Quadrupole-Orbitrap mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). The cartilage tissues were removed from the embryonic tibia, washed with pre-cooled PBS, and quickly ground with liquid nitrogen. The powders were mixed with 1 mL of extract solution (80% methanol water plus 2 µl of 50 µg/mL glutamate-d5 (Glu-d5)), filtered using a 0.22 µm filter membrane and stored at −20 °C. For *in vitro* samples, cells were collected and resuspended in PBS with 1 mL of extract solution, vortexed for 5 min, then sonicated (5 Hz) for 30 s and centrifuged at 4 °C for 25 min at 14,000 rpm.

The LC/MS conditions are as follows: Waters ACQUITY UPLC BEH

Amide column (2.1 mm × 100 mm, 17 µm) with acetonitrile. Solvent A was water containing 5 mM ammonium formate and 0.1% formic acid; solvent B was acetonitrile. The flow rate was 300 µL/min, and the column temperature was 40 °C. The GSH and GSSG content in the samples were calculated using a standard curve, and the ratio of GSH/GSSG in each group was then analyzed.

2.10. Hematoxylin and eosin staining (H&E staining)

Chicken embryos were harvested on EDD7 and EDD17, tibias were separated from the embryos and fixed in 4% paraformaldehyde for 24 h, decalcified completely in 4% methanol for 2 weeks, rinsed under running water for 12 h and embedded using paraffin wax. The embedded tibias were sliced at 4 µm thickness and the vertical sections were stained using H&E. The paraffin sections were photographed using a M8 Digital Microscope and Scanner (PreciPoint GmbH, Freising, Germany).

2.11. Western blot analysis

Cells or bone tissues were collected and lysed in lysis buffer containing proteinase inhibitor (Beyotime Institute of Biotechnology, Shanghai, China) for 30 min on ice. Protein concentrations were measured by the BCA assay kit (Beyotime Institute of Biotechnology, Shanghai, China). Proteins were separated by 10% SDS-PAGE and transferred to nitrocellulose membranes (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA). After blocking with 5% dried skimmed milk, the membranes were incubated with indicated primary antibodies at 4 °C overnight. The membranes were then incubated with the appropriate HRP-linked secondary antibody for 2 h at room temperature. Enhanced chemiluminescence (ECL) detection kit (Multi Sciences Biotech Co., Ltd, Beijing, China) was used for visualization of the bands. Band density was quantified using Quantity One Analysis Software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

2.12. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) assay

Total RNA was extracted from tissue and cells using Trizol kit (Takara, Kyoto, Japan) according to the manufacturer's instructions. Following reverse transcription, cDNA amplification was performed as previously described [36]. For RT-PCR assay, PCR products were separated on 1% agarose gels (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) and visualized by ethidium bromide staining. The band intensity of ethidium bromide was measured by GelDoc XR system (Bio-Rad Corporation, Hercules, CA, USA) and then quantified with the Quantity one analysis software.

Quantitative real-time polymerase chain reaction assay (qRT-PCR) was performed using SYBR Premix ExTaq II (Promega, Madison, USA) on an ABI 7900 sequence detection system (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Relative mRNA expression was calculated using the 2^{−ΔΔCt} method. β-actin was used as an internal control. PCR primers are shown in [Supplementary Table 1](#).

2.13. PI staining and flow cytometry analysis

Cells were seeded in 6-well culture plates. On the day of the experiment, cells were harvested, incubated with propidium iodide (PI, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) for 20 min, washed three times with PBS and re-suspended in 1 mL PBS. Stained cells were quantified by flow cytometry (BD Biosciences, NJ, USA).

2.14. Measurement of ROS using DCFH-DA

Dichlorofluorescein-diacetate (DCFH-DA) staining is used to measure the total ROS level in cells treated with or without AAPH. After incubation with AAPH, cells were stained with 50 µM DCFH-DA (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) for 30 min in the dark. Then, cells were

resuspended in PBS and assayed by flow cytometry (BD Biosciences, NJ, USA).

2.15. Measurement of lipid peroxidation using C11-BODIPY 581/591

C11-BODIPY 581/591 staining is used to measure the lipid ROS level in cells treated with or without AAPH. Briefly, cells were seeded in 6-well plates and treated with AAPH for the indicated times. Then, cells were collected and stained with 2 μ M C11-BODIPY581/591 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) for 30 min at 37 °C in the dark. Subsequently, cells were collected and measured by flow cytometry (BD Biosciences, NJ, USA). The fluorescence intensity of each group was recorded and the data quantified using Flowjo software.

2.16. Measurement of H₂O₂ using Amplex Red assay

The hydrogen peroxide (H₂O₂) concentration of extracellular medium was measured by the Amplex Red reagent (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). The applied substrate (Amplex Red) reacts with H₂O₂ in a horseradish peroxidase catalyzed reaction, producing highly fluorescent resorufin. Fluorescence was measured by a fluorescence plate reader (excitation 535 nm, emission 595 nm).

2.17. Determination of thiol levels

Thiol levels were determined by the total sulfhydryl group assay kit (Solarbio, Beijing, China). The principle is that the reduced sulfhydryl groups react with 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid to produce yellow 2-nitro-5-mercaptobenzoic acid [37]. The product then has a characteristic absorption peak at 412 nm and the amount of free thiol is calculated according to the formula given in the total sulfhydryl group assay kit.

2.18. Fe²⁺ detection by FerroOrange staining

SW1353 cells were seeded in six-well plates or confocal dishes at a density of 1 × 10⁵ cells/mL. Cells were then incubated with the Fe²⁺ binding fluorescent probe FerroOrange (1 μ M, Ex: 543 nm, Em: 580 nm) (Dojindo, Japan) for 30 min at 37 °C under 5% CO₂ atmosphere. The culture medium was removed and the cells washed three times with PBS before flow cytometry or observation under a laser scanning confocal microscope (LSM, Zeiss, Germany).

2.19. Measurement of iron levels

Iron levels were measured by an iron assay kit (Abcam, Cambridge, UK) according to the manufacturer's instructions. Cells were collected, homogenized in 10× volume of iron assay buffer on ice and centrifuged (14,000×g, 10 min) at 4 °C. The supernatant was collected and 5 μ l iron reducer was added to each sample and incubated at 37 °C for 30 min. Next, add 100 μ l iron probe and incubate for 60 min at 37 °C protected from light. Absorbance was analyzed at 593 nm using a microplate reader (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

2.20. Co-immunoprecipitation (CO-IP) assay

SW1353 cells were seeded into a 10 cm dish and processed as indicated. Cells were lysed in RIPA lysis buffer (Beyotime Institute of Biotechnology, Shanghai, China) containing 1 mM PMSF (Beyotime Institute of Biotechnology, Shanghai, China) and protease inhibitor (Abcam, Cambridge, UK) on ice for 30 min. After centrifugation at 12,000×g for 10 min, the supernatant was incubated with indicated primary antibodies overnight. Next, protein A/G beads (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA) were added to the lysates and the incubation continued on a rotating table for 3–4 h. The beads were washed five times with RIPA lysis buffer, centrifuged at 2500 rpm for 1 min, and

loading buffer was added to each sample. Finally, beads were boiled for 5 min at 95 °C.

2.21. Preparation of phospholipids and LC-MS/MS-based phospholipidomics analysis

Preparation and analysis of phospholipids in the chondrocytes were performed as previously described [18]. Dionex UltiMate 3000 DGLC standard system (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) was employed to separate phospholipids with an HPLC column (C30 reverse phase column; 2.1 mm × 25 cm, 2.6 μ m, Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Solvent A was isopropanol: hexane: water (57:43:1); solvent B was isopropanol: hexane: water (57:43:8) containing 10 mM ammonium formate as mobile-phase modifiers. The gradient was as follows: 0–20 min, 10–32% solvent B; 20–30 min, 32–70% solvent B; 30–32 min, 70–100% solvent B; 32–58 min, hold at 100% solvent B; 58–60 min, 100–10% solvent B; 60–75 min, hold at 10% solvent B for equilibration. The flow rate was 200 μ L/min, and the column temperature was 40 °C.

Phospholipids were detected on a Q Exactive mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), and then analyzed by Compound Discoverer 2.0 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) with an in-house generated analysis workflow. The species of phospholipid were identified and filtered by retention time.

2.22. Confocal microscopy

Cells were fixed with 4% paraformaldehyde for 10 min at room temperature. After washing with PBS, cells were permeabilized with 0.1% Triton-X for 10 min, blocked with 0.5% BSA for 1 h and incubated with the anti-SOX9 (1:200) and anti-4HNE (1:200) primary antibodies overnight at 4 °C. Cells were washed again and incubated with Alexa-Fluor 555 and 488 secondary antibodies (1:400) at room temperature for 1 h. DAPI nuclear staining was done at room temperature for 10 min. The samples were examined using a confocal laser scanning microscope (LSM 880 with AiryScan, Carl Zeiss).

2.23. CHX-chase analysis

SOX9 protein degradation was assayed by CHX-chase analysis. SW1353 cells were pre-incubated with or without 4-HNE. Subsequently, 100 μ M CHX was added to inhibit protein synthesis. Cells were collected at 0, 1, 2, 4, 6, and 8 h after CHX treatment as previously described.

2.24. Statistical analysis

All data were analyzed and processed using GraphPad Prism 8.3 software. The data were expressed as mean ± SD. The statistical significance of multiple groups was evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's multiple comparison test. The difference between the two groups was tested by the Student's *t*-test. Non-linear regression was used to estimate the IC₅₀ value. *P* < 0.05 was considered to be statistically significant.

3. Results

3.1. Alkoxyl radicals exposure retard embryonic skeleton development

We established a chronic oxidative stress model in chicken embryos by injecting AAPH, a generator of alkoxyl radicals, into the albumen on embryo development day (EDD) 1.5. This treatment was given to embryos every other day for a total of five times (Fig. 1A). On EDD17, a dramatic elevation of mortality was observed in AAPH treated embryos (Fig. 1B), which corresponded with a decrease in embryo weight (Fig. 1C) and retardation in the growth of embryonic limbs (Fig. 1D). To determine whether limb deformity has already occurred during endochondral bone formation, cartilage from EDD7 embryos was stained.

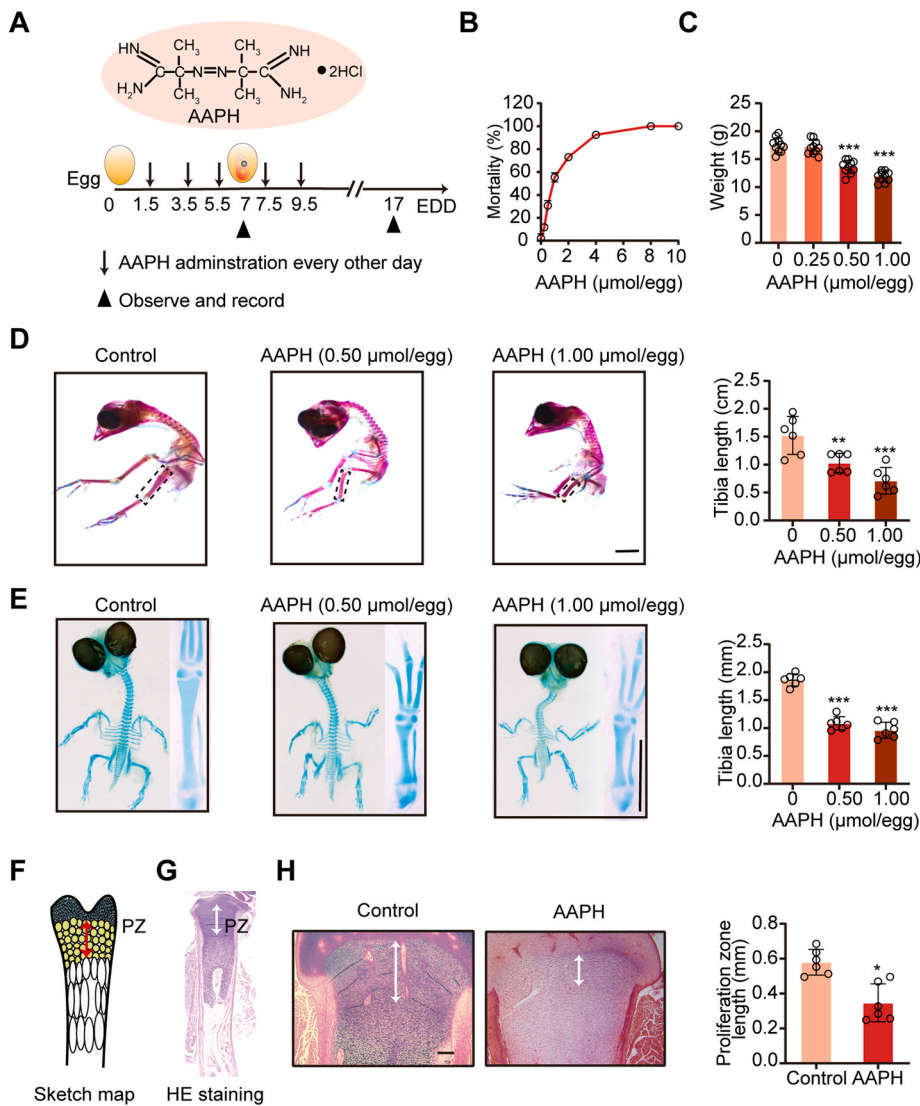


Fig. 1. Alkoxy radicals exposure restrict embryonic limb growth. (A) Schematic diagram establishing a chronic oxidative injury model in chicken embryos by injecting alkoxy radicals generator AAPH into the albumen of eggs. The first day of incubation is considered as the initiation day of embryonic development and is termed as embryo development day (EDD). (B) The mortality and (C) body weight of chicken embryos were measured on EDD17. (D) Representative images of alcian blue and alizarin red-stained tibia and the quantification of tibia length of EDD17 embryos. Scale bar, 1 cm. (E) Representative images of the alcian blue-stained tibia and the quantification of tibia length of EDD7 embryos. The whole embryos and tibias were photographed. Scale bar, 1 mm. (F) The schematic diagram of the growth plate subregions. PZ indicates proliferative zone. (G) H&E staining of tibial growth plate. (H) H&E staining of the tibial PZ mapping the white double-head arrows on EDD17. Scale bar, 200 μm . Quantification of tibial proliferation zone is shown in the right panel. AAPH, 0.50 $\mu\text{mol/egg}$. Data are represented as mean $\pm$ SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA (C–E) and Student's *t*-test (H). **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs the Control group. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

Consistent with the results at EDD17, embryos at EDD7 also presented shorter limbs in the AAPH treatment group (Fig. 1E).

Endochondral ossification is a critical step for initial limb development in the fetus. The growth plate, which plays an important role in endochondral bone formation [38], can be divided into stagnant zone, proliferation zone (PZ), hypertrophic zone and calcified zone (Fig. 1F). H&E staining performed on paraffin sections of the tibial growth plates (Fig. 1G) showed that the structure of PZ was destroyed and the length of PZ shortened in the AAPH treatment group (Fig. 1H). Collectively, the above results illustrate that alkoxy radicals-induced oxidative stress induces abnormal chondrogenic development, thereby impeding embryonic bone growth.

3.2. Ferroptosis is implicated in alkoxy radicals-induced chondrogenic development defects

To identify the molecular mechanism involved in oxidative stress-induced aberrant chondrogenesis, iTRAQ-labeling proteomics analysis was performed in cartilaginous tissues from control and AAPH-treated chicken embryos (Fig. 2A). In total, 1534 credible proteins were identified (with confidence $\geq 95\%$), of which 449 proteins were found to be significantly regulated in the AAPH group versus the control group. Of these, sixteen proteins were upregulated and two proteins were downregulated (Fig. 2B). Furthermore, gene set enrichment analysis (GSEA)

revealed that the differentially expressed genes were enriched in iron-binding pathways (Fig. 2C). KEGG analysis indicated that the assembled signaling included metabolic pathways, ferroptosis pathways, arachidonic acid metabolism, regulation of actin cytoskeleton, etc. (Fig. 2D and E). The key differentially expressed proteins involved in ferroptosis (Fig. 2F) were further confirmed by western blot analysis of the bone tissues of these embryos. Results showed that embryos exposed to AAPH had elevated expression of DMT1 and TFR1 and dramatically reduced levels of GPX4 and SLC7A11 (Fig. 2G). Additionally, AAPH treatment was also seen to boost the production of MDA, and the depletion of GSH (Fig. 2H and I), and remarkably reduce GPX and SOD activities (Fig. 2J and K) in the bone tissues. Furthermore, ferroptosis inducer RSL3 was administrated to chicken embryos and results showed that RSL3 at doses between 1.0 and 10.0 nmol/egg notably increased embryo mortality (Figure 2L) and decreased embryo weight (Figure 2M). Alcian blue staining demonstrated that RSL3 treatment remarkably hindered the growth of embryonic limbs (Figure 2N). These data offered proof underscoring the essential role of ferroptosis in oxidative stress-induced bone development disorder.

In line with chicken embryos, AAPH at a dose of 1.00 mM, which showed little impact on cell viability (Fig. 3A), remarkably repressed ITS-induced chondrogenesis in ATDC5 cells (Fig. 3B). A similar trend was also observed in the treatment of the ferroptosis inducer Erastin (Fig. 3C). Both AAPH and Erastin-caused mortality of ATDC5 cells was

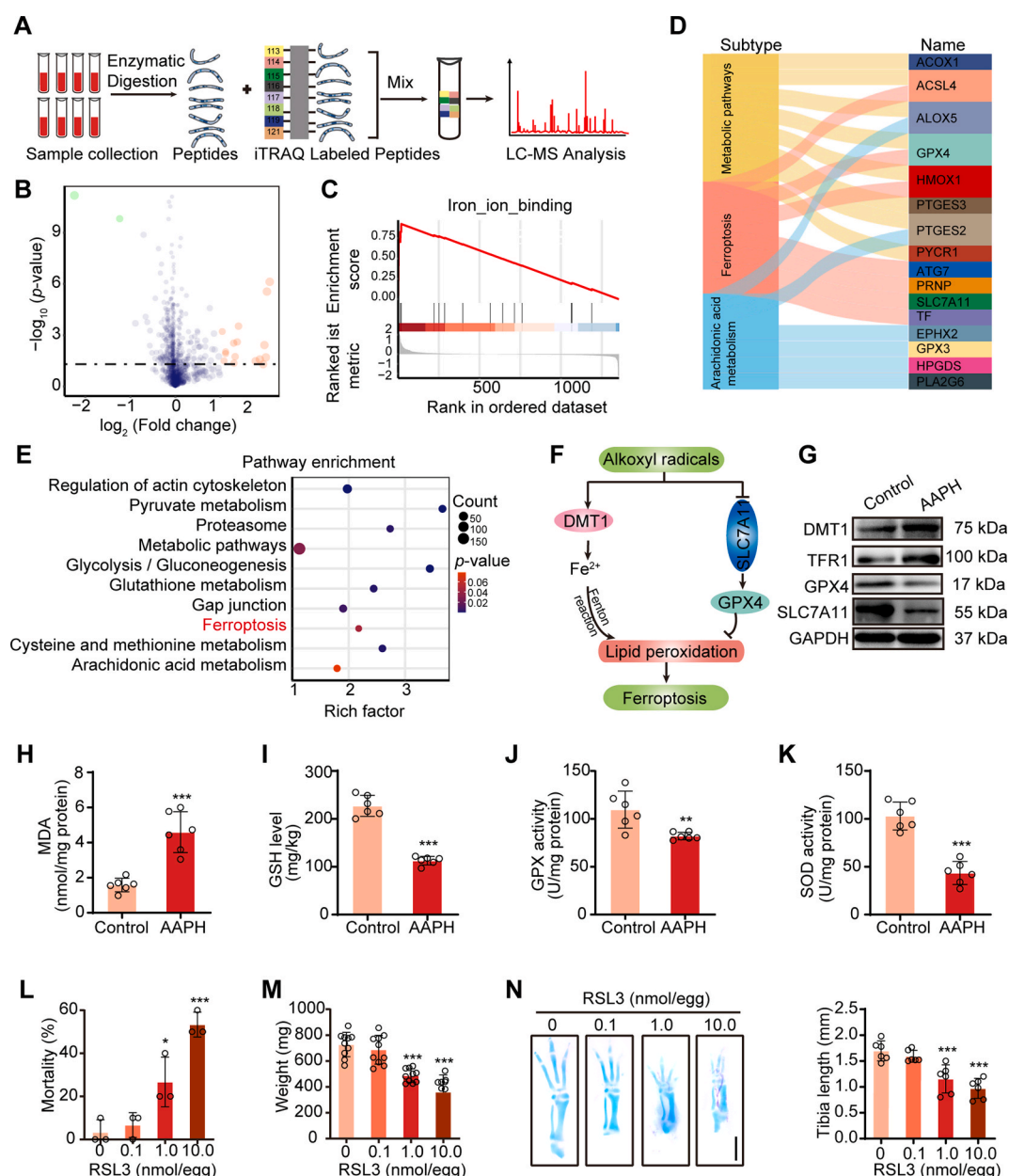


Fig. 2. Ferroptosis is involved in alkoxyl radicals-induced bone development dysfunction. (A) Schematic diagram of iTRAQ labeling proteomic approach. (B) Volcano plot showing differentially expressed proteins in chicken embryo between the control group and AAPH group. Low expression is depicted in green, while high expression is depicted in red. AAPH, 0.50 $\mu\text{mol/egg}$. (C) Enrichment score of the iron-ion-binding pathway analyzed by GSEA based on the iTRAQ labeling proteomic datasets. (D) Sankey diagram showing the classifications of proteins based on Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. (E) KEGG pathway enrichment analyses. The y-axis represents the main pathways. (F) Cartoon depicting the mechanism of alkoxyl radicals-induced ferroptosis. (G) Immunoblotting analysis was performed to detect the expression of ferroptosis-related proteins. AAPH, 0.50 $\mu\text{mol/egg}$. (H–K) Effects of AAPH on the contents of MDA (H) and GSH (I), and the activities of GPX (J) and SOD (K) were measured on EDD17. AAPH, 0.50 $\mu\text{mol/egg}$. (L) The mortality and (M) body weight of chicken embryos were measured after treated with various concentrations of RSL3 on EDD7, respectively. (N) Representative images of alcian blue-stained tibia of RSL3-treated embryos. Scale bar, 1 mm. Histograms represent the quantification of tibia length of EDD7 embryos. Data are represented as mean $\pm$ SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA (L–N) and Student's *t*-test (H–K). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs the Control group. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

reversed by ferroptosis inhibitors, but not by the apoptosis inhibitor Z-VAD-FMK, and the necroptosis inhibitor Nec-1 partially protects against cell mortality caused by AAPH (Fig. 3D and E). In SW1353 cells, AAPH and RSL3 caused the release of LDH (Fig. 3F and G), and inhibited cell viability in a dose-dependent manner (Fig. 3H and I), while Fer-1 and DFO attenuated cell death (Fig. 3J). A time-dependent analysis by DCFH-DA, C11-BODIPY and Amplex Red staining, respectively, indicated that the levels of total ROS, lipid ROS and H_2O_2 were increasingly elevated in chondrogenic SW1353 cells upon AAPH treatment

(Figs. S1A–S1C). Moreover, AAPH significantly reduced the content of sulfhydryl groups (Fig. S1D), and diminished the GSH/GSSG ratio (Figs. S1E and S1F). Altogether, these results illustrate that alkoxyl radicals impede the osteogenesis process to prohibit embryonic limb bone growth.

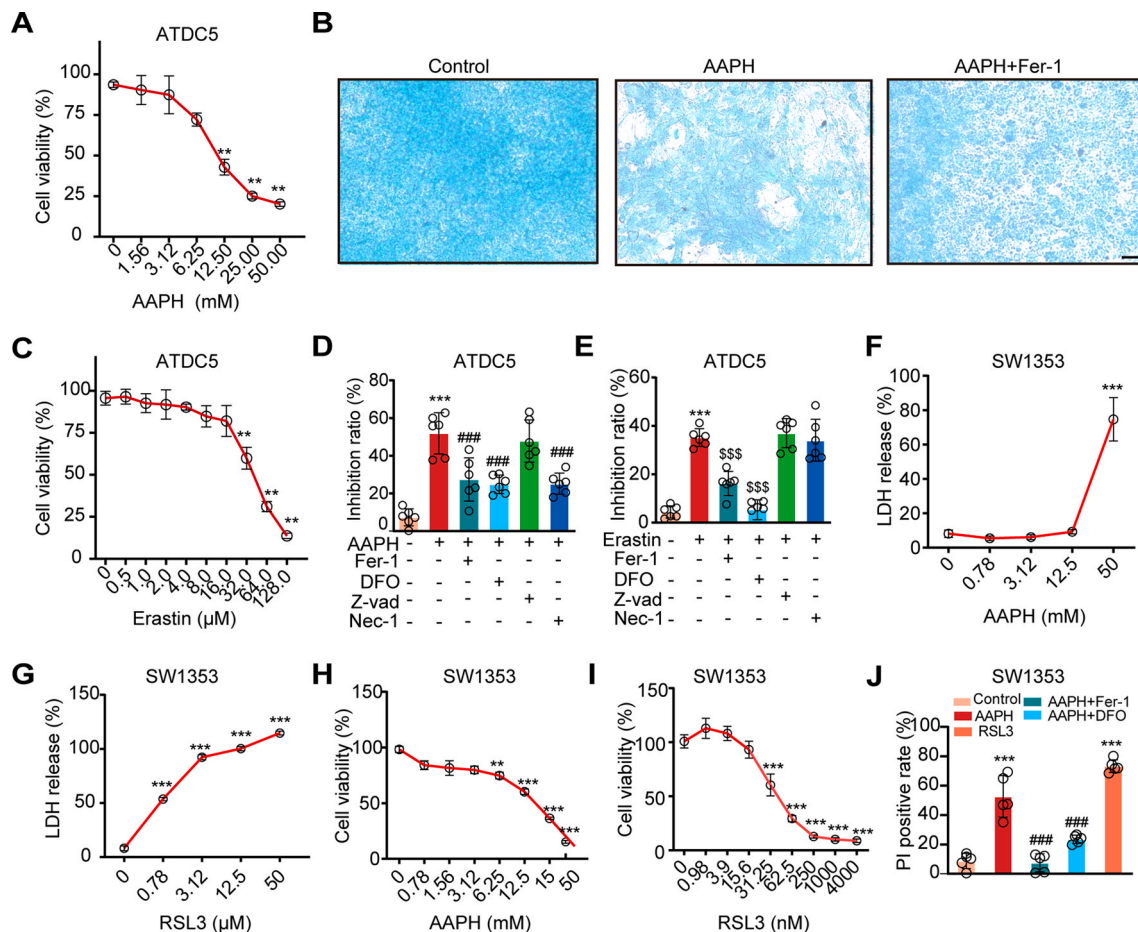


Fig. 3. Alkoxy radicals induce ferroptosis in ATDC5 and SW1353 chondrocytes. (A) ATDC5 cells were incubated with various concentrations of AAPH for 24 h. Cell viability was determined by MTT assay. (B) The representative images of ATDC5 cells stained by alcian blue. Scale bar, 50 μm. AAPH, 1.00 mM; Fer-1, 4.00 μM. (C) ATDC5 cells were incubated with various concentrations of Erastin for 24 h. Cell viability was determined by MTT assay. (D–E) ATDC5 cells were treated with AAPH, Erastin (a ferroptosis inducer), Fer-1 and DFO (ferroptosis inhibitors), Z-vad (an apoptosis inhibitor), and Nec-1 (a necroptosis inhibitor), then cell viability were measured by MTT. AAPH, 12.50 mM; Erastin, 32.00 μM; Fer-1, 4.00 μM; DFO, 8.00 μM; Z-vad, 25.00 μM; Nec-1, 25.00 μM. (F–G) SW1353 cells were treated with different concentrations of AAPH and RSL3 for 24 h, and cytotoxicity were evaluated by LDH assay. (H–I) Cell viability of AAPH and RSL3 in SW1353 cells were determined by MTT assay. (J) Cell death was determined by PI staining coupled with flow cytometry in SW1353 cells. AAPH, 20 mM; RSL3, 60 nM; DFO, 200 μM; Fer-1, 5 μM. Data are represented as mean ± SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs the Control group. ### $P < 0.001$ vs the AAPH-treated group, \$\$\$ $P < 0.001$ vs the Erastin-treated group. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

3.3. Ferroptosis inhibitors rescue alkoxy radicals-induced chondrogenic developmental defects

To affirm the role of ferroptosis in abnormal bone development, Fer-1 and DFO, two classic ferroptosis inhibitors, were used *in vivo*. As expected, Fer-1 significantly rescued AAPH-induced mortality (Fig. 4A) and weight loss of chicken embryos on EDD17 (Fig. 4B). AAPH-impaired growth of the tibia was also attenuated by Fer-1 (Fig. 4C and D). H&E staining showed that Fer-1 treatment notably rescued the shrinkage of tibial PZ in the developing bones (Fig. 4E and F). A similar trend was also observed in chicken embryos treated with the ferroptosis inhibitor DFO. In line with EDD17, EDD7 embryos also showed increased mortality and weight loss after AAPH exposure, which were significantly rescued by DFO (Fig. 4G and H). Moreover, DFO treatment also significantly alleviated the shortening of the tibia caused by AAPH (Fig. 4I and J).

Next, the effect of ferroptosis inhibition on alkoxy radicals-initiated redox imbalance was examined in chicken embryos. The studies revealed that Fer-1 and DFO dramatically abrogated AAPH-caused accumulation of MDA (Figs. S2A and S3A), depletion of GSH (Figs. S2B and S3B), attenuation of GPX (Figs. S2C and S3C) and SOD activities (Figs. S2D and S3D). Consistent with the results described

above, Fer-1 and DFO restored expressions of DMT1, TFR1, GPX4 and SLC7A11 disturbed by AAPH exposure (Figs. S2E–2H, Figs. S3E and S3F). A similar expression pattern of ferroptosis-related proteins, including DMT1, TFR1, SLC7A11 and GPX4, was also seen in AAPH-exposed ATDC5 cells and SW1353 cells (Figs. S2I and S3G), which were arrested by ferroptosis inhibitors (Figs. S2J and S2J, Figs. S3G and S3H). Overall, these data support a concept linking ferroptosis to alkoxy radicals-induced bone developmental disorders.

3.4. Exposure to alkoxy radicals trigger iron overload in chondrocytes

Iron is required for Fenton reaction-propagating phospholipid peroxidation [39]. DMT1 and TFR1 are two major iron transporters that contribute to iron metabolism in cells [40–42]. The expression patterns of DMT1 and TFR1 observed from the ITAQ assay (Fig. 2A) and western blot analysis (Fig. 2G) implied the involvement of iron in alkoxy radicals-disturbed chondrogenesis. Therefore, we examined changes of intracellular iron by flow cytometry and iron assay kit in chondrogenic cells. High Fe^{2+} levels were observed in AAPH/RSL3-treated cells, which were abolished by Fer-1 and DFO administration (Fig. 5A–C). To further understand the role of iron in chondrogenesis, siRNA based reduction in

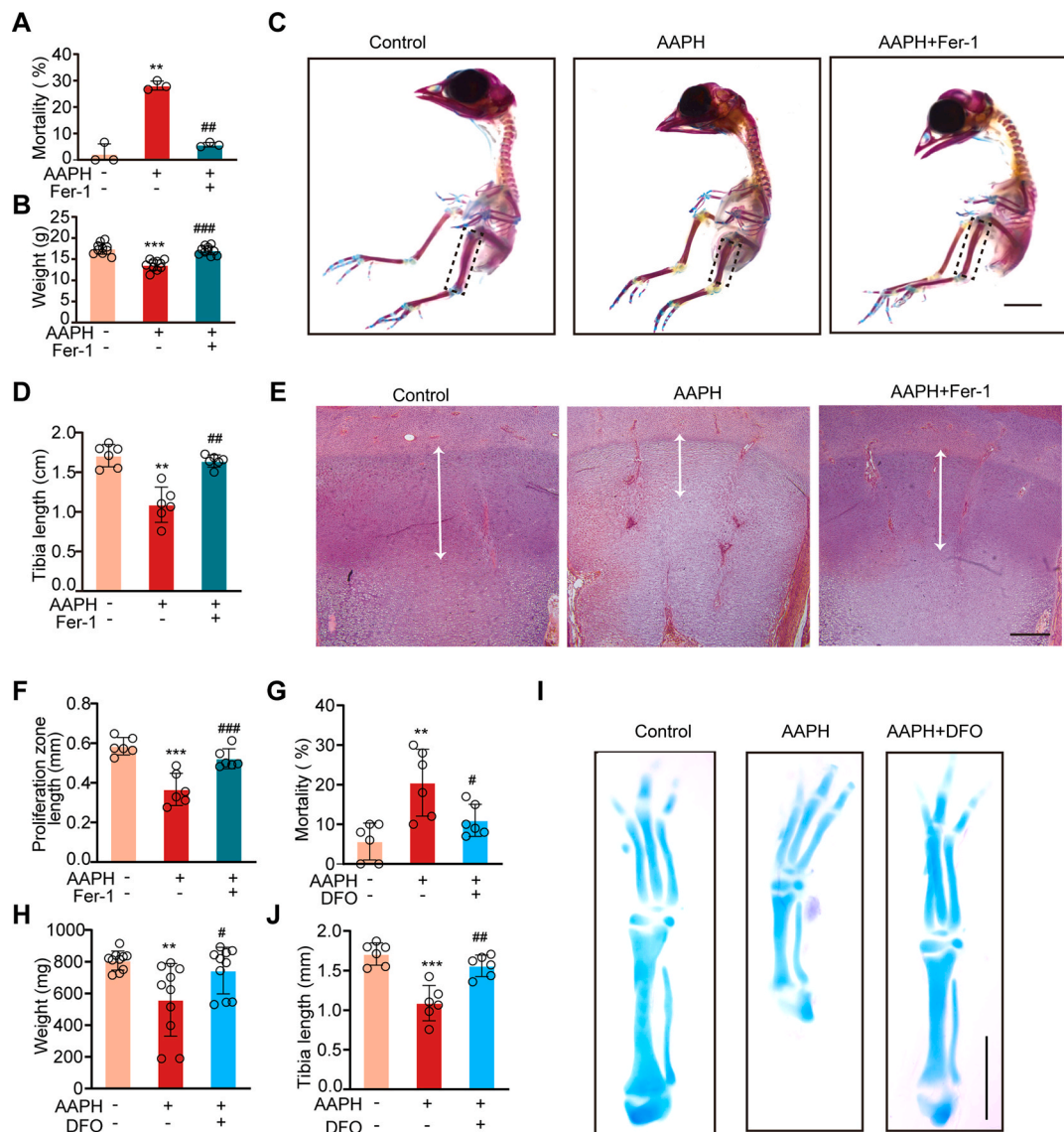


Fig. 4. Inhibition of ferroptosis rescues alkoxyl radicals-induced bone growth retardation. (A) The mortality and (B) body weight of chicken embryos were measured on EDD17. AAPH, 0.50 μmol/egg; Fer-1, 50 nmol/egg. (C) Representative images of chicken embryos stained with alcian blue and alizarin red on EDD17. The embryos were treated with Fer-1 (50 nmol/egg) and AAPH (0.50 μmol/egg). Scale bar, 1 cm. (D) Quantification of tibia length of EDD17 embryos. (E–F) The tibial paraffin sections were stained by H&E staining. The regions surrounded by white dashed lines were PZ in the growth plate, photographed by a microscope. Scale bar, 200 μm. (G) Mortality and (H) body weight of chicken embryos were measured on EDD7. AAPH, 0.50 μmol/egg; DFO, 200 nmol/egg. (I–J) Representative images and quantification of chicken embryos stained by alcian blue on EDD7. The embryos were treated with DFO (200 nmol/egg) and AAPH (0.50 μmol/egg). Scale bar, 1 mm. Data are represented as mean ± SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA. ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ vs the Control group. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ and ### $P < 0.001$ vs the AAPH-treated group. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

cellular DMT1 was achieved (Fig. 5D). It was determined that loss of DMT1 reversed AAPH triggered suppression of osteogenesis-related genes *BMP6*, *COL2A1* and *ACAN* (Fig. 5E). Taken together, these *in vitro* findings provide support for a critical role for iron overload in oxidative stress-disturbed embryonic osteogenesis.

3.5. Accumulation of oxidized phospholipids (OxPLs) in alkoxyl radicals-exposed chondrocytes dampens chondrogenesis

Since oxidation of PUFA at the bis-allylic position of phospholipid is a driving factor for peroxidation and ferroptosis, we measured the level of lipid peroxidation by C11-BODIPY staining. The results shown in Fig. 6A demonstrate that AAPH or Erastin treatment leads to accumulation of lipid peroxidation products in cells, which were inhibited by Fer-1 treatment. Redox lipidomics analysis by LC-MS/MS identified five

major classes of OxPLs, including phosphatidyl ethanolamine (PE), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylserine (PS), phosphatidylglycerol (PG) and phosphatidylinositol (PI) (Fig. 6B). Notably, the AAPH-treated group displayed distinct patterns with more lipid peroxidation compared with the control group (Fig. 6C). A large number of mono-oxygenated and di-oxygenated phospholipid species were increased in the AAPH-treated group (Fig. 6D and E), for example, SAPE-OOH (PE (38:4)+2O). To determine whether SAPE-OOH could directly contribute to the observed effects on bone development, ATDC5 cells were treated with exogenous SAPE-OOH. Consistent with AAPH treatment, incubating cells with SAPE-OOH was found to inhibit *Bmp6*, *Col2a1*, and *Acan* genes, which were associated with bone development (Fig. 6F). These data define the accumulation of OxPLs in alkoxyl radicals-exposed chondrocytes, which suppresses the chondrogenesis process.

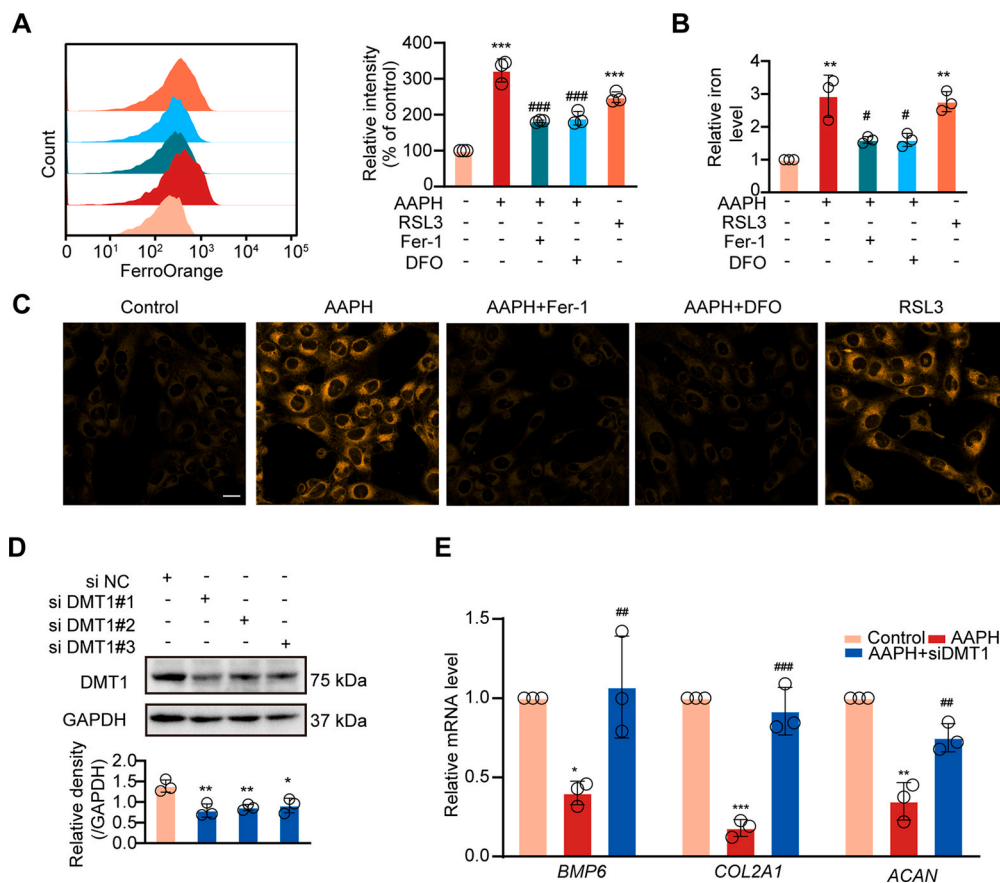


Fig. 5. Alkoxy radicals trigger iron overload in chondrocytes. (A) Levels of intracellular iron were detected by flow cytometry after incubating with Fe^{2+} ions fluorescent probe FerroOrange in SW1353 cells subjected to different treatments. AAPH, 15 mM; RSL3, 30 nM; DFO, 200 μM ; Fer-1, 5 μM . (B) Levels of intracellular iron were detected by iron assay kit in SW1353 cells subjected to different treatments. (C) Representative confocal microscopy images of FerroOrange staining in SW1353 cells. Scale bar, 20 μm . (D) The verification of DMT1 knockdown with siDMT1 in SW1353 cells. (E) Relative mRNA levels of *BMP6*, *COL2A1* and *ACAN* in SW1353 cells were determined after transfected with siDMT1. Data are represented as mean $\pm$ SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ vs the Control group. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ and ### $P < 0.001$ vs the AAPH-treated group.

3.6. 4-HNE modification drives ubiquitin-dependant degradation of SOX9

The transcription factor SOX9 is a key regulator of chondrogenesis [43–45]. When delineating AAPH-induced alteration of chondrogenesis-related pathways, we determined that SOX9 protein levels, rather than mRNA levels, were altered by AAPH treatment (Fig. 7A and B) in chicken embryos and chondrogenic cells (Figs. S4A–S4C). Meanwhile, AAPH substantially perturbed chondrogenesis-related genes, including *Bmp6*, *Col2a1* and *Acan*, which were rescued by DFO treatment (Fig. 7C). Moreover, Fer-1 and DFO treatment abrogated AAPH-induced down-regulation of SOX9 protein (Figs. S4B and S4C), thus normalizing the expressions of *BMP6*, *COL2A1* and *ACAN* in SW1353 cells (Fig. S4D).

4-HNE, an end product of lipid peroxidation, has important electrophilic properties and is able to react with a variety of proteins to form HNE-protein adducts. HNE-protein adducts formation is known to affect the fate of these modified proteins by altering their activities or inducing degradation [46]. In this study, we noticed that 4-HNE-conjugated protein level was considerably increased after AAPH treatment (Fig. 7D). Given this intriguing fact, we proposed whether the decrease of SOX9 at protein level was correlative with 4-HNE modification. To prove this hypothesis, we performed Co-IP assay to determine the interaction between SOX9 and 4-HNE in SW1353 cells, and results indicated that AAPH exposure led to an enhanced level of SOX9 bound to 4-HNE (Fig. 7E). Immunofluorescence staining further confirmed the co-localization of 4-HNE and SOX9 (Fig. 7F). As expected, knockdown of DMT1 by siRNA weakened the conjugation of SOX9 with 4-HNE (Fig. 7G).

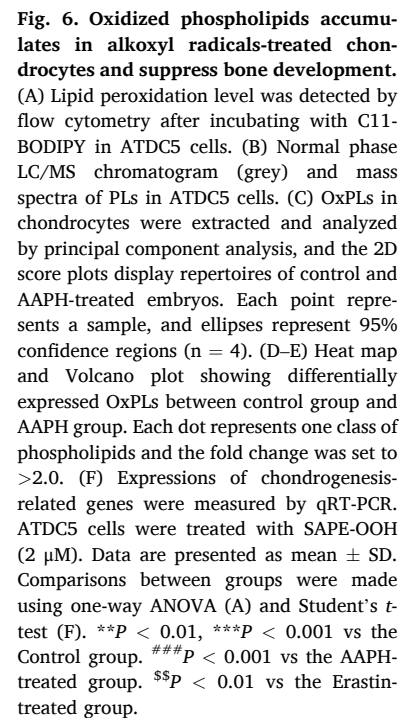
Next, a CHX chase experiment was designed to understand 4-HNE modification-induced SOX9 degradation. These experiments revealed that while degradation of SOX9 protein level was dramatically promoted following exogenous 4-HNE treatment (Fig. 7H), the proteasome

inhibitor MG132 inhibited AAPH-triggered decline in SOX9 protein levels, while the autophagy inhibitor 3-MA had little effect (Fig. 7I). These data prompted analysis of the ubiquitin-dependant degradation pathways. SW1353 cells were co-transfected with ubiquitin and SOX9 plasmids. AAPH treatment in these cells was seen to promote K48 ubiquitination of SOX9, which was reversed by knockdown of DMT1 (Fig. 7J and K). Altogether, these data suggest that the lipid peroxidation end product 4-HNE commands ubiquitin-proteasomal degradation of SOX9 via protein modification in chondrocytes.

4. Discussion

Oxidative stress has long been deemed as a detrimental factor for embryonic bone developmental disorders [47,48]. Increasing studies have reported that fetal bone is extremely sensitive to environmental influences in pregnancy, during which adverse exposures such as oxidative stress will reduce the weight and growth rate of newborns, thereby increasing the risk of skeletal disorders [7,49,50]. although the precise mechanism has been elusive. Almeida et al. found that the levels of lipid peroxidation and expression of lipoxygenases increased in the murine skeleton with age, which correlated with loss of bone mineral mass [51]. Mutation of GPX4, a phospholipid hydroperoxidase, has also been reported to cause Sedaghatian-type spondylometaphyseal dysplasia [52]. Clinical studies have shown that preterm birth, low birth weight, growth restriction and developmental malformations are associated with lipid peroxidation in the fetus [49,53]. At birth, preterm infants have been reported to have higher levels of lipid peroxidation than full-term infants, as revealed by higher plasma MDA and presence of lipid peroxides [54,55]. These observations suggest that accumulation of lipid peroxides is a risk for preterm birth.

Alkoxy radicals, which can be endogenously produced in large quantities are known to be important for ferroptosis [18,56–58]. In the



The propagation of lipid peroxidation ascribes to iron-dependant Fenton reactions and lipoxygenases-catalyzed oxidation [59,60]. Inhibiting iron accumulation inhibits accumulation of lipid peroxides [61,62] and prevents ferroptotic cell death [63]. In the present study, expression analysis of iron transporters (TFR1 and DMT1), FerroOrange staining, iron chelator, and siRNA gene knockdown, were used to demonstrate that iron accumulation is central to alkoxyl radicals mediated disturbance in chondrogenesis. These findings are in line with a previous report showing that iron overload resulting from

We further determined that oxidative stress negatively affects embryonic bone development via 4-HNE dependent conjugation of the transcription factor SOX9, a master regulator in the osteogenesis process. This explosive burst of phospholipid peroxidation products produces a large amount of 4-HNE [65,66], which promotes carbonylation

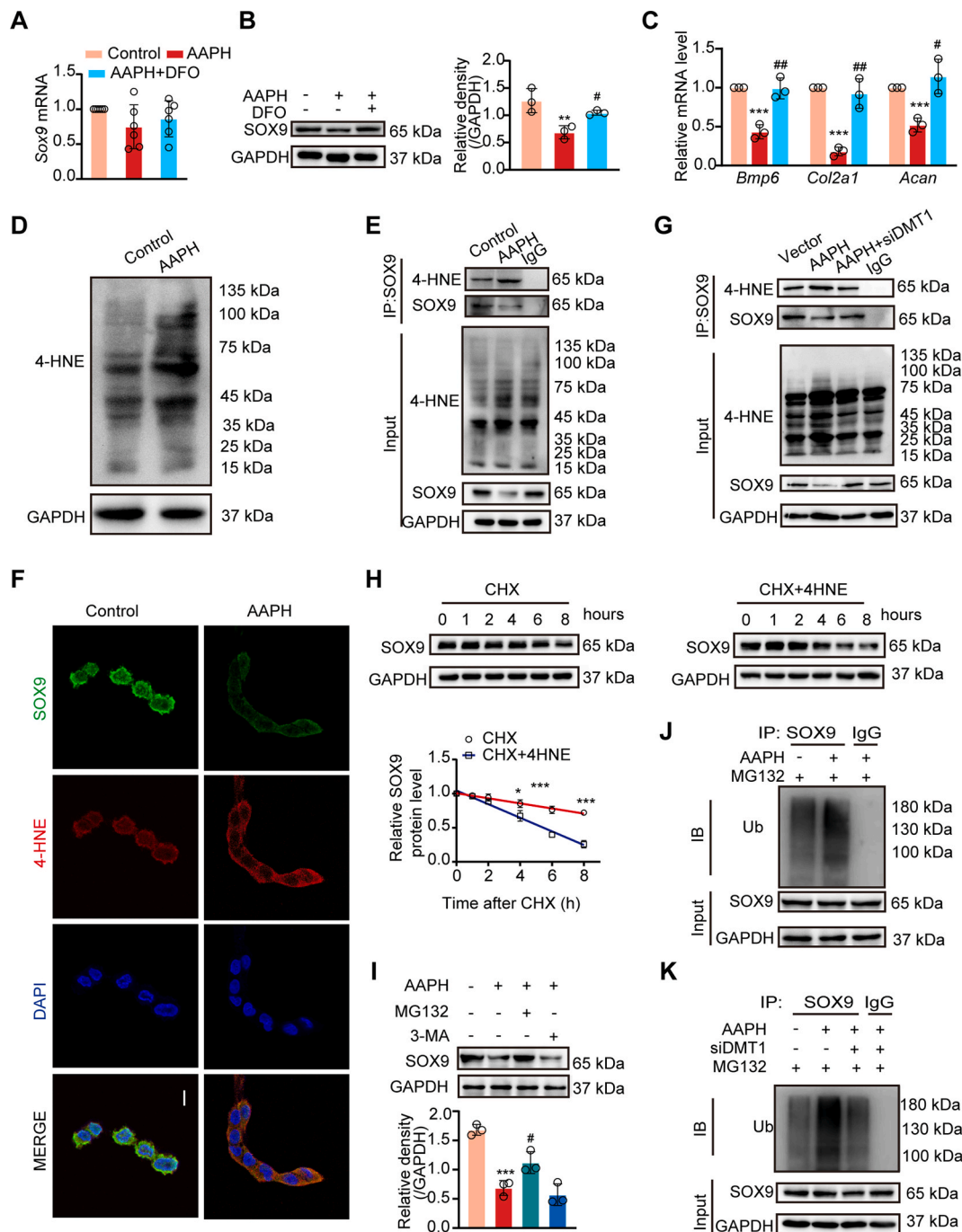


Fig. 7. AAPH induces 4-HNE modification of SOX9 and promotes its ubiquitin-proteasomal degradation. (A) Relative mRNA level of *Sox9* in chicken embryos. (B) Immunoblotting analysis was performed to detect the level of SOX9 protein after treated with DFO and AAPH in chicken embryos. (C) Expressions of chondrogenesis-related genes were measured by qRT-PCR in chicken embryos treated with DFO and AAPH. (D) Protein expression of 4-HNE was visualized by immunoblotting in SW1353 cells after treatment with AAPH (15 mM). (E) CO-IP assay determined the level of SOX9 conjuncted with 4-HNE in SW1353 cells. (F) Representative confocal images showing the colocalization of SOX9 (green) and 4-HNE (red). Scale bars, 20 μ m. (G) CO-IP assay determined the level of SOX9 conjuncted with 4-HNE in siDMT1-treated SW1353 cells. (H) Turnover of SOX9 by CHX chase assay in SW1353 cells with or without 4-HNE. CHX, 100 μ M; 4-HNE, 10 μ M. (I) Effects of MG132 (10 μ M) or 3-MA (20 μ M) on the AAPH-induced level of SOX9 protein. The diagram showed quantitative analysis of SOX9 protein levels. (J–K) Ubiquitination of SOX9 was assessed by immunoblotting in SW1353 cells (J) and siDMT1-treated SW1353 cells (K). Data are represented as mean $\pm$ SD. Comparisons between groups were made using one-way ANOVA (A–C) and Student's *t*-test (H). **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and ****P* < 0.001 vs the Control group. #*P* < 0.05 and ##*P* < 0.01 vs the AAPH-treated group. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

of SOX9, leading to its ubiquitin-dependant degradation. Loss of SOX9 eventually impedes transduction of signaling guiding osteogenesis, thereby impacting normal bone development.

5. Conclusions

In the present study, we characterize an essential role of ferroptosis in dysplasia in embryonic bone development by establishing an oxidative injury model in chicken embryos and chondrocytes. Alkoxy

radicals give rise to the accumulation of lipid peroxidation by a synergic mechanism involving the initiation of auto-oxidative reaction and iron-mediated amplification. The lipid peroxidation end product 4-HNE triggered SOX9 modification, which leads to its ubiquitin-mediated degradation in chondrocytes. Our findings show that ferroptosis is switched on by oxidative stress, which leads to dysfunction in embryonic bone development. These findings provide support for use of anti-ferroptosis agents in treating oxidative stress dependent defects in bone development.

Author contributions

R. R. He, Y.F. Li, and H. Kurihara conceived and designed the research. J. Niu, X. Wan, G.Y. Yu, S. Jiang, R.N. Yi, Y.P. Wu, and S-H Ouyang performed the experiments. J. Niu, L. Liang, X. Wan, and W.Y. Sun contributed to the acquisition and analysis of the data. J. Niu and W.J. Duan prepared figures, tables and the manuscript. Y.F. Cao, X.F. Zhu, and R.H. Zhang partly advised the research. Y.F. Cao supported the LC-MS platform. R.R. He, Y.F. Li, W.J. Duan, and J.B. R.R. He and Y.F. Li revised and approved the manuscript. All of the authors have approved the final manuscript.

Availability of data and materials

The datasets used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Declaration of competing interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

This study was partly supported by National Key Research and Development Program of China (grant number 2018YFC2002500), Natural Science Foundation of China (grant number 82004012, 82125038, 81873209, 81973718 and 81903821), Natural Science Foundation of Guangdong (2019A1515010909, 2021A1515011297, 2021B1515120023), the Local Innovative and Research Teams Project of Guangdong Pearl River Talents Program (grant number 2017BT01Y036), and the Innovation Team Project of Guangdong Provincial Department of Education (2020KCXTD003) and GDUPS (2019). The authors (Rong-Rong He and Yi-Fang Li) also gratefully acknowledge the support of K.C. Wong Education Foundation.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102437>.

References

- [1] T.P. Fleming, A.J. Watkins, M.A. Velazquez, J.C. Mathers, A.M. Prentice, J. Stephenson, M. Barker, R. Saffery, C.S. Yajnik, J.J. Eckert, et al., Origins of lifetime health around the time of conception: causes and consequences, *Lancet* (London, England) 391 (10132) (2018) 1842–1852.
- [2] J. Hoover-Fong, C.I. Scott, M.C. Jones, Health supervision for people with achondroplasia, *Pediatrics* 145 (6) (2020).
- [3] R. Savarirayan, L. Tofts, M. Irving, W. Wilcox, C.A. Bacino, J. Hoover-Fong, R. Ullot Font, P. Harmatz, F. Rutsch, M.B. Bober, et al., Once-daily, subcutaneous vosoritide therapy in children with achondroplasia: a randomised, double-blind, phase 3, placebo-controlled, multicentre trial, *Lancet* (London, England) 396 (10252) (2020) 684–692.
- [4] F. Zhou, J. Mei, X. Han, H. Li, S. Yang, M. Wang, L. Chu, H. Qiao, T. Tang, Kinsenoside attenuates osteoarthritis by repolarizing macrophages through inactivating NF- κ B/MAPK signaling and protecting chondrocytes, *Acta Pharm. Sin.* B 9 (5) (2019) 973–985.
- [5] T. Kimura, K. Hino, T. Kono, A. Takano, N. Nitta, N. Ushio, S. Hino, R. Takase, M. Kudo, Y. Daigo, et al., Maternal undernutrition during early pregnancy inhibits postnatal growth of the tibia in the female offspring of rats by alteration of chondrogenesis, *Gen. Comp. Endocrinol.* 260 (2018) 58–66.
- [6] A. Wang, Z.K. Zsengeller, J.L. Hecht, R. Buccafusca, S.D. Burke, A. Rajakumar, E. Weingart, P.B. Yu, S. Salahuddin, S.A. Karumanchi, Excess placental secreted frizzled-related protein 1 in maternal smokers impairs fetal growth, *J. Clin. Invest.* 125 (11) (2015) 4021–4025.
- [7] M.E. Snow, K. Keiver, Prenatal ethanol exposure disrupts the histological stages of fetal bone development, *Bone* 41 (2) (2007) 181–187.
- [8] H.L. Zhu, X.T. Shi, X.F. Xu, G.X. Zhou, Y.W. Xiong, S.J. Yi, W.B. Liu, L.M. Dai, X. L. Cao, D.X. Xu, et al., Melatonin protects against environmental stress-induced fetal growth restriction via suppressing ROS-mediated GCN2/ATF4/BNIP3-dependent mitophagy in placental trophoblasts, *Redox Biol.* 40 (2021), 101854.
- [9] M. Hedegaard, T.B. Henriksen, S. Sabroe, N.J. Secher, Psychological distress in pregnancy and preterm delivery, *Br. Med. J.* 307 (6898) (1993) 234–239.
- [10] T. Kimura, K. Hino, T. Kono, A. Takano, N. Nitta, N. Ushio, S. Hino, R. Takase, M. Kudo, Y. Daigo, et al., Maternal undernutrition during early pregnancy inhibits postnatal growth of the tibia in the female offspring of rats by alteration of chondrogenesis, *Gen. Comp. Endocrinol.* 260 (2018) 58–66.
- [11] T.E. Tiple, N. Ambalavanan, Oxygen toxicity in the neonate: thinking beyond the balance, *Clin. Perinatol.* 46 (3) (2019) 435–447.
- [12] X. Jiang, B.R. Stockwell, M. Conrad, Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 22 (4) (2021) 266–282.
- [13] H.F. Yan, T. Zou, Q.Z. Tuo, S. Xu, H. Li, A.A. Belaidi, P. Lei, Ferroptosis: mechanisms and links with diseases, *Signal Transduct. Targeted Ther.* 6 (1) (2021) 49.
- [14] C. Espinós, M.I. Galindo, M.A. García-Gimeno, J.S. Ibáñez-Cabellos, D. Martínez-Rubio, J.M. Millán, R. Rodrigo, P. Sanz, M. Seco-Cervera, T. Sevilla, et al., Oxidative stress, a crossroad between rare diseases and neurodegeneration, *Antioxidants* 9 (4) (2020).
- [15] D. Liang, A.M. Minikes, X. Jiang, Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling, *Mol. Cell* 82 (12) (2022) 2215–2227.
- [16] H. Bayir, T.S. Anthonymuthu, Y.Y. Tyurina, S.J. Patel, A.A. Amoscato, A. M. Lamade, Q. Yang, G.K. Vladimirov, C.C. Philpott, V.E. Kagan, Achieving life through death: redox biology of lipid peroxidation in ferroptosis, *Cell chemical biology* 27 (4) (2020) 387–408.
- [17] Z. Cheng, Y. Li, What is responsible for the initiating chemistry of iron-mediated lipid peroxidation: an update, *Chem. Rev.* 107 (3) (2007) 748–766.
- [18] W.Y. Sun, V.A. Tyurin, K. Mikulska-Ruminska, I.H. Shrivastava, T. S. Anthonymuthu, Y.J. Zhai, M.H. Pan, H.B. Gong, D.H. Lu, J. Sun, et al., Phospholipase iPLA(2) β averts ferroptosis by eliminating a redox lipid death signal, *Nat. Chem. Biol.* 17 (4) (2021) 465–476.
- [19] K.H. Al-Gubory, Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development, *Reprod. Biomed. Online* 29 (1) (2014) 17–31.
- [20] S. Sreetharan, L. Stoa, M.E. Cybulski, D.E. Jones, A.H. Lee, A.V. Kulesza, S. Tharmalingam, D.R. Boreham, T.C. Tai, J.Y. Wilson, Cardiovascular and growth outcomes of C57Bl/6J mice offspring exposed to maternal stress and ionizing radiation during pregnancy, *Int. J. Radiat. Biol.* 95 (8) (2019) 1085–1093.
- [21] M.M. Shivanjappa, Muralidhara, Differential oxidative stress induction and lethality of rat embryos after maternal exposure to t-butyl hydroperoxide during postimplantation period, *Drug Chem. Toxicol.* 36 (2) (2013) 209–216.
- [22] Y.W. Xiong, H.L. Zhu, Y. Nan, X.L. Cao, X.T. Shi, S.J. Yi, Y.J. Feng, C. Zhang, L. Gao, Y.H. Chen, et al., Maternal cadmium exposure during late pregnancy causes fetal growth restriction via inhibiting placental progesterone synthesis, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 187 (2020), 109879.
- [23] G. Miotto, M. Rossetto, M.L. Di Paolo, L. Orian, R. Venerando, A. Roveri, A. M. Vucković, V. Bosello Travain, M. Zaccarin, L. Zennaro, et al., Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1, *Redox Biol.* 28 (2020), 101328.
- [24] V. Barygina, M. Becatti, T. Lotti, S. Moretti, N. Taddei, C. Fiorillo, ROS-challenged keratinocytes as a new model for oxidative stress-mediated skin diseases, *J. Cell. Biochem.* 120 (1) (2019) 28–36.
- [25] Y.F. Li, S.H. Ouyang, L.F. Tu, X. Wang, W.L. Yuan, G.E. Wang, Y.P. Wu, W.J. Duan, H.M. Yu, Z.Z. Fang, et al., Caffeine protects skin from oxidative stress-induced senescence through the activation of autophagy, *Theranostics* 8 (20) (2018) 5713–5730.
- [26] R.R. He, Y. Li, X.D. Li, R.N. Yi, X.Y. Wang, B. Tsoi, K.K. Lee, K. Abe, X. Yang, H. Kurihara, A new oxidative stress model, 2,2-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride induces cardiovascular damages in chicken embryo, *PLoS One* 8 (3) (2013), e57732.
- [27] Y. Li, X.Y. Wang, Z.L. Zhang, X. Cheng, X.D. Li, M. Chuai, K.K. Lee, H. Kurihara, X. Yang, Excess ROS induced by AAPH causes myocardial hypertrophy in the developing chick embryo, *Int. J. Cardiol.* 176 (1) (2014) 62–73.
- [28] T. Wu, G.Y. Yu, J. Xiao, C. Yan, H. Kurihara, Y.F. Li, K.F. So, R.R. He, Fostering efficacy and toxicity evaluation of traditional Chinese medicine and natural products: chick embryo as a high throughput model bridging in vitro and in vivo studies, *Pharmacol. Res.* 133 (2018) 21–34.
- [29] Y. Matsuoka, M. Takahashi, Y. Sugiura, Y. Izumi, K. Nishiyama, M. Nishida, M. Suematsu, T. Bamba, K.I. Yamada, Structural library and visualization of endogenously oxidized phosphatidylcholines using mass spectrometry-based techniques, *Nat. Commun.* 12 (1) (2021) 6339.

- [30] S. Xin, C. Mueller, S. Pfeiffer, V.A.N. Kraft, J. Merl-Pham, X. Bao, R. Feederle, X. Jin, S.M. Hauck, P. Schmitt-Kopplin, et al., MS4A15 drives ferroptosis resistance through calcium-restricted lipid remodeling, *Cell Death Differ.* 29 (3) (2022) 670–686.
- [31] Y. Matsuoka, Y. Izumi, M. Takahashi, T. Bamba, K.I. Yamada, Method for structural determination of lipid-derived radicals, *Anal. Chem.* 92 (10) (2020) 6993–7002.
- [32] I. Kurakazu, Y. Akasaki, M. Hayashida, H. Tsushima, N. Goto, T. Sueishi, M. Toya, M. Kuwahara, K. Okazaki, T. Duffy, et al., FOXO1 transcription factor regulates chondrogenic differentiation through transforming growth factor β 1 signaling, *J. Biol. Chem.* 294 (46) (2019) 17555–17569.
- [33] X. Dong, X. Xu, C. Yang, Y. Luo, Y. Wu, J. Wang, USP7 regulates the proliferation and differentiation of ATDC5 cells through the Sox9-PTHrP-PTH1R axis, *Bone* 143 (2021), 115714.
- [34] T.O. Vu, P.T. Tran, W. Seo, J.H. Lee, B.S. Min, J.A. Kim, Triterpenoids from *Celastrus orbiculatus* Thunb. inhibit RANKL-induced osteoclast formation and bone resorption via c-Fos signaling, *J. Nat. Med.* 75 (1) (2021) 56–65.
- [35] S. Gabner, P. Böck, D. Fink, M. Glösmann, S. Handschuh, The visible skeleton 2.0: phenotyping of cartilage and bone in fixed vertebrate embryos and foetuses based on X-ray microCT, *Development* 147 (11) (2020).
- [36] D. Fang, L.Y. Kong, J. Cai, S. Li, X.D. Liu, J.S. Han, G.G. Xing, Interleukin-6-mediated functional upregulation of TRPV1 receptors in dorsal root ganglion neurons through the activation of JAK/PI3K signaling pathway: roles in the development of bone cancer pain in a rat model, *Pain* 156 (6) (2015) 1124–1144.
- [37] S. Radbakhsh, S. Ganjali, S.A. Moallem, P.C. Guest, A. Sahebkar, Antioxidant effects of trehalose in an experimental model of type 2 diabetes, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1328 (2021) 473–480.
- [38] M. Hoshino, K. Kaneko, Y. Miyamoto, K. Yoshimura, D. Suzuki, T. Akaike, T. Sawa, T. Ida, S. Fujii, H. Ihara, et al., 8-Nitro-cGMP promotes bone growth through expansion of growth plate cartilage, *Free Radic. Biol. Med.* 110 (2017) 63–71.
- [39] Y.J. He, X.Y. Liu, L. Xing, X. Wan, X. Chang, H.L. Jiang, Fenton reaction-independent ferroptosis therapy via glutathione and iron redox couple sequentially triggered lipid peroxide generator, *Biomaterials* 241 (2020), 119911.
- [40] G. Gao, J. Li, Y. Zhang, Y.Z. Chang, Cellular iron metabolism and regulation, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1173 (2019) 21–32.
- [41] H. Feng, K. Schorpp, J. Jin, C.E. Yozwiak, B.G. Hoffstrom, A.M. Decker, P. Rajbhandari, M.E. Stokes, H.G. Bender, J.M. Csuka, et al., Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker, *Cell Rep.* 30 (10) (2020) 3411–3423, e3417.
- [42] S. Wang, X. He, Q. Wu, L. Jiang, L. Chen, Y. Yu, P. Zhang, X. Huang, J. Wang, Z. Ju, et al., Transferrin receptor 1-mediated iron uptake plays an essential role in hematopoiesis, *Haematologica* 105 (8) (2020) 2071–2082.
- [43] N. van Gestel, S. Stegen, G. Eelen, S. Schoors, A. Carlier, V.W. Daniëls, N. Baryawno, D. Przybylski, M. Depypere, P.J. Stiers, et al., Lipid availability determines fate of skeletal progenitor cells via SOX9, *Nature* 579 (7797) (2020) 111–117.
- [44] V. Lefebvre, M. Angelozzi, A. Haseeb, SOX9 in cartilage development and disease, *Curr. Opin. Cell Biol.* 61 (2019) 39–47.
- [45] H. Song, K.H. Park, Regulation and function of SOX9 during cartilage development and regeneration, *Semin. Cancer Biol.* 67 (Pt 1) (2020) 12–23.
- [46] C.L. Hawkins, M.J. Davies, Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications, *J. Biol. Chem.* 294 (51) (2019) 19683–19708.
- [47] X. Zhu, C. Xi, B. Thomas, B.S. Pace, Loss of NRF2 function exacerbates the pathophysiology of sickle cell disease in a transgenic mouse model, *Blood* 131 (5) (2018) 558–562.
- [48] Y. Yao, Q. Liu, I. Adrianto, X. Wu, J. Glassbrook, N. Khalasawi, C. Yin, Q. Yi, Z. Dong, F. Geissmann, et al., Histone deacetylase 3 controls lung alveolar macrophage development and homeostasis, *Nat. Commun.* 11 (1) (2020) 3822.
- [49] M.R. Prater, C.L. Laudermilch, C. Liang, S.D. Holladay, Placental oxidative stress alters expression of murine osteogenic genes and impairs fetal skeletal formation, *Placenta* 29 (9) (2008) 802–808.
- [50] A.L. Ponsomby, C. Symeonides, R. Saffery, J.F. Mueller, M. O'Hely, P.D. Sly, N. Wardrop, A. Pezic, T. Mansell, F. Collier, et al., Prenatal phthalate exposure, oxidative stress-related genetic vulnerability and early life neurodevelopment: a birth cohort study, *Neurotoxicology* 80 (2020) 20–28.
- [51] R.L. Jilka, M. Almeida, E. Ambrogini, L. Han, P.K. Roberson, R.S. Weinstein, S. C. Manolagas, Decreased oxidative stress and greater bone anabolism in the aged, when compared to the young, murine skeleton with parathyroid hormone administration, *Aging Cell* 9 (5) (2010) 851–867.
- [52] A.C. Smith, A.J. Mears, R. Bunker, A. Ahmed, M. MacKenzie, J. A. Schwartzentruber, C.L. Beaulieu, E. Ferretti, J. Majewski, D.E. Bulman, et al., Mutations in the enzyme glutathione peroxidase 4 cause Sedaghatian-type spondylometaphyseal dysplasia, *J. Med. Genet.* 51 (7) (2014) 470–474.
- [53] G.S. Abd El-Aziz, M.M. El-Fark, H.A. Saleh, The prenatal toxic effect of methylmercury on the development of the appendicular skeleton of rat fetuses and the protective role of vitamin E, *Anat. Rec.* 295 (6) (2012) 939–949. Hoboken, NJ : 2007.
- [54] K. Katti, K.R. Ayasolla, T. Iurcotta, D. Potak, C. Codipilly, B. Weinberger, Lipid peroxidation products as predictors of oxidant-mediated disease in preterm infants, *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* (2021) 1–6.
- [55] I. Torres-Cuevas, A. Parra-Llorca, A. Sánchez-Illana, A. Nuñez-Ramiro, J. Kuligowski, C. Cháfer-Pericás, M. Cernada, J. Escobar, M. Vento, Oxygen and oxidative stress in the perinatal period, *Redox Biol.* 12 (2017) 674–681.
- [56] X. Chen, C. Yu, R. Kang, G. Kroemer, D. Tang, Cellular degradation systems in ferroptosis, *Cell Death Differ.* 28 (4) (2021) 1135–1148.
- [57] T.S. Anthonyamuthu, Y.Y. Tyurina, W.Y. Sun, K. Mikulska-Ruminska, I. H. Shrivastava, V.A. Tyurin, F.B. Cinemre, H.H. Dar, A.P. VanDemark, T. R. Holman, et al., Resolving the paradox of ferroptotic cell death: ferrostatin-1 binds to 15LOX/PEBP1 complex, suppresses generation of peroxidized ETE-PE, and protects against ferroptosis, *Redox Biol.* 38 (2021), 101744.
- [58] Y. Liu, Z. Song, Y. Liu, X. Ma, W. Wang, Y. Ke, Y. Xu, D. Yu, H. Liu, Identification of ferroptosis as a novel mechanism for antitumor activity of natural product derivative a2 in gastric cancer, *Acta Pharm. Sin. B* 11 (6) (2021) 1513–1525.
- [59] J. Liu, R. Kang, D. Tang, Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis, *FEBS J.* 6 (2021) 1–13.
- [60] N. Kong, X. Chen, J. Feng, T. Duan, S. Liu, X. Sun, P. Chen, T. Pan, L. Yan, T. Jin, et al., Baicalin induces ferroptosis in bladder cancer cells by downregulating FTH1, *Acta Pharm. Sin. B* 11 (12) (2021) 4045–4054.
- [61] J. Wan, H. Ren, J. Wang, Iron toxicity, lipid peroxidation and ferroptosis after intracerebral haemorrhage, *Stroke and vascular neurology* 4 (2) (2019) 93–95.
- [62] N. Yamada, T. Karasawa, H. Kimura, S. Watanabe, T. Komada, R. Kamata, A. Sampilvanjil, J. Ito, K. Nakagawa, H. Kuwata, et al., Ferroptosis driven by radical oxidation of n-6 polyunsaturated fatty acids mediates acetaminophen-induced acute liver failure, *Cell Death Dis.* 11 (2) (2020) 144.
- [63] D. Tang, X. Chen, R. Kang, G. Kroemer, Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications, *Cell Res.* 31 (2) (2021) 107–125.
- [64] J. Tsay, Z. Yang, F.P. Ross, S. Cunningham-Rundles, H. Lin, R. Coleman, P. Mayer-Kuckuk, S.B. Doty, R.W. Grady, P.J. Giardina, et al., Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress, *Blood* 116 (14) (2010) 2582–2589.
- [65] M.W. Park, H.W. Cha, J. Kim, J.H. Kim, H. Yang, S. Yoon, N. Boonpraman, S.S. Yi, I.D. Yoo, J.S. Moon, NOX4 promotes ferroptosis of astrocytes by oxidative stress-induced lipid peroxidation via the impairment of mitochondrial metabolism in Alzheimer's diseases, *Redox Biol.* 41 (2021), 101947.
- [66] H. Zhong, H. Yin, Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: focusing on mitochondria, *Redox Biol.* 4 (2015) 193–199.

- 中国精品科技期刊
- 中国中文核心期刊
- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 《中国学术期刊影响因子年报》统计源期刊
- 中国生物学文献(CBA)源期刊
- 《中文科技期刊数据库》全文收录
- 《中文科技资料目录-医药卫生》收录源期刊
- RCCSE核心期刊

ISSN 1001-1528
CN 31-1368/R



CHINESE TRADITIONAL PATENT MEDICINE

2019年8月 第41卷 第8期

Vol.41 No.8 2019

中成藥

ZHONGCHENGYAO

ISSN 1001-1528



主 办

国家食品药品监督管理局信息中心中成药信息站

上 海 中 药 行 业 协 会



杂志官方微信

中 成 药

ZHONGCHENGYAO

2019 年第 41 卷第 8 期

月刊

1978 年 8 月创刊

主管单位

上海市卫生健康委员会

主办单位

国家食品药品监督管理局

信息中心中成药信息站

上海中药行业协会

出版单位

《中成药》编辑部

印刷单位

上海东港安全印刷有限公司

国内发行

上海市报刊发行局

海外总发行

中国国际图书贸易集团有限公司

出版日期

2019 年 8 月 20 日

主编

陶建生

执行主编

唐青华

发行范围

公开发行

国内定价

每期 40.00 元

全年 480.00 元

国内统一连续出版物号

CN 31-1368/R

国际标准连续出版物号

ISSN 1001-1528

目 次

[制 剂]

芪蒯强心胶囊中生物碱在大鼠体内的药动学行为

..... 张 瑜, 张富康, 朱明丹,等(1757)

淫羊藿苷在不同条件下的降解动力学行为

..... 陶俊辉, 丁选胜, 吴正红,等(1763)

姜黄素固体分散体单层渗透泵控释片的制备和处方优化

..... 严 巍, 胡春霞, 张智强(1768)

痛风泰颗粒水提工艺的优化 ... 王佛长, 黄诗莹, 陈剑平,等(1773)

[质 量]

UPLC 法同时测定玉屏风颗粒中 9 种成分

..... 廖小芳, 毕晓黎, 胥爱丽,等(1778)

一测多评法同时测定梅翁退热颗粒中 8 种成分

..... 刘媛媛, 孟秀杰, 李丽静(1782)

HPLC 法同时测定良姜胃疡胶囊中 7 种成分

..... 肖耀华, 雷丹丹, 徐国波,等(1786)

忍冬藤胶囊的制备及其质量标准 ... 徐英辉, 申 茹, 郭玉岩(1790)

[药 理]

槲皮素对 LPS 诱导小鼠 RAW264.7 细胞炎症的保护作用

..... 任改艳, 张步有, 黄剑林(1795)

异甘草素对结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响

..... 王志国, 黄贤明, 赵 雁,等(1800)

枳酮对 LPS 介导 MH7A 细胞增殖和迁移的影响

..... 左瑞庭, 王西彬(1806)

黄芪总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激、炎症、凋亡的影响

..... 马历历, 李 浩, 孙立明,等(1811)

丹蛭降糖胶囊对糖尿病大鼠心肌损伤的影响

..... 刘培培, 施 慧, 王 靓,等(1816)

槲皮素对非酒精性脂肪性肝炎大鼠的影响

..... 刘鸣昊, 张丽慧, 马庆亮,等(1820)

土三七致大鼠肝毒性的代谢组学

..... 王夏雷, 苟小军, 陈 龙,等(1826)

[临 床]

益气化痰方联合 TP 方案对晚期非小细胞肺癌患者的临床疗效

..... 曹世霞, 康 斐, 王永飞,等(1835)

参麦注射液联合尼莫地平对妊娠期高血压患者的临床疗效

..... 李三喜, 邢增文, 赵 涛,等(1839)

固肠止泻丸联合美沙拉嗪对轻度活动期克罗恩病患者的临床疗效

..... 郭 艳, 魏小娟, 王云溪(1844)

桔贝合剂治疗小儿肺炎的 Meta 分析 ... 杨硕鹏, 孙 博(1847)

注射用红花黄色素治疗骨科术后下肢深静脉血栓形成的 Meta 分析

..... 孟 凯, 辛 健, 王庆航(1851)

[成分分析]

糙叶五加花化学成分及其抗炎活性

..... 李小军, 吴贤哲, 金伦喆,等(1856)

冬虫夏草内生菌皮壳青霉菌化学成分的研究

..... 冯 丹, 秦玲玲, 郑东滨,等(1863)

野八角果实化学成分的研究

..... 王晓霞, 庄鹏宇, 苟丽霞,等(1867)

激光照排

同方知网(北京)技术有限公司
排版中心

订购

全国各地邮政局

国内邮发代号

4-249

国外邮发代号

M1093

广告审查员

俞慧丽

本期责任编辑

安鑫

英文责任编辑

朱玉琴 李维莹

地址:

上海市福州路107号206室

邮编:200002

电话:0086-21-63213275

传真:0086-21-63213363

网址:www.zcyjournal.com

投稿网址:

<http://www.zcyjournal.com>

<http://zcy.cbpt.cnki.net>

E-mail:

zcy.med@foxmail.com

铁牛七化学成分的研究 宋 蓓, 王 菲, 李玉泽,等(1871)
猴头菌-青蒿生物转化物化学成分的研究 赵小芳, 徐 博, 任 杰,等(1875)
HPLC法同时测定新会柑种子中7种成分 郑国栋, 杨秀娟, 巢颖欣,等(1879)
一测多评法同时测定广藿香中4种成分 李小琪, 范燕豪, 陈 阳,等(1884)

[药材资源]

延胡索热风干燥特性及动力学行为 杜伟锋, 顾 超, 康显杰,等(1889)
地椒质量标准的研究 常小强, 赵一帆, 马 悦,等(1894)
赤芍饮片加工工艺的优化 付士朋, 沈宏伟, 王谦博,等(1899)
不同干燥方式泽泻汤指纹图谱的建立及2种成分测定

..... 伍蕊嗣, 姚运秀, 刘 钱,等(1905)
麸煨诃子不同部位抗溃疡性结肠炎的谱效关系 温聪聪, 鞠成国, 张 强,等(1910)

[综 述]

水蛭及其制剂在心脑血管疾病中的应用 黄秋阳, 冷 静, 甘奇超,等(1915)
泻白散处方演变历史及方剂开发的研究进展 李 璐, 杨一帆, 杨 彪,等(1920)
泻白散文献分析及研究进展 李 婷, 张 彤, 王丹丹(1927)
中药治疗急性胰腺炎机制的研究进展 孙文杰, 陈亚峰, 高 磊,等(1932)
中药注射剂类过敏反应机制的研究进展 杨艺帆, 谢家骏, 陈 锰,等(1935)

[科研报道]

藤茶总黄酮固体脂质纳米粒处方的优化及其体外释药行为

..... 杨毛毛, 罗花彩, 沙 玫,等(1941)
天竺黄凝胶贴膏提取工艺的优化 谭城玉, 关琴笑, 王贤儿,等(1946)
生姜纸煨工艺的优化 罗 婷, 王佳琪, 江宇勤,等(1950)
健心合米尔高滋斑安比热片质量标准的改进 毛 艳, 蔡晓翠, 庞克坚,等(1953)
⁶⁰Co-γ射线辐照对黄精中微生物及多糖的影响 黄赵刚, 梁豆豆, 李飞龙,等(1957)
豨桐丸对尿酸钠晶体诱导巨噬细胞NF-κB活化的影响 贾 萍, 陈 刚(1959)
紫菜多糖抑制哮喘大鼠模型NF-κB信号通路 刘 璟, 李智红, 胡 玲(1963)
丹参酮II_A磺酸钠对家兔心脏骤停复苏后的影响

..... 陈 芳, 杨 虹, 成 静,等(1966)
克癍胶囊对非酒精性脂肪肝大鼠的影响 周艾强, 关卫兵, 王凤林,等(1969)
茜花胶囊对急性痛性关节炎大鼠症状和炎症的影响

..... 黄 锐, 袁 毅,袁 渊,等(1973)
基于网络药理学研究左金丸治疗高血压的分子机制

..... 王 君, 陈奕玮, 赵 坤,等(1976)
芡实多糖单糖组成及抗炎活性 王 倩, 吴啟南, 吴达维,等(1982)
戊己胃漂浮缓释片抗家兔胃溃疡谱效关系 卿勇军, 刘 文, 杜 平,等(1987)
香附和醋香附HPLC特征图谱及多元统计分析 袁 芮, 张 超, 苏 彤,等(1991)
明党参挥发油成分GC-MS指纹图谱 杜 清, 秦民坚, 吴 刚(1995)
我国批准上市中成药的品种、主治和用药特点 曹梦蝶, 吴 锐, 王 张,等(1999)

[医院药房]

伤科黄水联合医用臭氧对急性膝关节创伤性滑膜炎患者的临床疗效

..... 侯朝辉, 刘效仿, 王 鹏,等(2007)
中药导入联合关节镜清理术、康复训练对膝骨关节炎患者的临床疗效
..... 方 丹, 梅海博(2009)
心脉隆注射液联合西药对冠心病心力衰竭患者的临床疗效 许 斐, 曹 炯(2012)
补肾强骨方联合依降钙素对骨质疏松症患者的临床疗效

..... 王新春, 陶东红, 王 松(2014)

《新编国家中成药》中治疗失眠成方规律的分析

..... 慕向军, 林 檠, 史佩玉,等(2017)
中成药处方药、非处方药说明书规范性分析 王新芳, 魏 琴, 罗永皎,等(2022)

CHINESE TRADITIONAL PATENT MEDICINE

Vol.41 No.8 August 2019

Chinese Traditional Patent Medicine

(Monthly)

Founded in August, 1978

Directed by

Shanghai Municipal Health Commission

Sponsored by

Chinese Patent Medicine Information
Station of Information Centre of State
Food and Drug Administration
Shanghai Traditional Chinese Medicine Trade Association
(Room 206, 107 Fuzhou Road,
Shanghai 200002, China)

Edited and Published by

Editorial Office of CHINESE TRADITIONAL PATENT MEDICINE

Printed by

Shanghai Donggang Anquan Printing
Co., Ltd.

Subscription Domestic

Local Post Office

Distribution

Shanghai Post Offices

MAIN CONTENTS

- In vivo* pharmacokinetic behaviors of alkaloids in Qili Qiangxin Capsules in rats
..... ZHANG Yu, ZHANG Fu-geng, ZHU Ming-dan, *et al.* (1757)
- Degradation kinetic behaviors of icariin under different conditions
..... TAO Jun-ye, DING Xuan-sheng, WU Zheng-hong, *et al.* (1763)
- Preparation of single-layer osmotic pump controlled release tablets of curcumin solid dispersions and formulation optimization
..... YAN Wei, HU Chun-xia, ZHANG Zhi-qiang (1768)
- Optimization of aqueous extraction process for Tongfengtai Granules
..... WANG Fo-chang, HUANG Shi-ying, CHEN Jian-ping, *et al.* (1773)
- Simultaneous determination of nine constituents in Yupingfeng Granules by UPLC
..... LIAO Xiao-fang, BI Xiao-li, XU Ai-li, *et al.* (1778)
- Simultaneous determination of eight constituents in Meiweng Tuire Granules by QAMS
..... LIU Yuan-yuan, MENG Xiu-jie, LI Li-jing (1782)
- Simultaneous determination of seven constituents in Liangjiang Weiyang Capsules by HPLC
..... XIAO Yao-hua, LEI Dan-dan, XU Guo-bo, *et al.* (1786)
- Preparation of Rendongteng Capsules and the quality standard
..... XU Ying-hui, SHEN Ru, GUO Yu-yan (1790)
- Protective effects of quercetin on the inflammation of mice RAW264.7 cells induced by LPS
..... REN Gai-yan, ZHANG Bu-you, HUANG Jian-lin (1795)
- Effects of isoliquiritigenin on proliferation, invasion and migration of colorectal cancer cells
..... WANG Zhi-guo, HUANG Xian-ming, ZHAO Yan, *et al.* (1800)
- Effects of fraxinellone on LPS-mediated MH7A cell proliferation and migration
..... ZUO Rui-ting, WANG Xi-bin (1806)
- Effects of *Astragali Radix* total flavonoids on oxidative stress, inflammation and apoptosis of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury
..... MA Li-li, LI Hao, SUN Li-ming, *et al.* (1811)
- Effects of Danzhi Jiangtang Capsules on myocardial injury in diabetic rats
..... LIU Pei-pei, SHI Hui, WANG Liang, *et al.* (1816)
- Effects of quercetin on rats with non-alcoholic steatohepatitis
..... LIU Ming-hao, ZHANG Li-hui, MA Qing-liang, *et al.* (1820)
- Metabolomics of *Gynura segetum*-induced hepatotoxicity in rats
..... WANG Xia-lei, GOU Xiao-jun, CHEN Long, *et al.* (1826)

Subscriptions Overseas

China International Book
Trading Corporation, PO Box
399, Beijing 100044, China

Publication Date

August 20, 2019

Editor-in-chief

TAO Jian-sheng

Executive editor-in-chief

TANG Qing-hua

Laser Photocomposition

Centre of Photocomposition
Tsinghua Tongfang

China Standard Serial Numbering

ISSN 1001-1528
CN 31-1368/R

Tel 0086-21-63213275

Fax 0086-21-63213363

<http://www.zcyjournal.com>

<http://zcy.cbpt.cnki.net>

E-mail zcy.med@foxmail.com

Editor in Charge of This Issue

AN Xin

Editor in Charge of English

ZHU Yu-qin LI Wei-ying

Clinical effects of Yiqi Huatan Decoction combined with TP regimen on patients with advanced non-small cell lung cancer

..... CAO Shi-xia, KANG Fei, WANG Yong-fei, *et al.* (1835)

Clinical effects of Shenmai Injection combined with nimodipine on patients with gestational hypertension LI San-xi, XING Zeng-wen, ZHAO Tao, *et al.* (1839)

Clinical effects of Guchang Zhixie Pills combined with mesalazine on mildly active Crohn's disease GUO Yan, WEI Xiao-juan, WANG Yun-xi (1844)

Meta-analysis of Jubei Mixture in treating pediatric pneumonia

..... YANG Shuo-peng, SUN Bo (1847)

Meta-analysis of Safflower yellow for Injection in treating deep venous thrombosis of lower extremity after orthopaedic surgery MENG Kai, XIN Jian, WANG Qing-hang (1851)

Chemical constituents from the flowers of *Acanthopanax henryi* and their anti-inflammatory activities LI Xiao-jun, OH Hyun-cheol, KIM Youn-Chul, *et al.* (1856)

Chemical constituents of endophytic fungi *Penicillium crustosum* from *Cordyceps Sinensis* FENG Dan, Qin Ling-ling, ZHENG Dong-bing, *et al.* (1863)

Chemical constituents from the fruits of *Iliicium simonsii*

..... WANG Xiao-xia, ZHUANG Peng-yu, GOU Li-xia, *et al.* (1867)

Chemical constituents from *Aconitum szechenyianum*

..... SONG Bei, WANG Fei, LI Yu-ze, *et al.* (1871)

Chemical constituents from the biological transformation of *Hericium erinaceus* and *Artemisia annua* ZHAO Xiao-fang, XU Bo, REN Jie, *et al.* (1875)

Simultaneous determination of seven constituents in the seeds of *Citrus reticulata* 'Chachi' by HPLC ZHENG Guo-dong, YANG Xiu-juan, CHAO Ying-xin, *et al.* (1879)

Simultaneous determination of four constituents in *Pogostemon cablin* by QAMS

..... LI Xiao-qi, FAN Yan-hao, CHEN Yang, *et al.* (1884)

Hot air drying characteristics and kinetic behaviors of *Corydalis yanhusuo*

..... DU Wei-feng, GU Chao, KANG Xian-jie, *et al.* (1889)

Study on quality standard of thyme

..... CHANG Xiao-qiang, ZHAO Yi-fan, MA Yue, *et al.* (1894)

Processing technique optimization for *Paeoniae Radix* decoction pieces

..... FU Shi-peng, SHEN Hong-wei, WANG Qian-bo, *et al.* (1899)

Establishment of fingerprints of alisma decoction with different drying methods and determination of two constituents WU Rui-si, YAO Yun-xiu, LIU Qian, *et al.* (1905)

Spectra-effect relationship of anti-UC of different parts of *Terminalia chebula* roasted with wheat bran WEN Cong-cong, JU Cheng-guo, ZHANG Qiang, *et al.* (1910)

- [12] 唐秀胜, 靳风云, 章 誉, 等. HPLC 法测定贵州苗药铁筷子中东莨菪内酯的含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2015, 37(6): 24-27.
- [13] 甄 攀, 王治宝, 白雪梅, 等. 吴茱萸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 HPLC 分析[J]. 中成药, 2004, 26(3): 227-229.
- [14] 曾金祥, 刘 勇, 黄碧涛, 等. 吴茱萸 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种成分含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(14): 8273-8275, 8278.
- [15] 杨媛媛, 陈志永, 廖立平, 等. 冯了性风湿跌打药酒中东莨菪素、东莨菪苷和绿原酸的测定[J]. 中成药, 2014, 36(3): 551-553.

忍冬藤胶囊的制备及其质量标准

徐英辉¹, 申 茹¹, 郭玉岩^{2*}

(1. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 制备忍冬藤胶囊, 并建立其质量标准。 **方法** 以休止角、吸湿率、堆密度为指标, 制备忍冬藤胶囊。然后, TLC 法定性鉴别绿原酸、马钱苷, HPLC 法测定绿原酸、马钱苷含量。 **结果** 最佳制备工艺为微晶纤维素与淀粉比例 3:1, 吸湿率 10.7%, 选用 1 号胶囊。TLC 斑点清晰, 阴性对照无干扰; 绿原酸、马钱苷分别在 10.2~306、7~525 mg/mL 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 100.8%、98.67%, RSD 分别为 1.79%、2.41%。 **结论** 该方法合理可行, 专属性强, 重复性好, 可用于忍冬藤胶囊的质量控制。

关键词: 忍冬藤胶囊; 制备; 绿原酸; 马钱苷; TLC; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)08-1790-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.08.008

Preparation of Rendongteng Capsules and the quality standard

XU Ying-hui¹, SHEN Ru¹, GUO Yu-yan^{2*}

(1. Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China; 2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

KEY WORDS: Rendongteng Capsules; preparation; chlorogenic acid; loganin; TLC; HPLC

忍冬藤为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥茎枝, 具有清热解毒、疏风通络功效, 用于温病发热、热毒血痢、痈肿疮疡、风湿热痹、关节红肿热痛^[1], 始见于梁代《名医别录》, 四季均可用药, 资源丰富^[2], 其有效成分绿原酸、咖啡酸有显著的抗菌、抗病毒作用^[3-6], 马钱苷具有抗炎作用^[7-8]。课题组前期以绿原酸、马钱苷为指标, 优化忍冬藤提取工艺^[9]; 本实验在此基础上, 以休止角、堆密度、吸湿率^[10]为指标, 对忍冬藤胶囊的制备工艺进行研究, 并对其进行质量控制, 以期今后工业化生产提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安

捷伦公司); HH-8 数显恒温水浴锅 (江苏金坛市环宇科学仪器厂); JA3003 电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); BPG-9240A 鼓风干燥箱 (上海百典仪器设备有限公司); PS-40A 超声波清洗机 (深圳市科洁超声科技有限公司); ZF-7 暗箱三用紫外分析仪 (上海和勤分析仪器有限公司); AS-400 手工胶囊填充板 (浙江奥尔特机械有限公司); BZF-50 真空干燥箱 (上海博迅实业有限公司)。

1.2 试药 药用乳糖、淀粉、糖粉、微晶纤维素 (山东聊城华阳医药辅料有限公司); 1 号空心胶囊 (吉林敖东顺合胶囊有限公司)。忍冬藤 (批号 160601) 购自亳州市宏大中药饮片有限公司, 产

收稿日期: 2018-07-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703724); 2016 年度惠州市科技专项资金资助项目 (2016X0402017)

作者简介: 徐英辉 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事药物制剂研究。E-mail: 21806850@qq.com

*通信作者: 郭玉岩 (1982—), 女, 博士, 副教授, 从事中药新药开发研究。E-mail: guoyuyan622@163.com

地山东,经惠州卫生职业技术学院中药教研室祁银德副教授鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥茎枝。绿原酸(批号 170309)、马钱苷(批号 170308)对照品购自北京世纪奥科生物技术有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 制备工艺

2.1 辅料筛选 以浓缩稠膏进行减压干燥时发现,干燥后呈块状黏连固体,而且容易吸潮,不利于胶囊剂填充,故选择湿法制颗粒。

表 1 单一辅料考察结果

Tab. 1 Results of single excipient investigation

辅料	用量/g	休止角/(°)	吸湿率/%	绿原酸/%	马钱苷/%	成型状态
淀粉	20.2	15.45	6.10	0.169 2	0.350 7	成型性好,颗粒软,易成粉末
乳糖	47.7	19.65	1.48	0.076 1	0.139 5	成型性一般,颗粒松散
糖粉	77.1	15.52	4.85	0.061 2	0.108 7	成型性好,颗粒适中
微晶纤维素	6.2	15.38	7.65	0.425 1	0.867 3	不易成型,粉末量多

2.1.2 混合辅料 取稠膏 5 g,加入不同比例混合的微晶纤维素、淀粉、乳糖制备湿颗粒,以休止角、吸湿性、绿原酸及马钱苷含量、成型状态为考察指标进行筛选,结果见表 2。由表可知,不同比例下颗粒休止角均小于 30°,颗粒流动性较好,符合吸湿性制剂要求,其中微晶纤维素与淀粉混合时辅料用量少,颗粒成型性好;随着微晶纤维素中

2.1.1 单一辅料 取稠膏 5 g,加入一定量的淀粉、微晶纤维素、乳糖、糖粉混合制粒,以休止角、吸湿性、绿原酸及马钱苷含量、成型状态为考察指标进行筛选,结果见表 1。由表可知,以上辅料均符合流动性与吸湿性的要求,其中微晶纤维素流动性最好,乳糖吸湿性最好,微晶纤维素成分含量最高,而在辅料用量方面,糖粉用量最大,可排除;淀粉用量稍大,但价格低廉;微晶纤维素用量较少,但其成本高,不利于产业化。综合考虑,需将辅料混合后作进一步考察。

淀粉量提高,辅料用量随之增加,绿原酸、马钱苷含量随之降低,其中微晶纤维素-淀粉比例为 3:1 时两者含量最高,而且颗粒适中。综合考虑有效成分含量和患者服用量,最终选择混合辅料为微晶纤维素-淀粉(3:1),稠膏与辅料的比例约为 1:1.1。

表 2 混合辅料考察结果

Tab. 2 Results of mixed excipient investigation

辅料	配比	用量/g	休止角/(°)	吸湿率/%	绿原酸/%	马钱苷/%	成型状态
乳糖-淀粉	2:1	30.2	18.78	4.91	0.117 7	0.242 7	好,颗粒适中
乳糖-淀粉	1:1	21.1	14.34	4.57	0.153 8	0.330 3	好,颗粒适中
乳糖-淀粉	1:8	28.0	23.20	4.98	0.106 0	0.234 1	差,易成粉末
微晶纤维素-乳糖	2:1	7.1	11.31	7.80	0.346 4	1.004 9	差,粉末较多
微晶纤维素-乳糖	1:1	8.8	9.46	6.84	0.281 0	0.807 8	一般,颗粒适中
微晶纤维素-乳糖	1:2	9.3	12.53	5.95	0.282 9	0.807 9	好,颗粒适中
微晶纤维素-乳糖	1:5	13.7	11.31	3.82	0.208 8	0.595 4	好,颗粒适中
微晶纤维素-淀粉	3:1	5.6	9.46	10.71	0.648 8	1.303 9	好,颗粒适中
微晶纤维素-淀粉	2:1	6.5	11.31	10.72	0.597 2	1.209 5	一般,颗粒软
微晶纤维素-淀粉	1:1	7.2	9.46	11.17	0.559 1	1.137 5	好,颗粒适中
微晶纤维素-淀粉	1:2	8.5	9.46	9.47	0.328 4	0.940 2	好,颗粒适中,硬度适中
微晶纤维素-淀粉	1:3	10.2	13.13	9.16	0.281 7	0.805 7	好,颗粒适中
微晶纤维素-淀粉	1:4	11.5	10.73	8.66	0.259 8	0.748 5	好,颗粒适中,硬度一般
微晶纤维素-淀粉	1:5	10.3	11.92	9.46	0.277 8	0.805 5	好,颗粒适中,硬度一般
微晶纤维素-淀粉	1:10	12.2	10.70	8.98	0.242 9	0.696 1	好,颗粒较大,硬度偏软

2.2 胶囊型号筛选

2.2.1 堆密度 精密称取 3 份颗粒(质量 m),填充于 10 mL 量筒中,由 5 cm 高度落在木板上,反复振动 3 次后测定体积(V),根据公式 $\rho = m/V$ 计算堆密度,测得其分别为 0.374、0.380、0.374 g/mL,平均 0.376 g/mL(RSD=0.921%)。

2.2.2 胶囊装量 《中国药典》规定,忍冬藤用量为 9~30 g,绿原酸、马钱苷含量均不低于 0.10%,以此折算,2 种成分用量为 9~30 mg,每天服用 9~18 粒。结合“2.2.1”项下结果,根据胶囊壳型号和近似容积的关系,选择 1 号空心胶囊(近似容积为 0.5 mL)分装,每粒装约 0.18 g。

2.3 验证试验 称取药材粗粉 400 g, 按优化工艺进行提取, 提取液在 80 ℃ 下减压浓缩至相对密度为 1.27 的稠膏备用, 取 10、20、50 g, 加入混合

辅料 (微晶纤维素-淀粉, 3 : 1), 混合制粒, 考察工艺稳定性, 结果见表 3, 可知所得颗粒成形性理想, 大小适中, 而且工艺稳定性好, 操作简便。

表 3 验证实验结果

Tab. 3 Results of verification tests

稠膏质量/g	辅料用量/g	绿原酸/%	平均值/%	RSD/%	马钱苷/%	平均值/%	RSD/%
10	11	0.665 0			1.345 9		
20	22	0.665 8	0.658 8	1.73	1.345 3	1.337 2	1.09
50	55	0.645 7			1.320 3		

2.4 制备工艺 取药材粗粉 400 g, 按优化工艺提取, 80 ℃ 下减压浓缩, 得稠膏约 105 g, 相对密度为 1.27, 加入混合辅料 (微晶纤维素-淀粉, 3 : 1) 120 g, 制粒, 干燥, 装入胶囊即得, 制成 1 000 粒。

3 质量标准

3.1 TLC 定性鉴别

3.1.1 对照品溶液制备 精密称取绿原酸、马钱苷对照品适量, 50% 甲醇溶解, 制成每 1 mL 分别含两者 0.3、0.57 mg 的溶液, 即得。

3.1.2 供试品溶液制备 精密称取胶囊内容物 0.5 g, 加入 10 mL 50% 甲醇超声处理 30 min, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.1.3 对照药材溶液制备 精密称取对照药材 1 g, 加入 10 mL 50% 甲醇超声处理 30 min, 滤过, 取续滤液, 即得。

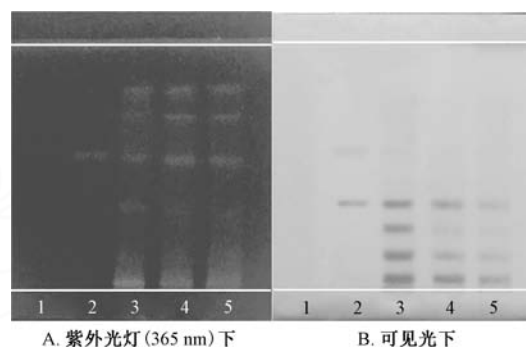
3.1.4 空白辅料溶液制备 按照处方制备空白辅料并精密称取 0.5 g, 加入 10 mL 50% 甲醇超声处理 30 min, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.1.5 鉴别方法 按照薄层色谱法 (通则 0502) 试验^[11], 吸取空白辅料、供试品、对照药材、对照品溶液各 5 μL, 在同一硅胶 G 薄层板上点样, 以乙酸丁酯-甲醇-甲酸-水 (7 : 1 : 2 : 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 在紫外光灯 (365 nm) 下检视, 再喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 于 105 ℃ 烘箱中加热, 斑点显色清晰后停止, 在日光下检视薄层板, 结果见图 1。由图可知, 对照药材、对照品、供试品色谱对应位置上显相同颜色的荧光斑点或斑点, 阴性无干扰。

3.2 检查 按照 2015 年版《中国药典》四部通则胶囊剂项下规定, 对胶囊进行水分、装量差异、崩解时限、微生物限度检查。

3.2.1 水分 取 3 批胶囊, 每批 10 粒, 依法检查^[11], 发现均符合《中国药典》规定, 见表 4。

3.2.2 装量差异 取 3 批胶囊, 每批 20 粒, 依法



注: 1 为空白辅料溶液, 2 为对照品溶液, 3 为对照药材溶液, 4~5 为供试品溶液

图 1 样品 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatograms of samples

检查^[11], 发现均符合《中国药典》规定, 见表 4。

3.2.3 崩解时限 取 3 批胶囊, 每批 3 粒, 依法检查^[11], 发现均符合《中国药典》规定, 见表 4。

表 4 抽样检查结果

Tab. 4 Results of sampling inspection

检查项目	批号			标准
	20170607	20170608	20170609	
水分/%	3.8	4.1	3.9	<9.0
装量差异/%	符合规定	符合规定	符合规定	±10
崩解时限/min	11	12	11	<30

3.3 含量测定

3.3.1 色谱条件 YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (4.0 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 0.04% 磷酸-乙腈, 梯度洗脱 (0 min, 88.5 : 11.5; 14 min, 85 : 15; 20 min, 69 : 31; 23 min, 10 : 90); 检测波长 240 nm (马钱苷)、327 nm (绿原酸); 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 20 ℃; 进样量 5 μL。

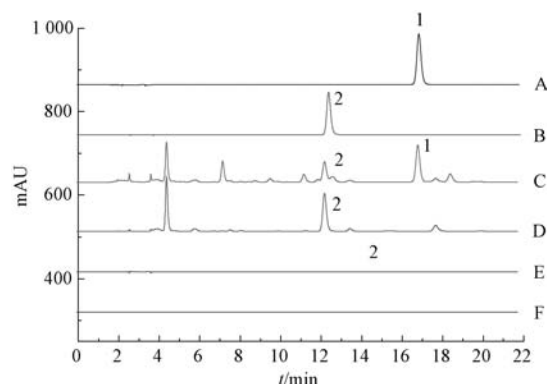
3.3.2 对照品溶液制备 精密称取绿原酸、马钱苷对照品适量, 50% 甲醇溶解, 制成每 1 mL 分别含两者 0.51、0.7 mg 的溶液, 即得。

3.3.3 供试品溶液制备 精密称取胶囊内容物约 0.5 g, 置于具塞锥形瓶中, 加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声 (功率 250 W、频率 30 kHz) 处

理 30 min, 放冷, 再称定质量, 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.3.4 阴性样品溶液制备 取不含药材提取液的空白辅料颗粒 0.5 g, 按“3.3.3”项下方法制备, 即得。

3.3.5 系统适用性试验 取对照品、样品、阴性样品溶液, 在“3.3.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 2, 可知各成分均能得到较好的分离, 阴性无干扰。



注: A~F 分别为马钱苷对照品溶液 (240 nm)、绿原酸对照品溶液 (327 nm)、供试品溶液 (240 nm)、供试品溶液 (327 nm)、阴性样品溶液 (240 nm)、阴性样品溶液 (327 nm)

1. 马钱苷 2. 绿原酸

1. loganin 2. chlorogenic acid

图 2 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of various constituents

3.3.6 线性关系考察 取绿原酸对照品母液, 依次稀释至 10.2、25.5、51、127.5、255、306 $\mu\text{g/mL}$, 在“3.3.1”项色谱条件下各进样 5 μL 测定。以溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程 $Y = 23\,026X - 57.274$ ($r = 0.999\,7$), 在 10.2~306 mg/mL 范围内线性关系良好。

取马钱苷对照品母液, 依次稀释至 7、14、35、70、140、245、525 $\mu\text{g/mL}$, 在“3.3.1”项色谱条件下各进样 5 μL 测定。以溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程 $Y = 11\,345X - 11.359$ ($r = 0.999\,9$), 在 7~525 mg/mL 范围内线性关系良好。

3.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 于 0、2、4、8、12、24 h 在“3.3.1”项色谱条件下进样测定, 测得绿原酸、马钱苷峰面积 RSD 分别为 0.24%、0.14%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.3.8 精密度试验 精密吸取供试品溶液 5 μL ,

在“3.3.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得绿原酸、马钱苷峰面积 RSD 分别为 0.11%、0.17%, 表明仪器精密度良好。

3.3.9 重复性试验 精密称同一批供试品约 0.5 g, 共 6 份, 按“3.3.3”项下方法制备供试品溶液, 在“3.3.1”项色谱条件下进样测定, 测得绿原酸、马钱苷含量 RSD 分别为 1.54%、1.47%, 表明该方法重复性良好。

3.3.10 加样回收率试验 取含有量已知的同一胶囊 9 份, 加入对照品溶液 (绿原酸 0.6 mg/mL 、马钱苷 1.3 mg/mL), 按“3.3.3”项下方法制备供试品溶液, 在“3.3.1”项色谱条件下进样 5 μL 测定, 计算回收率, 结果见表 5~6。

表 5 绿原酸加样回收率试验结果

Tab. 5 Results of recovery tests for chlorogenic acid

取样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.100 9	0.602 9	0.3	0.912 2	103.11		
0.100 8	0.602 9	0.3	0.899 9	99.01		
0.101 4	0.602 9	0.3	0.900 9	99.32		
0.101 0	0.602 9	0.6	1.199 1	99.37		
0.101 4	0.602 9	0.6	1.197 2	99.04	100.80	1.79
0.100 8	0.602 9	0.6	1.218 5	102.60		
0.101 1	0.602 9	0.9	1.508 1	100.58		
0.101 7	0.602 9	0.9	1.533 7	103.43		
0.100 5	0.602 9	0.9	1.510 2	100.81		

表 6 马钱苷加样回收率试验结果

Tab. 6 Results of recovery tests for loganin

取样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.100 9	1.310 8	0.65	1.957 8	1.00		
0.100 8	1.310 8	0.65	1.933 7	0.96		
0.101 4	1.310 8	0.65	1.951 5	0.99		
0.101 0	1.310 8	1.30	2.572 9	0.97		
0.101 4	1.310 8	1.30	2.566 7	0.97	98.67	2.41
0.100 8	1.310 8	1.30	2.605 5	1.00		
0.101 1	1.310 8	1.95	3.234 5	0.99		
0.101 7	1.310 8	1.95	3.339 5	1.04		
0.100 5	1.310 8	1.95	3.225 2	0.98		

3.3.11 样品含有量测定 取 5 批胶囊内容物, 每批 0.5 g, 按“3.3.3”项下方法制备供试品溶液, 吸取对照品、供试品溶液各 5 μL , 在“3.3.1”项色谱条件下进样测定, 计算含有量, 结果见表 7。

4 讨论

本实验对薄层色谱条件进行筛选时, 采用乙酸丁酯-甲酸-水体系, 发现马钱苷、绿原酸 R_f 值分别为 0.088、0.188, 分离度不高; 展开体系中有丙酮、甲醇等极性溶剂可提高 R_f 值, 但加入前者

表 7 各成分含有量测定结果

Tab. 1 Results of content determination of various constituents

取样量/g	绿原酸峰面积	绿原酸含有量/%	平均值/%	马钱苷峰面积	马钱苷含有量/%	平均值/%
0.500	2 991.1	0.662		3 030.5	1.341	
0.501	3 019.5	0.668		3 054.9	1.351	
0.501	3 038.5	0.672	0.662	3 088.9	1.366	1.341
0.500	2 979.4	0.659		2 993.6	1.324	
0.500	2 923.7	0.647		2 988.8	1.322	

时极性过大,分离度不高,拖尾现象严重,展开时间较长,而加入后者时成分分离度良好,最终确定乙酸丁酯-甲醇-甲酸-水(7:1:2:1)作为展开条件。然后,对不同点样量(3、5、8、10 μL)进行考察,发现点样量越大条带越明显,但超过5 μL 时会影响分离效果,故选择5 μL 。接着,对不同条带宽度(2、4、6、8、10 mm)进行考察,发现条带越小,色谱图越窄,不能较好分离,故选择10 mm。再对展开距离、温度、湿度进行考察,发现三者对薄层色谱图均无明显影响。

本实验对 HPLC 色谱条件进行筛选时,考察流动相 甲醇-0.04% 磷酸、乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-0.04% 磷酸,发现乙腈-0.04% 磷酸洗脱时有效成分分离效果最好,再对其进行优化,确定梯度洗脱比例。结果显示,绿原酸、马钱苷保留时间适当,峰形良好,分离度高。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 193.

- [2] 贾献慧, 李 静, 张永清. 忍冬藤化学成分研究进展[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(8): 641-643.
- [3] 张 聪, 殷志琦, 叶文才, 等. 忍冬藤的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3051-3053.
- [4] 赵娜夏, 韩英梅, 付晓丽. 忍冬藤的化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1774-1776.
- [5] 马 荣, 殷志琦, 张 聪, 等. 忍冬藤正丁醇萃取部位的化学成分[J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(4): 333-336.
- [6] 纪瑞锋, 刘素香, 王文倩, 等. 忍冬属植物环烯醚萜类成分研究概况[J]. 中草药, 2012, 43(6): 1226-1232.
- [7] 齐乐辉, 杨连荣, 尹 蕊, 等. 忍冬藤成份分析及在抗菌消炎等方面的研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2010(3): 207.
- [8] 胡若琪, 饶娴宜. 獐牙菜甙对 D-氨基半乳糖性甙损伤保护作用的实验研究[J]. 临床肝胆病杂志, 1988, 4(3): 27.
- [9] 徐英辉, 申 茹, 刘道军. 正交实验法优选忍冬藤中绿原酸和马钱苷的提取工艺研究[J]. 汕头大学医学院学报, 2017, 30(3): 139-140, 155.
- [10] 肖成燕, 朱 毅, 董 志. 水黄皮胶囊剂的制备工艺和质量标准[J]. 中成药, 2016, 38(1): 200-203.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

食品与药品

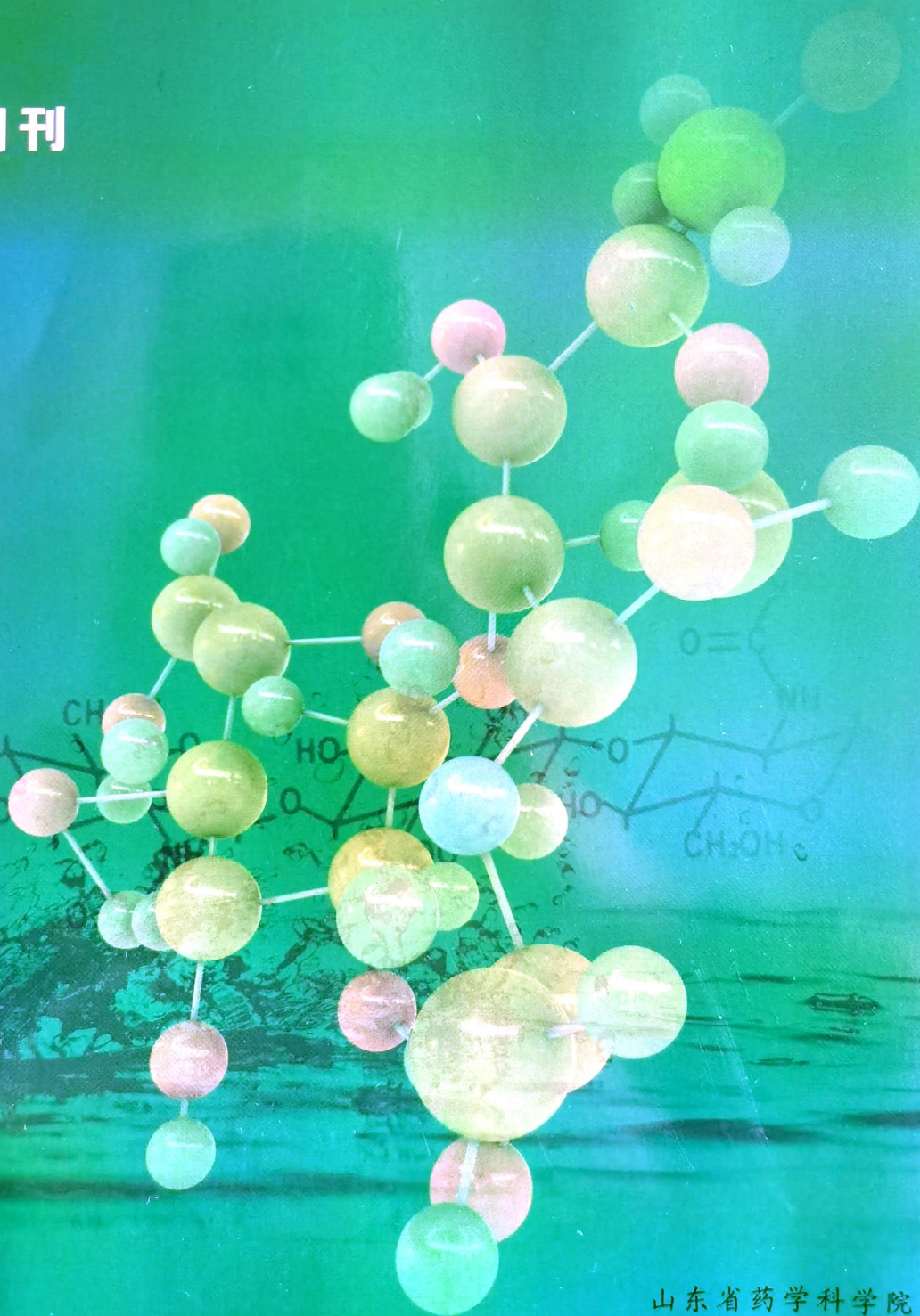
ISSN 1672-979X
CN 37-1438/R

2021.02

2021第23卷02期

S H I P I N Y U Y A O P I N
FOOD AND DRUG

中国科技核心期刊



ISSN 1672-979X



03>

9 771672 979215

山东省药学科学院

枇杷叶胶囊的制备及质量标准研究

莫颖华, 冯白茹, 申 茹, 侯秋苑

(惠州卫生职业技术学院 药学系, 广东 惠州 516025)

摘要: 目的 建立枇杷叶胶囊的制备工艺和质量标准。方法 选用湿法制粒, 以流动性、吸湿性、辅料用量、成型性为考察指标, 优选辅料, 确定枇杷叶胶囊的最佳制备工艺; 采用薄层色谱法(TLC)定性鉴别熊果酸, 高效液相色谱法(HPLC)测定熊果酸和齐墩果酸含量。结果 最终选择比例为1:1的微晶纤维素与淀粉作为辅料进行制粒, 填充1号胶囊; TLC斑点清晰, 阴性无干扰; 建立的含量测定方法中, 熊果酸在浓度为0.096~1.540 mg/ml范围内线性良好($r=0.9999$); 齐墩果酸在浓度为0.036~0.580 mg/ml范围内线性良好($r=0.9998$); 熊果酸和齐墩果酸的平均回收率分别为99.92%, 98.47%, RSD分别为2.32%, 2.44%。结论 枇杷叶胶囊制备工艺合理、可行; 其质量控制方法准确、稳定、可靠。

关键词: 枇杷叶胶囊; 制备工艺; 质量标准

中图分类号: R943 R917 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X(2021)02-0111-06

DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2021.02.004

Study on Preparation Technology and Quality Standard of *Eriobotryae Folium* Capsules

MO Ying-hua, FENG Bai-ru, SHEN Ru, HOU Qiu-yuan

(Department of Pharmacy, Huizhou Health Science Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: **Objective** To establish the preparation technology and quality standard of *Eriobotryae Folium* Capsules. **Methods** The wet granulation method was used, and the flowability, hygroscopicity, amount of excipients and formability were taken as the indexes to optimize the excipients and preparation process. Ursolic acid was identified by TLC, and the contents of ursolic acid and oleanolic acid were determined by HPLC. **Results** Microcrystalline cellulose and starch with a ratio of 1:1 were selected as excipients and 1# capsule shell was selected for granule packing. TLC spots were clear, and the negative test solution was of no interference. Ursolic acid and oleanolic acid showed good linearity in the range of 0.096-1.540 mg/ml ($r=0.9999$) and 0.036-0.580 mg/ml ($r=0.9998$), respectively. The average recoveries of ursolic acid and oleanolic acid were 99.92% and 98.47%, with RSDs of 2.32% and 2.44%, respectively. **Conclusion** The preparation technology of *Eriobotryae Folium* Capsules is reasonable and feasible. The quality control method is accurate, stable and reliable.

Key Words: *Eriobotryae Folium* Capsules; preparation process; quality standard

枇杷叶为蔷薇科植物枇杷的干燥叶, 别名巴叶、芦橘叶, 全年均可采收^[1]。《中药大辞典》记载道: 枇杷叶具有清肺和胃、降气化痰功能, 是治疗肺热咳喘的要药^[2]。因其独特的药用价值, 在现代医学中的应用也非常普遍。枇杷叶中的化学

成分多样, 目前从中分离出来的成分主要有三萜酸类、黄酮类、挥发油、有机酸类、多酚类、皂苷类等^[3]。目前药理研究表明其主要有效成分集中在三萜酸类化合物^[4], 具有良好的镇咳、祛痰和平喘等作用^[5], 三萜酸中以熊果酸和齐墩果酸的含量

收稿日期: 2020-08-26

基金项目: 2018-2019年惠州市科技专项资金项目(项目编号: 2019X0706017)

作者简介: 莫颖华, 硕士, 讲师, 从事中药制剂与分析研究。E-mail: 89575870@qq.com
(C) 2021 China Academic Electronic Journal Service. All rights reserved. http://www.cnki.net

最高^[6], 可作为枇杷叶的质量评价指标^[7]。百姓素有使用枇杷叶水煎液的习惯, 但其存在着不易保存、不便携带等不足之处。中药胶囊剂具有质量稳定、易存储、使用和运输方便等优点。课题组前期已以熊果酸和齐墩果酸为指标, 对枇杷叶进行了提取工艺的优选^[8], 本研究以流动性、吸湿性、成型性^[9]、辅料用量为考察指标, 确定枇杷叶胶囊的最佳制备工艺, 并初步建立简单可行的枇杷叶胶囊质量标准, 为其进一步产业化研发提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

JA3003电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); BPG-9240A鼓风干燥箱(上海百典仪器设备有限公司); BJ-3崩解时限测试仪(郑州南北仪器设备有限公司); PS-40A超声波清洗机(深圳市科洁超声科技有限公司); Agilent 1260高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); Thermo ODS-2 Hypersil色谱柱(赛默飞世尔科技公司); SHZ-D(III)循环水式多用真空泵(郑州博科仪器设备有限公司)。

1.2 试剂与试药

淀粉, 糖粉, 微晶纤维素, 可溶性淀粉(山东聊城华阳医药辅料有限公司); 乳糖, 醋酸铵

(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 甲苯, 丙酮(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 硫酸, 无水乙醇(分析纯, 台山市粤侨试剂塑料有限公司); 乙腈, 甲醇(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 水(蒸馏水, 屈臣氏饮用水有限公司); 熊果酸对照品, 齐墩果酸对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司); 枇杷叶对照药材(上海一研生物科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 辅料的选择

因枇杷叶浓缩液真空干燥后成块状黏连固体, 不利于进一步制剂, 故选择湿法制粒后, 再填充胶囊。

2.1.1 单一辅料的考察 取5份枇杷叶稠膏, 各5 g, 分别加入一定量的淀粉、可溶性淀粉、乳糖、糖粉、微晶纤维素, 混合制粒, 以辅料用量、休止角、吸湿率、成型状态为指标, 考察结果见表1。由表1可见, 淀粉的流动性最好, 乳糖的吸湿性最好。但乳糖和糖粉用量大, 会增大药品的服用量, 故排除乳糖和糖粉; 可溶性淀粉不易混合均匀; 淀粉用量稍大, 颗粒细粉多, 但价格低廉; 微晶纤维素用量少, 颗粒细粉多, 价格较高。综合以上因素, 不宜使用单一辅料进行制剂, 需进一步对配伍辅料进行考察。

表1 单一辅料考察结果

编号	辅料	辅料用量/g	休止角/°	吸湿率/%	成型状态
1	可溶性淀粉	16.09	27.97	7.02	一般, 颗粒有白点
2	乳糖	38.24	34.61	1.61	好, 硬度适中
3	糖粉	32.58	32.55	3.44	好, 硬度适中
4	淀粉	12.77	27.35	12.78	一般, 细粉多, 较松散
5	微晶纤维素	4.09	33.99	8.07	一般, 细粉多

2.1.2 配伍辅料的考察 取5份枇杷叶稠膏, 各5 g, 加入不同比例的微晶纤维素和淀粉进行制粒, 以辅料用量、休止角、吸湿率、成型状态为指标, 考察结果见表2。由表2可见, 各配比辅料制得的颗粒流动性均符合制剂要求, 各比例的吸湿性差别不大, 结合考虑辅料用量和成型性两因素, 确定选用微晶纤维素与淀粉配比为1:1作为辅料制粒, 稠膏与辅料的比例约为1:1。

2.2 胶囊壳的选择

2.2.1 堆密度测定 取颗粒3份, 各约4 g, 精密称定, 填充于10 ml量筒中, 由5 cm高度处落在木板上, 反复振动3次后, 测定颗粒的体积(V), 根据公式 $\rho=m/V$ 计算堆密度, 测得堆密度分别为0.409, 0.411, 0.407 g/ml, 均值为0.409 g/ml。

2.2.2 胶囊壳的装量 按2015年版《中国药典》^[10], 枇杷叶药材的使用量为6~10 g, 药材中熊果酸和齐墩果酸总含量不低于0.70 %折算, 设计以每粒胶囊应含熊果酸和齐墩果酸不得少于5 mg, 每人每天

表2 配伍辅料考察结果

编号	辅料配比 (微晶纤维素:淀粉)	辅料用量/g	休止角/°	吸湿率/%	成型状态
1	1:10	14.5	23.06	6.98	一般, 颗粒较大, 硬度偏软
2	1:9	13.3	24.13	6.79	一般, 颗粒硬度偏软
3	1:5	10.1	27.97	6.00	较好, 颗粒硬度一般
4	1:4	8.7	30.47	6.65	较好, 颗粒硬度一般
5	1:3	7.5	31.48	6.99	好, 颗粒大小、硬度适中
6	1:2	6.9	31.74	7.37	好, 颗粒大小、硬度适中
7	1:1	5.3	31.23	7.97	好, 颗粒大小、硬度适中
8	2:1	6.1	29.99	6.71	一般, 颗粒软
9	3:1	5.0	29.06	7.13	一般, 颗粒软

服用3次, 每次3粒计算, 通过预测试颗粒的含量, 推测出每粒胶囊约装0.2 g。结合堆密度的测定结果, 根据胶囊壳型号和近似容积的关系, 选择1号空心胶囊 (近似容积为0.5 ml) 分装。

2.3 枇杷叶胶囊制备

取枇杷叶690 g, 采用80 %乙醇提取, 液料比为12:1, 回流提取2次, 每次1 h^[8]。80 °C减压浓缩, 得稠膏约138 g, 相对密度约为1.24, 加入辅料[微晶纤维素-淀粉 (1:1)]140 g, 制粒, 干燥, 装入胶囊, 制成1000粒, 即得。

2.4 胶囊剂的检查

根据2015年版《中国药典》对胶囊剂的要求, 对胶囊剂作外观、水分、装量差异、崩解时限检查^[1]。

2.4.1 外观与性状 胶囊外观整洁, 无黏结、变形及破裂现象, 无异味; 内容物为黄褐色颗粒, 味微苦, 颗粒干燥, 松紧适度, 色泽一致。

2.4.2 水分 取3批枇杷叶胶囊内容物各2份, 每份约2 g, 按《中国药典》2015年版相关规定^[1]进行检查, 结果显示均符合要求, 见表3。

2.4.3 装量差异的检查 从3批枇杷叶胶囊中随机抽取10粒, 按《中国药典》2015年版相关规定^[1]进行检查, 结果显示均符合要求, 见表3。

2.4.4 崩解时限的检查 取3批枇杷叶胶囊, 每批6粒, 按《中国药典》2015年版相关规定^[1]进行检查, 结果显示均符合要求, 见表3。

表3 3批枇杷叶胶囊检查结果

批次	水分/%	装量差异/%	崩解时限/min
第一批	6.65	符合规定	6
第二批	6.90	符合规定	6
第三批	6.77	符合规定	7

2.5 定性鉴别

2.5.1 供试品溶液制备 取3批枇杷叶胶囊内容物适量, 研细, 各取1 g, 分别加甲醇20 ml, 超声处理20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇5 ml使溶解, 即得。

2.5.2 对照药材溶液制备 取枇杷叶对照药材1 g, 加甲醇20 ml, 超声处理20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇5 ml使溶解, 即得。

2.5.3 对照品溶液制备 取熊果酸对照品适量, 加甲醇制成每1 ml含熊果酸1 mg的溶液, 即得。

2.5.4 阴性供试品溶液制备 按处方取辅料1 g, 准确称定, 加甲醇20 ml, 超声处理20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇5 ml使溶解, 即得。

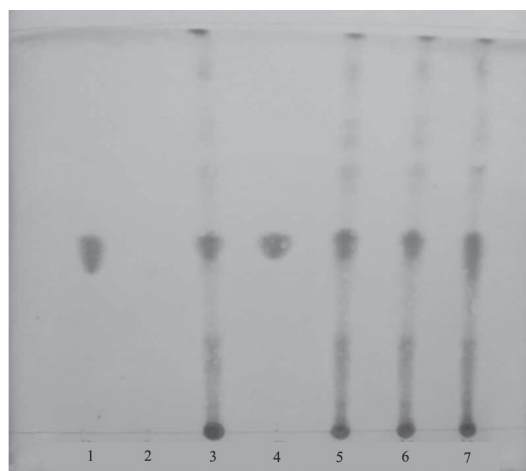
2.5.5 薄层色谱 (TLC) 鉴别 吸取3批供试品溶液、对照药材溶液、对照品溶液、阴性供试品溶液各1 μl, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以甲苯-丙酮 (5:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10 %硫酸乙醇溶液, 105 °C加热至斑点显色清晰。结果见图1。由图1可见, 供试品、对照品、对照药材色谱在相应位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性供试品基本无干扰。

2.6 含量测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.5 %醋酸铵溶液 (73:12:15); 检测波长: 210 nm; 流速: 1.0 ml/min; 理论塔板数按熊果酸峰计算应不低于5000^[8]。

2.6.2 对照品溶液制备

2.6.2.1 熊果酸对照品储备液的制备 取熊果酸对照品适量, 加乙醇, 制成每1 ml含熊果酸3.080 mg的对照品储备液。



1: 熊果酸对照品; 2: 阴性供试品; 3: 枇杷叶对照药材;
4: 熊果酸对照品; 5, 6, 7: 3批供试品

图1 枇杷叶胶囊TLC鉴别

2.6.2.2 齐墩果酸对照品储备液的制备 取果齐墩果酸对照品适量, 加乙醇, 制成每1 ml含齐墩果酸1.160 mg的对照品储备液。

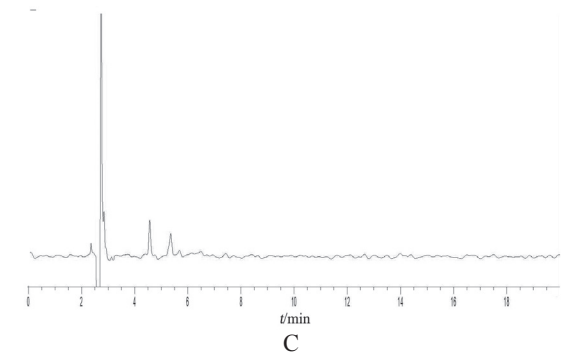
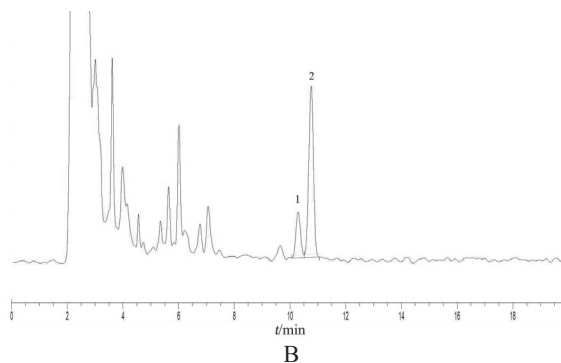
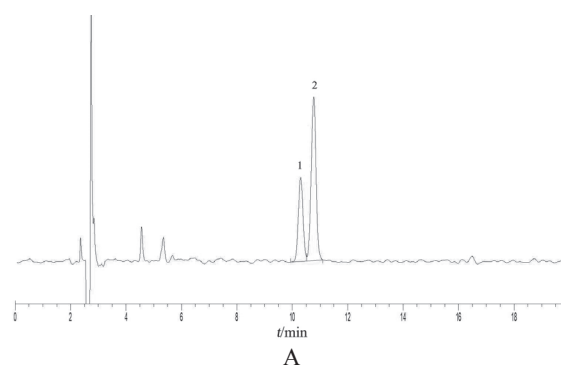
2.6.2.3 混合对照品溶液制备 分别取熊果酸对照品储备液、齐墩果酸对照品储备液适量, 置于10 ml量瓶中, 以乙醇定容, 得到含熊果酸1.540 mg/ml、齐墩果酸0.580 mg/ml的混合对照品溶液。

2.6.3 供试品溶液制备 取枇杷叶胶囊内容物适量, 研细, 取0.2 g, 精密称定, 置于10 ml量瓶中, 加乙醇适量, 超声处理30 min, 放冷, 用乙醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.6.4 空白溶液制备 按处方取辅料1 g, 精密称定, 置于10 ml量瓶中, 加入乙醇适量, 超声处理30 min, 放冷, 用乙醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.6.5 专属性考察 取供试品溶液、混合对照品溶液及空白溶液各10 μ l, 分别注入液相色谱仪, 按2.6.1项色谱条件进样检测, 结果见图2。由图2可见, 齐墩果酸和熊果酸出峰时间适宜, 峰形良好, 空白溶液无干扰。

2.6.6 线性关系考察 分别精密吸取熊果酸对照品储备液和齐墩果酸对照品储备液各0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 ml, 置20 ml量瓶中, 以乙醇定容, 摇匀, 制成系列混合对照品溶液, 取系列混合对照品溶液各10 μ l, 按2.6.1项色谱条件进样分析。以系列混合对照品溶液浓度为横坐标x, 峰面积为纵坐标y, 进



1: 齐墩果酸; 2: 熊果酸

A: 混合对照溶液; B: 供试品溶液; C: 空白溶液

图2 专属性考察HPLC图谱

行回归计算, 得熊果酸回归方程 $y=3048.3x+0.9007$ ($r=0.9999$), 在浓度为0.096~1.540 mg/ml时线性关系良好; 齐墩果酸回归方程 $y=4754.9x-17.269$ ($r=0.9998$), 在浓度为0.036~0.580 mg/ml时线性关系良好。

2.6.7 精密度考察 取供试品溶液各10 μ l, 注入液相色谱仪, 连续进样6次, 按2.6.1项色谱条件进样测定, 熊果酸和齐墩果酸峰面积RSD值均为0.40 %, 表明仪器精密度良好。

2.6.8 稳定性考察 取供试品溶液, 室温下放置, 分别于0, 6, 12, 30, 48, 72 h进样10 μ l, 测得熊果酸和齐墩果酸的色谱峰面积RSD值分别为2.35 %, 2.34 %, 表明供试品溶液在72 h内稳定性良好。

2.6.9 重复性考察 取供试品溶液 6 份, 各 10 μl , 按 2.6.1 项色谱条件进样分析。测得熊果酸和齐墩果酸两者总含量 RSD 为 2.61%, 表明该方法重复性良好。

2.6.10 加样回收率考察 取已知含量的枇杷叶胶囊内容物 9 份, 研细, 称取 0.1 g, 精密称定, 置 10 ml 量瓶中, 分为 3 组, 每组分别加入齐墩果酸对照品溶液 0.4, 0.6, 1.2 ml 和熊果酸 0.8, 1.0, 1.2 ml, 加

入乙醇适量, 超声处理 30 min, 放冷, 用乙醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液各 10 μl , 注入液相色谱仪, 按 2.6.1 项色谱条件测定齐墩果酸峰面积积分值, 计算回收率和 RSD 值。结果见表 4、表 5。

2.6.11 样品中熊果酸和齐墩果酸含量的测定 取 3 批样品, 按 2.6.2 和 2.6.3 项下方法分别配制对照品和供试品溶液, 每批平行测定 3 份, 测定结果见表 6。

表4 齐墩果酸加样回收率试验结果

编号	取样量/g	齐墩果酸			回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
		含量/mg	加入量/mg	测定量/mg			
1	0.1052	0.372	0.232	0.606	101.01		
2	0.1012	0.358	0.232	0.584	97.33		
3	0.1015	0.359	0.232	0.583	96.39		
4	0.1067	0.377	0.464	0.841	99.88		
5	0.1071	0.379	0.464	0.834	98.17	98.47	2.44
6	0.1064	0.376	0.464	0.851	102.24		
7	0.1019	0.360	0.696	1.049	98.88		
8	0.1072	0.379	0.696	1.061	98.03		
9	0.1068	0.378	0.696	1.034	94.27		

表5 熊果酸加样回收率试验结果

编号	取样量/g	熊果酸			回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
		含量/mg	加入量/mg	测定量/mg			
1	0.1052	2.957	2.464	5.336	96.54		
2	0.1012	2.845	2.464	5.226	96.66		
3	0.1015	2.853	2.464	5.276	98.31		
4	0.1067	2.991	3.080	6.120	101.34		
5	0.1071	3.011	3.080	6.175	102.73	99.92	2.32
6	0.1064	2.991	3.080	6.132	101.97		
7	0.1019	2.864	3.696	6.575	100.40		
8	0.1072	3.013	3.696	6.779	101.87		
9	0.1068	3.002	3.696	6.678	99.46		

表6 样品中熊果酸和齐墩果酸含量

批次	熊果酸含量/%	齐墩果酸含量/%	总含量/%	平均值/%	RSD /%
第一批	2.457	0.344	2.801		
	2.462	0.367	2.829		
	2.407	0.322	2.729		
第二批	2.507	0.339	2.846		
	2.411	0.372	2.783	2.811	1.39
	2.446	0.361	2.807		
第三批	2.467	0.356	2.823		
	2.496	0.369	2.865		
	2.467	0.345	2.812		

体外微核试验在一次性使用结扎夹遗传毒性评价中的应用

王鸾鸾, 孙晓霞, 王国伟, 孙令骁, 车国喜, 刘香东, 刘成虎*

(山东省医疗器械产品质量检验中心, 国家药品监督管理局生物材料器械安全性评价重点实验室, 国家药品监督管理局药品包装材料质量控制重点实验室, 山东省医疗器械生物学评价重点实验室, 山东 济南250101)

摘要: 目的 探讨流式细胞术体外微核试验在医疗器械早期遗传毒性筛选和遗传毒性评价中的应用。方法 CHL细胞分为无代谢活化系统短期接触组(-S9/6 h组)、无代谢活化系统长期接触组(-S9/24 h组)和有代谢活化系统短期接触组(+S9/6 h组)。EMA和SYTOX Green双荧光标记, 流式细胞术分析微核率, 并与细胞分裂阻滞法的双核微核结果进行比较。结果 与阴性对照相比, 环磷酰胺、丝裂霉素C可诱导CHL细胞产生畸变, 供试品溶液处理组的CHL细胞无畸变, 流式细胞术与细胞分裂阻滞法结果一致。结论 流式细胞术体外微核法快速、准确, 在医疗器械早期遗传毒性筛选和遗传毒性评价中有良好的应用前景。

关键词: 医疗器械; CHL细胞; 流式细胞术; 体外微核试验

中图分类号: R955 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X(2021)02-0116-05

DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2021.02.005

收稿日期: 2020-08-06

基金项目: 山东省医疗器械产品质量检验中心项目(编号: ZX201804)

作者简介: 王鸾鸾, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 医疗器械生物学评价, E-mail: Luanluan413@163.com

*通讯作者: 刘成虎, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 医疗器械生物学评价, E-mail: Liuchenghu510@163.com

3 讨论

本文通过辅料用量、吸湿性、流动性、成型性对制剂的辅料进行筛选, 最终确定选用微晶纤维素、淀粉, 两者配比为1:1; 通过堆密度实验, 并依据2015年版《中国药典》中枇杷叶的使用量进行折算, 选定1号空心胶囊进行填充。

因枇杷叶胶囊是枇杷叶的单方制剂, 故首选2015年版《中国药典》枇杷叶药材项下的方法对枇杷叶胶囊进行鉴定, 结果显示斑点清晰, 分离效果好。多次试验结果表明方法重现性好。

熊果酸和齐墩果酸是枇杷叶中含量最高的三萜酸类成分, 而三萜酸是枇杷叶抗炎止咳的主要成分, 因此选定熊果酸和齐墩果酸为枇杷叶胶囊的定量指标。采用HPLC法建立了枇杷叶胶囊中熊果酸和齐墩果酸的含量测定方法, 并进行了方法学考察, 考察结果表明该方法专属性好、重现性好、稳定性好、回收率良好。本方法可有效地控制枇杷叶胶囊的质量。

通过上述枇杷叶胶囊的一般检查(外观性状、水分、崩解时限、装量差异)结果、TLC鉴别方法的确定、含量测定方法的建立及3批样的含量验证

为枇杷叶胶囊的质量标准拟定提供了数据支持, 同时为枇杷叶胶囊的质量可控提供了保证。

参考文献

- [1] 魏鑫. 枇杷叶的三萜酸类化学成分研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2014.
- [2] 林玉霖, 林文津, 林力强. 枇杷叶的研究现状与开发前景[J]. 中药材, 2006, 29(10): 1111-1114.
- [3] 柯发敏. 枇杷叶的药理作用研究进展[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(8): 1190-1191.
- [4] 李婷, 林文津, 徐榕青, 等. 枇杷叶的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(5): 11-14, 20.
- [5] 黎雪桂. 枇杷叶主要提取物药理作用研究进展[J]. 中国当代医药, 2012, 19(11): 17-18.
- [6] 李子溪, 江岸. 枇杷叶中三萜酸的提取、分离和检测研究进展[J]. 楚雄师范学院学报, 2013, 28(3): 39-43.
- [7] 陈世斌, 徐社金, 江小蓉, 等. 高效液相色谱法测定枇杷叶中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 今日药学, 2009, 19(2): 46-47.
- [8] 莫颖华, 冯白茹, 刘道军. 枇杷叶中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究[J]. 汕头大学医学院学报, 2017, 30(3): 137-138, 171.
- [9] 姜丽立. 颈椎1号胶囊的制备工艺与质量标准控制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015年版)一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 204.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2015年版)四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 6103/118.



国家期刊奖百种重点期刊 中国科技核心期刊

Cereal & Feed Industry

ISSN 1003-6202
CODEN LSHGEY

粮食与饲料工业

2022 2

主管：中粮工程科技股份有限公司 主办：国粮武汉科学研究设计院有限公司

Creating the Future
SATAKE



佐竹机械(苏州)有限公司

SATAKE MANUFACTURING (SUZHOU) CO., LTD

江苏省苏州市新区金枫路229号

电话：0512-65368225

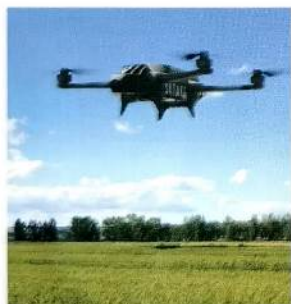
网址：www.satake.cn

邮编：215129

传真：0512-65365922

信箱：satake@satake.cn

田间管理



仓储烘干



碾米加工



功能性食品加工



煮饭系统



检测设备



从田间到餐桌，安全、安心、美味、健康

ISSN 1003-6202



佐竹中国区各事务所联系方式

苏州：0512-66650705, 66650713

广州：020-81633765, 81633707

成都：028-83357073, 83357074

哈尔滨：0451-53630756, 53630759

哈尔滨事务所驻佳木斯办事处：0454-8241340

沈阳：024-31305095

长春：0431-81885476

武汉：027-84696306

西安：029-87578115

佐竹机械公众号



响应面法优化一种中药养胃饼干的配方

莫颖华¹, 冯白茹¹, 莫开权², 毛一中¹, 谢泽彬¹

(1. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516025; 2. 广东旺通食品有限公司, 广东 阳江 529500)

摘要:研究一种中药养胃饼干的最佳配方。以春砂仁、淮山、大枣、茯苓、甘草、陈皮等药食两用药材为加入物制备中药养胃饼干,以感官评分为考察指标,选取药材粉、黄油、白糖和膨松剂加入量4个因素,在单因素试验的基础上进行Box-Behnken响应面法试验,对饼干配方进行优化。结果表明:药粉加入量13.60%、黄油加入量35%、白糖加入量30%、膨松剂加入量3.50%,制得的饼干品质较好。

关键词:中药;养胃;饼干;响应面;配方

中图分类号:TS213.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-6202(2022)02-0040-06

Response surface methodology to optimize the formulation process of a traditional chinese medicine biscuit

MO Ying-hua¹, FENG Bai-ru¹, MO Kai-quan², MAO Yi-zhong¹, XIE Zhe-bin¹

(1. HuiZhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China; 2. Guangdong Wanttone Food Co., Ltd, Yangjiang 529500, China)

ABSTRACT: The optimal formula of a traditional Chinese medicine nourishing stomach biscuit was studied. The traditional Chinese medicine nourishing stomach biscuits were prepared with spring amomum fruit, Chinese yam, Chinese-date, tuckahoe, liquorice, dried tangerine peel and other medicinal and edible medicinal materials as additives. Taking the sensory score as the inspection index, four factors, including medicinal powder, butter, sugar and leavening agent, were selected, and the Box-Behnken response surface method was carried out on the basis of the single factor test to optimize the biscuit formula. The results showed that the biscuits were of good quality with the addition of medicinal powder 13.60%, butter 35%, sugar 30% and leavening agent 3.50%.

KEYWORDS: traditional Chinese medicine; nourishing the stomach; biscuits; response surface methodology; formula

随着我国百姓生活条件的提高,功能性消化不良已成为目前临床上最常见的消化系统疾病之一。食疗对于胃部的保健有着重要的意义,随着人们越来越重视饮食与健康的关系,在选择休闲食品的同时也渴望产品具有保健功能。饼干作为日常的快消食品,将其制成具有养胃作用的产品,更符合消费者的购买意愿。本研究以补气养胃经典名方四君子汤加减为基础,使用常见的药食两用药材(茯苓、甘草、大枣、砂仁、陈皮、淮山)制备具有养胃保健作用的饼干。

饼干中的茯苓,能够利水渗湿,健脾,宁心;甘草,能够补脾益气,清热解毒,祛痰止咳,缓急止痛,调和诸药;砂仁,能够和胃,醒脾,理气安胎;陈皮,能够理气健脾,燥湿化痰;大枣,能够补脾和胃,益气生津,养血安神,缓和药性;山药,能够健脾胃,补肺气,益肾精。六味中药均收载于卫健委最新发布(2018)

版药食同源目录内,均属既是药品又是食品的范畴,可直接作为食品使用。六者配伍使用,其补脾和胃之功效有协同作用。在中药方剂中,茯苓、山药常用作君药或臣药,陈皮、砂仁、大枣常作为佐药,甘草常作使药,故该饼干成分中以茯苓、山药用量较大,陈皮、砂仁、大枣、甘草用量较少。

预试验时,按方剂中茯苓、山药的一般用量5g取样,陈皮、砂仁、大枣、甘草按2015年版《中国药典》的最低使用量来制备饼干,发现饼干味道苦涩,口感差;其苦涩味主要来源于陈皮和砂仁,遂将陈皮、砂仁、大枣、甘草按药典最低使用量的约三分之二进行制备,产品口感较好,气较香;并通过高效液相色谱法测定了两者中橙皮苷、甘草苷、甘草酸铵的含量,发现两者含量相差并不大,故以茯苓5g、山药5g、陈皮2g、砂仁2g、大枣4g、甘草2g取样制备。

收稿日期:2021-08-10;修回日期:2022-01-23

作者简介:莫颖华(1982-),硕士,主要研究方向为中药制剂与质量分析。

1 材料与方法

1.1 材料

低筋小麦粉,深圳市粮食集团有限公司;无盐黄油,新西兰恒天然集团;白砂糖,太古糖业有限公司;膨松剂,安琪酵母股份有限公司;砂仁、陈皮、淮山、茯苓、甘草、大枣,市售。

1.2 仪器与设备

LT1002CT 电子天平,常熟市天量仪器有限公司;JBQ-B50E1 料理机,小熊电器股份有限公司;C21-QH2115 电磁炉,美的集团;DCK218 厨师机,广东顺德地一日用电气科技有限公司;CRTF32K 烤箱,佛山市伟仕达电器实业有限公司。

1.3 方法

1.3.1 中药养胃饼干加工工艺流程

中药养胃饼干加工工艺流程见图 1。

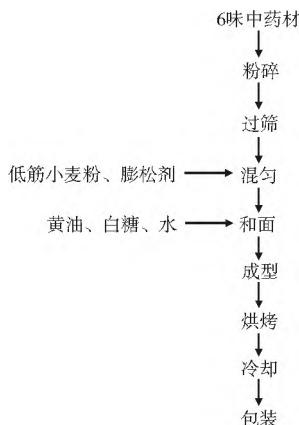


图 1 中药养胃饼干加工工艺流程图

1.3.2 中药养胃饼干操作要求

1.3.2.1 材料的预处理

将砂仁、陈皮、淮山、茯苓、甘草、大枣 6 味中药材于 60℃ 低温烘干,粉碎,过 65 目筛;由于酥性饼干在制备过程中所需的水量较小,白砂糖不易溶解,故将白砂糖粉碎成白糖粉^[1];将黄油水浴加热至软化。

1.3.2.2 面团的调制

将称量好的药材粉末、低筋小麦粉、膨松剂混合均匀,再加溶化的白糖粉和软化的黄油,搅拌均匀,和面成团。

1.3.2.3 成型

使用擀面杖,将面团擀至 2~3 mm 厚,印模成型。

1.3.2.3 烘焙

烤箱预热 20 min,上火温度 170℃,下火温度 180℃,烘烤 15 min。

1.3.3 单因素试验

1.3.3.1 药粉加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

以小麦粉质量为基准,在黄油加入量 33%、白糖加入量 25%、膨松剂加入量 3.4% 的条件下,药粉加入量分别为 10%、13%、16%、19%、21% 进行单因素试验。以感官评分为指标,研究药粉对饼干感官评分的影响。

1.3.3.2 黄油加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

以小麦粉质量为基准,在药粉加入量 13%、白糖加入 25%、膨松剂加入量 3.4% 的条件下,黄油加入量分别为 20%、26%、33%、40%、47% 进行单因素试验。以感官评分为指标,研究黄油对饼干感官评分的影响。

1.3.3.3 白糖加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

以小麦粉质量为基准,在药粉加入量 13%、黄油加入 33%、膨松剂加入量 3.4% 的条件下,白糖加入量分别为 21%、25%、29%、33%、37% 进行单因素试验。以感官评分为指标,研究白糖对饼干感官评分的影响。

1.3.3.4 膨松剂加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

以小麦粉质量为基准,在药粉加入量 13%、黄油加入 33%、白糖加入量 29% 的条件下,膨松剂加入量分别为 1.4%、2.4%、3.4%、4.4%、5.4% 进行单因素试验。以感官评分为指标,研究膨松剂对饼干感官评分的影响。

1.3.4 响应面法试验

在单因素试验的基础上,以药粉加入量(A)、黄油加入量(B)、白糖加入量(C)、膨松剂加入量(D)作为因素,以饼干感官评分为考察指标,利用响应面法进行试验。

表 1 响应面法因素与水平

水平	因素			
	A	B	C	D
-1	10%	26%	25%	2.4%
0	13%	33%	29%	3.4%
1	16%	40%	33%	4.4%

1.3.5 感官评分标准

感官评分由饼干的外形、色泽、口感与香味、组织结构 4 个项目组成,其中外形占 20 分、色泽占 25 分、口感与香味占 30 分、组织结构占 25 分。由 10

位评定者对饼干进行评价,并计算平均值。各项感官评分指标^[2]见表2。

表2 感官评分标准

项目	评分标准	评分
外形 (20分)	外形完整,厚薄均匀,无缺角或变形	16~20分
	外形基本完整,厚薄不均,轻微缺角或变形	11~15分
	外形不完整,厚薄不均,明显缺角或变形	5~10分
色泽 (25分)	色泽均匀,无烤焦	21~25分
	色泽较均匀,有轻微烤焦	16~20分
	色泽不均匀,有明显烤焦	10~15分
口感与香味 (30分)	口感酥脆,不黏牙,甜味适中,有适中的砂仁香味,无异味	21~30分
	口感稍硬,不黏牙,甜味适中,砂仁香味较淡或较浓,稍有异味	16~20分
	口感稍硬,较为黏牙,甜味不明显,无砂仁香味或香味浓,有异味	10~15分
组织结构 (25分)	组织细腻,饼干内部有细密而均匀的小气孔,较易折断,无杂质	21~25分
	组织较细腻,饼干内部气孔略均匀,较易折断,无明显杂质	16~20分
	组织分散,饼干内部气孔不均匀,易折断,有杂质	10~15分

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 药粉加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

我们研究的中药养胃饼干不仅追求口感上的酥脆,还注重药材、尤其是砂仁的香味^[3]。药粉加入量对中药养胃饼干感官评分的影响见图2。

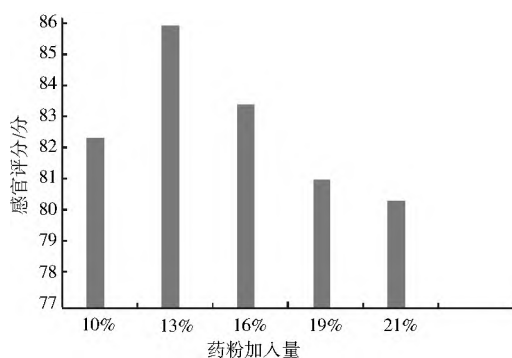


图2 药粉加入量对感官评分的影响

由图2可知,当药粉加入量为13%时,所制得的饼干感官评分最高。当药粉加入量低于13%时,砂仁的香味太淡,不能突出该饼干的产品特点;当药粉加入量高于13%时,饼干的砂仁味过浓,甚至出现苦味,影响饼干的口感和风味。因此,药粉加入量为13%时最为适合。

2.1.2 黄油加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

黄油可影响酥性饼干的组织结构和口感,黄油

加入量对中药养胃饼干感官评分的影响见图3。

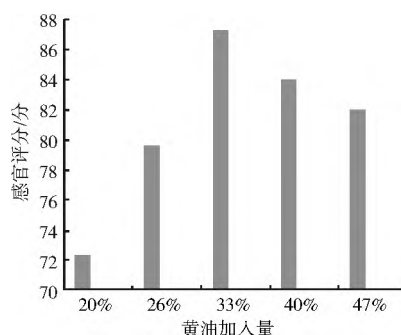


图3 黄油加入量对感官评分的影响

由图3可知,在黄油加入量为20%~33%时,随着黄油量的增加,饼干口感和酥脆度提高,感官评分随之升高;当黄油加入量达到33%时,饼干感官评分最高。继续增大黄油量,面团变软,饼干成型相对困难,产品组织结构疏松,饼干感官评分降低^[4]。因此,黄油加入量在33%时最适合。

2.1.3 白糖加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

糖在酥性饼干中不仅能起到保证产品甜度的作用,还能通过焦糖化反应影响饼干的外观,通过反水化作用防止面团起筋而保证产品酥松的口感^[1]。白糖加入量对感官评分的影响见图4。

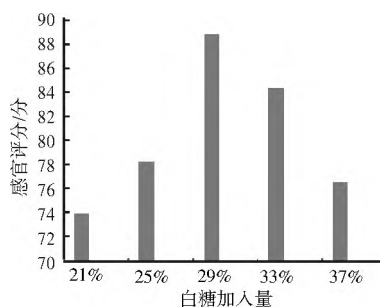


图4 白糖加入量对感官评分的影响

由图4可知,白糖加入量为21%~29%时,饼干色泽与口感越来越好,感官评分也随之升高;当白糖加入量为29%时,感官评分最高。当加入量大于29%时,由于含糖量较高,易产生甜腻的口感,使感官评分下降。

2.1.4 膨松剂加入量对中药养胃饼干感官评分的影响

膨松剂在饼干烘焙过程中,因受热分解产生气体,使面坯起发而形成致密多孔组织,从而饼干具有膨松、酥脆的口感。当加入量过少时,面坯起发不足,使饼质发硬、口感较差;而加入过量又会使饼干成型不好,内部发泡不均匀、孔洞过大,松而不脆,且碱味重,影响口感^[5]。膨松剂加入量对感官评分的影响见图5。

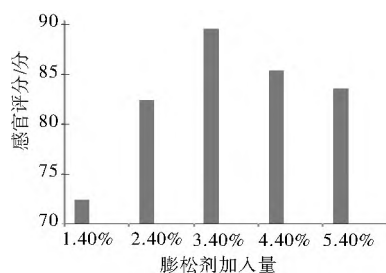


图5 膨松剂加入量对感官评分的影响

从图5可知,膨松剂加入量为3.4%时为最为合适。

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面设计方案及结果

选择药粉加入量(A)、黄油加入量(B)、白糖加入量(C)、膨松剂加入量(D)为因素,感官评分为响应值,进行响应面方案设计。结果见表3。

表3 响应面设计方案及结果

序号	A	B	C	D	感官评分/分
1	0	0	0	0	92.1
2	-1	0	0	-1	78.0
3	1	-1	0	1	82.2
4	0	0	1	1	82.5
5	1	1	0	0	84.3
6	1	0	1	0	88.1
7	0	1	1	0	90.5
8	0	0	-1	-1	79.3
9	0	0	-1	1	80.5
10	-1	0	-1	0	79.0
11	0	-1	-1	0	78.5
12	0	0	0	0	90.4
13	0	1	0	-1	82.0
14	0	0	1	-1	82.5
15	0	1	0	1	85.4
16	-1	0	1	0	80.0
17	0	-1	1	0	84.4
18	0	0	0	0	91.8
19	1	0	0	-1	81.5
20	-1	1	0	0	83.2
21	1	0	-1	0	84.8
22	0	0	0	0	90.0
23	-1	-1	0	0	80.0
24	0	-1	0	1	83.2
25	0	-1	0	-1	78.0
26	-1	0	0	1	82.2
27	1	0	0	1	84.0
28	0	0	0	0	91.6
29	0	1	-1	0	84.9

2.2.2 响应面结果分析

利用 Design-Expert 软件对表3中的试验数据进行分析得到响应面方差分析结果,见表4。建立多元回归模型,回归方程:

$$\begin{aligned} \text{评分} = & -377.48479 + 13.54163A + \\ & 5.43057B + 13.47381C + \\ & 46.00676D - 0.013095AB + \\ & 0.047917AC - 0.14167AD - \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & 2.67857E-003BC - 0.064286BD - \\ & 0.075000CD - 0.51509A^2 - \\ & 0.070884B^2 - 0.22958C^2 - \\ & 5.66083D^2 \end{aligned}$$

表4 响应面方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
数项模型	492.13	14	35.15	10.29	<0.0001	极显著
A	42.19	1	42.19	12.35	0.0034	显著
B	48	1	48	14.05	0.0022	显著
C	36.75	1	36.75	10.76	0.0055	显著
D	22.69	1	22.69	6.64	0.0219	显著
AB	0.3	1	0.3	0.089	0.7704	
AC	1.32	1	1.32	0.39	0.5438	
AD	0.72	1	0.72	0.21	0.6526	
BC	0.023	1	0.023	6.59E-030	0.9365	
BD	0.81	1	0.81	0.24	0.6338	
CD	0.36	1	0.36	0.11	0.7502	
A ²	139.4	1	139.4	40.82	<0.0001	极显著
B ²	78.25	1	78.25	22.91	0.0003	显著
C ²	87.52	1	87.52	25.63	0.0002	显著
D ²	207.86	1	207.86	60.86	<0.0001	极显著
残差	47.81	14	3.42			
失拟项	44.41	10	4.44	5.21	0.0628	不显著
纯误差	3.41	4	0.85			
总误差	539.95	28				

由表4可看出,此模型的差异极显著,失拟项差异不显著,说明该模型与实际结果的拟合度较高,试验方法可靠,具有可操作性^[6]。通过分析F值大小^[7],可判断各因素对饼干感官评分影响的重要性,其对饼干品质影响的次序为:B(黄油加入量)>A(药粉加入量)>C(白糖加入量)>D(膨松剂加入量)。

2.2.3 因素间的交互作用

利用 Design-Expert 软件进行分析,得到响应面曲面图,如图6~11所示。曲面的陡峭程度可以反映出加入量的影响程度,曲面越陡说明加入量变化的影响越大;而等高线则反映了因素间交互作用的大小,椭圆形表明交互作用显著。由图6~图11可见,各因素间等高线均呈椭圆形,说明各因素间的影响较大,交互作用较强^[8]。

2.2.4 最佳配方与模型验证

在上述响应面模型分析的基础上,利用 Design-Expert 软件进行优化,得到中药养胃饼干的最佳配方为:药粉加入量13.61%、黄油加入量34.90%、白糖加入量29.99%、膨松剂加入量3.50%。对饼干的感官评分预测值为91.9。基于实际操作方便性考虑,确定最佳配方为:药粉加入量13.60%、黄油加入量35%、白糖加入量30%、膨松剂加入量

3.50%。以此配方进行验证性试验,实测饼干的感官评分均值为 91.5,与理论预测值接近,说明模型的

拟合程度较好,具有一定的实际意义。

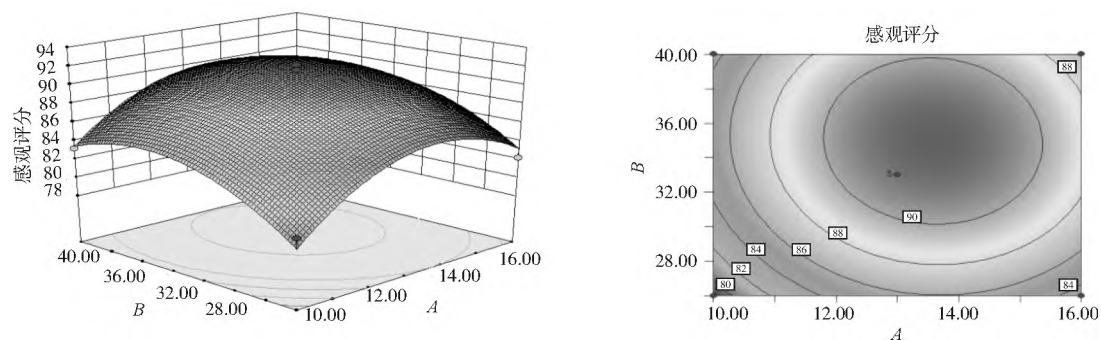


图 6 药粉与黄油对感官评分的影响

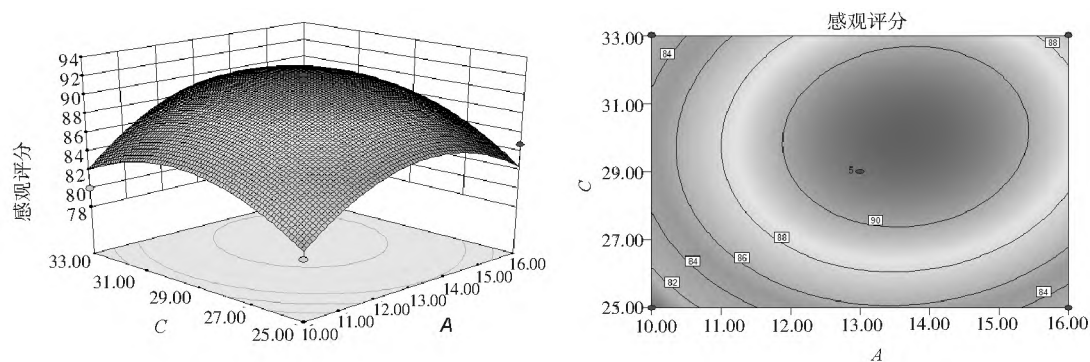


图 7 药粉与白糖对感官评分的影响

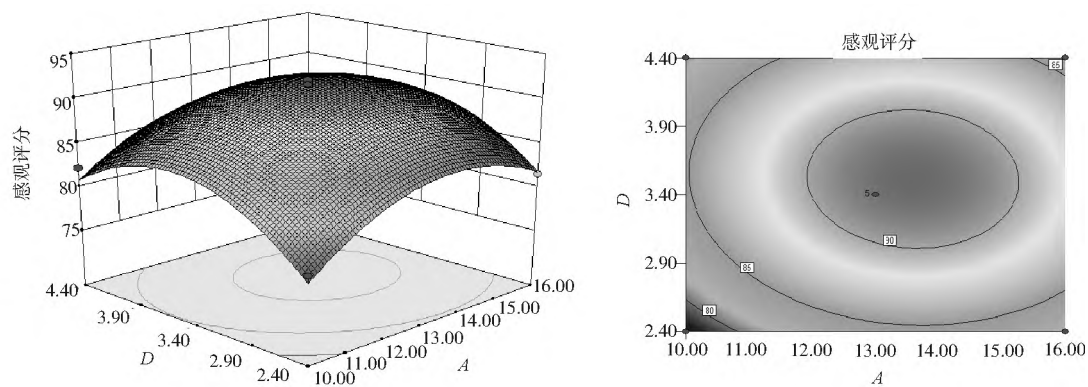


图 8 药粉与膨松剂对感官评分的影响

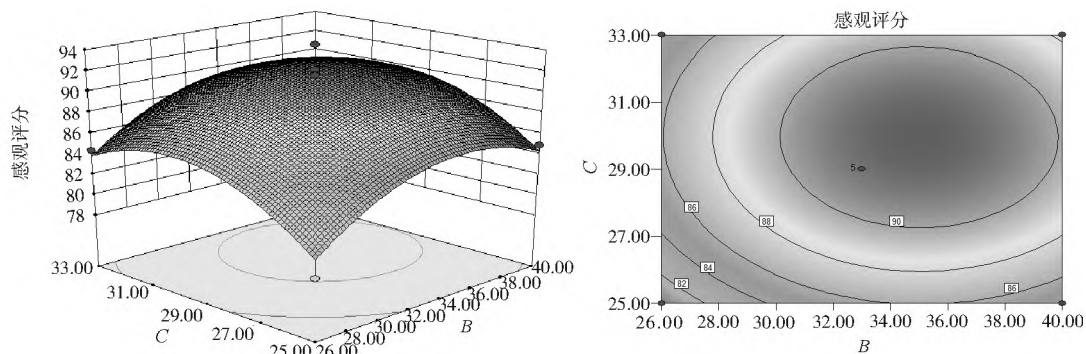


图 9 黄油与白糖对感官评分的影响

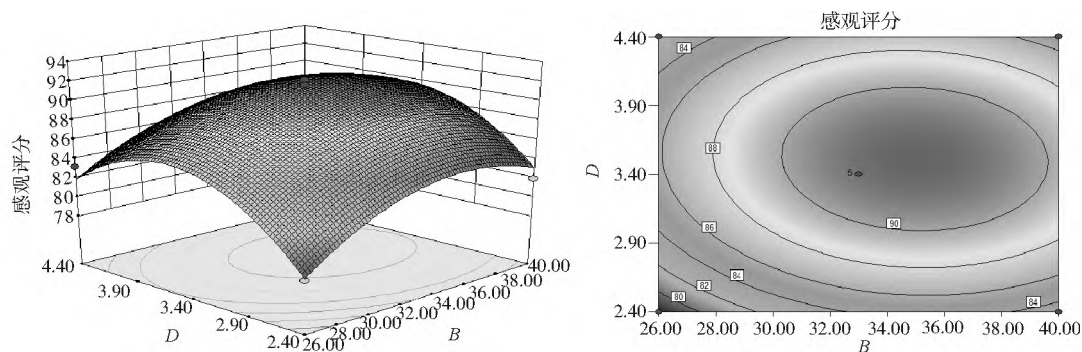


图 10 黄油与膨松剂对感官评分的影响

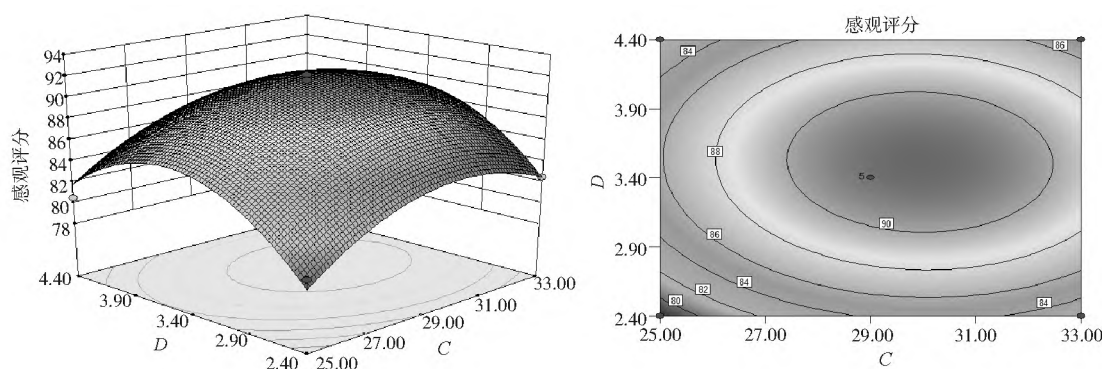


图 11 白糖与膨松剂对感官评分的影响

3 结论

以单因素试验结果为基础,结合响应面分析确定最佳原料配方:药粉加入量 13.60%、黄油加入量 35%、白糖加入量 30%、膨松剂加入量 3.50%。在此条件下制得的饼干组织细腻、色泽均匀、口感酥脆、香味浓郁、具有保健功能,符合现代消费者及市场的需求。

[参考文献]

- [1] 李伟民,李鹏鹏,张莹丽,等. 莲藕酥性饼干加工工艺的研究[J]. 食品研究与开发,2020,41(16):156-160.
- [2] 李鹏飞,葛迎港,任秀蓉,等. 决明子多糖酥性饼干的研制[J]. 农产品加工,2020(4):1-5.

- [3] 冯彩丽,郭 婷,段振华,等. 艾叶饼干加工工艺研究[J]. 食品研究与开发,2020,2019,40(17):110-115.
- [4] 李 娜,何 珊,叶玉伟,等. 石榴爆珠苏打饼干的研制[J]. 安徽农学通报,2020,26(14):128-132.
- [5] 王 梁,缪 铭. 苦荞麦保健饼干的工艺研究[J]. 食品科技,2006,1(10):31-33.
- [6] 李 扬,陈雅妮. 响应面试验优化羊奶果代餐饼干的加工工艺[J]. 食品工业,2020,41(6):185-188.
- [7] 王 琳,熊双丽,李安林. 响应面主成分分析法优化山药韧性饼干配方[J]. 食品工业技术,2020,41(13):212-218.
- [8] 王艳萍,任宇梅. 响应面法优化芦竹苏打饼干的研制[J]. 食品研究与开发,2020,41(13):133-139.

(责任编辑:梅 竹)

(上接第 39 页)

[参考文献]

- [1] LI M, LUO L J, ZHU K X, et al. Effect of vacuum mixing on the quality characteristics of fresh noodles[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(4): 525-531.
- [2] 周占富. 面条品质改良剂的种类和作用探析[J]. 江苏调味副食品, 2016(1): 3-6.
- [3] 刘 强,侯业茂,张 虎,等. 中国传统主食面条的研究概述

[J]. 现代面粉工业, 2013, 27(3): 31-33.

- [4] 李 聪,陆启玉. 面条制作过程中面带熟化工艺研究[J]. 农业机械, 2011(16): 99-103.
- [5] 李向阳,董海洲,刁恩杰,等. 改性花生蛋白粉对面团特性及挂面品质的影响[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(11): 6-9.
- [6] 陈什康,单长松,陈志刚. 营养紫菜生鲜面的研制[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(10): 27-30.

(责任编辑:梅 竹)

● CAB Abstract ● Agrindex ● Rice Literature Update ● 中国学术期刊综合评价数据库
 ● 中文科技期刊数据库 ● 中国核心期刊(遴选)数据库 ● 中国农业科技文献数据库 收录本刊
 ● 中国科技核心期刊 ● 中国农业核心期刊

湖北农业科学

HUBEI AGRICULTURAL SCIENCES



★ 全国优秀科技期刊一等奖
 ★ 国家期刊奖百种重点期刊

湖北省农业科学院
 华中农业大学 主办
 长江大学

ISSN 0439-8114



9 770439 811188



9

2022

总第61卷 第9期
 Vol.61 No.9

目次

育种·栽培

丰产稳产宜机收玉米新品种桂单 902 的选育	谢小东,周海宇,周锦国,等(5)
鄂东稻田油菜免耕飞播技术模式的产量及效益评价	陈玲英,任涛,周志华,等(8)

资源·环境

有机无机复合肥对水稻施用效果及适用量试验初报	邵远刚,刘红菊,孙勇,等(13)
基于 INVEST 模型的资水流域产水量及其对环境响应的评估分析	周懿琳,毛德华(16)
基于水足迹的漯河市农业水资源空间特征分析	李志芳,沈新磊,王锐(24)
江西省近 60 年极端高温变化特征及其对水稻的影响	胡菊芳,占龙飞,谢远玉(27)
基于文献计量学的作物硒形态研究知识图谱分析	史久长,田嘉树,张力,等(33)
三峡库区一级支流渠溪河河口消落带优势植物生态位特征	张东升,段晨辉,郝艳龙,等(41)
津巴布韦近 20 年植被覆盖度时空动态变化特征研究	董明霞,王立辉,王坎,等(48)
柴达木盆地枸杞种植气候适宜度等级及区划研究	何生录,王发科,李海凤,等(56)
基于预警视角的分宜县资源环境承载力评价研究	高晶晶(62)
基于用地竞争的潜在土地利用冲突权衡分区研究	
——以山西省晋中市为例	韩苗,王瑾,赵辰,等(66)
咸宁市生态旅游气候适宜性分析	邢丽田,吴栋桥,朱云柏,等(74)

植物保护

不同杀菌剂对小麦赤霉病的室内毒力测定及配比试验	郑研,王理想,吴怡燃,等(81)
西沙永兴岛果蔬实蝇种类及发生动态研究	蔡波,孟瑞,黄振,等(85)

园艺·特产

云南鼠尾草不同部位扦插繁殖研究	陈光明,杨艳娟,梁杏梅,等(88)
极早熟杏新品系 SN14-6-17E 新梢与果实生长发育动态研究	刘志琨,王端,景晨娟,等(92)
三种观枝干植物的抗寒性评价	姚迎丽,李春友,彭伟秀,等(95)
广东中烟云南原料基地烟叶质量动态研究	李宙文,柯晓婷,王初亮,等(100)
蕲艾产业发展现状研究	王明辉,夏振洲,陈盛虎,等(105)
复合生态系统理论视角下旅游型乡村景观规划模式探究	屈昂,魏冰青,屈勇,等(109)

检测分析

HPLC 法同时测定凉粉草中四种成分的含量	莫颖华,冯白茹,毛一中(114)
ICP-MS 法测定软胶囊壳中二十七种无机元素的含量	谭建宁,覃洁萍(118)
不同地区中药材黄精中二氧化硫含量测定及其安全性评价	蒋智林,周圆,徐雨生,等(123)
斑地锦及近缘种的 HPLC 指纹图谱鉴别研究	侯静,黎理,景晓彤,等(127)

莫颖华,冯白茹,毛一中. HPLC 法同时测定凉粉草中四种成分的含量[J]. 湖北农业科学, 2022, 61(9): 114-117.

HPLC 法同时测定凉粉草中四种成分的含量

莫颖华,冯白茹,毛一中

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516025)

摘要:采用 HPLC 法,用乙腈:0.1% 甲酸进行梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 1.0 mL/min,进样量 10 μ L,同时测定凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)中的咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸 4 种成分含量,并进行系统适用性考察。结果显示,咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷、迷迭香酸分别在 34.297~171.480 μ g/mL、11.172~55.860 μ g/mL、16.386~81.928 μ g/mL、13.394~66.970 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好, r 分别为 0.999 9、1.000 0、1.000 0、0.999 7;精密度、重复性、稳定性试验结果的 RSD 均小于 3.00%;9 次试验的 4 种成分相对应的平均回收率均大于 95.00%, RSD 均小于 3.00%。

关键词:HPLC;凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.);含量测定

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:0439-8114(2022)09-0114-04

DOI:10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2022.09.022

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Simultaneous determination of the contents of four components in *Mesona chinensis* Benth. by HPLC

MO Ying-hua, FENG Bai-ru, MAO Yi-zhong

(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, Guangdong, China)

Abstract: HPLC method was used with acetonitrile:0.1% formic acid as gradient elution. The detection wavelength was 254 nm, the flow rate was 1.0 mL/min, and the injection volume was 10 μ L. At the same time, the contents of four components in *Mesona chinensis* Benth., including caffeic acid, isoquercitrin, astragaloside and rosmarinic acid were determined, and the applicability of the system was investigated. The results showed that caffeic acid, isoquercitrin, astragaloside and rosmarinic acid had a good linear relationships in the concentration ranges of 34.297~171.480 μ g/mL, 11.172~55.860 μ g/mL, 16.386~81.928 μ g/mL and 13.394~66.970 μ g/mL, respectively. The correlation coefficients were 0.999 9, 1.000 0, 1.000 0 and 0.999 7, respectively. RSD of precision, repeatability and stability test results were all less than 3.00%. The average recoveries of the four components in the nine tests were all greater than 95.00% and RSD was less than 3.00%.

Key words: HPLC; *Mesona chinensis* Benth.; content determination

凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)别名仙人草、仙人冻、仙草,为唇形科植物凉粉草的全草,产于广东、广西西部、浙江、江西和台湾等地,资源丰富^[1,2]。凉粉草的活性成分有多糖、黄酮、酚类及三萜类等,具有抗氧化、抗炎、调节免疫、降血糖、抗菌等生物活性,具有广阔的临床应用前景^[3]。市场上凉粉草主要用于制备成消暑用的植物饮料和食品、具有降糖降脂等功能的口服制剂、新型凝冻剂及作为天然食

用色素提取原料等^[4]。目前对凉粉草的质量研究主要集中在三萜类成分熊果酸、齐墩果酸和有机酸成分苯甲酸的含量测定^[5-9],而对凉粉草中的酚酸类成分研究较少。为了进一步完善凉粉草的质量控制指标,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定凉粉草中咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷及迷迭香酸的含量,目的在于更全面地控制凉粉草化学成分的含量,为凉粉草的质量可控制性等基础研究提供依据。

收稿日期:2021-10-28

基金项目:广东省普通高校特色创新类项目(2018GKTSCX097)

作者简介:莫颖华(1982-),女,广东阳江人,讲师,硕士,主要从事中药及其制剂的质量分析研究,(电话)18319923684(电子信箱)

89575870@qq.com。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 凉粉草购自市场;咖啡酸对照品(99.7%)、迷迭香酸对照品(90.5%),中国食品药品检定研究院;异槲皮苷对照品(含量 $\geq 98\%$)、紫云英苷对照品(含量 $\geq 98\%$),北京世纪奥科生物技术有限公司;甲醇(色谱纯),天津市四友精细化学有限公司;无水乙醇(分析纯),天津市大茂化学试剂厂;乙腈(色谱纯),汕头市西陇科学股份有限公司;甲酸(分析纯),汕头市西陇化工股份有限公司。

1.1.2 仪器 LC-20AR型岛津高效液相色谱仪(日本岛津有限公司),Thermo ODS-2型色谱柱[赛默飞科技(中国)有限公司],Sartorius BSA124S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],PS-40A型超声波清洗机(深圳市科洁超声科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 Thermo ODS-2 HYPERSIL 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250.0 mm, 5 μ m),流动相采用乙腈:0.1%甲酸不同梯度洗脱(表1);检测波长:254 nm;柱温:室温;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μ L。混合对照品溶液及凉粉草样品溶液的HPLC色谱见图1。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	0.1%甲酸/%
0.01	5	95
10.00	18	82
25.00	22	78
35.00	24	76
53.00	33	67
60.00	45	55
61.00	5	95
66.00	5	95

1.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷、迷迭香酸适量,加甲醇溶解制成每毫升分别含有1.715 0、0.558 6、8.193 0、0.669 7 mg的混合对照品溶液。

1.2.3 供试品溶液的制备 取凉粉草粗粉1.5 g,置于100 mL具塞三角瓶,精密加入50%乙醇25 mL,超声提取30 min,放冷至室温,取上清液滤过0.45 μ m滤膜,即得供试品溶液。

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察

分别精密取混合对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL置于50 mL容量瓶中,加入50%乙醇并定容至刻度,取10 μ L,注入高效液相色谱仪进行定量分

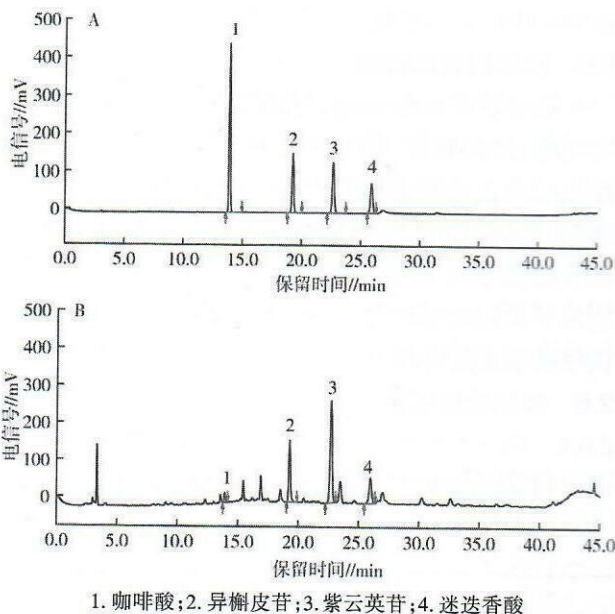


图1 混合对照品溶液(A)及凉粉草样品溶液(B)的HPLC色谱

析。以对照品溶液的浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并进行线性回归分析,结果见表2。结果显示,咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷、迷迭香酸分别在34.297~171.480 μ g/mL、11.172~55.860 μ g/mL、16.386~81.928 μ g/mL、13.394~66.970 μ g/mL范围内线性良好。

表2 凉粉草中4种成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ μ g/mL
咖啡酸	$y = 19\ 598x + 18\ 894.0$	0.999 9	34.297~171.480
异槲皮苷	$y = 26\ 917x - 2\ 487.7$	1.000 0	11.172~55.860
紫云英苷	$y = 19\ 359x - 10\ 802.0$	1.000 0	16.386~81.928
迷迭香酸	$y = 15\ 326x - 2\ 116.6$	0.999 7	13.394~66.970

2.2 仪器精密度试验

取混合对照品溶液适量,按“1.2.1”色谱条件连续进样测定6次,计算得到咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸面积的RSD分别为0.068%、0.110%、0.200%、0.110%,表明仪器精密度良好。

2.3 重复性试验

取同一批凉粉草供试品粉末6份,按照“1.2.3”方法制备供试品溶液,进样测定,计算得到咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷、迷迭香酸面积的RSD分别为1.43%、1.38%、1.41%、0.74%,表明该方法重复性良好。

2.4 稳定性试验

取凉粉草供试品溶液,分别于0、2、4、8、12、24 h,按“1.2.1”色谱条件连续进样测定6次,计算得到咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷、迷迭香酸面积的RSD分别为0.10%、0.75%、0.97%、1.11%,表明供试品溶液

在 24 h 内稳定性良好。

2.5 加标回收率试验

取凉粉草粗粉 1.0 g, 分别加入高、中、低浓度的咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸对照品, 再加入 50% 乙醇使总体积为 25 mL, 按照“1.2.3”方法制备供试品溶液, 进样测定(表 3)。结果表明, 9 次试验的咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸对应的平均回收率均大于 95.00%, *RSD* 均小于 3.00%, 说明提取工艺合理可行。

2.6 样品含量测定

2.6.1 同一产地样品成分的含量测定 取同一产地同一批次的凉粉草粗粉 1.0 g 各 6 份, 按“1.2.3”方法

制备供试品溶液, 进样测定(表 4), 6 份样品所测得咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸 4 种成分含量的 *RSD* 均小于 2%, 说明该方法稳定性好。

2.6.2 不同产地样品成分的含量测定 取 7 个不同产地的凉粉草粗粉各 1.0 g, 按“1.2.3”方法制备供试品溶液, 进样测定(表 5), 所测得咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸 4 种成分含量平均值略有差异。

3 小结与讨论

3.1 提取方法的筛选

对凉粉草中的咖啡酸、异槲皮苷、紫云英苷和迷迭香酸的提取方法进行了考察。以各成分的含量为

表 3 凉粉草中 4 种成分的加标回收率结果

成分	取样量/g	理论含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
咖啡酸	0.517 6	0.095 18	0.085 74	0.180 7	99.69	101.50	2.95
	0.515 4	0.094 78	0.085 74	0.184 1	104.14		
	0.510 7	0.093 92	0.085 74	0.182 3	103.09		
	0.509 4	0.093 68	0.102 89	0.203 3	106.57		
	0.518 6	0.095 37	0.102 89	0.196 1	97.93		
	0.511 2	0.094 01	0.102 89	0.201 0	103.99		
	0.517 5	0.095 17	0.120 04	0.214 3	99.23		
	0.517 1	0.095 09	0.120 04	0.214 3	99.31		
	0.508 8	0.093 57	0.120 04	0.212 9	99.39		
异槲皮苷	0.517 6	0.722 80	0.558 60	1.310 4	105.19	103.70	2.85
	0.515 4	0.719 70	0.558 60	1.277 9	99.93		
	0.510 7	0.713 10	0.558 60	1.284 1	102.21		
	0.509 4	0.711 30	0.670 30	1.422 6	106.10		
	0.518 6	0.724 20	0.670 30	1.436 1	106.20		
	0.511 2	0.713 80	0.670 30	1.428 6	106.64		
	0.517 5	0.722 60	0.782 00	1.552 5	106.12		
	0.517 1	0.722 10	0.782 00	1.495 6	98.91		
	0.508 8	0.710 50	0.782 00	1.511 1	102.37		
紫云英苷	0.517 6	2.022 20	1.474 70	3.516 2	101.30	100.20	2.12
	0.515 4	2.013 60	1.474 70	3.543 8	103.76		
	0.510 7	1.995 30	1.474 70	3.474 9	100.33		
	0.509 4	1.990 20	1.638 60	3.628 1	99.96		
	0.518 6	2.026 20	1.638 60	3.636 8	98.30		
	0.511 2	1.997 20	1.638 60	3.642 2	100.39		
	0.517 5	2.021 90	1.802 40	3.862 9	102.14		
	0.517 1	2.020 30	1.802 40	3.760 2	96.53		
	0.508 8	1.987 90	1.802 40	3.772 7	99.03		
迷迭香酸	0.517 6	0.735 10	0.669 70	1.392 8	98.21	101.90	2.33
	0.515 4	0.732 00	0.669 70	1.427 9	103.91		
	0.510 7	0.725 30	0.669 70	1.391 6	99.48		
	0.509 4	0.723 50	0.803 60	1.524 9	99.72		
	0.518 6	0.736 60	0.803 60	1.574 0	104.21		
	0.511 2	0.726 10	0.803 60	1.569 9	105.01		
	0.517 5	0.735 00	0.937 60	1.702 5	103.19		
	0.517 1	0.734 40	0.937 60	1.687 8	101.69		
	0.508 8	0.722 60	0.937 60	1.678 5	101.95		

表4 同一产地凉粉草样品中4种成分的含量测定结果

批次	取样量/g	咖啡酸//%	异槲皮苷//%	紫云英苷//%	迷迭香酸//%
1	1.076 7	0.181 8	1.376 5	3.806 1	1.438 7
2	1.026 5	0.188 2	1.404 9	3.947 7	1.423 0
3	1.063 8	0.181 1	1.368 1	3.880 2	1.422 3
4	1.046 6	0.182 8	1.403 4	3.935 6	1.411 2
5	1.041 2	0.184 0	1.411 6	3.929 0	1.409 8
6	1.038 8	0.185 5	1.413 9	3.943 1	1.416 6
平均值//%		0.183 9	1.396 0	3.907 0	1.420 0
RSD//%		1.43	1.38	1.41	0.74

表5 不同产地凉粉草中4种成分的含量测定结果

产地	取样量 g	咖啡酸 %	异槲皮苷 %	紫云英苷 %	迷迭香酸 %
广东惠东	1.024 5	0.173 2	1.403 9	3.696 8	1.678 4
广东汕头	1.046 2	0.101 1	1.225 8	3.230 2	1.250 9
广东韶关	1.030 8	0.154 0	1.364 7	3.780 2	1.793 1
广东揭阳	1.057 5	0.118 7	1.103 4	3.135 6	1.035 4
福建三明	1.036 9	0.134 7	1.674 5	4.026 3	1.554 3
福建武平	1.058 3	0.180 2	1.350 2	3.398 5	2.132 4
安徽亳州	1.053 4	0.208 4	1.778 9	3.900 6	1.907 1

考察指标,对3种常用的提取方法(冷浸法、回流提取法、超声辅助提取法)进行筛选。结果显示,在3种提取方法中,回流提取法与超声法提取效果相当,考虑到实验室的便利性,选用超声提取法进行提取。

3.2 提取溶剂的确定

取凉粉草粗粉1.5 g,加入溶剂的体积为25 mL,超声提取时间为30 min,提取次数1次,分别以提取溶剂为甲醇、50%乙醇、无水乙醇进行试验,结果表明,溶剂为50%乙醇时的提取效果最好,故选用50%乙醇进行提取。

3.3 色谱条件的确定

对色谱柱 Thermo ODS-2 HYPERSIL(4.6 mm×250.0 mm,5 μm)、Agilent ZORBAX SB-C18(4.6 mm×

250.0 mm,5 μm)、资生堂 CAPCELL PAK C18 MG(4.6 mm×250.0 mm,5 μm)进行考察,发现色谱柱 Thermo ODS-2 HYPERSIL(4.6 mm×250.0 mm,5 μm)对所测4种成分的分离度好,基线平稳;在波长210、254、320、360 nm下检测,发现目标峰在254 nm处普遍峰面积大、灵敏度高;考察不同的流动相(乙腈:水、甲醇:水、乙腈:0.1%磷酸、乙腈:0.1%甲酸),前2组流动相分离度差,乙腈:0.1%磷酸与乙腈:0.1%甲酸的分离度相当,但磷酸对色谱柱损害大,最终流动相为乙腈:0.1%甲酸。

3.4 样品含量测定结果分析

对同一产地同一批次样品进行含量测定,结果表明该含量检测方法稳定、可靠。对7个不同产地的样品进行含量测定,发现4种成分含量会有一定的差异性,这可能由于产地不同、采收时间不同、光照情况不同等原因引起。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1977:547.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1975.
- [3] 李 博,谢 欢,钟国跃,等. 仙草质量控制的研究进展[J]. 广州中医药大学学报,2016,33(5):755-758.
- [4] 赵志国,石云平,黄宁珍,等. 中国凉粉草属植物研究进展[J]. 南方农业学报,2011,42(6):657-660.
- [5] 陈丰连,黄锦茶,梁欣健,等. HPLC法测定凉粉草中齐墩果酸和熊果酸含量[J]. 中药新药与临床药,2010,21(4):416-418.
- [6] 冯白茹,莫颖华,王景芬,等. 凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究[J]. 药学研究,2018,37(9):503-505,510.
- [7] 刘碧容. 高效液相色谱法测定凉粉草中熊果酸的含量[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版),2008,26(6):13-15.
- [8] 王海华,覃丽萍. 不同凉粉草中天然苯甲酸的含量测定[J]. 中国药师,2014,17(9):1493-1495.
- [9] 郑 玲,杨 健,吕春秋,等. 高效液相色谱法测定凉粉草中的苯甲酸[J]. 轻工科技,2013,29(6):9-10,12.

(上接第91页)

参考文献:

- [1] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药材标准(第一册)[M]. 昆明:云南美术出版社,2005.
- [2] 段宝忠,李 巍,邓海星,等. 民族药紫丹参的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(15):1-7.
- [3] 钱子刚,梁晓原,侯安国,等. 滇丹参药用植物资源[J]. 中药材,2002,25(9):628-629.
- [4] 朱艳琴,殷勤红,王文辉,等. HPLC法同时测定滇产紫丹参中6种成分含量[J]. 中成药,2011,33(4):648-650.
- [5] 张正付,陈鸿珊,李健蕊,等. 滇丹参中酚酸类化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(18):1886-1890.
- [6] 张庆萍,陈贵生. 高效液相色谱法测定滇丹参中原儿茶醛和丹参素的含量[J]. 湖北中医药大学学报,2007,9(2):43.
- [7] 余 驰,殷 丹,陈科力,等. 高效液相色谱法测定滇丹参中丹参酮ⅡA的含量[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(12):1786-1787.
- [8] 卫 强,陈 奎. HPLC测定滇丹参SFE-CO₂和常规提取物中丹参酮ⅡA的含量[J]. 中兽医医药杂志,2009,28(2):37-39.
- [9] 黄 超,陈科力. 滇丹参及丹参中脂溶性成分含量的对比研究[J]. 中药材,2007,30(9):1088-1091.
- [10] 管小军,厉 军,黄娜娜,等. HPLC同时测定紫丹参药材中8种成分含量[J]. 中国中医药信息杂志,2020,27(9):82-86.
- [11] 梁林波,习学良,李俊南,等. 不同海拔核桃林下紫丹参主要有效成分含量变化[J]. 现代中药研究与实践,2018,32(5):12-13,18.
- [12] 颜希国. 不同施肥水平对紫丹参产量和质量影响试验初报[J]. 农业开发与设备,2020(9):124-125.

山东省不同区域桔梗药材中桔梗皂苷 D 的测定

申 茹¹, 徐英辉¹, 莫颖华¹, 王立娟², 郭玉岩^{3*}

(1. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000 ; 2. 齐鲁医药学院, 山东 淄博 255000 ;
3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 通过对山东省不同区域桔梗中桔梗皂苷 D 进行质量相关性研究, 建立桔梗中桔梗皂苷 D 的含量测定方法。方法 采用 HPLC 法测定桔梗皂苷 D 的含量, 色谱条件为 Zorbax SB C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈 (A) -0.4 % 磷酸水溶液 (B) (25 : 75), 流速 1.0 ml/min, 检测波长 210 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μl。结果 山东淄博生产的桔梗药材中桔梗皂苷 D 含量最高, 质量最好, 其次为山东青岛。结论 该含量测定方法简便, 准确, 可作为测定桔梗皂苷 D 的定量方法。

关键词: 桔梗; HPLC; 桔梗皂苷 D; 不同区域

中图分类号: R282 文献标识码: A 文章编号: 1673-6427 (2018) 04-11-03

doi: 10.13728/j. 1673-6427. 2018. 04. 004

Assay of Content of Platycodin D in Radix Platycodonis From Different Regions in Shandong Province

SHEN Ru¹, XU Ying-hui¹, MO Ying-hua¹, WANG Li-juan², GUO Yu-yan^{3*}

(1. Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China; 2. Qilu Medical University, Zibo 255000, China; 3. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: Objective To establish an HPLC assay of platycodin D in Radix Platycodonis by the quality correlation study of platycodin D in Radix Platycodonis from different regions in Shandong Province. **Methods** Content of platycodin D is assayed by HPLC. The chromatographic conditions are as follows: Zorbax SB C₁₈ column; mobile phase of acetonitrile (A) -0.4 % phosphoric acid (25 : 75); flow rate of 1.0 ml/min; detection wavelength 210 nm; column temperature 25°C; injection volume 10 μl. **Results** Radix Platycodonis is produced from Zibo, Shandong had the highest content of platycodin D and the best quality, follow by those from Qingdao, Shandong. **Conclusion** This study can be used as a quantitative method for the determination of platycodin D because of its simplicity and accuracy.

Key words: Radix Platycodonis; HPLC; platycodin D; different regions

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (2013ZX09102019); 2016 年度惠州市科技专项资金资助项目 (2016X0402017)

作者简介: 申 茹 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药质量分析和药理研究。E-mail: asrbllove@126.com

通讯作者: 郭玉岩 (1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药新药开发研究。E-mail: guoyuyan622@163.com

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 吴发明, 蔡晓洋, 陈 辉, 等. 麦冬块根发育过程中主要化学组分积累动态研究 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(7): 533-537.
- [3] 袁艺刚, 赵长春. 麦冬的研究现状 [J]. 医学信息, 2015(11): 288.
- [4] 马海波. 麦冬化学成分的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [5] 于学康. 麦冬的药理作用研究进展 [J]. 天津药学, 2012, 24(4): 69-70.
- [6] 周二付. 中药材麦冬的药理作用研究 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(9): 125-126.
- [7] 袁春丽, 孙 立, 袁胜涛, 等. 麦冬有效成分的药理活性及作用机制研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(21): 2496-2502.
- [8] 吴兆宇, 周梯强, 郝 蕊, 等. 麦冬化学成分及药理作用研究进展 [C]. // 中国药学会. 2014 年中国药学会大会暨第十四届中国药师周论文集, 2014: 4.
- [9] 彭 婉, 马 骁, 王 建, 等. 麦冬化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 477-488.
- [10] 罗 霄, 张兴国, 杨言琛, 等. 麦冬黄酮类成分的研究进展 [J]. 中国中医药科技, 2015, 22(5): 603-605.
- [11] 白 晶. 麦冬甾体皂苷和高异黄酮类成分的研究进展 [J]. 北京联合大学学报, 2014, 28(2): 9-12.
- [12] 宋新昕, 李爱臣. 麦冬中总黄酮提取及抗氧化性的研究 [J]. 中国食品添加剂, 2015(11): 95-100.

收稿日期: 2018-03-27

桔梗为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* Jacq. A. DC. 的干燥根, 具有宣肺、利咽、祛痰、排脓等功效^[1]。桔梗药材中含有多种化学成分, 包括皂苷类、多糖、脂肪酸等, 其中皂苷类是药理活性成分, 尤其以桔梗皂苷 D 为典型代表^[2-7]。桔梗主要分布在安徽、河南、山东、吉林、辽宁等地, 其中山东为主产地, 且为道地药材; 系统评价山东产群药材的质量, 对桔梗的深入研究与应用具有重要意义。据此, 本实验选择桔梗中的典型成分桔梗皂苷 D, 采用 HPLC 法对山东淄博、日照、临沂、临朐、泗水、青岛、济南等区域的桔梗药材质量进行系统研究, 以为桔梗药材资源的种植、采收及合理应用提供研究依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); KQ-500DE 型数控超声波萃取器 (昆山市超声仪器有限公司); FA1004N 万分之一电子分析天平 (上海菁海仪器有限公司); RE-3000A 旋转蒸发器 (上海越众仪器设备有限公司); SHZ-D (III) 型循环水真空泵 (广州市星烁仪器有限公司); HH-8 数显恒温水浴锅 (江苏金坛市环宇科学仪器厂); 瑞宁移液器 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); BPG-9240A 鼓风干燥箱 (上海百典仪器设备有限公司)。

1.2 试剂

乙腈 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 水 (屈臣氏蒸馏水); 甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇、磷酸 (均为分析纯, 台山市粤侨试剂塑料有限公司); 正丁醇 (分析纯, 天津市光复科技发展有限公司); 氨水 (分析纯, 莱阳经济技术开发区精细化工厂)。

1.3 材料

桔梗皂苷 D 对照品 (批号: 161209, 北京世纪奥科生物技术有限公司, 中国)。药材采集自山东不同区域共 10 批样品, 经齐鲁医药学院中药教研室张平平副教授鉴定为桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* Jacq. A. DC. 的根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) (美国安捷伦公司), 流动相: 乙腈 (A) - 0.4% 磷酸水溶液 (B) (25 : 75), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 210 nm, 柱温: 25 °C, 进样量: 10 μl。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的桔梗皂苷 D 对照品约 9.0

mg, 加甲醇溶解, 制成 0.9 mg/ml, 作为对照品溶液。

2.3 样品溶液的制备

取桔梗样品粉末 (过二号筛) 2.0 g, 精密称定, 精密加入 50% 甲醇 50 ml, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 40 KHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 ml, 置旋转蒸发器浓缩至干, 残渣加水 20 ml, 微热使其溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20 ml, 合并正丁醇液, 用氨试液 50 ml 洗涤, 弃去氨液, 再用正丁醇饱和的水 30 ml 洗涤 3 次, 弃去水液, 将正丁醇液合并液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移定容至 10 ml 量瓶中, 摇匀、滤过, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适用性试验 采用岛津高效液相色谱仪, 考察了对照品、样品、阴性对照溶液的分离度效果, 结果样品和对照品均能得到较好的分离, 阴性对照溶液在相应保留时间无干扰, 结果见图 1。

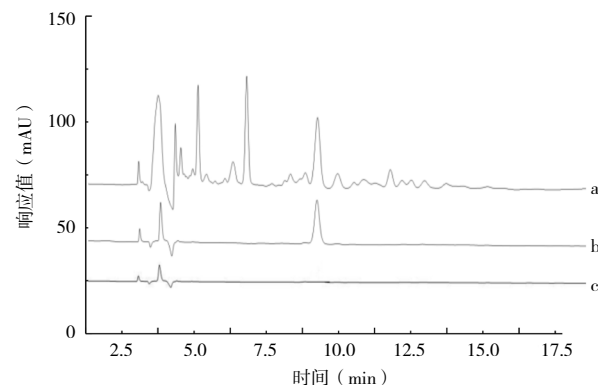


图 1 HPLC 色谱图

a. 样品; b. 对照品; c. 阴性对照

Fig. 1 HPLC chromatograms

a. sample; b. reference substance; c. negative control

2.4.2 标准曲线的绘制 取桔梗皂苷 D 对照品母液依次稀释至 675、360、180、72、36、18 μg/ml 6 个不同浓度对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样 10 μl 测定峰面积。以桔梗皂苷 D 含量为横坐标, 峰面积为纵坐标作标准曲线, 得线性回归方程为: $Y = 2597X - 5015$, $r = 0.9998$, 表明桔梗皂苷 D 浓度在 18 ~ 675 μg/ml 范围内线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 精确吸取供试品溶液 10 μl, 按“2.1”色谱条件连续进样 6 次, 结果桔梗皂苷 D 峰面积 RSD 为 1.59%, 表示该方法精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批桔梗药材粉末 6 份, 准确称定, 根据样品溶液制备方法制成供试品溶液, 按“2.1”色谱条件进样, 计算桔梗皂苷 D 含量 RSD

为 1.65 %, 表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样, 计算桔梗皂苷 D 含量 RSD 为 2.16 %, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.6 准确度试验 取已知含量的同一桔梗样品共 9 份, 分别加入低、中、高三个浓度的桔梗皂苷 D 对照品溶液, 按照样品溶液制备方法制备, 进样 10 μ l, 测定三个浓度桔梗皂苷 D 的平均回收率分别为 98.7 %、100.5 % 和 98.8 %, RSD 值分别为 2.88 %、1.76 % 和 2.70 %, 结果见表 1。

表 1 准确度试验结果
Tab. 1 Accuracy test results

样品	取样量 (g)	样品中含 量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
1	0.500 1	1.324 1	0.655	1.987 7	101.3	98.7	2.88
2	0.500 6	1.325 4	0.655	1.952 1	95.7		
3	0.500 5	1.325 1	0.655	1.974 5	99.1		
4	0.500 8	1.325 9	1.31	2.637 8	100.1	100.5	1.76
5	0.500 2	1.324 4	1.31	2.621 2	99.0		
6	0.500 8	1.325 9	1.31	2.668 2	102.5		
7	0.500 3	1.324 6	1.965	3.326 6	101.9	98.8	2.70
8	0.500 9	1.326 2	1.965	3.227 4	96.8		
9	0.500 6	1.325 4	1.965	3.251 3	98.0		

2.4.7 样品测定 取 10 批山东省不同区域桔梗药材制备的样品溶液, 均过 0.45 μ m 微孔滤膜, 按“2.1”色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算桔梗皂苷 D 的含量, 其结果见表 2。

表 2 山东省不同区域桔梗药材中桔梗皂苷 D 含量比较 (n = 3)

Tab. 2 Comparison of content of platycodon D in Radix Platycodonis from different regions in Shandong Province (n = 3)

样品编号	采收地点	桔梗皂苷 D 含量 (%)
1	山东淄博博山	0.38
2	山东淄博淄川	0.37
3	山东日照莒县	0.16
4	山东日照五莲县	0.17
5	山东临沂蒙阴县	0.24
6	山东临沂平邑县	0.23
7	山东临朐	0.19
8	山东泗水	0.20
9	山东青岛	0.33
10	山东济南	0.30

3 讨论

采用 SPSS18.0 进行多个样本均数比较的方差分

析, 得 $F = 230.7$, $P < 0.01$, 即不同产地对桔梗中桔梗皂苷 D 含量影响显著, 即淄博含量最高、质量最佳, 优于青岛和济南, 日照含量最低, 结果可提示扩大淄博、青岛、济南地区的药材种植范围。此外, 同一城市不同县区桔梗含量没有太大差异。

对桔梗药材提取工艺进行研究, 分别为回流法、超声法和浸渍法三种提取方法对桔梗皂苷 D 含量的影响, 结果采用超声提取法的桔梗皂苷 D 含量最高, 且该方法操作简单易行。

考察不同系统和不同比例的流动相, 如甲醇: 水、甲醇: 0.4 % 磷酸、乙腈: 水、乙腈: 0.4 % 磷酸、乙腈: 甲酸不同系统对分离效果的影响, 结果显示以乙腈: 0.4 % 磷酸分离效果最好, 同时对该系统不同体积比进行了多次调整, 确定当体积比为 25 : 75 时桔梗皂苷 D 保留时间适当, 峰形好, 分离度及理论塔板数均较高。

4 结论

通过比较山东省不同区域桔梗皂苷 D 的含量, 全面、客观地反映桔梗的质量, 为进一步制定桔梗质量评价指标提供依据。同时充分发挥山东自然条件和资源优势, 实施规范化种植, 为促进山东传统中药的综合开发提供建设性材料。

参考文献

- [1] 黄 娇, 姜登军. 多指标综合评价重庆不同产区桔梗药材的质量 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 389–393.
- [2] 石俊英, 董其亭, 巩丽丽, 等. 不同产地桔梗中总皂苷成分与质量的相关性研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(3): 247–250.
- [3] 谭玲玲, 侯晓敏, 胡正海. 不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的测定 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1682–1684.
- [4] 石俊英, 王 颖, 巩丽丽, 等. HPLC 法测定桔梗不同部位、不同产地药材中桔梗皂苷 D 含量 [J]. 山东中医药大学学报, 2007, 31(6): 501–503.
- [5] 许传莲, 郑毅男, 杨腊虎, 等. HPLC 法测定不同采收期及不同部位桔梗中桔梗皂苷 D 含量 [J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(1): 58–60, 64.
- [6] 赵宏苏, 金传山, 刘均雨, 等. 不同主产地桔梗中总皂苷和重金属含量分析 [J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(1): 29–31, 41.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 277.

收稿日期: 2018–03–05

(栏目编辑: 金欣)

· 制剂工艺 ·

达原饮胃漂浮片的提取工艺研究

申茹^{1,2}, 徐英辉^{1,2}, 郭玉岩^{3*}, 麦艳珍^{1,2}, 余巧^{1,2}, 毛一中^{1,2}

(1. 惠州卫生职业技术学院 药学系, 广东 惠州 516025; 2. 惠州市药用植物研究与开发重点实验室, 广东 惠州 516025; 3. 黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 建立达原饮胃漂浮片处方药材提取工艺。方法 以芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、芒果苷和新芒果苷含量为评价指标, 采用正交试验法筛选最佳提取工艺。结果 通过正交试验和验证试验, 达原饮胃漂浮片的最佳提取工艺为 $A_2B_3C_2D_2$, 即 85% 乙醇, 料液比为 20 倍量, 提取时间为 1 h, 提取 2 次。结论 达原饮胃漂浮片处方药材提取操作简单、工艺可行。

关键词: 达原饮; 胃漂浮片; HPLC; 提取工艺

中图分类号: R283.6

文献标识码: A

文章编号: 1673-6427 (2021) 03-61-05

doi: 10.13728/j. 1673-6427. 2021. 03. 014

Extraction Process of Dayuan Yin Gastric Floating Tablets

SHEN Ru^{1,2}, XU Ying-hui^{1,2}, GUO Yu-yan^{3*}, MAI Yan-zhen^{1,2}, YU Qiao^{1,2}, MAO Yi-zhong^{1,2}

(1. Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China; 2. Huizhou Key Laboratory of Medicinal Plant Research and Development, Huizhou 516025, China; 3. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: Objective To establish an extraction process of Dayuan Yin gastric floating tablets prescription medicinal materials. **Methods** Contents of paeoniflorin, baicalin, wogonoside, baicalein, mangiferin and neomangiferin as evaluation indexes, and the orthogonal test is used to screen the best extract process. **Results** Through orthogonal experiment and verification, the optimal technology for Dayuan Yin gastric floating tablets is $A_2B_3C_2D_2$, that is the 85% ethanol, the material-liquid ratio is 20 times, the number of extraction is 2 times, and the extraction time is 1 h. **Conclusion** The extraction technology for Dayuan Yin gastric floating tablets is simple and feasible.

Keywords: Dayuan Yin; gastric floating tablets; HPLC; extraction process

达原饮出自明代医家吴又可所著《温疫论》, 是开达膜原的代表方, 方中槟榔辛散湿邪, 草果辛香化浊, 厚朴芳香化浊, 白芍、知母清热滋阴, 黄芩清热燥湿, 甘草调和诸药^[1], 传统医学采用达原饮能辛散、燥湿、化浊, 直达膜原, 主治瘟疫或疟疾邪伏膜原之证^[2]。现代医学研究发现达原饮被应用于新型冠状病毒肺炎的治疗。国家卫生健康委员会发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第三版)》和全国 24 个省市自治区卫生管理部门发布的地方方案中有 9 个明确提出了达原饮的应用^[3], 尤其是对早期新型冠状病毒肺炎起到较好作用。新型冠状病毒中医

学称为戾气、疠气、疫疠之气等^[3]。新冠肺炎患者早期多有身热不扬、干咳痰少、倦怠乏力、口干不欲饮, 伴纳差、便溏、恶心欲呕等消化道症状, 舌质多暗或边尖稍红, 舌苔厚腻。国家中医专家组根据采集的四诊信息, 辨证研判新冠肺炎^[4-5]属于“湿毒疫”, 早期为湿毒郁肺, 进而出现疫邪困脾闭肺、化热的一系列邪伏膜原相关临床表现, 提出从宣肺透邪、化湿解毒来论治, 推荐处方之一是开达膜原的代表方达原饮。为了更好的发挥达原饮的疗效, 拟将其开发成现代中药新剂型胃内漂浮片, 提高生物利用度的同时, 也便于携带和使用, 提高患者顺应性。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81703724); 2020 年度惠州市医疗卫生类科技计划项目(2020Y167); 2018 年广东省普通高校特色创新项目(2018GKTSCX097)

作者简介: 申茹(1981—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 中药质量分析和药理研究。E-mail: asrblove@126.com

通信作者: 郭玉岩(1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药新药开发研究。E-mail: guoyuyan622@163.com

达原饮原方采取水煎煮法,但未建立多指标成分的含量控制方法,为了使该处方药材中活性成分最大获得量,本实验采用回流提取法以芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、芒果苷和新芒果苷为检测指标对提取工艺进行考察,为后期制剂工艺的研究提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-2040C 型 3D Plus 高效液相色谱仪(日本岛津公司);DTY-124/223 型电子天平[万分之一,华志(福建)电子科技有限公司];PS-40A 型超声波清洗机(深圳市科洁超声科技有限公司);HH-8 型数显恒温水浴锅(江苏金坛市环宇科学仪器厂);Eppendorf 移液器(德国艾本德公司)。

1.2 试剂

乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);超纯水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);磷酸(分析纯,台山市粤侨试剂塑料有限公司);无水乙醇(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

芍药苷对照品(批号:191208)、新芒果苷对照品(批号:200618)、芒果苷对照品(批号:200116)、黄芩苷对照品(批号:200117)、汉黄芩苷对照品(批号:200719)、黄芩素对照品(批号:191206)均购自北京世纪奥科生物技术有限公司,纯度大于 98%。

白芍、黄芩、知母、厚朴、甘草、草果、槟榔均购于北京同仁堂惠州药店有限责任公司,经惠州卫生职业技术学院中药教研室祁银德教授鉴定为正品,具体药材信息见表 1。

表 1 药材信息表

Tab. 1 Information table of medicinal materials

名称	产地	批号	来源
白芍	安徽	200106	焦作市鑫诚怀药有限公司
黄芩	内蒙古	20200106	北京本草方源药业集团有限公司
知母	河北	191101	亳州市京皖中药饮片厂
厚朴	四川	20200107	北京本草方源药业集团有限公司
甘草	内蒙古	200201	亳州市京皖中药饮片厂
草果	广西	190701	亳州市京皖中药饮片厂
槟榔	广东	170209001	北京康源祥瑞医药科技有限公司

2 方法与结果

2.1 芍药苷等 6 种有效成分含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 2 μm)(日本岛津公司);检测波长:芍药苷 230 nm, 黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素 280 nm, 芒果苷、新芒果苷 258 nm;柱温:30℃;流速:0.3 mL/min;进样量:0.5 μL, 流动相

为 0.05% 磷酸水溶液(A)–乙腈(B), 梯度洗脱条件(0 ~ 5 min, 12.5% ~ 19% B; 5 ~ 7 min, 19% ~ 24% B; 7 ~ 9 min, 24% ~ 27% B; 9 ~ 12 min, 27% ~ 32% B; 12 ~ 14 min, 32% ~ 50% B; 14 ~ 16 min, 50% ~ 70% B)。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称定 6 种有效成分对照品适量,加入 85% 乙醇制成含芍药苷 85.93 μg/mL、黄芩苷 372.88 μg/mL、汉黄芩苷 91.53 μg/mL、黄芩素 11.69 μg/mL、芒果苷 22.88 μg/mL、新芒果苷 115.93 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取达原饮处方量(白芍 3 g、黄芩 3 g、知母 3 g、厚朴 3 g、甘草 1.5 g、炒草果仁 1.5 g、槟榔 6 g)药材粉末(过 2 号筛),加入 20 倍量 85% 乙醇回流提取 2 次,每次 1 h,合并滤液,定容,摇匀,即得。

2.1.4 系统适用性试验 取对照品、供试品、阴性对照溶液,按“2.1.1”项色谱条件下进样,结果见图 1。由图可知,供试品和对照品均能得到较好的分离,阴性对照溶液在相应保留时间无干扰。

2.1.5 线性关系考察 精密称取 6 种有效成分对照品适量,用 85% 乙醇配制成对照品溶液,依次稀释成 6 个不同浓度,分别进样 0.5 μL,以峰面积(Y)为纵坐标,对照品进样浓度(X)为横坐标,进行线性回归,结果见表 2。

表 2 回归方程、相关系数和线性范围

Tab. 2 Regression equation, correlation coefficient and linear range

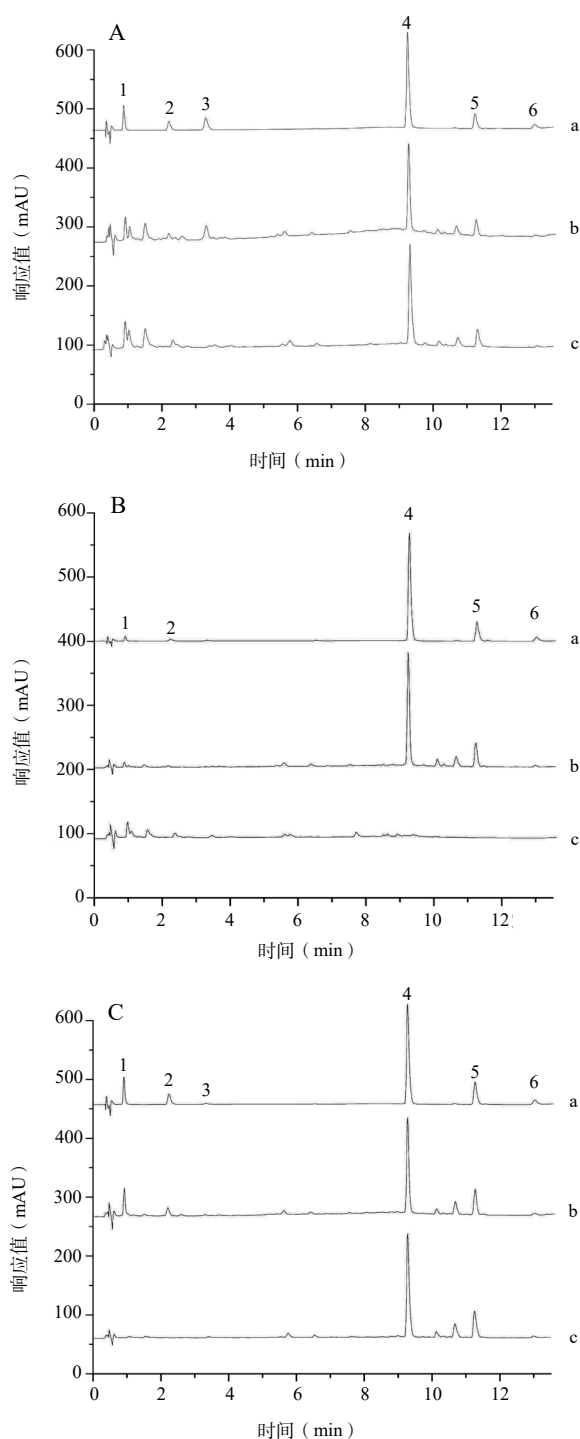
成分	回归方程	R ²	线性范围 / (μg/mL)
芍药苷	$Y = 2192.6X - 1805.2$	0.999 7	12.48 ~ 234
黄芩苷	$Y = 4893.1X - 20600$	0.999 5	44 ~ 1100
汉黄芩苷	$Y = 5270X - 39209$	0.999 3	10.8 ~ 216
黄芩素	$Y = 7295.5X - 6374.2$	0.999 3	0.92 ~ 18.4
芒果苷	$Y = 7034.9X - 7960.6$	0.999 1	2.16 ~ 75.6
新芒果苷	$Y = 4422.2X - 2979.5$	0.999 7	4.56 ~ 142.5

2.1.6 方法学考察 6 种有效成分精密度、重复性、稳定性试验 RSD 均小于 3%,符合相关要求。加样回收率试验结果显示芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、芒果苷、新芒果苷平均加样回收率分别为 102.8%、101.9%、98.5%、99.2%、99.3%、99.7%, RSD 均小于 3%。

2.2 达原饮胃漂浮片提取工艺研究

2.2.1 计算综合得分 综合得分: $W = A \times 0.2 + B \times 0.3 + C \times 0.15 + D \times 0.05 + E \times 0.15 + F \times 0.15$ ^[6]

A: 芍药苷含量; B: 黄芩苷含量; C: 汉黄芩苷含量; D: 黄芩素含量; E: 芒果苷含量; F: 新芒果苷含量。



注: A. 230 nm 波长; B. 280 nm 波长; C. 258 nm 波长; 1. 新芒果苷; 2. 芒果苷; 3. 芍药苷; 4. 黄芩苷; 5. 汉黄芩苷; 6. 黄芩素; a. 对照品; b. 供试品; c. 阴性对照

图1 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms

2.2.2 提取方法考察 称取达原饮处方药材粉末 6 份, 各加入 20 倍量 85% 乙醇, 分别采用回流法 1 h、超声法 1 h、冷浸法 24 h、滤过, 定容, 按“2.1.1”

项下色谱条件检测 6 种有效成分含量, 计算综合得分, 结果见图 2。

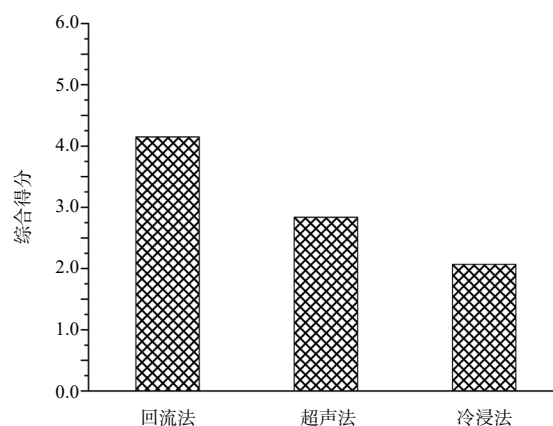


图2 提取方法考察
Fig. 2 Extraction method study

由图 2 可知, 采用回流法 1 h 综合得分最高, 故选择回流法为最佳提取方法。

2.2.3 单因素考察 (1) 溶剂浓度的筛选 称取达原饮胃漂浮片处方药材, 固定液料比为 20 : 1 (mL/g), 提取 1 h, 分别采用 75%、85%、95% 乙醇为提取溶剂, 提取 1 次进行试验, 按“2.1.1”项下方法测定含量并计算综合得分, 结果见表 3。

表 3 溶剂浓度考察结果
Tab. 3 Single factor results of solvent concentration

溶剂 浓度 / %	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩 苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果 苷 / %	综合 得分
75	2.32	10.14	2.32	0.11	2.11	1.60	4.42
85	2.49	10.78	2.47	0.12	2.28	1.70	4.71
95	2.62	9.47	2.35	0.12	2.35	1.68	4.33

(2) 提取时间的筛选 称取达原饮胃漂浮片处方药材, 固定液料比为 20 : 1 (mL/g), 85% 乙醇, 分别提取 0.5、1、1.5 h, 提取 1 次进行试验, 按“2.1.1”项下方法测定含量并计算综合得分, 结果见表 4。

表 4 提取时间考察结果
Tab. 4 Single factor results of extraction time

提取时 间 / h	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩 苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果 苷 / %	综合 得分
0.5	2.36	10.87	2.53	0.12	2.53	1.67	4.75
1	2.49	10.92	2.54	0.13	2.58	1.72	4.81
1.5	2.57	10.99	2.55	0.14	2.61	1.78	4.86

(3) 提取次数的筛选 称取达原饮胃漂浮片处方药材, 固定液料比为 20 : 1 (mL/g), 85% 乙醇, 提取 1 h, 分别提取 1 次、2 次、3 次进行试验, 按“2.1.1”项下方法测定含量并计算综合得分, 结果见表 5。

表 5 提取次数考察结果

Tab. 5 Single factor results of extraction times

提取次数 / 次	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果苷 / %	综合得分
1	2.56	10.82	2.50	0.13	2.56	1.74	4.78
2	2.55	11.43	2.59	0.13	2.59	1.73	4.98
3	2.52	11.44	2.60	0.12	2.66	1.72	4.99

(4) 料液比的筛选 称取达原饮胃漂浮片处方量药材, 85% 乙醇, 提取 1 h, 分别选择 15 : 1、18 : 1、20 : 1 (mL/g), 提取 1 次进行试验, 按“2.1.1”项下测定含量并计算综合得分, 结果见表 6。

2.2.4 正交试验

在单因素考察基础上, 选择溶剂浓度 (A)、料液比 (B)、提取时间 (C)、提取次数 (D) 为考察对象, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对达原饮胃漂浮片药材提取工

艺进行考察, 筛选出最佳提取工艺, 试验结果见表 7~9。

表 6 料液比单因素考察结果

Tab. 6 Single factor results of solid-liquid ratio

料液比	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果苷 / %	综合得分
15 : 1	2.43	10.18	2.38	0.12	2.41	1.59	4.50
18 : 1	2.50	10.45	2.42	0.12	2.44	1.63	4.61
20 : 1	2.59	11.05	2.57	0.13	2.59	1.78	4.88

表 7 因素与水平表

Tab. 7 Factor and level table

水平	因素			
	A / %	B / (mL/g)	C / h	D / 次
1	75	15	0.5	1
2	85	18	1	2
3	95	20	1.5	3

表 8 正交试验设计及结果

Tab. 8 Orthogonal experimental design and results

试验号	A / %	B / (mL/g)	C / h	D / 次	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果苷 / %	综合得分
1	1	1	1	1	2.24	7.30	1.78	0.10	1.83	1.22	3.37
2	1	2	2	2	2.92	12.64	2.85	0.14	2.84	1.87	5.52
3	1	3	3	3	2.75	12.52	2.83	0.14	2.55	1.75	5.38
4	2	1	2	3	2.77	11.99	2.71	0.14	2.44	1.68	5.18
5	2	2	3	1	2.44	10.37	2.42	0.13	2.46	1.61	4.58
6	2	3	1	2	2.88	11.60	2.69	0.14	2.79	1.77	5.15
7	3	1	3	2	2.31	4.69	1.56	0.13	2.15	1.24	2.62
8	3	2	1	3	2.18	3.51	1.20	0.12	2.01	1.12	2.14
9	3	3	2	1	2.44	5.57	1.78	0.13	2.48	1.43	3.02
K_1	4.757	3.723	3.553	3.657							
K_2	4.970	4.080	4.573	4.430							
K_3	2.593	4.517	4.193	4.233							
R	2.377	0.794	1.020	0.773							

优选方案: $A_2B_3C_2D_2$

表 9 正交试验方差分析表

Tab. 9 Variance analysis of orthogonal experimental design

因素	偏差平方和	自由度	F	F 临界值	显著性
A / %	10.374	2	10.829	6.940	< 0.05
B / (mL/g)	0.947	2	0.989	6.940	> 0.05
C / h	1.594	2	1.664	6.940	> 0.05
D / 次	0.969	2	1.011	6.940	> 0.05
误差	1.92	4			

由表 8 直观分析结果可知, 回流提取法中各因素对 6 种有效成分含量综合得分影响的大小顺序是溶剂浓度 > 提取时间 > 料液比 > 提取次数。达原饮胃漂浮片药材最佳提取工艺为 $A_2B_3C_2D_2$, 即 85% 乙醇, 料液比为 20 : 1, 提取时间为 1 h, 提取 2 次。由表 9 方差分析结果表明, 因素 A 具有显著性差异, $P < 0.05$, 其它因素不显著。因此, 确定达原饮胃漂浮片药材提取最佳工艺: 取达原饮 7 味处方量药材, 加入

20 倍量的 85% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h。

2.2.5 验证试验 将达原饮胃漂浮片处方量药材放大 10 倍, 按正交试验优化出的最佳提取工艺进行 3 次验证试验, 结果见表 10。

表 10 验证试验结果

Tab. 10 Verification testing results

试验号	芍药苷 / %	黄芩苷 / %	汉黄芩苷 / %	黄芩素 / %	芒果苷 / %	新芒果苷 / %	综合得分
1	2.94	12.86	2.92	0.5	2.57	1.71	5.53
2	2.93	12.75	2.90	0.15	2.60	1.71	5.50
3	2.96	12.90	2.94	0.15	2.58	1.73	5.56
平均值	2.94	12.84	2.92	0.15	2.58	1.72	5.53
RSD / %	0.52	0.61	0.68	0.89	0.59	0.67	0.52

由表 10 可知, 三批工艺验证试验芍药苷含量均值为 2.94%, 黄芩苷含量均值为 12.84%, 汉黄芩苷含量均值为 2.92%, 黄芩素含量均值为 0.15%, 芒果苷含量均值为 2.58%, 新芒果苷含量均值为 1.72%,

RSD 值均小于 1%，证明达原饮胃漂浮片药材提取工艺稳定可行。

3 讨论

达原饮由槟榔、草果、厚朴、白芍、黄芩、知母和甘草七味药组成。槟榔为君药，主要活性成分为槟榔碱，槟榔碱在高温下容易分解，采用回流提取法会导致槟榔碱含量减少，且槟榔碱是小分子生物碱，在 C_{18} 柱上几乎无保留，难以成为稳定的质控指标^[7-9]。参照《中国药典》及文献报道，白芍有效成分为芍药苷^[10-11]；黄芩中主要活性成分为黄酮类化学成分，其中黄芩苷、汉黄芩苷及黄芩素活性明显^[12-13]；知母的有效成分为芒果苷和新芒果苷^[14-15]。以多指标成分评价可有效控制达原饮的质量，据此，本实验以芍药苷等 6 种活性成分为指标优化达原饮胃漂浮片提取工艺。

将达原饮供试品溶液通过 HPLC 二极管阵列检测器进行全波长扫描，6 种活性成分分别在 230、280 和 258 nm 波长下基线平稳，完全分离，且色谱峰面积最大，故选择芍药苷最大吸收波长为 230 nm，黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素最大吸收波长为 280 nm，芒果苷和新芒果苷最大吸收波长为 258 nm。

采用 HPLC 法对 6 种有效成分含量进行测定，考察不同系统和比例的流动相，如甲醇-0.05% 甲酸溶液、甲醇-0.05% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 甲酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液对分离效果的影响，结果显示乙腈-0.05% 磷酸分离效果最好，并对该系统不同体积比进行优选，确定梯度洗脱程序 6 种有效成分保留时间适当，13 min 内全部分离，且峰形好，分离度和理论塔板数均符合《中国药典》要求。

4 结论

本实验以芍药苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、芒果苷和新芒果苷为指标成分，采用单因素及正交试验法对达原饮胃漂浮片药材进行提取工艺考察，确

定最佳提取工艺为 20 倍量的 85% 乙醇提取 2 次，每次 1 h，且回流提取法操作简单易行，为后期达原饮胃漂浮片的制备和质量控制提供科学依据。

参考文献

- [1] 肖勇, 刘英锋. 试论槟榔、草果、厚朴在达原饮中的配伍意义 [J]. 江西中医药, 2014, 45(10): 11-12, 30.
- [2] 浙江省中医研究所. 《温疫论》评注 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 23.
- [3] 贺煜竣, 邢博文, 杨凌毓, 等. 从膜理论探讨达原饮对新型冠状病毒肺炎早期的治疗 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(3): 692-696.
- [4] 阮小凤, 冯雨薇, 赵康, 等. 从湿温论治重型新型冠状病毒肺炎老年患者 1 例 [J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(4): 14-17.
- [5] 王玉光, 齐文升, 马家驹, 等. 新型冠状病毒肺炎中医临床特征与辨证治疗初探 [J]. 中医杂志, 2020, 61(4): 281-285.
- [6] 左明明, 胡时先, 朱美霞, 等. 太子神悦胶囊提取工艺研究及方法验证 [J]. 中医药学报, 2021, 49(1): 31-36.
- [7] 毛春芹, 陆兔林, 季德, 等. 高效液相色谱法测定不同产地大腹皮中槟榔碱的含量 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(11): 909-911.
- [8] 顾伟樑. 槟榔保鲜及加工过程对其活性成分的影响 [D]. 广州: 华南理工大学, 2017: 29-51.
- [9] 李泮生, 顾伟樑, 阮征. 烫漂和烘干过程对槟榔中槟榔碱含量的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(10): 157-160.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 108-109.
- [11] 利玲, 高音. HPLC 测定达原饮中的芍药苷和黄芩苷的含量 [J]. 化学工程师, 2017, 31(3): 23-25, 28.
- [12] 宋茹, 迟归兵. 达原饮胶囊的质量标准研究 [J]. 中成药, 2008, 30(8): 9-11.
- [13] 刘金欣, 孟繁蕴, 张胜海, 等. UPLC 同时测定黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、千层纸素 A [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1477-1480.
- [14] 王金艳, 任静, 陈世彬, 等. HPLC 法同时测定达原饮中芒果苷等 6 种成分的含量 [J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(1): 72-75.
- [15] 方前波, 秦昆明, 潘扬, 等. RP-HPLC 法测定百合知母汤中芒果苷、新芒果苷的含量 [J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4): 67-69.

收稿日期: 2021-02-27

中国药学会系列期刊

中国科技论文统计源期刊

中国科技核心期刊

《CAJ-CD规范》执行优秀期刊

ISSN 1007-4406

CN31-1726/R

ZHONGGUO LINCHUANG YAOXUE ZAZHI

中国临床药理学杂志

CHINESE JOURNAL OF CLINICAL PHARMACY

2018年第27卷第5期

Vol.27 No.5

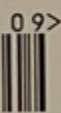


2018

ISSN 1007-4406



9 771007 440014



中国药学会

Chinese Pharmaceutical Association

- [1] KJELD S, ANDISHE A, et al. Consensus definitions of 14 severe acute toxic effects for childhood lymphoblastic leukaemia treatment: a delphiconsensus [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 6(17): 231.
- [2] ANA A, MUNIR P. Genomics of adverse drug reactions [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(1): 100.
- [3] 王艳萍, 卢愿, 仲任, 等. 大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病的不良反应及影响因素分析 [J]. *山东医药*, 2015, 55 (39): 90.
- [4] 吴光后, 刘红, 白莲. 大剂量甲氨蝶呤治疗急性淋巴细胞白血病的不良反应探讨 [J]. *山东医药*, 2006, 46(31): 68.
- [5] 李子雄, 林梅. 大剂量甲氨蝶呤治疗小儿急性淋巴细胞白血病的不良反应观察 [J]. *山西医药杂志*, 2014, 43(10): 1193.
- (2017-03-28 收稿)

多学科合作模式下胃部及结直肠手术预防性应用抗菌药物的效果评价

郭 林¹, 吴小妹¹, 王 希² (广东惠州市第一人民医院¹药学部,²胃肠外科, 惠州 516003)

【摘要】 目的 评价在多学科合作模式下胃肠外科实施干预措施前后抗菌药物的预防使用情况, 探讨多学科合作模式下干预性研究开展的可行性和有效性。方法 选取胃肠外科在胃部及结直肠手术中实施干预措施前(非干预组, 2015 年 10 月至 2016 年 3 月) 后(干预组, 2016 年 4 月至 2016 年 9 月) 预防性应用抗菌药物的资料并进行回顾性研究, 比较 2 组资料围术期抗菌药物的使用情况、住院费用和手术部位感染(SSI) 发生率等指标。结果 干预后胃部及结直肠手术抗菌药物品种选择合理率、初次给药时机合理率明显上升($P < 0.05$), 术后预防用药天数明显缩短($P < 0.05$); 干预前后 SSI 发生率差异无统计学意义($P > 0.05$); 干预组抗菌药物费用较非干预组明显减少($P < 0.05$)。结论 多学科合作模式下开展的围术期抗菌药物应用的干预性研究是科学、可行的。通过合理干预胃肠外科围术期抗菌药物的应用, 不仅提高了抗菌药物预防性应用的合理性, 而且有效地降低了患者抗菌药物费用。

【关键词】 多学科合作; 干预性研究; 抗菌药物

【文献标志码】B

【文章编号】1007-4406(2018) 05-0333-06

【DOI】10.19577/j.1007-4406.2018.05.010

Evaluation on effect of usage of perioperative antibacterial drugs prophylaxis in stomach and colorectal operations under multi-disciplinary treatment

GUO Lin¹, WU Xiaomei¹, WANG Xi² (¹Department of Pharmacy, ²Department of Gastrointestinal Surgery, Huizhou First Hospital, Huizhou 516003, China)

【ABSTRACT】 *AIM* To evaluate the effect by comparing the usage of perioperative antibacterial drugs prophylaxis in intervention group and non-intervention group of stomach enterochirurgia, and investigate the feasibility and validity of prospective study under the multi-disciplinary treatment. *METHODS* Medical records of surgery patients who had stomach and colorectal surgery were collected and studied comparatively before(non-intervention group, from October 2015 to March 2016) and after carrying out intervention measures(intervention group, from April 2016 to September 2016) retrospective review was conducted. The usage of perioperative antibacterial drugs prophylaxis, hospitalization expenses and the incidence of surgical site infections etc. were compared. *RESULTS* The irrationality of perioperative prophylactic application of antibacterial drugs in stomach and colorectal surgery was

【基金项目】 惠州市科技计划项目(编号 2013Y071)

【第一作者】 郭 林(1980 -), 硕士, 副主任药师。研究方向: 临床药学。E-mail: tj_wolf@163.com

【通信作者】 吴小妹(1972 -), 主任药师。研究方向: 药事管理及临床药学。E-mail: wuxiaomei1972@126.com

suppressed effectively. Reasonable rate of medication before operation was markedly improved ($P < 0.05$) and the medication times were shortened observably ($P < 0.05$). Compared to non-intervention group, the rate of wound infection between 2 groups had no significant difference ($P > 0.05$), but the costs of antibacterial drugs decreased significantly ($P < 0.05$). **CONCLUSION** The prospective study on the usage of perioperative antibacterial drugs prophylaxis under the multi disciplinary treatment model were proved to be scientific and feasible by this study. With the reasonable intervention management of perioperative antibacterial drugs prophylaxis, the rates of wound infection in stomach and colorectum surgery do not increase, but antimicrobial drug costs and the use density in stomach enterochirurgia decrease significantly.

【KEY WORDS】 multi-disciplinary treatment; prospective study; antibacterial drug

多学科合作模式 (multi-disciplinary treatment, MDT) 是指来自 2 个以上相关学科, 形成相对固定的学科合作小组, 针对某一器官或系统疾病, 通过定期、定时、定址的会议, 提出诊疗意见的临床治疗模式^[1]。该模式在国外大型医院的开展较为普遍, 针对直肠癌的多学科合作治疗在国际上非常常见^[2]。在 MDT 团队中, 规范化培训后的抗感染专业临床药师已经初步具备与患者、医师及护师良好的交流沟通能力以及持续开展临床药学工作的能力。临床药师在该院胃肠外科下临床过程中, 发现临床医师对围术期抗菌药物的使用存在一些争议, 在此背景下, 我们开展了由药学部临床药师、胃肠外科临床医师和麻醉科医师在多学科合作模式下胃部及结直肠手术预防性应用抗菌药物的研究。

1 资料与方法

1.1 病例资料 选取本院胃肠外科 2015 年 10 月至 2016 年 9 月间行胃部、结直肠手术的住院患者 314 例, 其中胃部手术 155 例, 结直肠手术 159 例, 根据干预措施实施前后分成非干预组 (2015 年 10 月至 2016 年 3 月, 干预前) 及干预组 (2016 年 4 月至 2016 年 10 月, 干预后), 对围术期抗菌药物的预防性使用干预措施进行研究。

1.2 病例剔除标准 剔除病例术前均经多学科合作小组讨论沟通, 小组参加人员包括临床药师、胃肠外科医师和麻醉医师。具体剔除标准如下: ①对头孢菌素类药物过敏者; ②术前 7 d 曾经使用抗菌药物的患者; ③临床诊断有感染症状者; ④住院期间行 2 次及以上的手术。

1.3 干预措施 在多学科合作的模式下, 我院医师、临床药师及其他专业技术人员通过制定一系列措施完成对手术的预防性干预。主要措施: ①共同制定指南并下发给医师, 督促医师学习掌握并随访掌握情况; ②通过专项会议, 闭卷考试等不

同形式对医务人员宣教, 加大合理用药的宣传力度; ③通过制定相应的指标, 出台扣罚措施; ④共同完成并强化抗菌药物专项处方点评; ⑤多部门合作共同监管, 以保证指令的准确传达与实施; ⑥临床药师深入临床, 参与查房, 与胃肠外科和麻醉科医师共同监督和规范手术医师围术期抗菌药物的使用, 根据患者病情变化提出用药调整方案; ⑦从临床药学、胃肠外科和麻醉科等科室中抽取药师、医师和专业技术人员组成 MDT 中的“合理用药评价专家组”, 每月随机抽取出院患者病历进行点评和讨论, 对胃部及结直肠手术围术期抗菌药物应用中存在问题的医师提出反馈意见, 由科室负责人签字存档, 并由临床药师追踪下个月是否仍出现同类问题, 如仍出现同类问题由医务部通报并做出相应的处罚; ⑧多学科合作团队通过查房、会诊和参与病历讨论, 对胃部及结直肠手术围术期中抗菌药物的应用进行干预^[3]。

1.4 资料收集 自患者入院开始收集患者资料, 主要内容: 患者基本资料、手术一般情况、具体用药情况、术后切口情况、实验室检查、费用情况及手术部位感染 (surgical site infection, SSI) 发生率等。

1.5 预防用药操作流程 干预组住院患者流程严格按照围术期预防用药操作流程进行, 由麻醉医师负责监督并记录, 具体流程为: ①主管医师手术前一天开临时医嘱, 填写术中临时医嘱单并打印, 由病房领药; ②手术当日病房护士将药品和已打印的术中临时医嘱单交付手术室接患者人员, 由手术室护士在手术开始前 0.5 ~ 1 h (或麻醉诱导期) 执行医嘱, 同时在术中临时医嘱单执行栏记录执行时间并签名; ③若手术时间超过 3 h 或失血量 > 1 500 mL, 可追加一次剂量 (根据药物半衰期)。

1.6 评价标准

1.6.1 合理性评价 参考回顾性调查评价标准^[4],

从初次用药时机、用法用量、术后疗程和联合给药等方面进行评价。见表 1。

表 1 胃部及结直肠手术围术期预防用抗菌药物的合理性评价标准

项 目	合 理	不 合 理
适应证	有	无
用药时间	术前 0.5 ~ 1 h	术前 > 1 h 或晚于术前 0.5 h
术中追加	手术时间 > 3 h 或出血量 > 1 500 mL 即追加	手术时间 > 3 h 或出血量 > 1 500 mL 未追加
胃部手术药物	第 1 代、第 2 代头孢菌素	其他抗菌药物
结直肠手术药物	第 2 代头孢菌素或头孢曲松或头孢噻肟; 加用甲硝唑/奥硝唑	其他抗菌药物
胃部手术联合用药	一般不联合用药	联用不当
结直肠手术联合用药	联合甲硝唑或奥硝唑, 不超过 2 种, 有协同作用	联用不当
术后用药	≤ 48 h	> 48 h
	≤ 72 h	> 72 h (结直肠手术)
用法	正确	错误
用量	适当	过小或过大

根据《抗菌药物临床应用指导原则》(2015 年版), 胃部及结直肠手术主要为清洁-污染手术, 因此术后预防用药疗程一般不超过 48 h, 而结直肠手术由于涉及污染面积更广, 手术污染风险更高, 因此我们将术后预防用抗菌药物疗程不超过 72 h 视为合理^[9]。

1.6.2 SSI 发生率 计算胃部手术及结直肠手术中

干预组及非干预组的 SSI 发生率。

1.6.3 药物经济学指标 主要考察住院总费用、药品总费用及抗菌药物费用。

1.7 统计学处理

1.7.1 数据采集 通过胃肠外科医师和临床药师每日查房, 详细记录患者相关情况, 及时填写调查表, 并在患者出院后查询并记录住院期间患者费用情况。调查表由临床药师填写。

1.7.2 数据统计 数据统计采用 Excel 和 SPSS 软件进行统计分析。计量资料描述统计采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数数据采用 t 检验, 计数数据采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 干预性研究调查病例共 314 例。其中, 非干预组 158 例, 男、女比例 1.72:1, 年龄 (55.02 ± 15.39) 岁; 干预组 156 例, 男、女比例 1.69:1, 年龄 (58.33 ± 16.77) 岁; 胃部手术共 155 例, 非干预组 78 例, 干预组 77 例; 结直肠手术共 159 例, 非干预组 80 例, 干预组为 79 例。胃部及结直肠各手术分布情况见表 2。

2.2 抗菌药物应用情况 干预组严格按照制定的胃肠外科预防用药流程进行, 术种不同给药方案有所不同, 结合本院现有品种, 制定干预给药方案(表 3)。干预组严格按既定干预方案应用抗菌药物预防感染, 术后观察患者 SSI 发生情况。

胃部和结直肠手术的非干预组的品种选择合理率分别为 60.26% 和 52.5%, 通过对围术期抗菌药物选择的干预, 合理率均提升至 100%。见表 4。

表 2 胃部及结直肠手术分布情况

[n (%)]

胃部手术 (n = 155)			结直肠手术 (n = 159)		
名 称	非干预组	干预组	名 称	非干预组	干预组
胃病损切除术	16 (10.32)	11 (7.10)	Dixon 手术	17 (10.69)	18 (11.32)
胃癌根治术	13 (8.39)	8 (5.16)	乙状结肠病损切除术	14 (8.81)	14 (8.81)
胃部分切除术	11 (7.10)	22 (14.19)	直肠病损切除术	14 (8.81)	8 (5.03)
胃溃疡修补术	10 (6.45)	11 (7.10)	降结肠病损切除术	12 (7.55)	15 (9.43)
胃修补术	9 (5.81)	5 (3.23)	右半结肠切除术	10 (6.29)	16 (10.06)
胃空肠吻合术	7 (4.52)	3 (1.94)	Miles 手术	7 (4.40)	5 (3.14)
胃大部切除术	6 (3.87)	13 (8.39)	横结肠病损切除术	3 (1.89)	2 (1.26)
全胃切除术	4 (2.58)	3 (1.94)	左半结肠切除术	3 (1.89)	1 (0.63)
贲门病损切除术	2 (1.29)	1 (0.65)			
合计	78 (50.32)	77 (49.68)		80 (50.31)	79 (49.69)

表 3 干预性研究干预组给药方案

手 术	药物选择	术 前 给 药 方 案	术后给药方案
胃部手术	头孢唑辛	术前 0.5 ~ 1 h 给药, 手术时间 ≥ 3 h 术中追加一剂	原方案给药 ≤ 48 h
结直肠手术	头孢唑辛/头孢曲松 + 甲硝唑/奥硝唑	术前 0.5 ~ 1 h 给药	原方案给药 ≤ 72 h

表4 胃部及结直肠手术围术期抗菌药物品种选择

[n(%)]

药物选择	胃部手术		结直肠手术	
	非干预组(n=78)	干预组(n=77)	非干预组(n=80)	干预组(n=79)
头孢呋辛	47(60.26)	77(100) ^b	6(7.50)	0(0)
头孢曲松	21(26.92)	0(0)	10(12.50)	0(0)
莫西沙星	2(2.56)	0(0)	4(5.00)	0(0)
依替米星	3(3.85)	0(0)	2(2.50)	0(0)
左氧氟沙星	1(1.28)	0(0)	4(5.00)	0(0)
拉氧头孢	1(1.28)	0(0)	0(0)	0(0)
拉氧头孢+甲硝唑/奥硝唑	0(0)	0(0)	1(1.25)	0(0)
头孢曲松+甲硝唑/奥硝唑	3(3.85)	0(0)	42(52.50)	79(100) ^b
依替米星+甲硝唑/奥硝唑	0(0)	0(0)	11(13.75)	0(0)

与非干预组比较,^b $P < 0.05$

非干预组和干预组分别为158例和156例。非干预组中,初次给药时机和追加情况在胃部和结直肠手术中均存在不合理情况;与之对比,干预组的初次给药时机、术中追加情况在胃部和结直肠手术中全部为合理(表5、6)。非干预组和干预组的术后预防用药疗程见图1。从图中可见抗菌药物用药天数明显缩短($P < 0.05$)。

表5 胃部及结直肠手术初次给药时机 [n(%)]

初次给药时机(t)	胃部手术		结直肠手术	
	非干预组(n=78)	干预组(n=77)	非干预组(n=80)	干预组(n=79)
术前 $t < 0.5$ h	27(33.33)	0(0)	24(37.84)	0(0)
术前 0.5 h $\leq t < 1$ h	42(57.14)	77(100)	52(59.46)	79(100) ^b
术前 $t \geq 1$ h	8(4.76)	0(0)	4(2.70)	0(0)
术中	1(4.76)	0(0)	0(0)	0(0)
术后	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

与非干预组比较,^b $P < 0.05$ 。

表6 胃部及结直肠手术术中追加情况 (例)

手术	项目	非干预组		干预组	
		总例数	追加例数	总例数	追加例数
胃部手术	手术时间 > 3 h	62	13	63	63
	出血 > 1500 mL	3	0	0	0
结直肠手术	手术时间 > 3 h	56	17	59	0
	出血 > 1500 mL	7	0	2	0

2.3 SSI发生率 研究显示,干预组及非干预组SSI发生率无显著性差异($P > 0.05$)。胃部手术预防用药无需联合应用抗厌氧菌的抗菌药物,且疗程控制在48 h以内,能有效预防术后SSI。结直肠

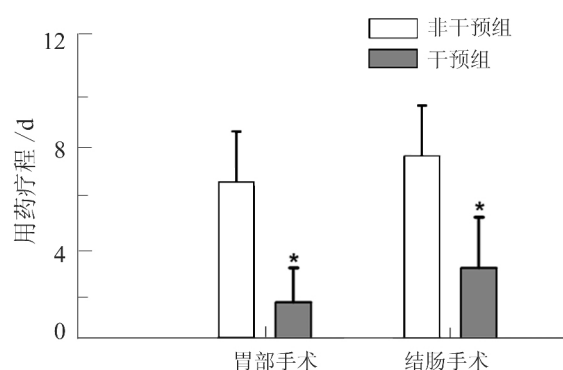


图1 胃部及结直肠手术术后预防用药疗程

与非干预组相比,^b $P < 0.05$

手术预防用药疗程控制在72 h内,干预组及非干预组SSI发生率无差别。见表7。

2.4 费用情况 干预性研究结果表明,规范围术期抗菌药物的使用能降低患者的住院总费用和药品总费用,但差异不明显,无统计学意义($P > 0.05$);干预组抗菌药物费用较非干预组费用明显减少($P < 0.05$),一定程度降低了患者的负担。具体情况见表8。

3 讨论

3.1 围术期抗菌药物使用更为合理 非干预与干预组对比,抗菌药物在胃部及结肠手术围术期的应用差异明显。胃部手术应选择半衰期较短的头孢呋辛,术前仅用药一次难以覆盖整个围术期,因此根据胃部手术特点及预计手术时间,术前提前将第2剂抗菌药物提交手术室备用。若术中未用,手术结束后随患者带回病房。结直肠手术由于选择半衰期较长的头孢曲松,几乎能有效覆盖整个围术期,无需提前将第2剂抗菌药物提交手术室备用。在多学科合

表 7 干预组及非干预组的 SSI 发生率

[n(%)]

胃部手术	SSI		结直肠手术	SSI	
	非干预组(<i>n</i> = 78)	干预组(<i>n</i> = 77)		非干预组(<i>n</i> = 80)	干预组(<i>n</i> = 79)
胃病损切除术	2(2.56)	1(1.30)	Dixon 手术	4(5.00)	4(5.06)
胃癌根治术	1(1.28)	1(1.30)	乙状结肠病损切除术	3(3.75)	2(2.53)
胃部分切除术	1(1.28)	2(2.60)	直肠病损切除术	3(3.75)	2(2.53)
胃溃疡修补术	1(1.28)	1(1.30)	降结肠病损切除术	2(2.50)	3(3.80)
胃修补术	1(1.28)	1(1.30)	右半结肠切除术	1(1.25)	3(3.80)
胃空肠吻合术	1(1.28)	1(1.30)	Miles 手术	1(1.25)	1(1.27)
胃大部切除术	1(1.28)	1(1.30)	横结肠病损切除术	1(1.25)	1(1.27)
全胃切除术	1(1.28)	0(0)	左半结肠切除术	1(1.25)	0(0)
贲门病损切除术	0(0)	0(0)			

表 8 干预组及非干预组费用情况

(元, $\bar{x} \pm s$)

手术	分组	住院总费用	药品费用	抗菌药物费用
胃部手术	非干预组	28 365.2 ± 12 304.2	10 965.2 ± 5600.5	843.4 ± 345.5
	干预组	27 323.7 ± 13 563.2	9 035.2 ± 4 789.3	261.9 ± 190.0 ^b
结直肠手术	非干预组	37 865.9 ± 14 865.3	15 798.5 ± 7 200.5	1 658.7 ± 930.8
	干预组	36 469.3 ± 19 863.2	15 021.8 ± 9 632.4	385.4 ± 235.6 ^b

与非干预组比较, ^b*P* < 0.05。

作模式的干预下,干预组的初次给药时机均控制在术前 0.5 ~ 1 h,合理率提升至百分之百,术中追加及术后预防用药疗程均更加合理。围术期预防性应用抗菌药物应根据手术部位常见病原菌和抗菌药物的抗菌谱、不良反应及药动学特征来选用。迅速起效是预防用药的基本要求之一,所以临床上应推荐应用杀菌剂而非抑菌剂^[6-8]。本次调查结果显示,头孢菌素类是我院预防用药最多的抗菌药物,以第 2、3 代为主,在多学科合作模式下干预组的抗菌药物选择更为合理。合理应用抗菌药物是医院药学科参与临床合理用药的重要内容,作为临床药师应充分发挥其在抗菌药物监控中的作用,以尽早实现医院应用抗菌药物安全、有效、经济和合理^[9-11]。通过术科医师、麻醉医师和临床药师等多个科室人员的干预,胃部及结直肠手术预防应用抗菌药物的多项指标均有明显改善,证明了我院的干预措施是有效的。

3.2 SSI 发生率无明显差异 干预性研究结果显示,干预组与非干预组在 SSI 发生率无明显差异(*P* > 0.05)。胃部手术预防用药无需联合应用抗厌氧菌药物,且疗程控制在 48 h 以内;结直肠手术预防用药疗程控制在 72 h 内,能有效预防术后 SSI。Dixon 手术因涉及手术范围较大,其 SSI 发生率更高,这也提示临床医师应当更重视对此类手术感染的预防。

3.3 抗菌药物费用下降明显 干预组较非干预组相比,住院费用和药品总费用均有所降低,尤其是抗菌药物的费用明显降低(*P* < 0.05)。可见,干预性研究的开展,一定程度减轻了患者的经济负担。同时干预性研究的开展对涉及科室临床医师的用药习惯产生了不少影响,使得科室医师在抗菌药物预防使用方面更加谨慎和合理。

4 结论

药师所接受的教育模式决定其在参与临床药物治疗中明显缺乏基础医学、临床医学和医疗文书等方面的相关基础知识,这是药师不被临床医师认可的一个重要原因。因此,当务之急便是加强临床药师临床相关知识的补充。这对药师成功地走向临床,成长为一个名副其实的临床药师将是非常必要的^[12-13]。本课题的临床药师为通过卫生部规范化培训的抗感染临床药师,通过充分发挥自身专业优势,对胃肠外科各手术围术期抗菌药物使用给出合理建议,协助该科医师进行单病种规范地制定及临床路径的建立。临床医师、临床药师和麻醉师以及其他相关专业技术人员之间,形成互补合作的良性临床用药与干预制约关系,共同承担患者药物治疗的责任和保护患者的用药权益。

MDT 团队在胃部及结直肠手术预防性应用抗菌药物中共同完成干预性研究,得到了医院领导及

科室主任的支持与配合,取得了良好的效果。通过由临床药学、胃肠外科和麻醉科等多学科合作模式下开展的干预性研究,规范了胃部及结肠直肠手术围术期抗菌药物的合理使用。可见,多学科合作模式的开展也有助于临床药师在医院工作中找到新的方向,进一步体现出临床药师价值^[14-16]。

随着研究的进行,MDT 过程变得程序化,且效率较高,相信随着样本量的不断增大,MDT 讨论内容会不断深化,产生一些实践性更强、临床效果更好的建议和手段。如下一步多学科合作小组计划开展快速康复外科在胃癌手术中的相关研究,目前正处于讨论完善阶段。

【参考文献】

- [1] 中华国际医学交流基金会 PMDT 专业委员会. 多学科疼痛管理组织构建的专家共识 [J]. 临床麻醉学杂志, 2017, 33(1): 84.
- [2] 张业繁, 蔡建强. 结肠直肠癌肝转移多学科综合治疗协作组模式的规范化实施 [J]. 中国实用外科杂志, 2016, 36(4): 396.
- [3] 吴琳, 叶峥嵘, 卢健, 等. 临床药师干预清洁手术围术期预防应用抗菌药物的对比分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(3): 580.
- [4] 郭林, 吴小妹. 抗菌药物专项整治活动对我院胃部及结肠直肠手术围术期预防用药的影响 [J]. 中国药房, 2014, 25(26): 2407.
- [5] 周玲, 刘仕莲. 清洁手术围术期抗菌药物预防性使用分析 [J]. 医药前沿, 2013(27): 87.
- [6] 付兴娟. 围术期合理应用抗生素不良反应的观察与护理 [J]. 医学信息, 2015(13): 356.
- [7] 刘洪涛, 苏静, 韩正学. 口腔颌面外科围术期预防性应用抗菌药物干预对照研究 [J]. 中国药房, 2011, 22(46): 4346.
- [8] 王宗所. 抗菌药物的临床应用合理性研究 [J]. 中外健康文摘, 2013(2): 119.
- [9] 吴萍, 王明丽, 邹素兰, 等. 外科围术期预防性应用抗菌药物干预对照研究 [J]. 中国药房, 2010, 21(10): 889.
- [10] 吴萍, 王明丽, 邹素兰, 等. 临床药师在内分泌科抗菌药物合理应用中的工作模式及作用 [J]. 临床合理用药杂志, 2014, 7(7): 160.
- [11] 王敏. 临床药师在医院抗菌药物管理中的实践与思考 [J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(12): 92.
- [12] 赵燕芬, 保泽庆, 刘慧. 基于基层药师培养的临床药物治疗学课程建设研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(11): 80.
- [13] 胡小玲. 临床药师参与临床工作模式及临床实践经验分享 [J]. 药品评价, 2016, 13(1): 50.
- [14] 李影影, 王烨, 孙艳萍, 等. 临床药师在老年患者多学科诊疗模式中的作用 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(4): 501.
- [15] 谢茜, 马正良, 陈正香, 等. 临床药师在多学科疼痛管理团队中的作用及工作模式 [J]. 药学与临床研究, 2015, 23(3): 331.
- [16] 王婷. 近两年临床药师参与院内多学科会诊的工作效果分析 [J]. 中国药业, 2015, 24(17): 59.

(2017-05-31 收稿)

比阿培南药物利用评价标准的建立及应用

王丽昕, 王可可, 李玲, 张茜, 葛敏 (南京医科大学附属苏州医院药剂科, 苏州 215008)

【摘要】 目的 通过药物利用评价(DUE)方法评价某院比阿培南临床应用情况,为促进临床合理使用比阿培南提供参考。方法 随机抽取2015年7月至2017年6月使用比阿培南的187例病历,依据建立的DUE标准进行回顾性分析。结果 ①用药指征:适应证符合标准率98.4%,有禁忌证占5.3%;②用药过程:实验室指标监测符合标准率62.0%(生命体征、病原学、全血和白细胞、肝肾功能监测符合率标准分别为100%、80.7%、82.4%、82.9%),有用药相互作用的占4.3%,用法用量、溶媒、特殊人群、疗程和联合用药符合标准率100%;③用药结果:治疗有效率85.6%,不良反应监测符合标准率95.2%;④管理指标:病程记录符合标准占95.7%,会诊、处方权符合率100%。结论 比阿培南的临床使用存在一定问题和不足,建立比阿培南DUE标准可用于规范比阿培南的临床使用。

【关键词】 比阿培南; 药物利用评价; 药物利用评价标准

【文献标志码】B

【文章编号】1007-4406(2018)05-0338-05

【DOI】10.19577/j.1007-4406.2018.05.011

【基金项目】 苏州市科技发展规划(编号SYSD2015145)

【第一作者】 王丽昕(1988-),女,药师。研究方向:临床药学。E-mail:wlxyjk@163.com



药物流行病学杂志

CHINESE JOURNAL OF PHARMACOEPIDEMIOLOGY

国家科技部中国科技论文统计源期刊

中国科技核心期刊

WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊

湖北精品期刊

ISSN 1005-0698
CN 42-1333/R

郭林

中国药学会系列期刊
第27卷 2018年2月

主要栏目

- 临床用药与评价
- 中药注射剂再评价研究
- 药物警戒与安全用药
- 药物利用与药物经济学
- 临床药师与用药监护
- 指南·标准·规范·共识
- 述评·综述·论坛
- 病例报道·病案分析

02 2018

ISSN 1005-0698



9 771005 069002



中国药学会

CHINESE PHARMACEUTICAL ASSOCIATION

惠州地区 3 家综合医院 2015 ~ 2016 年细菌耐药情况分析

郭林¹ 谢豪² 刘光明³ 杨水平¹

(1. 惠州市第一人民医院药学部, 广东惠州 516003; 2. 惠州市第六人民医院;

3. 广东惠州市中心人民医院)

摘要 目的: 了解 2015 ~ 2016 年惠州地区三家综合医院临床分离菌的分布和耐药特征, 指导临床合理使用抗菌药物。方法: 收集惠州地区 3 家综合医院临床分离菌及其药敏试验结果, 对细菌类型分布、菌株来源分布、细菌耐药结果等数据采用 WHONET 5.6 软件进行统计分析。结果: 2015 ~ 2016 年 3 家医院临床分离株共 25 193 株, 革兰阳性菌和革兰阴性菌分别占 25.3% 和 74.7%。葡萄球菌中耐甲氧西林金葡萄菌 (MRSA) 和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌 (MRCNS) 的检出率分别为 38.4% 和 80.6%, 未检测出对利奈唑胺和万古霉素耐药的葡萄球菌属。肠杆菌科细菌对亚胺培南的敏感率达 98.4%。肠球菌中发现 0.4% 对万古霉素耐药菌株。非发酵菌对 9 种抗菌药物敏感率均超过 60%, 其中铜绿假单胞菌对阿米卡星和庆大霉素的敏感率超过了 90%; 铜绿假单胞菌其对抗菌药物的耐药率明显低于不动杆菌。结论: 耐甲氧西林葡萄球菌和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌仍是革兰阳性菌中所占比例最高的细菌, 碳青霉烯类药物对肠杆菌科细菌虽保持较高的活性, 但是敏感率已经有所下降。对细菌耐药性进行定期监测, 有助于了解惠州地区病原菌构成及细菌耐药性的变迁, 从而为临床合理用药提供理论依据。

关键词 药敏试验; 细菌耐药性; 抗菌药物; 合理用药

中图分类号: R378 文献标识码: A 文章编号: 1005-0698(2018)02-0122-04

Analysis of Bacterial Resistance in 3 Hospitals from Huizhou City 2015 to 2016

Guo Lin¹, Xie Hao², Liu Guangming³, Yang Shuiping¹

1. Department of Pharmacy, Huizhou First Hospital, Huizhou 516003, Guangdong, China;

2. Huizhou Sixth Hospital; 3. Huizhou Central Hospital

ABSTRACT Objective: To investigate the distribution and antimicrobial resistance spectrum of clinical bacterial isolates in three hospitals from Huizhou City, 2015-2016, thus guided rational use of antibiotics clinically. **Methods:** The antibiotic sensitivity of bacteria isolated from three hospitals in Huizhou were collected, the types of bacterial, origin of isolates, status of drug resistance were analyzed by WHONET 5.6 software statistically. **Results:** A total of 25 193 pathogenic strains were clinically isolated in those three hospitals from 2015 to 2016, 25.3% and 74.7% of which were gram-positive and gram-negative bacteria respectively. Detection rates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* (MRCNS) were 38.4% and 80.6% respectively and no strain of *Staphylococcus* resistant to vancomycin or linezolid was found. The sensitive rates of the *Enterobacteriaceae* to imipenem reached 98.4%. In *Enterococcus spp*, vancomycin resistant strains accounted for 0.4%. The sensitive rates of the fermentation bacteria to all 9 kinds of drugs were over 60%. From them, *Pseudomonas aeruginosa*, sensitive rates of which to amikacin and gentamycin were over 90%, had a much lower drug resistance rate to antibiotics than *Acinetobacter*. **Conclusion:** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* (MRCNS) were gram-positive bacteria which still had a Highest proportion. Carbapenem antibiotic was still highly reactive to *Enterobacteriaceae* bacteria but drug resistance rate increased slightly. Periodic monitoring of bacterial resistance contributed to understand the changes of the composition of pathogenic bacteria and bacterial resistance in Huizhou thus provided a theoretical basis for rational antimicrobial therapy.

KEY WORDS Drug sensitive test; Bacterial drug resistance; Antibacterial agents; Rational drug use

抗菌药物在临床的广泛使用使得细菌对抗菌药物的耐药性日益严重。细菌耐药性已成为当前全球

关注的公共卫生问题^[1,2], 具有时间性和地域性的特点^[3]。因此通过监测本地区细菌耐药性, 及时了

基金项目: 惠州市科技计划项目(编号: 2015Y082)

通讯作者: 郭林 Tel: (0752) 2883702 E-mail: 125370691@qq.com

解临床分离菌对抗菌药物的敏感性,能够有针对性地指导临床合理使用抗菌药物。本文对 2015 ~ 2016 年惠州地区 3 家综合医院临床分离菌及其耐药性监测结果进行统计分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

收集 2015 年 1 月 1 日 ~ 2016 年 12 月 31 日广东省惠州地区 3 家综合医院(中心人民医院、第一人民医院、第六人民医院)的临床标本分离菌株(剔除同一患者相同部位的重复菌株)。

1.2 药敏试验

采用自动化仪器法或纸片扩散法按统一方案进行细菌药敏试验,依据美国临床和实验室标准协会(CLSI) 2016 年版标准^[4]判定药敏试验结果。采用 CLSI 2016 年版判断标准推荐的 ESBLs 纸片筛选法和酶抑制药增强纸片确证法测定大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌和奇异变形菌中产超广谱 β 内酰胺酶(ESBLs) 株。用苯唑西林测定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA) 和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)。

1.3 统计分析

对获得的 3 家医院的临床分离菌类型分布、菌株来源分布、细菌耐药情况等数据,采用 WHONET 5.6 统计软件进行统计分析。

2 结果

2.1 细菌及其分布

3 家医院 2015 ~ 2016 年共收集 25 193 株细菌,其中革兰阳性菌 6 368 株,占 25.3%,革兰阴性菌 18 825 株,占 74.7%。菌株主要来源于呼吸道标本、分泌物、尿液和血液,分别占 49.1%,26.7%,17.0% 和

7.9%。三家医院的标本分布比例为 5.1:1.6:1。

在革兰阳性(G^+) 菌中金黄色葡萄球菌属 2 989 株,占 11.9%,肠球菌属 1 134 株,占 4.5%;革兰阴性(G^-) 菌占前两位的是大肠埃希菌和铜绿假单胞菌,分别为 5 671 和 3 988 株,占 22.5% 和 15.8%。常见的 G^+ 和 G^- 菌前 8 位分布见表 1。

表 1 25 193 株细菌中居前 8 位的菌种分布构成比

细菌	菌株数(<i>n</i>)	构成比(%)
大肠埃希菌	5671	22.5
铜绿假单胞菌	3988	15.8
克雷伯菌属	3530	14.0
金黄色葡萄球菌属	2989	11.9
不动杆菌属	1770	7.0
肠球菌属	1134	4.5
其他肠杆菌属	979	3.9
链球菌属	963	3.8

2.2 主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药率

2.2.1 葡萄球菌属 3 家医院于 2015 ~ 2016 年共收集葡萄球菌 3 673 株,其中金黄色葡萄球菌 2 989 株,凝固酶阴性葡萄球菌 684 株,两者的比例为 4.4:1。在 2 989 株金黄色葡萄球菌中,检出 MRSA 1 147 株,检出率为 38.4%,3 家医院的 MRSA 比例为 2.5:0.7:1。在 684 株凝固酶阴性葡萄球菌中检出 MRCNS 551 株,检出率为 80.6%。药敏试验结果显示,MRSA 和 MRCNS 对 β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类和喹诺酮类抗菌药物的敏感性均显著低于甲氧西林敏感株,且 MRSA 对上述药物的耐药率较 MRCNS 更高。MRSA 对复方磺胺、环丙沙星耐药率为 7.0%,11.4%,MRCNS 对利福平的耐药率为 16.3%。甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA) 和甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌(MSCNS) 对除青霉素外的大部分测试药物仍较敏感。监测未发现对利奈唑胺和万古霉素耐药的葡萄球菌属。葡萄球菌属的耐药率见表 2。

表 2 葡萄球菌属细菌对抗菌药物的耐药率

抗菌药物	金黄色葡萄球菌(2989 株)				凝固酶阴性葡萄球菌(684 株)			
	MRSA (<i>n</i> = 1147)		MSSA (<i>n</i> = 1842)		MRCNS (<i>n</i> = 551)		MSCNS (<i>n</i> = 133)	
	株数(<i>n</i>)	耐药率(%)	株数(<i>n</i>)	耐药率(%)	株数(<i>n</i>)	耐药率(%)	株数(<i>n</i>)	耐药率(%)
青霉素	1147	100.0	1645	89.3	551	100.0	98	73.7
氨苄西林	1147	100.0	42	2.3	227	41.2	2	1.5
头孢西丁	1147	100.0	15	0.8	296	53.7	3	2.2
庆大霉素	196	17.1	107	5.8	260	47.2	5	3.8
克林霉素	418	36.4	216	11.7	163	29.6	72	54.1
红霉素	464	56.7	164	8.9	317	57.5	65	48.9
环丙沙星	93	11.4	140	7.6	209	37.9	15	11.3
利福平	103	12.6	92	5.0	90	16.3	1	0.8
复方磺胺	57	7.0	149	8.1	283	51.4	10	7.5
利奈唑胺	0	0	0	0	0	0	0	0
万古霉素	0	0	0	0	0	0	0	0

2.2.2 肠球菌属 三家医院共收集肠球菌 1 134 株,均未发现对利奈唑胺和替考拉宁耐药菌株。三家医院的肠球菌对红霉素、利福平和四环素等几种抗菌药物高度耐药。见表 3。

表 3 肠球菌属细菌对抗菌药物的耐药率

抗菌药物	肠球菌(1134 株)	
	株数(n)	耐药率(%)
青霉素	435	38.4
氨苄西林	163	14.4
利福平	1013	89.3
环丙沙星	416	36.7
红霉素	1052	92.8
利奈唑胺	0	0
万古霉素	5	0.4
替考拉宁	0	0
奎奴/福达普丁	948	83.6
四环素	909	80.2

2.3 主要革兰阴性菌对抗菌药物的耐药率

2.3.1 肠杆菌科细菌 在分离所得的 10 180 肠杆菌科细菌中,大肠埃希菌 5 671 株占55.7%,肺炎克雷伯菌 3 530 株占34.7%。其中产 ESBLs 的大肠埃希菌株和肺炎克雷伯菌株分别占各自的52.3%和31.9%。三家医院的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、肠杆菌属三种菌株数量比分别为4.9:2.8:1,4.5:

3.2:1和3.8:1.2:1。药敏试验结果显示,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对庆大霉素,头孢他啶和亚胺培南的耐药率在百分之五十以下,对其他药物的均保

持较高的耐药性。其中产 ESBLs 的菌株比非产 ESBLs 菌株的耐药性显著更高。其他肠杆菌属相比于大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌其耐药性相对较小,对大部分的抗菌药物的耐药率均低于 50%。肠杆菌科的耐药率见表 4。

2.3.2 非发酵革兰阴性杆菌 非发酵革兰阴性杆菌 6 309 株中,铜绿假单胞菌占56.3%,不动杆菌属占27.1%,嗜麦芽窄食单胞菌占16.6%。铜绿假单胞菌对阿米卡星和庆大霉素较为敏感,耐药率只有 1.4%和5.5%。不动杆菌属细菌对药物的敏感性均要低于铜绿假单胞菌,但其耐药率均未超过 50%。嗜麦芽窄食单胞菌对复方磺胺甲噁唑的耐药率最低,只有 2.9%。非发酵革兰阴性杆菌耐药率见表 5。

3 讨论

本研究中,2015~2016 年三家综合医院收集的标本以 G⁻菌为主,G⁺菌中以葡萄球菌属为主。呼吸道标本占49.1%,比分泌物等其他的标本均高,这在一定程度上代表了呼吸道感染在惠州地区较为常见^[8]。

三家医院的葡萄球菌属和肠球菌属对利奈唑胺、万古霉素和替考拉宁依然保持着较高的敏感性。目前国内并未发现对万古霉素耐药的金黄色葡萄

表 4 肠杆菌科细菌对抗菌药物的耐药率

抗菌药物	大肠埃希菌(5671 株)				肺炎克雷伯菌(3530 株)				其他肠杆菌属 (979 株)	
	ESBLs ⁺ (n = 2963)		ESBLs ⁻ (n = 2708)		ESBLs ⁺ (n = 1127)		ESBLs ⁻ (n = 2403)			
	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)
庆大霉素	1464	49.4	848	31.3	541	48.0	103	4.3	96	9.8
氨苄西林	2957	99.8	1804	66.6	1112	98.7	2312	96.2	920	94.0
哌拉西林	2895	97.7	1622	59.9	1085	96.3	245	10.2	382	39.0
氨苄西林/舒巴坦	2536	85.6	1427	52.7	1076	95.5	389	16.2	441	45.0
头孢他啶	1153	38.9	73	2.7	524	46.5	72	3.0	256	26.1
头孢吡肟	1757	59.3	68	2.5	621	55.1	62	2.6	117	11.9
亚胺培南	12	0.4	16	0.6	32	2.8	43	1.8	55	5.6
环丙沙星	2021	68.2	910	33.6	633	56.2	151	6.3	117	11.9
复方磺胺甲噁唑	1964	66.3	1313	48.5	826	73.3	377	15.7	190	19.4

表 5 非发酵革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药率和敏感率

抗菌药物	铜绿假单胞菌(3988 株)		不动杆菌(1770 株)		嗜麦芽窄食单胞菌(551 株)	
	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)	株数(n)	耐药率(%)
哌拉西林	630	15.8	347	19.6	-	-
哌拉西林/他唑巴坦	674	16.9	625	35.3	-	-
头孢他啶	554	13.9	589	33.3	130	23.6
头孢吡肟	626	15.7	602	34.0	-	-
亚胺培南	726	18.2	504	28.5	-	-
阿米卡星	56	1.4	297	16.8	-	-
庆大霉素	219	5.5	662	37.4	-	-
左氧氟沙星	459	11.5	565	31.9	59	10.7
复方磺胺甲噁唑	746	18.7	628	35.5	16	2.9

注“-”表示无数据。

球菌(VRSA),临床上已经有关于异质性万古霉素中介的金黄色葡萄球菌(hVISA)使临床万古霉素治疗失败的病例报道^[8]。在一项基于中国 14 所教学医院的调查中,2007 年分离的 1 012 株 MRSA 中,hVISA 占 13% ~ 16%^[9]。在今后的工作中应高度关注 VRSA。

20 世纪 70 年代以前,肠球菌被认为是一种容易实施抗菌药物治疗且相对无害的病原体,但是近年来肠球菌已经逐渐成为院内感染的重要病原菌,且临床分离的肠球菌对抗菌药物的耐药性也在逐年增加,尤其是耐万古霉素肠球菌(VRE)^[8]。三家医院所收集的肠球菌对青霉素和氨苄西林的敏感性仍较高,耐药率只有 38.4% 和 14.4%,但仍发现 5 例对万古霉素耐药的肠球菌,使临床上抗菌药物的选择面临着巨大挑战,这也提示临床应注意万古霉素的合理使用。临床医生应当严格掌握抗菌药物使用指征,充分认识 VRE 感染的风险。

在肠杆菌科细菌中,大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌属和其他肠杆菌属的检出率分别为 54.5%、34.0% 和 11.5%。通过了解医院临床分离肠杆菌科细菌的分布及耐药性,可以为临床抗感染治疗提供直接的依据。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素敏感性减低是目前国际上的研究热点之一^[8,10]。目前为止肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素仍高度敏感,但耐药率有所上升,这可能与细菌产生的 KPC 酶有关^[11,12]。研究发现肠杆菌科细菌对大部分的抗菌药物高度耐药,但对庆大霉素和头孢他啶的耐药率低于 50%,提示可在这 3 家医院配备一定量的该类抗菌药物。非发酵革兰阴性杆菌尤其是铜绿假单胞菌,作为医院感染最常见的菌种之一,其对亚胺培南耐药率有所提高^[13],这可能与频繁使用该类药物有关。随着侵袭性诊疗技术的不断发展以及广谱抗菌药物的广泛使用,嗜麦芽窄食单胞菌临床分离率日益增多,已成为医院感染尤其是重症监护室(ICU)内感染的重要病原菌^[14]。复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星对该类菌属保持较高的敏感性。应结合临床资料,密切关注嗜麦芽窄食单胞菌感染。

本研究表明,细菌耐药现象在这 3 家医院乃至整个惠州地区均有加重的趋势,应引起高度重视。为了减少细菌耐药性的增长,在抗菌药物的监管,合理应用均应有所加强。只有合理使用抗菌药物,积

极控制院内感染的发生,才能有效遏制细菌耐药性上升的势头。

参 考 文 献

- 1 吴峰,岳文婧,廖伟东,等. 2009-2010 年惠州地区细菌耐药性监测与分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(4): 817-819
- 2 谢强,曹明杰,陶良萍,等. 安徽省滁州地区 2013 年细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(2): 167-170
- 3 糜祖煌. 细菌耐药的分子机制 [J]. 临床儿科杂志, 2005, 23(7): 422-424
- 4 Clinical Laboratory Standard Institute. Performance and standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. M100-S19, CLSI, 2016
- 5 杨坤祥,严伟玲,罗晓琳. 惠州地区婴幼儿鲍曼不动杆菌 462 株感染的耐药性分析 [J]. 现代医院, 2013, 13(10): 49-51
- 6 廖康,陈冬梅,曾燕,等. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌的检测与分析 [J]. 中国临床实用医学, 2008, 2(12): 4-5
- 7 陈宏斌,王辉,孙闻嘉,等. 2007 年中国 14 个城市异质性万古霉素中介耐药的金黄色葡萄球菌分子特征 [J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(11): 1223-1227
- 8 张静,喻玮,赵丽娜,等. 我国细菌耐药现状与特征 [J]. 中华临床感染病杂志, 2016, 9(2): 118-128
- 9 胡付品,朱德妹,汪复,等. CHINET 监测 2010 年碳青霉烯类抗生素耐药肠杆菌科细菌的分布特点和药物敏感性 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(1): 1-7
- 10 李冬梅,李小云. 2013 年我院多重耐药菌的分布及耐药性分析 [J]. 药物流行病学杂志, 2015, 24(6): 368-371
- 11 吕月蒙. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的分子特征、耐药机制及药物发现 [D]. 北京: 北京协和医学院博士学位论文, 2015
- 12 钱成兰,王萍,赵水娣,等. 我院 2010-2012 年住院患者细菌耐药监测及抗菌药应用分析 [J]. 药物流行病学杂志, 2014, 23(4): 242-248
- 13 闫少珍,孙自镛,陈中举,等. 2005-2014 年华南科技大学同济医学院附属同济医院细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(2): 165-178
- 14 何卡乐,刘弘,魏伟,等. 2008-2012 年医院临床分离铜绿假单胞菌的耐药性分析 [J]. 中国药师, 2014, 17(1): 128-130

(2017-09-28 收稿 2017-11-06 修回)

国际标准连续出版物号: ISSN 1007-1865

国内统一连续出版物号: CN44-1238/TQ

半月刊 创刊于1974年

广东化工

Guangdong Chemical Industry

全国石油和化工行业优秀期刊一等奖

《中国核心期刊(遴选)数据库》全文收录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

美国《化学文摘》(CA)重点收录期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

广东省优秀科学技术期刊

2020 **16**
8月下半月刊

第47卷(总第426期)

主办单位: 广东省石油与精细化工研究院

佛山市华联有机硅有限公司

FOSHAN HUALIAN ORGANOSILICON CO., LTD



本公司是一家专业从事有机硅产品研究、开发、生产的股份合作企业, 曾是国内第一家中外合资的有机硅公司, 为我国的有机硅事业的发展做出了卓有成效的贡献。为了确保最终的产品满足顾客的要求, 我们已于2001年成功导入ISO9001:2000质量管理体系, 对原材料选购到成品出厂以及售后服务整个过程进行持续的监控, 确保最终的产品满足顾客的要求。

ISSN 1007-1865



地址: 广东省佛山市三水区乐平镇三水中心科技工业园B区13号

电话: 0757-87388188 传真: 0757-87381986

华东地区总代理: 上海海谊化工有限公司

电话: 021-52915425

E-mail: fos757@vip.163.com <http://www.hlyjg.com>

广东化工

Guangdong Chemical Industry

第47卷 第16期 8月下半月刊
(总第426期)

1974年创刊 (半月刊)

刊号 ISSN 1007-1865
CN 44-1238/TQ

- 全国石油与化工行业优秀期刊一等奖
- 高、中级化工职称资格评审认定刊物
- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

主 管: 广东省科学院

主 办: 广东省石油与精细化工研究
院

社 长: 麦裕良

出版发行:《广东化工》编辑部

发行范围: 国内外公开发刊

地 址: 广州市越秀区越华路116号

邮 编: 510030

电话/传真: (020) 83302517 83336009

在线投稿: <http://www.gdchem.com>

电子邮箱: gdcic200@163.com

广告经营许可证号: 440000100138

印 刷: 广州一龙印刷有限公司

订 购: 全国各地邮局、所

邮发代号: 46-211

出版日期: 2020年8月30日

邮局全年定价:

国内480元; 国外384美元

公告: 经广东省新闻出版局批准同意,
本刊从2012年7月开始变更为半月刊。

目 次

◆ 试验与研究

- 1 CO等离子体还原 CaSO_4 的研究 杨猛, 刘代俊, 江成发
- 6 铜、锰共掺杂 ZnO 的合成 李慧勤, 邓翠, 闫绍天, 等
- 8 硝酸铁改性活性炭对六价铬离子吸附性能研究 郭璇, 赵昊星
- 10 氮中一氧化氮、二氧化碳气体标准物质的研制 周阳, 尹强, 叶丽芳, 等
- 12 高锌粉含量水性环氧防腐底漆的制备与性能研究 关有俊
- 15 对氨基苯酚的合成工艺优化 毛东东, 王思雨, 张磊
- 17 蓝莓醇提物体外抗氧化的研究 劳军, 王楠楠
- 18 响应面优化微波水热法制备木质素酚羟基的研究 谭非, 邱礼彬
- 21 水杨酸分子印迹聚合物分子识别性能的研究 朱安宏, 徐丹, 杨蕾, 等
- 24 柠檬酸蒸发控制仿真研究 郭林樵, 张雷
- 28 一种高含量羟基积雪草苷在化妆品中的应用 廖文贵, 崔龙生, 湛彩艳, 等
- 31 精馏装置操作的研究 聂莉莎
- 33 6-甲基-4-羟基香豆素的合成研究 舒泉湧, 郭晨, 麻纪斌, 等
- 35 电化学聚合薄膜作为隔离层用于提高有机电致发光二极管的性能 王蓉, 陈晓华, 陈志刚, 等
- 38 碳量子点的绿色合成及荧光性能研究 许宇婷, 曾芊英, 郭龙, 等
- 41 纳米碳酸钙粉体性质对其悬浮体系流变性能的影响 景亭
- 43 桔梗多糖的提取工艺及抗氧化性研究 陈俊波, 符秀娟
- 45 超声-微波优化提取碱蓬花青素及其稳定性研究 李煦, 冀志芳, 徐美
- 47 热电模块提高太阳能蒸馏器运行温度的实验研究 黄开涛, 王文豪, 卢俊宇, 等
- 50 金纳米流体在太阳能海水淡化中的研究 高肇扬, 黄熠玉
- 53 低温、弱光、缺氧及恢复培养对铜绿微囊藻生理生长的影响 何德炬
- 58 保健食品钙维生素D维生素K咀嚼片的成型工艺研究 陈亮, 杜朝东, 刘洁瑜, 等
- 61 蔗糖高效转化研究 刘丽来, 孙艺涵, 李德民, 等
- 63 钽水杨酸硫代脯氨酸配合物对小鼠的 LD_{50} 和骨髓细胞微核实验研究 张林, 章亮, 肖圣雄, 等
- 65 散粉扫描电镜和能谱仪观察及成分分析 王志秀, 易文才
- 67 基于ABAQUS的某国六碳罐爆破失效及优化分析 杨良波, 孙长周, 黄佳佳, 等
- 71 盾构泥浆现场处理技术效果分析 余承晔, 余洪强, 邱紫迪, 等
- 75 高速公路服务区加油站油品销量预测模型研究 曾文豪

◆ 专论与综述

- 76 中国西北地区聚氯乙烯产业分析研究 黄振宇, 李渊
- 78 生物质气化燃气中焦油采样方法的研究进展 江洪明, 黄桂林
- 81 耐老化聚丙烯的研究进展 孔令光, 陈超文, 霍伟智
- 83 单氟烯烃的合成研究进展 谢丽梅, 张雪红, 贺益苗
- 86 锂离子电池高镍低钴正极材料的研究进展 忽小宇, 李子坤, 任建国, 等
- 91 掺杂型分等级多孔碳材料的制备及有机污染物吸附的研究进展 瞿山凤, 刘志森, 李泽胜, 等
- 93 水环境中微塑料分布现状及特征研究进展 刘洁, 代雨, 姚全威, 等
- 95 四妙散临床应用探析 徐贵涛, 谢颖, 肖欢, 等
- 96 CD133在恶性肿瘤中的表达特点及与上皮间质转化关系的研究进展 吴晨晨, 陈玉强
- 98 贵州省医疗机构制剂现状调查与分析 张志宇, 童红, 李克林
- 100 浅谈化学领域审查中“提炼检索”的重要性 翟燕燕

◆ 环境保护

- 102 基于臭氧氧化的水处理技术氧化垃圾渗滤液研究进展 袁瑞庆, 陆东蛟, 徐滕
- 106 污水处理厂清洁生产审核中的节能方案分析 黄成彬
- 110 利用白腐真菌固定生长系统去除污水中的新型污染物 李雪晴
- 113 PPP模式下农村生活污水治理的思考与建议——以山西省天津市农村生活污水综合利用PPP项目为例 李成梁
- 115 聚硅硫酸铁的制备及其在氧化铁生产废水中的应用研究 孙晓庆, 周志祥, 杜松松
- 117 三维电极处理印染废水的试验研究 李宝闻
- 119 壳聚糖/蒙脱石复合材料在染料废水治理中的应用研究进展 何辉艳, 曾荣英, 唐文清, 等

- 121 多金属硝酸盐/污泥复合材料处理酱香型酒酿造废水的研究 陈丽东
123 ORP 在某采选矿废水处理中的应用 周杰, 黄海, 高宝钗, 等
125 含炭高密度沉淀池/臭氧催化氧化工艺处理化工污水厂二级出水试验研究 李赞泽, 马立志, 郭超, 等
127 潮州某焚烧厂渗滤液处理调试案例 王孝友
129 有铬钝化零排放工艺的探索 张乐
132 城市污泥的处理以及资源化利用 张晨, 李学文
134 污泥堆肥过程温度与酶活性动态变化规律研究 杨立敏
137 蚯蚓处理造粒污泥的实验研究 雷旭阳, 崔广宇, 张志华, 等
140 重庆市主城 2017~2018 年生活饮用水和水源水中 TOC 监测与水质评估 付渝森, 江珊珊, 冯琳, 等
142 兰州市室内积尘重金属污染评价 尚婷婷, 张亚群, 张昉

◆ 设计与装备

- 144 某精细化学品生产线过滤器的改进设计与应用 姚宏, 姜凯, 胡炳超, 等
145 硫酸装置第 II 蒸发器腐蚀分析及改进措施 刘洪武, 李长存, 赵生豪, 等
147 立式钢制常压储罐底板声发射在线检测应用研讨 刘文锁
149 溴化锂吸收式热泵机组 ASPENPLUS 流程模拟 朱竑卫, 姚鹤, 李建仓, 等
151 一起夹套反应釜封头接管开裂事故原因分析与处理 王乾
153 乐东气田海底管道通球卡堵原因分析及改进措施 谢厚斌, 齐宝宝, 李日成, 等

◆ 分析测试

- 156 引入 DOTP(对苯二甲酸二辛酯)对 DINP(邻苯二甲酸二异壬酯)进行快速定量的方法研究 关恩浩, 刘新玲, 郑碧瑜
159 铜精粉中常量金原子吸收法测定 乔拉·那青
161 高效液相色谱法测定氯霉素碱的对映异构体杂质 罗恒真, 张均平, 兰月香, 等
163 HPLC 法测定香连化滞丸中厚朴酚含量 覃亮, 陈逸武, 杨晶琦, 等
165 火焰原子吸收法测定火电厂废水重金属铜、锌、铅、镉的方法验证 吴小琴, 王峰, 王靓
168 工业用二乙二醇杂质含量分析-气相色谱法 王正程, 张文杰, 刘委, 等
170 微波辅助 FAAS 法测定不同季节大新苦丁茶中四种重金属含量 何业江, 韦光雪, 陆丽怡, 等
172 GC 测定复方甘草口服溶液中乙醇和甘油含量 杨娜, 朱健萍, 卢日刚
174 农药残留检测仪校准规范编制说明 许俊斌, 陈瑞欢, 吴武杰
175 冷原子吸收法测定尿中汞的不确定度评定 左书瑞, 王芬, 张婷, 等

◆ 教学教改

- 177 成人高等教育《化工分离工程》教学改革的几点思考 臧杨, 张淮浩
178 “新工科”建设背景下化工原理实验的教学改革与实践 吴方棣, 杨自涛, 范荣玉, 等
180 化学化工类专业教育与德育协同育人的探讨 杨海华, 阎建辉, 李华
182 基于微课的混合学习模式在高校化工专业课程的教学改革应用 张昆明, 陆小菊, 黄永春, 等
184 分析化学理论课程线上教学探索 周文, 邓渺朵, 严志红, 等
185 基于超星学习通有机化学在线教学体会 赵明, 许玉荣, 杨玉
187 高校化学实验室安全管理现状及其对策研究 赵志伟, 管航敏
189 基于考研为导向的有机化学教学改革及探索 代盼盼, 董洁雅, 常文贵, 等
191 化学反应工程双语教学的探索 尚建平, 王娇娜, 郝世雄
193 《有机合成》课程教学实践与探索 陈爱华
194 《合成氨》富媒体教材的资源建设与应用研究 李森, 孙娜, 尤彩霞, 等
196 以科研为牵引提升物理化学教学质量初探 马成海, 曹红翠, 李长顺, 等
198 “线上+线下”混合式教学模式在物理化学实验中的应用 曹红翠, 马成海, 孙春艳, 等
199 电化学原理课程“由简入繁”与“由繁化简”的教学设计 刘万民, 秦壮兰, 王伟刚, 等
201 运用参与式教学方法, 培养大学生创新精神的研究——以“化学原电池”教学为例 黄玉梓, 陈进, 陈晓婷, 等
204 药物化学实验课程中融入课程思政的探索与实践 王玉青, 张建业, 季红, 等
205 基于工程教育专业认证的《水环境化学》实验教学改革研究 王小兵, 李明, 汪晓丽, 等
207 海洋环境化学课程的教学改革探究 公晗
208 新冠疫情期间生物化学实验课在线学习的探索与实践 武顺妹, 邵文尧
210 专业认证背景下化学师范生教育实践能力培养 申有名, 杨名, 张向阳, 等

投稿指南

《广东化工》为半月刊, 国内外公开发行, 征稿范围: 石油化工、医药化工、农药化肥、电化学、化工设计及装备、日用化工、食品化工、化工环保、工业水处理、涂料与油墨、胶粘剂、生物化工、燃气化工等学科和行业科技类文章。

投稿方式:

1. 在线投稿

为确保稿件即时到达编辑部, 并确保作者联系电话、通讯地址等信息准确、完整, 投稿请上网使用本刊“在线投稿系统”, 稿件将在第一时间获得处理。

在线投稿网址: www.gdchem.com

2. 邮箱投稿、查询(若“在线投稿”不成功, 可使用邮箱投稿)

投稿 Email: gdcic200@163.com

投稿邮件主题: 第一作者名/稿件题目

《广东化工》理事会

理事长:

麦裕良(广东省石油与精细化工研究院院长)

理事:

李安喜(中石化集团公司茂名石化公司

经理, 党委书记)

陈炳琳(茂名新华粤石化股份有限公司

董事长兼总经理)

崔茹平(中山凯达精细化工股份有限公司

副总经理)

邵建聪(茂名环星炭黑有限公司 总经理)

吴年发(广东寰球广业工程有限公司 董事长)

黄志红(广东南方碱业股份有限公司 董事长)

杨益新(广州农药厂 厂长)

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我社上述声明。

- 211 建设助力乡村振兴服务型分析检测实验室探究 何燕, 曾慧婷
213 地方应用型本科制药工程专业“线上+线下”实习模式探讨 程玉洁
214 在医药商品学课程中开展课程思政的探讨 拓田田, 李金金
215 《药物合成反应》线上学习的教学改革研究 刘臻, 张建业
216 利用“微信 APP”促进华法林用药安全的探索与实践 谷娟, 黄怡, 王玉和, 等
218 PBL 教学在危重病医学中的应用与探讨 张伟, 金灿, 伍琳琳
219 绿色制药理念下的制药工艺课程建设思考 赵宙兴
220 药物制剂工程技术与设备课程的特点与教学体会 贵永光, 孔繁晟
221 新型冠状病毒肺炎疫情下临床医学线上教学面临问题的初步探讨 桂士良, 崔腾腾, 赵健, 等
223 新国标背景下地方院校药学本科专业对标建设情况分析 廖梅
——以嘉应学院医学院为例
226 基于实验项目将 ICP-MS 应用于实验教学 杨丽婷, 李菊, 王静, 等
229 弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践 徐英辉, 申茹
231 创新创业教育背景下的地方高校生物工程专业综合实验课程教学改革与实践 李启庚, 付跃, 覃拥灵
233 浅谈病原微生物实验室安全问题与对策 张伟深, 刘秋娜, 吴美茹, 等
234 微生物生态学教学实践环节设计与实现 张晓娟, 陆震鸣, 柴丽娟, 等
237 虚拟仿真技术在蛋白质测定实验教学中的应用研究 张莹, 王卓, 方响, 等
239 新工科背景下研究型高分子材料与工程专业实验的教学探索 赵晨, 洪浩群, 刘佳, 等
240 新工科人才培养理念下的《功能高分子材料》课程教学改革与实践 巫运辉, 吴文剑
242 “课程思政”视域下高分子材料与工程专业导论课程教学改革探索 吴芳
244 一般本科院校能源与动力工程专业实践教学方法探讨 冯耀勋, 郑晓峰
246 基于“双体系”下的新能源实验实践教学体系建设研究 赖国霞, 陈星源, 徐祥福
247 疫情下食品工艺学实验课程在线教学的研究探索 魏帅, 毛伟杰, 刘书成, 等
249 基于 OBE 理念的《食品分析》课程设计 张永清, 肖付刚, 李光辉, 等
251 食品类专业研究生课程《现代仪器分析》教学改革初探 刘亚月, 杨志友, 聂芳红, 等
253 翻转课堂结合项目驱动式教学方法在“水处理概论”课程中的应用 李张伟
255 BOOC 理念下高校环境工程专业课的教学探索与实践 张晶, 满悦芝, 潘立卫, 等
258 基于“云课堂”的课程混合教学模式的构建与实践——以《化妆品设备使用与维护》课程为例 熊文明, 李拥军, 谢彩玲, 等
259 基于翻转校园与腾讯课堂的混合式教学模式在《生理学》教学中的应用 尚曙玉, 胡晓凤, 郑梦晓, 等
261 化妆品科学与技术专业表面活性剂课程的教学改革与探索 伍春娟
262 空气调节课程教学改革探讨 贾莉斯
264 疫情防控期间《生物化学》课程在线教学实践的初探 赵宏霞, 廖问陶, 傅明辉, 等
266 《材料工艺与设备》教学改革探索 董汉武, 郑明涛, 张学杰, 等
268 半翻转课堂教学模式的研究与实践——以高中化学学习题课为例 黄俊生

◆ 综合

- 272 纳米粒子在家庭水处理中应用 裴祺昊, 陈志华
274 进口含钼物料的表征和鉴别探讨 阮贵武, 郝雅琼, 张学梅, 等
277 药品生产过程中质量风险产生的原因及应对 何建辉
278 缺陷可控卤氧化铋材料的构筑及光催化性能研究进展 范文杰
283 中国半透膜材料专利技术分析 张濛, 王晶晶, 时彦卫
286 有机磷农药简介及其检测方法 马先发
287 埃洛石负载氨基磺酸胍对聚丙烯阻燃性能的影响 郝明正, 吕钊霞, 李萍, 等
289 2019 年南宁市碘缺乏病监测结果分析 罗密芳, 凌峰, 屈志强, 等
292 2019 年某高校食用农产品质量安全情况分析 林瑾

◆ 其它

《广东化工》投稿须知(前插一) 广告索引(248)

《广东化工》欢迎投稿 欢迎订阅

在线投稿: www.gdchem.com

邮箱投稿: gdcic200@163.com

本期基金项目论文 (共 72 篇)

- P6 铜、锡共掺杂 ZnO 的合成
P10 氮中一氧化氮、二氧化碳气体标准物质的研制
P18 响应面优化微波水热法制备木质素酚羟基的研究
P21 水杨酸分子印迹聚合物分子识别性能的研究
P35 电化学聚合薄膜作为隔离层用于提高有机电致发光二极管的性能
P41 纳米碳管/聚合物复合膜对悬浮体系流变性能的影响
P45 超声-微波优化提取藏花青素及其稳定性研究
P47 热电模块提高太阳能蒸馏器运行温度的实验研究
P61 蔗糖高效转化研究
P63 钽水杨酸磺胺嘧啶配合物对小鼠的 LD₅₀ 和骨髓细胞微核实验研究
P65 散粉扫描电镜和能谱仪观察及成分分析
P78 生物质气化燃气中焦油采样方法的研究进展
P83 单氟烯烃的合成研究进展
P91 掺杂型分等级多孔碳材料的制备及有机污染物吸附的研究进展
P93 水环境中微塑料分布现状与特征研究进展
P95 四妙散临床应用探析
P98 贵州省医疗机构制剂剂况调查与分析
P119 壳聚糖/蒙脱石复合材料在染料废水治理中的应用研究进展
P121 多金属硝酸盐/污泥复合材料处理酱香型酒酿造废水的研究
P129 有铬钝化零排放工艺的探索
P144 某精细化学品生产线上过滤器的改进设计与应用
P163 HPLC 法测定香连化滞丸中厚朴酚含量
P170 微波辅助 FAAS 法测定不同季节大新苦丁茶中四种重金属含量
P174 农药残留检测仪校准规范编制说明
P177 成人高等教育《化工分离工程》教学改革的几点思考
P178 “新工科”建设背景下化工原理实验的教学改革与实践
P180 化学化工类专业教育与德育协同育人的探讨
P182 基于微课的混合学习模式在高校化工专业课程的教学改革应用
P184 分析化学理论课程线上教学探索
P185 基于超星学习通有机化学在线教学体会
P189 基于科研为导向的有机化学教学改革及探索
P191 化学反应工程双语教学的探索
P194 《合成氨》富媒体教材的资源建设与应用研究
P196 以科研为牵引提升物理化学教学质量初探
P198 “线上+线下”混合式教学模式在物理化学实验中的应用
P199 电化学原理课程“由简入繁”与“由繁化简”的教学设计
P201 运用参与式教学方法, 培养大学生创新精神的研究——以“化学原电池”教学为例
P204 药物化学实验课程中融入课程思政的探索与实践
P205 基于工程教育专业认证的《水环境化学》实验教学课程改革研究
P208 新冠疫情期间生物化学实验课在线学习的探索与实践
P210 专业认证背景下化学师范生教育实践能力培养
P211 建设助力乡村振兴服务型分析检测实验室探究
P215 《药物合成反应》线上学习的教学改革研究
P216 利用“微信 APP”促进华法林用药安全的探索与实践
P218 PBL 教学在危重病医学中的应用与探讨
P219 绿色制药理念下的制药工艺课程建设思考
P221 新型冠状病毒肺炎疫情下临床医学线上教学面临问题的初步探讨
P223 新国标背景下地方院校药学本科专业对标建设情况分析 与对策——以嘉应学院医学院为例
P226 基于实验项目将 ICP-MS 应用于实验教学
P229 弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践
P231 创新创业教育背景下的地方高校生物工程专业综合实验课程教学改革与实践
P234 微生物生态学教学实践环节设计与实现
P237 虚拟仿真技术在蛋白质测定实验教学中的应用研究
P239 新工科背景下研究型高分子材料与工程专业实验的教学探索
P240 新工科人才培养理念下的《功能高分子材料》课程教学改革与实践
P242 “课程思政”视域下高分子材料与工程专业导论课程教学改革探索
P244 一般本科院校能源与动力工程专业实践教学方法探讨
P247 疫情下食品工艺学实验课程在线教学的研究探索
P249 基于 OBE 理念的《食品分析》课程设计
P251 食品类专业研究生课程《现代仪器分析》教学改革初探
P253 翻转课堂结合项目驱动式教学方法在“水处理概论”课程中的应用
P255 BOOC 理念下高校环境工程专业课的教学探索与实践
P258 基于“云课堂”的课程混合教学模式的构建与实践——以《化妆品设备使用与维护》课程为例
P259 基于翻转校园与腾讯课堂的混合式教学模式在《生理学》教学中的应用
P261 化妆品科学与技术专业表面活性剂课程的教学改革与探索
P262 空气调节课程教学改革探讨
P264 疫情防控期间《生物化学》课程在线教学实践的初探
P266 《材料工艺与设备》教学改革探索
P268 半翻转课堂教学模式的研究与实践——以高中化学学习题课为例
P274 进口含钼物料的表征和鉴别探讨
P278 缺陷可控卤氧化铋材料的构筑及光催化性能研究进展
P287 埃洛石负载氨基磺酸胍对聚丙烯阻燃性能的影响

弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践

徐英辉, 申茹

(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000)

[摘 要] 本文从弹性学制下高职院校药学类专业实施学分制改革的创新与实践出发, 分析弹性学制和学分制的内涵、高职院校推行弹性学制下学分制改革的意义, 探讨弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践的路径策略, 以期为深化高职院校的学分制改革提供理论支持和实践参考。

[关键词] 高职; 弹性学制; 学分制; 创新实践

[中图分类号] G4

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-1865(2020)16-0229-02

Reform, Innovation and Practice of Credit System of Pharmacy Specialty in Higher Vocational Colleges under Flexible School System

Xu Yinghui, Shen Ru

(Huizhou Polytechnic of Health, Huizhou 516000, China)

Abstract: Based on the flexible length of pharmacy specialty in higher vocational colleges to implement innovative practice of the reform of credit system, analysis the connotation of elastic educational system and credit system, the significance of the flexible length under the credit system reform in higher vocational colleges, under elastic length of schooling reform of credit system in higher vocational pharmaceutical engineering innovation and practice of the path of the strategy, so as to deepen the reform of the credit system in higher vocational colleges to provide theoretical support and practical reference.

Keywords: higher vocational education; flexible academic system; credit system; innovation practice

《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010~2020 年)》对高等教育实施学分制提出了明确要求: 深化教学改革, 推进和完善学分制, 实行弹性学制, 促进文理交融; 注重因材施教, 关注学生不同特点和个性差异, 发展每一个学生的优势潜能; 推进分层教学、走班制、学分制、导师制等教学管理制度改革, 积极创新人才培养模式, 促进高等教育人才培养质量的提高^[1]。2019 年以来, 高职院校大批量扩招, 不同生源在成长背景、学习经历、学习基础、年龄阶段、认知特点、发展愿景等方面存在很大的差异性, 传统学年制下固定学习时间、统一培养计划、固定学习进程的培养模式已无法满足高职院校学生的需求。探究高职创新教育思路, 实施弹性学制下学分制管理, 有必要从多学科维度进行研究, 以期为深化高职院校的学分制改革提供理论支持和实践参考。

1 弹性学制和学分制的内涵

1.1 学分制

学分制是以选课为基础, 通过学分和绩点衡量学生学习质量的综合教学管理制度。学分制最早起源于美国哈佛大学, 与导师制、班建制并称三大教育模式^[2]。学分制在大学应用较为广泛, 相对于传统的学年制, 学分制更加自由灵活。学生可以根据自身的兴趣爱好、专业方向、知识结构等因素进行自主选课。学校可以通过因材施教的方式, 提升学生的专业知识, 加强学生的专业素养的培养。学分制的教学管理制度中, 学生修够最低学分, 才可以参加毕业考试, 这对学生学习的主观能动性要求甚高。学分制作为一种教学管理制度, 蕴含着个人本位、学习自由、个性发展的教育理念, 所以, 学分制改革是高职教学改革重中之重, 不但需要先进的教育理念支撑, 更加需要加强改革实施的逐步推进。

1.2 弹性学制

现阶段高职院校的学习期限多为 3 年, 实施弹性学制下学分制改革, 修学年限可延展为 2~5 年。学分制的实施需要弹性学制支撑, 弹性学制是学分制的具体体现。相对学年制而言, 学习年限的伸缩性是弹性学制的最大特点, 学生可以自主选择学习内容, 自主安排学习时间、学习进度, 通过完成必修、选修课程提前毕业, 亦可滞后毕业。学习过程和顶岗实践项交替, 即可工学结合、半工半读, 分阶段的完成学习任务。弹性学制可以拓展教育在时间和空间上的伸缩性, 最大限度的满足生源对教育选择的差异化、多样化、个性化的需求, 体现了现代高等教育的民主性和开放性的学习方式^[3]。

2 高职院校推行弹性学制下学分制改革的意义

2.1 树立现代职教理念, 突出职教特色

国务院发布的《国家职业教育改革实施方案》指出, “加快推进职业教育国家‘学分银行’建设, 从 2019 年开始, 探索建立职业教育个人学习账号, 实现学习成果可追溯、可查询、可转换。”这明确表明, 职业院校实施弹性学制下的学分制改革是职业教育发展的必经之路, 高职院校通过实施学分制改革, 形成灵活可变的弹性学制, 为今后国家建立“学分银行”, 推行学分积累、学习成果认定和学分转换积累经验、探索路径^[4]。

2.2 满足学生个性需求, 促进多元发展

近年来, 随着高职院校大批量扩招, 不同生源之间差异明显。学生的价值取向呈现多元化发展趋势, 对个性的追求更加显著, 兴趣爱好更加不同。弹性学制和学分制可以满足学生个性发展和价值多元的需求, 差异化的人才培养方案、灵活自主的选课制度, 赋予学生课程的选择权、授课教师的选择权、学习方式的选择权、专业的选择权、升学考证的选择权, 充分调动学生学习的主动性, 培养学生自主学习和创新实践能力。

2.3 调动教师积极性, 提高教育教学质量

推行弹性学制下的学分制改革, 学生可以根据兴趣爱好、课程简介、教师评价等因素, 自主选择选修课程。如果课程教学内容落后、教师教学方法陈旧, 不能激发学生的学习兴趣, 势必影响下一届学生的选课率。所以, 作为教师, 必须不断审视改进自己的教学, 更新教学观念、补充前沿知识、改进教学方法, 满足学生个性需求, 只有这样, 教学质量才能不断的提高。

2.4 深化校企合作, 提高人才培养质量

实施弹性学制和学分制, 在人才培养方案的制定上与用人单位对接^[5], 充分调研岗位需求, 凝练职业能力, 校企深度合作, 实现教学目标与职业能力的无缝对接。同时, 合作企业根据学生的需要, 随时提供顶岗实习, 跟岗见习, 毕业就业等机会, 并获得相应的学分, 促进校企深度合作, 适应应用型高职院校建设发展需求。

3 弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践

我院 2012 年开办高职药学专业, 随后陆续成功申报中药、

[收稿日期] 2020-07-08

[基金项目] 2018 年度广东省高职教育食品药品类专业教指委教育教学改革项目(2018SYY01)

[作者简介] 徐英辉(1985-), 女, 黑龙江省龙江县人, 硕士, 主要研究方向职业教育教学管理。

药品服务与管理、药品生产技术三个专业,现已形成以“大药学”为主体,以药品服务与管理、药品生产技术为两翼的崭新药学专业群。现阶段我省尚无制定统一的高职药学类专业弹性学制和学分制教学标准,本文以惠州卫生职业技术学院高职药学专业群为例,探究弹性学之下的学分制教学管理体系,在教学管理文件的制订中突出弹性学制,在课程资源配置上突出选修制,药学类各专科学分互认,逐步建立起满足个性化人才培养需要的药学类专业教学管理运行机制。具体教学改革措施如下:

3.1 规范教学管理,搭建理论框架

为保证学分制与弹性学制的规范运行,学院先后出台了一系列制度,如《药学类专业弹性学制与学分制实施细则》、《药学类专业学分互认制度》、《药学类专业选修课管理制度》、《药学类专业弹性学籍管理办法》、《药学类专业导师制管理办法》、《药学类专业重修管理办法》、《药学类专业基础课辅修制管理办法》等管理文件,建立学分制与弹性学制良性运行机制,满足学生自主选择课程、授课教师、上课时间、学习安排。

3.2 构建学分制下模块式课程体系,落实因材施教

以高职教育人才培养目标为引领,以职业能力培养为核心,以弹性学制下学分制改革为抓手,修订药学、中药学、药品服务与管理、药品生产技术专业人才培养方案,科学构建课程体系(人文社科模块、职业基础模块、职业技能模块、专业选修模块、公共选修模块、临床见习及毕业实习等模块),在注重培养适合岗位需要,具有良好的职业道德和人文素养,掌握理论知识、职业技能的高素质技能人才,重视学生的个性发展,学生通过自主选择课程,开发潜能、提升能力。

3.3 优化资源配置,提高选修课教学质量

硬件上,配置足够的教室、实训室等教学场所,在教学设施上满足选修课程开课的需求;根据选修课类别、选课人数和开课时间的要求,配套相应的图书信息资料及教学与实验实训物资;搭建相应的专业教学网络平台,满足学生线上自主学习课程或教授课后线上答疑辅导的需要。软件上,依托学院 C R P 管理系统,以信息平台 and 数字信息平台实现学生选课的全面管理。有效解决选修课程信息的发布、精品课程资源、课程主讲教师简介、课时安排、课程考核方式、重新选课或二次补选等问题,使学分制与弹性学制实现了信息化,提高教学管理效率。

3.4 推行专业导师制,引导学生科学合理的选修课程

为防止学生盲目选课、偏重就轻、人文社科课程与专业课程比例失衡,每个班级由药学专业教师担任导师,学生入学即由专业导师进行选课指导,内容包括:选课制度、专业概况、

培养目标、就业方向、课程体系、专业文化、考证升学等,有效的解决学生对专业不理解、对课程不熟悉、对学分制认识不够等问题,保证选课的效率和质量。

3.5 量化考核标准,健全评价机制

用学分和平均学分绩点双重评价指标,衡量学生学习的质量^[6]。学分与平均学分绩点相结合,可以保证学生学习的质量,可作为学生评优评先的重要依据,激发学生学习的主动性和积极性。此外,为提高学生的实践操作能力,学生在校期间参加药学类专业竞赛获得的各项名次,可以兑换学分。在学习和实习过程中,实行评价主体多元化、评价形式多样化,形成以学校考核与药企考核、过程考核与结果考核、主观考核与客观考核、教师考核与学生相互评价并重,并与药学专业相关的职业技能鉴定考核标准相衔接的评价体系,力争将一般职业能力、关键能力和专业能力进行综合的全方位考核,有力提高学生的综合竞争力。

4 结语

综上,高职院校实施弹性学制下的学分制改革是职业教育发展的必经之路,是适应市场经济发展、突出职教特使的需要,是满足学生个性需求、促进多元发展的需要,同时也是深化校企合作,构建产教融合协同育人体系的需要。高职药学类专业实施弹性学制下学分制改革创新与实践,体现了“因材施教”的现代教育理念,有利于调动学生学习的主动性、培养学生自主学习和创新实践能力,调动教师积极性、提高教育教学质量。

参考文献

- [1]李东娇,刘秀娥.高职院校学分制和弹性学制实施研究[J].苏州教育学院学报,2014(6):96-98.
- [2]魏欢,胡顺义,李微波.高职院校学分制改革的行为模式及其实现路径[J].职教论坛,2019(10):149-150.
- [3]莫逊.高校学分制改革最终选择:弹性学制[J].教育教学论坛,2015(35):117-118.
- [4]汪治.职业院校实施学分制是应有之义[J].河南教育,2019(5):12-15.
- [5]游美琴.高职弹性学制和学分制改革的困境与对策[J].职教论坛,2010(23):11-13.
- [6]孙百鸣,赵宝芳,杨桦.高职院校实行学分制与弹性学制面临的问题与对策[J].成人教育,2009(11):73-75.

(本文文献格式:徐英辉,申茹.弹性学制下高职药学类专业学分制改革创新与实践[J].广东化工,2020,47(16):229-230)

(上接第 233 页)

3.3 建立健全应急预案和机制

实验室安全负责人应高度重视实验室安全,必须制定科学、合理的实验室应急预案,病原微生物污染事件的特殊性,更有必要制定特定的应急处理措施。预案中应详细列出可能出现的各种情况,一旦出现事故时有正确的应急措施和意外事故的处理方法^[2]。

3.4 病原微生物风险评估

加强病原微生物实验室的生物安全风险评估和管理是减少和避免实验室感染发生的关键^[5]。对实验环境、器械、设备进行抽样检测,同时,根据微生物可能给人和环境带来的危害进行评估的结果,制订操作规程、管理制度和防范措施等,预防实验室感染。

3.5 加强实验室废弃物的安全管理

加强实验室环境和实验器材的消毒和灭菌工作,加强对实验废弃物的管理^[6]。实验过程中产生的废弃物的处理是控制实验室生物安全的关键环节必须明确掌握生物安全废弃物的分类原则,并严格执行相应的处理程序,避免实验室或环境污染,进而保证人员的生命财产安全和实验研究的顺利进行。

4 小结

实验室生物安全是关系到高等学校教学、科研事业的发展,关系到社会大环境的安全。无论是实验室的管理者还是使用者,都应从思想上高度重视,建设上合理规划,管理上严格监督,使

用上细致科学。只有合理科学规范的管理,才能够安全高效有序地开展工作。为培养专业人才奠定基础,也给学生树立良好的严谨工作榜样,为社会输送实用型人才具有深远的影响和意义。

参考文献

- [1]徐华,李超群.病原微生物实验活动中的生物安全风险评估[J].健康必读,2019(13):273.
- [2]肖颖,曹倩,周亚滨.高校病原生物学实验室安全工作探讨[J].智库时代,2018(32):270-272.
- [3]彭华松,刘闯,谢亚萍,等.高校实验室病原微生物管理现状调查及对策[J].微生物学通报,2019,46(06):1549-1554.
- [4]李广武,王娅.加强《临床微生物检验》实验教学生物安全管理的探讨[J].教育现代化,2018,5(27):348-349.
- [5]张雪茹.浅谈病原微生物实验室生物安全[J].河南职工医学院学报,2010,22(4):163-165.
- [6]潘越,吴林根.高校微生物教学实验室的安全管理探讨[J].安全与环境工程,2018,25(04):119-122.

(本文文献格式:张韦深,刘秋娜,吴美茹,等.浅谈病原微生物实验室安全问题与对策[J].广东化工,2020,47(16):233)

中国期刊方阵双效期刊
国家级医学教育类学术期刊
全国卫生职业教育研究会会刊

ISSN 1671-1246
CN 62-1167/R

卫生职业教育

HEALTH VOCATIONAL EDUCATION

6

上半月版
半月刊

2021年

Vol. 39 NO. 11



ISSN 1671-1246



11>

中国核心期刊(遴选)数据库统计源期刊
中国期刊全文数据库(CJFD)全文收录期刊
中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊
中文科技期刊数据库全文收录期刊



1983-2021

主管 甘肃省卫生健康委员会

顾问 孙兆文

总 编 任 晖

社长 / 副总编 黄 刚

编 辑 《卫生职业教育》编辑部

出 版 兰州卫生职业教育杂志社
有限责任公司

通讯地址 兰州市东岗西路 60 号

邮政编码 730000

网 址 www.wszyjy.com.cn

投稿邮箱 wszyjyzh@163.com

咨询电话 0931-8266171

0931-8271279

传真号码 0931-8263485

社长电话 0931-8279881

印 刷 兰州正泰印刷有限责任公司

国内发行 兰州市邮政局

发行范围 国内外公开发刊

国内订阅处 全国各地邮政局(所)

国内邮发代号 54-85

国际标准刊号 ISSN1671-1246

广告发布登记号 620100008

国内统一刊号 CN62-1167/R

国家商标注册 第 606210 号

出版日期 每月 10 日 25 日

定 价 10.00 元

主 办 甘肃省医学科学研究院

全国卫生职业教育(中等医学教育)研究会会刊

除非特别声明,本刊刊出的所有文章
不代表本刊编委会观点

文章刊载后版权归《卫生职业教育》杂志所有
如有装订、印刷质量问题请寄本刊编辑部调换

期刊基本参数:CN62-1167/R*1983*16*160*zh*P*49*2021-11

卫生职业教育

WEISHENG ZHIYE JIAOYU

HEALTH VOCATIONAL EDUCATION 2021 年 6 月 Vol.39(Total566)No.11

目 次

● 高教研究

- 高等医学院校线上高效课堂的建设路径研究 孟 方,张 静,唐 晴,等 1
“双高计划”背景下高职院校中药生产与加工专业产学研一体化人才培养
模式研究 张建海,冯彬彬,易东阳 3

● 教育研究

- 企业师徒制对高职院校师徒制教学模式的启示 张正晶,刘爱萍,李 钦,等 6
疫情下中药学专业“云端教学”学期总结与思考 王鹏龙,李 文,袁枝花,等 8

● 党建与思想政治教育

- 基于典型案例库的病理学课程思政探索 王 静,吴红芳,张海燕,等 11
中成药应用课程融入思政教育实例 闫 晨 13
基于健康卫士理念的免疫学检验技术课程思政探索 郑 红,莫 非,聂志妍,等 15
人体解剖学课程思政教学体系建设初探 黄婉丹,宣爱国,陈飞裕,等 17
病原生物学实验课程思政的初步探索 林乐勋,商庆龙,王 慧,等 19
公共危机应对中高校思想政治教育路径探析 袁 萍,李笃武 21
医学院课程思政存在问题及解决路径 赵 珍,王 琼,刘星榆 23
高职护理专业心理健康课程实施课程思政的路径探索 陈 旭 26
临床医学专业病理学课程思政的探索与实践 杜月光,武 为 28

● 课程改革研究

- “三三三”实践教学内容体系构建及教学实施 戴翠萍,朱竹青,张玉红,等 30
基于 OBE 理念的中职推拿学教学探索 易明广,蔡荣潮,蔡丽慧 32
基于产教融合的药学专业教学改革方向 舒 阳,臧婧蕾,肖 兰,等 34
新时代高职院校思想政治理论课实践教学体系的探索与构建 王 景,谢孝红 36
基于职业能力的高职药学专业课程标准探究 徐英辉,申 茹,祁银德 38

● 教学评价

- 基于 CDIO 的进阶式中药炮制学实训教学评价模式研究 李 健,杨 棚,曹 音,等 41

基于职业能力的高职药学专业 课程标准探究

徐英辉,申 茹,祁银德

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516000)

摘 要:从高职药学专业课程标准研制的实践出发,分析将职业能力融入课程标准建设的必要性及课程标准与职业能力精细化对接需要解决的问题,探讨基于职业能力精细化对接的高职药学专业课程标准建设策略,尝试为高职药学专业建设提供课程标准指引。

关键词:高职药学专业;课程标准;职业能力

中图分类号:G420

文献标识码:A

文章编号:1671-1246(2021)11-0038-03

课程标准是规定某一学科的课程性质、课程目标、内容目标、实施建议的教学指导性文件。它是教育质量评价的主要依据,也是高职院校进行教学诊断与改进的重要基础。教育部《关于深化职业教育教学改革全面提高人才培养质量的若干意见》(教职成[2015]0156号)明确指出:省级教育行政部门要根据国

家发布的相关标准,组织开发具有地方特色的专业教学指导方案和课程标准,积极开发与国际先进标准对接的专业教学标准和课程标准^[1]。而职业能力是指人们在从事其职业过程中应具备的各种综合能力,具体包括专业能力、关键能力和社会能力^[2]。专业能力指从事某一职业时能胜任岗位工作的专业能力;关键

基金项目:广东省高职教育医药卫生类专业教指委 2018 年度教育教学改革项目(2018LX045)

一是课程实践。在思政课中设计实践教学环节,分为课内实践和课外实践。课内实践包括案例分析、主题演讲或辩论、情景剧表演等。课外实践包括阅读分享、走访参观、公益和调查活动等,例如,鼓励学生积极参加由校内外各级单位组织的公益活动和志愿者服务活动,通过参加卫生宣教、义诊服务、心理咨询、兴农、支农、义务助教等系列实践活动,提高学生思政课实践教学参与度,使学生进一步了解国情、省情,提高判断社会现象、认识分析社会问题和解决社会问题的能力。

二是专项实践。每学期由辅导员及思政课专职教师带队,组织学生赴黄继光纪念馆、双流云华村等实践教学基地,以考察学习的形式开展专项实践教学,感知国家进步与时代挑战,弘扬革命精神,引领学生积极投身民族复兴的伟大事业。

三是社会实践。寒暑假依托校外实践教学基地,充分挖掘地方德育资源,学生围绕经济建设、政治建设、文化建设、社会建设、生态文明建设、党的建设等确定调研主题,通过参观、调研、考察、社会服务、科技服务等形式开展社会实践活动。

四是网络实践。建立四川护理职业学院思想政治理论课网络教学平台,发布教学信息,与学生在课前、课后展开交流讨论,充实、丰富、深化课堂教学内容。

2.4 整合教育资源,夯实教学支撑体系

思政课实践教学支撑体系建设要立足院校,多元整合校内外自然资源、红色资源、文化资源、体育资源、科技资源、国防资源和企事业单位资源,尤其是符合地方发展和专业特点的特色教育资源。通过校地共建、校企共建等途径,围绕生命教育、价

值观教育、医德教育 3 方面进行实践教学基地建设,如爱国主义教育基地、新农村示范基地、区域经济发展示范基地、医疗新业态机构以及学院未来的校史馆等,丰富思政课教学内容,拓展思政课教学空间,改进思政课教学方式方法,增强学生体验感,推动思政课实践教学发展。

2.5 注重过程记录,完善效果评价体系

为确保思政课实践教学落到实处,必须注重对实践活动时间、地点、内容以及活动现场、活动认识、感受等基本要素的记录和呈现。采用过程与结果相结合、定性定量相结合的评价方法,利用包括学校、教师、学生、社会在内的多元评价主体,制定科学可行的思政课实践教学考核评价标准、具体实施方案和细则,建立立体、互动的反馈机制,最大限度反映实践教学真实情况与教学效果,不断完善实践教学方案。

参考文献:

- [1]习近平:用新时代中国特色社会主义思想铸魂育人 贯彻党的教育方针落实立德树人根本任务[N].人民日报,2019-03-19(01).
- [2]教育部.新时代高校思想政治理论课教学工作基本要求[Z].2018.
- [3]中共中央办公厅,国务院办公厅.关于深化新时代学校思想政治理论课改革创新的若干意见[Z].2019.
- [4]廖日文.确保每一个大学生都能参加社会实践[J].思想理论教育导刊,2011(1):111-115.
- [5]张丽.高职院校“思政课”实践教学体系的构建及相关创新模式研究[J].教育现代化,2019(12):124-126.

(* 通讯作者:谢孝红)▲

能力包括跨职业的专业能力、社会能力、方法能力和个人能力 4 个方面;社会能力指一般的学习能力、人际交往能力、团队协作能力、对环境的适应能力、文字和语言运用能力,以及遇到挫折时良好的心理承受能力。

基于职业能力精细化对接的高职药学专业课程标准,即对药学专业就业的岗位需求进行充分的调研与分析,构建专业的课程体系,依据工作内容,对接职业能力,优化选取教学内容及课程标准,对专业基础课、专业课进行精细化对接^[9]。在教学过程中积极推进课程标准的实施,优化教学模式,积极开展项目导向教学,做中学、学中做教学,案例分析式,问题讨论式等新的教学模式,进而拓展学生的专业综合素质与岗位适应能力^[10]。本文以惠州卫生职业技术学院药学专业为例,探讨基于职业能力精细化对接的高职药学专业课程标准建设策略,进一步推动高职药学专业职业教育的健康协调发展,系统培养适应新时期经济社会发展需要的药学技能型人才。

1 课程标准与职业能力精细化对接是职业教育发展的必然趋势

高职教育的培养目标是培养高素质技能型专门人才,注重对学生职业能力的培养,文化知识、专业知识是基础,而实践技能、应变能力则是竞争的有力保障^[11]。因此,为提高学生的综合能力,大力开展课程改革,将课程标准与职业能力精细化对接是职业教育发展的必然趋势。课程标准对高职教育教学具有指导性意义,其中包括课程定位与课程设计、课程目标、课程教学设计思路、课程实施条件及考核评价方式等,其在专业建设、教学改革方面起着至关重要的作用。同时课程标准也是高职教师、教育管理者开展教学研究、诊断与改进教学问题的基础,课程标准的建设亦是进一步深化“以服务企业发展为宗旨,以促进学生就业为导向,以职业能力提升为根本”的职业教学改革,关键在于精确分析专业岗位需求,提升学生职业能力,将课程教学目标与职业能力培养有机结合,努力提高课程的实用性、技能性和职业性,使学生的专业知识、实践技能同步提高,改革传统的教学方法,构建以职业能力培养为本位的专业课程体系,实现学生能力培养目标与用人单位岗位工作能力需要的紧密对接^[12]。

2 课程标准与职业能力精细化对接是市场需求的内在要求

将职业能力与课程标准精细化对接,是深化校企融合的有效途径,也能使所培养学生快速适应用人单位的需求,提高学生的综合竞争力^[13]。用人单位在招聘毕业生时,考核内容包括文化知识、专业知识,并且涵盖实践能力及学生分析问题、解决问题的灵活应变能力。而专业技能与职业能力中的一般职业能力相匹配,指在职业活动中不可缺少的能力,包括学习能力、人际交往、团队写作、实践操作能力。应变能力是职业能力中的关键,指对学生未来发展起关键作用,具有可迁移性的能力。由此可见,职业能力是企业对高职生的重要要求,知识理论水平高,但实践技能、应变能力低的学生是难以满足企业用人需求的。因此,培养职业能力是切实提高高职学生就业竞争力的有力手段。专业课程教学与企业职业岗位需求有效接轨,课程标准与职业能力精细化对接,高职院校课程教学目标与企业需求的职业能力相匹配,扎实开展以培养学生职业能力为目标的课程改

革和开发具有高职院校特色的课程标准是当务之急。

3 课程标准与职业能力精细化对接需要解决的关键问题

3.1 分析岗位需求,培养职业能力,实现教学目标与职业能力的无缝对接

分析岗位需求,对药企、医院、药检所进行深入调研,了解医药行业发展对药学专业人才的需求状况,了解市场需求变化和对人才的具体要求,准确剖析具体岗位如药品生产、药品调剂、药品检验等对药学专业学生职业能力的要求^[14]。针对专业培养目标及方向,适时调整专业人才培养方案,培养学生职业能力,加强校企、校院合作,共建校外实训基地,确保职业教育与当地社会发展和经济发展相适应,为药企、医院、药检所培养优秀的药学专业技能型人才。

3.2 将职业能力培养贯穿于整个专业课程体系,各门课程之间进行精细化对接^[15]

职业能力的培养不仅限于专业课程,更不限于某一门课,应将职业能力培养渗透到整个专业课程体系,包括文化基础课、专业基础课、专业课、专业选修课等。将职业能力细化到每一门课程中,各门课程相互独立又紧密联系,课程教学目标的制定对应职业岗位需求,具体职业岗位的职业能力需求有其层次关系,各课程教学目标也应体现其前后递进关系,教师应根据课程教学目标,设计教学模块。

3.3 转变教师、行企业专家观念,推进课程标准的建设与实践

现阶段,高职院校教师在授课过程中往往更加注重对理论知识的讲授,对工作岗位需求的分析甚少,没有把教学目标与职业能力联系起来,使得学生缺乏对工作岗位的认知,难以满足用人单位需求。为建立新的课程标准,需要充分调动教师积极性,根据人才规格要求和市场需求变化,有针对性地进行课程改革,促进职业教育服务行业的发展^[16]。同时,推进课程标准的建设需要行企业专家的大力配合,学校教师应深入企业调研、加强校企合作。校企合作包括校企联合申报横向课题,校企共同开发实训教材,教材内容要紧密结合岗位需求,教学内容要与岗位技能标准精细对接。

4 基于职业能力精细化对接的高职药学专业群课程标准建设策略

4.1 以行企业调研为基础,构建专业课程体系

对与药学专业紧密相关的药企、医院、药检所进行深入调研,认真听取用人单位对高职药学专业学生职业能力培养的建议,并深入了解药学专业毕业生对本专业人才课程体系知识结构、能力结构,课程设置和实习实践环节设置等方面的反馈意见。综合其对高职药学人才理论知识和实践技能的需求,确定专业面向的职业岗位(群)的主要工作要求,归纳若干个典型工作任务及其相应的职业能力,依据职业能力需求,构建专业课程体系,课程设置与学生今后就业方向相适应,课程内容选择服务于职业能力建构^[17]。

4.2 以职业能力培养为核心,确立课程教学目标

明确分析专业课程体系中各门课程与专业职业能力之间的关系,从而确定该课程可以培养学生哪方面的职业能力,最终确定课程的定位与设计思路、教学目标^[18]。课程目标包括具体的知识目标、技能目标、职业素质目标和态度目标,课程目标是

教师在课程教学设计与具体教学实施的重要依据。例如:药剂学是高职药学专业的核心课程之一,主要包括临床常用剂型的概念、特点、生产工艺流程、生产技术、质量控制,以及药物制剂的稳定性、药品调剂和药学服务等。高职药学专业学生毕业后可以在医院药房、药品生产企业、药品经营企业从事药品调剂、药品生产、药品经营等工作,需要具备临床各种常用剂型的制备及质量检查方法等职业能力。故在药剂学课程教学中,教师要对照职业能力,确定教学目标,细化教学要求。

4.3 以岗位能力需求为依据,确定课程教学内容

组建由药企、医院、药检所专家、课程专家等组成的课程建设指导委员会,对职业能力与岗位需求进行科学分析^[13],以典型项目为载体,将岗位工作内容与教学内容进行有机融合,将专业课程项目化、模块化。每个模块以任务的形式进行分解,明确知识目标、能力目标及态度目标,使学生在学习不同类型的课程后,逐步具备完成复杂项目所需的综合职业能力。对专业基础课、专业课进行精细化对接设计。例如:药物化学是药学专业的主干课程和专业课程,先修课程有无机化学、有机化学、生物化学、生理学等课程,学生学习本门课程需要有先期知识或技能,故在药物化学课程标准中对先修课程提出建议和要求:掌握杂环的分类、结构特点和命名,各类官能团的性质、水解反应、氧化反应、聚合反应、异构化反应、脱羧反应等反应原理等内容。实现专业课程与先修课程有机衔接,确定课程教学内容,进一步提升教学质量。

4.4 以学生为主体,设计课程教学方法

积极推进基于能力精细化对接的高职药学专业群课程标准的实施,探索符合高职特色的新型教学模式,如项目化、理实一体化、案例式、问题讨论式等新的教学模式^[14];强化学校、药企、医院、药检所的合作内涵,提高人才培养的针对性,进而拓展学生专业综合素质与岗位适应能力。在教学过程中,坚持以学生为主体,以职业能力提升为目标的教學理念,运用现代化信息教育手段,设计灵活多样的教学方法。采取任务驱动模式,通过任务驱动,带动学生查阅资料,指导学生制订工作计划,引导学生对计划进行可行性分析,然后由学生做出决策并实施计划,教师进行指导答疑。例如:在药物分析课程中“维生素C颗粒的含量测定及质量检查”内容,采用项目教学法,设计药检所对药品检测的情景,与教学内容的实训项目相匹配。这些实训项目因为和实际工作联系紧密,所以极大地调动了学生的学习热情,同时进一步提高了学生的实际操作能力,培养了学生的团队合作精神。

4.5 以专业技能提升为目标,建立考核评价体系

课程考核是高职院校教学活动的重要环节之一,除了要对学生的专业知识进行考核,更要重视对学生实践技能、应变能力的評價。改革以往的将期末考试等同于课程考核的方式,将学生课堂学习、实训操作、完成作业的全过程纳入考核范畴,以提升学生专业技能为目标,建立科学的考核评价体系^[15]。在考核过程中,引导学生主动思考、积极探索,培养学生的自主学习能力。要做到评价主体多元化、评价形式多样化,形成以过程考核与结果考核,主观考核与客观考核,学校考核与药企、医院、药检所考核,教师考核与学生相互评价并重,并与药学专业相关

的职业技能鉴定考核标准相衔接的评价体系。力争将一般职业能力、关键能力和专业能力进行全方位考核,有力提高学生的综合竞争力。

5 结语

开展基于职业能力精细化对接的高职药学专业课程标准探究,可以解决当前高职院校药学专业课程教学内容体系存在的重理论、轻实践,重知识、轻运用,重系统、轻能力等问题。将职业能力融入课程标准的研究又是一項系统、长期的项目,需要学校、药企、医院和社会共同推进。对职业能力的培养应始终贯穿于教育教学过程中,应融入每一门课程的课程标准中,职业能力与课程教学项目及评价标准精细化对接,使得学生职业能力不断积累并向职业能力提升过渡^[16]。课程标准必须在充分调研和实践研究的基础上逐渐建立起来,并随社会和企业的需求变化不断完善和改进,从而推动高职药学专业教育改革的深入,提高人才培养质量,真正实现职业院校人才培养与企业需求的精准对接。

参考文献:

- [1]席东梅.筑牢职业教育发展之根基:专家解读《关于深化职业教育教学改革全面提高人才培养质量的若干意见》[J].中国职业技术教育,2015(25):10-14.
- [2]陈晓兰.基于职业能力的高职课程标准建设与实践[J].教育教学论坛,2018(34):234-236.
- [3]覃国蓉,何涛.高职课程标准建设的探索与实践[J].中国职业技术教育,2012(8):72-75.
- [4]陆远蓉,许喜斌.基于手持智能终端的高职教学模式改革探析[J].职教论坛,2015(14):64-68.
- [5]陈晓兰.基于职业能力的高职课程标准建设的必要性和策略研究[J].卫生职业教育,2018,36(5):4-5.
- [6]景萌,李宏昌.高职院校课程建设质量标准开发和设计研究:以贵州省高职院校为例[J].职业技术教育,2019,40(29):17-22.
- [7]周茂东,张福堂.高职专业课程体系构建探析:兼评高职经济类专业教学标准中的课程体系[J].职业技术教育,2013,34(14):19-22.
- [8]沈惠惠.基于职业标准的高职院校课程改革困境与出路[J].教育与职业,2019(5):105-108.
- [9]周茂东,张福堂.从“课程体系与核心课程”看高职专业教学标准的修订[J].职业技术教育,2015,36(28):33-36.
- [10]鲁文娟,金一强.协同创新、内涵衔接的中高职三二分段衔接专业标准与课程标准研究[J].教育与职业,2015(22):89-91.
- [11]李继红.对接职业标准的高职中药学专业课程体系构建[J].辽宁农业职业技术学院学报,2016,18(6):12-14.
- [12]蔡扬帆.对高职药学教育的几点看法[J].卫生职业教育,2015,33(14):22-23.
- [13]于永军,陈俊荣,刘清新,等.高职药学专业“双主体”育人模式的探究与实践[J].中国医药导报,2017,14(1):125-128.
- [14]马仁海.高职特殊教育专业“行为矫正技术”课程标准的研究[J].教育与职业,2014(28):139-141.
- [15]林小文,周海霞.现代服务业专业技能课程标准开发实践研究:以宁波市北仑职业高级中学旅游专业为例[J].职业技术教育,2011,32(20):22-25.
- [16]陈晓琴.高职课程标准与职业岗位技能标准对接探究[J].职教论坛,2011(14):16-18.▲

G U A N G D O N G J I A O Y U

广东教育

广 东 省 优 秀 期 刊

10
2022
职教

- P4 奖优助困，资助育人
P6 党建引领高职院校高质量发展研究与实践
P64 中职青年教师专业成长现状与分析

广东建设职业技术学院



ISSN 1005-1422



南方教育网
southedu.org gdjy.cn

国际标准连续出版物号:ISSN1005-1422
国内统一连续出版物号:CN44-1145/G4
邮发代号:46-50 定价:13.00元



广东省教育厅主管

特约编委

邱邦洪 刘合群 李海东 李 巍 陈玉欢
陈瑞芳 余 坚 张起帆 罗海鹏 黄定光
董家彪 曾小力 曾华美 廖 益

(按姓氏笔画顺序排列)

主 管 广东省教育厅
主 办 广东教育杂志社

出 版 广东教育杂志社
广东省职业技术教育学会

编 辑 《广东教育》(职教)编辑部

社 长 黄小坚
总 编 辑

编辑部主任 魏家坚
副主任 朱守锺 陈春阳
美术编辑 黄海滨

电 话 办公室: 020-83545480
编辑部: 020-83543180
营销部: 020-83561663
传 真: 020-83566031
地 址 广州市小北路155号
邮政编码 510045

定价: 13.00 元

官方网站 南方教育网 (www.gdjj.cn)

国际标准连续出版物号 ISSN1005-1422
国内统一连续出版物号 CN44-1145/G4
发行范围 国内外发行
邮发代号 46-50
国内总发行 广东省报刊发行局
订 阅 全国各地邮局(所)
广告发布登记号 440000100066
制版印刷 广州领域彩印厂

总第 1067 期 2022 年 10 月 25 日出版



本刊视点

“技能+思政”，打造职业教育协同育人新格局 林梦琳 1

特别策划

奖优助困，资助育人——“资助育人·大国工匠进校园”第三期活动举行 本刊记者 4



高教专论

党建引领高职院校高质量发展研究与实践——以广东建设职业技术学院为例

叶飞松 李德富 刘 冲 6

基于“三适应”的专业群人才培养体系研究与实践

康玉忠 曾文权 姜建华 11

伟大建党精神融入高职院校思政课教学的路径探析

高利荣 14

应用文写作课程思政实施成效探析

李贵龙 17

“三全育人”视域下“传统文化进校园”的研究与实践——以华南农业大学雄鹰锣鼓队为例

陈彦冰 吴纯丽 陈芷晴

官泽玲 朱芳菲 20

聚焦语文素养 弘扬传统文化——传统文化在高职语文教学中的有效渗透

曾 琳 23

数字经济赋能乡村产业振兴的机理、障碍与路径

陆 皓 25

疫情冲击下的职业院校学生就业压力、心理压力与就业选择变化研究

欧阳燕侠 27

基于扎根理论分析“对分课堂”教学效果影响因素——以高职学前教育学为例

蒋 轶 吴水青 29

传帮带模式在高职院校实践教学中的探索

丁 铁 梁本东 33

高职院校教学管理信息化创新研究——以惠州卫生职业技术学院药学院为例

徐英辉 申 茹 36

高职扩招下对接粤港澳大湾区发展精准教学模式的研究

李璞珊 38

校企合作企业维护与开发实践研究

吴利红 巫思环 42

国外大学生职业指导工作对我国高校的若干启示

张 磊 45

艺术类高职院校学生资助宣传教育工作的实践与思考——以广东文艺职业学院为例

朱晓玲 48

基于思想政治教育角度的一则高校贫困学生电信诈骗案例分析

韩天瑶 51

职教研究

基于智慧教学平台的数据驱动型精准教学模式研究

陈向阳 53

基于对接名企、共建标准、协同育人的校企合作模式研究与实践——以广州市交通运输职业学校汽车车身修复专业为例

胡锡锦 56

专业建设

论中职智能制造专业群组逻辑——以清远工贸职业技术学校智能制造专业群为例

郑志亮 58

将劳动教育融入中职旅游专业课程的探讨——以茶艺服务课程为例

龙洁瑜 60

课程教材

基于企业调研的中职中央空调课程建设改革探索

黎剑林 62

师资队伍

中职青年教师专业成长现状与分析——以深圳市龙岗区为例

黄竞雄 王文波 曾齐高 64

中职学校“多面手”双师型教师培养培训模式的探索与实践——以深圳市宝安区职业技术学校数控专业为例

卓良福 69

广东教育

刊名题字 林若

目录

2022年第10期

课程思政

产品造型设计与3D打印课程思政改革与实践

唐春华 李军利 胡丽琴 尹秉奎 72

基于课程思政案例的新媒体文案策划与写作课程教学分析

鹿玲 75

浅谈幼儿保育专业美术教育课程中融入课程思政的教学思考

盛红菊 77

德育研究

珠海红色旅游研学旅行课程活动设计——以中职学校为例

邓舒蔚 80

心理健康

积极心理学视角下的中职心理健康课程改革探索

张少敏 饶远慈 82

中职生心理健康问题的个案分析

黄鹏 84

技能竞赛

从心理学角度谈如何提高参赛选手的自我监控能力

许灵钰 86

教学教法

起点之美——中职语文课堂导入举隅

邱婷婷 88

微课在中职语文教学中使用效果的调查研究——以广东省肇庆市某中职学校为例

钟珊 90

中山地域资源在中职语文专题教学中的应用

许漫钊 93

色彩交响 见微知著——谈“码课”资源在中职色彩静物基础课程中的教学应用

梁惠聪 95

激活教学案例,构建高效课堂——基于OBE理念的案例教学法探究

纪锐杰 97

翻转课堂在中职计算机课程中的实施策略——以网页设计与制作课程为例

吴泽新 100

新形势下中职计算机应用基础课程教学模式分析

蓝艳霞 102

行动导向教学法在汽车电控技术课程中的实践运用——以空气流量计传感器故障检测与排除为例

黄鹏 徐海铭 谢锦涛 103

中职学校线上教学管理实践研究——以广州市信息技术职业学校为例

庄芳 黄卓瑜 105

“党史+多元场景+表演”情境式艺术教学的实践与思考——以中职公共艺术课为例

白旭东 107

大中小学思政课一体化建设背景下的中职“4+X”思想政治教育实践活动

李桂花 109

基于SmartArt图形的PowerPoint可视化页面制作的探究

林腾 111

考证引领,巧用信息技术,助力基础课程教学——机械基础信息化教学探索

石仕城 陈富标 113

产教融合背景下“IP银行”赋能中职动漫专业重构的教学改革创新研究——以东莞市电子科技学院为例

叶喜 115

基于超星学习通平台对中职分镜头设计混合式教学的实践与研究

何林灵 117

产教融合下中职动漫与游戏制作专业“课堂+实训”教学模式探索

谢敏婕 119

新媒体互动式“线下课堂”激发学生学

习创新活力的探索

赵诚 叶缘 122

“课堂革命”视角下中职直播电商教学改革探索与实践——以直播营销话术项目实践为例

彭军 钟雪梅 123

探索交流

用“人工智能+教育”的方式助力教育的美好明天

李新莲 126



全省职业教育大会在广州召开

128

《广东教育》(职教)杂志理事会

128

本期由广东省高职教育教师教育专业教学指导委员会、广东省高职教育外语专业教学指导委员会、广东省高等职业技术教育研究会、全国旅游职业教育教学指导委员会(工作站设在广东省旅游职业技术学校)协办。

封面

广东建设职业技术学院是广东省人民政府主办的唯一公办建筑类大专院校。学校现有8个二级学院48个专业,对接建筑全产业链,是省内开设建筑类专业门类最全的高等职业院校。近五年,学校获得国家级教学成果一等奖1项,国家级、省级教改科研各类项目135项,国家“1+X”职业技能等级证书试点项目16个。

声明

本刊已被万方数据、龙源期刊网、维普网等多家数据库收录并代理网络电子版。作品凡经本刊使用,作者如无特别说明,均视为许可本刊将其作品在不同介质上发表和传播。本刊支付的稿酬已包括上述使用方式的费用。本刊选用的作品如有未署名或未付稿酬的,请作者与本刊联系。作者文责自负,本刊不承担因文稿引起的连带责任。本刊根据《中华人民共和国广告法》及国家其他有关法规刊登广告,商家如有超过广告内容的后续行为,均与本刊无关。

本刊转载部分文章的稿酬已按法律规定交由中国文字著作权协会转付,敬请作者与该协会联系领取。地址:北京市西城区珠市口西大街120号太丰惠中大厦1035室,邮编:100050,电话:010-65978917,传真:010-65978926, E-mail: wenzhuxie@126.com。

本社常年法律顾问单位

北京市盈科(广州)律师事务所(020-66857288-8518),凡与本刊有关的所有法律问题请与之联系。

高职院校教学管理信息化创新研究

——以惠州卫生职业技术学院药学系为例

文/惠州卫生职业技术学院 徐英辉 申 茹

高职院校肩负着为经济社会建设与发展培养技术技能型人才的使命。高职院校教学管理信息化是贯彻落实《加快推进教育现代化实施方案（2018-2022）》《中国教育现代化 2035》及《教育部关于进一步推进职业教育信息化发展的指导意见》等文件精神的重要组成部分。目前，大多数高职院校已将信息技术引入教学管理中，但信息技术与教学管理理念结合程度不高，信息化技术在教学管理中未发挥其真正优势，导致教育管理质量及效率较低，高职院校教学管理信息化改革势在必行。本文以惠州卫生职业技术学院药学系为例进行探究，以期为深化高职院校教学管理信息化改革提供理论支持和实践参考。

一、高职院校教学管理信息化的内涵

高职院校教学管理信息化，其本质是教学管理者以现代网络信息技术为手段，以现代教学管理理念为支撑，以教学与管理规律为基础，对教学进行科学高效的服务与管理，从而整合教学资源、规范教学管理流程，有效地为高职院校节约开销，提高教学管理工作水平及效率，为师生提供适宜的教学管理服务。高职院校教学管理信息化建设，关键是运用信息技术整合教学资源，并对教学资源进行综合管理和全面利用，教学资源包括教案、课件、教学视频、教学案例、题库等。教学管理信息化建设利用专业化、技术化的信息技术构建完善的教学管理系统，提升教学管理效率的同时，可以有效促进教育教学改革，提高高职院校人才培养质量。

二、高职院校信息化教学管理现状

目前，我国大部分高职院校教学管理信息化建设仍处于初始阶段，信息化教学管理主要应用于教务管理、学籍管理、考务管理等，但是，相对于快速发展的网络时代，高职院校教学管理信息化仍然存在较大的改进提升空间。高职院校教学管理信息化建设是一项系统性的工程，需要学院信息网络中心、教务处、学工处、就业处等各部门协作完成。此外，信息技术水平是决定教学管理信息化建设的重中之重，教学管理团队信息技术运用能力直接影响教学管理信息化建设进程。

我院 2012 年开办高职药学专业，随后陆续成功申报中药、药品服务与管理、药品生产技术三个专业。药学专业为省级品牌专业，中药学专业为学校重点建设专业，药品服务与管理、药品生产技术专业为学校特色专业。四个专业紧密对接惠州市、广东省及粤港澳大湾区医药行业产业链的生产、检验、流通、销售、使用服务等各岗位，现已形成“两核两翼四耦合”的药学专业群模式。本文以惠州卫生职业技术学院药学系为例，积极探索适应高职扩招后生源多元化、发展需求多样化对教育教学管理提出的新要求，以信息技术应用为手段，创新教学管理观念、教学管理制度、教学组织形式、教学质量监控体系、教师教学团队等，提高药学类专业技术技能型人才培养质量。

三、高职院校教学管理工作中存在的问题

（一）传统教学管理模式老旧、效

率低下

学院现使用的教务管理系统中人才培养方案的录入、课表编排、实训课程安排、教材管理、考试事务、教学资源等子系统没有完全互通共享数据资源。如实训课程安排带教老师仍然需要实验员手动查找课表安排，课程的开课部门、考试、考查属性在前期人才培养方案的录入时已经完成，但在课表编排时仍然需要重新录入，无法满足学院信息化教学管理的要求，一定程度上影响了教学管理工作的准确性，增加了教学管理的工作量，降低了教学管理效率。

（二）高职扩招对教学管理提出新要求

2019 年的高职百万扩招是党中央、国务院作出的重大决策，高职扩招生源包括在职职工及应（往）届毕业生、退役军人、高素质农民、下岗失业人员、农民工等，不同生源在年龄阶段、学习基础、认知特点、成长背景、从业经历、发展愿景等方面存在很大的差异。因此，高职院校必须抓住发展机遇，主动应对挑战，广泛应用信息技术，改进教学管理，满足生源多元化、发展需求多样化对教育教学提出新要求，提升人才培养质量。

（三）与药企、医院联系合作不够深入

学院现阶段与药企、医院的合作仅限于实习生安排、毕业生就业等，以致学校的教学与医院、药企的需求脱节。学院对与药学专业群紧密相关的药企、医院进行深入调研，与药企、医院等行业企业专家组成教师教学创新团队，根

据药企、医院对高职药学人才理论知识和实践技能的需求,构建专业课程体系,课程设置与学生今后就业岗位相适应,课程内容的选择应服从并服务于职业能力建构。

(四) 教学质量监控评价手段单一,成效不明显

学院的教学评价形式主要有学生督导员每周的评教、学期末对教师的综合评价以及教学督导委员会的听课督导评价。对学生学习的评价主要有平时成绩、实训成绩、期末考试成绩等。以上评价仍然沿用传统的纸质版问卷及考试的形式,存在较大的主观性,统计工作耗费人力、物力,工作效率相对较低,评价反馈效果不明显,无法达到教学评价监督和指导作用。

(五) 教学管理队伍信息化水平较低

学院教学管理采用院系(部)二级管理模式,系(部)配有教学副主任、专业主任、教学秘书等教学管理人员。教学管理人员均是专任教师兼职担任,教学任务相对繁重,教学管理工作无法全面兼顾。此外,教学秘书人员更换频繁,以致了解教务系统详细情况的管理人员不能有效承接工作,教务管理效率较低,信息化任务执行困难。

四、高职院校教学管理信息化创新策略

(一) 创新教学管理观念,强化信息管理系统建设

高职院校应更新传统教学管理理念,广泛应用信息技术,主动推进职业教育信息化发展,不断深化职业教育教学改革,规范提升教学管理效率。同时,高职院校应加大信息管理系统建设经费投入,依托学院 CRP 系统,将教学管理、科研管理、学生管理、资产管理、教学设备、建设数据等集中到一起,以数字信息平台建设实现对教学各个版块的全方位管理。

(二) 创新教学管理制度,充分考虑不同生源的差异特点

高职院校应根据有关文件要求,结

合不同生源特点以及不同培养模式要求,制订有针对性的不同类别学生管理办法,分类制订专业人才培养方案,科学合理确定人才培养目标、人才培养规格。理论教学与实践教学相结合,学生自主实习集中安排实习相结合,学校、企业、医院共同制订学生实习实施方案,创新改革实习生管理、毕业论文、毕业考试等考核方式,细化实习管理分工,保证各项工作有确实的执行人。

(三) 创新教学组织形式,实施个性化教学

高职院校应切实利用智慧树、慕课、超星、雨课堂等优质网络学习平台,采取集中教学与分散教学相结合、线上教学与线下教学相结合、理论教学与自主学习相结合等方式,对普通高考生和 3+X 考生、基层卫生人才学历提升考生、现代学徒制考生等单独编班,因材施教,实施分层教学;深入开展校企融合,实施学校、企业“双导师制”,推行现代学徒制、订单班等培养模式;积极探索学习成果认定、积累和转换,开展 1+X 证书制度试点,考取专业资格证书,可以申请学分兑换,免修相应专业课程或课程模块。

(四) 创新教学质量监控,实行多元化的评教评学

高职院校应利用信息技术优势,建立数字化教学质量监控系统,针对不同生源、不同层次学生,改革学业考核评价方式方法,实行考试、实操、作业等多元评价,全面考察学生的职业道德、职业素养、理论知识水平、技术技能水平、创新创业能力。同时全面收集教师教学信息,建立科学公正的教学质量评价标准,以统计技术和大数据处理技术进行定性评价、定量打分,综合分析教学效果,从而提高教学质量。

(五) 创新教师教学团队,校企、校院联合培养学生

高职院校与药企、医院、药检所等行业企业专家组成教师教学创新团队,邀请行业企业专家真正走进课堂,与学

校教师分工协作开展模块化教学,建立师徒制、导师制,强化个性化教学,校企、校院联合培养学生。同时,学校、企业、医院应联合开展教育教学研究与实践,定期开展教研科研活动,研究解决人才培养、教学组织运行、核心课程设置、学生实习管理与考核评价等方面的问题,关注企业、医院及学生对教学内容、教学方法等方面的意见建议。

(六) 创新教学管理队伍,加强教学管理人员信息化培训

高职院校应将专业主任、教学秘书、教研室主任、教学副主任等教学管理人员的信息化管理能力与实际教学管理的操作能力作为业务能力考核内容之一,加大教学管理人员信息化培训力度,保证教学管理团队人员的业务能力与实际管理水平稳步提高。此外,也要促进班主任、辅导员等学生管理人员信息技术能力的提高,进一步促进教学管理信息化。

综上所述,高职院校教学管理信息化,是推动职业教育教学改革的重要突破口,也是信息技术与职业教育深度融合的必然结果。高职院校开展教学管理信息化建设是一项系统且繁琐的工程,需要结合自身学校的特色和需求,对传统教学管理模式不断改进,加强数字化教学管理信息平台的建设,实现教学管理工作更高效地执行,有力地促进高职院校教学质量的提升,进而提升高职院校的综合竞争力。

参考文献:

- [1] 于明玉.网络环境下高职院校教学管理信息化建设的实践与思考[J].职业教育,2018,(34):147-148.
- [2] 张振锋.高等职业教育教学管理信息化改革研究[J].长江丛刊,2019,(5):122-123.

[基金项目:惠州市 2019—2020 年度职业院校教育科学研究项目(2020hzzjkt01)。]

责任编辑 陈春阳

国际标准连续出版物号: ISSN 1007-1865

国内统一连续出版物号: CN44-1238/TQ

半月刊 创刊于1974年

广东化工

Guangdong Chemical Industry

全国石油和化工行业优秀期刊一等奖

《中国核心期刊(遴选)数据库》全文收录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

美国《化学文摘》(CA)重点收录期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

广东省优秀科学技术期刊

2020 **24**
12月下半月刊

第47卷 (总第434期)

主办单位: 广东省石油与精细化工研究院

佛山市华联有机硅有限公司

FOSHAN HUALIAN ORGANOSILICON CO., LTD



本公司是一家专业从事有机硅产品研究、开发、生产的股份合作企业, 曾是国内第一家中外合资的有机硅公司, 为我国的有机硅事业的发展做出了卓有成效的贡献。为了确保最终的产品满足顾客的要求, 我们已于2001年成功导入ISO9001:2000质量管理体系, 对原材料选购到成品出厂以及售后服务整个过程进行持续的监控, 确保最终的产品满足顾客的要求。

ISSN 1007-1865



地址: 广东省佛山市三水区乐平镇三水中心科技工业园B区13号

电话: 0757-87388188 传真: 0757-87381986

华东地区总代理: 上海海谊化工有限公司

电话: 021-52915425

E-mail: fos757@vip.163.com <http://www.hlyjg.com>

- 178 虚拟仿真技术在“现代仪器分析”课程教学中的应用与探索
陈恺, 赵宾宾, 付冰, 等
- 181 《仪器分析》课程教学中融入思政教育的设计与实践
赵丽娟, 甄岩, 孙国辉, 等
- 183 高校实验室管理的思考及改进
刘海峰, 曾晖, 王义珍
- 185 关于对某高校实验室安全事故的原因剖析及后续改进的建议
易琼
- 187 基于素质教育的设计性实验在《医学微生物学》中的应用探索
信彩岩, 宋章永, 向丽, 等
- 189 现象教学法在我国高校教学改革中的探索与思考——以《作物栽培学》为例
景立权, 朱新开
- 191 地方院校研究生创新实践能力培养浅析
李伟, 邹璐, 华蕊, 等
- 193 互联网背景下翻转课堂模式学习评价体系的构建
范红艳, 马琳惠, 董希敏
- 195 双一流战略下高校新入职教师执教能力培养体系构建与实践
艾兵, 刘建飞, 刘会, 等
- 197 融合课程思政重构药理学导论课程体系的探索
刘睿, 韩疏影, 毕肖林
- 199 依托混合学习路径探析现代职业教育——以化工软件课程为例
仇实, 嵇杰
- 201 基于 OBE 理念的《高分子基础实验》教学改革探索与实践
刘霖, 马娟娟, 王妍, 等
- 203 3 维 VR 沉浸式交互技术应用于化学类实验教学的实践
徐飞, 谷巍, 吴启南, 等
- 205 化工原理教学中哲学思想的渗透
黄莉, 郑慧, 李云耀
- 206 探究新冠肺炎疫情背景下课程思政在药剂学教学中的实施
莫颖华, 冯白茹, 万欣
- 208 制药工程专业《无机化学》理论和实验课线上线下混合式教学模式探究与实践
王力, 廖照江, 罗少华, 等
- 210 仿真实验在化学实验教学中的应用与探索
郑楚萍, 尚思粤, 吴爱平, 等

◆ 综合

- 212 ICP-OES 法测定长白山和秦岭黑木耳中的矿质元素
古元梓, 郑敏燕, 邓玲娟
- 215 新型异噻唑啉类化合物氟雷拉纳的制备方法
李冰冰, 姜桥
- 217 双金属掺杂钨酸铋可见光催化还原 CO_2 制甲醇
张义成, 周世蝶, 刘兴荣, 等
- 219 药品生产企业清洁验证常见问题探讨
何本霞, 成立, 张清
- 221 城市粪污不同处理处置技术路线分析与建议
余粮, 曾逸, 曾鑫泽, 等
- 224 层次分级多孔碳的制备及性能研究
刘阳, 仇实, 徐晴, 等
- 226 安徽某县域农村生活污水治理专项规划编制探讨
贾鹏, 戴志欣
- 229 交联剂对 PMMA/OMMT 复合微球结构及性能的影响
卢晓春, 林水东, 连福军, 等
- 231 蛇床子素及其衍生物农用生物活性的研究进展
张汝国, 王小果, 郭启燕
- 233 过渡金属催化剂的低温脱硝研究进展
秦刚华, 童小忠, 刘洁, 等
- 235 新工科背景下《制药工程学》教学改革
李燕, 王兴建, 张永春, 等
- 236 开放模式下环境工程专业教学改革的几点探讨
彭双, 周贝贝, 陈婉
- 238 柚皮提取液对中式香肠品质的影响
林雅娴
- 240 装载与运输过程中喷气燃料污染物来源与控制分析
周宏岩, 丁阳, 校云鹏, 等

◆ 其它

《广东化工》投稿须知(前插一) 广告索引(174)

本期基金项目论文 (共 67 篇)

- P4 甲醇制烯烃催化剂 SAPO-34 制备中异丙醇铝的应用对甲醇转化率及三烯选择性的影响
- P9 MVR 在压裂返排液处理中能提升的研究
- P12 环氧己烷-环氧氯丙烷共聚物的合成
- P13 七叶内酯衍生物的合成及其生物活性
- P16 白术不同炮制品中多糖含量及体外抗氧化活性研究
- P18 GLP-1 衍生物的电化学分析方法研究
- P20 正交优化黔产对坐叶药材总三萜的提取优化及含量测定
- P23 一种比阿培南关键中间体的合成
- P25 基于网络药理学的玉米须须治肾炎的机制探讨
- P28 一种荔枝保鲜剂及其制备方法与应用
- P41 负载角鲨烯介孔硅 MCM-41 对卷烟烟气自由基清除作用研究
- P43 顺铂联合 LN5y2 抗体对小鼠食管癌预后的研究
- P44 城市道路下沉式绿化带植物优选研究
- P50 功能材料用于含磷废物中磷分离回收的研究进展
- P57 倍他米松转化技术研究进展
- P61 中药抗肿瘤作用机制研究进展
- P67 mTOR 在类风湿性关节炎中的研究
- P73 KMnO_4 强化 FeCl_3 混凝处理生活污水 DOM 特征
- P78 Fenton 氧化法处理 DTRO 浓水的研究
- P80 吸附剂纳米 Fe_3O_4 在染料废水处理中研究进展
- P82 含氮废水的处理方法研究
- P95 丰乐河徽州段水质分析与评价
- P97 氯氧镁水泥固化在污泥处理与资源化中的应用研究
- P101 智慧环保系统在化工园区中的应用
- P121 大型集装箱模块化双膜法海水淡化系统运行维护要点研究
- P125 硫酸钡重量法测定铁矿石中的硫含量
- P130 分光光度法测定绿原酸含量
- P131 校园内自来水和直饮水水质检测
- P132 化工原理课程建设的探索与改革
- P134 省属高校研究生《化学反应工程》课程思政探索与实践
- P138 化学工程与工艺专业创新型人才培养模式的探索与实践
- P140 “双一流”学科建设背景下的化学工程教育研究
- P143 《物理化学》课程思政探索与实践
- P145 《煤化工工艺学》教学改革的探索与实践
- P146 哲学原理在有机化学教学中的应用
- P147 《天然产物提取工艺学实验》双语教学模式探究
- P149 高效液相色谱法在“青蒿素提取”实验教学中的应用
- P152 基于“药械合一”特色创新人才培养制药工程试点专业建设实践
- P154 制药工程专业拔尖创新人才培养模式的探索与实践
- P157 基于案例库的药学管理学案例教学改革
- P159 基于 OBE 理念的混合式教学在中药现代化中的实践
- P161 “食品添加剂与健康”——全校公选课的实施与感悟
- P163 食品科学与工程专业仪器分析教学案例体系的探索与实践
- P165 基于创新能力提升的多课程交互式食品工艺学教学探索与实践
- P166 新工科背景下环境工程专业课程的创新创业改革实践与思考
- P170 延期开学背景下“生化技术实验”线上线下混合式教学的应用与探讨
- P175 新工科背景下能源动力类专业实验教学模式探索
- P178 虚拟仿真技术在“现代仪器分析”课程教学中的应用与探索
- P181 《仪器分析》课程教学中融入思政教育的设计与实践
- P183 高校实验室管理的思考及改进
- P187 基于素质教育的设计性实验在《医学微生物学》中的应用探索
- P189 现象教学法在我国高校教学改革中的探索与思考——以《作物栽培学》为例
- P191 地方院校研究生创新实践能力培养浅析
- P193 互联网背景下翻转课堂模式学习评价体系的构建
- P195 双一流战略下高校新入职教师执教能力培养体系构建与实践
- P199 依托混合学习路径探析现代职业教育——以化工软件课程为例
- P203 3 维 VR 沉浸式交互技术应用于化学类实验教学的实践
- P205 化工原理教学中哲学思想的渗透
- P208 制药工程专业《无机化学》理论和实验课线上线下混合式教学模式探究与实践
- P210 仿真实验在化学实验教学中的应用与探索
- P212 ICP-OES 法测定长白山和秦岭黑木耳中的矿质元素
- P217 双金属掺杂钨酸铋可见光催化还原 CO_2 制甲醇
- P224 层次分级多孔碳的制备及性能研究
- P229 交联剂对 PMMA/OMMT 复合微球结构及性能的影响
- P231 蛇床子素及其衍生物农用生物活性的研究进展
- P235 新工科背景下《制药工程学》教学改革
- P236 开放模式下环境工程专业教学改革的几点探讨

探究新冠肺炎疫情背景下 课程思政在药剂学教学中的实施

莫颖华, 冯白茹, 万欣

(惠州卫生职业技术学院 药学系, 广东 惠州 516025)

[摘 要]在新冠疫情影响的大环境下,培养医药类专业学生的正确价值观显得尤为重要。本文将根据药剂学课程特点,挖掘其课程思政元素,探究课程思政在药剂学教学中的实施。

[关键词]新冠肺炎; 课程思政; 药剂学

[中图分类号]G4

[文献标识码]A

[文章编号]1007-1865(2020)24-0206-02

To Explore the Implementation of Ideological and Political Education in Pharmaceutics Teaching in the Context of COVID-19 Epidemic

Mo Yinghua, Feng Bairu, Wan Xin

(Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: In the context of the COVID-19 epidemic, it is particularly important to cultivate the correct values of medical students. Based on the characteristics of the pharmaceutics course, this paper will explore the ideological and political elements of the course and explore the implementation of the ideological and political aspects of the course in pharmaceutics teaching.

Keywords: COVID-19; ideological and political education; pharmaceutics

2020年伊始,新冠肺炎疫情的凶猛来袭极大地威胁着广大人民的生命安全,医护人员们不畏艰难险阻勇于在一线跟未知的病毒作斗争,他们的精神鼓舞着全国人民,他们用实际行动践行着自己的责任和担当。我们的学生身为医药专业的学生,在这特殊时期,更应培养正确的价值观。因此,笔者将在药学专业的药剂学课程教学中,以培养学生社会主义核心价值观为出发点,结合疫情相关内容在专业教学中开展思政教育。

1 抗疫期间引入课程思政的必要性

《药剂学》是一门研究药物剂型的基本理论、处方设计、制备工艺、质量控制与合理应用等内容的综合性应用学科,系药学类相关专业的核心课程,承担着极为重要的专业引导作用。在当前新冠疫情的影响下,药物制剂的研究显得尤为重要,因此在这种形势下对药剂学专业人才有了更高的要求。药学技术人员除了要有扎实的专业知识外,也应当注重职业素养与正确价值观的培养。药剂学课程教学质量的优劣对学生未来能否成为一名合格的药学人才起着重要的影响作用,尤其是在疫情肆

虐的今天,医药类高校更应注重培养学生的责任感、敬业精神和爱国情怀。在教学过程中引导学生树立社会主义核心价值观,养成良好的职业操守,对解决应对突发疫情有着积极的作用。^[1]

2 深入挖掘《药剂学》中蕴含的思政元素

一直以来,药剂学与人类的生命安全密切相连,其中蕴含着丰富的文化和德育元素,这为课程思政教育的引入提供了良好的实践基础。如何充分地将药剂学教学中的专业知识跟思政点有效地融合起来并加以合理应用是课程思政能否有效落实的基础。在新冠疫情的特殊背景下,教师必须立足于课程自身的优势和特点,根据“立德树人”的根本目的,结合疫情及学生容易产生共鸣的兴趣点,提炼出思想政治教育的契合点,灵活运用各种教学手段,把药剂学教学中的思政教育落到实处。^[2]

笔者将从培养学生的敬业精神、文化自信、爱国情怀、社会责任感及创新精神等方面入手,深入挖掘与专业知识相切合的思政元素,将思政教育渗透到药剂学专业课程教学中。具体课程思政内容见表1。^[3-6]

表1 《药剂学》课程思政内容挖掘

Tab.1 Exploration of the ideological and political contents of pharmaceutics

课程章节	思政元素	课程思政内容
绪论	敬业精神	以开发中药新剂型为切合点,引入屠呦呦先生研发的青蒿素为例,培养学生热爱专业、奋发图强的精神
固体制剂	文化自信	金花清感颗粒、连花清瘟胶囊等用于抗疫的药品,皆来源于我国传统的经典方剂,培养学生学习传统文化和发扬我国中医药文化的使命感
液体制剂	创新精神	引入霍香正气口服液在抗疫期间的应用,通过讲解霍香正气口服液的来源,培养学生的创新精神、充分利用传统方剂优势开发中药制剂新剂型
浸出制剂	文化自信/文化传承精神	通过对中药传统剂型的学习,培养学生对中医药文化的自信及对工匠精神的传承
丸剂	文化自信	通过介绍丸剂为我国最古老的缓释剂型,提高学生的民族自豪感
注射剂	责任感	通过引入“欣弗事件”,培养学生诚实守信的传统美德和社会责任感
气雾剂	爱国情怀	引入“云南白药”气雾剂,通过“云南白药”的创始故事,培养学生的爱国情怀。
药制剂新技术与新剂型	创新精神	培养学生创新意识

3 课程思政开展的途径

3.1 加强教师的综合素质

实施课程思政,要求教师必须具备更高的综合素质。不断地提高自身的政治素养,是实施课程思政的基本条件。因此,身为高校教师,必须时刻关注时事政治,加强思想政治理论的

学习。同时,教师要明确自己所肩负的教育使命,才能将正确的价值观有效地融入教育教学过程中。此外,教师要积累自身的知识底蕴、开阔自己的视野,才能将课程思政开展得行云流水。^[7]因此,实施课程思政,教师需要不断地提升自己的综合素养。

[收稿日期] 2020-11-27

[作者简介] 莫颖华(1982-),女,研究生学位,主要研究方向为药物制剂及质量标准。

3.2 提升教师的课程思政能力

课程思政不是强硬地把思政元素硬塞进专业课程中,而是要求教师结合课程的教学教育目标及特点,充分发掘课程的思想政治教学元素,将思政教育内容巧妙地融合到课程教育中,起到一种润物细无声的育人效果。^[8]因此,这要求教师必须具备一定的教学设计能力。

《药剂学》课程蕴含着丰富的思政元素,如何将爱国情怀、社会责任感、敬业精神、文化自信等要素融入课堂教育中,需要教师在实践中来不断地摸索教育思路的设计。如何把思政教育的相关内容渗透到药剂学专业教学的具体环节中,关键是教师需要找对切入点,通过采用引发学生共鸣的最佳教学方式,营造良好的学习氛围,才能起到事半功倍的作用。^[7]

3.3 课程思政在教学中的应用

在新冠肺炎背景下和《药剂学》课程思政教学目标的指导下,笔者对教学内容进行了梳理,利用线上线下相结合的方法,借助信息化教学手段,引导学生参与课堂思考、感受和体悟教学内容所传递的价值取向,真正发挥价值引领作用。^[9]

首先,利用信息化手段展示思政元素。在课余时间,教师可以通过微信公众号、学习通等信息平台,及时推送一些与药剂学学习内容相关的背景知识。如在讲述胶囊剂前,推送关于2012年“毒胶囊”事件的相关报道,以此引导学生要有崇高的职业道德、良好的职业素养和强烈的社会责任感;在讲述气雾剂时,推送有关“云南白药”的创制历史等,培养学生的爱国情怀。

其次,将带有思政元素的典型案例引入课堂教学中。在课堂上,通过引入典型案例,增加互动(如采用小组讨论的方式),激发学生的参与意识,加深学生对知识的理解与掌握。如在讲到注射剂时,引入“齐二药”事件、“欣弗”事件,对学生开展思政教育,培养学生诚实守信的传统美德和社会责任感,让学生深刻地意识到药物制剂生产的每一环节都与人民的生命息息相关。

最后,把课程思政带到药剂学实验课堂。在实验课上,要求学生把实验当作正式的药品生产来完成,端正实验态度,认真对待实验操作中的每一个环节,培养学生谨慎的工作态度和

职业素养。

4 结语

在新冠肺炎疫情背景下,开展《药剂学》课程思政教学研究,本文从阐明疫情期间引入课程思政的必要性、挖掘《药剂学》课程的思政元素、课程思政开展的途径等方面进行了探讨,以期在课程讲授的过程中,将思想政治教育与药剂学专业专业知识结合起来,引导学生树立正确的价值观。为了更好地将课程思政与《药剂学》专业课程有机融合,笔者在未来的教学中将会继续深入研究与探讨。

参考文献

- [1]关延彬,贾永艳,刘改枝.“课程思政”在药剂学课程教学中的改革探索[J].教育现代化,2020(52):167-169.
- [2]余振南.药剂学课程思政建设的探索[J].药学教育,2020,2(36):16-19.
- [3]鲁文慧,郑飞,杨波等.“药剂学”课程思政教学实践研究[J].教育现代化,2020,5(39):124-127.
- [4]关延彬,贾永艳,刘改枝.“课程思政”在药剂学课程教学中的改革探索[J].教育现代化,2020,6(52):167-169.
- [5]贾永艳,徐翠珊,祝侠丽.融合思政元素中药剂学丸剂章节教学探讨[J].中国中医药现代远程教育,2020,18(11):5-7.
- [6]戴伟.“水产动物遗传育种学”课程思政教学的探索与实践[J].高教学刊,2020(33):91-94.
- [7]吴恩涛.课程思政的实施路径探析[J].科技文汇,2020,31:48-49.
- [8]涂琴.将思政教育润物细无声地融入课程教育中——以农林院校生物类有机化学为例[J].文理导航,2019(08):82,84.
- [9]冯学珍,伍善广,陆苑.“三全育人”视域下的药剂学“课程思政”教学改革实践[J].教育观察,2020,9(9):96-98.

(本文文献格式:莫颖华,冯白茹,万欣.探究新冠肺炎疫情背景下课程思政在药剂学教学中的实施[J].广东化工,2020,47(24):206-207)

(上接第205页)

3 从量变到质变

量变是事物数量的增减和构成事物的成份的排列组合的变化,是事物在度的范围内的变化,是渐进性的变化。质变是事物由一种质向另一种质的转变,是事物根本性质的变化。量变是质变的必要准备,质变是量变的必然结果。在化工原理课程中,有关量变到质变的素材也很多,例如在雷诺实验中,当放水管上的阀门开度比较小时,也就是放水管内清水的流量较小,水流速度比较低时,进入放水管中的染料水呈现为一条笔直的直线。这说明,此时管内清水质点只沿管轴线方向做一维运动,不存在其他方向上的脉动,称之为层流;如果将放水阀门开大一点,放水管内清水流量较大,水流速度较高时,染料水呈现为一条波浪线。这说明此时管内流体质点除了沿管轴线方向运动外,还存在其他方向上的脉动。继续加大放水阀门开度,使放水管内清水流量很高时,此时,染料水在管中不能成为直线和曲线,而是成分散状态,充满整个管截面。流动形态已经发展为湍流。又如,在板式塔内,当孔速很低时,气体通过筛孔后,将以鼓泡的形式通过板上的液层;当孔速增大至某一值时,气液两相将以泡沫状态接触,当孔速继续增大,将呈现出喷射接触状态。这些都是量变到质变的具体形式。

4 主要矛盾和次要矛盾

辩证唯物论认为,主要矛盾在事物的发展过程中处于支配地位,对事物的发展起决定作用,次要矛盾在事物的发展过程中居于从属地位,对事物的发展不起决定作用^[4]。在错综复杂的矛盾体系中,抓住主要矛盾,就是抓住事物的中心,找到解决矛盾的方法。例如,在化工原理中,“流体质点”,忽略了流体宏观上的几何维度。过滤章节中,滤液通过滤饼层的流动,将饼层中那些细小而曲折的相互交织的网状不规则流道简化为长度与滤饼厚度L相同的一组平行细管。蒸馏一章中的“理论

板”假定,假设离开这种板的气液两相互成平衡,而且塔板上的液相组成也可视为均匀的。还有气液相传质的“双膜理论”把整个相际传质过程简化为溶质通过两层有效膜的分子扩散过程。这些假设和模型都巧妙而合理的排除了次要矛盾的影响,重点突出影响事物发展的主要矛盾,以此揭示事物运动的本质。有了这些假定,就可以顺利的找出其中存在的普遍规律,然后再探索实际与理想的偏差,并对其进行修正,实际问题的解决也就水到渠成了。

化工原理课程中,蕴含着丰富的哲学素材。在教学过程中,将传授的知识点结合哲学思想进行剖析,将隐藏在工程原理中的辩证关系阐述清楚^[5],不仅能够很好的体现本课程知识之间的内在辩证关系,从而激发学生学习化工原理的兴趣,提高学生的专业素养、培养学生的工程观念,还能够帮助学生透过复杂的现象来认清事物的本质,以便于形成完整的知识体系;也能促使学生形成积极、健康、正确的世界观和人生观,达到了传授知识和思想政治教育相统一的教学效果。

参考文献

- [1]王志祥.制药化工原理[M].北京:化学工业出版社,2014.
- [2]马祥梅,王斌.化学教学中哲学思想的应用[J].宿州教育学院学报,2006,9(2):140-142.
- [3]陈先达.马克思主义哲学原理[M].北京:中国人民大学出版社,2003.
- [4]黄顺基.自然辩证法概论[M].北京:高等教育出版社:2004.
- [5]王晟,居沈贵.哲学思想在化工原理教学中的应用[J].化工时刊,2009,23(12):76-77.

(本文文献格式:黄莉,郑慧,李云耀.化工原理教学中哲学思想的渗透[J].广东化工,2020,47(24):205)

国际标准连续出版物号: ISSN 1007-1865

国内统一连续出版物号: CN44-1238/TQ

半月刊 创刊于1974年

广东化工

Guangdong Chemical Industry

全国石油和化工行业优秀期刊一等奖

《中国核心期刊(遴选)数据库》全文收录期刊

中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊

美国《化学文摘》(CA)重点收录期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

广东省优秀科学技术期刊

2021 **6**
3月下半月刊

第48卷 (总第440期)

主办单位: 广东省石油与精细化工研究院

佛山市华联有机硅有限公司

FOSHAN HUALIAN ORGANOSILICON CO., LTD



本公司是一家专业从事有机硅产品研究、开发、生产的股份合作企业, 曾是国内第一家中外合资的有机硅公司, 为我国的有机硅事业的发展做出了卓有成效的贡献。为了确保最终的产品满足顾客的要求, 我们已于2001年成功导入ISO9001:2000质量管理体系, 对原材料选购到成品出厂以及售后服务整个过程进行持续的监控, 确保最终的产品满足顾客的要求。

ISSN 1007-1865



地址: 广东省佛山市三水区乐平镇三水中心科技工业园B区13号

电话: 0757-87388188 传真: 0757-87381986

华东地区总代理: 上海海谊化工有限公司

电话: 021-52915425

E-mail: fos757@vip.163.com <http://www.hlyjg.com>

广东化工

Guangdong Chemical Industry

第48卷 第6期 3月下半月刊
(总第440期)

1974年创刊 (半月刊)

刊号 ISSN 1007-1865
CN 44-1238/TQ

- 全国石油与化工行业优秀期刊一等奖
- 高、中级化工职称资格评审认定刊物
- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

主管: 广东省科学院

主办: 广东省石油与精细化工研究院

社长: 麦裕良

出版发行: 《广东化工》编辑部

发行范围: 国内外公开发行

地址: 广州市越秀区越华路116号

邮编: 510030

电话/传真: (020) 83302517 83336009

在线投稿: <http://www.gdchem.com>

电子邮箱: gdcic200@163.com

广告经营许可证号: 440000100138

印刷: 广州一龙印刷有限公司

订购: 全国各地邮局、所

邮发代号: 46-211

出版日期: 2021年3月30日

邮局全年定价:

国内480元; 国外384美元

公告: 经广东省新闻出版局批准同意,
本刊从2012年7月开始变更为半月刊。

目次

◆ 试验与研究

- 1 溶胶凝胶法制备二硫化钼干凝胶复合电极和电化学性能表征 简昱坤
- 3 化学驱海上油田水处理流程含聚油泥产生原因分析及预防措施 黄锐
- 6 氮化硼对超高分子量聚乙烯导热与弯曲性能影响 卢志强
- 8 改性椰壳生物炭对水体苯酚吸附效应研究 林秀春, 李善红, 黄晓丹
- 12 1,8-桉树脑对白色念珠菌生物膜影响分析 张志强, 李岳, 徐瑶, 等
- 13 中和缓蚀剂的配伍性能研究 王晓晖, 贺明星, 白玉潇, 等
- 16 利用三氮唑的4+3环化反应合成1,4-氧氮杂草 郑坚萍, 修世东
- 18 吡啶氮氧化物衍生物的合成 龚俊, 王清枫, 姜桥
- 20 运用类透明质酸壳聚糖绿色制备小粒径银纳米粒子的研究 丁晓玮, 田蒙奎, 龙毅
- 22 ^{18}F -FDG和 ^{18}F -FLT的合成及其应用研究 彭添兴
- 24 FLUENT在海洋平台硫化氢扩散分析中的应用 秦晓光
- 27 白花前胡内生菌的筛选及抑菌活性研究 马逢时, 刘家水, 谈永进
- 30 淫羊藿苷调控BMP-2与OSX促进成骨细胞增殖的研究 于子婷, 牟立婷, 李慕勤, 等
- 32 驱蚊环与驱蚊贴产品趋避效果试验观察及安全隐患调查分析 封梅, 吴静静, 吴思婷, 等
- 34 尤瑞克林治疗急性脑梗死的药理分析及对神经功能的影响 艾仕荃, 李欣
- 35 溴乙烷制备实验的探索与研究 杨文龙
- 37 黄芪治疗2型糖尿病的网络药理学研究 岳慧英, 蔡东晖, 裴科, 等

◆ 专论与综述

- 40 醇类消毒剂新旧国标差异性解读 曾海鹏, 陈意苹
- 42 广东省化工行业安全发展现状与对策建议 罗永乐
- 43 广州市疾控系统的实验室信息化建设构建 刘莉治, 何晖, 白志军, 等
- 45 水处理中生物除磷技术的专利分析 刘悦, 卢士燕
- 47 聚对苯二甲酸-己二酸丁二醇酯(PBAT)合成工艺技术研究进展与应用展望 欧阳春平, 卢昌利, 郭志龙, 等
- 49 基于节能减排的醋酸乙烯生产工艺优化研究 陈华财, 刘家良, 许永江, 等
- 52 辐射降解技术在高分子材料中的应用进展 谢映雪
- 54 纳米二氧化钛对水生生物毒性研究 吕笑笑, 孔丝纺
- 56 中药制剂提取新技术研究进展 郑厚平, 潘文松, 黄贵庆
- 58 大蒜素抗纤维化的研究进展 胡春莲, 李丽, 聂磊, 等
- 60 食品中米酵菌酸研究进展 王学松, 杨嘉满, 张丽霞, 等
- 62 异氟烷对肿瘤细胞作用机制的研究进展 孙宇, 曾凡荣
- 63 氟比洛芬酯对宫颈痛术后镇痛效果的研究 任聪, 刘海洋, 王东伟
- 64 蔬菜纸实验工艺综述 李峰, 张俾熙, 杨光平
- 66 米法莫肽治疗骨肉瘤的研究进展 张永鹏, 赵亮, 中国强, 等

◆ 环境保护

- 68 南海海南岛东北部海区春季水体油类污染现状分析评价 王信才, 吴功果, 罗文伟, 等
- 70 铜钨矿含砷采矿废水处理工程设计与实践 黎成, 梁晓宇, 杨浩, 等
- 71 湖南某污水处理厂提标改造工程设计实例 李鹏
- 74 某危废处置中心环境影响评价废水处理可行性研究 杨荔
- 77 纳米颗粒与重金属污染对水生生物的生态毒理效应研究进展 陈泽璇, 钟汉杰, 肖杨, 等
- 79 气浮-UASB-AO工艺处理日用化工废水实例 郑家传
- 81 含四氢呋喃化工废水处理工程实例 唐胜, 吴其存
- 83 酞类化合物在硝酸盐废水处理中研究进展 郭强
- 84 乳胶丝工业热水浴废水净化初步研究 刘磊, 符建壮, 卢秋余, 等
- 86 填料在污水处理中的应用与研究现状 张雪芳
- 88 电絮凝-芬顿-水解酸化-厌氧-A/O-混凝沉淀组合工艺处理医药化工废水 胡昌旭
- 91 无磷水处理方案在强腐蚀性水质循环水系统的应用实例 宋照斌, 徐兆财, 覃壮山
- 94 海藻酸钠复合膜去除水中Cu(II)的吸附机理 刘宇琪, 段怡欣, 周乐陶, 等
- 96 污水厂传统实习与仿真实习的比较研究 李冰, 李玉瑛
- 97 水生生态系统构建在朱家店河等三条河的应用 杨贤群
- 99 海南岛近岸海水环境质量现状分析及保障措施建议 戴秉扬, 王芬
- 103 区域河湖生态健康评估与管理探究 李馥琪

移动互联网背景下《药物化学》 实验教学改革模式的探索

莫颖华, 冯白茹

(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516025)

[摘要]在移动互联网大面积普及的时代背景下,采用互联网+的教学手段是大势所趋。针对目前高职《药物化学》实验教学中存在的问题与不足,利用超星学习平台对实验教学内容、教学方法和实验评价体系进行改革,提高《药物化学》实验教学质量,培养学生的自主学习能力和操作能力。

[关键词]移动互联网; 药物化学; 实验教学; 改革

[中图分类号]G4

[文献标识码]A

[文章编号]1007-1865(2021)06-0171-02

Exploration on the Reform Mode of Experimental Teaching of Medicinal Chemistry under the Background of Mobile Internet

Mo Yinghua, Feng Bairu

(Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: With the popularization of mobile Internet in a large area, it is an inevitable trend to adopt Internet + teaching methods. In view of the existing problems and deficiencies in the experimental teaching of Medicinal Chemistry in higher vocational colleges, the superstar learning platform is used to reform the experimental teaching content, teaching methods and experimental evaluation system, so as to improve the experimental teaching quality of Medicinal Chemistry and cultivate the students' independent learning ability and operation ability.

Keywords: mobile internet; medicinal chemistry; experimental teaching; reform

《药物化学》是药学专业的一门重要的专业课,在高职药学专业的知识体系中起着承上启下的作用^[1]。而药物化学实验课是药物化学课程中不可缺少的重要组成部分,其实验教学质量的好坏不仅直接影响学生的动手能力和创新能力,还会影响本课程及其他衔接课程的学习效果^[2]。随着移动互联网和移动终端的逐渐普及,人们的生活方式已经发生了很大的改变。而在教学方面,我们也可以充分利用移动互联网便捷的独特优势,提高教师的教学质量和学生的学习效率。基于上述考虑,本人设计了基于移动终端和移动互联网的药物化学实验教学改革模式^[3]。

1 《药物化学》实验教学的现状

1.1 学生绿色环保意识差

《药物化学》实验课中会经常使用到具有危害性的化学试剂(如丙酮、氯仿、酯酐等),尽管教师在实验设计过程中已充分考虑实验安全问题,但与其他学科相比,《药物化学》实验课还是存在着一定的安全隐患。而高职院校学生的基础知识薄弱,对化学试剂的认识度不高,除此以外,学生在实验过程中对绿色环保的意识不强,经常出现有学生把量取过多的试液随意倒往下水道、量取刺激性或挥发性试剂没有在通风橱内操作、错误使用通风橱、反应液没按要求回收等现象^[4]。

1.2 实验内容单一

《药物化学》实验内容大多还是以传统的药物鉴别和化学合成实验为主,实验类型少,且均为验证性实验,缺乏探索性。学生照搬实验指导上的内容进行操作,严重束缚了学生的创造思维,不仅不利于提高学生的实验操作技能和开发学生的创造潜能^[5],还会使学生对实验课产生惰性。

1.3 学生预习效果差

尽管教师每次实验课前都会要求学生按实验指导手册进行预习,然而学生的预习往往是应付式。课堂提问时一问三不知的现象屡见不鲜,学生对实验原理、实验内容毫不了解。在这种情况下,学生完成实验的效果肯定不理想,就算按部就班勉强完成,也不清楚其所以然。

1.4 授课方式老旧

《药物化学》实验课的教学方式依旧是“满堂灌”、“填鸭式”,教师按照实验目的、实验原理、实验步骤的顺序进行讲解,内容枯燥,讲授时间长,学生积极性不高、缺乏自主思考,导致学生对实验内容一知半解,实验过程手忙脚乱、实验效果不理想^[6]。

1.5 缺乏完善的实验评价体系

目前的实验考核主要由出勤情况、实验操作情况和实验报告三个部分组成。实验操作情况的评分往往不够严谨,在一定程度上会受到教师主观意识的影响,随意性大,没有统一标准。实验报告可体现学生的实验情况,但是学生间抄袭实验报告的现象常见,也有存在篡改实验结果的现象。因此,目前的实验评价体系并不能更好地体现学生的实验考核情况^[7]。

2 移动互联网背景下的实验教学改革措施

2.1 加强安全教育,强化绿色环保意识

教师将实验室常用试剂的性质及危害、紧急伤害处理方法、回收情况等内容整理成PPT的形式或者录制成视频,上传于超星学习通平台,让学生自行学习。平台的教师端可以了解到学生的学习资源观看完成情况,为了验证学生自行学习的效果,教师可以在平台上发布关于实验安全知识的考核,也作为后期实验成绩考核的一部分,促进学生学习的积极性和主动性。

2.2 更新实验内容,丰富实验类型

为了进一步丰富《药物化学》实验教学内容,促进学生实验的创新能力和综合思考能力和动手操作能力。在原来的药物鉴别实验和合成实验基础上,增加了药物间的配伍实验、设计性实验、综合性实验。设计性实验是学生在掌握理论知识的基础上,灵活运用所学知识来分析和解决问题的一种实验方式;而综合性实验则一般涉及到一门或多门相关课程的知识,这更要求学生须清楚各知识点的联系。这些实验对于培养学生的综合思考能力、分析和解决问题能力都有积极的作用^[8]。

2.3 改变预习模式,提高实验效率

教师在实验课前,将实验操作要点、注意事项和反应后处理等内容制成PPT或视频,上传至学习通平台,学生可随时随地通过手机APP观看,并且根据自身需要可以多次反复观看。同时,教师在平台上可以查看学生的观看情况,作为后期实验成绩考核的一部分^[9]。如在做《几种未知药物鉴别的设计性实验》前,教师通过学习通平台以作业的形式把几种药物名称发给学生,再由学生自行查找学习资料,设计出药物的实验方案并提交,教师可对学生的方案内容进行批阅,并可在讨论区跟学生进行讨论交流。通过这种方式,学生的学习积极性被极大地调动起来,并且在实验课时学生已对本次实验药物的基础知识和实验过程有了清楚的认识,实验的效果更加理想^[8]。

2.4 以学生为主体,转变授课方式

[收稿日期] 2021-01-18

[基金项目] 移动互联网时代下药物化学的实践教学模式研究(2018年度广东省高职教育食品药品类专业教指委教育教学改革项目),课题编号:2018SYY02

[作者简介] 莫颖华(1982-),女(汉族),广东阳江人,惠州卫生职业技术学院讲师,硕士,主要从事药物化学教学与研究。

为了充分体现学生的课堂参与感,我们将传统的课堂角色进行互换,让学生成为课堂的主角,替代老师的位置进行实验主讲,教师负责从旁协助。通过这一方式,更有效地提高学生的学习热情,促进学生的学习主动性和积极性^[8]。

2.5 统一评价标准,完善评价体系

在确保实验顺利完成的同时,教师需要建立完善的实验评价体系,应对学生的实验成绩给予公平、公正及准确的评价。实验成绩由实验预习(包括教学资源的观看记录、实验知识测试等评价)、课堂汇报、实验操作和实验报告四个部分构成,其权重分别为20%、20%、30%和30%。

3 教改模式的应用与结果

随机抽取2个班,其中一个为实验班,另一个为对照班。以“阿司匹林的合成实验”为例,实验班利用移动网络采取新的教学模式,对照班沿用传统教学模式,从而对比两个班的实验效果。

3.1 教学实施

3.1.1 实验班

教师于实验课前将“阿司匹林的合成实验”中所涉及到的仪器的使用方法、化学试剂的性质与危害、实验操作的要点、注意事项等内容制作成PPT,同时提取了实验过程中的几个要点内容设计成测试题,一并发布于学习通平台。学生可通过PPT了解实验的具体内容,并通过测试了解学生的预习效果。实验课上抽取一名学生替代老师作为实验主讲,教师从旁辅助。

3.1.2 对照班

依旧以传统方式,让学生自行按照实验指导进行预习。实验课上老师按实验目的、原理、步骤进行讲解,并重点讲述实验注意事项与操作要点。

3.2 教学结果

实验班在实验过程中,学生整体思路清晰、操作有序、仪器和试剂的使用准确到位,实验0组失败,实验时间比预计时间短。

对照班的实验氛围较为杂乱,部分学生对实验步骤不熟悉、仪器的搭建有些手忙脚乱。其中有一组同学因操作过程出错,需要重做;一组因抽滤不当,造成产量极低。总体实验时间比实验班要长。

从以上可见,实验班的实验教学效果较对照班要更加理想。

4 结语

随着移动互联网的大面积普及,互联网+教育是大势所趋。处

于新时代的大学生乐于接受新事物,善于运用现代科技手段进行学习^[10],同时互联网+教学不需增加教育成本,因此具有广阔的应用前景^[11]。而《药物化学》实验教学是药物化学课程中的重要组成部分,必须通过改变传统的教学模式来激发学生的学习热情,从而培养学生缜密的思维方式、掌握系统的药学专业知识与扎实的实验操作技能,最终培养出能适应现代社会发展需要的高素质药学人才^[12]。

参考文献

- [1]段建利,董春娥,吴松,等.药物化学实验教学改革研究[J].基础医学教育,2019,21(7):541-544.
- [2]袁秀平.提升药物化学实验教学质量的对策性思考[J].山东化工,2019,48(11):105-106.
- [3]李幼真,卢盈,何锦涛,等.基于移动互联网的物理实验教学模式改革[J].大学物理实验,2019,32(2):90-93.
- [4]苗方,王瑜,张卫敏.《药物化学》实验教学存在的问题及优化改革[J].菏泽医学专科学校学报,2019,31(3):87-89.
- [5]杨利敏,张永森.某校药物化学实验教学存在问题及改进措施[J].中国现代药物应用,2008,2(21):116-117.
- [6]曾优美,黄世亮,谭嘉恒.探索视频辅助教学在药物化学实验中的应用[J].广东化工,2019,46(388):260-261.
- [7]段建利,董春娥,吴松,等.药物化学实验教学改革研究[J].基础医学教育,2019,21(7):541-544.
- [8]薛娟,刘龙江,郝永佳等.药物化学实验教学改革探索[J].广州化工,2019,47(2):137-138.
- [9]聂海艳,向自伟.移动学习环境下药物化学实验教学改革[J].科技经济导刊,2019,27(08):167.
- [10]李幼真,卢盈,何锦涛,等.基于移动互联网的物理实验教学模式改革[J].大学物理实验,2019,32(2):90-93.
- [11]张燕,郑兴,虞佳,等.“互联网+”时代下的药物化学个性化教学实践[J].广州化工,2017,45(14):188-189.
- [12]李丹.药物化学实践教学改革的分析[J].教育教学论坛,2015(18):107-108.

(本文文献格式:莫颖华,冯白茹.移动互联网背景下《药物化学》实验教学改革模式的探索[J].广东化工,2021,48(6):171-172)

参考文献

- [1]姜树萍.新课程标准理念下初中化学实验教学的探索与实施[J].才智,2020(10):139.
- [2]李耀军.刍议新课程理念下高中化学实验教学[J].中学教育科研学术成果集,2019年12月.
- [3]孙玲.新课程标准下高中化学探究教学实效性的实践与思考[J].读写算(教育教学研究),2015(49):130.
- [4]张生安.对高中化学探究性实验教学的反思[J].现代妇女(理论版),2013(12):243.
- [5]程芳.减少学生实验器材损耗的预防性管理[J].教学与管理(中学版),2008(1):57-58.
- [6]刘晓雷.浅谈化学实验对培养初中生科学素养的几点做法[J].景德镇高专学报,2004,19(2):58-58,64.
- [7]任军安.高中化学教学互动方式和方法探究[J].才智,2020(4):113.
- [8]李银章.以化学实验为教学切入点,提高化学课堂教学有效性研究[J].高考,2020,07:28-29.
- [9]杨玉琴,王祖浩.对化学“实验能力”内涵的重新认识[J].化学教育,2012,33(11):86-89.
- [10]王志丹.实验教学:从封闭走向开放-“自主、合作、探究”型实验教学模式在高中化学教学中的应用[J].内蒙古师范大学学报:教育科学版,2007:137-139.
- [11]陈光宇.多元智能理论指导下高中化学教学探讨[J].课程教育研究,2020(27):115-116.
- [12]王雪玲.谈高中绿色化学实验教学的实施[J].甘肃教育,2015(18):112.
- [13]章小芳.设计绿色化学实验的实践与探索[J].科技展望,2016(35):206.
- [14]王燕丽.谈如何开展高中化学绿色实验[J].读写算(教师版),2011,14:29-30.

(本文文献格式:陈历丹,何海权,郭小琪,等.新课标背景下加强高中化学实验教学改革探究[J].广东化工,2021,48(6):188)

(上接第188页)

灭?”,“氯水分解快与慢的探究”,“探究钢铁生锈的条件”等。既能活跃课堂气氛,帮助学生掌握实验内容,又使学生记忆深刻,理解透彻,发展了学生创新思维,拓宽了学生知识视野,完美的实现了本节课的教学目的^[10-11]。

2.4 创设绿色微型实验,贯穿环保节能理念

当前,环保问题是当前一个世界性的热门话题,在学校教育中,环保意识的培养成了一个非常重要的目标。在高中阶段众多的学科中,化学学科无疑是与环境保护最密切的一门学科,因为化学是一门以实验为基础的学科,相较于其他实验,化学实验更容易产生污染问题。据调查,高中化学实验中有毒物质的制备和性质实验还具有一定数量,不仅对损害老师和学生身体健康,而且污染环境。因此,开展化学绿色实验,培养学生绿色环保意识已成为化学教学的重要内容。对于新课程标准中规定要开设的实验,根据具体情况合理划分,对某些有污染的、有药品浪费的实验适当的改进、创新,设计出一些仪器花费少、药品消耗少、操作安全、污染较小、节省时间绿色实验。如:《化学(必修2)》第二章第一节中“化学能与热能”[实验2-2]其主要目的是让学生体会该反应中的吸热变化,而实验挥发出来的大量氨气不仅污染环境,氨气强烈的刺激性还会分散学生观察实验中温度降低这一重要现象。若将反应由敞口的小烧杯中进行改成塑料薄膜袋中进行,“将固态的[Ba(OH)₂·8H₂O]和NH₄Cl置于塑料袋,再把装水塑料袋扎紧,揉搓塑料袋中固体混合物。”揉搓过程中学生立即就可以感到明显的温度降低的现象。不仅没有污染,药品只需用教材原实验用量的二分之一,而且现象十分明显,学生有深刻的体验,达到很好的教学效果^[12-14]。教师在教学中若能让实验达到现象明显、效果好、节省时间,同时又能减少药品消耗、零污染,则达到了绿色化学的理念要求。

总之,加强高中化学实验教学改革意义重大,同时也会面临很多困难,但只要我们能根据自身学校资源、学生情况加以研究,教学中注意以学生为主体,以培养学生能力为目标,就能够达到有效的教学效果,取得可喜成绩。

全国石油和化学工业精品期刊40强
第三、六、八届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
国家职称评审认定学术期刊
中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊

入榜RCCSE核心及准核心期刊目录
第三届华东地区优秀期刊
美国化学文摘(CA)收录期刊
“万方数据-数字化期刊群”全文收录期刊
中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)全文收录



ISSN 1008-021X

CN 37-1212/TQ

邮发代号: 24-109

半月刊 创刊于1972年

山东化工

SHANDONG CHEMICAL INDUSTRY

levima 联泓



高分子

精细



官方网站



官方微信

联泓新材料科技股份有限公司

山东省滕州市鲁南高科技化工园区联泓大道1688号

广告

ISSN 1008-021X



9 771008 021229

202224

12月下半月刊

vol.51

主管: 山东省教育厅

主办: 青岛科技大学

β -萘酚的研究进展	王立芹,刘友彬,程远志,赵相柱,岳涛(81)
玉米苞叶黄酮提取纯化及其功能研究进展	李森儿,王明华,王桂林,郭敏敏,范建凤,赵二芳(84)
食品安全中荧光碳点合成及碳点荧光传感器的研究进展	陈曦,张婷,孙国栋,韩冬,常子晨,曾凡调(86)
仙鹤草抗炎作用的研究进展	唐当柱,杨艳,徐娅玲,杨琼英,孟庆婷(91)
新型壳聚糖及其衍生物纳米颗粒的生物活性研究进展	付佳玉,赵智宏,钟志梅(94)
“双碳目标”下的我国燃气行业发展现状及前景分析	宋克农,刘庆堂,杜彦,刘晓鹏(97)

分析与测试

磷钼蓝分光光度法测定钢铁中的磷	刘芳(100)
市售火腿肠中亚硝酸盐含量测定	任肖艳,郑玉梅,李雪贞(103)
小酸浆不同药用部位总黄酮含量测定及提取工艺优化	吴凌凤,黎翠英,章云凤,梁香(107)
HPLC 法对鱼腥草中马兜铃酸 A 的定性分析	何曼文,郭海嘉,黎芷君,许健翔,李忆东,冯丽雄(111)
HPLC 同时测定茵胆平肝胶囊 4 种成分含量的不确定度评定	连赞芳(114)
ICP-AES 测定 MHC 合金中铅、镉含量	赵欢娟,晁小涛,王小静,郭姣姣,石科学,杨军红(120)
喹硫磷在柑橘上的残留检测技术研究	邓明娟,杨伟,金曼丽,虞信园,梁永星,陈永刚,蓝宏彦(122)
氰化液体中游离氰化物和保护碱测定方法优化研究	张军童,单召勇,张之明,朱宗波,蔡明明(126)
HPLC 法同时测定明日叶干品和茶叶中 3 种成分的含量	莫颖华,冯白茹(128)
废弃龙眼核壳多酚、黄酮含量与抗氧化性的相关性研究	梁志,胡鑫鑫(132)

生产与应用

基于化学成分、药理作用预测分析柴胡质量标志物的研究	张栋梁,黄进明(135)
可降解塑料分类及生产应用研究	于淑兰(138)
变压吸附气体分离技术在煤制乙二醇行业的应用与发展	刘晓佳,卢朋朋(141)
甘油类型对微生物菌群组成的影响研究	李常清,卢珊珊,吴思涵,冯跃阳,姜莉莉(144)
钙离子胁迫对朱砂根叶片的影响	马洪娜,吴依琳,檀龙颜(148)
甲醛含量对碳酸二甲酯分离工艺的影响	刘建军,李成科,张梦,马鹏飞(151)
规模化生物天然气工程选址研究	张浩,李文涛(154)
催化裂化装置烟气脱硫脱硝除尘系统长周期运行分析	王松(157)
盐酸对催化裂化催化剂工业生产的影响	周成亮(160)

HPLC 法同时测定明日叶干品和茶叶中 3 种成分的含量

莫颖华,冯白茹

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516025)

摘要:目的:建立 HPLC 法同时测定明日叶中绿原酸、木犀草苷、芦丁的含量。方法:采用高效液相色谱法,以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min;检测波长为 254 nm。结果:山东青岛产明日叶干叶的绿原酸含量平均值为 8.423 6 mg/g、木犀草苷含量平均值为 6.157 8 mg/g、芦丁含量平均值为 2.539 4 mg/g;山东青岛产明日叶茶叶的绿原酸含量平均值为 11.113 mg/g、木犀草苷含量平均值为 12.525 mg/g、芦丁含量平均值为 2.608 mg/g。结论:山东青岛产的明日叶干品及茶叶中的绿原酸、木犀草苷、芦丁的含量均高于其他两个地区。

关键词:HPLC;明日叶;含量测定**中图分类号:**O657.72;TS272.7**文献标识码:**A**文章编号:**1008-021X(2022)24-0128-04Simultaneous Determination of Three Components in Dried Leaves and Tea of *Angelica Keiskei Koidzmi* by HPLC

Mo Yinghua, Feng Bairu

(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: Objective: To establish an HPLC method for the simultaneous determination of chlorogenic acid, luteolin and rutin in *Angelica keiskei Koidzmi*. Methods: Gradient elution was performed by high performance liquid chromatography with methanol-0.1% phosphoric acid solution as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min; The detection wavelength was 254 nm. Results: The average content of Chlorogenic acid was 2.539 4 mg/g, Luteoloside was 6.157 8 mg/g and Rutin was 8.423 6 mg/g in dry leaves of *Angelica keiskei Koidzmi* from Qingdao, Shandong. The average content of Chlorogenic acid was 11.113 mg/g, the average content of Luteoloside was 12.525 mg/g, and the average content of Rutin was 2.608 mg/g. Conclusion: The contents of Chlorogenic acid, Luteoloside and Rutin in dried *Angelica keiskei Koidzmi* tea from Qingdao, Shandong were higher than those in the other two regions.

Key words: HPLC; *Angelica keiskei Koidzmi*; content determination

明日叶(*Angelica keiskei Koidzmi*),别名明日草、八丈草、长寿草、还阳草等,系伞形科当归属的多年生草本植物,为一种药食兼用的药材^[1]。明日叶原产于日本,我国部分地区自 2008 年开始引种明日叶,现已在山东、海南、江苏、四川、贵州、云南、广东、辽宁等多省种植。明日叶具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗氧化、增加免疫力、调节血糖、降血脂及抗凝血等作用^[2-4],从而赋予它很大的开发使用价值。在 2019 年国家卫生健康委发布的公告中提到明日叶入选新食品原料,这意味着明日叶在我国市场上的使用会越来越广泛。文献分析发现,黄酮类化合物具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、降血糖、心血管保护等作用^[5-9],绿原酸具有抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗病毒、抗高血压、降血脂等作用^[10-12]。基于此,本研究采用 HPLC 法对黄酮类成分及绿原酸进行含量测定,通过预实验,发现黄酮类成分中的芦丁和木犀草苷的含量较高,故最后采用 HPLC 法同时测定明日叶中绿原酸、芦丁、木犀草苷的含量,旨在对明日叶进行准确的质量评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20AR 岛津高效液相色谱仪(岛津有限公司,日本), Thermo ODS-2 色谱柱(赛默飞科技公司,美国), Sartorius BSA124S 电子天平(德国), PS-40A 超声波清洗机(深圳市科洁超声科技有限公司,中国)。

1.2 材料

明日叶,绿原酸对照品,木犀草苷对照品,芦丁对照品,无水乙醇(分析纯),甲醇(色谱纯),磷酸。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

将明日叶粉碎至粗粉,取粗粉 1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加 50%乙醇 100 mL,盖上瓶盖,超声提取 30 min,过 0.45 μ m 微孔滤膜,即得。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别取绿原酸、木犀草苷、芦丁对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成浓度分别为 1 010.00, 216.00, 1 030.00 μ g/mL 的对照品储备液。分别精密移取上述三种对照品储备液各 0.5 mL,加甲醇至 10 mL,即得混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

采用色谱柱 Thermo ODS-2 HYPERSIL(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m),以 0.1%磷酸溶液(A)-甲醇(B)为流动相,梯度洗脱,如下表 1;检测波长:254 nm,柱温为室温,流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μ L。混合对照品溶液及明日叶样品溶液的 HPLC 图谱见图 1。

表 1 梯度洗脱

时间/min	磷酸溶液体积分数/%	甲醇体积分数/%
0.01	90	10
10	68	32
30	68	32
38	58	42
42	35	65
45	35	65
47	90	10
50	90	10

收稿日期:2022-06-20

基金项目:2021 年惠州市科技计划(医疗卫生)项目(2021WC0106481)

作者简介:莫颖华,硕士,讲师,研究方向为中药制剂及其质量分析。

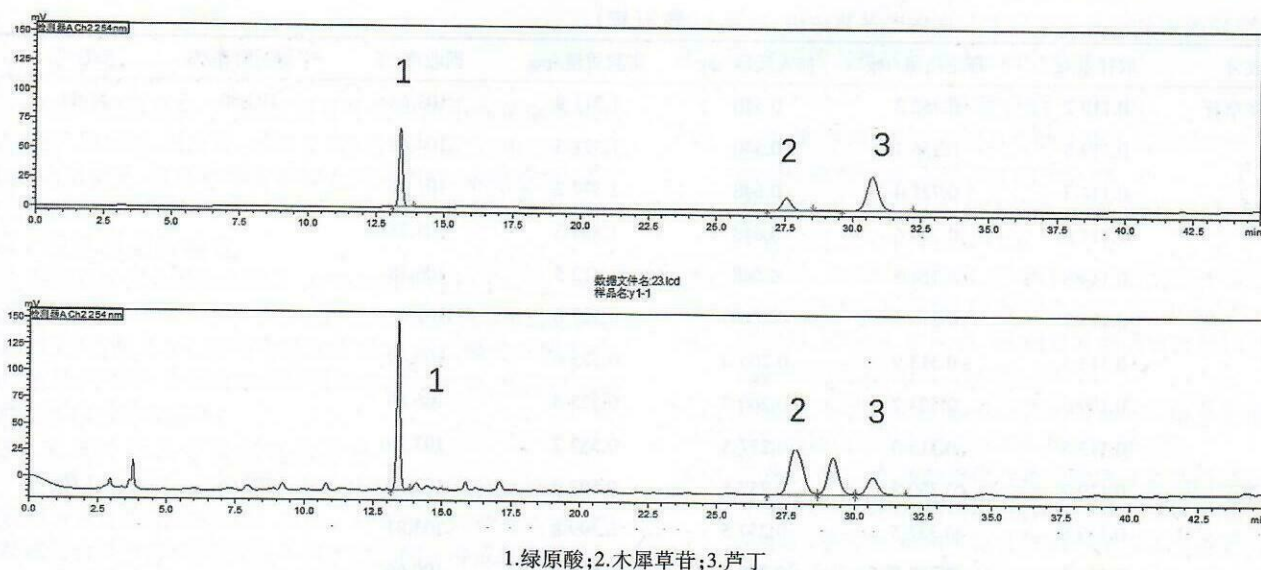


图 1 混合对照品溶液及明日叶样品溶液的 HPLC 色谱图

2.4 线性关系的考察

分别精密取混合对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 置于 5 mL 容量瓶中, 加入甲醇并定容至刻度, 取 10 μ L, 注入高效液

相色谱仪进行定量分析, 以对照品溶液的浓度作为横坐标, 其色谱峰面积作为纵坐标, 绘制标准曲线并进行线性回归, 结果见表 2。

表 2 明日叶中 3 种成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	r	线性范围/(μ g $\cdot$ mL $^{-1}$)
绿原酸	$y = 14\ 599.39x + 25\ 713.2$	1.000 0	40.40~202.00
木犀草苷	$y = 24\ 307.65x - 256.70$	1.000 0	21.60~108.00
芦丁	$y = 16\ 629x + 1\ 594.1$	0.999 9	10.30~51.50

2.5 精密度的试验

取混合对照品溶液适量, 按“2.3”项下的色谱条件连续进样测定 6 次, 计算得到绿原酸、木犀草苷、芦丁面积的 *RSD* 分别为 0.37%, 0.07%, 0.33%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取同一批明日叶供试品粉末 6 份, 按“2.1”项下制备供试品溶液, 进样测定, 计算得到绿原酸、木犀草苷、芦丁面积的 *RSD* 分别为 2.10%, 2.22%, 1.89%, 表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取明日叶供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 16, 24, 32 h, 按“2.3”

项下色谱条件连续进样测定 6 次, 计算得到绿原酸、木犀草苷、芦丁面积的 *RSD* 分别为 0.29%, 0.22%, 0.28%, 表明供试品溶液在 32 h 内稳定性良好。

2.8 加标回收率实验

取明日叶粗粉 0.1 g, 分别加入高、中、低浓度的绿原酸、木犀草苷、芦丁对照品, 再加入 50% 乙醇使总体积为 10 mL, 按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 结果见表 3, 结果表明 9 次试验的绿原酸、木犀草苷、芦丁相对应的平均回收率均分别为 94.41%, 103.50%, 103.66%, *RSD* 均小于 3.0%, 说明提取工艺合理可行。

表 3 明日叶中 3 种成分的加标回收率实验结果

成分	取样量/g	理论质量/mg	加入质量/mg	实测质量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
绿原酸	0.113 7	1.038 5	0.808	1.801 9	94.48	94.41	2.02
	0.113 1	1.033 0	0.808	1.830 4	98.68		
	0.109 6	1.001 1	0.808	1.765 8	94.64		
	0.113 5	1.036 7	1.010	1.984 6	93.85		
	0.119 2	1.088 7	1.010	2.019 9	92.19		
	0.119 8	1.094 2	1.010	2.059 8	95.61		
	0.114 3	1.044 0	1.212	2.165 7	92.55		
	0.115 6	1.055 9	1.212	2.195 4	94.02		
	0.114 8	1.048 6	1.212	2.183 8	93.67		
	0.113 7	0.717 6	0.432	1.158 5	102.06		
	0.113 1	0.713 8	0.432	1.166 7	104.84		
	0.109 6	0.691 7	0.432	1.145 4	105.03		
	0.113 5	0.716 3	0.540	1.259 1	100.51		

表 3(续)

成分	取样量/g	理论质量/mg	加入质量/mg	实测质量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
木犀草苷	0.119 2	0.752 3	0.540	1.311 9	103.63	103.50	1.84
	0.119 8	0.756 1	0.540	1.321 3	104.68		
	0.114 3	0.721 4	0.648	1.377 2	101.22		
	0.115 6	0.729 6	0.648	1.399 5	103.38		
	0.114 8	0.724 5	0.648	1.412 5	106.18		
	0.113 7	0.315 5	0.206 0	0.527 0	102.67		
	0.113 1	0.313 9	0.206 0	0.525 0	102.49		
	0.109 6	0.304 2	0.206 0	0.523 8	106.60		
	0.113 5	0.315 0	0.257 5	0.582 2	103.79		
芦丁	0.119 2	0.330 8	0.257 5	0.597 9	103.74	103.66	1.60
	0.119 8	0.332 5	0.257 5	0.599 8	103.81		
	0.114 3	0.317 2	0.309 0	0.628 2	100.66		
	0.115 6	0.320 8	0.309 0	0.643 8	104.52		
	0.114 8	0.318 6	0.309 0	0.642 1	104.71		

2.9 样品含量测定 “2.1”项下方法制备供试品溶液,进样测定,6 份样品所测得绿原酸、木犀草苷、芦丁三种成分含量平均值及 RSD 结果见下表 4。

表 4 明日叶干品中 3 种成分的含量测定实验结果

序号	称样/g	绿原酸/(mg · g ⁻¹)	木犀草苷/(mg · g ⁻¹)	芦丁/(mg · g ⁻¹)
1	1.041 2	9.069 8	6.131 6	2.741 5
2	1.015 2	8.994 6	6.196 5	2.728 2
3	1.015 0	8.932 9	6.203 2	2.740 4
4	1.023 2	9.164 2	6.406 2	2.787 3
5	1.040 8	9.499 6	6.121 6	2.759 3
6	1.024 4	9.253 2	6.441 0	2.801 6
平均值(mg/g)		9.152	6.250	2.760
RSD(%)		2.24	2.22	1.05

取 3 个不同产地的明日叶干品粗粉 1.0 g 各两份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,进样测定,6 份样品所测得绿原酸、木犀草苷、芦丁三种成分含量平均值见下表 5。

表 5 3 个不同产地明日叶干品中 3 种成分的含量测定实验结果

序号	产地	称样/g	绿原酸/(mg · g ⁻¹)	木犀草苷/(mg · g ⁻¹)	芦丁/(mg · g ⁻¹)
1	山东	1.009 8	8.180 1	6.039 6	2.467 1
2	青岛	1.074 8	8.667 1	6.276 0	2.611 7
3	山东	1.004 0	3.663 9	3.007 8	0.784 9
4	日照	1.006 5	2.573 5	5.039 9	0.896 4
5	山东	1.016 5	8.149 7	2.305 9	1.097 7
6	临沂	1.002 5	7.531 8	2.049 7	1.002 5

取 3 个不同产地的明日叶茶叶粗粉 1.0 g 各两份,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,进样测定,6 份样品所测得绿原酸、木犀草苷、芦丁三种成分含量平均值见下表 6。

表 6 3 个不同产地明日叶茶叶中 3 种成分的含量测定实验结果

序号	产地	称样/g	绿原酸/(mg · g ⁻¹)	木犀草苷/(mg · g ⁻¹)	芦丁/(mg · g ⁻¹)
1	山东	1.094 5	10.798	12.097	2.515
2	青岛	1.032	11.428	12.953	2.700
3	山东	1.012 4	6.058	4.199	1.310
4	日照	1.020 1	6.764	4.364	1.360
5	山东	1.020 6	4.798	3.536	1.876
6	临沂	1.045 9	5.352	3.884	2.088

3 讨论

3.1 含量测定成分的确定

在同一检测条件下,还对明日叶提取液中的黄酮类成分(山柰酚、槲皮素、槲皮苷、木犀草素)进行了定位,由于峰面积较小,含量较低,故只对峰面积较大的绿原酸、木犀草苷、芦丁进行研究。

3.2 提取溶剂的确定

在明日叶样品提取处理时,对提取溶剂进行了筛选。分别选用无水乙醇、50%乙醇和甲醇进行提取,并将提取液通过高效液相检测,发现无水乙醇作为提取溶剂时,色谱峰的分度度差、响应值低,甲醇作为提取溶剂时目标峰响应值低,故最终选择50%乙醇作为提取溶剂。

3.3 明日叶干品含量测定结果分析

对同一产地同一批次的明日叶干品进行含量测定,实验结果表明该含量检测方法稳定、可靠。对3个不同产地的明日叶干品进行含量测定,结果发现不同产地之间3种成分含量存在着一定的差异,这可能是由于样品产地不同、光照情况不同、采收时间不同、干燥技术不同等原因所引起。

3.4 明日叶茶叶含量测定结果分析

对3个不同产地的明日叶茶叶进行含量测定,结果发现3种成分含量存在着差异,这可能是由于样品产地不同、光照情况不同、采收时间不同、炒制技术不同等原因所引起。与明日叶干品相比,茶叶中3种成分的含量有一定的差异,这可能是经炒制所引起。

4 小结

不同产地明日叶干品的绿原酸、木犀草苷、芦丁含量存在差异,山东青岛产明日叶的绿原酸、木犀草苷、芦丁含量最高,山东日照产明日叶的绿原酸、芦丁含量最低,山东临沂产明日叶的木犀草苷含量最低。不同产地明日叶茶叶的含量也有差异,山东青岛产的绿原酸、木犀草苷、芦丁含量最高,山东临沂产的绿原酸、木犀草苷含量最低,山东日照产的芦丁含量最低。

(上接第127页)

$$C_{FCN} = \frac{V_{AgNO_3} \times T_{AgNO_3/CN}}{V} \quad (6)$$

式中: C_{FCN} 为游离氰的浓度, g/L;

V_{AgNO_3} 为消耗标液的体积, mL;

$T_{AgNO_3/CN}$ 为硝酸银对氰根的滴定度, mg/mL;

V 为量取试样的体积, mL。

通过上述检测方式优化,采用试银灵替换原有碘化钾做指示剂,用硝酸银滴定游离氰时,溶液由黄色变成橙红色为终点,终点有明显的颜色变化,使操作工人更易把控滴定终点,操作更为简便,检测效果更为直观、准确。

4.2 保护碱检测

溶液中的保护碱检测主要是检测 OH^- 的浓度, OH^- 的来源主要为加入氧化钙后与水发生反应所形成的氢氧化钙中。测定保护碱主要是加入氧化钙所产生的 OH^- , 采用酚酞做指示剂, 盐酸滴定的方式更为方便、直观。量取一定体积的氰化液体, 加水稀释至 100 mL 左右, 加入 3~5 滴酚酞指示剂, 用盐酸滴定至溶液红色消失为终点。按照下式计算保护碱含量:

$$C_{OH} = V_{HCl} \times C_{HCl} - C_{FCN} \times \frac{V}{M_{CN}} \times \frac{M_{OH}}{V} \quad (7)$$

式中: C_{OH} 为氢氧根的浓度, g/L;

V_{HCl} 为消耗盐酸的体积, mL;

C_{HCl} 为盐酸溶液的摩尔浓度, mmol/L;

C_{FCN} 为游离氰的浓度;

综上所述,山东青岛产的明日叶其干品及茶叶中的绿原酸、木犀草苷、芦丁的含量均高于其他两个地区。

参考文献

- [1] 吴敬章,王磊,张菊平.明日叶的价值及其开发利用[J].中国野生植物资源,2015,34(5):60-61.
- [2] 衣喆,应剑,王春玲.明日叶的健康益处研究进展[J].食品工业科技,2015(7):372-376.
- [3] 徐保立,王彦粉,郑华伟,等.明日叶的活性成分和生理活性及其开发利用现状[J].农产品加工,2020(3):81-83.
- [4] 甄丹丹,覃学谦,黄凤音,等.明日叶的研究进展[J].中国民族民间医药,2017,26(15):73-75.
- [5] 张颖,王晴,钱玉梅,等.黄酮类化合物的提取及生物活性研究综述[J].山东化工,2020,49(9):96-99.
- [6] 汪海峰,刘沁源.黄酮类化合物药理活性及其治疗效果研究新进展[J].西南国防医药,2020,30(6):593-595.
- [7] 祁建宏,董芳旭.黄酮类化合物药理作用研究进展[J].北京联合大学学报,2020,34(3):89-92.
- [8] 管仁伟,曲永胜,顾正位,等.木犀草苷的药理作用研究[J].中国野生植物资源,2014,33(1):1-3.
- [9] 李玉山.芦丁的资源、药理及主要剂型研究进展[J].氨基酸和生物资源,2013,35(3):13-16.
- [10] 王庆华,杜婷婷,张智慧,等.绿原酸的药理作用及机制研究进展[J].药学学报,2020,55(10):2273-2280.
- [11] 严永旺,肖兰,周旭,等.绿原酸的药理作用及药用研发对策[J].中国药房,2017,28(19):2729-2732.
- [12] 张浩超,郝宝燕,孙皓熠,等.绿原酸研究进展[J].食品与药品,2017,19(3):222-227.

(本文文献格式:莫颖华,冯白茹.HPLC法同时测定明日叶干品和茶叶中3种成分的含量[J].山东化工,2022,51(24):128-131.)

V 为量取试样的体积, mL;

M_{CN} 为氰根的物质的量质量, 26 020 mg/mol;

M_{OH} 为氢氧根的物质的量质量, 17 007 mg/mol。

保护碱的滴定主要是对溶液中 OH^- 的滴定, 采用盐酸替换原有草酸做滴定液, 酚酞做指示剂进行滴定保护碱时, 滴定至溶液红色消失为终点, 检测效率更高、更稳定、更易控制。

5 结论

(1) 采用试银灵替换原有碘化钾做指示剂, 用硝酸银滴定至溶液由黄色变成橙红色为终点, 检测更为直观、终点更易把控;

(2) 采用盐酸替换原有草酸做滴定液, 酚酞做指示剂, 至溶液红色消失为终点, 检测效率更高。

参考文献

- [1] 国家环境保护局.水质 氰化物的测定 第一部分:总氰化物的测定:GB 7486-1987[S].北京:中国标准出版社, 1987.
- [2] 商出岫,孙莹,张东山,等.游离氰测定仪的研制[J].黄金, 1996(7):44-47.

(本文文献格式:张军童,单召勇,张之明,等.氰化液体中游离氰化物和保护碱测定方法优化研究[J].山东化工,2022,51(24):126-127+131.)

《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊

江西省化学化工行业技术期刊

中国知网(CNKI)收录期刊

美国化学文摘(CA)收录期刊

《万方数据中国学术期刊数据库》收录期刊

《中文科技期刊数据库》收录期刊

《超星期刊数据库》收录期刊

江西化工

第 2 期
2023

第 39 卷
总第 166 期

JIANGXI CHEMICAL INDUSTRY

1985 年创刊, 双月刊



ISSN 1008-3103

主管单位 江西省检验检测认证总院

ISSN 1008-3103

主办单位 江西省检验检测认证总院
江西省化学化工学会

CN 36-1108/TQ

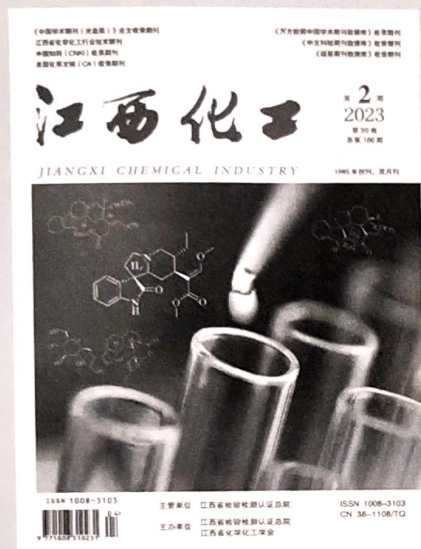


江西化工

JIANGXI CHEMICAL INDUSTRY

双月刊

1985 年创刊



2023 年第 2 期 (总第 166 期)

2023 年 4 月出版

ISSN 1008-3103

CN 36-1108/TQ

主管 江西省检验检测认证总院

主办 江西省检验检测认证总院

江西省化学化工学会

编辑出版 《江西化工》编辑部

主编 罗文斌

副主编 徐京鹏

执行主编 江 榕

责任编辑 江 榕 杨 青

编辑 黄齐鸣 程赤虎

地址 南昌市北京东路 171 号

邮编 330029

电话 0791-88305087

邮箱 jxhg2006@sina.com

网址 <http://fzy.jxtc.org.cn/jxhgzz/>

印刷 南昌焦点印刷有限公司

定价 15.00 元

目 次

· 综述与专论 ·

- 1 石墨烯基柔性 / 可拉伸超级电容器研究进展
郭勇, 刘聪聪*
- 6 平性活血化瘀中药及其化学成分抗血小板聚集作用机制的研究进展
俞佳峰, 吴先昊, 胡翠, 王小青, 李雪*
- 10 药学服务对高血压患者影响研究进展
陈峻霖, 阮露, 杨广安, 马海霞*
- 14 明日叶的研究进展
莫颖华, 冯白茹, 李大炜
- 19 钩藤碱与其类似物药理研究进展
谢国旺, 滕明刚, 刘家芳, 游辉, 柴慧芳*

· 检验检测 ·

- 28 CIC-100 离子色谱仪测定水质碘化物
刘阳
- 32 不确定度评定在食品领域的应用
张威, 刘铭哲, 耿响
- 36 4 种烟用框架纸中溶剂残留的测定及比较分析
王晓霞*, 乐志伟, 杨彤瑶, 黄婉凌, 李俊文
- 41 金属家具中可迁移重金属检测的必要性
肖娟, 彭飞

· 分析与应用 ·

- 44 高纯锗 γ 能谱法测量伴生放射性矿稀土酸熔渣 ^{238}U 方法研究
张会乔, 张若煊, 姚明
- 48 36% 丙炔氟草胺·草甘膦悬浮剂中丙炔氟草胺反向高效液相色谱分析
程冬冬, 刘九梅, 王文明, 罗英
- 51 电解液中铜分析结果准确性探析
赵晓, 李欣娜
- 55 己二酸生产工艺的研究及改进措施分析
安红强, 王运涛, 陈英雷, 纪洪虎, 赵丽红

· 实验与研究 ·

- 58 pH 值对润滑分子缓释影响及壳聚糖-海藻酸钠多孔膜摩擦性能研究
马领兄

明日叶的研究进展

莫颖华, 冯白茹, 李大炜

(惠州卫生职业技术学院, 广东惠州, 516025)

摘要: 明日叶为伞形科当归属草本植物, 是一种从国外引入的药食两用植物, 目前主要应用于食品、保健品行业, 其生理活性丰富, 具有重要的研究意义和开发前景。通过查阅中国知网、维普、万方、Pubmed 等国内外多个数据库, 文章对近年来关于明日叶的化学成分、提取方法及药理作用的相关文献进行分类和总结, 经分析后归纳成综述。文章介绍了明日叶查尔酮、类黄酮、香豆素类等化学成分, 综述了明日叶总黄酮、查耳酮成分的提取方法以及明日叶降血糖、抗肿瘤、抗炎、抗氧化等生理活性的研究进展, 为明日叶相关产品的研究与开发提供了科学依据和参考。

关键词: 明日叶; 成分; 提取工艺; 活性

中图分类号: R284; R285

文献标志码: A

文章编号: 1008-3103 (2023) 02-0014-05

DOI:10.14127/j.cnki.jiangxihuagong.2023.02.012

The Research Progress of Angelica Keiskei Koidzmi

Mo Ying-hua, Feng Bai-ru, Li Da-wei

(Huizhou Health sciences polytechnic, Huizhou Guangdong 516025, China)

Abstract: Angelica keiskei Koidzmi belongs to the umbelliferae herbaceous plant, which is a kind of medicinal and edible plant introduced from abroad. It is mainly used in food and health product industry at present, and its physiological activity is rich, which has important research significance and development prospect. By consulting many databases at home and abroad, such as CNKI, VIP database, Wanfang database, Pubmed, etc., the literature related to the chemical composition, extraction methods and pharmacological effects of Angelica keiskei Koidzmi in recent years was classified and summarized, and summarized into a review after analysis. This paper introduced the chemical constituents of Chalcone, flavonoid, coumarin and so on, and reviewed the extraction methods of total flavonoids and chalcone components of Angelica keiskei Koidzmi, as well as the research progress of physiological activities such as hypoglycemic, anti-tumor, anti-inflammatory and antioxidant of Angelica keiskei Koidzmi, which provided scientific basis and reference for the research and development of related products of Angelica keiskei Koidzmi.

Keywords: Angelica keiskei Koidzmi; Composition; Extraction technology; Activity

0 引言

明日叶 (*Angelica keiskei Koidzmi*), 又名明日草、长寿草、八丈草等, 是伞形科当归属草本植物, 原产于日本, 目前我国广东、海南、山东等地均有引种。^[1-2] 据国内外大量文献报道, 明日叶具有多种化学活性成分, 其中包括查尔酮类、其他黄酮类、香豆素类、矿物质等; 同时, 明日叶具有多种生理活性, 如抗肿瘤、抗

炎、抗菌及降血糖作用等。明日叶作为新型的健康食品, 具有良好的发展前景及研究意义。

1 明日叶的化学成分

1.1 查尔酮

张烨等^[3] 从明日叶中发现 12 个查尔酮类化合物, 其中包括 7 种黄色当归醇 (黄色当归醇、黄色当归醇 H、黄色当归醇 G、黄色当归醇 E、黄色当归醇 B、黄色当

基金项目: 2021 年惠州市科技计划 (医疗卫生) 项目 (2021WC0106481)。

作者简介: 莫颖华 (1982—), 女, 硕士, 主要研究方向为中药制剂及其质量分析。

归醇 D、黄色当归醇 F 以及其他 5 种查尔酮苷元 (补骨脂乙素、4-羟基德里辛、XanthokeisminB)。李亚丽等^[4]对明日叶根、茎和叶中的 4-羟基德里辛和黄色当归醇进行含量测定,发现的 4-羟基德里辛在茎中的含量较高,依次为根和叶;黄色当归醇的含量顺序则依次为根、茎、叶。Kil 等^[5]从明日叶地上部分的乙酸乙酯提取物中分离得到黄当归醇 O、黄当归醇 N、黄当归醇 R、黄当归醇 Q、黄当归醇 P 5 种新的查尔酮类成分。Melina 等^[6]从明日叶的甲醇-乙酸乙酯提取物中纯化得到了 4-羟基德里辛、黄色当归醇和黄色当归醇 E3 种查尔酮类活性物质。

1.2 类黄酮

张烨等^[3]从明日叶中发现 17 个黄酮类化合物,其中有木犀草素、甘草素、香叶木素、芒柄花素、葛根素、鹰嘴豆芽素 A、芹菜素、牡荆素、槲皮黄素等 9 种黄酮苷元,葛根黄素木糖甙、木犀草素-7-O-葡萄糖甙、金丝桃苷、槲皮苷、黄豆黄苷、大豆苷、金雀异黄苷、芒柄花苷等 8 种黄酮苷。周先丽^[7]对明日叶进行分离纯化得到槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷、木犀草素-7-鼠李糖葡萄糖苷、木犀草素-7-O- α -D-葡萄糖苷等黄酮苷成分。姚元枝^[8]运用多种色谱技术从明日叶中分离纯化得到山柰酚-5-O-(6"-O-乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖-3'- α -L-鼠李糖苷、荭草苷、金圣草黄素等黄酮苷及苷元。

1.3 香豆素类

张烨等^[3]从明日叶中提取了伞形花内酯、二氢山芹醇、凯林内酯、补骨脂、花椒毒素、水合氧化前胡素、王草酚、异茴芹灵、佛手苷内酯、异补骨脂、美洲花椒素、佛手酚、7-去甲基软木花椒素、丝立尼亭、异欧前胡素、欧前胡素、秦皮乙素、珊瑚菜素等 18 种香豆素类化合物。姚元枝^[8]从明日叶中分离纯化得到丝立尼亭、北美芹素等香豆素类化合物。Toshihiro^[9]等还分离出了 3'-千里光酰基-凯尔消旋内酯、4'-千里光酰基-凯尔消旋内酯、(3'R)-3'-羟基二氢欧山芹醇当归酸酯、丝立尼亭、蝉翼素、雷塞匹亭、异雷塞匹亭 7 种香豆素类成分。

1.4 其他化学成分

张烨等^[3]从明日叶中鉴定出脯氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、吡啶-3-丙烯酸 5 个氨基酸类化合物。陈欣华等^[10]测得明日叶中含有维生素叶酸、B1、维生素 B2、维生素 C、维生素 B,微量元素镁、钾、铁、钙、锗;测得的 18 种氨基酸(苯丙氨酸、赖氨酸、苏氨酸、组氨酸、色氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、缬氨酸、

酪氨酸、谷氨酸、胱氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、精氨酸、脯氨酸)。王亚楠等^[11]发现明日叶叶中矿物质(钙、钾、钠、磷、铜、锰、锌、铁、镁)总量比明日叶茎的矿物质总量高,明日叶叶中 16 种氨基酸(赖氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、亮氨酸、天冬氨酸、脯氨酸、精氨酸、组氨酸、酪氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸)的含量均比茎中含量高。庞敏^[12]测定明日叶中钾、钙、钠、镁、铁、锌、铜 7 种矿物质元素,发现 7 种矿物质元素含量的排序顺序依次为为钾、钙、钠、镁、铁、锌、铜。

2 明日叶活性成分的提取方法

2.1 明日叶总黄酮的提取

何月秋等^[13]通过单因素法及 Box-Behnken 响应面法优化明日叶总黄酮的提取方法,研究结果表明使用超声波法、提取时间 28 分钟、甲醇体积分数 93%、料液比为 1:25 时,总黄酮的提取量最高。刘彬^[14]采用正交试验法,对超声波提取明日叶总黄酮的提取工艺进行优化,结果表明超声时间为 25 分钟、提取功率 60 W、乙醇浓度 80%、料液比 1:20 时,总黄酮的得率较高。张卓^[15]采用单因素法和正交试验法对超声波提取明日叶总黄酮的提取工艺进行优化,研究结果表明,乙醇体积分数 30%、料液比 1:15、超声时间 40 分钟、超声温度 50℃、超声提取 4 次,明日叶总黄酮利率较高。

2.2 明日叶查尔酮类成分的提取

陈欣华等^[16]对明日叶查尔酮提取工艺进行研究,在索氏提取、超声提取和微波提取法三种提取方法的对比研究下,发现超声提取法在乙醇体积分数 70%、超声时间为 20 分钟、提取温度为 50℃、料液比为 1:50、提取 2 次、超声功率为 300 W 的条件下进行研究,查尔酮的得率较高。王磊^[17]通过单因素以及正交试验对明日叶中 4-羟基德里辛和黄色当归醇的提取工艺条件进行研究,研究结果表明,使用回流提取法、提取时间 90 分钟、乙醇体积分数 80%、温度 55℃、料液比 1:10、提取 2 次,4-羟基德里辛和黄色当归醇的利率较高。宁鸿珍^[18]等研究采用单因素法和正交试验法优选超声波辅助提取明日叶中查尔酮的提取条件,研究发现在乙醇体积分数为 70%、温度 50℃、料液比 1:50,提取时间 20 分钟、提取 2 次、超声波功率为 300 W 的条件提取,查尔酮得率较高。

3 明日叶的生理活性

3.1 降血糖作用

赵阳等^[19]研究发现明日叶查尔酮能上调 II 型糖尿

病大鼠肝脏葡萄糖转运体2、骨骼肌葡萄糖转运体4蛋白的表达水平,可降低大鼠的空腹血糖及胰岛素水平,对糖尿病的胰岛素抵抗情况有改善作用。曹卿^[20]等连续4周使用明日叶查尔酮经口灌胃的方式对Ⅱ型糖尿病大鼠进行研究,研究结果表明明日叶查尔酮可提高Ⅱ型糖尿病大鼠红细胞胰岛素受体的亲和力,能改善胰岛素抵抗的情况。王先红等^[21]给Ⅱ型糖尿病大鼠灌注高剂量明日叶查耳酮,发现大鼠的血糖、胰岛素、丙二醛和氧化型低密度脂蛋白均明显低于糖尿病组,胰岛细胞损伤程度减轻,表明明日叶查耳酮对Ⅱ型糖尿病大鼠氧化应激和胰岛细胞损伤有一定抑制作用。张照杰^[22]等发现高剂量灌注明日叶查耳酮的大鼠内皮素-1和钙黏蛋白含量有所下降,表明对血管内皮细胞损伤有保护作用,同时空腹血糖及血清胰岛素水平均降低。

3.2 抗肿瘤作用

李子超等^[23, 24]研究发现明日叶查尔酮能降低小鼠H22肝癌MVD的表达水平及肿瘤细胞增殖活性水平,对小鼠H22肝癌组织新血管的生成具有明显抑制作用,同时发现明日叶查尔酮具有降低小鼠肝癌细胞新血管内皮生长因子(VEGF)缺氧诱导因子-1 α 浓度的作用,表明明日叶查尔酮可通过抑制肿瘤新生毛细血管的生成,而产生抑癌作用。孙赫^[25]研究结果表明明日叶查尔酮可降低小鼠肝癌细胞PCNA和BCL-2表达水平,同时对肝癌细胞的增殖有一定抑制作用。孟扬^[26]研究发现明日叶查尔酮能上调肝癌细胞Caspase-3和Bax蛋白的表达并可一定程度抑制癌细胞的增殖。郎晓辉^[27]等的研究表明明日叶查耳酮可在一定程度上降低小鼠H22肝癌细胞的增殖活性和PCNA蛋白表达水平,并能使Caspase-3蛋白的表达增强,说明明日叶查耳酮对小鼠H22肝癌细胞增殖活性具有抑制作用。Toshihiro^[28]研究中得出4-羟基德里辛可通过死亡受体介导的途径和线粒体途径诱导HL60(白血病)细胞早期凋亡,具有抗肿瘤的作用。Maho^[29]黄色当归醇和4-羟基德里辛在不同给药量时可抑制肿瘤生长、转移和肿瘤TAM表达及抑制M2极化巨噬细胞IL-10、单核细胞趋化蛋白(MCP)-1的产生,研究表明黄色当归醇和4-羟基德里辛通过抑制肿瘤微环境中M2巨噬细胞的激活和分化而调控活化的TAMs,从而产生抗肿瘤和抗转移作用。

3.3 抗炎作用

王思芦等^[30]发现高剂量明日叶乙醇提取物可提高小白鼠抗体含量;中、高剂量可显著降低小鼠耳肿胀程

度以及腹腔毛细血管通透性;以含有低浓度明日叶乙醇提取物的饲料饲喂大白鼠可显著抑制足跖肿胀,以上结果显示明日叶具有提高机体免疫及抗炎的作用。Hee Ryun Chang等^[31]研究发现4-羟基德里辛、黄色当归醇E、黄色当归醇A和黄色当归醇B能抑制脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞生成NO和促炎性细胞白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)的表达,说明明日叶中这4种查尔酮成分可能具有抗炎的功效。Michiko Yasuda等^[32]的研究表明明日叶中主要活性成分4-羟基德里辛和黄色当归醇能显著降低脂多糖(LPS)介导的一氧化氮(NO)的产生,还可抑制LPS诱导的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的分泌和诱导NO合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)的表达,这表明明日叶中的4-羟基德里辛和黄色当归醇有一定的预防炎症作用。

3.4 抗氧化作用

郭晓青^[33]通过明日叶黄酮类化合物对羟基自由基的清除作用进行研究,结果显示,明日叶黄酮类化合物对羟基自由基有较强清除效力,可作为天然抗氧化产品开发。朱芳^[34]在对明日叶不同极性溶剂萃取物进行抗氧化活性研究时发现,明日叶的乙酸乙酯中总黄酮含量最高,在清除DPPH、ABTS+自由基以及总还原能力测定中的清除能力最高。郭晓青^[35]研究发现明日叶的叶乙醇提取物的抗氧化性大于茎乙醇提取物,且叶乙醇提取物除对羟基自由基的清除能力外,其他抗氧化活性均大于芦丁,这表明了明日叶的叶乙醇提取物具有抗氧化作用,可以作为有效的天然抗氧化物质。

3.5 预防血栓的作用

N等^[36, 37]认为明日叶具有抗血栓作用,其将有助于预防血栓性疾病。N等人利用小鼠尾出血模型(反映体内血小板聚集)进行试验,发现明日叶根中提取的黄色当归醇可抑制脂多糖(LPS)诱导的小鼠尾出血,说明黄色当归醇在体内具有抗血小板活性。

3.6 抑菌作用

Oliver^[38]研究发现4-羟基德里辛可与金黄色葡萄球菌丝氨酸tRNA合成酶(STS)共价结合,抑制金黄色葡萄球菌STS催化的tRNAs的氨基酰化,达到抑制金黄色葡萄球菌的效果。刘海燕^[39]等以金黄色葡萄球菌为指示菌对明日叶提取物的抑菌稳定性进行研究,结果显示明日叶提取物在pH值、温度、紫外线、金属离子等的条件下均表现出良好的稳定性,说明明日叶提取物具有较好的抑菌效果。

3.7 其他生理活性

刘海燕^[40]通过以肥胖大鼠为模型对明日叶的降脂活性进行研究,发现明日叶可明显改善脂代谢情况,并调节瘦素及相应受体的水平,能加速体内脂肪分解,具有降脂减肥的效果。刘海燕^[41]等建立雄性大鼠过度训练引起胃肠功能紊乱为模型研究明日叶对胃肠功能的影响,结果表明明日叶能够显著调节肠道菌群,并且对肠道代谢产物及肠道屏障等肠道微生态产生综合调理作用,能改善运动性胃肠综合征。翟苗苗等^[42]的研究表明,明日叶查尔酮对由X射线引起的急性辐射氧化损伤有防护作用,并可降低细胞凋亡率,提高细胞的损伤修复能力和辐射耐受性。

4 展望

明日叶由于其丰富的营养成分与功效,在日本、韩国等地已作为健康绿色的保健食品被广泛应用。目前,明日叶在我国还未形成规模化的生产模式,尚未进行充分的开发与利用,对其进行综合开发应用研究将有重大的意义。^[43]

参考文献

- [1] 吴敬章,王磊,张菊平.明日叶的价值及其开发利用[J].中国野生植物资源.2015,34(5):60-61.
- [2] 李子超,王力平,钟进义.明日叶及其活性成分查尔酮研究进展[J].中国食物与营养.2016,22(11):68-72.
- [3] 张烨,邓琦,魏敏等.基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的明日叶化学成分鉴定[J].亚太传统医药.2022,18(2):40-49.
- [4] 李亚丽,罗玉兰,刘建华等.HPLC-PDA法测定明日叶不同部位中的4-羟基德里辛和黄色当归醇含量[J].食品科学.2016,37(06):142-145.
- [5] KIL Y S, et al. Chalcones from *Angelica keiskei*: Evaluation of Their Heat Shock Protein Inducing Activities [J]. Journal of Natural Products, 2015, 78(10): 2481-2487.
- [6] Melina Mottin, et al. Chalcones from *Angelica keiskei* (ashitaba) inhibit key Zika virus replication proteins [J]. Bioorg Chem. 2022, 120(3): 105649.
- [7] 周先丽,梁成钦,徐庆等.明日叶的化学成分[J].中国实验方剂学杂志.2012,18(3):103-105.
- [8] 姚元枝,李胜华.明日叶化学成分研究[J].中药材.2015,38(8):1656-1660.
- [9] Toshihiro A, Harukuni T, Motohiko U. Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects [J]. Cancer Lett, 2003, 201:133-137.
- [10] 陈欣华,宁鸿珍,关维俊等.明日叶中营养成分及生物活性物质的检测分析[J].食品工业科技.2014,35(15):365-368.
- [11] 王亚楠,余忠萍,唐小革等.明日叶不同部位营养成分的测定与比较[J].中国食物与营养.2021,27(5):35-38.
- [12] 庞敏.明日叶不同部位营养成分的测定与比较[J].食品与发酵工业.2020,46(20):249-253.
- [13] 何月秋,付涛,李文等.明日叶总黄酮超声提取工艺优化及其DPPH清除能力[J].中成药.2016,38(12):2703-2706.
- [14] 刘彬,楚冬海.超声波提取明日叶总黄酮的工艺研究[J].江苏农业科学.2016,44(2):338-339.
- [15] 张卓,张彩云,郑青云等.明日叶中总黄酮的超声提取工艺优化[J].安徽农业科学,2014,42(24):8156-8158.
- [16] 陈欣华,王曼曼,宁鸿珍等.明日叶中查尔酮三种提取方法的比较研究[J].食品工业.2014,35(6):91-94.
- [17] 王磊,张连富.明日叶中4-羟基德里辛和黄色当归醇的提取纯化及鉴定[J].食品与生物技术学报.2018,37(11):1189-1195.
- [18] 宁鸿珍,陈欣华,王曼曼等.超声波辅助提取明日叶查尔酮的工艺优化[J].食品研究与开发.2014,35(8):34-37.
- [19] 赵阳,刘贝,李蕾等.明日叶查尔酮对2型糖尿病大鼠肝脏和骨骼肌葡萄糖转运体表达的影响[J].卫生研究.2013,42(1):107-109,113.
- [20] 曹卿,王庆平,钟进义等.明日叶查尔酮对2型糖尿病大鼠红细胞胰岛素受体亲和力的影响[J].现代生物医学进展.2013,13(11):2034-2036,2095.
- [21] 王先红,张照杰,李蕾等.明日叶查尔酮对糖尿病大鼠氧化应激影响[J].中国公共卫生.2014,30(1):74-76.
- [22] 张照杰,王先红,钟进义.明日叶查尔酮对2型糖尿病大鼠血清ET-1和VE-cf影响[J].齐鲁医学杂志.2013,28(4):337-338,341.
- [23] 李子超,王力平,钟进义等.明日叶查尔酮对小鼠H22肝癌MVD水平的影响[J].中医临床研究.2016,8(29):5-9.
- [24] 李子超,郭培志,陆香珍等.明日叶查尔酮抑制小鼠肝癌肿瘤新血管生成的VEGF表达[A].2016年第六届全国药物毒理学会论文集.2016-06-28.
- [25] 孙赫,钟进义,孟扬.明日叶查尔酮对小鼠肝癌细胞PCNA和BCL-2蛋白表达的影响[J].毒理学杂志.2011,25(1):33-36.
- [26] 孟扬,钟进义,孙赫.明日叶查尔酮对小鼠肝癌细胞Caspase-3和Bax蛋白表达的影响[J].癌变·畸变·突变.2011,23(01):50-53.

- [27] 郎晓辉, 钟进义, 李蕾等. 明日叶查尔酮对小鼠 H22 肝癌细胞增殖活性的抑制作用 [J]. 生态毒理学报. 2011, 6, (3): 261-264.
- [28] Toshihiro Akihisa, et al. 4-Hydroxyderricin from *Angelica keiskei* roots induces caspase-dependent apoptotic cell death in HL60 human leukemia cells [J]. J Oleo Sci. 2011, 60(2): 71-77.
- [29] Maho Sumiyoshi, et al. Antitumor and antimetastatic actions of xanthoangelol and 4-hydroxyderricin isolated from *Angelica keiskei* roots through the inhibited activation and differentiation of M2 macrophages [J]. Phytomedicine. 2015, 22(7-8): 759-767.
- [30] 王思芦, 肖文渊. 明日叶的免疫及抗炎活性研究 [J]. 中兽医医药杂志. 2019, 38(1): 53-57.
- [31] Hee Ryun Chang, Hwa Jin Lee, Jae-Ha Ryu. Chalcones from *Angelica keiskei* attenuate the inflammatory responses by suppressing nuclear translocation of NF- κ B [J]. Med Food. 2014 Dec; 17(12): 1306-1313.
- [32] Michiko Yasuda, Kyuichi Kawabata, Miki Miyashita. Inhibitory effects of 4-hydroxyderricin and xanthoangelol on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264 macrophages [J]. Agric Food Chem. 2014 Jan 15; 62(2): 462-467.
- [33] 郭晓青, 张晓春, 陈晓靛等. 明日叶黄酮类化合物清除羟基自由基活性研究 [J]. 广州化学. 2013, 38(4): 7-11.
- [34] 朱芳. 明日叶总黄酮提取、纯化分离以及抗氧化活性的研究 [D]. 贵阳. 贵州师范大学. 2017: 35.
- [35] 郭晓青, 吴金鸿, 刘畅. 明日叶的茎与叶主要抗氧化成分含量及抗氧化性比较 [J]. 食品与发酵工业. 2013, 39(8): 122-127.
- [36] N Ohkura, et al. Possible antithrombotic effects of *Angelica keiskei* (Ashitaba) [J]. Pharmazie. 2018, 73(6): 315-317.
- [37] N Ohkura, et al. Anti-platelet effects of chalcones from *Angelica keiskei* Koidzumi (Ashitaba) in vivo [J]. Pharmazie. 2016, 71(11): 651-654.
- [38] Oliver A Battenberg, et al. Target profiling of 4-hydroxyderricin in *S. aureus* reveals seryl-tRNA synthetase binding and inhibition by covalent modification [J]. Mol Biosyst. 2013, 9(3): 343-351.
- [39] 刘海燕, 张建伟. 明日叶提取物抑菌活性成分稳定性的研究 [J]. 食品研究与开发. 2016, 37(10): 39-42.
- [40] 刘海燕, 张建伟. 明日叶对肥胖大鼠脂代谢的影响 [J]. 食品研究与开发. 2016, 37(11): 174-177.
- [41] 刘海燕, 张建伟. 明日叶对过度训练致大鼠胃肠功能紊乱影响的研究 [J]. 食品研究与开发. 2016, 37(12): 169-173.
- [42] 翟苗苗, 刘庆平, 张常春等. 明日叶查尔酮对急性辐射损伤小鼠氧化损伤的作用研究 [J]. 中国野生植物资源. 2015, 34(4): 22-23, 37.
- [43] 刘畅, 王正武, 吴金鸿. 药食兼用植物明日叶的研究进展及应用 [J]. 食品与药品. 2013, 15(3): 205-209.

(上接第5页)

- flexible core-shell graphene/conducting polymer microfibers for fibriform supercapacitors [J]. RSC Advances, 2017, 7(61): 38187-38192.
- [21] Kou L, Huang T, Zheng B, et al. Coaxial wet-spun yarn supercapacitors for high-energy density and safe wearable electronics [J]. Nature Communications, 2014, 5: 3754.
- [22] Lim L, Liu Y, Liu W, et al. All-in-One graphene based composite fiber: toward wearable supercapacitor [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(45): 39576-39583.
- [23] Hu Y, Cheng H, Zhao F, et al. All-in-one graphene fiber supercapacitor [J]. Nanoscale, 2014, 6(12): 6448-6451.
- [24] Liang Y, Wang Z, Huang J, et al. Series of in-fiber graphene supercapacitors for flexible wearable devices [J]. Journal of Materials Chemistry A, 2015, 3(6): 2547-2551.
- [25] Guo T, Zhou D, Liu W, et al. Recent advances in all-in-one flexible supercapacitors [J]. Science China Materials, 2020, 64(1): 27-45.
- [26] Kang S H, Lee G Y, Lim J, et al. CNT-rGO hydrogel-integrated fabric composite synthesized via an interfacial gelation process for wearable supercapacitor electrodes [J]. ACS Omega, 2021, 6(30): 19578-19585.
- [27] Li X, Liu R, Xu C, et al. High-Performance polypyrrole/graphene/SnCl₂ modified polyester textile electrodes and yarn electrodes for wearable energy storage [J]. Advanced Functional Materials, 2018, 28(22): 1-10.
- [28] Guo K, Wang X, Hu L, et al. Highly stretchable waterproof fiber asymmetric supercapacitors in an integrated structure [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(23): 19820-19827.
- [29] Lamberti A, Clerici F, Fontana M, et al. A highly stretchable supercapacitor using laser-induced graphene electrodes onto elastomeric substrate [J]. Advanced Energy Materials, 2016, 6(10): 1-6.
- [30] Li K, Huang Y, Liu J, et al. A three-dimensional graphene frameworks-enabled high performance stretchable asymmetric supercapacitor [J]. Journal of Materials Chemistry A, 2018, 6(4): 1802-1808.
- [31] Liang X, Zhao L, Wang Q, et al. A dynamic stretchable and self-healable supercapacitor with a CNT/graphene/PANI composite film [J]. Nanoscale, 2018, 10(47): 22329-22334.



合作授课模式在临床药物治疗学教学中的效果评价

万欣¹, 刘泽清², 梁可^{1*}

(1.惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000; 2.惠州市中心人民医院, 广东 惠州 516000)

摘要:临床药物治疗学是一门新兴的实用性学科,为当前药学工作模式由药品模式向患者模式的转变提供有力支持。但在该课程教学中存在课程难度大,学生缺乏学习兴趣;教学方法单一,难以学以致用;实践内容缺乏,与理想有差距等问题。选取惠州卫生职业技术学院110名高职大二二年级药学专业学生为研究对象,随机分为实验组和对照组,在临床药物治疗学授课中分别实施专任教师与临床药师合作授课创新模式和传统的专任教师授课模式。通过问卷调查和考试成绩进行教学效果评价发现,专任教师与临床药师合作授课创新模式可以提升学生的自主学习水平,增强学习内容的趣味性和实用性,提升教学效果,值得进一步研究推广。

关键词:临床药物治疗学;合作授课模式;效果评价

中图分类号:G423.04

文献标识码:A

文章编号:1671-1246(2022)14-0067-03

目前,药学工作的重点是新药创制和药学服务,药学服务中心已从原来的以药品为中心阶段过渡至以患者为中心阶段,药学服务工作任务由以药品调配为主,保障患者治疗所需药品转变为保证患者用药合理、安全和有效。药学服务的中心与任务已发生改变,这对传统的药学教育提出了新的要求,医药相关院校对药师的培养模式应适应临床人才的需求^[1],同时对临床药物治疗学等强调实践能力的课程要加强重视。临床药物治疗学课程最早由美国的高校在1980年左右开设,21世纪初期在我国本科高校药学专业中开始开设本课程,近10年高职

院校药学专业也陆续开设该课程。目前临床药物治疗学是高职院校药学类专业规定设置的一门专业主干课程,是研究药物预防、治疗疾病的理论和方法的一门课程,集药理学、诊断学、内科学为一体^[2]。临床药物治疗学作为基础药学与临床医学的桥梁学科,发挥着非常重要的作用^[3]。临床药物治疗学课程涉及范围广、知识点零散、内容枯燥乏味、实践性强,药学专业学生对于基础医学如生理学、病理学等课程掌握不深,在学习与理解临床药物治疗学上存在一定的困难^[4]。另外,在临床药物治疗学课程教学中存在许多问题,例如该课程涉及范围广,学生普遍

基金项目:惠州市2019—2020年度职业院校教育科学研究课题(2020hzzjkt31);广东省教育厅高职教育教学改革研究与实践项目(JGGZKZ2020143);2019—2021惠州卫生职业技术学院“创新强校工程”教育教学改革类项目建设规划(3.36)

较好地评价专业知识、临床技能,是一种科学的考核方式,值得临床推广。

3 结语

OSCE是一种较科学的考核方式,在国内外得到广泛应用。根据精神科的特点,设计实施了精神科OSCE,突出对精神科临床专业知识、临床技能、临床思维和临床沟通能力的考核和评定,更加客观、准确,同时能够有力促进学生上述能力的培养,对培养综合素质高、实践能力强、适应医改要求的高层次应用型精神医学专门人才很有帮助,值得推广。

参考文献:

- [1]HUANG Y, WANG Y, WANG H, et al. Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study [J]. *Lancet Psychiatry*, 2019, 6(3): 211-224.
- [2]国务院办公厅.关于转发卫生计生委等部门全国精神卫生工作规划(2015—2020年)的通知[A].国办发[2015]44号.
- [3]HARDEN R M, STEVENSON M, DOWNIE W W, et al. Assessment of

clinical competence using objective structured examination [J]. *Br Med J*, 1975, 1(5955): 447-451.

[4]PLAKIPTIS C. Objective structured clinical examination (OSCE) in psychiatry education: a review of its role in competency-based assessment [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017(988): 159-180.

[5]曹玉萍, 张亚林, 胡晔. 客观结构化临床考试在精神病学教学与技能考核中的应用[J]. *临床心身疾病杂志*, 2008, 14(6): 534-535.

[6]杨世昌, 张东军, 杜爱玲, 等. 客观结构化临床考试在精神病学临床技能考核中的应用[J]. *中国高等医学教育*, 2012(6): 91-92.

[7]李晓虹, 周方. 客观结构化临床考试在北京市精神科住院医师临床技能考核中的应用[J]. *中国医药导报*, 2014, 11(27): 166-169.

[8]何红波, 宁玉萍, 陈群, 等. 精神科住院医师结业“5站式”考核评分标准的一致性分析[J]. *临床精神医学杂志*, 2017, 27(6): 385-387.

作者简介:翟金国(1966—),男,硕士,教授,硕士研究生导师。研究方向:临床精神病学。▲

反映学习难度大;且现在课程教学主要采用传统讲授法,教学方法单一,对于即将步入实习的学生缺乏吸引力,学生学习兴趣不高;课时分配少,实训课基于场地限制,难以同时安排大量学生外出到药店和医院实训,实践内容以案例讨论为主,学生参与度低^[9]。20 世纪 60 年代,美国中学之父 William M. Alexander 首次提出“合作教学(Cooperative Teaching)”的概念^[10],其被认为是近几十年间最成功和重要的教学改革方法,自提出后在欧洲和北美国家多个学科中被广泛应用于教学实践^[11]。20 世纪 90 年代,我国教育研究者开始引入和介绍合作教学模式^[12],该教学模式在中小学教育改革和英语教育改革中最先开始探索。实践研究表明,合作授课模式在英语教学中成效显著^[13],但在高职院校临床药物治疗学课程教学中的作用鲜有报道。基于临床药物治疗学课程的重要性以及当前教学中存在的诸多问题,为提升学生的实践技能,帮助药学专业学生完成药学服务中心与工作任务的转化,笔者通过课程改革实践,探索专任教师与临床药师合作授课创新模式在临床药物治疗学教学中的实施方法及效果评价。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2020 年 3 月选取惠州卫生职业技术学院 2019 级药学专业大二年级学生共 110 名,随机分为实验组(55 人)和对照组(55 人),实验组采用专任教师与临床药师合作授课创新模式教学,对照组仍采用传统的专任教师授课模式。两组学生的基本情况包括年龄、性别、以往成绩等无显著差异($P>0.05$)。临床药物治疗学授课时间为大二年级第二学期,此时学生已完成人体解剖学和生理学课程的学习,药理学课程在大二年级分两个学期完成授课,此时已完成药理学大二年级第一学期的授课,还有一半的药理学授课内容与临床药物治疗学均安排在大二年级第二学期。

1.2 教学方法

药学专业学生的临床基础知识较为薄弱,导致临床药物治疗学课程的理解难度增加。同时,大量的药物专业知识和合理用药指导十分枯燥,学生缺乏学习兴趣,鲜少主动学习。当前医药技术迅猛发展,新的药物层出不穷,而《临床药物治疗学》教材收录的药物品种和合理用药指导往往落后于临床实际。面对如此众多的药物,课程教学既要使学生掌握传统的药物治疗原则,又要让他们了解新药在临床应用的情况,以适应临床药物治疗的需要,这为该课程的学习增加了难度。

传统的专任教师授课模式主要采用课堂讲授为主的教学方法。教师以疾病种类为纲,系统讲述疾病的发病机制、临床表现、治疗药物的分类、治疗药物的合理选用及相关临床病例分析等内容。教学方法单一,不易吸引学生注意力,传统教学以教师为主体,较多的知识灌输使得学生接受起来较为缓慢,学生鲜有自主思考的机会,往往只是对药学知识和临床理论死记硬背,难以适应临床实践中面临的各种实际问题,不能学以致用。专任教师与临床药师合作授课创新模式按以下步骤实施教学:(1)与惠州地区排名靠前的“三甲”医院建立紧密持续的合作关系。目前我校已与惠州市中心人民医院、惠州市第一人民医院、惠州市第三人民医院等建立了紧密合作关系,聘请有丰富临床

经验与教学心得的临床药师为我院兼职教师。学院对聘请的临床药师进行教学能力和师德师风培训,并指定学院一名本门课程教学时间超过 3 年的专任教师为临床药物治疗学课程秘书,负责协助临床药师与学生沟通,帮助临床药师了解学生学习情况,安排授课时间和配合临床药师控制授课难度等。(2)系统分析《临床药物治疗学》教材,正式授课前专任教师与临床药师共同探讨实际工作中需要重点掌握的课程内容。以疾病为纲,以合理用药为目的,主要讲解实际工作中接触频繁的、需要重点掌握的疾病相关章节内容,如“特殊人群用药”一章中的“妊娠期和哺乳期妇女用药”,“小儿用药、心血管系统疾病的药物治疗”一章中的“高血压和高血脂用药”,“呼吸系统疾病的药物治疗”一章中的“急性上呼吸道感染用药”,“消化系统疾病的药物治疗”一章中的“消化性溃疡用药”等,减少对工作中较少使用及与实际脱节的知识的讲解。在教学中重在培养学生的思维能力和自主获取知识能力,让学生在课程学习中养成查阅文献、疾病指南和《内科学》教材等的习惯,做到真正的“授人以渔”。(3)发挥专任教师和临床药师各自的优势,强强联合,服务于课程教学。专任教师学历高、理论基础扎实、教学方法和手段较多,同时了解学生情况,对课程深度和难度把握得比较好;临床药师的临床一线工作经验丰富,实践本领强,掌握当前最新的药物动态,有非常多的实践案例可以用于课堂教学。通过合理分配授课内容,由临床药师讲解其擅长的药学领域相关内容,由专任教师统筹该门课程的内容,控制课程难度,保证教学进度及学生系统掌握本门课程的重点知识,形成具有我院特色的学院专任教师与临床药师合作授课模式。(4)学院教师定期去企业实践,积累实践经验,不断提升理论联系实践能力,更好地服务于教学。(5)授课期间,丰富课程的实训内容,安排学生前往医药相关企业参观学习、短期顶岗实习,为学生创设理论与实践相融合的情境,学生可以亲身体验药学服务对自身知识和技能的要求,对标要求,提升实践能力。

1.3 效果评价

采用课程理论考试和问卷调查两种方式进行教学效果评价。课程理论考试直观反映学生课程学习效果,考试范围涵盖课程所有章节,考试题目由选择题(客观题,60 分)和案例分析题(主观题,40 分)组成。问卷调查采用不记名调查,主要了解学生课前、课中、课后的学习参与情况,学习内容有趣程度,课堂讲授知识是否易懂,学习兴趣是否浓厚,临床思维能力是否提升及对教学模式是否满意。

1.4 统计学方法

统计实验组及对照组相关数据,应用 SPSS 软件进行统计分析,考试成绩用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 考试成绩

结果显示,实验组学生选择题、案例分析题成绩和总成绩均明显优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 问卷调查

教学结束后对两组学生发放调查问卷,共发放 110 份,回收有效问卷 110 份,有效问卷回收率为 100%。结果显示,实验

表 1 两组学生考试成绩比较($\bar{x} \pm s$,分)			
组别	选择题	案例分析题	总成绩
对照组	46.5±3.7	29.8±1.9	76.3±4.6
实验组	50.2±4.7 [*]	32.4±4.4 [*]	82.6±6.9 [*]

注:与对照组比较,^{*}P<0.05

组与对照组相比,实验组课前自主预习、课中积极参与和课后复习巩固的人数较多,且实验组中大多数学生认为学习内容有趣、课堂讲授的理论知识易懂、学习兴趣浓厚、临床思维能力得到提升以及对教学模式满意,见表 2。

表 2 两组学生教学评价反馈比较 [n(%)]		
问卷项目	对照组	实验组
课前自主预习	18 (32.7)	41 (74.5)
课中积极参与	36 (65.5)	50 (90.9)
课后复习巩固	16 (29.1)	38 (69.1)
学习内容有趣	28 (50.9)	43 (78.2)
课堂讲授的理论知识易懂	31 (56.4)	46 (83.6)
学习兴趣浓厚	25 (45.5)	36 (65.5)
临床思维能力得到提升	19 (34.5)	49 (89.1)
对教学模式满意	27 (49.1)	45 (81.8)

3 讨论

3.1 传统授课模式在临床药物治疗学教学中应用的不足

传统授课模式中,由学院专任教师授课,主要采用讲授式教学方式,以疾病为纲系统讲授疾病的药物治疗策略,可以快速、直接地把当前的经验性知识传授给学生,但长期采用该方式教学容易造成学生缺乏学习兴趣,学习主动性低,不利于学生实践能力的培养和临床思维能力的提升。

3.2 合作授课模式在临床药物治疗学教学中应用的优势

把合作授课模式引入临床药物治疗学教学中,在提高学生成绩、提升学生自主学习水平、增强学习内容的趣味性和实用性、提升学生对教学模式的满意度等方面均获得了良好的效果。(1)提高学生学习参与度和自主学习水平。传统授课模式多为教师课堂讲课,学生养成了被动学习的习惯。即使教师反复强调课前做好预习、课中积极参与、课后及时复习,也难以长期维持学生的学习参与度。采用合作授课模式后,临床药师授课过程中引入大量临床案例,临床案例生动有趣,为更好地理解案例,学生积极进行课前预习、课中参与、课后巩固,学生自主学习水平大幅度提升。(2)增强学习内容的趣味性和实用性,临床思维能力显著提高。临床常见疾病的治疗方法与治疗药物不断发生变化,“临床指南”更新较快,大部分教材使用多年,与实际工作脱节严重,不利于学生临床思维能力的培养。采用合作授课模式后,专任教师与临床药师共同探讨教学中的重点和难点,保留必备的理论知识,把临床一线案例、疾病指南和临床实际工作的思维方法引入课堂,使学习内容的趣味性和实用性显著增强,学生在耳濡目染中养成了自主查阅文献、疾病指南和《内科学》教材的习惯,进而提升了临床思维能力。(3)学生对教学模式的满意度大幅度提升。本研究中,对照组仅 49.1%的学生对当前教学模式感到满意,日复一日的传统教学模式让学生失去新鲜感。而采用合作授课模式的实验组学生对教学模式的满意度为 81.8%,显著高于对照组,这表明合作授课模式被大部分学生接受且喜爱,值得进一步研究推广。

4 结语

医药类高职院校的药学专业开设临床药物治疗学课程,是基于药学专业学生在以往的培养中重点掌握了药物的概念、理化性质、生产工艺和质量检查等知识,但对于走上工作岗位后更多使用到的药物选用和合理用药等内容存在空白,导致学生在刚毕业进入实际临床工作中存在知识脱节、实践能力不足、无法快速适应工作等情况。临床药物治疗学为药学专业学生提供合理用药知识,为其走上工作岗位开展药学服务打下坚实的基础。与药学专业的其他课程不同,临床药物治疗学更强调知识的实践性和实用性,吸引学生的学习兴趣,以其容易理解的方式把复杂烦琐的药物选用和合理用药相关知识呈现给学生,因此对传统以讲授法为主的教学模式进行改革很有必要。笔者将专任教师与临床药师合作授课创新模式引入临床药物治疗学教学中,收到了不错的成效,可操作性强。当前对于专任教师与临床药师合作授课模式在临床药物治疗学教学中的应用还处于起步阶段,不能完全取代传统的教学模式,我们将进一步探索合作授课模式在临床药物治疗学教学中的深度应用,探讨适宜高职药学专业学生情况的合作授课模式最佳组合。同时也继续拓展合作授课模式的广度,在合作授课模式整体框架下丰富课堂授课方式,在“互联网+”时代,将信息化技术引入教学,可引入微课、慕课、微信等线上平台辅助授课,实现混合式教学;在适当的章节采用案例教学法(CBL)、以问题为基础的教学法(PBL)等启发式教学方法,充分调动学生的学习兴趣 and 参与热情,使课程教学内容符合岗位知识需求,增强临床药物治疗学课程的实用性和针对性。

参考文献:

[1]钱江华,刘浩,魏芳,等.临床药物治疗学在药学专业人才培养中的重要性探讨[J].基础医学教育,2014,16(9):708-710.
[2]李成林,汪建云,吴云明.提高临床药物治疗学教学效果的探讨[J].基础医学教育,2014,16(9):711-713.
[3]杨帆.临床药物治疗学教学方法探讨[J].基础医学教育,2013,15(6):579-580.
[4]沈杰,贾元威,谢海棠.临床药物治疗学教学现状及存在问题分析[J].教育教学论坛,2018(21):84-85.
[5]童文娟,孙少卫.临床药物治疗学课程教学模式探索[J].卫生职业教育,2021,39(17):99-101.
[6]BAUWENS J, HOURCADE J, FRIEND M. Cooperative teaching: a model for general and special education integration[J]. Remedial and Special Education, 1989, 10(2): 17-22.
[7]张静,刘巍.合作办学项目中外教师合作教学新模式研究[J].西南农业大学学报,2012,10(9):86-90.
[8]黄佳乐,金鑫.基于学生视角的大学英语中外籍教师合作授课模式探究[J].海外英语,2018(8):73-75.
[9]郭书法,刘佳佳,汪田田,等.高等医学院校医学专业英语合作教学模式研究[J].成都中医药大学学报(教育科学版),2019,21(2):54-57.

作者简介:万欣(1993—),女,硕士,讲师。研究方向:药学研究、药学教育。

* 通信作者:梁可(1983—),女,硕士,副教授。研究方向:药学研究、药学教育。▲

基于混合式教学模式的教学实践研究 ——以高职实用药物学基础课程为例

万欣,梁可*

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516000)

摘要 随着信息技术的快速发展,移动终端作为教育教学的辅助工具,为教育教学的发展带来了新的契机,能够统筹线上线下教学优势的混合式教学模式逐渐受到教育者青睐。高职药学专业的实用药物学基础课程主要研究药物的结构及作用、临床应用、不良反应、用药注意事项等,内容繁杂、理论性强,学生学习兴趣不高,学习较枯燥。传统讲授法教学效果不佳,尝试将混合式教学模式引入教学中,构建融合超星学习通、微课、慕课的线上线下课堂教学,提升教学效果。

关键词 混合式教学 翻转课堂 实用药物学基础

中图分类号 G424.1

文献标识码 A

文章编号 1671-1246(2020)06-0068-03

伴随智能手机的普及和“互联网+”技术的飞跃发展,混合式教学模式应运而生,为教育教学改革提供了新思路。混合式教学是指网络平台和课堂面授教学相结合的教学模式^[1]。它要求将传统学习方式和网络化学习的优势结合起来,把教师的主导作用和学生的主体地位相统一^[2]。混合式教学模式是当前高校认可度较高的教学模式^[3],而如何构建一个成功的混合式学习环境,是目前教育工作者关注和探讨的问题。本文以笔者所授课程实用药物学基础为例,探究如何在课堂教学中运用移动教学 App、微课等构建混合式学习环境,以提升学生学习兴趣,提高课堂教学质量,旨在加强学生专业知识与技能,提升学生的就业竞争力。

实用药物学基础是将药理学和药物化学两门课程有机整合而成的一门药学专业核心课程,主要包括药物的结构及作用、

临床应用、不良反应、用药注意事项等内容^[4]。该门课程为药学专业学生毕业后从事药品生产、药品经营、药品管理相关工作提供根本保障和必备知识。然而,实用药物学基础内容多且杂,理论性强,药物种类繁多,需识记信息量大。基于这些特点,学生对该门课程普遍学习兴趣不高,学习主动性不强。又因该课程是一门新课程,教师对该门课程教学还处于探索阶段,目前仍普遍采用传统面对面讲授法进行教学,教学效果不佳^[5]。

1 高职药学专业实用药物学基础课程教学现状

实用药物学基础课程的学习对药学毕业生在药学相关岗位工作中药品说明书阅读、药品分类、药品保养与储存、药品合理使用、药品不良反应监测等起到了至关重要的作用^[6],但目前传统教学中仍存在较多问题。

1.1 学生学习主动性不强

基金项目 惠州卫生职业技术学院“创新强校工程”(2016—2020 年)建设规划项目(3.1.74)

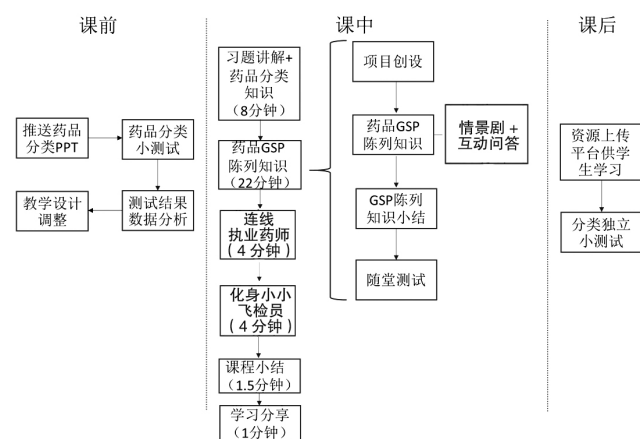


图2 药品 GSP 陈列教学设计

不再受时间、空间限制。这就要求学生除了正常课堂学习外,还要学会充分利用碎片化时间进行学习,构建属于自己的知识体系^[3]。而作为“互联网+”时代的教师应紧跟学生学习模式的转

变,不断提高自身信息化教学水平,丰富教学资源,对课程内容进行精心设计。充分利用大数据技术,引入多元化评价体系,并根据学情反馈及时调整教学设计,努力做到因材施教^[4]。另外学校也要努力建设“智慧教室”,为智慧课堂教学提供硬件保障,搭建智慧化教学平台。在学校、教师和学生三方共同努力下,通过不断解决智慧课堂教学应用中出现的实际问题,最终探索出适合学生的智慧化课堂教学模式。

参考文献:

- [1]刘邦奇.智慧课堂:“互联网+”时代的课堂变革[N].江苏教育报,2016-09-21.
- [2]陈婷.“互联网+教育”背景下智慧课堂教学模式设计与应用研究[D].徐州:江苏师范大学,2017.
- [3]何海棠,周华.构建“互联网+”时代学生“碎片化”学习体系的思考[J].赤峰学院学报:自然科学版,2015,31(20):227-228.
- [4]谢礼娴.互联网+时代高职院校思政理论课的智慧课堂探析——以蓝墨云班课为例[J].广东水利电力职业技术学院学报,2017,15(3):52-57.

(通讯作者 戴胜) ▲

当前实用药理学基础课程多采用传统教学模式,即教师按照教学大纲和教学计划,在规定课时内将知识教授给学生。实用药理学基础课程知识点多,理论性强,理解和识记难度大,学生在学习该门课程中普遍有畏难情绪,学习缺少主动性,学习效率低,识记困难和容易遗忘。

1.2 学生课堂学习容易分神,缺乏师生互动

现在的高职学生生活在网络时代,科技进步、阅读载体的变化和人们求快的心理,带来了碎片化的学习特点。手机电脑已经深入学生学习和生活的方方面面,在课堂中也极易被网络娱乐吸引。学习方式的改变和娱乐诱惑的增加,使学生在课堂上比以往更容易开小差。在中学阶段,学生大多是被动接受知识,处于被动的从属地位,每日机械性听课、做笔记、做练习,逐渐让学生养成了不爱问、不爱答、不爱动的习惯,课堂缺少师生互动,教师不重视学生的学习反馈。

1.3 实践技能不扎实

虽然传统教学中采用了理论教学和实训教学相结合的方式,但由于实训课时限制,给学生提供的实践动手机会不多,实训教学项目难以深入实际工作的方方面面。实践技能的提升需要不断在实践中积累经验、思考感悟。有限的实训课时及学生对实训课程重要性的忽视导致学生专业技能不扎实,无法满足就业需求。由此可见,实用药理学基础课程改革迫在眉睫,应从药学实际岗位工作要求出发,借助多种教学手段联合线上线下教学资源,开展混合式教学,以提高教学效果和促进学生职业成长。

2 基于混合式学习理论的实用药理学基础教学实践

笔者在实用药理学基础课程教学中初步尝试应用混合式教学方法,并研究了教学效果。混合式教学要求将面对面教学与网络教学相结合,以获得最佳学习效果,将线上线下教学相结合以提升教学效果。目前有各种可用于混合式教学的 App,笔者比较后基于操作简便、可满足教学需要及无须付费等优点,选用超星学习通作为主要教学载体。基于超星学习通的混合式教学主要包括以下 3 个阶段。

2.1 课前准备阶段

2.1.1 超星学习通安装及简介 在课程开始前,学生自行在手机或平板电脑等便于携带的移动设备上下载安装超星学习通 App。教师上传超星学习通的操作手册至学生微信群,学生自行熟悉该软件使用方法。教师在超星学习通上建立实用药理学基础课程,在课程中建立与线下班级对应的线上班级,以便开展混合式教学。通过截图方式,将班级二维码发送给对应班级学生,学生通过扫描对应班级二维码进入对应班级,要求学生以实名和学号注册,进入指定班级,便于后期在超星学习通上对学生进行考核。

2.1.2 理论课前准备 课前一周,教师将下一次课程教学资源上传至超星学习通,可以是 PPT、微课、相关动画或时事新闻及案例等,上传内容的学习时间控制在 10 分钟以内。通过这些简短又有趣味性的课前学习内容,可以增加学生对即将授课内容的熟悉程度。教师通过超星学习通可以掌握每个学生的学习时间、学习完成进度,以督促学生养成课前学习习惯,同时可以了解学生学习难点及易错点。学生在超星学习通上反馈课前学习

中遇到的难点和困惑,接下来的课堂教学中教师将这些内容作为重点内容进行讲解。

2.1.3 实训课前准备 实训课前,教师将实训课知识点的 PPT 和实训操作相关视频上传超星学习通,要求学生完成实训课前学习。将实训错误操作做成动图,以改错题的方式要求学生找出错误点,加强学生实验规范操作。对因课时限制和场地原因无法安排又与工作密切相关的实训课程,可以与相关企业合作,拍摄实际工作视频,以专题形式上传超星学习通,学生通过观看视频,分小组模拟工作场景等方式提升实操技能。

2.2 课中教学阶段

首先教师让学生在超星学习通上签到,了解学生出勤情况。接下来,可以和学生进行课堂互动,通过使用超星学习通平台组织学生抢答等多种有趣的互动形式,对参与互动的学生给予加分,学期末可直接使用超星学习通计算学生平时成绩,以此促进学生参与课堂互动。课堂互动内容包括对以往学习内容抽查、对即将授课内容的重难点反馈、有趣学习方法的分享以及对学生遇到的重点、难点内容各个击破,对学生普遍理解的知识点适当减少授课内容和时间,对难以理解和容易出错的地方加强讲解。最后,通过随机分组方式,将学生分成 6~8 人一组,以小组形式完成课堂汇报及相关练习,巩固重点、难点,对课堂内容进行总结和升华。在面授中,要用各种方式提高学生课堂参与度,促进学生将知识内化,将手机等移动通信设备充分利用起来,使之为教学所用。

2.3 课后巩固与反馈

课堂教学结束后,超星学习通课程资源库继续对学生开放,并将课堂小组任务也放在对应章节,供学生互相学习,取长补短。不同层次的学生对知识的掌握程度不同,课后的巩固也根据学生情况设置必做任务和选做任务,必做任务适合大部分学生用于巩固提升,选做任务适合学有余力的学生用于深入学习和扩展学习。学生和教师可在课后通过超星学习通继续交流,学生课后发表学习心得和对课程的评价,教师可在线答疑解惑,双方相互促进,提升教学效果。

2.4 教学效果分析

学期末统计学生学习效果,使用混合式教学模式的班级综合成绩优秀的学生占 19%,无成绩不合格学生,而未使用混合式教学模式的同专业同层次班级,综合成绩优秀的学生占 10%,成绩不合格学生占 1.5%。对学生进行教学效果问卷调查发现,采用混合式教学的班级 58% 的学生表示课后有通过超星学习通平台自主学习,41% 的学生反馈学习有趣味,60% 的学生表示课后和教师交流过课程问题,而未采用混合式教学的同专业同层次班级调查显示,仅有 15% 的学生课后有自主学习过本课程,25% 的学生认为学习有趣味,23% 的学生表示课后和教师讨论过课程问题。通过期末学习成绩和问卷调查反馈发现,混合式教学可显著提升学生学习自主性,加深教师对学情的了解,便于师生交流,该教学模式集合线上线下教学优势,提高了药学生实用药理学基础课程的学习效果。

3 结语

混合式教学模式有效促进了课堂师生互动,为教、学、评等环节带来了便利,较好地调动了学生学习的积极性和主动性,

翻转课堂在高职院校人体解剖学教学中的应用

徐小洁

(江苏省南通卫生高等职业技术学校,江苏 南通 226016)

摘 要 翻转课堂是信息技术高速发展的产物,实现了传统课堂中“知识传授”与“知识内化”两个阶段的颠倒。翻转课堂是以学生为主体、教师为主导的一种新型教学模式,它彻底颠覆了以教师为中心的传统课堂教学模式。对翻转课堂在高职院校人体解剖学教学中的应用进行探究,认为在高职院校人体解剖学教学中合理应用翻转课堂可以提高教学效果,值得推广。

关键词 翻转课堂;人体解剖学;高职院校

中图分类号 G424.1

文献标识码 A

文章编号 1671-1246(2020)06-0070-02

“翻转课堂”一词是2012年由美国科罗拉多州林地公园高中的两名化学教师乔纳森·伯尔曼和亚伦·萨姆斯提出的。他们在2007年将使用屏幕捕捉软件录制PowerPoint演示文稿的视频上传到网上,帮助课堂缺席的学生补习功课,从而开始了翻转课堂的教学实践。但是,翻转课堂在2011年才快速流行起来,这要归功于萨尔曼·罕和他在网上创建的可罕学院。在可罕学院视频教学影片的后发下,许多教师改变了以往的传统教学模式^[1]。但翻转课堂在国内外人体解剖学教学中的应用研究很少,在中国高职院校的研究还处于探索阶段,特别是翻转课堂能否显著提高高职院校学生的人体解剖学成绩还存在争议,有待于进一步研究论证。

1 高职院校人体解剖学特点及教学现状

人体解剖学特点 人体解剖学是一门记忆信息量大、枯燥乏味、难懂、实践性强的课程。**教学现状**:(1)人体解剖学教师资源短缺,学生多、教师少;(2)高职院校的学生大多是初中毕业生,学习动力不足,学习态度不够积极,自律性相对较差,自主学习能力较差,初次踏入医学殿堂,很多学生对尸体充满了恐惧;(3)学校尸源短缺;(4)福尔马林对师生身体健康有损害,降低了人体解剖学教学效率;(5)近年来很多高职院校人体解剖学课时不断压缩,内容多、课时少,课堂时间紧张。

针对目前高职院校人体解剖学特点及教学现状,笔者认为合理应用翻转课堂教学模式可以在某种程度上解决一些教学难题。

2 翻转课堂在高职院校人体解剖学教学中应用的优势、不足与争议

2.1 优势

翻转课堂教学模式可以提高学生的团队合作能力、自主学

习能力以及发现问题、思考问题、解决问题能力,可以提高学生学习的积极性以及学习兴趣,增强学生合理安排时间能力,增强学生的批判性思维能力。Raveendranath Veeramani等^[2]认为翻转课堂教学模式可以增加师生之间互动的机会,让学生意识到学习是自己的事情,做自己学习的主人。翻转课堂教学中,学生课前学习的教学微视频可选择、可重复、可调控,学生可以根据自己的学习基础、学习时间、学习情况、对知识的理解掌握程度,选择性地地进行课前微视频的自主学习^[2-3]。教学视频比较精炼,学生在课前自主学习或是师生互动、生生互动都比较有针对性,便于学生针对自身情况查漏补缺,构建知识^[4],这尊重了学生之间的个性化差异,真正做到了因材施教。Sang E等^[5]研究发现,大多数学生反映翻转课堂比传统课堂更有趣、互动,合作探究更多,翻转课堂教学模式在课中进行快速小测验可以帮助教师了解学生学习情况,从而在课堂上有针对性地进行讲解。金哨^[6]通过研究发现翻转课堂可以培养学生的批判性思维,批判性思维对于将来踏上护理岗位的学生是非常重要的。

翻转课堂教学模式在人体解剖学教学中的应用收到了很好的效果。Todd D Watson^[7]调查发现,课前观看人体解剖学教学视频可以缓解学生对尸体的恐惧,被调查学生觉得课前观看教学视频可以增强他们学习人体解剖学的兴趣,更重要的是可以增强他们对尸体解剖的信心。另外,人体解剖学视频可以将2D的解剖断面以3D形式呈现出来,可以更好地理解人体器官的解剖学结构、位置关系等,而且在视频上观看尸体解剖的成本也比较低。课前观看教学视频可以事先让学生掌握解剖操作的基本步骤,使解剖过程有的放矢,从而也降低了解剖实践过程中福尔马林对师生身体健康的损害^[8]。

2.2 不足

[4]刘芳,罗跃娥,邱丽芝.国家级精品课实用药理学基础课程的设置[J].药学教育,2011,27(2):24-26.

[5]覃梦岚,刘明研.3种教学方法在药理学基础课程中的应用效果分析[J].卫生职业教育,2019,37(2):91-92.

[6]姚勇志,江乙,李霏,等.问题设置教学法在药理学基础教学中的应用分析[J].教育观察,2018,16(1):119-120.

(通讯作者 梁可)▲

提升了高职学生的综合职业能力。

参考文献:

[1]李逢庆.混合式教学的理论基础与教学设计[J].现代教育技术,2016,26(9):18-24.

[2]史冬燕,刘伟.基于超星学习通的植物学混合式教学探究[J].西部素质教育,2019(5):137-142.

[3]蒋军强,朱晨妍,陆有丽,等.基于移动终端的高交互混合式教学模式初探[J].湖南理工学院学报(自然科学版),2018,31(4):87-90.

高职高专院校药剂学教学方法改革探讨与实践

申茹, 徐英辉, 梁可, 余巧, 莫颖华

(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000)

[摘 要] 药剂学为高职高专药学专业的主干课程之一, 具有实践性、综合性强等特点。药剂学中剂型繁多, 记忆量大, 学生学习难度较大, 为了培养学生的兴趣, 提升学生学习能力、实践能力和创新能力等综合素质。本文结合我院专业特色, 对药剂学课程教学方法进行改革和探讨。

[关键词] 药剂学; 教学方法; 改革

[中图分类号] TQ

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-1865(2021)07-0235-02

Discussion and Practice on Teaching Method Reform of Pharmaceutical in Higher Vocational Colleges

Shen Ru, Xu Yinghui, Liang Ke, Yu Qiao, Mo Yinghua
(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China)

Abstract: Pharmaceutics is one of the main courses of pharmacy specialty in higher vocational colleges, which has the characteristics of practicality and comprehensiveness. In pharmacy, there are many dosage forms, large memory, and students are difficult to learn. In order to cultivate students' interest in learning, improve students' comprehensive quality of learning ability, practical ability and innovation ability. In this paper, the teaching method of pharmaceutics was reformed and discussed according to the specialty characteristics of our hospital.

Keywords: pharmaceutics; teaching method; reform

教高[2000]2号《教育部关于加强高职高专教育人才培养工作的意见》文件中明确指出:“高职高专教育是我国高等教育的重要组成部分,其任务是培养拥护党的基本路线,适应生产、建设、管理、服务第一线需要的,德、智、体、美等方面全面发展的高等技术应用性专门人才^[1]。”高职高专院校药剂学课程是研究药物制剂的生产理论、生产技术、质量控制与合理应用等内容的综合性应用技术科学^[2]。药剂学在药学领域中的地位是举足轻重的,不仅是转换枢纽的作用,还对其他学科起到了承上启下的作用。药品是一类特殊商品,使用过程中与人的生命息息相关,要求从事药品生产、调剂、质控的人员必须熟练掌握规范的操作程序,这就需要药学专业技术人员具有扎实的理论知识和熟练的操作能力,才能满足社会对药学人员的需求。

以往药剂学都是传统教学方法,每节课信息量大,系统性差,学生缺乏自主学习的动力,学习兴趣差,参与互动少。运用信息化教学手段,改变传统的教学方法,充分调动学生学习的主动性,提高学生课堂参与度,激发学生自主学习的积极性。笔者多年从事药剂学理论和实践教学,并结合学科特色,对药剂学教学方法进行改革和探讨,旨在不断提高教学效果,培养药学专业技术应用型人才。

1 问题导入式教学—引发学生思考

提高学生兴趣是一节课成功的开始,学习兴趣离不开教师的有效引导,以生活中常见的事例为例,让学生充分思考并进行解答,如同学们小时候有没有吹过泡泡,用什么吹?衣服脏了怎么办?用什么来清洗,为什么肥皂和洗衣粉具有去污作用,学生们以问题为学习起点,积极思考、展开讨论,有效的活跃了课堂气氛,充分提高了学习的积极性。针对学生讨论结果,教师进行重点总结,引出课堂所学内容为表面活性剂的概念和应用。再比如讲解到固体剂型流动性时,提出问题:“面粉和细沙哪个流动性比较好?分别将面粉和细沙倒入漏斗中想象物料通过的情况?物料流动性会对剂量造成影响吗?”学生充分思考、讨论结束后,主讲教师对流动性的概念和表示方法进行讲解。将日常生活中的例子转化成与教学内容相匹配的问题,可以充分激发学生分析问题、探究真相的能力,灵活运用所学理论知识解决实际问题。

2 多媒体教学—创设生动的教学情境

药剂学课程重点为各种剂型的特点及制备工艺,难点为各种制药设备的工作原理、操作流程。传统的教学方法以讲授为主,较为枯燥,学生难以生动形象的理解和掌握相应的知识点。多媒体教学可以使教学内容生动形象,教学情境有趣直观,有效弥补

传统教学方法的缺点和不足。将剂型中难懂和难学的内容制作成多媒体课件,采用图片、Flash动画、视频、声音等多媒体信息,使教学内容更跃然纸上、扣动学生心弦,激发学生的独立思考能力、思维能力、想象能力,学生通过观看,理解剂型的制备过程和注意事项^[3],明确作为药学专业技术人员责任重大,更能激发学生的学习使命和对生命的理解。

3 案例式教学—理论联系实践

案例式教学法起源于美国,其特点是通过分析典型案例讲解相应的理论知识^[4]。在教学过程中,对应知识点设置相关案例,通过案例分析,培养学生独立思考、自主探究、理论联系实际的能力。以就业为导向,以提高岗位能力为目的,更需要教师将经典案例讲授给学生,加深对知识的认知度。药剂学中的注射剂是常见剂型之一,制备要求严格,尤其是药品必须经过灭菌处理。2006年发生的“欣弗事件”导致出现严重不良反应,致人死亡,经过调查发现是注射剂制备过程中缩短了相应的灭菌时间,擅自降低了灭菌温度,同时增加了灭菌柜的装药量,完全没有按照要求的工艺参数灭菌,导致灭菌效果受到影响。通过真实的案例分析,不仅可以使学生全面掌握“热原的危害、注射剂灭菌的作用”等知识点,而且加深了学生们对“制剂安全、有效、稳定”的理解、对“药学专业技术人员的社会责任和职业道德”感同身受。

在讲授注射剂章节时,以“齐二药”药害事件案例导入,引导学生自主分析齐齐哈尔第二制药厂药害事件主要原因为药物溶剂选择错误,以工业原料二甘醇代替了丙二醇,导致药物投入市场后,出现严重不良反应,13人因此死亡。真实的案例不仅让学生牢固掌握所学重点难点,更使学生们意识到作为药学专业技术人员的社会责任,应具备严谨认真的工作态度^[5]。

4 对比式教学—便于学生记忆

药剂学中剂型有几十种,每种剂型都要讲授概念、特点、分类、制备方法、质量控制等内容,应用传统的教学方法记忆,相似的知识也容易造成混淆,学生学习效果差。采用对比式教学法^[6],对不同剂型的特点及制备方法等教学内容进行列表对比,不仅可以使内容简单化,学生对知识点的印象深刻,还可以通过举一反三,达到事半功倍的效果,提高学生的自我学习的能力。比如在讲解液体剂型制备方法时,可以将溶液剂、芳香水剂、醑剂、糖浆剂、甘油剂、混悬剂、乳剂的概念和特点进行列表,找到相同点和不同点,便于同学们对知识的理解和巩固。在表面活性剂的讲解中,内容较多,不易理解,可以将表面活性剂的分类、特点、特性和应用进行对比,加深对内容的理解,提高学习效率。

[收稿日期] 2021-01-28

[基金项目] 广东省高职教育医药卫生专业教学指导委员会 2018 年教育教学改革课题(2018LX068)

[作者简介] 申茹(1981-),女,黑龙江人,硕士研究生,主要研究方向为药学教育教学。

5 微课—提高学习效率

微课是微课程的简称,由美国新墨西哥州圣胡安学院率先提出并开展实践研究^[7]。微课也是“信息化时代”的历史产物,它是现代教学手段中起到举足轻重的作用,它具有主题突出、短小精悍、资源丰富多样等特点。微课是将理论和实验课上的难点、重点拍摄成5-10分钟的短片,学生只要拿出手机便能在网上自由点击学习,由于内容简便易懂,重点突出,学生容易巩固接受,根据视频中的讲解,独立思考,提出疑问。

药剂学是一门理论与实践紧密结合性学科,是培养学生所需的专业知识和岗位技能。剂型的制备方法和设备讲解中学生理解难度较大,理论知识不扎实如何进行实践操作呢,通过微课程不仅可以使剂型制备工艺流程、设备的操作过程和工作原理展示给学生,简单灵活,可反复利用。尤其在实验教学中发挥更大的作用。传统的实验教学方式是老师先示范讲解,学生按部就班的操作,不经大脑思考,很容易遗忘,则会出现做一步看一步,甚至有些同学因实验步骤繁琐,实验量大而手忙脚乱,不仅影响实验进度,还得不到准确的实验结果,最终草草了事,学生的动手操作能力和思考能力得不到充分锻炼。有了微课后,实验前将视频发送给实验小组,小组成员先了解实验步骤,并分析讨论实验中的关键环节,这样学生不仅可以高效的完成实验,更有助于实验过程中团队精神的培养。实验全部结束后,学生需要完成实验项目思考题部分,书写实验报告,教师要对结果进行点评,并评选出优秀作品。

6 Moodle 平台—实现碎片化学习

随着互联网信息技术的迅速发展,信息工具的普及,教育信息化思想已经深入人心,各种网络教学平台相继出现。Moodle 教学平台包括课程管理、教学资源、实验教学、专题讲座、在线测试、期末考试等模块,具有操作简单、使用方便等特点^[8]。作为高职高专教师,要想培养药类职业人,就要跟随时代步伐,与时俱进,采用现代化的网络教学平台,促进师生互动,强化学生的自学能力,利用碎片时间随时学习,提高教学质量。

Moodle 教学平台可以为学生提供丰富多样的教学资源,灵活自主的学习时间,信息化的教学模式,学生通过移动终端,查阅相关资料,独立完成教师课前布置的学习任务,课中认真理解,

培养学生的实践能力和创新意识,变被动学习为主动学习,自主学习效果显著。

7 总结

综上所述,高职高专药剂学课程教学,应根据就业岗位的需求着手,细化典型工作任务,积极倡导问题导向式教学、多媒体教学、案例式教学、对比式教学、微课等教学方法,应用 Moodle 教学平台,增强学生的动手操作能力、综合运用能力,提升学生职业技能和综合素质。通过教学方法的改革,使学生除具有扎实的专业知识外,更具有分析问题、解决问题的能力,不断提高药剂学学科的教学水平^[9],培养理论与实践能力兼备的应用型人才。

参考文献

- [1]匡瑛.“双高计划”背景下高职高专性意涵及其实现[J]. 高等工程教育研究, 2020(1): 148-152.
- [2]张琦岩. 药剂学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [3]廖乃英, 黄欣碧. “3+2”高职药剂学教学内容与方法探讨[J]. 广西教育, 2014(3): 139-140.
- [4]Kanfam DM, Mann KV. Basis sciences in problem based learning and conventional curricula: students' attitudes[J]. Medical Education, 1997, 31(3): 177-180.
- [5]申茹, 徐英辉, 莫颖华, 等. 高职院校药类专业药剂学教学改革探讨[J]. 广东职业技术教育与研究, 2015(6): 68-70.
- [6]鄢海燕. 药剂学教学改革与探索[J]. 中国医药指南, 2013, 11(24): 742-743.
- [7]胡铁生, 黄明燕, 李民. 我国微课发展的三个阶段及其启示[J]. 远程教育杂志, 2013(4): 36-42.
- [8]王冰寒, 颜巧元, 朱琴, 等. 基于 Moodle 的护理科研课程网络学习平台的设计与应用[J]. 护理教育, 2017, 17(8): 1052-1056.
- [9]邢蓉, 陈根德, 王秀. 药剂学教学方法改革的探讨与实践[J]. 中国药事, 2010, 24(10): 1027-1029.

(本文文献格式: 申茹, 徐英辉, 梁可, 等. 高职高专院校药剂学教学方法改革探讨与实践[J]. 广东化工, 2021, 48(7): 235-236)

(上接第238页)

课堂活动较少,实践内容不足,上课效果一般;其次,当前的大多数教材都是按照传统的理论知识体系进行内容架构,而不是根据学生学情和实际应用来编排知识,这就会造成学生上课时脱节,甚至产生厌学等情绪。

目前,关于药学英语相关的教材数量一般,但适合高职药类专业教材的教材选择较少,而适合本院师生的教材更是少之又少。因此,出版一本适合我校学生的药学英语校本教材已是迫在眉睫。

2.2 学生学习积极性较差
我院的高职生生源结构较为复杂,素质和水平参差不齐。他们的英语基础普遍比较薄弱,英语课的学习兴趣弱,尤其是对于有一定难度的《专业英语》。这两个因素导致学生的学习积极性较差。

2.3 教学方式单一

目前课堂主要的授课方式就是讲授法,以教师讲解为主,学生做笔记。这种方式仍然属于“填鸭式教学”,因此很难提升学生的学习兴趣。

3 我校药学《专业英语》课程改革方向

3.1 “以实用为导向”开发立体化教材

在现有的医药英语教学内容的基础上融入四六级考试和专升本考试的相关内容,以学生实用为导向,开发一本对于学生英语技能考试具有实际指导作用的融合性《药学实用英语》立体化教材。教材分为三大模块,一是基于《医药英语》第2版的教材内容,选择药物历史(History of Medicine)、制药行业(Pharmaceutical Profession)和药品管理(Management of Medicine)等部分内容,二是专升本英语相关内容,三是 CET-4 相关考试内容。

3.2 “以学情为基础”优选教学内容

学生对于药学《专业英语》的学习兴趣不高,主要的原因是

基础薄弱和教材内容难度较大。因此根据学生学情选择合适的教学内容,比如重点讲解中药历史(History of TCM)、西药历史(History of Western Medicine)、中药(Traditional Chinese Medicine)等学生熟悉的传统文化进行英语教学,提升学生学习兴趣,同时也可以有效地提高课堂效率。同时在教学过程中注入思政教育理念,大力培养学生的爱国主义情怀。此外,在每节课的教学中,教学生拼读单词,巩固音标等基础内容,帮助基础差的同学有所进步。同时选择四级考试真题中的完形填空和阅读文章给学生逐句分析,为学生考级做好铺垫。

3.3 “以学生为主体”多元教学手段,丰富课程实践

课堂教学不能只是一味的灌输,而应该充分发挥学生的主体作用。课堂上可采用小组教学,每一小组进行一段课文的解析,比如对药品说明书进行解读或者翻译;其次,以小组为单位布置英文简历的书写,并进行面试者与面试官的轮流扮演交流,将英文简历活学活用。同时,把模拟购药情景、参观中药历史名人文化墙并进行交流等增设为实践教学内容,打造英语生活剧。一个学习小组成员可分别扮演患者、导购员、执业药师、收银员、导游等角色,教师规定基本要素后,让学生自由发挥,小组间进行评比,以学生为主体进行教学,提高学习积极性,丰富课程实践。

参考文献

- [1]黄新蓉. 高职院校药学《专业英语》的教学改革研究[D]. 湖南师范大学, 2014.

(本文文献格式: 李绣菊, 黄芳, 李玉龙, 等. 高职院校药学《专业英语》课程改革研究——以铜仁职业技术学院为例[J]. 广东化工, 2021, 48(7): 237-238)

浅析现代中药新剂型的研究概况

申茹, 徐英辉, 吕立铭, 麦艳珍
(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000)

[摘 要] 中药新剂型的研发是中药现代化和国际化的关键, 通过检索近年来有关现代中药新剂型研究的有关文献, 并对其进行分析 and 总结。着重阐述了中药缓控释制剂、靶向制剂、黏膜给药系统、透皮吸收制剂、吸入制剂等给药形式, 以适应中国医药发展的需要。

[关键词] 中药; 新剂型; 研究概况

[中图分类号] TQ

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-1865(2019)06-0148-02

Research Overview on New TCM Modern Preparations

Shen Ru, Xu Yinghui, Lv Liming, Mai Yanzhen
(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China)

Abstract: Development of new TCM modern preparations is the key to the modernization and internationalization of traditional Chinese medicine (TCM). The purpose of this study is to analyze and summarize recent literature related to research on new TCM modern preparations by literature retrieval. This study elaborates sustained-release preparations, targeting preparations, mucosa drug delivery systems, percutaneous absorption preparations, and inhalants of TCM, meeting the need for pharmaceutical development in China.

Keywords: Chinese medicine; new dosage form; research situation

随着我国科学事业的不断发展, 传统的中药剂型已不能满足临床治疗的需要, 中药新剂型的出现相对于普通制剂来说, 在体内可以发挥定时、定位和提高疗效的作用, 中药新剂型的开发和研究将中药现代化发展推上一个新的高度。本文将从现代中药新剂型如缓控释制剂、靶向制剂、黏膜给药系统、透皮吸收制剂、吸入制剂的研究概况进行简要综述。

1 缓控释制剂

近年来口服中药缓控释制剂已经研发方向之一, 也取得了一定的成绩。缓控释制剂系指在规定的释放介质中, 按要求缓慢恒速或非恒速释放药物, 与相应的普通制剂比较, 其给药频率比普通制剂减少一半或有所减少, 且能显著提高患者依从性的制剂。该剂型可以使药物治疗作用持久, 减少血药浓度波动, 减少用药的总剂量, 对于需长期服药的慢性病患者具有显著的临床意义。

中国药典 2015 年版相关指导原则^[1]针对缓控释制剂的分类有缓释制剂、控释制剂、迟释制剂和脉冲制剂。其中缓控释制剂有多种给药途径, 但主要以口服制剂为主, 口服制剂又以片剂和胶囊剂最为普遍。缓释片多数采用骨架片方式, 包括不溶性骨架制成的骨架片, 亲水性凝胶骨架片和生物溶蚀性骨架片。目前药典中已收载了己酮可可碱缓释片、吡哌酸缓释片等 19 个品种, 但在第一部药典里未有收载。何燕^[2]选用羟丙甲基纤维素(HPMC)为骨架材料制备灯盏花素亲水凝胶骨架缓释片, 体外释放实验表明此缓释片具有明显缓释特性, 批内释放均一性和批间工艺重现性都良好。潘琦^[3]等采用以吴茱萸提取液作为黏合剂, 再用乙基纤维素进行包衣制成左金缓释胶囊可以实现缓慢释放。中药成分复杂, 虽然具有疗效但也伴随着毒副作用, 如单味药雷公藤将其制备成缓释制剂, 不仅可以提高生物利用度, 还可以有效减少对生殖泌尿系统、造血、心血管及皮肤黏膜损害^[4]。

控释制剂是近 20 年来开发非常快的产品之一, 其中关于渗透泵片和胃漂浮型等控释制剂的应用有很多研究报道, 潘卫三^[5]制备了中药复方泡腾型渗透泵控释片, 体外释放试验表明该剂型以良好的零级控释释放, 释放率可达到 96% 以上, 明显优于普通渗透片。胡志方等^[6]制备了丹参胃漂浮型控释片, 体外释放曲线符合零级释药特征, 8 h 累积释药可达 90%。邓向涛等^[7]制备黄芩素包合物单层渗透泵片并进行了处方筛选和优化, 结果表明该渗透泵片可以提高黄芩素的溶解度, 减少服药次数, 很大程度提高患者服药的依从性。周昌妮等^[8]对复方葛黄微孔渗透泵片进行优化, 结果表明优化后的微孔渗透泵片解决黄连总生物碱水溶性差的问题。

2 靶向制剂

靶向制剂也称为靶向给药系统(targeting drug delivery system, TDDS), 一般是指药物通过载体或进一步用配体、抗体修饰, 经局部给药或全身血液循环而选择性浓集定位于靶组织、靶器官、

靶细胞或细胞内结构的给药系统。该剂型具有减少药物剂量, 提高药效和生物利用度, 降低毒副作用, 增加患者用药的安全性和有效性等特点。靶向制剂根据作用机制不同又分为被动靶向制剂、主动靶向制剂和物理化学靶向制剂。

被动靶向制剂类型以脂质体、微囊、微球、纳米囊和纳米球为主, 在中药制剂中也有较多的研究报道。刘屹^[9]采用薄膜-超声分散法制备了纳米和厚朴酚脂质体, 药物的水溶性可以得到明显改善。严春临等^[10]利用 HPLC 法测定家兔给药后 12 h 内的血药浓度, 结果表明微囊化的大黄酚可以提高药物的生物利用度, 并明显改善药物的稳定性。吕伟等^[11]制备长效紫杉醇聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)微球, 可维持 30 d 左右体外释放周期, 且在释放周期内达到约 90% 的药物积累释放。

主动靶向制剂类型多以修饰的药物载体如修饰的脂质体、修饰的纳米球、修饰乳剂与前体药物等。Valduga 等^[12]研究发现, 用连有低密度脂蛋白的富含胆固醇的微乳(LDE)作为抗肿瘤药物依托泊苷的载体, 可使乳剂具有肿瘤主动靶向性。朱振舒^[13]制备了负载紫杉醇的表面功能化 PVP-PCL(聚乙烯吡咯烷酮-聚己内酯)纳米粒子, 其载药量为 15%, 包封率大于 90%。

3 黏膜给药系统

黏膜给药系统(mucosal drug delivery)是指使用合适的载体将药物通过人体的一些黏膜部位, 如鼻黏膜、口腔黏膜、眼黏膜、直肠黏膜及阴道黏膜, 进入血液循环而发挥局部或全身作用。其临床应用广泛, 主要包括治疗急症、糖尿病、癌症疼痛、口腔类疾病和其他类疾病等。陈两棉^[14]等对黏膜给药原位凝胶的特点、分类及应用进行综述表明此给药系统具有广阔发展前景。口腔粘附片是利用某些高分子材料与口腔黏膜紧密粘附的特性, 使药物通过黏膜吸收, 可避免药物首过效应, 延长作用时间, 提高生物利用度, 具有良好的市场前景。目前已有产品成功问世, 如醋酸地塞米松黏贴片等。

膜剂是指药物与适宜的成膜材料经加工制成的膜状制剂, 按给药途径可分为口服、口腔用、眼用、鼻用、阴道用等。该剂型具有体积小、使用方便、制备工艺简单, 适用于多种给药途径等特点。随着中药现代化发展, 膜剂有着极大的发展空间。张利华等^[15]采用流涎法制备了灯盏花素口腔速溶膜, 由于灯盏花素本身溶解性差, 通过正交试验法优化处方, 将粒径控制在 10 μm 内, 使得灯盏花素分散在速溶膜中。

4 经皮吸收制剂

经皮吸收制剂亦称经皮给药系统(Transdermal drug delivery system, TDDS), 系指可通过皮肤敷贴等方式用药, 药物以一定的速率经由皮肤吸收进入全身血液循环并达到有效血药浓度, 从而实现治疗或预防疾病作用的一类制剂, 常用的剂型为贴剂。具有避免药物首过效应, 减少用药次数, 延长给药时间间隔, 给药

[收稿日期] 2019-03-01

[基金项目] 2019 年度广东省中医药局面上科研项目(20191341); 2016 年度惠州市科技专项资金资助项目(2016X0402017)

[作者简介] 申茹(1981-), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 主要从事中药质量分析和药理研究。

方便,降低药物毒副作用等特点。张梅等^[16]制备好的姜香贴剂通过体外透过性实验筛选出较理想的中药处方比例,以获得更有效的贴剂。陈茂森^[17]将乳香、没药、红花等六种中药制备成乳酥贴给予乳腺增生患者作为观察组,口服乳核散结片治疗作为对照组,结果表明采用中药经皮给药制剂乳酥贴观察组对乳腺增生治疗效果好于对照组,观察组临床有效率 96.87%,对照组为 75.00%,两组对比有显著性差异,观察组治疗后的满意度也明显高于对照组。

经皮给药系统虽然具有较多的优点,但也存在透过率低,通透性差,难以达到治疗目的等缺点,作为一种局部给药方式,经皮给药系统一定要克服皮肤这一主要屏障。醇质体通过载体乙醇制备脂质体,能有效增加药物在局部组织中的浓度,而且能够促进药物穿透皮肤,增加药物在皮肤中的蓄积,并进一步由毛细血管吸收进入体循环,携带药物进入细胞,故已成为经皮给药研究的热点。冯璇等^[18]通过纳洛酮醇质体经皮渗透实验表明醇质体稳态渗透速率和在皮肤中的滞留量明显高于普通脂质体。梁震野等^[19]采用 2%羟丙甲基纤维素制备的肉桂提取物醇质体凝胶,结果表明该辅料能提高肉桂透皮速率。

5 吸入制剂

吸入制剂是指通过特定的装置将药物活性成分以雾状形式传送到呼吸道或肺部发挥局部或全身作用的制剂。具有吸收速度快,避免肝脏首过效应,减少用药剂量,提高患者依从性,减轻或避免药物不良反应等优点。吸入治疗多用于防治哮喘、慢性阻塞性肺疾病等,也可以治疗全身作用的药物,如镇痛药、胰岛素等。吸入制剂市场前景广阔。其中肺部吸入制剂多以气雾剂、喷雾剂与粉雾剂为主。2015 年《中国药典》一部收载了复方丹参气雾剂等三种气雾剂,两种喷雾剂。陶玉芳^[20]采用治疗组(川苏喷雾剂)和对照组(速效救心丸)对心绞痛疗效进行观察,按照冠心病心绞痛及心电图疗效为评定标准,结果表明川苏喷雾剂迅速缓解心绞痛的作用明显优于速效救心丸。谢荣慧^[21]将 42 例呼吸道感染者使用蜜炼川贝枇杷膏治疗 5 d 后,有效率为 48%,改用咽肺舒喷雾剂 7 d 后,有效率为 95%,两者之间有显著性差异。向晓琴等^[22]采用沉淀法制备冬凌草甲素纳米混悬剂,经冷冻干燥制成粉雾剂,对大鼠进行给药,结果显示冬凌草甲素粉雾剂对大鼠急性肺损伤的疗效显著。

展望

传统的中药剂型(丸、散、膏、丹、汤剂等)已不能满足现代临床和患者的需求,药物制剂也朝着“三效”、“三小”和“五方便”的方向发展。这就需要药学专家研发出新的中药剂型,给患者最优的治疗效果,当然由于中药来源广泛,加之成分复杂,辅料的种类较多,技术不过关等因素,中药新剂型的研发与改革仍任重而道远。随着中医药现代化的进展,中药新剂型的进一步的研究与开发,中药新型制剂的发展将有一个新的飞跃。

参考文献

[1]国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015.

- [2]何燕,张馨欣,潘卫三. 灯盏花素亲水凝胶骨架缓释片的研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(2): 119-122.
- [3]潘琦,高明菊,朱红涛,等. 左金缓释胶囊的研制及其测定分析[J]. 云南中医学院学报, 2001, 24(1): 6.
- [4]桂双英,余庆华. 局部缓控释制剂治疗牙周炎进展[J]. 安徽中医学院学报, 2007(5): 59-60.
- [5]Li XD, Pan WS, Nie SF, et al. Studies on controlled release effervescent osmotic pump tablets From Traditional Chinese Medicine Compound Recipe [J]. J Control Release, 2004, 96(3): 359-367.
- [6]胡志方,郭慧玲,胡律江. 丹参胃漂浮型控释片制备工艺的初步研究[J]. 中医通报, 2007, 6(1): 58-59.
- [7]邓向涛,郝海军,韩茹,等. 黄芩素包合物单层渗透泵片制备工艺研究[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(5): 513-517.
- [8]周昌妮,冯青云,徐如冰,等. 星点设计-效应面法优化复方葛黄微孔渗透泵片的处方组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 20-24.
- [9]刘屹. 和厚朴酚脂质体治疗卵巢癌的实验研究[D]. 成都:四川大学, 2007.
- [10]严春临,张季,张丹参,等. 大黄酒微囊药代动力学研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1127-1129.
- [11]吕伟,裴瑾,王澜,等. 紫杉醇长效 PLGA 微球的制备、性质及其在体内抗 H22 型肝癌的疗效[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(6): 2284-2285.
- [12]Valduga C J, Fernandes D C, Ioprete A C, et al. Use of a cholesterol-rich microemulsion that binds to low density lipoprotein receptors as vehicle for etoposide[J]. Pharm Pharmacol, 2003, 55(12): 1615.
- [13]朱振舒. 聚乙烯吡咯酮纳米药物传输系统研究[D]. 南京:南京大学, 2011.
- [14]陈两棉,王锦玉,全燕,等. 黏膜给药原位凝胶的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(8): 76-80.
- [15]张利华,宋健,陈蔚蔚,等. 灯盏花素口腔速溶膜剂的制备及质量考察[J]. 中国当代医药, 2016, 23(23): 4-7.
- [16]张梅,赵维娟,王金萍. 丁螺环酮体外经皮渗透性的实验研究[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(5): 575-578.
- [17]陈茂森. 探讨中药经皮给药制剂局部外敷治疗乳腺增生的临床疗效[J]. 内蒙古中医药, 2017, 3: 104-105.
- [18]冯璇,徐东航,徐翔,等. 纳洛酮醇质体的经皮渗透研究[J]. 中国现代应用药学, 2008, 25(1): 37-39.
- [19]梁震野,杨建苗,杜立峰,等. 肉桂提取物醇质体凝胶经皮给药研究[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(11): 1202-1206.
- [20]陶玉芳. 川苏喷雾剂治疗心绞痛临床疗效观察[J]. 吉林中医药, 2008, 28(11): 811.
- [21]谢荣慧. 咽肺舒喷雾剂治疗呼吸道感染 42 例[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(2): 192.
- [22]向晓琴,杜丽娜,李森,等. 冬凌草甲素粉雾剂的制备及其对大鼠急性肺损伤的治疗[J]. 国际药学研究杂志, 2014, 41(2): 211-215.

(本文文献格式:申茹,徐英辉,吕立铭,等. 浅析现代中药新剂型的研究概况[J]. 广东化工, 2019, 46(6): 148-149)

(上接第 136 页)

巡视维护量较大,增加操作维护成本。从操作维护上考虑,不推荐方案 4。且全套系统设备占地面积偏大,电厂预留地布置受限制。再者,燃-蒸联合循环方案需要较大的冷却水量,在厂区取水非常紧张的情况下,不推荐本方案。

5 结论

全生产周期内,油田最大用电负荷需求约为 150.3 MW。经比选,油田合同期内需新建 4 台现场功率为 42 MW(@55℃)天然气透平发电机组(与已建 2 台西门子 SGT-800 燃气发电机组最终形成 5 用 1 备的设计规模)作为油田的电站配置。同时,黎明 QD128 燃气发电机组作为黑启动及备用机组使用。结合现阶段预测的油田逐年用电负荷趋势,上产初期,投运新建机组中的 3 台即可满足要求。随用电负荷需求进一步提高,需投运第 4 台新建机组。

燃气透平发电机组以油田伴生气作为主要燃料,柴油为辅助燃料。为满足燃气轮机液体燃料燃烧需求,需新建配套的柴油处理系统,包括柴油日用罐、分油机、循环泵、注入泵等。

参考文献

[1]《海洋石油工程设计指南》编委会. 海洋石油工程设计指南[M]. 北京:石油工业出版社, 2007: 14-105.

(本文文献格式:彭建君,陈晓英,李树国,等. 某油田地面工程规划项目电站选型分析[J]. 广东化工, 2019, 46(6): 136)

杉寄生中黄酮类成分薄层色谱鉴别研究

申茹,梁可,蔡燕瑜,杨鑫涛,许晓蓉,曾春娥(惠州卫生职业技术学院药理学系,广东 惠州 516025)

摘要:目的 建立杉寄生中黄酮类化合物的薄层色谱(TLC)鉴定方法,为药材的质量控制提供依据。方法 以特征成分落新妇苷和芦丁为指标,采用硅胶G高效薄层板,以乙酸丁酯-甲醇-水-甲酸(7:1.5:1:1.5,V/V)为展开系统,采用薄层色谱法对不同采集地的杉寄生药材进行定性鉴别。结果 样品的薄层色谱图斑点清晰,分离度良好,但不同产地的杉寄生薄层色谱结果存在差异。结论 本研究建立的方法薄层行为良好,且简便易行,适用于杉寄生的定性鉴别。

关键词:杉寄生;黄酮类;薄层色谱

中图分类号:R917

文献标志码:A

文章编号:1674-229X(2018)03-0150-01

Doi: 10.12048/j.issn.1674-229X.2018.03.003

Identification of Flavonoids in *Macrosolen cochinchinensis*(Lour.) Van Tiegh. by TLC

SHEN Ru, LIANG Ke, CAI Yanyu, YANG Xintao, XU Xiaorong, ZENG Chun'e(Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou, Guangdong 516025, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a new qualitative method for the identification of flavonoids in *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. by thin-layer chromatography (TLC), and it provided the basis for the quality control of medicinal materials. **METHODS** Astilbin and rutin were used as indicators, with adopt silica gel G254 thin layer board, butyl acetate-methanol-H₂O-formic acid(7:1.5:1:1.5,V/V) as developing agent. *Macrosolen cochinchinensis*(Lour.) Van Tiegh. from different areas were identified by TLC. **RESULTS** There were differences in TLC of samples from different areas. **CONCLUSION** The TLC method is effective for the identification of *Macrosolen cochinchinensis*(Lour.) Van Tiegh., which is simple and easy to operate.

KEY WORDS: *Macrosolen cochinchinensis*(Lour.) Van Tiegh.; flavonoids; TLC

杉寄生是广东和广西等地区民间常用药材,《中华本草》中记载来源为桑寄生科植物鞘花 [*Macrosolen cochinchinensis*(Lour.) Van Tiegh.] 的茎枝;主要分布于华南、西南及福建、西藏地区;其性平,味苦;有祛风除湿,补肝肾,活血止痛,止咳祛痰之功效;主治风湿痹痛、腰膝酸痛、头晕目眩、痔疮肿痛及咳嗽等^[1]。文献报道杉寄生化学成分含有萜类、酚类和黄酮类等化合物^[2-3],其中黄酮类化合物中的落新妇苷和芦丁药理作用与杉寄生的功效密切相关,可以视为杉寄生的有效成分。有关杉寄生质量控制中的真伪鉴别研究仅见性状及显微鉴别^[4],因此有必要进一步研究杉寄生的定性鉴别方法,以明确药材的真伪,保证其有效性及安全性。

薄层色谱技术是中药鉴别最常用的方法,具有专属性强、简便易行、灵敏度好及适用性强等优点,可在一定程度上反映出药品的优劣^[7-13]。笔者对不

同采集地的杉寄生中黄酮类化合物进行薄层色谱鉴别研究,进一步完善杉寄生药材的质量控制,为指导药材在临床的正确应用提供理论依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

PS-40A 超声仪,深圳市科洁超声科技有限公司;FA2004N 电子天平,上海青海仪器有限公司;HH-8 数显恒温水浴锅,江苏金坛市环宇科学仪器厂;ZF-7 型暗箱三用紫外分析仪,上海和勤分析仪器有限公司;双槽层析缸,上海信谊仪器厂有限公司;定量毛细管,长沙德之瑞仪器科技有限公司;BPG-9240A 鼓风干燥箱,上海百典仪器设备有限公司;硅胶薄层板,青岛海洋化工有限公司。

1.2 试剂

芦丁对照品(批号:170322),北京世纪奥科生物

基金项目:2016年度大学生科技创新培育专项资金项目(pdjh2016b0736);学院“创新强校工程”(2016-2020年)项目(4.13)

作者简介:申茹,药学讲师,Tel:0752-2366777,E-mail:asrbllove@126.com

技术有限公司;落新妇苷对照品(批号:160604),北京世纪奥科生物技术有限公司;水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯;5批杉寄生药材分别采集于广西及广东,经惠州卫生职业技术学院中药教研室鉴定为桑寄生科植物鞘花 [*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh.] 的茎枝。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 取落新妇苷和芦丁对照品,分别加甲醇溶解并制成 $0.44 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 落新妇苷对照品溶液和 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦丁对照品溶液。

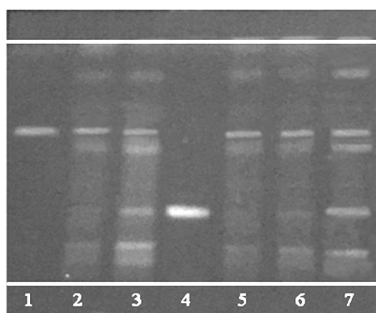
2.1.2 供试品溶液 精密称定不同采集地杉寄生药材粉末(过50目筛)约2g,置具塞锥形瓶中,加入甲醇25mL,密塞,超声(250W,40kHz)提取30min,过滤,浓缩,定容至5mL量瓶中,摇匀,用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,即得。

2.2 薄层色谱条件

薄层板:硅胶G,于 105°C 活化1h;点样量: $5 \mu\text{L}$;展开系统:乙酸丁酯-甲醇-水-甲酸(7:1.5:1:1.5, V/V);检测方式:紫外灯下(365nm)。

2.3 不同采集地样品薄层色谱鉴别

按照薄层色谱法^[13]试验,分别吸取上述对照品溶液和供试品溶液各 $5 \mu\text{L}$,分别点于同一硅胶G薄层板上,带宽为1cm,以乙酸丁酯-甲醇-水-甲酸(7:1.5:1:1.5, V/V)为展开剂,预饱和15min,展开,取出,晾干,喷以5%三氯化铝溶液, 105°C 加热,至紫外光灯254nm和365nm混合波长下检视。薄层色谱图见图1。



注:1. 落新妇苷对照品;2、5、6. 广东供试品;3、7. 广西供试品;4. 芦丁对照品。

图1 不同采集地杉寄生黄酮类化合物 TLC 色谱图

结果显示,5个采集地的杉寄生供试品色谱中,在与落新妇苷和芦丁对照品色谱相应的位置上,分别显相同颜色的荧光斑点,其比移值(R_f)分别为0.58和0.32,除广东样品芦丁斑点较弱外,其余斑点

清晰并与其它斑点分离明显,薄层色谱行为良好。

3 讨论

研究显示,不同采集地的药材均具有落新妇苷和芦丁,可作为杉寄生鉴定的特征性成分。色谱结果显示两个采集地杉寄生的落新妇苷含量均较高,而所含芦丁成分有较大含量差异,广西产地的芦丁含量高于广东,表明药材的质量可能与地理环境、生长年限、采收时间等因素有关。由于本试验的样品量较少,产地信息不够完整,仅是从方法学研究杉寄生的薄层色谱鉴别。

考察了乙酸乙酯-甲醇-甲酸、乙酸乙酯-甲醇-水-甲酸及乙酸丁酯-甲醇-水-甲酸3种展开系统。结果显示前2种展开系统的分离效果不佳,指标性成分的斑点不能有效分离,且拖尾现象严重,对乙酸丁酯-甲醇-水-甲酸展开系统的展开剂配比进行试验及调整,以7:1.5:1:1.5(V/V)配比的分离效果最佳。

杉寄生药材来源较为复杂,目前其质量控制标准的规定尚属空白,本研究建立的杉寄生薄层鉴别方法不仅能反映杉寄生的特征性成分,还能体现出不同来源药材之间成分含量的差异,色谱行为良好,分离度高,且简单易行,便于推广应用,可为杉寄生的真伪鉴别和质量控制提供科学依据。

参考文献

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 第2册. 上海: 上海科技出版社, 1999: 600-601.
- [2] 陆国寿, 卢文杰, 陈家源, 等. 杉寄生化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 44-46.
- [3] 陆国寿, 陈丞, 卢文杰, 等. 杉寄生的脂溶性成分分析 [J]. 广西科学, 2013, 20(4): 279-281.
- [4] 莫凯基, 许沛虎, 卢文杰, 等. 杉寄生中酚性化合物的提取分离及含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 75-78.
- [5] 陆国寿, 叶勇, 卢文杰, 等. HPLC法测定杉寄生中落新妇苷的含量 [J]. 中医药导报, 2014, 20(5): 86-87.
- [6] 刘心纯. 中药杉寄生基原的显微鉴定 [J]. 广东药学, 1996, 3: 23-25.
- [7] 赵希贤, 尤立华, 杨秉呼, 等. 中药薄层色谱鉴别检验常见问题探讨 [J]. 中国药业, 2013, 22(6): 2-4.
- [8] 赵湘培, 郭力城, 滕红丽. 薄层色谱法评价不同产地土茯苓的品质 [J]. 广西科学院学报, 2015, 31(4): 308-310.
- [9] 李江维, 许润春, 王鹏飞, 等. 半夏与掺伪半夏及水半夏的鉴别研究 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(24): 23-26.
- [10] 白晶梅, 师志强, 杨亚飞, 等. 芥辛化痰通窍巴布剂的质量标准研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(8): 1122-1126.
- [11] 徐烨, 俞静静, 梁凯伦, 等. 复方樟脑提取物质量标准研究 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(4): 496-499.
- [12] 陈庄元, 董立莎, 董凯旋, 等. 薄层指纹图谱研究不同断面颜色的土茯苓 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(4): 391-394.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 4部, 中国医药科技出版社, 2015: 57-58.

(收稿日期: 2017-11-02; 在线出版日期: 2018-01-22)

- (12) 左嘉. 宋前道教神仙形象建构研究[D]. 湖南师范大学, 2020.
 (13) 韩吉绍. 炼丹术与《本草经集注》中的矿物知识[J]. 南京中医药大学学报(社会科学版), 2009, 10(1): 14-18.
 (14) 李繁荣. 道教医药鳞爪[J]. 中国民族医药杂志, 2004, (s1): 202-204.
 (15) 邱功, 朱建平. 道教外丹术对《雷公炮炙论》的影响[J]. 江西中医药大学学报, 2005, (02): 21-23.
 (16) 白萍. 试析《四时宜忌》[J]. 东南大学学报(哲学社会科学版), 2006, (S2): 163-164, 171.
 (17) 张熙惟. 公元1020年代: 科技宰相苏颂[N]. 中国纪检监察报, 2020-7-24.

小陷胸汤胃内漂浮片的提取工艺研究

申 茹^{1,2}, 苏莹莹¹, 龙思量¹, 冯白茹^{1,2}, 廖 雨¹, 陈小荧¹, 徐英辉^{1,2*} (1. 惠州卫生职业技术学院药理学系, 广东惠州 516025; 2. 惠州市药用植物研究与开发重点实验室, 广东惠州 516025)

摘要: 目的 优化小陷胸汤胃内漂浮片处方药材的最佳提取工艺。方法 以盐酸小檗碱、盐酸黄连碱和盐酸巴马汀为评价指标, 采用 HPLC 法分析测定小陷胸汤中 3 种生物碱的含量, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选最佳提取工艺条件。结果 最佳提取工艺组合为 $A_2B_3C_2D_3$, 即乙醇体积分数为 70%, 料液比为 1:16 ($g \cdot mL^{-1}$), 提取时间为 1.5 h, 提取次数为 3 次。结论 该提取工艺操作简便、准确可行, 为小陷胸汤胃内漂浮片的制剂工艺研究奠定了基础。

关键词: 小陷胸汤; 胃内漂浮片; 提取工艺; 盐酸小檗碱; HPLC

中图分类号: R284 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3765(2022)-08-0035-04

Extraction Process of XiaoXianXiong Decoction Gastric Floating Tablets

SHEN Ru^{1,2}, SU Ying-ying¹, LONG Si-liang¹, FENG Bai-ru^{1,2}, LIAO Yu¹, CHEN Xiao-ying¹, XU Ying-hui^{1,2*} (1. Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China; 2. Huizhou Key Laboratory of Medicinal Plant Research and Development, Huizhou 516025, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE The optimal extraction process of XiaoXianXiong Decoction gastric floating tablets prescription medicinal materials was optimized. **METHODS** Contents of coptisine hydrochloride, palmatine hydrochloride and berberine hydrochloride as evaluation indexes, and determination of three alkaloids in Xiaoxianxiong Decoction by HPLC, the optimal extraction conditions were selected by $L_9(3^4)$ orthogonal test. **RESULTS** The optimal technology was $A_2B_3C_2D_3$, that is ethanol volume fraction 70%, the material-liquid ratio 1:16 ($g \cdot mL^{-1}$), the extraction time is 1.5 h, and the number of extraction is 3 times. **CONCLUSION** The extraction process is simple, accurate and feasible, this study lay a foundation for the preparation technology of XiaoXianXiong Decoction gastric floating tablets.

KEY WORDS: XiaoXianXiong Decoction; Gastric floating tablets; Extraction process; Berberine hydrochloride; HPLC

小陷胸汤出自东汉医圣张仲景的《伤寒论·辨太阳病脉证并治》“小结胸病, 正在心下, 按之则痛, 脉浮滑者, 小陷胸

汤主之”, 是治疗痰热互结的代表方剂^(1,2)。方中瓜蒌清热涤痰, 宽胸散结, 为君药; 黄连泄热降浊, 为臣药; 半夏化痰散结, 为佐药⁽³⁻⁵⁾。小陷胸汤临床应用广泛, 可以治疗消化系统⁽⁶⁾、呼吸系统⁽⁷⁾、心血管系统⁽⁸⁾和内分泌系统⁽⁹⁾等多种疾病, 尤其在新型冠状病毒感染肺炎期间用于痰热壅肺证, 与麻杏石甘汤、宣白承气汤等方剂合用可清金化痰、清肝泻火⁽¹⁰⁾。拟将小陷胸汤开发成口服胃内漂浮片, 延长片剂在胃内滞留时间, 提高药物的生物利用度, 还可克服传统汤剂服用量大、携带不方便等缺点⁽¹¹⁾。

作者简介: 申 茹, 女(1981-)。学历: 硕士。职称: 讲师。研究方向: 中药质量分析和药理研究。

通讯作者: 徐英辉, 女(1981-)。职称: 副教授。研究方向: 中药新药开发研究。

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金“攀登计划”专项资金(pdjh2021b0934); 惠州市医疗卫生类科技计划项目(2020Y167)。

小陷胸汤传统提取方法是瓜蒌先煎,再与黄连、半夏共煎,文献报道^[12]小陷胸汤的质控多以总生物碱和盐酸小檗碱作为评价指标,未建立多指标成分的含量控制方法。本实验采用回流法以盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸黄连碱的含量为指标,采用正交试验对提取工艺进行筛选,为后期制剂的制备和质量标准的建立提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 黄连(批号:20191213)、姜半夏(批号:200101)、瓜蒌(批号:20191129)均购于北京同仁堂惠州药店有限责任公司,经惠州卫生职业技术学院中药教研室吕立铭副教授鉴定,均符合 2020 年版《中国药典》规定。盐酸小檗碱对照品(批号:200113)、盐酸巴马汀对照品(批号:200318)、盐酸黄连碱对照品(批号:191011)均购自北京世纪奥科生物技术有限公司,纯度 > 98%。乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);磷酸二氢钾、磷酸、乙醇(分析纯,西陇科学股份有限公司);超纯水(屈臣氏饮用水有限公司)。

1.2 仪器与设备 LC-46 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);DTY-424/223 电子天平(万分之一,华志(福建)电子科技有限公司);PB-40 型酸度计(北京赛多利斯科学仪器有限公司);BWS-20 型恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司);Eppendorf 移液器(德国艾本德公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 色谱条件: 色谱柱: YMC-Pack ODS-A 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(日本 YMC 公司);流动相为乙腈-0.05 mol · L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液(磷酸调 pH 至 3.0)(30:70);检测波长: 345 nm;柱温: 30 °C;流速: 1 mL · min⁻¹;进样量: 10 μL。

1.3.2 线性关系考察: 精密称取 3 种生物碱成分对照品适量,加入 70% 乙醇配制成混合对照品储备液,依次稀释制成不同浓度的混合对照品溶液,按上述色谱条件进样测定,以峰面积(Y)为纵坐标,各生物碱浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,结果显示 3 种生物碱线性关系良好(见表 1)。

表 1 回归方程和线性范围

成分	线性回归方程	R ²	线性范围 (μg · mL ⁻¹)
盐酸黄连碱	Y = 42746X - 5916.6	0.9995	1.6 ~ 40
盐酸巴马汀	Y = 48649X - 459.12	1.0000	0.96 ~ 24
盐酸小檗碱	Y = 50487X - 7302	0.9998	2.56 ~ 64

1.3.3 溶液的制备

1.3.3.1 混合对照品溶液的制备: 分别精密称定 3 种有效成分对照品适量,加入 70% 乙醇配制成含盐酸小檗碱 0.64 mg · mL⁻¹、盐酸巴马汀 0.48 mg · mL⁻¹、盐酸黄连碱 0.4 mg · mL⁻¹的混合对照品储备液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

1.3.3.2 供试品溶液的制备: 称取小陷胸汤处方量^[13](黄连 3 g、姜半夏 12 g、瓜蒌 30 g)药材粗粉,加入 16 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,1 次 1.5 h,将滤液合并,定容,摇匀,即得。

1.3.3.3 阴性溶液的制备: 称取不加黄连的小陷胸汤的药材粗粉,加入 16 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,1 次 1.5 h,将滤液合并,定容,摇匀,即得。

1.3.4 系统适用性试验: 将配制好的混合对照品、供试品和阴性对照溶液,按“1.3.1”项色谱条件下进样测定,结果表明,3 种生物碱成分均能较好分离且峰形对称,阴性对照溶液无干扰,表明系统适用性良好(见图 1)。

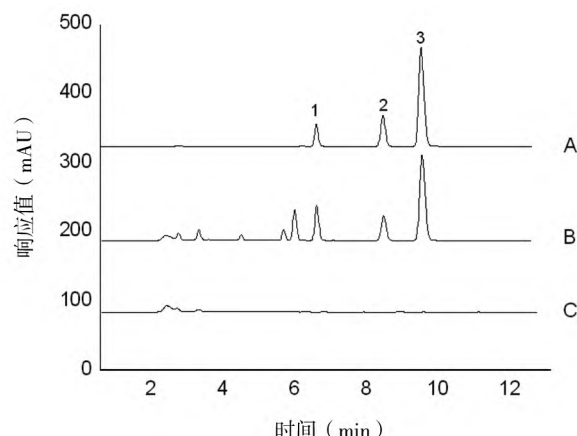


图 1 HPLC 色谱图

1. 盐酸黄连碱; 2. 盐酸巴马汀; 3. 盐酸小檗碱
A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

1.3.5 含量测定: 准确称取小陷胸汤处方量的药材粗粉,按“1.3.3.2”项下方法制备样品溶液,在 345 nm 下检测 3 种有效成分的峰面积,根据不同成分标准曲线测定含量,并计算综合得分。

1.3.6 单因素试验:

1.3.6.1 乙醇体积分数的考察: 称取小陷胸汤处方量药材粗粉 8 份,固定料液比 1:14(g · mL⁻¹),回流提取 1 h,分别加入乙醇体积分数为 50%、60%、70%、80% 进行试验,经 HPLC 法测定有效成分含量,计算综合得分。

1.3.6.2 料液比的考察: 称取小陷胸汤处方量药材粗粉 8 份,乙醇体积分数 70%,提取 1 h,分别选择 1:10、1:12、1:14、1:16(g · mL⁻¹) 进行试验,经 HPLC 法测定有效成分含量,计算综合得分。

1.3.6.3 提取时间的考察: 称取小陷胸汤处方量药材粗粉 8 份,固定料液比 1:14(g · mL⁻¹),乙醇体积分数 70%,分别提取 0.5、1、1.5、2 h 进行试验,经 HPLC 法测定有效成分含量,计算综合得分。

1.3.6.4 提取次数的考察: 称取小陷胸汤处方量药材粗粉 6 份,固定料液比 1:14(g · mL⁻¹),乙醇体积分数 70%,提取时间 1.5 h,分别提取 1、2、3 次进行试验,经 HPLC 法测定有效成分含量,计算综合得分。

1.3.7 正交试验设计: 根据单因素试验的结果,选择乙醇体积分数(A)、料液比(B)、提取时间(C)和提取次数(D)为指标,采用 L₉(3⁴) 正交试验对小陷胸汤胃内漂浮片处方药材提取工艺进行优选,通过正交试验软件分析,以三个水平中的极差值最大的来确定最佳工艺组合,试验设计因素与水平见表 2。

表2 因素与水平表

水平	因素			
	A(%)	B(g·mL ⁻¹)	C(h)	D(次)
1	60	1:12	1	1
2	70	1:14	1.5	2
3	80	1:16	2	3

2 结果与分析

2.1 综合得分计算方法 综合得分: $W = 0.2A + 0.2B + 0.6C^{(14)}$, A: 盐酸黄连碱的含量; B: 盐酸巴马汀的含量; C: 盐酸小檗碱的含量

2.2 方法学考察 3种生物碱成分的精密性、重复性、稳定性试验结果 RSD 均小于 3%, 符合相关要求。加样回收率试验结果盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱平均回收率分别为 102.1%、100.3%、100.4%, RSD 均小于 3%, 表明此方法具有较好的回收率。

2.3 单因素试验结果与分析

2.3.1 乙醇体积分数考察结果: 由表 3 可知, 随着乙醇体积分数越高, 3 种生物碱综合评分也随之增大, 但 70% 乙醇提取的综合得分与 80% 乙醇相差不到 5%, 为了节省成本, 故选择 70% 乙醇作为最佳提取溶剂。

表3 乙醇体积分数考察结果

乙醇体积分数 (%)	盐酸黄连碱 (%)	盐酸巴马汀 (%)	盐酸小檗碱 (%)	综合得分
50	1.58	1.10	4.43	3.20
60	2.07	1.38	5.70	4.11
70	2.23	1.44	6.08	4.38
80	2.32	1.48	6.15	4.45

2.3.2 料液比考察结果: 由表 4 可知, 料液比为 1:14 (g·mL⁻¹) 时 3 种生物碱综合评分最高, 故选择最佳料液比为 1:14 (g·mL⁻¹)。

表7 正交试验设计及结果

试验号	A(%)	B(g·mL ⁻¹)	C(h)	D(次)	盐酸黄连碱(%)	盐酸巴马汀(%)	盐酸小檗碱(%)	综合得分
1	1	1	1	1	1.82	1.14	5.10	3.65
2	1	2	2	2	2.28	1.35	6.20	4.44
3	1	3	3	3	2.49	1.33	6.59	4.72
4	2	1	2	3	2.60	1.46	6.90	4.95
5	2	2	3	1	2.16	1.27	5.94	4.25
6	2	3	1	2	2.55	1.42	6.70	4.81
7	3	1	3	2	2.37	1.36	6.42	4.60
8	3	2	1	3	2.66	1.46	6.92	4.97
9	3	3	2	1	2.36	1.36	6.40	4.58
K ₁	4.270	4.400	4.480	4.160				
K ₂	4.670	4.557	4.657	4.617				
K ₃	4.720	4.703	4.523	4.883				
R	0.450	0.303	0.177	0.723				

优选方案: A₂B₃C₂D₃

2.5 验证试验结果 将小陷胸汤胃内漂浮片处方量药材粗粉放大 10 倍, 按正交试验优选出的最佳提取工艺进行 3 次验证, 表 8 中可知, 小陷胸汤中综合得分平均值为 4.98, 高于表

表4 料液比考察结果

料液比 (g·mL ⁻¹)	盐酸黄连碱 (%)	盐酸巴马汀 (%)	盐酸小檗碱 (%)	综合得分
1:10	2.08	1.33	5.61	4.05
1:12	2.07	1.36	5.69	4.10
1:14	2.21	1.45	6.07	4.37
1:16	2.20	1.43	6.06	4.36

2.3.3 提取时间考察结果: 由表 5 可知, 提取时间为 1.5 h, 3 种生物碱综合评分最高, 故选择最佳提取时间为 1.5 h。

表5 提取时间考察结果

提取时间 (h)	盐酸黄连碱 (%)	盐酸巴马汀 (%)	盐酸小檗碱 (%)	综合得分
0.5	2.11	1.27	5.87	4.20
1	2.21	1.43	6.07	4.37
1.5	2.28	1.51	6.15	4.45
2	2.23	1.43	6.05	4.36

2.3.4 提取次数考察结果: 由表 6 可知, 随着提取次数越多, 3 种生物碱综合评分也越高, 故选择 3 次作为最佳提取次数。

表6 提取次数考察结果

提取次数 (次)	盐酸黄连碱 (%)	盐酸巴马汀 (%)	盐酸小檗碱 (%)	综合得分
1	2.21	1.42	6.08	4.37
2	2.33	1.47	6.23	4.50
3	2.51	1.55	6.64	4.80

2.4 正交试验结果与分析 由表 7 正交试验直观分析表明, D 因素贡献最大, A 因素其次, C 因素贡献最小。小陷胸汤胃内漂浮片处方药材最佳提取工艺为 A₂B₃C₂D₃, 即取小陷胸汤 3 味处方量药材, 乙醇体积分数 70%, 料液比为 1:16 (g·mL⁻¹), 提取时间 1.5 h, 提取 3 次。

7 中每一项结果, 且 RSD 小于 1%, 说明该提取工艺简单、准确、可行。

表 8 验证试验结果

试验号	盐酸黄连碱 (%)	盐酸巴马汀 (%)	盐酸小檗碱 (%)	综合得分
1	2.63	1.51	6.92	4.98
2	2.65	1.50	6.95	5.00
3	2.62	1.52	6.88	4.96
平均值	2.63	1.51	6.92	4.98
RSD(%)	0.58	0.66	0.51	0.44

3 讨论

小陷胸汤由瓜蒌、黄连和半夏三味药组成,其中瓜蒌主要含有三萜皂苷、有机酸等;半夏含有生物碱、多糖和核苷等^[15];黄连含有多种生物碱成分^[16-17],其中瓜蒌和半夏在《中国药典》里没有含量测定项。为综合评价小陷胸汤胃内漂浮片的质量,本实验以多指标成分盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸黄连碱来优选提取工艺条件。

分别考察回流法、超声法、煎煮法和浸渍法对小陷胸汤中处方药材盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸黄连碱的影响,结果显示采用回流法 3 种生物碱含量最高,且操作简单易行。浸渍法的生物碱含量与回流法相差不大,但操作时间长。煎煮法的生物碱含量不高,可能是因为采用了合煎,导致成分之间发生反应,形成酸碱复合盐使生物碱溶出量减少,这与文献报道^[12]相一致。

正交试验法是中药汤剂提取工艺优化和筛选最常用的方法之一。本实验以小陷胸汤 3 种有效成分作为评价指标优选最佳提取工艺,通过正交实验设计结果显示 4 个因素对提取率影响大小依次为 $D > A > B > C$,其中 A 因素按极差最大值为 K_3 ,考虑到 K_2 值和 K_3 值相差不到 5%,为了节省提取成本,最终选择 70% 乙醇作为最佳提取溶剂浓度。

本实验采用 HPLC 法小陷胸汤中生物碱成分进行质量控制,考察了不同流动相,如乙腈 - 0.05 mol · L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液,以磷酸调 pH 至 3.0、乙腈 - 0.25 mol · L⁻¹ 乙酸铵和 8 mmol · L⁻¹ 十二烷基硫酸钠溶液,以氨水调 pH 至 9.3^[18] 对分离效果的影响,结果显示第一种流动相不仅配制简便,且峰形对称,分离度和理论塔板数均达到相关要求。

4 结论

本实验以回流提取法对小陷胸汤中 3 种有效成分盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀进行考察,采取正交试验法对提取工艺进行优选,确定了最佳提取工艺为 16 倍量的 70% 乙醇提取 3 次,1 次 1.5 h,为后期小陷胸汤胃内漂浮片的制

备提供重要的科学依据。

参考文献

- (1) 张敏,吕冠华. 小陷胸汤临床应用概述 (J). 中医药临床杂志, 2017,29(11):1962-1964.
- (2) 施岚尔,聂课朝,张文婧,等. 基于网络药理学的小陷胸汤治疗 2 型糖尿病的药理机制 (J). 中国实验方剂学杂志,2020,26(4):198-206.
- (3) 罗毅. 小陷胸汤临床应用举隅 (J). 四川中医,2006,24(10):108-109.
- (4) 周蕾,刘嘉湘. 刘嘉湘运用小陷胸汤治疗肿瘤相关症状举隅 (J). 辽宁中医杂志,2016,43(3):617-619.
- (5) 陈雪芳. 小陷胸汤治疗胃脘痛 69 例 (J). 现代中西医结合杂志, 2011,20(26):3317-3318.
- (6) 任小宁,庞鹏宇,郭晓黎. 左金丸合小陷胸汤治疗反流性食管炎 105 例 (J). 广西中医药,2016,39(1):59-60.
- (7) 林少真. 小陷胸汤加味治疗痰热咳嗽 48 例效果观察 (J). 中外医学研究,2016,14(27):142-143.
- (8) 王超. 毛德西教授运用小陷胸汤加味治疗冠心病举隅 (J). 临床医药文献杂志,2014,1(10):1733.
- (9) 李世杰. 小陷胸汤治疗 2 型糖尿病痰热互结证 57 例 (J). 河南中医,2017,35(7):1493-1495.
- (10) 李晓凤,杜武勋. 基于五运六气理论对新型冠状病毒肺炎的几点思考 (J). 中华中医药学刊,2020,38(3):13-16.
- (11) 申茹,徐英辉,郭玉岩,等. 达原饮胃漂浮片的提取工艺研究 (J). 现代中药研究与实践,2021,35(3):61-65.
- (12) 国紫薇,田明,韩瑞伟,等. 小陷胸汤煎煮提取对含生物碱量变化的影响 (J). 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2018,34(2):163-165.
- (13) 曾江琴,孙勤国,徐鸿婕,等. 小陷胸汤对高血脂小鼠血脂及免疫功能的影响 (J). 现代免疫学,2021,41(5):374-379.
- (14) 左明明,胡时先,朱美霞,等. 太子神悦胶囊提取工艺研究及方法验证 (J). 中医药学报,2021,49(1):31-36.
- (15) 王朋展,相美容,李灿,等. HPLC 法同时测定不同来源半夏及其伪品中 9 种核苷类成分的含量 (J). 药物分析杂志,2017,37(2):212-218.
- (16) 卿大双,罗维早,孙建彬,等. 一测多评法测定黄连及其炮制品中 6 种生物碱 (J). 中草药,2016,47(2):324-329.
- (17) 国家药典委员会编. 中国药典(一部) [S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:316-318.
- (18) 阳勇,罗维早,孙建彬,等. HPLC 法测定黄连药材及其炮制品中六种生物碱的含量 (J). 世界科学技术-中医药现代化,2015,17(3):596-602.

小陷胸汤治疗心血管疾病的药理机制研究进展

申茹^{1,2}, 徐英辉^{1,2*}, 侯秋苑^{1,2}, 苏莹莹¹, 张清莹¹, 林卉¹, 李靖文¹ (1. 惠州卫生职业技术学院药学院, 广东 惠州 516025; 2. 惠州市药用植物研究与开发重点实验室, 广东 惠州 516025)

摘要: 小陷胸汤作为中医经典方剂,出自张仲景的《伤寒论》,具有清热涤痰开结的功效,是治疗痰热互结证的代表方剂。近年来该方广泛用于动脉粥样硬化、冠心病、高血压、高脂血症、不稳定型心绞痛、急性心肌梗死等心血管疾病治疗,且疗效显著。现代研究发现小陷胸汤的药理机制包括调节血脂代谢、降低炎症反应、保护血管内皮功能、改善血液流变学特性、抑制细胞凋亡和抗氧化应激等。本文就小陷胸汤近十年来治疗心血管疾病的药理机制做一综述,为进一步挖掘潜在疗效并应用于临床提供参考。

关键词: 小陷胸汤; 心血管病; 药理机制; 冠心病; 动脉粥样硬化

中图分类号: R932

文献标志码: A

文章编号: 1674-229X(2022)04-0253-04

Doi: 10.12048/j.issn.1674-229X.2022.04.003

Research Progress on Pharmacological Mechanism of Xiaoxianxiong Decoction in the Treatment of Cardiovascular Diseases

SHEN Ru^{1,2}, XU Yinghui^{1,2*}, HOU Qiuyuan^{1,2}, SU Yingying¹, ZHANG Qingying¹, LIN Hui¹, LI Jingwen¹
(1. Department of Pharmacy, Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou, Guangdong 516025, China; 2. Huizhou Key Laboratory of Medicinal Plant Research and Development, Huizhou, Guangdong 516025, China)

ABSTRACT: Xiaoxianxiong decoction is a classic prescription of traditional Chinese medicine, which originated from ZHANG Zhongjing's Treatise on Cold-Attack. It is representative prescription in treating intermingled phlegm-heatsyndrome. In recent years, it has been widely used in the treatment of cardiovascular diseases such as atherosclerosis, coronary heart disease, hypertension, hyperlipidemia, unstable angina pectoris and acute myocardial infarction, which have significantly curative effects. Modern research shows the pharmacological mechanism of Xiaoxianxiong decoction includes regulating blood lipid metabolism, reducing inflammatory response, protecting vascular endothelial function, improving hemorheological characteristics, inhibiting apoptosis and anti-oxidative stress. This paper reviews the pharmacological mechanism of Xiaoxianxiong decoction in treating cardiovascular diseases in recent 10 years, to further explore the potential efficacy and provide reference for clinical application.

KEY WORDS: Xiaoxianxiong decoction; cardiovascular diseases; pharmacological mechanism; coronary heart disease; atherosclerosis

小陷胸汤出自东汉医圣张仲景的《伤寒论·辨太阳病脉证并治》,由瓜蒌、黄连、半夏三味药组成,方中瓜蒌清热化痰,理气宽胸;黄连泄热降火、除心下痞实;半夏降逆化痰,散心下之结,是治疗痰热互结证的代表方剂^[1-3]。现代药理研究证实,小陷胸汤具有调节血脂代谢、保护内皮细胞、抗炎、改善血液流变学特性、抑制细胞凋亡,治疗动脉粥样硬化、冠心病心绞痛、降血压、降血脂、抗心肌缺血再灌注损伤等作用。笔者查阅近 10 年小陷胸汤治疗心血管疾病的临床研究及药理试验文献,并对其药理作用机

制做一综述。

1 小陷胸汤治疗动脉粥样硬化的药理机制

动脉粥样硬化(AS)是动脉粥样斑块形成,会造成脏器供血不足,导致心肌梗死和脑梗死。研究证实加味小陷胸汤下调氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)、白细胞介素-6(IL-6)、C-反应蛋白(CRP)、核转录因子 κ B(NF- κ B)表达及血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)及 VCAM-1 mRNA 转录水平,进而发挥抗炎作用^[4-5]。另外,加味小陷胸汤

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金“攀登计划”专项资金 (pdjh2021b0934)

作者简介: 申茹,讲师,研究方向: 中药质量分析和药理研究
21806850@qq.com

* 通信作者: 徐英辉,副教授,研究方向: 中药新药开发, E-mail:

对血管内皮细胞起到保护作用,可升高人脐静脉内皮细胞分泌一氧化氮(NO),降低内皮素-1(ET-1)含量,经 ox-LDL 刺激培养的人脐静脉内皮细胞株 ECV304,诱导细胞凋亡,可提高内皮细胞生长并抑制其凋亡、保护内皮细胞^[6-7]。张智华等^[8]通过小陷胸汤合丹参饮含药血清干预 Ang-II 损伤人脐静脉内皮细胞,发现降低 ICAM-1 mRNA 表达、ICAM-1 蛋白含量,减少内皮细胞与淋巴细胞粘附,进而保护内皮细胞。江巍等^[9]采用化痰活血法考察 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化病变程度,结果采用小陷胸汤+枳壳水提液+芍药胶囊可提高小凹蛋白-1(caveolin-1)和清道夫受体 BI(SR-BI)的表达,促进主动脉胆固醇逆转运,减少小鼠主动脉粥样硬化斑块形成。曾思宇^[10]研究发现小陷胸汤能降低 ApoE 基因敲除小鼠血脂水平,减少主动脉粥样硬化斑块蓄积,稳定斑块,降低磷酸化蛋白激酶 B(P-Akt)、磷酸化雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)的表达,抑制 Akt/mTOR 通路,起到抗动脉粥样硬化作用。曾江琴等^[11]通过小陷胸汤灌胃 AS 大鼠,明显降低 AS 大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)、载脂蛋白 B100(Apo-B100)、ox-LDL、IL-6、白细胞介素-8(IL-8)、VCAM-1、ICAM-1 及 CRP,上调高密度脂蛋白(HDL-C)和载脂蛋白 A1(Apo-A1)含量,显著减低血液黏度,维持红细胞变形性,抑制因血脂代谢紊乱引起的血液流变学指标的改变。董音汝等^[12]基于网络药理学探讨小陷胸汤治疗动脉粥样硬化的作用机制,通过数据库筛选和分析筛选小陷胸汤有 38 个化合物,21 个作用靶点,信号通路 11 条,预测其通过 PI3K-Akt、HIF-1、Fox O 等相关通路发挥作用。

2 小陷胸汤治疗冠心病心绞痛的药理机制

冠心病心绞痛是以胸痛憋闷、心悸气短为症状的一种常见的心血管疾病,主要由于冠状动脉粥样硬化使管腔狭窄或堵塞导致供血不足。现有研究表明丹参饮合小陷胸汤可以降低同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白(Hs-CRP)、有效调节血脂 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平,并抑制血液流变学指标的改变,改善患者局部的血液循环^[13-14]。关芳等^[15]针对冠状动脉支架植入术后痰热互结型心绞痛患者,小陷胸汤加减可以下调 CRP、IL-6、TNF- α 的水平,降低炎症反应,预防支架术后再狭窄。李爱玲等^[16]临床研究表明加味小陷胸汤联合西药能够显著降低心

肌营养素-1(CT-1)、细胞色素 C(Cyt C)、可溶性细胞间黏附因子-1(sICAM-1)、血管性假血友病因子(vWF)、下调丙二醛(MDA),上调超氧化物歧化酶(SOD),提示机制可能是与抑制细胞凋亡、减轻血管内皮损伤和抗氧化有关。关庆亚等^[17]通过多种网络药理平台预测小陷胸汤治疗冠心病靶标并揭示潜在通路机制,分析结果表明通过 25 个有效成分调控 24 个靶标,其机制可能通过蛋白质代谢、基因表达等生物过程发挥作用,参与基因转录通路、脂类和脂蛋白代谢、IGFBPs 对 IGF 转运和摄取、细胞外基因降解等信号通路。

3 小陷胸汤治疗高血压的药理机制

高血压是我国最常见的心血管疾病之一,是诱发冠心病和脑卒中,甚至死亡的主要危险因素。临床研究表明加味小陷胸汤可以治疗痰热互结型、痰热壅盛型、痰瘀互结型高血压,与西药联合治疗效果更佳^[18-19]。研究证实加味小陷胸汤可以降低血清中 Hs-CRP 水平^[20]、显著降低受试者转化生长因子- β 1(TGF- β 1)水平,逆转原发性高血压左心室肥厚,提高患者生命质量^[21]。许萍等^[22]采用小陷胸汤合丹参饮可以使痰瘀互结型高血压患者凝血酶原时间(PT)和活化部分凝血酶原时间(APTT)延长,降低纤维蛋白原(FIB)水平,从而改善凝血功能。庞小涵等^[23]基于网络药理平台探讨小陷胸汤作用于高血压的有效成分有 33 个,关键靶点基因 14 个,小陷胸汤治疗高血压的机制可能是与调节相关靶蛋白的基因表达,减轻炎症反应,参与神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路及血管平滑肌收缩等通路有关。

4 小陷胸汤治疗不稳定型心绞痛的药理机制

不稳定型心绞痛是临床常见病,介于稳定型心绞痛和急性心肌梗死之间的中间状态,好发于老年人,极易引发急性心肌梗死等症状,严重威胁患者的生命安全。小陷胸汤加味治疗不稳定型心绞痛是通过调节炎症介质脂肪因子脂肪素(visfatin)和脂肪因子抵抗素(resistin),减轻炎症反应^[24-26],减少患者心绞痛发作次数与时间。临床研究表明经小陷胸汤加味治疗后上调 NO 水平,下调 Hs-CRP 和 ET,通过调节可以改善血管内皮功能,进而扩张血管,增加心肌供血,效果显著^[27-28]。

5 小陷胸汤治疗高脂血症的药理机制

高脂血症是冠脉不稳定性斑块形成的主要因素,可诱发冠心病、动脉粥样硬化等疾病。小陷胸汤加味能有效调整血脂异常,对高脂血症有防治作用。有研究证实小陷胸汤加味及联合西药可以下调 TC、TG、LDL-C、钙卫蛋白(FC),上调 HDL-C,调节载脂蛋白,降低模型大鼠 Apo-B、升高 Apo-A1 水平^[29-30]。曾江琴等^[31]通过对小陷胸汤对高脂血症小鼠进行血脂及免疫功能作用机制研究,结果显示血脂异常得到改善,CD40⁺/CD40L⁺细胞、Th1 百分比减少, Th2 百分比增加,表明小陷胸汤减轻机体炎症反应并提高免疫功能。该团队又对高脂血症小鼠血管内皮的保护作用机制进行了研究,结果证实主动脉组织 vWF、VEGF、抗酪氨酸白激酶 Eph 受体 B4 (EphB4)、胞膜附着型配体 B2 (EphrinB2) 表达水平降低,小陷胸汤可抑制高脂血症的发展,对小鼠血管内皮细胞有保护作用^[32]。明浩等^[33]基于多种网络药理平台探讨小陷胸汤治疗血脂异常的作用机制,结果预测了小陷胸汤通过 RELA, IL6, PRKCA, NCOA2, CASP3 等多靶点,调控动脉粥样硬化通路、AGE-RAGE、TNF- α 等信号通路来调节血脂。

6 小陷胸汤治疗急性心肌梗死的药理机制

急性心肌梗死是临床上多见的危急重症心血管疾病之一,具有发病急、病情重、死亡高等特点,属于中医学胸痹、真心痛的范畴。中医认为心络损伤以及热毒郁结导致患者出现急性心肌梗死的诱因之一,通过采取解毒通络的方法来达到治疗的效果。实验研究小陷胸汤加味^[34]或联合西药^[35]可以使治疗组的 TC、TG 和 LDL-C 有所降低, HDL-C 有所升高、Hs-CRP 有所降低,与对照组有显著性差异,表明小陷胸汤加味方能有效降低炎症因子 Hs-CRP 水平,调节血脂代谢治疗痰热互结型急性心肌梗死。

7 小陷胸汤对心肌缺血再灌注损伤保护作用的药理机制

心肌缺血再灌注损伤(IRI) 是心血管疾病常见的病理过程^[36]。经实验研究小陷胸汤加味对心肌缺血再灌注损伤有保护作用。以健康日本大耳白兔为实验动物,分成假手术组、IR 模型组、小陷胸汤低、高剂量组,考察心肌组织中血清 CRP、NO^[37]、一氧化氮合成酶(NOS)^[38]的含量,结果小陷胸汤低、

高剂量组均可以减少 CRP、增加 NO 含量、提高 NOS 活性,减轻心肌缺血再灌注损伤的程度。张磊等^[39]实验发现小陷胸汤加味方预处理能降低家兔心肌缺血再灌注血清肌酸激酶(CK) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 含量,说明药物可减轻心肌细胞的损伤,发挥对再灌注心肌的保护作用。刘玉洁等^[40]通过兔心肌缺血再灌注损伤实验发现,小陷胸汤加味方预处理能提高心肌组织 SOD 活性,消除氧自由基,降低血清 MDA 的水平,并能显著降低血清肌酸激酶同工酶(CK-MB) 的含量,减轻心肌缺血再灌注损伤的作用。王路瑶等^[41]利用网络药理学及分子对接技术分析小陷胸汤抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制,结果预测了小陷胸汤通过多靶点 AKT1、MMP9、IL1B、EGF 等及 IL-17 信号通路和 PI3K-AKT 信号通路等多通路抗心肌缺血再灌注损伤。

8 结语

综上所述,小陷胸汤在心血管疾病中发挥着重要作用,其药理作用机制主要涉及改善血液流变学特征、抗炎、抗氧化、抑制细胞凋亡、保护血管内皮功能及调节血脂代谢等方面。近年又利用多种网络药理平台揭示了小陷胸汤是通过多成分、多靶点和多通路治疗心血管疾病的机制,但仍需进一步通过临床试验和药理试验不断探索和研究。

参考文献

- [1] 张敏,吕冠华.小陷胸汤临床应用概述 [J]. 中医药临床杂志, 2017,29 (11): 1962-1964.
- [2] 张保国,刘庆芳.经方小陷胸汤药理学研究与临床应用 [J]. 中成药,2012,34 (11): 2206-2210.
- [3] 蒋跃文,李家庚,樊讯,等.《伤寒论》泄热三方对动脉粥样硬化模型大鼠炎症的影响 [J]. 中医学报,2015,30(7): 1003-1006.
- [4] 孙勤国,吕琨.小陷胸汤对动脉粥样硬化大鼠血清炎症因子水平及主动脉内膜厚度的影响 [J]. 中西医结合研究,2013,5(6): 294-297.
- [5] 李娜,张林.小陷胸汤加味方对动脉粥样硬化大鼠炎症因子的影响 [J]. 中医杂志,2011,52(2): 147-150.
- [6] 喻秀兰,梅国强,张德玲,等.小陷胸汤加味含药血清对人脐静脉内皮细胞分泌 NO/ET-1 的调节作用 [J]. 微循环学杂志,2005,15 (2): 41-42,90.
- [7] 喻秀兰,梅国强,张德玲,等.加味小陷胸汤对氧化低密度脂蛋白致血管内皮细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 湖北中医学院学报, 2005,7(2): 6-7.
- [8] 张智华,吴建红,李德顺,等.小陷胸汤合丹参饮含药血清对 Ang-II 损伤人脐静脉内皮细胞 ICAM-1 表达的影响 [J]. 湖北中医药大学学报,2014,16(6): 16-19.
- [9] 江巍,毛炜,李松,等.化痰活血法对 ApoE(-/-) 小鼠主动脉胆固醇逆向转运相关蛋白表达的影响 [J]. 山东中医药大学学报, 2012,36(4): 334-337.

- [10] 曾思宇.小陷胸汤通过调节 Akt/mTOR 信号通路干预 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化的作用机制研究 [D].长沙:湖南中医药大学,2021.
- [11] 曾江琴,徐鸿婕,丁晓明,等.小陷胸汤对动脉粥样硬化大鼠血脂、血液流变学及炎性标志物的影响 [J].中药药理与临床,2016,32(1):10-14.
- [12] 董音汝,莫云秋,郑景辉,等.基于网络药理学分析小陷胸汤治疗动脉粥样硬化的作用机制 [J].中国新药杂志,2020,29(3):335-342.
- [13] 双晓萍.丹参饮合小陷胸汤加味治疗痰瘀痹阻型冠心病稳定型心绞痛的临床研究 [J].武汉:湖北中医学院,2008.
- [14] 潘勇.丹参饮合小陷胸汤加味治疗痰瘀痹阻型冠心病稳定型心绞痛的疗效 [J].中外医疗,2014,33(18):125-126.
- [15] 关芳,郭瑄.小陷胸汤加减治疗冠脉支架术后痰热互结型心绞痛的临床观察 [J].中医药导报,2018,24(1):110-112.
- [16] 李爱玲,贾晓霞,马林,等.加味小陷胸汤结合西医常规治疗难治性心绞痛气滞血瘀证临床研究 [J].国际中医中药杂志,2019,41(9):941-945.
- [17] 关庆亚,王阶,张云,等.基于网络药理学的小陷胸汤治疗冠心病作用机制 [J].中国实验方剂学杂志,2020,26(5):152-161.
- [18] 罗娜,刘东方.加味小陷胸汤对高血压病疗效观察 [J].中医学报,2013,41(1):111-113.
- [19] 解文国.小陷胸汤合半夏泻心汤治疗痰湿壅盛型老年高血压病的临床疗效分析 [J].中国社区医师,2020,36(26):109-110.
- [20] 陈珍珍.加味小陷胸汤对痰热型高血压患者超敏 C 反应蛋白的影响 [J].福州:福建中医药大学,2015.
- [21] 罗娜.加味小陷胸汤治疗原发性高血压左心室肥厚(痰热互结兼瘀血)的疗效及对 TGF- β 1 水平的影响 [D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2013.
- [22] 许东萍.小陷胸汤合丹参饮治疗高血压病(痰瘀互结型)临床疗效观察及对凝血功能的影响 [D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2016.
- [23] 庞小涵,陈建新,贾彩霞,等.基于多种网络药理平台探讨小陷胸汤治疗高血压的作用机制 [J].世界中医药,2020,15(22):3359-3368.
- [24] 王学智.加味小陷胸汤联合西药常规治疗不稳定性心绞痛的临床疗效观察 [J].青海医药杂志,2018,48(9):61-63.
- [25] 曹现霞,王营,刘芳.小陷胸汤治疗不稳定性心绞痛及其对炎症因子的影响 [J].吉林中医药,2009,29(12):1047-1048.
- [26] 黄迎春.小陷胸汤加味治疗不稳定型心绞痛的疗效及对脂肪因子抵抗素水平的作用研究 [J].四川中医,2016,34(6):74-76.
- [27] 周芳,袁庆亮,王阶.小陷胸汤加味治疗不稳定性心绞痛痰热互结证的临床疗效及对血管内皮功能的影响 [J].河北中医,2017,39(9):1297-1300.
- [28] 齐帅,贺小武,王晓飞.小陷胸汤加味治疗不稳定性心绞痛痰热互结证的临床疗效及对血管内皮功能的影响 [J].国医论坛,2018,33(6):12-13.
- [29] 叶勇,梅国强,刘松林,等.加味小陷胸汤对实验性高脂血症大鼠脂质代谢的影响 [J].湖北中医学院学报,2003,5(4):62-63.
- [30] 谢晓彤,夏凯,杜宗礼,等.小陷胸汤化裁方对降低胆固醇及纠正脂质代谢障碍临床观察 [J].云南中医中药杂志,2019,40(11):53-54.
- [31] 曾江琴,孙勤国,徐鸿婕,等.小陷胸汤对高脂血症小鼠血脂及免疫功能的影响 [J].现代免疫学,2021,41(5):374-379.
- [32] 曾江琴,孙勤国,徐鸿婕,等.小陷胸汤对高脂血症小鼠血管内皮的保护作用 [J].中国比较医学杂志,2021,31(10):48-53.
- [33] 明浩,王钊,石拓,等.基于网络药理学探讨小陷胸汤治疗血脂异常的作用机制 [J].中国医院药学杂志,2020,40(6):665-671.
- [34] 称宏森,袁琼辉.小陷胸汤加味辨治急性心肌梗死临床研究 [J].新中医,2015,47(2):16-17.
- [35] 刘淑琦,陈跃飞,颜红红.小陷胸汤联合西药治疗急性心肌梗死随机平行对照研究 [J].实用中医内科杂志,2013,27(14):124-126.
- [36] 高启军,董晓帆,邓长金.心肌缺血再灌注损伤研究进展 [J].岭南心血管病杂志,2020,26(1):107-109.
- [37] 胡忠民,张磊,刘玉洁.小陷胸汤加味对心肌缺血再灌注损伤血清 C 反应蛋白及一氧化氮含量的影响 [J].河北中医,2009,31(12):1876-1877,1879.
- [38] 刘炜,刘奇龙,刘玉洁.小陷胸汤加味方对兔心肌缺血再灌注损伤一氧化氮、一氧化氮合酶的影响 [J].河北中医,2010,32(7):1074-1075.
- [39] 张磊,刘金星,刘玉洁.加味小陷胸汤对实验性心肌缺血再灌注的作用 [J].四川中医,2010,28(1):26-27.
- [40] 郭志清,刘奇龙,刘玉洁.小陷胸汤加味方对兔心肌缺血再灌注损伤 MDA、SOD 和 CK-MB 的影响 [J].中国中医急症,2009,18(12):2020-2021.
- [41] 王路瑶,张露苗,李俊楠,等.基于网络药理学和分子对接技术分析小陷胸汤抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制 [J].国际中医中药杂志,2021,43(11):1116-1123.

(收稿日期:2022-02-17;在线出版日期:2022-03-29)

药品生产专业技术专业人才需求与职业岗位能力分析

申 茹,徐英辉,梁 可,莫颖华

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516000)

摘 要 通过对药品生产专业技术专业人才需求分析,明确药品生产企业的主要工作岗位及职业能力,从而确定本专业的人才培养目标,构建与企业岗位深度融合的人才培养模式,以及以职业能力为核心的专业课程体系。

关键词 药品生产专业技术专业;人才需求;职业岗位能力

中图分类号 G420

文献标识码 A

文章编号 1671-1246(2019)04-0027-02

药学事业是与人民生命和健康息息相关的事业,要求从业人员必须具备高超的药学技能和良好的职业道德,尤其在药品生产环节,不仅具有娴熟的药品生产专业技能,还要有严谨规范的管理能力^[1]。因此,药品生产专业技术专业既要适应国家政策需要,也要满足学生的就业需求。如何制订该专业的人才培养模式、构建专业课程体系成了当前亟待解决的问题。本文针对药品生产专业技术专业的人才需求、岗位需求和职业能力分析,对医药企业和医疗机构等进行充分调研,确定该专业的培养目标和专业定位。

1 调研背景

随着医药科技的发展,人们生活水平不断提高,自我保健意识不断增强,对药品安全也越发关注。以近十几年内发生的药害事件为例,2006年的“欣弗”事件引起了社会各界的关注,同年齐二药“亮菌甲素注射液”事件震动全国,把药品安全问题提上了议事日程。生产环节关系到药品质量,所以要生产高质量、安全、有效的药品,必须从生产环节抓起。因此培养高素质的生产技能型人才,是医药卫生类高等院校义不容辞的责任。

为使药品生产专业技术专业更好地适应市场需求,课程教学更适应岗位要求,对相关行业发展现状与趋势、岗位设置情况及变化趋势进行了调研。本次调研对象为广东省医药企事业单位,包括药品生产企业、药品经营企业等,调研方式为实地调研,采取问卷调查与行业负责人访谈、个别访谈、参观交流、专家座谈等方式。其中包括药品生产企业5家,医疗机构3家,药品经营企业5家,毕业生40人,实习生40人。调研内容包括就业单位对学生知识、能力和素养要求的认知程度,从事药品生产、质量检验、质量管理等岗位能力和工作任务剖析,并对该专业教学模式和人才培养方案等方面的建议等。

2 药品生产专业技术专业人才及岗位需求情况分析

2.1 人才需求分析

设置药品生产专业技术专业是落实国家学科建设与人才发展战略,培养国际化紧缺人才的需要^[2]。该专业目前在广东省只有6所高等职业院校开设。经过对广东省医药行业调研,药品生产专业技术专业毕业生就业方向主要集中在药品生产、药品检验和药品销售等领域。

广东省大、中、小型药品生产企业共有730多家,其中有50

多家为股份制医药企业,中药饮片厂250多家,注册许可的医疗器械生产企业近900家,药品批发企业1600多家,零售药店53000多家,学生就业前景非常广阔。

2.2 岗位需求分析

药品生产专业技术专业现只有高职层次,呈现供不应求的状态。通过对用人单位对人才学历水平的要求进行调查,22.5%的用人单位需要本科及以上学历人才,70.8%的用人单位需要高职高专学历人才,仅有5.5%的用人单位需要中专学历人才,1.2%的用人单位对学历无要求。用人单位本专业就业毕业生主要选择以下几个岗位:一是药品生产企业生产操作、质量管理、质量检验岗位;二是药品经营企业中药调剂、药品营销岗位。为提高学生专业知识和实践能力水平,学院在人才培养过程中应加大实训力度,使学生的动手操作能力、分析问题和解决问题能力得到较大提高,才能在制药岗位上得心应手。

2.3 企业对药品生产专业技术专业人才素质和能力的要求

了解企业对人才能力的需求是本专业人才培养方案和教学计划制订的依据。通过对制药企业中技术工人、车间管理人员及生产管理人员进行问卷调查,结果显示,制药企业对人才的能力和素质要求包括剂型生产操作能力、制药设备操作能力、制剂生产在线质量控制能力、生产后清场能力、生产文件记录能力、GMP相关知识、生产工艺设计能力、创新能力、生产过程中解决问题能力,除此之外还要具有良好的药学职业道德、敬业精神、实事求是的态度和责任意识。

2.4 药品生产专业技术专业职业岗位与职业能力要求分析

通过调研,分析企业对药品生产专业技术专业人才素养、知识和能力的需求,制订该专业的职业岗位与能力要求见表1。

3 讨论

根据专业的人才需求、岗位需求和职业岗位能力分析来看,药品生产专业技术专业应着重培养与广东制药行业企业相适应的,满足社会就业岗位需求,具有较高职业道德和素养,能从事药品生产、药品检验、药物制剂设备使用与维护、药品营销等工作的高素质技能型专门人才。

以药品生产岗位群能力要求为基础,确定核心工作岗位、职业能力要求,构建课程体系,建议该专业核心课程可开设“实用药理学基础、药物制剂技术、药物检测技术、药物制剂

基金项目 惠州卫生职业技术学院“创新强校工程”(2016—2020年)项目“药品生产专业技术专业教学标准研制”(CQ2017—3.1.82)

中高职护理专业基础医学课程体系衔接探讨

张 敏

(韶关学院医学院,广东 韶关 512026)

摘 要:目前中高职基础医学课程体系存在课程重复问题,如何进一步完善中高职护理专业基础医学课程体系衔接,关键在于科学设置、有效整合与衔接课程模块。立足护理专业,结合就业实际与教学现状,统筹考虑中高职护理专业基础医学课程设置,建议将基础医学课程解剖学和组织学与胚胎学整合为正常人体结构,将生理学和生物化学整合为正常人体功能,将病理学、病原生物学与免疫学整合为疾病学基础,同时探讨整合后的课程标准。

关键词:中高职衔接 护理专业 基础医学课程 课程标准

中图分类号: G420

文献标识码: A

文章编号: 1671-1246 (2019) 04-0028-03

中高职衔接是指按照建设现代职业教育体系的要求,推动中等和高等职业教育协调发展,系统培养适应经济社会发展需要的技能型特别是高端技能型人才。为适应社会经济的发展需求,2017年国务院提出应大力发展现代职业教育和继续教育,加快培养经济社会发展急需人才,推行产教融合的职业教育模式,坚持面向市场、服务发展、促进就业的办学方向,科学确定各层次各类型职业教育培养目标,创新技术技能人才培养模式。因此,如何完善中高职衔接成为目前职业教育重点关注的课题之一。目前国内护理专业中高职衔接存在诸多问题,其中课程重复最为突出^[1]。解决课程重复难题是促进中高职课程体系衔接的重点之一。国外许多国家已形成较成熟的对接模式,国内部分省份开设护理专业的高职院校近年来也逐步推进相关课程改革^[2],而我省尚待开启此项工作。因此需探索打破“以

学科为中心”的教学模式,努力实现课程的有机整合,形成“以职业为基础,以能力为本位”的一体化课程体系,使学生更好地掌握医学基础知识和技能,为后续临床课程的学习及今后职业发展奠定基础^[3]。

1 中高职护理专业基础医学课程体系衔接思路

我院设有中职和高职两个层次的护理专业,从就业的实际情况分析,在中高职课程体系衔接改革中应坚持以就业为导向,从学生可持续发展角度分析,认真思考基础医学课程设置问题。围绕中高职护理专业培养目标,结合临床实际护理岗位工作要求,减少重复内容的教学,加强理论与临床的联系和素质培养。

2 中高职护理专业基础医学课程体系衔接探讨

2.1 人才培养目标和指导原则

基金项目:广东省高职教育医药卫生类教学改革项目立项课题“护理专业中高职衔接医学基础课程体系的探讨与实践”(20171075)

表1 药品生产技术专业职业岗位与职业能力要求分析

核心工作岗位及相关工作岗位	岗位描述	职业能力要求
药品生产	从事各类剂型生产和中药拣选、清洗、提取与分离以及制药设备使用和养护等工作	掌握常用剂型的生产工艺相关知识、中药前处理流程、提取和分离设备使用操作,具备药物制剂生产与技术保障能力,具备常用制剂设备使用和维护能力,具备药品生产质量管理规范相关知识,具备较强的动手操作、分析问题和解决问题的能力,具备高度的责任心和科学严谨的工作态度
质量监督	从事药品生产过程质量监控和管理等工作	了解生产车间现场的清场工序,掌握药品生产安全知识,了解生产管理文件内容,能对车间药品生产全过程进行质量监控,掌握半成品的重量差异等项目检验和药品各个工序外观检查步骤,具备评价审核药品质量的能力,具备发放、整理和审核药品生产记录能力
质量检验	从事药品检验前工作以及抽样、检验操作和检验结束后管理工作	掌握常用药物的结构特点、化学性质和分析方法,掌握试剂、试液、对照品、检验设备、容器工具的调试等准备流程,具备制定物料、产品质量和检验标准操作流程的能力,熟悉检验记录书写和出具检验报告书,具备检验结束后对检验仪器、用具清洁和维护能力
仓储、物流管理	从事药品采购、运输、入库验收、储存、养护、出库等管理工作	掌握药品供销配运知识,掌握药品性质,对药品进行分库、分区、分类放置,具备药品入库验收、贮存、养护、安全管理能力,具备正确规范填写药品购销记录能力
药品应用与服务	从事药品调剂和用药咨询与指导等工作	掌握药事管理法律法规知识,熟悉常见疾病的典型症状、病因、治疗原则和常用药物种类,掌握临床常用药物的药理作用、临床应用、用法用量、不良反应、药物间相互作用,具备处方接收、审查、调配、复核和发药能力,具备指导用药、解答用药疑难问题能力
药品营销	从事药品销售、营销服务、定价谈判、药品促销、营业推广等工作	具备预测药品销售形式、确定销售方向和方式能力,掌握常用药物的药理作用、临床应用、不良反应等知识,了解促销工具的选择和营业推广方法,具有能根据不同药品的特性分析市场和消费者心理,选择合适策略成功营销的能力

设备、药事管理与法规;专业课程可开设:生药学、天然药物化学、药物辅料与包装材料、临床医学概要、药品安全生产管理、中药制药生产技术、药学服务实务等。

参考文献:

[1]马彦,徐刚.校企合作开发的药品生产技术课程改革与实践[J].广东职业技术教育,2017(1):78-80.

[2]陶娟.浅谈高职院校开展药品生产技术专业的理由[J].现代职业教育,2016(9):168.▲

以职业能力为导向的高职药品生产技术专业 “药物制剂设备”课程标准制定研究

申 茹 梁 可 彭碧芬 徐英辉*
(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000)

【摘 要】 “药物制剂设备”课程作为高职药品生产技术专业的重要核心课程之一, 主要培养学生的制药技能, 让学生系统学习制药设备的操作和维护, 是一门综合性较强的技术学科。本研究结合惠州卫生职业技术学院药品生产专业人才培养方案及专业特色, 以“药物制剂设备”课程为例, 从课程定位、课程设计理念 and 思路、课程衔接、课程目标、教学实施、考核与评价等方面探讨基于职业能力培养的高职课程标准制定策略。

【关键词】 药物制剂设备 课程标准 职业能力

DOI:10.19494/j.cnki.issn1674-859x.2022.06.007

教育部《关于深化职业教育教学改革全面提高人才培养质量的若干意见》(教职成〔2015〕6号)明确指出:完善教学标准体系,积极开发与国际先进标准对接的专业教学标准和课程标准^[1]。课程标准是一门课程教学组织实施的指导性文件,包括课程定位、课程目标、教学内容、考核方式等,在高职专业课程中有着举足轻重的地位^[2]。惠州卫生职业技术学院药品生产专业于2017年开办,现作为该校药学专业群两翼之一,发挥着不可替代的作用。该专业精准对接药品生产企业,培养药品生产操作、质量管理、质量检验岗位技能型人才。本研究以药品生产专业为例,将职业能力培养贯穿专业课程体系,制定“药物制剂设备”课程标准,进一步推动高职职业教育健康、协调发展,系统培养适应新时期经济社会发展需要的药品生产技能型人才^[3]。

1 课程定位

“药物制剂设备”是高职药学、药物制剂技术、药品生产专业的一门重要的专业课

程。课程的主要内容是以药物制剂生产过程中各岗位所需要的知识和技能为依据,以生产流程为主线,介绍常见的固体制剂、半固体制剂、液体制剂、无菌制剂和传统中药制剂等生产过程中制剂设备的结构、工作原理、设备操作和维护规程^[4]。通过该课程的学习,学生可以掌握药物制剂设备的基本理论、基本知识和实操技能,为进入药品生产一线奠定良好的基础。

2 课程设计理念 and 思路

根据药品生产专业人才培养方案,依据《中华人民共和国职业分类大典》中药物制剂工职业群的要求,结合企业岗位需求,遵循“知识、技能、素质并行”的原则,以就业为导向,以能力为本位,以职业实践为主线,以项目化教学为主体,引入新知识、新方法和新技术,对教学内容进行整合和提升。将真实工作任务引入项目化教学,根据《药品生产质量管理规范》(GMP)的要求进行授课,根据技能大赛评分标准、药物制剂生产“1+X”职业等级证书考核标准进行考核评价^[5],重构了模块化内容、项目式实施、任务式驱动的“岗课赛证融通”课程体系,采用“探、学、践、拓”多步联动能力训练模式,采取理实一体化、线上线下混合式教学的方式,使学生“做中学、学中做、做中悟”,培养学生在制剂生产过程中设备操作的实践技能,并

基金项目:1. 惠州市2019—2020年度职业院校教育科学研究课题(项目编号:2020hzzjkt08);2. 广东省职业技术教育学会第四届理事会科研规划项目2021—2022年度课题(项目编号:202103G171);3. 2018年广东省高等职业教育品牌专业建设项目(项目编号:100)。

建立起工作任务与岗位技能、相关理论及职业知识的联系,在强化培养、训练学生职业岗位技能的同时,注重培养学生在复杂工作过程中对出现的问题能做出判断并采取正确行动的综合职业能力,注重培养学生在职业情境中“药德为先、药规为本、药技为重”的职业素养。

3 课程衔接

“药物制剂设备”是药品生产技术专业的主干核心课程,前期课程有“有机化学”“仪器分析”“生物化学”“天然药物化学”“药物制剂技术”“病原生物与免疫学基础”等。

开设本课程需要以下知识或技能,故对选修课程的建议及要求如下。

(1) 常见制剂的生产工艺流程。建议“药物制剂技术”课程要求学生掌握每个常见剂型的制备工艺流程。

(2) 设备操作以及标准操作程序(SOP)。建议“仪器分析”课程和“有机化学”课程要求学生熟练掌握称量、配液等实验操作技能,具备动手操作能力。

(3) 中药提取、浓缩等中药前处理内容。建议“天然药物化学”课程要求学生掌握中药有效成分的提取、浓缩、分离和纯化方法等内容。

(4) 灭菌方法和培养基操作。建议“病原生物与免疫学基础”课程和“生物化学”课程要求学生掌握培养基配制和超净工作台的使用、灭菌等内容。

4 课程目标

4.1 知识目标

(1) 掌握常见药物制剂设备的主要结构和工作原理。

(2) 熟悉常见药物制剂设备的工艺流程、工序质量控制点和方法。

(3) 了解制药设备分类、制药设备确认与验证。

4.2 技能目标

(1) 能按照药物制剂生产中常见设备标准化流程进行操作。

(2) 学会药品生产常见药物制剂设备的维护和保养。

(3) 学会识别药品生产中常见的设备故障,

分析故障原因并找到解决方法。

(4) 能认真观察、记录实验现象,会分析实训结果,并写出实训报告。

4.3 素质目标

(1) 具有专业应有的良好的职业道德、科学的工作态度。

(2) 培养较强的团结协作能力和勇于奉献的精神。

(3) 培养科学的思维能力和严谨的工作作风。

(4) 培养安全意识、质量意识和环保意识。

5 教学实施

5.1 教学内容安排

按照高职药品生产技术专业课程目标和工作任务要求,结合学生的认知特点和“1+X”职业等级证书考核标准确定课程内容,授课中突出知识性、实践性和应用性,技能培养注重体现“以专业人才培养目标为依据,以岗位需求为导向,以增加学生就业创业能力为核心,以职业能力培养为根本”的职业教育理念。本课程开设在第四学期,共54学时,其中理论课28学时、实验课26学时(表1)。

表1 “药物制剂设备” 课程内容安排

课 程 内 容	学 时 数		
	理论	实验	合计
认识制药设备	2	2	4
固体制剂生产设备	10	10	20
液体制剂生产设备	4	4	8
无菌制剂生产设备	6	4	10
传统中药制剂生产设备	4	4	8
半固体制剂生产设备	2	2	4
总计	28	26	54

5.2 教学方法与手段

本课程围绕高技能人才培养要求,进行“课岗对接,课证融合,课赛融通”的一体化教学设计。针对主线任务,采用“探、学、践、拓”多步联动能力训练模式,在实施过程中化繁为简、化抽象为具体,以“任务驱动法”为主,辅以项目教学法、直观教学法、案例教学法、四阶段教学法、仿真训练法等,在理实一体化教学环境中

进行教学,实现“做中学、学中做、做中悟”。用最适合学生实际的教学方法,传授给学生最新的、最能满足企业行业需要的知识、能力和素养,培养学生的自学能力、知识拓展能力和创新能力,进而助推学生从“就业导向”迈向“企业需求导向”,达到以学生为中心、培养学生综合素质的教学目的。

5.2.1 任务驱动法

“药物制剂设备”课程的主要内容是各类制剂设备的结构、原理、操作使用、维护保养等。运用任务驱动法,先给学生布置任务,然后学生分成小组,自主选择一台设备,根据制定的评分细则完成任务,最后教师进行点评,调动学生的积极性,提高学生的能动性,培养学生的团结协作能力^[6]。

5.2.2 项目教学法

“药物制剂设备”课程以药物制剂岗位操作技能标准为教学目标,项目教学法通过引导学生行为使学生完成既定的学习任务,让学生参与具体项目的设计和 implement,激发学生的学习兴趣,充分体现以学生为中心的原则。使学生在探寻项目实施过程中遇到具体问题时^[7,8],能够分析并学会解决问题,不断提升学生的实践能力和综合素质。

5.2.3 直观教学法

“药物制剂设备”课程涉及制剂设备的组成、结构、工作原理和不同机型的制备工艺等内容,传统教学方法耗费时间较多,学生理解较难。采用实物直观等手段将学生生疏、难以理解的知识点表现出来,可以吸引学生的注意力,激发学生的学习兴趣^[9]。此外,还可以带学生参观固体制剂车间的小试、中试等生产设备,或者在课堂上利用Flash动画或教学视频,促进课堂教学效率提高。

5.2.4 案例教学法

教师根据教学内容的不同要求,采用案例展示的方式组织学生学习和讨论,进而培养学生的学习能力。注重理论与实践相结合,通过引入药品生产和科研实例,激发学生的学习兴趣,使学生由被动变为主动,有助于提升学生的理解能力和记忆水平^[10]。

5.2.5 四阶段教学法

四阶段教学法教学过程主要由“准备、示

范、模仿、归纳”4个阶段组成^[11],“药物制剂设备”课程注重学生综合素质和实践能力的培养。设置各剂型设备的问题场景,先由教师示范操作程序,再让学生按步骤重复教师的操作,教师在旁观察、点评,最后布置练习让学生独立完成。

5.2.6 仿真训练法

“药物制剂设备”是一门实践性非常强的课程,考虑到学校的实验设备大多数为小型设备,无法做到与企业零对接,故采用GMP仿真实训教学,通过计算机模拟典型药物制剂生产过程进行教学^[12],引导学生查找相关资料,主动进行模拟操作,学生可以直接观察剂型的实际生产过程和设备结构,有助于提高其学习的积极性。

5.3 教学资源开发与利用

5.3.1 教材编写与使用

优先选用国家高职高专药品生产技术专业精品课程教材、教育部高职高专相关医学类专业教学指导委员会推荐教材。同时,联合企业遵循“药物制剂设备”课程性质与任务共同编写《药物制剂设备学习指导》《药物制剂设备实训讲义》等校本教材,突出“三基”(基本理论、基本知识、基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性、适用性)原则,既有利于教,也有利于学^[13]。

5.3.2 数字化资源开发与利用

注重课程资源和现代化教学资源开发与利用,优化教学手段,激发学生学习兴趣,促进学生对知识的理解和掌握。不断完善教学课件,增强教学指导的针对性和可操作性。充分利用超星学习通、智慧树等信息化学习平台的任务发布、问卷调查、资源下载、作品提交、在线考评等功能;利用虚拟仿真教学平台完成各剂型的线上模拟操作,使用平台配套的教学资源进行教学;结合符合《药品生产质量管理规范》的药品生产车间等线下实训场所进行学习和训练;充分开发联合培养企业工作现场的视频资料用于教学。

6 考核与评价

课程考核包括过程性考核(占40%)和终结性考核(占60%)。立足课程的性质和特点,以药物制剂职业岗位技能要求为依据,在教学实施过程中建立教师、学生、企业专家多主体参与的人

人才培养质量评价体系,采取全过程、立体化、多元化的评价方式,不仅要求学生理解知识、掌握技能,还注重培养学生运用知识解决实际问题的能力。

过程性考核包括课前预习考核(占10%)、课中学习考核(占60%)、课后拓展考核(占10%)和项目考核(占20%)。课前预习考核包括学生任务点的完成情况、课前测试结果;课中学习考核包括学生的出勤情况、随堂练习、课堂参与度等;课后拓展考核包括实验报告、微视频录制、参与话题等作业完成情况;项目考核主要包括项目测试结果。各环节根据需要分别引入学生评价、生生互评、教师评价、企业专家评价。

终结性考核包括理论考核成绩(占50%)和技能考核成绩(占50%)。技能考核主要以教师评价、企业专家评价为主,考查学生的动手能力和在实践操作过程中分析问题、解决问题的能力。

7 结语

“药物制剂设备”作为高职药品生产技术的核心课程,以培养“药德为先、药规为本、药技为重”的高素质人才为目标,在教学过程中遵循“重技强能,乐学致用”的教学理念。以任务为驱动,培养学生科学化、规范化、系统化完成各剂型设备使用流程等任务,熟练掌握相应的操作技能及安全生产知识。同时,将课程思政教育浸润教学全过程,同步培养学生的知识、能力、素质,培养学生的药物制剂职业能力和职业素养,为学生走上工作岗位打下坚实的基础。教师要针对药物制剂生产设备的发展和需求,逐步调整课程标准,优化教学内容,提升教学效果。

参 考 文 献

- [1] 席东梅. 筑牢职业教育发展之根基: 专家解读《关于深化职业教育教学改革全面提高人才培养质量的若干意见》[J]. 中国职业技术教育, 2015(28): 26-31.
- [2] 胡辰. 以职业能力为导向的课程标准制定研究: 以“电动汽车结构与维修”课程为例[J]. 职业技术教育, 2020, 19(5): 55-59.
- [3] 徐英辉, 申茹, 祁银德. 基于职业能力的高职药学专业课程标准的探究[J]. 卫生职业教育, 2021, 39(11): 38-40.
- [4] 杨宗发, 庞心宇, 蒋猛. 常用制药设备使用与维护[M]. 北京: 高等教育出版社, 2021.
- [5] 陈晓琴. 高职课程标准与职业岗位技能标准对接探究[J]. 职教论坛, 2011(14): 16-18.
- [6] 庞心宇. 多种教学方法在高职“药物制剂设备”教学中的综合应用[J]. 高教学刊, 2017(2): 79-81.
- [7] 孔明霞. 基于项目化教学的药物制剂技术课程教学实践[J]. 黑龙江科学, 2021, 12(17): 118-119.
- [8] 尚平. 项目教学法在《药物制剂与设备》课程中的应用[J]. 科技风, 2018(10): 17.
- [9] 宋新焕, 张晓军. 技工院校药物制剂设备课程教学方法初探[J]. 职业, 2019(36): 58-59.
- [10] 布秀娟, 刘畅. “药物制剂设备”课程的教学探索[J]. 现代职业教育, 2018(1): 106.
- [11] 王小娟. 四阶段教学法在汽车类专业课程中的创新应用: 以“汽车发动机构造与维修”课程为例[J]. 汽车维修与修理, 2017(16): 53-55.
- [12] 方伟光, 许阳, 胡文林. 虚拟仿真平台辅助的药物制剂实训课程教学模式构建与探讨[J]. 安徽化工, 2020, 46(1): 128-131.
- [13] 孙绍华. 高职教材管理改革的探索[J]. 辽宁税务高等专科学校学报, 2006(1): 73-74.

*通讯作者: 徐英辉 电子邮箱: 21806850@qq.com

CN 37-1493/R ISSN 2095-5375 CODEN YYAACS

药 学 研 究

YAO

XUE

YAN

JIU

第37卷 第9期 2018.9

美国《化学文摘》收录期刊
中文科技期刊数据库收录期刊
中国期刊全文数据库收录期刊
中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

JOURNAL OF
PHARMACEUTICAL
RESEARCH



ISSN 2095-5375



主办: 山东省食品药品检验研究院 山东省药学会

2018年9月 第37卷 第9期
月刊

1982年7月创刊

学术顾问: 陈凯先 管华诗 丁健

编委会主任: 史国生

编委会副主任: (按姓氏笔画排序)

丁丽霞 王凤山 田景振 杜冠华 李波

李燕 张海英 郑家晴 姜祥 顾宁

主 编: 李 军

主管单位: 山东省食品药品监督管理局

主办单位: 山东省食品药品检验研究院

山东省药学会

承办单位: 山东省药学会

合办单位: 山东大学药学院

协办单位: 青岛黄海制药有限公司

山东齐都药业有限公司

齐鲁制药有限公司

辰欣药业股份有限公司

编辑出版: 《药学研究》编辑部

印 刷: 山东星海彩印有限公司

发 行: 济南市邮政局

广告发布登记号: 鲁广登字3700005028号

中国标准刊号: ISSN2095-5375

CN37-1493/R

定 价: 每册10.00元

全年120.00元

编辑部地址: 山东省济南市历下区经十路9999号

黄金时代广场G座1909室

邮政编码: 250101

电 话: 0531-81216586

传 真: 0531-81216586

电子邮箱: yaoxueyanjiu@163.com

yaoxueyanjiu@sina.com

网 址: <http://www.yaoxueyanjiu.org.cn>



药 学 研 究

JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH

Academic Advisor: CHEN Kaixian GUAN Huashi DING Jian

Director of Editorial Board: SHI Guosheng

Associate Director of Editorial Board:

DING Lixia WANG Fengshan TIAN Jingzhen DU Guanhua LI Bo

LI Yan ZHANG Haiying ZHENG Jiaqing LOU Hongxiang GU Ning

Editor in Chief: LI Jun

Directed by: Shandong Food and Drug Administration

Sponsored by: Shandong Institute for Food and Drug Control

Shandong Pharmaceutical Association

Organized by: Shandong Pharmacists Association

Cooperated by:

School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University

Co-Sponsored by:

Qingdao Huanghai Pharmaceutical Limited Company

Shandong Qidu Pharmaceutical Limited Company

Qilu Pharmaceutical Limited Company

Cisen Pharmaceutical Limited Company

Edited and Published by:

Editorial Board of Journal of Pharmaceutical Research

Printed by: Shandong Xinghai Colour Printing Co., Ltd.

Issued by: Jinan Post Office

Advertisement Permission:

Advertising Publication Registration No. 3700005028 of Shandong Province

Periodical Registration: ISSN2095-5375

CN37-1493/R

Price: 10.00RMB for a book

120RMB for a year

Address of Editorial Board:

Room 1909, Block G, Golden Times Square, No. 9999 Jingshi Road, Lixia District, Jinan, P.R. China

Postcode: 250101

Tel: (0531) 81216586

Fax: (0531) 81216586

E-mail: yaoxueyanjiu@163.com

yaoxueyanjiu@sina.com

Web: <http://www.yaoxueyanjiu.org.cn>

《药学研究》第十一届编辑委员会

学术顾问:陈凯先 管华诗 丁 健
编委会主任:史国生
编委会副主任:(按姓氏笔画排序)
丁丽霞 王凤山 田景振 杜冠华 李 波
李 燕 张海英 郑家晴 姜红祥 顾 宁

主 编:李 军
编 委:(按姓氏笔画排序)
丁 克 丁丽霞 于 沛 于荣敏 马 杰
马 国 王凤山 王永军 王成梅 王建新
王荣梅 王淑敏 王 鹏 王 磊 尤启冬
方莲花 尹 正 尹莉芳 邓仕任 石任兵
龙亚秋 卢 燕 卢 懿 田海妍 田景振
皮荣标 朱 平 朱冬青 乔善义 华子春
刘玉璇 刘继华 刘培庆 刘焕香 刘景根
刘新泳 齐宪荣 安 良 安林坤 安 琳
许风国 许 婧 孙国祥 孙洪胜 严春艳
杜冠华 李 华 李孝栋 李芸霞 李宏建
李明玉 李 波 李 燕 杨永华 杨 柯
杨 勇 肖衍宇 吴亚林 吴 伟 吴艳芬
邱 峰 何祥久 何琪杨 何蓉蓉 余 蓉
沈 雁 张东明 张冬梅 张兰英 张庆英
张志荣 张 杰 张岫美 张建军 张相林
张 莉 张晓琦 张海英 张培成 张 鉴
张 翱 陈士林 陈卫民 陈艳芬 邵荣光
邵 蓉 范 源 罗海彬 岳建民 金少鸿
金 晶 周建平 郑忠辉 郑 彧 郑家晴
孟宪生 赵龙山 赵桂森 赵瀚年 胡立宏
胡昌勤 胡金锋 柳 红 姜红祥 姚庆强
姚美村 夏 星 顾 宁 徐 伟 徐志南
徐 峻 凌沛学 高分飞 高 昊 郭远强
郭瑞臣 郭 颖 黄鸣清 黄容琴 盛 亮
梁 鸿 寇俊萍 屠鹏飞 董俊兴 景 明
程 刚 傅俊杰 鲁 桂 曾 苏 游雪甫
蓝文健 窦明金 窦桂芳

JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH

目 次

· 实验研究 ·	
西归含药血清对脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 炎症因子的影响研究	田佳丽,郭美仙,刘光明,沈磊,刘晓波(497)
加減辛荑散鼻炎喷剂的制备及药效学研究	宋鑫彤,宋欢洁,曲俊儒,李佳甜,孙景赫,邓仕任,夏林波(500)
凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究	冯白茹,莫颖华,王景芬,陈慧丽,孙悦(503)
HPLC 法测定还原型谷胱甘肽原料药有关物质	林形慧,陈娟,王东武,孙丽宁,刘茜(506)
辛芩片和不同规格辛芩颗粒中马兜铃酸 A 检查方法的统一	刘青芝,王立国,张艳(511)
硝苯地平缓释片(Ⅱ)近红外快速检验模型的建立与验证	安睿,丁大中(513)
· 制剂研究 ·	
卡托普利脉冲片的制备及处方优化	李鑫,张琦,赵莹莹,邓蕾,汤若瑞(516)
涩肠胶囊的制备工艺研究	刘群,任启明,连传宝(520)
· 综 述 ·	
药物载体用于递送肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体的研究进展	周安维,鞠曹云,张灿(523)
丹参、三七中 6 种活性成分的药动学研究进展	贾田芊,李兴欢,任丽,孙静(528)
两性壳聚糖衍生物在药物递送中的研究进展	田春莉,鞠曹云,张灿(535)
中药制剂含量均匀度研究	严倩茹,邹伟魁(540)
· 临床药学 ·	
85 例高血压住院患者对不同品牌降压药物内涵响应调查及影响因素分析	张成豪(542)
· 药学教育 ·	
留学生《药物化学》教学模式的探索与实践	廖明星,郭小可,江程(546)
· 药事管理 ·	
EMA 关于固定复方药物临床开发指导原则介绍	周蓉,任曼茹,宫新江(548)
山东省药品生产技术转让过程中的常见问题分析	谢纪珍,周冲,尹宁宁,刘军田,姜晓飞(552)
· 药品不良反应 ·	
儿童静滴维生素 K ₁ 注射液引起的 17 例药物不良反应分析	王晓燕(555)

凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究

冯白茹^{1,2}, 莫颖华², 王景芬², 陈慧丽², 孙悦¹

(1. 广东药科大学, 广东 广州 510006; 2. 惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516000)

摘要:目的 研究从凉粉草中提取熊果酸和齐墩果酸的工艺。方法 以高效液相色谱法测定熊果酸和齐墩果酸的含量,以两者含量之和为指标,通过对提取方法和提取温度进行单因素考察以及 $L_9(3^4)$ 正交法对提取条件进行优选。结果 凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的最佳提取工艺采用回流提取法、温度80℃、95%乙醇、液料比14:1、提取1次、每次1.5 h。结论 该工艺操作简单、易行,可提取得到含量较高的熊果酸和齐墩果酸。

关键词:凉粉草;熊果酸;齐墩果酸;提取工艺

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**2095-5375(2018)09-0503-004

doi:10.13506/j.cnki.jpr.2018.09.003

Study on the extraction of ursolic acid and oleanic acid from *Mesona chinensis* Benth.

FENG Bairu^{1,2}, MO Yinghua², WANG Jingfen², CHEN Huili², SUN Yue¹

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China)

Abstract:Objective To study the extraction of ursolic acid and oleanolic acid from *Mesona chinensis* Benth.. **Methods** The assay of ursolic acid and oleanolic acid was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Using the total assay of ursolic acid and oleanolic acid as the reference, the single factor (i.e., extraction methods and extraction temperature) experiment and $L_9(3^4)$ orthogonal test were carried out to optimize the extraction conditions. **Results** The optimized extraction conditions of ursolic acid and oleanolic acid from *Mesona chinensis* Benth. were as follows: reflux extraction, 95% ethanol, liquid/loquat leave ratio 14:1, extracting one time with 1.5 h for each time at 80 °C. **Conclusion** The facile optimized extraction conditions can be used to obtain high assay of ursolic acid and oleanolic acid from *Mesona chinensis* Benth..

Key words: *Mesona chinensis* Benth.; Ursolic acid; Oleanic acid; Extraction

凉粉草别名仙人草、仙人冻、仙草,为唇形科植物凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)的全草,资源丰富分布广,两广地区、浙江、江西、福建、海南、云南和台湾等地均有产^[1-2]。凉粉草其性寒,味涩、甘,具清暑解渴、凉血之功效,其活性成分有多糖、花青素、氨基酸及三萜类成分,其中三萜类中的熊果酸和齐墩果酸具有抗炎、抗菌、抗变态反应、抗肿瘤、抗病毒等生物活性,具有广阔的临床应用前景;作为龟苓膏、王老吉等多种饮料和保健食品的主要原料植物,凉粉草还是一种重要的药食两用的植物资源,其商用市场前景广阔^[3-8]。

本文建立反相高效液相色谱法测定凉粉草中熊果酸和齐墩果酸的含量,主要对凉粉草中的熊果酸和齐墩果酸进行提取,优化其提取工艺。为后期的凉粉草药材质量标准研究提供理论依据。

1 材料

1.1 试剂 凉粉草药材购自多个不同产地,经惠州卫生职业技术学院祁银德教授鉴定为唇形科凉粉草属植物凉粉草(*Mesona chinensis* Benth.)。

熊果酸对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司,批号: BWB50564 170313,含量≥98%);齐墩果酸对照品(北京世纪奥科生物技术有限公司,批号:

基金项目:2018年度广东大学生科技创新培育专项资金项目(No. pdjhb089)

作者简介:冯白茹,女,主管药师,研究方向:实验室药物检测, E-mail: 225619244@qq.com

通信作者:孙悦,女,博士研究生,教授,研究方向:中药分析, Tel: 020-39352179, E-mail: 17940176@qq.com

BWB50565 170314, 含量 $\geq 98\%$)。甲醇(色谱纯,天津市四友精细化学品有限公司,批号:170319);无水乙醇(分析纯,天津市大茂化学试剂厂,批号:20170401);乙腈(色谱纯,汕头市西陇科学股份有限公司,批号:171202-1);乙酸铵(分析纯,汕头市西陇化工股份有限公司,批号:140901-1)等。

1.2 仪器 安捷伦 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);Thermo ODS-2 色谱柱(美国赛默飞科技公司);BSA124S 电子天平(德国 Sartorius 公司);恒温水浴锅(江苏金坛市环宇科学仪器厂);PS-40A 超声波清洗机(深圳市科洁超声科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Thermo ODS-2 Hypersil (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇:乙腈:0.5%乙酸铵^[9-10] = 73:12:15, 检测波长 210 nm, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 流速 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 进样量 10 μ L。

2.2 标准曲线的制备

2.2.1 齐墩果酸标准曲线的制备 精密称取齐墩果酸对照品 11.60 mg 置于 10 mL 容量瓶中,用适量 95%乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得 1 160 μ g $\cdot$ mL⁻¹的齐墩果酸对照品储备溶液。再依次稀释至 35.53、71.05、142.10、284.20、568.40 μ g $\cdot$ mL⁻¹的齐墩果酸对照品使用液。分别精密吸取上述使用液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪进行定量分析,以齐墩果酸浓度作为横坐标,其色谱峰面积作为纵坐标,绘制标准曲线。高效液相色谱(HPLC)分析结果显示齐墩果酸对照品溶液在浓度为 35.53~568.40 μ g $\cdot$ mL⁻¹时,线性良好,其回归方程为 $Y = 5.055X + 44.976$, $R^2 = 0.9993$,其中 Y 为峰面积, X 为浓度。

2.2.2 熊果酸标准曲线的制备 精密称取熊果酸对照品 30.80 mg 置于 10 mL 容量瓶中,用适量 95%乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得 3 080.00 μ g $\cdot$ mL⁻¹的熊果酸对照品储备溶液。再依次稀释至 96.25、192.50、385.00、770.00、1 540.00 μ g $\cdot$ mL⁻¹的熊果酸对照品使用液。分别准确吸取熊果酸对照品使用液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪进行定量分析,以熊果酸浓度作为横坐标,其色谱峰面积作为纵坐标,绘制标准曲线。HPLC 分析结果显示熊果酸对照品溶液在浓度为 96.25~1 540.00 μ g $\cdot$ mL⁻¹时,线性良好,其回归方程为 $Y = 4.4279X + 34.292$, $R^2 = 0.9991$ 。

2.3 样品的含量测定 选购 10 批不同产地的凉粉草,对其进行含量测定。

2.3.1 样品处理 凉粉草粉碎,过 24 目筛,得粗粉。

取粗粉 5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 50 mL 95%乙醇,塞上玻璃塞,超声提取 30 min。放冷至室温,以 0.45 μ m 滤膜滤过,取滤液进行液相分析。

2.3.2 含量测定结果 结果见表 1。

表 1 含量测定结果

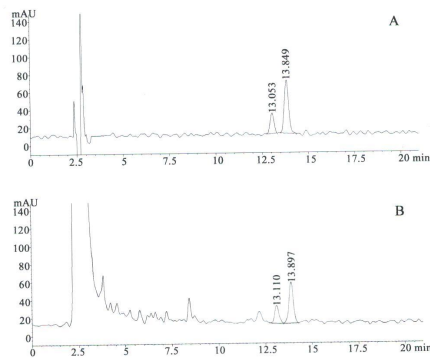
编号	产地	熊果酸含量/%	齐墩果酸含量/%	两酸之和/%
1	广州增城	0.190 4	0.060 7	0.251 1
2	广东普宁	0.173 5	0.060 3	0.233 8
3	福建南平	0.241 5	0.071 4	0.312 9
4	广东韶关	0.186 7	0.061 2	0.247 9
5	广西玉林	0.139 5	0.030 3	0.169 8
6	广东中山黄圃	0.176 5	0.045 0	0.221 5
7	广东梅州	0.212 3	0.061 8	0.274 1
8	广东惠东	0.217 2	0.075 7	0.292 9
9	江西赣州	0.120 0	0.036 4	0.156 4
10	广东汕尾	0.143 8	0.045 4	0.189 2

不同产地的凉粉草中的熊果酸和齐墩果酸的含量均不一致,为了取样的便利性,以下工艺提取研究选取含量较高的出自广东惠东的凉粉草作为样品。

2.4 提取工艺研究

2.4.1 单因素试验 ①提取方法的筛选:从凉粉草中提取熊果酸和齐墩果酸的方法主要有煎煮法、冷浸法、回流提取法、超声辅助提取法等^[11]。取凉粉草粗粉各 5 g,煎煮法以 10 倍量的纯化水为提取溶剂,冷浸法、回流提取法、超声辅助提取法均以 10 倍量的 95%乙醇为提取溶剂分别进行提取,以熊果酸和齐墩果酸的含量之和为考察指标,对提取方法进行筛选。结果显示,在 4 种提取方法中,回流提取法提取效果最佳,故选用回流提取法对凉粉草进行有效成分的提取^[11]。

凉粉草提取液的高效液相色谱图见图 1。



A. 对照品; B. 凉粉草提取液

图 1 高效液相色谱图

表2 优选提取方法的试验结果

方法	提取条件	含量/%		
		熊果酸	齐墩果酸	熊果酸+齐墩果酸
煎煮法	100℃, 1 h, 1 次	0	0	0
回流提取法	80℃, 1 h, 1 次	0.215 0	0.067 6	0.282 6
超声辅助提取法	0.5 h, 1 次	0.186 2	0.055 7	0.241 9
冷浸法	24 h	0.109 1	0.021 6	0.130 7

②提取温度的确定:取凉粉草粗粉 5 g, 95%乙醇为提取溶剂, 液料比(V:m)为 14:1, 回流提取时间为 1 h, 提取次数 1 次, 分别以提取温度为 60、70、80、90℃进行试验, 考察提取温度对凉粉草中熊果酸和齐墩果酸提取效果的影响, 结果如表 3 所示。结果表明, 温度为 80℃时的提取效果最好, 故确定选用回流提取温度为 80℃进行有效成分的提取。

表3 温度对提取效果的影响

温度/℃	含量/%		
	熊果酸	齐墩果酸	熊果酸+齐墩果酸
60	0.134 3	0.041 3	0.175 6
70	0.187 3	0.048 2	0.235 5
80	0.206 3	0.064 3	0.270 6
90	0.179 1	0.055 7	0.234 8

2.4.2 正交试验 正交试验设计^[11];在上述单因素试验基础上, 最终确定提取法为回流提取法, 提取温度为 80℃。以液料比(A)、提取时间(B)、提取次数(C)和提取溶剂乙醇浓度(D)4 因素 3 水平, 采用 L₉(3⁴)正交表进行正交试验设计, 正交试验的因素水平取值见表 4。以熊果酸和齐墩果酸的含量之和为考察指标, 优化提取工艺。

表4 正交试验设计表

编号	A/V:m	B/h	C/次	D/%
1	10:1	1	1	65
2	12:1	1.5	2	80
3	14:1	2	3	95

用正交法优化提取工艺, 结果如表 5 所示。对结果进行方差分析, 发现无显著性差异, 各因素的影响作用大小依次为 C>D>B>A, 即提取次数的影响最大, 提取溶剂浓度次之, 提取时间再次之, 液料比影响最小。优选提取条件最终应为 A₃B₂C₁D₃, 即液料比(V:m)为 14:1, 提取时间为 1.5 h, 提取次数为 1 次, 提取溶剂乙醇浓度为 95%。

2.4.3 方法学验证试验

2.4.3.1 精密度试验 取同一个供试品溶液连续进样 6 次, 进行分析, 结果表明相应峰的相对保留时间的 RSD 均小于 3%, 峰面峰的 RSD 均小于 5%, 说明仪器稳定性好, 精密度高。

表5 正交试验结果与分析

编号	因素				含量/%		
	A	B	C	D	熊果酸	齐墩果酸	熊果酸+齐墩果酸
1	1	1	1	1	0.213 4	0.038 0	0.251 4
2	1	2	2	2	0.140 2	0.024 0	0.164 3
3	1	3	3	3	0.115 0	0.021 6	0.136 6
4	2	1	2	3	0.139 3	0.030 7	0.169 9
5	2	2	3	1	0.097 9	0.022 2	0.120 1
6	2	3	1	2	0.216 5	0.044 4	0.260 9
7	3	1	3	2	0.094 6	0.012 2	0.106 8
8	3	2	1	3	0.263 7	0.048 6	0.312 3
9	3	3	2	1	0.162 2	0.024 4	0.186 6
K ₁	0.184	0.176	0.275	0.186			
K ₂	0.184	0.199	0.174	0.177			
K ₃	0.202	0.195	0.121	0.206			
R	0.018	0.023	0.154	0.029			

2.4.3.2 稳定性试验 取同一个供试品溶液, 于 0、2、4、8、16、24、48 h 进样分析, 结果表明相应峰的相对保留时间的 RSD 均小于 3%, 峰面峰的 RSD 均小于 5%, 说明供试品溶液在 48 h 内保持稳定。

2.4.3.3 重复性试验 对上述优化提取方法进行重复性验证试验, 取同一批凉粉草粗粉 5 g, 加入浓度为 95%的乙醇, 液料比(V:m)为 14:1 即 70 mL, 回流提取 1.5 h, 提取 1 次, 结果见表 6。结果表明, 6 份样品所测得两酸之和平均值为 0.282 3%, RSD 为 4.86%, 说明提取工艺稳定可行。

表6 验证试验结果

序号	称样/g	熊果酸/%	齐墩果酸/%	熊果酸+齐墩果酸/%	均值/%	RSD/%
1	5.047 1	0.198 8	0.075 1	0.273 9		
2	5.030 2	0.202 1	0.063 7	0.265 8		
3	5.081 1	0.226 8	0.077 7	0.304 5	0.282 3	4.86
4	5.050 0	0.213 9	0.062 5	0.276 4		
5	5.057 3	0.231 9	0.058 5	0.290 4		
6	5.056 1	0.215 7	0.067 1	0.282 8		

2.4.3.4 加标回收率试验 对上述优化提取方法进行加标回收验证试验, 取凉粉草粗粉 2.5 g, 分别加入高中低浓度的齐墩果酸和熊果酸对照品, 再加入液料比(V:m)为 14:1 的 95%乙醇, 回流提取 1.5 h, 提取 1 次, 结果如表 7。结果表明, 9 次试验的平均回收率为 97.79%, RSD 为 2.50%, 说明提取工艺合理可行。

3 讨论

3.1 《中国药典》2015 年版尚未对凉粉草药材进行收载, 本文对凉粉草提取工艺进行含量测定研究, 为更好地控制凉粉草的质量提供了理论依据。

3.2 熊果酸溶于丁醇和丁酮, 微溶于苯、氯仿和乙醚^[11]; 齐墩果酸可溶于苯、乙醚、丙酮和氯仿; 熊果酸和齐墩果酸两者都是不溶于水或几 (下转第 510 页)

选定柱温为 30 ℃。随着流速的增加,各成分出峰时间缩短,各色谱峰之间均能满足分离的要求,综合考虑分析时间及杂质分离要求,选定流速为 1.0 mL·min⁻¹。pH 值为 2.1 时,抑制了杂质 C 的电离,杂质 C 与固定相的结合力增强,因此,利用梯度洗脱,增强洗脱强度,加快杂质 C 出峰,缩短分析周期,节约检测成本。

参考文献:

- [1] WANG X, XU W, ZHOU H, et al. Reduced glutathione supplementation in practical diet improves the growth, anti-oxidative capacity, disease resistance and gut morphology of shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2018(73): 152-157.
- [2] DIOTALLEVI M, CHECCONI P, PALAMARA A T, et al. Glutathione Fine-Tunes the Innate Immune Response toward Antiviral Pathways in a Macrophage Cell Line Independently of Its Antioxidant Properties [J]. *Front Immunol*, 2017, 8(1239): 1-14.
- [3] 赵文莉, 胡勤明, 白宇鹏, 等. 还原型谷胱甘肽治疗药物性肝病的临床观察[J]. *现代医药卫生*, 2009, 25

(3): 375-376.

- [4] 张菊明, 王庆华. 还原型谷胱甘肽注射液治疗重症颅脑损伤 76 例疗效观察[J]. *新疆医科大学学报*, 2009, 32(3): 340.
- [5] 陈晓琴, 周力, 杨杰. 谷胱甘肽辅助治疗各种肝病的疗效观察[J]. *贵州医药*, 2003, 27(3): 237.
- [6] 邢海霞. 还原型谷胱甘肽防治紫杉醇顺铂化疗肺癌后肝损害效果观察[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2017, 38(7): 1026-1027.
- [7] 周立春. 仿制药一致性评价中有关物质研究的思考[J]. *药学进展*, 2016, 40(12): 924-927.
- [8] 郭怀忠, 毕开顺, 孙毓庆. 影响毛细管电泳分析结果重现性的因素及其控制[J]. *分析仪器*, 2005(2): 42-45.
- [9] 王春, 严伟民. 注射用还原型谷胱甘肽质量标准分析方法-HPLC 法的建立与验证影响[J]. *中国临床药学杂志*, 2005, 14(3): 167-169.
- [10] 王悦, 郝苏丽, 杨化新, 等. 首批还原型谷胱甘肽杂质国家对照品的研制[J]. *中国药事*, 2010, 24(3): 248-297.
- [11] 张丽荣, 王志刚, 谢清毅. HPLC 法测定注射用还原型谷胱甘肽含量[J]. *齐鲁药事*, 2005, 24(2): 93-94.

(上接第 505 页)

乎不溶于水,因煎煮法用的溶剂是水,故其提取率最小;熊果酸和齐墩果酸两者均溶于甲醇、乙醇,通过对乙醇浓度的筛选,结果表明随着乙醇浓度增大时,熊果酸和齐墩果酸的含量也会随之增大,当乙醇含量较高时,样品图谱峰杂质也相对较少,故确定提取溶剂的乙醇浓度定为 95%。

表 7 加标回收率试验结果

编号	取样品量/g	熊果酸+齐墩果酸			回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
		理论含量/mg	加入量/mg	实测量/mg			
1	2.577 1	6.980	5.360	12.17	96.90		
2	2.586 2	7.005	5.360	11.97	92.56		
3	2.582 3	6.994	5.360	12.18	96.73		
4	2.511 2	6.802	7.398	14.08	98.39		
5	2.582 3	6.994	7.398	14.30	98.82	97.79	2.50
6	2.514 1	6.810	7.398	14.18	99.65		
7	2.504 3	6.783	9.436	16.30	100.90		
8	2.516 4	6.816	9.436	15.94	96.71		
9	2.531 2	6.856	9.436	16.24	99.48		

3.3 熊果酸和齐墩果酸属于三萜类化合物,萜类化合物对光、热、酸、碱均较敏感,长时间接触,常会引起其氧化、重排及聚合反应,导致结构变化,这也可能是提取次数越多而含量反而越低的原因。

参考文献:

- [1] 冯涛, 郁晶晶, 杨晓波. 凉粉草多糖提取及纯化工艺的研究[J]. *食品工业*, 2010(1): 82-85.
- [2] 蔡岳文, 马骥, 刘传明. 《岭南采药录》考证与图谱: 上册[M]. 广州: 广东科技出版社, 2015: 122.
- [3] 冷桂华. RP-HPLC 测定烧仙草不同部位中的齐墩果酸和熊果酸[J]. *光谱实验室*, 2011, 28(4): 2111-2114.
- [4] 黄涛. 凉粉草重要成分的提取及应用[J]. *中外食品工业*, 2014, 12(20): 78-79.
- [5] 蒋璇, 段起, 詹岳霖, 等. 仙草开发与利用的研究进展[J]. *包装与食品机械*, 2014, 32(2): 58-63.
- [6] 陈丰连, 黄锦茶, 梁欣健, 等. HPLC 法测定凉粉草中齐墩果酸和熊果酸含量[J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21(4): 416-418.
- [7] 王海华. 凉粉草成分功效及提取方法的研究进展[J]. *中国药房*, 2014, 25(27): 2584-2587.
- [8] 陈锦鹏, 林晓翠, 王碧玉, 等. 仙草多糖提取工艺研究[J]. *化学工程与装备*, 2009(3): 1-3.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 204.
- [10] 莫颖华, 冯白茹, 刘道军. 枇杷叶中熊果酸和齐墩果酸的提取工艺研究[J]. *汕头大学医学院学报*, 2017(3): 137-138.
- [11] 张明发, 沈雅琴. 熊果酸和齐墩果酸的抗消化系肿瘤作用[J]. *上海医药*, 2011, 32(12): 606-611.

全国石油和化学工业精品期刊40强
第五、六、八届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
国家职称评审认定学术期刊
中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊

入榜RCCSE核心及准核心期刊目录
第三届华东地区优秀期刊
美国化学文摘(CA)收录期刊
“万方数据-数字化期刊群”全文收录期刊
中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)全文收录



ISSN 1008-021X
CN 37-1212/TQ
邮发代号: 24-109
半月刊 创刊于1972年

山东化工

SHANDONG CHEMICAL INDUSTRY

中国企业 500 强

仁
孝
京
博

为客户生产满意商品
为社会培养有益人才



京博控股官微



京博控股官微

产业报国 服务社会

ISSN 1008-021X



9 771008 021229



主管: 山东省教育厅

主办: 青岛科技大学

202220

10月下半月刊
vol.51

山东化工

SHANDONG HUAGONG

半月刊

2022年10月第51卷第20期
(总第438期)1972年创刊

刊号:ISSN 1008-021X

CN 37-1212/TQ

CODEN SHHUA4

鲁广发登字:3700005015号

主管单位:山东省教育厅

主办单位:青岛科技大学

编辑出版:《山东化工》编辑部

地址:济南市文化东路80号

邮编:250014

编辑部(投稿受理):

(0531)86399196 QQ:2036478825

编辑部(编校出版):

(0531)82663156

广告部:(0531)86399780 13011708205

电子信箱:sdhg@sdchem.net(投稿专用)

gjh@sdchem.net(广告专用)

zft@sdchem.net(意见建议)

投诉与建议:(0531)86399990(编辑部主任)

网址: <http://www.sdchem.net.cn>

主编:孟宪兴

常务副主编:张福田

责任编辑:李学军

编辑:孙慧娟 邱廷华 郝兴梅 张鑫

胡玲 李兆凯 韩学岗 郭环春

李海静 王健

广告:谷建华

山东化工网:李军

ISSN 1008-021X
CN 37-1212/TQ
邮发代号:24-109
零售:0.50元/份

山东化工

SHANDONG CHEMICAL INDUSTRY



ISSN 1008-021X

1008-021X

9 771008 021020

2022.20

1008-021X

YOL 51

主管:山东省教育厅 主办:青岛科技大学

本刊为:

- 全国石油和化学工业精品期刊40强
- 第八届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第六届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第五届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第三届华东地区优秀期刊
- 2000、2004山东省优秀期刊
- 美国化学文摘(CA)收录期刊
- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
- “万方数据-数字化期刊群”全文收录期刊
- 全国学术期综合数据库来源期刊
- 中国期刊网全文收录期刊
- 中国学术期刊(光盘版)全文收录期刊
- 国家职称评审认定学术期刊

发行范围:国内外公开发行

国内总发行:济南市邮政局

订阅零售:全国各地邮局(所)或本刊编辑部

邮发代号:24-109

国外发行:中国出版对外贸易公司 DK37002

印刷:山东和平商务有限公司

2022年10月出版 定价:30.00元



马上扫一扫

关注山东化工期刊 了解更多精彩内容

专论与综述

- 木质素及其衍生物用于阻燃改性聚合物的研究进展 霍翔宇, 丁春瑞, 王宇晨, 官晗阳, 马紫瑞, 付振烨, 宋亮 (72)
- 致密油藏 CO₂ 驱沥青质沉积评价方法研究进展 李宁, 曹江锋, 王星宇, 郭峰 (75)
- 氧化铝工业废渣生物淋滤技术的现状与展望 刘子鹏, 王欣茹, 陈园园, 张路路, 罗睿智, 曲洋 (78)
- 草酰胺生产工艺技术研究进展 李玉龙, 谢洪燕, 苏海涛, 刘涛 (80)
- 固体电解池合成氨电解质研究进展 李林哲 (83)
- 医疗废物处置研究进展 白艳萍, 胡晓娇, 李荟南, 王翔, 张静 (87)
- Catellani 反应及其在有机合成中的应用研究进展 李玲华, 陈娇娇, 李世宇 (90)
- 低温钠离子电池研究进展 梅晓贤, 时志强 (93)
- 原料药上市后变更生产场地审评探讨和监管思考 武海军, 刘福龙, 周冲, 董爱梅 (97)
- 典型核壳结构复合材料制备方法的研究进展 王新瑞, 寇明月, 尹海亮, 王焜, 张元浩, 李世琪, 梁燕燕 (100)
- 佛手挥发油的化学组成分析研究进展 周小强 (103)
- 液氢储运容器用低温材料的研究进展 屈莎莎, 谭粤, 李蔚, 夏莉, 徐瑶, 杨刚, 张耕 (106)

分析与测试

- 竹茹配方颗粒 HPLC 特征图谱及含量测定研究 王晓亚, 杜微波, 张志强, 沈建梅 (110)
- 甲醇-碳酸二甲酯-[BzN₁₁₁][NTf₂]等压气液相平衡数据测定及关联 何昆, 宋苗苗, 孙小乐, 林童, 宋廷贺, 张志刚, 张亲亲 (114)
- 原子吸收法测定猪肝中的铬及前处理方法探讨 周韬, 陈光强 (117)
- 土壤中重金属元素检测能力验证结果分析 王婷, 李恒庆, 莫虹, 赵娇娇, 吴旻, 薛林 (120)
- 凉粉草抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分快筛法的初步研究 冯白茹, 莫颖华 (123)
- 动物源性生物材料 DNA 残留量测定法的研究 迟玲玲, 黄亚杰, 房晓燕 (127)
- 乙草胺在水环境中的检测与去除的研究 朱强, 李雨吟, 陶为华 (129)

生产与应用

- 真空泵的初始状态及其附属设备对泵以及分馏塔的影响 贾宁, 梁耀军, 姜小军, 郝海平 (133)
- 本安回路验证在石化装置中的应用 李钦柯 (136)
- 乙苯装置低温余热利用及潜力研究 杨克 (139)

凉粉草抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分快筛法的初步研究

冯白茹,莫颖华

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516025)

摘要:目的:研究从凉粉草中快速发现具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的化合物。方法:利用亲和和超滤技术从凉粉草中快速发现具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性化合物,并利用紫外可见分光光度法测定其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果:凉粉草提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性为0.73%~19.72%,不同产地的凉粉草的提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性各有差异;选用95%乙醇作为提取溶剂时,凉粉草提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性最高。结论:本快筛法操作简单、易行,可快速从凉粉草中筛选出具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的成分。

关键词:凉粉草; α -葡萄糖苷酶;亲和和超滤

中图分类号:TQ460

文献标识码:A

文章编号:1008-021X(2022)20-0123-04

Preliminary Study on Fast Screening Method of α -Glucosidase Active Component from Mesona Chinensis Benth

Feng Bairu, Mo Yinghua

(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516000, China)

Abstract: Objective: To study the rapid discovery of α -glucosidase inhibitory compounds from mesona chinensis benth. Methods: The compounds with α -glucosidase inhibitory activity were rapidly identified by affinity ultrafiltration technology, and the α -glucosidase inhibitory activity was determined by UV-VIS spectrophotometry. Results: The activity of α -glucosidase was 0.73%~19.72%. The activity of α -glucosidase was different in the extracts from different regions. When 95% ethanol was used as the extraction solvent, the α -glucosidase inhibitory activity of the extract was the highest. Conclusion: This fast screening method is simple and feasible, and can be used to screen α -glucosidase inhibitory constituents from mesona chinensis Benth.

Key words: Mesona chinensis benth; α -glucosidase; affinity ultrafiltration

凉粉草,别名仙草,是唇形科植物凉粉草 *Mesona chinensis* Benth.的全草,分布在广东、广西、江西、福建、浙江、云南等地。凉粉草具消暑解渴、凉血之功效,其活性成分多,据文献报道具有抗炎、抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗变态反应等生物活性,具有广阔的临床应用前景,是一种重要的药食两用的植物资源,其商用市场前景广阔^[1-2]。

阿卡波糖是作为治疗 II 型糖尿病的 α -葡萄糖苷酶抑制剂中有代表性药物,在临床上普遍被应用。据相关报道^[3-7],凉粉草具有一定的降血糖作用,本研究试验发现凉粉草乙醇提取物对 α -葡萄糖苷酶有较强的抑制作用,可能是其降血糖的机理之一。

参考文献^[8-12],本文利用亲和和超滤色谱技术从凉粉草中快速筛选出具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性成分,并利用紫外可见分光光度法测定其 α -葡萄糖苷酶抑制活性,结果显示超滤亲和色谱技术方法快速、灵敏、简便,适合从凉粉草中筛选 α -葡萄糖苷酶抑制活性成分,是从凉粉草中发现抗糖药有效成分的一种快筛法,为糖尿病治疗药物的筛选与开发提供了有效的理论和技术支持^[13-16]。

1 材料

1.1 试剂

凉粉草(购自不同产地,经惠州卫生职业技术学院祁银德教授鉴定为唇形科凉粉草属植物)。

甲醇(CR, Honeywell 企业,美国),蒸馏水(屈臣氏有限公司,中国),乙腈(色谱纯,汕头市西陇科学股份有限公司,中国),葡萄糖(来源酵母)(上海麦克林林科技公司,中国),对硝基苯- α -葡萄糖苷(PNPG)(上海麦克林林科技公司,中国),无水碳酸钠(AR, 中国),阿卡波糖(上海麦克林林科技公司,中国),无水碳酸钠(AR,

天津市大茂化学试剂厂),甲酸(AR,广州化学试剂厂),超滤管(截留分子量为10 000Da)的Amicon® Ultra 10K型(Merck Millipore 公司,德国)。

1.2 仪器

LC-20AT液相色谱仪(岛津仪器公司,日本),天美紫外可见分光光度计UV2310 II(上海天美科学仪器有限公司,中国),数显恒温水浴锅(常州澳华公司,中国),TGL16G台式离心机(上海安亭科学仪器有限公司,中国),R206-SENCO旋转蒸发器(上海申生科技有限公司,中国)。

2 方法

2.1 活性成分的提取

将干燥的凉粉草300 g用14倍量的95%乙醇溶液浸泡40 min,80℃水浴回流提取1次,提取时间为1.5 h,滤液减压浓缩至浸膏,加入微晶纤维素和乳糖(质量比1:2)辅料制成凉粉草颗粒。取上述凉粉草颗粒适量,研细,精密称定,用95%乙醇加以溶解,滤过,最终配成浓度为30 mg/mL的样品溶液作为待测样品溶液。

2.2 UV法对 α -葡萄糖苷酶活性成分的测定

取200 μ L样品溶液置于4 mL塑料EP管中,再吸取加入浓度为210 U/mL的 α -葡萄糖苷酶溶液400 μ L,加入pH值6.8磷酸盐缓冲液(1 mmol/L)2 000 μ L,充分混匀后,将EP管置于37℃水浴,加热孵育10 min。孵育后取出EP管加入10 mmol/L PNPG溶液400 μ L,混匀,置于37℃水浴中继续孵育30 min。最终以1 mol/L碳酸钠溶液为终止液,加入500 μ L终止上面反应体系。在 $\lambda=405$ nm下,用1 mmol/L磷酸盐缓冲液对紫外可见分光光度计调零,测定各种溶液的吸光度。选取阿卡波糖作为阳性对照。并根据不同样品浓度与酶反应试验结果,计算半

收稿日期:2022-08-25

作者简介:冯白茹,女,主要从事实验室药物检测工作。

抑制率 IC_{50} 值。

α -葡萄糖苷酶抑制率的计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}(\%) = \frac{[A_{\text{空白}} - (A_{\text{样}} - A_{\text{背景}})]}{A_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (1)$$

其中, $A_{\text{空白}}$ ——不含样品的酶和底物在 405 nm 波长下的吸光度值;

$A_{\text{样}}$ ——样品液、酶和底物在 405 nm 波长处的吸收值;

$A_{\text{背景}}$ ——样品液在 405 nm 波长处的吸收值。

2.3 酶活性实验影响因素考察

(1) α -葡萄糖苷酶浓度影响:取 α -葡萄糖苷酶适量,以磷酸盐缓冲液(1 mmol/L, pH 6.8)为溶液配成浓度分别为 14, 35, 70, 140, 210, 350, 420, 700 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液,按“2.2”项下测定 $A_{\text{空白}}$,即为不含样品的酶和底物的溶液在 405 nm 波长下的吸光度值。

(2) 对硝基苯- α -葡萄糖苷(PNPG)浓度影响:取对硝基苯- α -葡萄糖苷适量,以磷酸盐缓冲液(1 mmol/L, pH 值 6.8)为溶液配成浓度分别为 5.19, 0.39, 17.14, 34.28 $\mu\text{mol/L}$ 的对硝基苯- α -葡萄糖苷溶液,按“2.2”项下测定 $A_{\text{空白}}$,即为不含样品的酶和底物的溶液在 405 nm 波长下的吸光度值。

2.4 不同产地的凉粉草对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

18 个不同产地的凉粉草,按“2.1”项下制备提取物,按“2.2”项下操作,测定其提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。

2.5 不同的溶剂对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性的提取
选取产地便利、样品量大且对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性较强的凉粉草(产地:广东惠州)适量,分别用 14 倍量的 95% 乙醇、50% 乙醇和水溶液超声提取 2 次,每次提取 30 min,提取液合并起来减压浓缩至清膏状,得不同溶剂的凉粉草提取物。以阿卡波糖(2 mg/mL)为阳性对照,按“2.2”项测 α -葡萄糖苷酶抑制率。

2.6 凉粉草对 α -葡萄糖苷酶的半抑制率 IC_{50} 考察试验
把凉粉草提取物配成样品浓度分别为 1.908, 6.358, 7.948, 10.597 mg/mL, 按“2.2”项测定其中的 α -葡萄糖苷酶抑制率,以提取物浓度作为横坐标,抑制率作为纵坐标作标准曲线,根据曲线计算 IC_{50} 。

2.7 色谱条件

色谱柱: ODS-2 HYPERSIL(4.6×250 mm, 5 μm);

流速: 0.8 mL/min;

柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$;

液相色谱二极管阵列检测器(DAD);

检测波长: 254 nm;

进样体积: 10 μL ;

流动相 A: 0.1% 甲酸;

流动相 B: 乙腈;

流动相梯度程序如表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A: 0.1% 甲酸/%	B: 乙腈/%
0	95	5
10	82	18
25	78	22
35	76	24
53	67	33
60	55	45
61	95	5
66	95	5

2.8 测定方法

吸取 200 μL 样品溶液和 400 μL 的 α -葡萄糖苷酶溶液(浓度为 210 U/mL),置于 4 mL 塑料 EP 管中,再加入 pH 值 6.8 磷酸盐缓冲液(1 mmol/L)2000 μL ,充分混匀后,将 EP 管置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中,孵育 30 min。孵育完毕后从 EP 管中精密移取孵化液 300 μL 至超滤管中,以 10 000 r/min 离心 20 min,去掉滤液,往超滤管中加入 1 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液(pH 值 6.8) 200 μL ,以 10 000 r/min 离心 20 min,洗去未与酶结合的小分子,重复上面清洗操作三次,去掉滤液。往滤膜中加入 pH 值 3.30 甲醇、水(体积比 50:50)洗脱液 150 μL ,以 10 000 r/min 离心 20 min,重复以洗脱液洗脱三次,合并洗脱液,按照上述色谱条件进行液相分析,不加酶的空白对照实验同法操作。

3 结果与讨论

3.1 α -葡萄糖苷酶浓度的确定

不同的 α -葡萄糖苷酶浓度结果见表 2。

表 2 不含样品的不同浓度的酶和底物在 405 nm 波长下的吸光度值 $A_{\text{空白}}$

α -酶浓度/(U · mL ⁻¹)	吸光度	α -酶浓度/(U · mL ⁻¹)	吸光度
14	0.120 7	210	0.600 3
	0.122 2		0.610 6
	0.121 4		0.602 4
35	0.219 9	350	1.006 5
	0.226 7		0.997 4
	0.223 4		1.002 1
70	0.250 9	420	1.059 4
	0.236 1		1.007 4
	0.248 8		1.043 4
	0.364 4		1.669 5
140	0.355 0	700	1.690 3
	0.359 8		1.676 7

从上面的预实验数据结果可见,根据吸光度宜在 0.3 ~ 0.7 之间的原则,选定 α -葡萄糖苷酶浓度为 210 U/mL 进行后续的考察实验。

3.2 对硝基苯- α -葡萄糖苷(PNPG)浓度的选定

不同浓度的对硝基苯- α -葡萄糖苷,按“2.2”项下测定 $A_{\text{空白}}$,即为不含样品的酶和底物的溶液在 405 nm 波长下的吸光度值,结果见表 3。

表 3 不含样品的酶和不同浓度底物在 405 nm 波长下的吸光度值 $A_{\text{空白}}$

PNPG 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	吸光度	吸光度均值
5.19	0.496 7	
	0.491 4	0.493 5
	0.492 4	
10.39	0.539 2	
	0.539 7	0.539 5
	0.539 7	
17.14	0.574 1	
	0.574 8	0.574 3
	0.574 1	
34.28	0.661 9	
	0.663 1	0.671 4
	0.689 1	

PNPG 的浓度作为横坐标,吸光度值作为纵坐标来作标准曲线,得回归方程: $y = 0.0059x + 0.4703$ ($R^2 = 0.9926$),当浓度在 $5.19 \sim 34.28 \mu\text{mol/L}$,酶和 PNPG 底物的吸光度线性良好,但当 PNPG 的浓度越大越容易结晶析出,故选定 PNPG 的最终浓度大概为 $10 \mu\text{mol/L}$ 作为后续实验的底物浓度。

3.3 不同产地的凉粉草对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性
18个不同产地的凉粉草提取物,其对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,测定结果如表 4。

表 4 不同产地凉粉草提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

产地	抑制率/%
福建南平	9.18
广东韶关	9.87
安徽亳州	6.28
福建三明	9.71
广东惠州	15.61
广东汕尾	19.72
广东云浮	17.22
江西赣州	11.28
广东肇庆	12.60
广东惠州	12.01
河北保定	8.97
广东梅州	5.32
广西玉林	2.26
广东普宁	6.43
广东中山	2.61
福建宁德	1.09
广州	0.73
福建武平	3.99

结果显示,凉粉草提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性为 $0.73\% \sim 19.72\%$,不同产地的凉粉草的提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性各有差异。

3.4 不同提取溶剂的影响

不同溶剂的凉粉草提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性的影响结果见表 5。

表 5 不同溶剂的提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性

提取溶剂	抑制率/%
	21.42
95%乙醇	19.28
	22.56
	5.96
50%乙醇	5.44
	6.60
	17.63
水	15.10
	13.42
	85.32
	85.32
阿卡波糖	81.23

结果表明,当提取溶剂为 95% 乙醇时,凉粉草的提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性最高,故选用 95% 乙醇作为提取溶剂。

3.5 半抑制率 IC_{50} 考察

凉粉草的提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制率曲线及半抑制率 IC_{50} ,结果见表 6。

表 6 不同样品浓度提取物中的 α -葡萄糖苷酶抑制率

样品浓度/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率/%
1.908	5.22
6.358	15.63
7.948	18.02
10.597	24.66

以样品浓度为横坐标,抑制率为纵坐标绘标准曲线,得回归方程: $y = 2.2109x + 1.0633$ ($R^2 = 0.9966$)。结果表明,在凉粉草的提取物浓度在 $1.908 \sim 10.597 \text{ mg/mL}$ 之间, α -葡萄糖苷酶抑制率线性良好,据回归方程,可计得半抑制率浓度为 22.13 mg/mL ,此时对应的浓度为 2.07 mg/mL 的阳性对照品对 α -葡萄糖苷酶抑制率为 82.45% ,表明凉粉草的提取物中可能有一定的抑制 α -葡萄糖苷酶活性的成分存在。

3.6 亲和超滤液相色谱法对 α -葡萄糖苷酶活性成分的快速筛选试验考察

(1)凉粉草提取物与 α -葡萄糖苷酶亲和和结果:凉粉草提取物在加入 α -葡萄糖苷酶和不加酶的空白实验前后的色谱图及峰面积变化结果见表 8 和图 1。

表 8 凉粉草提取物与 α -葡萄糖苷酶亲和作用前后峰面积变化

峰编号	与酶结合峰面积	未与酶结合峰面积	峰面积比例
化合物 1	41 011	33 708	1.22 : 1
化合物 2	33 790	27 018	1.25 : 1
化合物 3	41 881	30 538	1.37 : 1
化合物 4	132 128	108 948	1.21 : 1
化合物 5	37 543	15 397	2.44 : 1
化合物 6	88 203	17 366	5.08 : 1
化合物 7	136 919	54 054	2.53 : 1

若提取物中存在与 α -葡萄糖苷酶发生特异性结合的化学成分^[8],则生成的配位结合物相对应的峰面积应大于空白对照。从图 1 和表 8 中可以看出:相应的峰其峰面积有增大的趋向,且峰面积增大比例顺序为化合物 6>化合物 7>化合物 5>化合物 3>化合物 2>化合物 1>化合物 4,可以推测凉粉草提取物中存在与 α -葡萄糖苷酶发生亲和作用的化合物有七种,其中化合物 6 的峰面积比例高达 5.08,意味着具有较强的抑制 α -葡萄糖苷酶活性,具有潜在的较强的抗 II 型糖尿病活性,值得进一步研究。

(2)对照品法分析凉粉草提取物中与 α -葡萄糖苷酶发生生物亲和的化学成分:采用“2.7”项下的色谱条件,利用对照法对上述凉粉草提取物中与 α -葡萄糖苷酶发生生物亲和的四个化合物进行色谱峰形、吸收光谱扫描图、保留时间相对比,推断出四个化合物的其中三个化合物很有可能为:咖啡酸(编号化合物 1)、紫云英苷(编号化合物 4)、迷迭香酸(编号化合物 6),化合物 2,3,5,7 暂时无法利用现有的对照品去定位为何种化学成分。

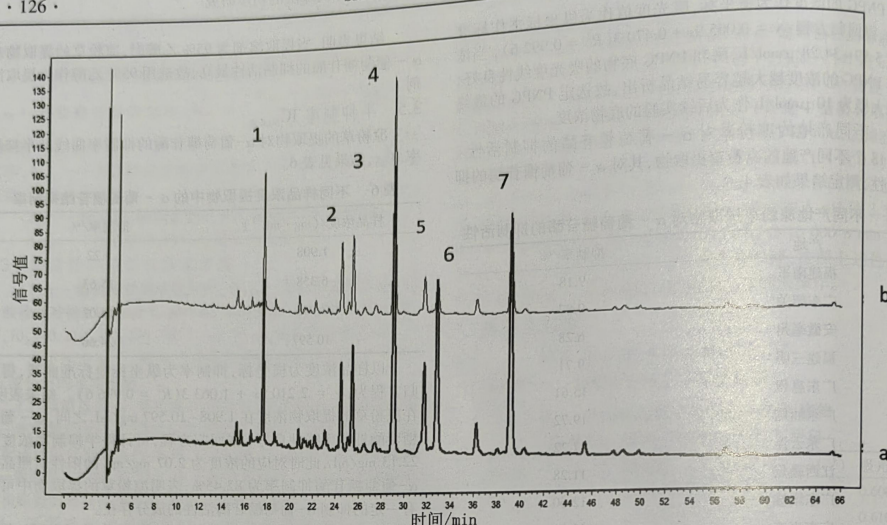


图1 凉粉草提取物和 α -葡萄糖苷酶亲和作用后的色谱图(a);及未与 α -葡萄糖苷酶亲和的空白实验色谱图(b)

4 讨论

在测定 α -葡萄糖苷酶抑制率时,本着节省试剂的原则,前期预实验加入的试剂的量较少,测定吸光度时最初用的是实验室现有的微量比色皿(100 μ L),因为此微量比色皿两侧不具有遮光板,故测定的数据很波动且不呈规律性,经过大量预实验摸索,后期在采用紫外可见分光光度法测定 α -葡萄糖苷酶抑制率实验时,增大了各试剂的用量,改用常量比色皿去测吸光度时,发现数据趋向稳定。且发现孵育时间不同,加入终止液终止反应后不马上测定吸光度,所测得的数据也很波动,可能与实验的稳定性有关,有待进一步考究。

参考文献

- [1] 黄涛.凉粉草重要成分的提取及应用[J].中外食品工业,2014,12(20):78-79.
- [2] 蒋璇靓,段起,詹岳霖,等.仙草开发与利用的研究进展[J].包装与食品机械,2014,32(2):58-63.
- [3] 张斌.显齿蛇葡萄提取物的体内和体外降血糖效果[J].中国老年学杂志,2017(1):321-323.
- [4] 刘莹,徐向前,陈明珠,等.仙草的降糖作用与急性毒性作用试验[J].福州总医院学报,2005,12(12):266-267.
- [5] 刘莹,朱东屏,徐向前,等.仙草提取物对糖尿病大鼠的治疗作用研究[J].福州总医院学报,2005(12):256-268.
- [6] 常星,崔维恒,张俊柯,等.内蒙古产怪柳和多枝怪柳 α -葡萄糖苷酶抑制活性[J].天然产物研究与开发,2011,23(1):146-148+197.
- [7] 温正辉,凌梅娣,余思萍,等.蒲桃不同药用部位乙醇提取物对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性的抑制作用研究[J].中国药房,2019,30(23):3246-3251.
- [8] 杨振中.抗2型糖尿病中药有效物质发现方法及网络药理学研究[D].杭州:浙江大学,2014.
- [9] 朱俊峰.基于化学生物学方法结合高分辨质谱技术的中药药效物质快速方法研究[D].杭州:浙江大学,2017.
- [10] 陶益,陈维,张玉峰.亲和超滤耦联液相色谱-质谱快速检测山楂叶中的 α -淀粉酶抑制剂[J].分析化学研究报告,2013,41(2):229-234.
- [11] 周思多.应用亲和超滤技术-液质联用技术筛选中药靶标酶抑制剂[D].泰安:山东农业大学,2015.
- [12] 王晶晶.基于超滤质谱技术的中药药效物质基础快速发现方法研究[D].郑州:河南中医药大学,2016.
- [13] 郭力非,侯万超,赵婉伊,等.苦瓜中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的超滤质谱筛选研究[J].生物化工,2018,4(6):18-22.
- [14] VAN BREEMEN R B, HUANG C R, NIKOLIC D, et al. Pulsed ultrafiltration mass spectrometry: A new method for screening combinatorial libraries[J].Analytical Chemistry, 1997,69(11):2159.
- [15] ZHAO Y Z, VANBREEMEN R B, NIKOLIC D, et al. Screening solution-phase combinatorial libraries using pulsed ultrafiltration electrospray mass spectrometry[J].Journal of Medicinal Chemistry, 1997,40(25):4006.
- [16] 唐英,刘春明,任浚其,等.山竹果中 α -葡萄糖苷酶和黄嘌呤氧化酶抑制剂的超滤质谱分析[J].时珍国医国药,2015,26(10):2322-2325.

(本文文献格式:冯白茹,莫颖华.凉粉草抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分快筛法的初步研究[J].山东化工,2022,51(20):123-126.)

广东化工

Guangdong Chemical Industry

第46卷 第13期 7月上半月刊
(总第399期)

1974年创刊 (半月刊)

刊号 ISSN 1007-1865
CN 44-1238/TQ

- 全国石油与化工行业优秀期刊一等奖
- 高、中级化工职称资格评审认定刊物
- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

主 管: 广东省科学院
主 办: 广东省石油与精细化工研究
院
社 长: 麦裕良
出版发行: 《广东化工》编辑部
发行范围: 国内外公开发刊
地 址: 广州市越秀区越华路116号
邮 编: 510030
电话/传真: (020) 83302517 83336009
在线投稿: <http://www.gdchem.com>
电子邮箱: gdcic200@163.com
广告经营许可证号: 440000100138
印 刷: 广州一龙印刷有限公司
订 购: 全国各地邮局、所
邮发代号: 46-211
出版日期: 2019年7月15日
邮局全年定价:
国内480元; 国外384美元

公告: 经广东省新闻出版局批准同意,
本刊从2012年7月开始变更为半月刊。

目 次

◆ 试验与研究

- 1 碱性钴锰复合氧化物催化氧化甲醛 王曦, 蒋婷婷, 陈嘉欣, 等
- 3 热塑性动态硫化硅橡胶的制备及其性能研究 师文博, 宋斌, 朱旭, 等
- 7 耐低温冲击 PVC 护套料的制备及性能研究 洪仰婉, 李伟浩, 彭小权
- 10 基于电场作用下的 rGO-CNT/TiO₂ 复合膜的抗污性能研究 芮豪杰, 蒋晨辉, 王怡琴, 等
- 12 AgCl 基二氧化钛复合物的制备及光催化性能研究 聂艳, 高峰, 王怡
- 15 HPLC-DAD-Q-Exactive 静电场轨道阱高分辨质谱快速分析栀子中主要成分 汤丹, 曹东敏, 黄广泉, 等
- 17 微波辅助制备性香树果序多糖的研究 赵鹏, 张婷婷
- 19 桑叶发酵前后提取液降血糖作用的研究 陈妍言, 李德贤, 吕文琪, 等
- 21 不同预处理对酶法制备微晶纤维素的影响 曲彩虹
- 23 玻纤增强聚丙烯复合材料熔接性能的研究 袁海兵
- 26 抗菌止血纱布的制备及性能研究 韦加娜, 陈锦涛
- 28 多份采样法在特定批煤采样精度核对的应用 邓运泉
- 29 12CrMoVG 钢超温服役对组织和性能的影响 曾向宏, 沈非
- 31 磺基琥珀酸盐类洁面膏稳定性研究 梅杰
- 34 食品接触用不锈钢制品在不同浓度含氯模拟物中重金属迁移行为研究 钟文健, 李夏锐, 吴婉君, 等
- 36 45S5 生物活性玻璃/藻酸盐创面修复敷料的制备及性能研究 陈锦涛
- 38 电导法测定工业水溶解性总固体含量研究 林春燕
- 40 X 射线探伤装置在特殊屏蔽条件下的辐射防护与安全评价 陆小茜, 李玲玲
- 42 石油焦原料差异性对超级电容活性炭电化学性能的影响 李桂林, 朱红芳, 梁亚涛
- 45 深圳市非道路移动源排放清单研究 徐光仪, 郑卓云, 梁永贤, 等
- 47 生活饮用水耗氧量检测方法实际应用优化 刘汉祥
- 49 汛期降雨对潮州饮用水源区中铁含量的影响 金睿
- 51 脂肪醇醚羧酸盐的合成工艺研究 宋志航, 谢妃军
- 53 医用退热贴的制备及其性能评价 罗华玲, 陈如琼
- 54 茶多酚 EGCG 的不稳定性初探 张莹, 刘丹, 杨娜, 等
- 56 人工湿地对沙湖水的净化实验研究 张海波
- 60 氨基脲酸乙酯的合成 姜桥, 李冰冰
- 61 含水煤储层液测渗透率应力敏感性试验研究 敖显书, 赵立鹏
- 63 固定床用大孔 Ni/SiO₂ 催化剂的研究 张洁兰, 陈丹, 颜攀敦, 等
- 65 低量钙镁盐与钾盐对咸蛋腌制影响 李子康
- 68 山藿香活性成分提取工艺及抗菌效果研究 舒洁倩, 梁盈军, 李子行, 等
- 70 凉粉草降糖颗粒的成型工艺研究 冯白茹, 莫颖华, 侯秋苑
- 72 枳椇果梗中游离氨基酸的纯化条件与成分研究 王新杰, 王富花, 马浩宇, 等

◆ 专论与综述

- 75 黄芩-黄连药对有效成分防治 2 型糖尿病的实验研究进展 周鹏, 华芳, 王茜
- 77 大数据时代下国内外急救医学现状及发展趋势分析 胡剑航, 危冠流, 贾翔, 等
- 79 纳米颗粒物毒性效应研究进展 曾繁华, 王易, 何俊燃, 等
- 81 黑茶抗癌作用的研究进展 刘赛文, 罗斌, 陈佳煜
- 83 正己烷催化燃烧催化剂及动力学研究进展 李鸿琦, 陈家桓
- 85 化学检测实验室质量控制及其评价方式 薛亚平
- 86 萝岗区燃气管道升压风险分析和重要性探讨 伍建庭
- 88 家具五金盐雾试验标准的比较 陈东恩, 杨雪慧
- 91 浅谈如何做好实验室设备管理 陈锦玲
- 92 发挥一体化优势, 打造炼油生产基地 张树广
- 94 混合气体充装技术探讨 秦福安

凉粉草降糖颗粒的成型工艺研究

冯白茹, 莫颖华, 侯秋苑
(惠州卫生职业技术学院, 广东 惠州 516025)

[摘要]目的:研究凉粉草降糖颗粒的成型工艺。方法:通过休止角、吸湿率和成型率的测定,以流动性、吸湿性和成型状态为考察指标,通过对单一辅料和配伍辅料进行单因素考察对制剂成型条件进行优选。结果:凉粉草降糖颗粒的最佳成型工艺采用最终辅料配比为微晶纤维素:乳糖的比例为 1:2。

[关键词]凉粉草;降糖颗粒;成型工艺

[中图分类号]TQ

[文献标识码]A

[文章编号]1007-1865(2019)13-0070-02

Study on Molding Technology of Hypoglycemic Granules from *Mesona Chinensis Benth*Feng Bairu, Mo Yinghua, Hou Qiuyuan
(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: Objective: To study the molding technology of hypoglycemic granules from *Mesona chinensis Benth*. Methods: Through the determination of resting Angle, hygroscopicity and molding rate, taking fluidity, hygroscopicity and molding status as the indexes, the single factor investigation of single excipient and compatible excipient was carried out to optimize the molding conditions of the preparation. Results: The optimum molding process of hypoglycemic granules from *Mesona chinensis Benth* adopts microcrystalline cellulose as the final auxiliary material ratio: the ratio of lactose is 1:2.

Keywords: *Mesona chinensis Benth*; hypoglycemic granules; molding technology

凉粉草别称仙人冻、仙草,是唇形科植物凉粉草 *Mesona chinensis Benth* 的全草^[1]。现代药理学研究表明,凉粉草有降温、镇静、降血糖的作用,其中三萜类的熊果酸具有强心、降脂、降糖、抗癌等作用^[2]。张海燕等^[3]研制的仙草降脂茶方剂和许祯灿等^[4]研发了以凉粉草为主药的凉粉草冲剂在心血管疾病方面起到预防作用,均是一种良好的天然保健品。黄钦等^[5]研制以凉粉草为原料的凉粉草降糖合剂,通过小鼠动物试验证明,其毒性小,疗效满意,是一种很好的降糖合剂。向少伟^[6]等研制出复方仙草胶囊,苏海兰^[7-8]等针对复方仙草胶囊进行进一步研究表明,配合西药使用能治疗成人难治性肾病综合症,起到提高疗效,保护肾小管功能。

凉粉草是一种重要的药食两用的植物资源,其商用市场前景广阔。若能将仙草作为一种药用资源,开发研制出一种新的降血糖、降血脂、降压天然药物,定能引起良好的社会效应,此举具有广阔的开发前景。

本文以颗粒的流动性、吸湿性、成型率及成型状态为指标,优选适宜的辅料,制成凉粉草降糖颗粒。

1 材料

1.1 试剂

乳糖(分析纯,天津市福晨化学试剂厂,中国);可溶性淀粉(AR,台山市粤侨试剂塑料有限公司,中国);淀粉(药用级,陕西海王盘龙医药公司,中国);糖粉(药用级,陕西海王盘龙医药有限公司,中国);微晶纤维素(药用级,陕西海王盘龙医药有限公司,中国)。

凉粉草:产自广东惠东,为唇形科植物凉粉草 *Mesona Benth* 的全草,经惠州卫生职业技术学院祁德教授鉴定为唇形科凉粉草属植物凉粉草(*Mesona chinensis Benth*)。

1.2 仪器

NS-1201C 电子天平(福州华科电子仪器);Sartorius CPA225D 电子天平(Sartorius 公司,德国);METTLER TOLEDO LE104E 电子天平(METTLER 集团,瑞士);BPG-9240A 鼓风干燥箱(上海百典仪器设备有限公司,中国);10 目标标准筛(中国航空工业第五四零厂,中国);80 目标标准筛(中国航空工业第五四零厂,中国)。

1.3 凉粉草稠膏的制备

称取 250 g 凉粉草,粉碎成中粉,加入 14 倍量的 95%乙醇浸泡 40 min,在温度 80℃水浴回流提取 1 次,回流提取 1.5 h,趁热滤过,去掉滤渣,滤液转入旋转蒸发器中减压浓缩至相对密度约为 1.25(80℃热测)时,此时溶液粘稠而不挂壁,易于倒出,留待进一步制剂用。

2 方法与结果

在颗粒剂的实际生产中,均按容积分剂量,分剂量的准确性又受粉粒的堆密度、流动性、吸湿性等因素的影响,在制粒前,对其内容物进行流动性考察及吸湿性考察。

2.1 测定方法

2.1.1 休止角的测量

取直径约为 7.5 cm 的 3 只漏斗一叠高串联起来,且把最下面的一只漏斗的出口磨平,三只漏斗固定在放置于水平桌面的白纸 1 cm 的高度(H)处,把白纸作为坐标纸,将整粒后的颗粒倒入最上端的漏斗,颗粒沿漏斗壁穿过三个漏斗,当落在坐标纸上的颗粒成圆锥体,并且最下端的漏斗嘴接触到圆锥体顶端时,测量坐标纸中圆锥体底部的直径长度(2R),代入公式算得休止角。

$$\tan \alpha = \frac{H}{R}$$

2.1.2 吸湿率的测量

往玻璃干燥器底部添加过饱和的硫酸铵溶液,放入预先设置温度 25℃的恒温培养箱中,保持恒温 24 h,并使干燥器里的相对湿度为 75%。取颗粒适量,平铺于已恒重的称量瓶(m₁)底部且使厚度约为 1 mm,精密称定质量(m₂)。将敞开盖子的称量瓶放入干燥器内,再将干燥器放入已达预设温度 25℃的恒温培养箱中,保持 24 h 恒温,取出称量瓶,称其质量(m₃)。利用公式计算颗粒吸湿率。

$$\text{吸湿率}(\%) = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \times 100\%$$

2.1.3 成型率的测定

取烘干后的颗粒适量,准确称其质量,倒入一号药典筛中,在一号药典筛下面叠放五号药典筛,双手水平晃动药典筛,左右来回 3 min,一边筛一边用手轻叩筛网边,将通过下面五号筛的细粉末和不能通过上面一号筛的粗颗粒合并起来,称其重量,按公式计算成型率。

$$\text{成型率}(\%) = \frac{\text{通过一号筛与不通过五号筛的颗粒及粉末重量}}{\text{颗粒总重量}} \times 100\%$$

2.2 单一辅料的考察

取 5 份凉粉草稠膏,各 5 g,分别加入一定量的淀粉、可溶性淀粉、微晶纤维素、乳糖、糖粉,混合制粒,按“2.1”项下规定考察流动性及引湿性百分率,并观察其外观,结果见表 1。以颗粒流动性、吸湿性、成型状态为考察指标,选定流动性好、吸湿性小的辅料为宜。

[收稿日期] 2019-06-05

[基金项目] 2018 年度广东大学生科技创新培育专项资金项目(项目编号:pdjhb089)

[作者简介] 冯白茹(1981-),女,广东阳江人,主要研究方向为药物检测。

表 1 辅料种类考察结果
Tab.1 Excipient type investigation results

辅料	辅料用量/g	休止角/°	引湿性/%	成型状态
淀粉	13.01	27.76	12.49	成粒, 细粉多, 较松散
可溶性淀粉	16.96	29.05	7.40	成粒, 颗粒有白点
微晶纤维素	4.10	34.61	7.26	成粒, 细粉多
乳糖	38.73	35.54	1.75	成粒, 硬度适中
糖粉	33.02	33.69	3.52	成粒, 硬度适中

结果表明, 微晶纤维素的用量最少, 淀粉、可溶性淀粉的休止角小于 30°, 说明其流动性良好; 微晶纤维素、乳糖、糖粉的休止角均小于 40°, 表明颗粒的流动性一般。乳糖与糖粉的引湿性较低, 可溶性淀粉和微晶纤维素次之、淀粉最差; 乳糖与糖粉的成型状态最好, 淀粉和微晶纤维素次之、可溶性淀粉虽成型好但分散不均有白点。

从上面的结果来看, 以淀粉的流动性最好且价格低廉但成型松散; 乳糖的吸湿性最好, 成型状态不错, 但是乳糖用量最大, 且价格也较高; 糖粉用量也较大; 可溶性淀粉不易混合均匀; 微晶纤维素用量较少, 但价格较高。综合以上所有因素, 不宜使用

单一辅料进行制剂, 需进一步对配伍辅料进行考察。

2.3 配伍辅料的考察

分别选取微晶纤维素与糖粉的比例为 1:1, 1:5; 微晶纤维素与乳糖的比例为 1:2, 1:5, 1:10; 淀粉与糖粉的比例为 5:1, 2:1, 1:1, 1:2; 淀粉与乳糖的比例为 2:1, 1:1, 1:5 各配比辅料, 加入至 5 g 凉粉草稠膏中, 混合制粒来进行实验, 按“2.1”项下规定考察以颗粒流动性、吸湿性、成型状态为考察指标, 选定流动性好、吸湿性小、成型状态好的辅料为宜。结果见表 2。

表 2 辅料配比考察结果
Tab.2 The results of the proportion of auxiliary materials

辅料组合(配比)	辅料用量/g	休止角/°	吸湿率/%	成型率/%	成型状态
微晶: 糖粉(1:1)	11.41	24.44	3.84	82.08	细粉多, 较松散
微晶: 糖粉(1:5)	12.40	24.44	3.79	80.13	细粉多, 较松散
微晶: 乳糖(1:2)	7.33	24.78	2.04	91.02	成粒, 软硬适中
微晶: 乳糖(1:5)	7.88	37.57	2.00	92.43	成粒, 软硬适中
微晶: 乳糖(1:10)	12.30	30.47	1.28	94.72	成粒, 软硬适中
淀粉: 糖粉(5:1)	9.80	23.84	4.96	79.57	细粉多, 较松散
淀粉: 糖粉(2:1)	15.72	30.47	3.06	81.84	细粉多, 较松散
淀粉: 糖粉(1:1)	16.30	30.47	2.76	83.95	细粉多, 较松散
淀粉: 糖粉(1:2)	12.00	25.12	3.24	88.76	成粒, 软硬适中
淀粉: 乳糖(2:1)	10.61	20.32	3.04	84.39	细粉多, 较松散
淀粉: 乳糖(1:1)	9.13	20.32	3.06	87.62	细粉多, 较松散
淀粉: 乳糖(1:5)	14.32	23.84	1.67	93.06	成粒, 软硬适中

从以上结果可见, 当微晶纤维素:乳糖为 1:5、1:10, 淀粉:糖粉为 2:1、1:1 时, 颗粒休止角均小于 40°, 表明颗粒的流动性一般; 其他配伍辅料的颗粒休止角均小于 30°, 表明颗粒流动性较好。

吸湿率方面, 淀粉与糖粉为 5:1 时, 吸湿率最大为 4.96%, 微晶纤维素:乳糖为 1:10 时, 吸湿率最小为 1.28%, 乳糖为 1:2 和 1:5 时, 吸湿率也较小, 淀粉:乳糖为 1:5 时, 吸湿率为 1.67%, 其他配比颗粒的吸湿率相差并不大。

综合上述辅料用量、休止角、吸湿率、成型率和成型状态各因素的影响, 选择所得颗粒硬度适中, 所需辅料少, 成型率高, 流动性及引湿性好的辅料配比, 故最终辅料配比为微晶纤维素:乳糖的比例为 1:2。

2.4 制粒与整粒

将凉粉草稠膏与辅料(微晶纤维素:乳糖=1:2)混合均匀, 制成软材, 使用 10 目筛进行制粒, 制得的颗粒置 60 °C 烘箱中烘 3 h。干燥后的颗粒能过 10 目筛, 不能通过 80 目筛的为合格颗粒。

3 讨论

(1)制备颗粒剂, 其内容物可以是药物粉末直接制粒; 可以是药材提取液经浓缩、干燥成粉末与相应辅料混合后直接制粒; 也可以由药材提取液浓缩成稠膏后, 与相应辅料混合制粒。

(2)由于单一辅料无法满足制粒的要求, 故考虑对配伍辅料作进一步考察。根据 2015 年版《中国药典》四部制剂通则项下颗粒剂规定, 辅料用量不能超过浸膏量的 5 倍, 综合单一辅料试验结

果考虑, 最终确定选用淀粉、乳糖、微晶纤维素和糖粉这四种辅料进行后续的复合配比研究。

参考文献

- [1]马骥, 刘传明《岭南采药录》考证与图谱上册[S]. 广东科技出版社, 2015: 122.
- [2]江西日报[N]2001, 9, 16(四).
- [3]张海燕, 王茂. 仙草降脂茶临床观察[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2001, 4(5): 401.
- [4]许祯灿, 朱贤道凉粉草冲剂的研制[J]. 福建药学杂志, 1990, 2(3): 20.
- [5]黄钦, 许祯灿. 凉粉草降糖合剂的研制与临床应用[J]. 海峡药学, 1995, 7(1): 78-79.
- [6]向少伟, 何小萍, 黄国东, 等. 复方仙草胶囊对难治性肾病综合征患者血清转化生长因子-β₁ 水平的影响[J]. 湖北中医杂志, 2006(01): 11-13.
- [7]向少伟, 何小萍, 黄国东, 等. 复方仙草胶囊对难治性肾病综合征患者血清转化生长因子-β₁ 水平的影响[J]. 湖北中医杂志, 2006(01): 11-13.
- [8]向少伟, 黄露. 糖尿病肾病的炎症作用机制与中西医防治进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2013, 14(08): 750-752.

(本文文献格式: 冯白茹, 莫颖华, 侯秋苑. 凉粉草降糖颗粒的成型工艺研究[J]. 广东化工, 2019, 46(13): 70-71)

全国石油和化学工业精品期刊40强
第五、六、八届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
国家职称评审认定学术期刊
中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊

入榜RCCSE核心及准核心期刊目录
第三届华东地区优秀期刊
美国化学文摘(CA)收录期刊
“万方数据-数字化期刊群”全文收录期刊
中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)全文收录



ISSN 1008-021X
CN 37-1212/TQ
邮发代号: 24-109
半月刊 创刊于1972年

山东化工

SHANDONG CHEMICAL INDUSTRY

中国企业 500 强

仁
孝
京
博

为客户生产满意商品
为社会培养有益人才



京博控股官微



京博控股官微

产业报国 服务社会

ISSN 1008-021X



9 771008 021229



主管: 山东省教育厅

主办: 青岛科技大学

202220

10月下半月刊
vol.51

山东化工

SHANDONG HUAGONG

半月刊

2022年11月第51卷第22期
(总第440期)1972年创刊

刊号:ISSN 1008-021X

CN 37-1212/TQ

CODEN SHHUA4

鲁广发登字:3700005015号

主管单位:山东省教育厅

主办单位:青岛科技大学

编辑出版:《山东化工》编辑部

地址:济南市文化东路80号

邮编:250014

编辑部(投稿受理):

(0531)86399196 QQ:2036478825

编辑部(编校出版):

(0531)82663156

广告部:(0531)86399780 13011708205

电子信箱:sdhg@sdchem.net(投稿专用)

gjh@sdchem.net(广告专用)

zft@sdchem.net(意见建议)

投诉与建议:(0531)86399990(编辑部主任)

网址: <http://www.sdchem.net.cn>

主编:孟宪兴

常务副主编:张福田

责任编辑:李学军

编辑:孙慧娟 邱廷华 郝兴梅 张鑫

胡玲 李兆凯 韩学岗 郭环春

李海静 王健

广告:谷建华

山东化工网:李军

ISSN 1008-021X
CN 37-1212/TQ
邮发代号:24-109
零售刊例:每份1.50元

山东化工

SHANDONG CHEMICAL INDUSTRY



山东金城医药化工有限公司

地址:山东省济南市高新区经一路1515号

邮编:250109

电话:0531-87720773

ISSN 1008-021X

CN 37-1212/TQ

2022 22

11月下旬刊

VOL.51

主管:山东省教育厅 主办:青岛科技大学

本刊为:

- 全国石油和化学工业精品期刊40强
- 第八届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第六届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第五届全国石油和化工行业优秀报刊一等奖
- 第三届华东地区优秀期刊
- 2000、2004山东省优秀期刊
- 美国化学文摘(CA)收录期刊
- 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊
- “万方数据-数字化期刊群”全文收录期刊
- 全国学术期刊综合评价数据库来源期刊
- 中国期刊网全文收录期刊
- 中国学术期刊(光盘版)全文收录期刊
- 国家职称评审认定学术期刊

发行范围:国内外公开发行

国内总发行:济南市邮政局

订阅零售:全国各地邮局(所)或本刊编辑部

邮发代号:24-109

国外发行:中国出版对外贸易公司 DK37002

印刷:山东和平商务有限公司

2022年11月出版 定价:30.00元



马上扫一扫

关注山东化工期刊 了解更多精彩内容

煤制乙二醇生产 DMO 装置的节能减排措施 赵强,李成科,韩明珠(162)

浅析循环水泵 MEH 系统控制 张基才(165)

外腐蚀直接评价法在埋地管道保护中的应用 孔令捷,王朝阳,陈卓(169)

化工设计

LNG 燃料罐维持时间的计算与分析 解卫阔,王晓亮,赵超,王廷勇(171)

硫铁矿制酸废水处理工艺设计 黄施施,冯尚华(175)

化工实验室

实验危险废物的安全管理探索 李雪梅,马彦琪,魏彦庆(178)

实验室安全管理探析 王桂荣,韩效辉,杨魁星(181)

后疫情时期下职业院校实训室安全管理模式的研究——以惠州卫生职业技术学院为例
冯白茹,莫颖华,林嘉丽(183)

化工安全

石化企业 HSE 管理风险自查研究 刘天柱,孙启猛,孙佑安,陈俊勇(186)

道路运输罐车泄漏事故救援中的倒罐处置分析 张成立(189)

浅析天津市滨海新区大港地区石油化工企业现状及多种形式消防队伍建设 李启宇(191)

化工环保

淡水环境中全氟化合物的研究趋势——中文文献 bibliometrix 分析
李娜,盖一丹,聂子宜,赵媛,于艺,甘延东(194)

我国垃圾填埋场地下水原位修复技术研究 李钦钦,张鹏(198)

锅炉掺烧污泥雾化喷燃影响分析 董玉芳(201)

基于双重差分模型的碳排放交易减排效应研究 林珠亿(204)

N235 萃取燃煤电厂高盐废水的实验研究 邢浩若,徐昉,许书娇,马双忱(207)

污泥热干化焚烧技术及我国典型应用案例 姚璐,Jiang David Huanzheng,黄乾泽,郑龙行(210)

树脂吸附法对水中磺胺甲恶唑的去除效果研究 朱强,郭昊,陶为华(213)

医疗废水污染源在线监测现状与建议 陈懿昀(217)

杂交狼尾草和黑麦草对水体中铜、锌的去除效果研究 陈力,石宗琳,王世欣,王慧欣(220)

..... (224)

广告目次

期刊基本参数:CN37-1212/TQ * 1972 * s * 16 * 224 * zh * P * ¥ 30.00 * 65 * 2022-22

后疫情时期下职业院校实训室安全管理模式的研究 ——以惠州卫生职业技术学院为例

冯白茹,莫颖华,林嘉丽

(惠州卫生职业技术学院,广东 惠州 516025)

摘要:实验室是高校科学研究和培养人才的重要基地,其安全管理是一门重要课题,也是高校管理工作的重要环节。新冠疫情的爆发,高校实训室的安全生产风险也日渐增加。现阶段新冠疫情虽已得到了控制并迈入了长期防控的后疫情时期,于实验室管理者来说,在实训室安全管理方面更是提出了新的管理高度。本文通过分析惠州卫生职业技术学院实训室的安全管理现状,分析其中存在的安全隐患,提出有建设性的管理建议。

关键词:职业院校;实训室;安全管理;后疫情时期

中图分类号:TQ086

文献标识码:A

文章编号:1008-021X(2022)22-0183-03

Research on Safety Management Mode of Laboratory in Vocational Colleges in Post-Epidemic Period ——Taking Huizhou Health Sciences Polytechnic as an Example

Feng Bairu, Mo Yinghua, Lin Jiali

(Huizhou Health Sciences Polytechnic, Huizhou 516025, China)

Abstract: Laboratory is an important base for scientific research and personnel training in colleges and universities. Its safety management is an important subject and also an important link of university management. With the outbreak of COVID-19, the risk of safety management in university laboratory is also increasing day by day. Although the COVID-19 epidemic has been controlled and has entered the post-epidemic period of long-term prevention and control, for laboratory managers, a new management level has been proposed in the safety management of the laboratory. This paper analyzes the current situation of safety management in the laboratory of Huizhou Health Sciences Polytechnic, analyzes the hidden danger of safety, and puts forward some constructive management suggestions.

Key words: vocational college; laboratory; safety management; post-epidemic period

随着国内疫情步入后疫情时期,作为人员密集型的高校,其管理面临着巨大的考验,高职院校的实训室是承载着日常教学及科研工作的重要场所,人员相对密集,仪器设备繁多,空间相对狭小及相对封闭等是其区域的特征。在后疫情时期,实训室的防控工作尤其重要,如建立健全长效的管理防控措施及机制,提升实训室的应急能力,降低疫情对全体师生的身体健康造成的影响,是实训室管理刻不容缓的工作内容及要求。现通过分析惠州卫生职业技术学院实训室的安全管理状况,找出存在的问题及隐患,并进一步提出有建设性的提议。

1 疫情期间实训室安全管理存在的主要问题

1.1 安全意识淡薄,缺乏危机感

片面看重日常理论教学或者只看重科研成果,忽视实训室管理,认为实训室管理是没有回报的投入,不值得花费大量人力物力,甚至觉得实训室安全管理只是实验员的工作,与普通老师或专任老师无关,这些思想误区为高校的安全管理工作埋下了巨大的安全隐患,学生普遍缺乏面对疫情的危机意识和防护意识。疫情虽现阶段已得到控制,但难免会对我们部分师生造成一定心理上的影响,由于缺乏安全意识,当我们面对突发情况时会无所适从,一系列的处置不当措施,会让负面情绪不断传播。

1.2 个人防护不全面不到位

疫情期间,开学后学生上实训课时,会妄听实训室的防疫

安排,没有按照实训室防疫要求做到隔离1 m以上,而是经常私自调换座位,面对面聚集性讨论问题,很容易口沫横飞导致直接传播感染。部分学生觉得胸闷乏力会私自脱下口罩,下课后部分学生随意脱下口罩并丢弃在实训室,离开实训室进入下课人群中也会忘记佩戴口罩,导致因无做好防护而发生感染。学生的个人防护是否做到位,除了学生本身的自律性以外,实验室安全管理制度是否完善以及实验室负责人和实验课老师的正确引导也是关键因素^[1]。

1.3 实训室设施设备种类繁多,仪器频繁接触成常态

实训室里面的仪器设备种类繁多,数量庞大,供师生日常教学及科研使用,仪器的重复使用率普遍较高,而通常不同科目换课时间较短,仪器设备管理员不能在课间对使用过的仪器设备进行消毒,师生交叉接触未经消毒的仪器导致被感染的风险提高。在实训室里,接触公共仪器设备和物品最多的是手部,若师生没有勤洗手的习惯就会增加病毒通过口鼻进入人体内的可能性。

1.4 实训室空间局限,安全隔离距离不够

目前部分实训室由于当初设计不合理,空间有限,实训课所需仪器设备的摆放难免拥挤,学生实验操作会因所需安全距离不够,而无意触碰玻璃仪器和有毒试剂,造成实训室安全隐患。在疫情防控阶段还会因学生之间聚集拥挤,安全隔离距离不够而导致加大感染的风险。

收稿日期:2022-07-26

作者简介:冯白茹,女,实验师,从事实验室检测工作。

1.5 管理制度不完善

疫情期间针对实训室安全管理工作缺乏专门的组织体系,并没有建立从学校层面直到实训室基层的一套完整的安全管理网络,特别是自从学校各二级学院重组后,有些科研实训室直接归属不清,没有明确规定各个部门的职责,导致实训室安全工作多部门交叉管理,职责不清,疫情防控期间,学校更多精力在于教学管理,而疏于实训室基层的安全管理。实训室附属各专业课,而各专业之间存在一定差异,从而使实训室管理存在一定分散性。管理制度的不完善会衍生一系列不起眼的小问题,实训室的安全事故往往由这些不起眼的小问题导致,故如何完善高校实训室安全管理是一个值得长远探讨的课题^[2]。

1.6 管理制度没有落实到位^[3]

目前学校和二级学院虽然有很多实训室相关的安全管理制度,安全管理制度也上墙了,但这些管理制度只是流于形式,仅仅是张贴在实训室的墙上而已,众多分管实训室的领导由于过于忙碌甚少过问,部分实训室管理人员人员不足,把太多精力投入到实训室的准备工作中,对实训室日常安全管理工作只应付也没有真正将管理制度落实到位。众多实训室管理者安全意识不强,平时在上级领导对学校进行实验室安全检查工作,才会注重实训室安全管理工作,导致实训室安全管理效果甚微^[4]。

1.7 缺乏专业的管理人员及相应的培训制度^[5]

高职院校缺乏专业的实训室安全管理人才,这是各大高校的通病,也是本校的短板。实训室管理者缺乏专业知识^[6],学校对实训室管理人员不重视,由于资金短缺,学校对于实训室管理人员的培训经费更是一再缩减,各二级学院目前只招合同制的实训室管理人员,合同制实训室管理人员工资待遇低,缺乏职称晋升机会,积极性无法充分调动,且流动性较大,这种情况对于需投入大量时间才能奏效的实训室管理工作非常不利。

2 疫情期间实训室安全管理的建议

2.1 加强安全教育培训,提高安全意识

疫情当下,为了让师生提高对疫情认知程度,重视防疫措施,学校需要进一步建立实训室安全培训制度,通过微信、QQ、微信群、智慧树等各种宣传手段开展安全教育知识宣讲,时刻注重实训室安全教育和警示,进一步增强学生的个人防范意识。实训室管理人员在疫情防控中起着非常关键的作用,学校应该对其进行定期的防疫知识培训,可采取卷面或在线答题的模式进行测评,并对测评进行评分考核。通过培训,提高防疫意识和相关的专业处理知识。学校的上层管理部门要时刻重点强调实训室安全工作的重要性,并对实训室安全管理工作进行具体的部署,责任落实到人,统一思想,强化实训室安全意识^[7]。

2.2 群策群防,发挥大学人的作用

实训室安全工作需要每个大学人贡献自己的一份力,特别是疫情期间,假如人人都献出一份力,实行群策群防的措施,可以及时发现疫情的隐患所在,能在事故第一发生时间进行应急响应。进入实训室的学生除了自觉遵守疫情时期实训室所采取的措施,还要督促身边的同学,让每个大学人对可能发生的危机事件始终保持警惕,人员之间距离应保持在1~1.5 m,隔位就座,尽可能分散。实训室上课期间,大学人自觉及同伴不要随意在课堂上走动,实训小组成员在讨论实训内容要保持适当距离,应尽量减少不必要的接触,避免聚集性感染和交叉感染。

2.3 加大投入,改善实训室设备使用安全,提高个人防护

实训室要重视消毒,实训课后学生使用完后,实训室地面要及时清洁和消毒,多开门窗进行通风和空气消毒,定期做好清理和消毒通风系统的计划,使用过的仪器面板、开关等接触点用酒精进行消毒,对实训室的实验台面和地面用稀释后的84

消毒液(含有效氯1 000 mg/L)等对物体表面进行消毒和拖地,每次上完实训课,指导安排值日生进行消毒和拖地。84消毒液会有一些的腐蚀性,实训室管理员要手把手教值日生配制不同浓度的消毒液,注意84消毒液不同浓度具有不同的消杀效果且宜现配现用。实训室要把消毒工作当作日常必做工作,疫情期间实训室平时若没有安排实训课也必须每日开门开窗通风,通风首选自然通风,每日通风时间不少于1 h。有部分实训室必要时可选用紫外灯进行消毒,因用紫外灯消毒完,实训人员最好不要马上进入实训室,此时可利用上午3,4节实训课后及下午5,6节实训课后进行紫外消毒。不管是采用自然通风或紫外灯消毒,实训室管理员都要及时做好消杀工作记录,让所有防控工作可溯源性。若资金充足条件允许情况下,实训室应多配备一批仪器,两批仪器轮流消毒交替使用,减少因操作者使用的手部交叉污染。若资金有限无法购买多余仪器或实训课换课时间太短,来不及对已使用过的仪器设备进行消毒,此时实训室应配备足够的一次性手套,让学生戴手套操作仪器。根据实训性质和安全防护要求,学校要为学生配备足够的防护用品、手套、防护面罩及防护服等防护装备,有了这些防护装备,学生就多了一道保护屏障,并注意定期更换防护用品,严禁交叉使用。通常一次性防护用品使用后不再重复使用。若资金短缺或防护服、护目镜等物资储备不足时,可以先将防护用品用含有效氯2 000 mg/L的消毒剂浸泡40 min进行消毒后,再进行清洗,以备短暂的重复使用^[8]。

在实训室水槽旁和厕所边配备洗手液,并把七步洗手法流程上墙,以此引导学生勤洗手及正确洗手,勤洗手是预防病毒感染的有效措施。对于来实训室上课学生所丢弃的一次性口罩,要指引其放入专门的医用垃圾回收箱中,集中收集,严格按流程及时进行统一的处理。

2.4 完善实训室安全管理制度

(1)实训课准入审批制度 实训室的使用优先安排专业性、强实操性强的课程或者必须依托实训室仪器设备的课程,其他简单的基础实验及验证性实验可以通过校内教学平台,利用校内各种虚拟仿真软件或录制实训实操视频让学生理解实训内容和模拟实操动作来完成。进入实训室的人员名单,要严格把控,最好由二级学院核实该课程确实只能通过进入实训室实操才能完成,经请示学校疫情防控领导小组及教务处,审核通过后才能准入实训室。为防止大量学生聚集,上实训课时可以分批次来实训室完成实践操作进行小班式实训课。

(2)准入人员健康监测 所有进入实训室的人员都要做好登记,并进行体温测量,凡出现发热或有异常症状者不得进入实训室,并立即上报学校并送医。对实训室管理人员更要加强健康跟踪,不要随意在不同省份流动,出市出省要提前报备,每日进行体温测量并做好登记建立健康档案,若有异常要及时上报并做好自我隔离,平时进入实训室与学生接触必须戴防护口罩与手套。

(3)实训课错峰上下课 为了防止实训课后大量学生涌入食堂造成聚集,可按照学院、所在楼层等区别实训课可实行错峰上下课,尽可能减少不必要的聚集现象,避免校内交叉感染。

(4)实训室安全管理 各实训室安排好管理人员,登记每日的实训班级、实训课名称、实训室使用时间以及体温等健康信息;督促实训师生填写教学设备使用登记表;实训课程开始前,管理人员应当开门开窗通风,在实训室醒目位置张贴佩戴口罩等标识并督促师生执行。进入实训室前就对实训人员进行体温测量,体温异常者要登记并上报学校,将其送入临时隔离室,协助学校医务人员做好相关的排查。每次实训课结束,要尽快清理实训人员丢弃的口罩、手套等废物,按规定分类收集放置作统一处置。

2.5 加强实训室安全管理的督查工作

学校层面和学院层面通过组织定期或不定期的实训室安

全检查工作,及时发现实训室存在的安全隐患问题,一一排查并进行定时限的整改,整改事项在校内进行通告。实训室督查工作除了对存在的隐患和整改措施进行排查,还要重点排查实训室管理制度是否有落实到位,此举能进一步推动实训室各项管理制度的实施。在实训室安全督查过程中,认真做好安全检查总结,对风险点要进行有效管控,及时对安全隐患进行整改,整改工作要形成闭环检查,直到检查到整改合格为止,才能有效遏制安全事故的发生^[9]。实训室内部管理人员要时刻进行自检工作,将安全责任落实到人。疫情期间,实训室的通风设备以及消毒工作尤为重要,避免由于通风设备堵塞而带来的安全问题。通过有组织安全督查工作,让实训管理者不断丰富自身的安全知识,树立起安全意识^[10]。

3 结语

疫情期间如何做好实训室疫情防控工作已成为高校面临的一个重要的课题,目前进入后疫情时期,实训室安全管理工作更不能掉以轻心,本文通过阐述实训室安全管理的状况,就实训室安全管理提出建议,希望建立完善的实训室安全管理制度^[11],加强师生对疫情有正确的防护意识,把疫情造成的影响降到最低,保证实训人员安全^[12]。

参考文献

- [1] 王洋洋.后疫情时期高校实训室传染病危机管理研究[J].中国教育技术装备期刊,2020,12(23):12-13.
- [2] 焦昕倩,董招君,牛姝.高校实验室安全管理现状分析及对策研究[J].教育教学论坛,2020(21):25-27.

(上接第180页)

3 结语

除废液、废固外,废水及废气的处理处置也成为管理的重点。实验室废水须单独收集进行预处理,实时在线监测水质,确保排放水符合排放标准。废气可通过吸附、催化等处理,达标后方可排放,防止污染空气。

随着新固废的实施,危险废物的管理越来越规范,实验室危险废物的产量可能随之增加,因此,源头控制和合理的处理方案是危险废物减量化的关键。如酸、碱废液和某些低浓度的低毒性重金属废液,在产生之初利用简易的处理方法在实验室自行处置可降低危险废物的产量,更多的处理技术有待开发^[7-9]。

实验室危险废物的安全管理工作是实验室工作的重要组成部分,高校领导应高度重视,统筹规划做好相关工作。管理人员应及时有效地学习国家的相关法律法规,积极宣贯相关人员,做好实验室危险废物的安全管理工作。危险废物的产生是每个应明白科技发展与环境保护并重,减少危险废物的产生是每个不可推卸的责任,探索危险废物减量化方法。

参考文献

- [1] 王羽,宋阳,李兆阳,等.高校实验室危险废弃物暂存库建设

(上接第182页)

构建更加规范的实验室安全管理模式,创建平安校园。

参考文献

- [1] 王东浩,牛俊峰,王世强,等.高校生物类实验室实验安全现状探究[J].实验科学与技术,2022,20(1):118-122.
- [2] 吴茜,刘中华,陈绪峰,等.高校实验室现场管理研究[J].实验科学与技术,2022,20(1):144-149.
- [3] 王大刚,曾玉祥,潘成军,等.高校实验室安全管理和建设

- [3] 黄坤,李彦启.我国高校实验室安全管理现状分析与对策[J].实验室研究与探索,2015,34(1):280-283.
- [4] 姜英波.加强实验室安全管理,建设平安和谐校园:以浙江大学宁波理工学院为例[J].高校实验室工作研究,2016(3):97-98.
- [5] 赵明,宋秀庆,祝永卫,等.新形势下高校实验室安全管理现状与策略研究[J].实验技术与管理,2018,11(35):6-23.
- [6] 王雅士,兰文波,李倩如,等.高校实验室危险化学品安全管理现状及策略探讨[J].广东化工,2021,48(1):189-203.
- [7] 吴志刚,左林贵,果雅静.高校实验室安全管理工作探讨[J].实验室研究与探索,2019,38(9):303-305.
- [8] 王海文,田昌昊,龚丽娟,等.后疫情时期本科创新实践实验室安全管理探讨[J].化学工程与装备,2021(9):288-289.
- [9] 吴志刚,左林贵,果雅静.高校实验室安全管理工作探讨[J].实验室研究与探索,2019,38(9):303-305.
- [10] 代露,王春梅,周永杰,等.规范国内高校实验室安全管理对策研究[J].广东化工,2019,46(21):163-176.
- [11] 赵鹏.浅析高职院校实训室安全管理工作存在的问题和改进措施[J].科技视界期刊,2021,12(4):10-11.
- [12] 高淑芹,平梅.新时期高校实验室安全管理分析及对策[J].实验室研究与探索,2007(10):149-152.

(本文文献格式:冯白茹,莫颖华,林嘉丽.后疫情时期下职业院校实训室安全管理模式的研究:以惠州卫生职业技术学院为例[J].山东化工,2022,51(22):183-185.)

- 设与管理[J].实验技术与管理,2021,38(1):259-263.
- [2] 赵雨霄,白亮,马庆,等.实验室危险废物“治管服”工作探究[J].实验室研究与探索,2021,40(10):305-308.
- [3] 高红梅,高增安,刘义全.高校实验室危险废弃物管理研究与思考[J].实验技术与管理,2017,34(12):293-296.
- [4] 姚程飞,仲红艳,苏文,等.高校实验室危险废弃物管理现状与发展趋势[J].山东化工,2021,50(21):67-68.
- [5] 林程涛,陈梦.浅析高校实验室废弃物流程化管理思路[J].山东化工,2021,50(13):230-231.
- [6] 新艳.环保管家对企业危险废物管理提升的探索[J].皮革制作与环保科技,2022,3(1):66-68.
- [7] 赵宏亮,卢凡.高校实验室危险废物管理问题与对策[J].实验技术与管理,2018,35(7):255-258.
- [8] 尚翠,彭亮,周细红,等.高校实验室危险废弃物管理机制探索[J].教育教学论坛,2020,32(32):37-38.
- [9] 施岱松.高校实验室化学废液处理办法与探讨[J].实验室研究与探索,2015,34(4):286-288.

(本文文献格式:李雪梅,马彦琪,魏彦庆.实验危险废物的安全管理探索[J].山东化工,2022,51(22):178-180+185.)

- 探索[J].实验室研究与探索,2020,39(7):296-299.
- [4] 宿艳,戴岳,杨金辉,等.高校化学实验室安全体系的构建与实践[J].实验科学与技术,2021,19(3):142-145.
- [5] 毕嘉益,夏焕章,刘岩峰,等.高校仪器共享平台安全管理研究[J].实验科学与技术,2020,18(5):156-159.

(本文文献格式:王桂荣,韩效杨,杨魁星.实验室安全管理探析[J].山东化工,2022,51(22):181-182+185.)

主管：河北省卫生和计划生育委员会
主办：河北省疾病预防控制中心

ISSN2095-1752
CN13-1405/R

医药前沿

YIYAO QIANYAN

2018年1月 第8卷 第3期

JOURNAL OF
FRONTIERS OF
MEDICINE

Volume 8 Number 3
January 2018

ISSN 2095-1752



9 772095 175116

03>

中国核心期刊（遴选）数据库收录期刊
中国数字化期刊数据库全文收录期刊
中国期刊网

循环管理模式在合理控制医院药品收入占比的应用分析

郭林 郭春连 杨水平

(惠州市第一人民医院药学部 广东 惠州 516001)

【摘要】目的:对循环管理模式在合理控制医院药品收入占比的应用效果进行分析及判定。**方法:**回顾性分析本院2015年2月至2016年1月期间的医院药品收入管理模式,并于2016年2月至2017年1月期间实施PDCA循环措施,并将PDCA循环措施实施前后的结果进行对比。**结果:**PDCA循环管理模式干预后,其药品收入及收入占比均优于实施前,且处方合格率显著高于实施前, $P < 0.05$ 。**结论:**采取PDCA循环管理模式对医院药品收入进行控制,可提高合理用药的质量,控制用药比,以此提高患者整体的用药质量。

【关键词】循环管理模式; 医院药品; 收入占比; 用药合格率**【中图分类号】**R95**【文献标识码】**A**【文章编号】**2095-1752(2018)03-0379-01

近几年来,国家实施相关政策从而对“以药养医”的现状进行改变,以此缓解了人民群众治病难,治病贵等常见的问题,本研究于2016年2月始对本院药品收入占比情况进行控制,引入先进的管理模式,以此对医药的合理占比进行控制^[1]。有研究表明,PDCA循环是以计划、实施、监管及结果处理等四个阶段而形成的封闭式循环系统,具有较好的控制效果^[2],本研究探讨循环管理模式在合理控制医院药品收入占比的应用效果,回顾性分析2015年2月至2017年1月的管理模式,以此体现PDCA循环措施于合理控制医院药品收入占比的应用价值,具体报告如下。

资料、方法

1.1 资料

回顾性分析本院2015年2月至2016年1月期间的医院药品收入管理模式,并于2016年2月至2017年1月期间实施PDCA循环措施,并以PDCA循环措施实施前后的具有处方开具资格的医师作为本次研究的调查对象,其中男性医师61例,女性医师39例,年龄平均值为 (45.25 ± 10.13) 岁。

1.2 方法

回顾性分析本院2015年2月至2016年1月期间的医院药品收入管理模式,并于2016年2月至2017年1月期间实施PDCA循环措施,如下:

(1) 计划:制定本院各科药物的使用比例,为对药品费用的非理性增长进行组织问题研究,以此将收入中药物构比降低,本院开展研讨会议,召集各学科专家参与会议的研讨及论证,以本院近期的实际药物占比情况为基础,明确服务对象、性质,规划宏观药物占比的指标,再依据其用药的具体情况予以梳理,对各学科的药物占比及各个门诊、住院医师的药物占比的考核标准进行制定^[3]。

(2) 实施:有效的结合医师的绩效及药物占比,联合医务、药剂及财务科等部门采取监控,利用院内信息系统,行每月统计,将各科室、临床医生的用药占比进行公布,对于控制稳定的予以奖励,超过控制占比的予以绩效处罚,并依据具体情况通报批评甚至开除。

(3) 监管:实施药品占考核制度,临床药师对于医师的处方、病理进行随机抽查,并行点评,开展药物治疗委员会及药事管理会,经专家研讨不合理处方的病例,并公示于全员。

(4) 结果处理:在医院的公告栏或内网将不合理处方数据及相关医师名单公布,对于占比控制较好的科室、医师进行奖励,对于药物收入控制较差的科室的医师,要求其进行自我剖析,并予以分析、总结,制定新一轮的改进方案,将未解决的问题、新发现的问题转入下一轮循环当中。

1.3 观察指标

观察并统计PDCA循环管理措施实施前后的药物收入占比及

处方合格率。本研究抽取PDCA循环管理前后的处方,各1000张。

1.4 统计学处理

观察并统计PDCA循环管理措施实施前后的药物收入占比及处方合格率,用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示为计量数据, t 检验,用百分比形式表示为计数数据,卡方检验,在用SPSS 20.0软件核对后,当各指标数据有差别时,用 $P < 0.05$ 表示。

2. 结果

PDCA循环管理模式干预后,其药品收入及收入占比均优于实施前,且处方合格率显著高于实施前, $P < 0.05$ 。如表1。

表1 对比PDCA循环管理模式干预前后的药品收入及收入占比

时间	药品收入(元)	业务收入(元)	收入占比(%)	处方合格率(n, %)
实施前	123680.48±5203.44	288749.59±5216.36	42.83%	643(84.30)
实施后	92438.16±5397.79	287868.52±5637.19	33.13%	957(95.70)

3. 讨论

有研究表明,控制医院内药物收入占比,不仅可纠正不规范的处方开具,提高患者用药的安全性,还可改善日益紧张的医患关系,提高患者用药的满意度,保证医院名誉。

本文研究数据显示,在行PDCA循环管理措施后,PDCA循环管理模式干预后,其药品收入及收入占比分别为92438.16±5397.79元、收入占比为33.13%,均优于实施前,且处方合格率为95.70%,显著高于实施前, $P < 0.05$,表明PDCA循环管理可纠正处方不合理使用现象,主要包括联合用药不适宜、重复给药、适应症不适宜及联合用药不适宜等问题。在对PDCA循环管理实施阶段,部分医师会为了使自己的药物收入占比不超标,会通过开展多项辅助检查降低药物占比,针对此类行为,医院部门逐步开展临床路径,以此使得医院的服务对象可减少费用开支,以此促进PDCA循环管理模式的实施,本研究通过计划、实施、监管及结果处理四个步骤,对医师开具处方的行为进行监督、分析及改进,以此降低处方不合格率,减少药物收入占比,以此达到预期要求。

综上所述,采取PDCA循环管理模式对医院药品收入进行控制,可提高合理用药的质量,控制用药比,以此提高患者整体的用药质量。

【参考文献】

- [1] 叶立新. 循环管理模式在合理控制医院药品收入占比的应用[J]. 中国医药, 2013, 8(10): 1462-1464.
- [2] 李杰. 加强医院药事管理, 控制医药费用的研究[J]. 天津药学, 2016, 28(4): 77-78.
- [3] 罗新. PDCA循环管理在病区药品管理中的应用分析[J]. 中国社区医师, 2016, 32(3): 189-190.