

天然药物化学课外实践教学中引入综合性实训的探讨*

吕华瑛 宋丽丽 崔海燕 王琳

(山东中医药高等专科学校, 山东 烟台 264199)

摘要: 在本校药学专业学生的天然药物课外实践教学中引入综合性实训, 目的是引导学生将所学基础知识与技能应用到具体实践中, 锻炼学生分析解决实际问题的能力, 帮助其建立科学的思维和方法, 使其具备初步科学研究的能力, 为学生进入本科学习阶段打下坚实的基础。

关键词: 天然药物化学 课外实践教学 综合性实训

中图分类号: C40 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-9082 (2022) 10-0154-03

综合实训, 即在具体的实训项目中涉及多方面专业知识或多个实践环节的知识技能。采用综合实训的方式, 一方面将有利于提升学生的综合分析能力; 另一方面则能进一步拓宽学生的知识面, 从而提升学生解决实际问题的能力。

我校药学专业自从招生以来, 生源一直较好, 学生普遍具有较好的化学基础, 天然药物化学课程开设在大学二年级, 在此期间, 有机化学、分析化学、仪器分析、生药学、药理学等课程都已开设, 学生具备了初步开展科研活动的专业知识储备, 为了锻炼学生综合运用所学知识开展科学探索的能力, 培养学生的科学思维和创新意识, 我们成立了课外实践活动小组, 在课外实践活动小组中通过开设综合性实训锻炼学生的动手能力, 分析解决实际问题的能力以及通过思考总结提炼自己观点的能力, 经过几年实践, 取得了较好的效果。本文以综合性实训“玉米须中多糖的含量测定及其药理作用研究进展”为例, 介绍这一方法的具体实施过程。

玉米须是禾本科植物玉蜀黍米 (*Zea mays* L.) 干燥的花柱和柱头, 又名玉麦须, 玉蜀黍蕊, 在《滇南本草》中最早有玉米须的药用记录^[1]。玉米须味甘、淡, 性平, 具有利尿解热、保肝利胆的功效, 可用于治疗肾炎性水肿、胆结石、糖尿病、湿热黄疸、高血脂、高血压等疾病^[2], 具有较大的研究价值。玉米须中含有多种化学成分, 如: 黄酮类、皂苷类、生物碱类和多糖类等。目前对多糖类和黄酮类成分的研究比较多, 已有很多成熟的方法和技术。我国是玉米生产大国, 玉米须资源十分丰富, 我校驻地山东烟台, 本地玉米种植范围也非常广泛, 但玉米须往往被当做农作物的副产品被丢弃, 所以玉米须具有价格低廉、易于

收集、经济和社会前景广阔的特点, 非常适合学生进行课外科研探索。我们的具体实施如下:

一、布置任务, 查阅文献, 确定研究方法

因为在“玉米须中多糖的含量测定及药理作用研究进展”中需要用到药理、药材中的化学成分研究等相关知识, 综合性较强, 所以我们将这个课外实践活动放在学期的中后时间段实施, 此时教师对学生的具体情况比较熟悉, 学生也已经在各个实训室进行了一些专业课程的实训活动, 对科研活动的一般步骤都有所了解, 对独立进行科研活动普遍兴趣较高, 积极性很高。实践初期, 教师先根据具体情况将学生分成6个兴趣小组, 引导大家通过课余时间查阅文献资料, 综合比较, 确定实验方法。最终通过综合比对, 我们确定以葡萄糖为对照品, 用苯酚-硫酸法显色, 采用紫外-可见分光光度法测定玉米须多糖的含量。

二、实践过程的组织与开展

1. 选择仪器与培训

本次实验需要用到紫外-可见分光光度计、十万分之一分析天平等精密仪器。实验开始前, 先对学生进行仪器操作培训, 此时学生学习动力非常大, 劲头非常足, 培训效果远远超过上课效果。

2. 配制葡萄糖标准溶液

引导学生根据文献资料及之前科研探索的经验, 最终确定配制方法如下: 先配制葡萄糖标准溶液 (1mg/mL), 再精密吸取葡萄糖标准溶液0、20、40、60、80、100、120、140 μ L, 置于25 mL比色管中, 加水补足到5 mL, 加入4%苯酚溶液1 mL, 混合均匀后, 加入浓硫酸5 mL, 40℃水浴中持续反应15 min, 另置冰水浴中5 min^[3-4]。

* 本文系山东省职业教育教学改革研究项目: 高职药学专业“二元三岗三递进”人才培养模式的创新与实践 (编号: 2019533)。

3. 测吸光度, 绘制标准曲线

将紫外-可见分光光度计空白调零, 在 490 nm 下测定吸光度。指导学生绘制标准曲线。以 D-无水葡萄糖浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。引导学生通过回归方程, 判断 D-无水葡萄糖的浓度与吸光度值呈良好线性关系的范围。

4. 供试品溶液的制备

玉米须供试品溶液的制备比较难, 需要大量查阅文献, 通过实验不断摸索合适的实验条件, 经过各个小组的共同努力, 最终确定了制备方法如下: 称取玉米须 40 g, 加水 600 ml, 加热回流 2 小时, 提取液加 2% 粉末活性炭于 50℃ 脱色 20 min, 4000 r/min 离心 10 min 取上清液, 加入乙醇使含醇量达 75%, 充分振摇混匀, 置冰箱中冷藏放置过夜。将冷藏过夜后的溶液移至离心管中 4 000 r/min 离心 10 min, 残渣用 95% 乙醇洗涤 3 次, 每次 20 mL。将洗涤后的残渣用蒸馏水溶解, 80℃ 水浴蒸干得粗多糖。精密称取粗多糖 0.2g, 置于 50 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 备用^[5-7]。

5. 测定多糖含量

让学生查阅测定多糖含量的方法, 并比较各种测定方法的优缺点, 最终确定采用苯酚-硫酸法测定。方法如下: 精密量取供试品溶液 1 ml, 定容至 10 ml 容量瓶中, 得待测样品溶液。再精密量取待测样品液 1 ml 置于具塞试管中, 加入 5% 苯酚水溶液 1 ml 后, 迅速加入浓硫酸 5 ml, 摇匀, 在 40℃ 水浴中反应 15 min 后, 另置于冰水浴中 15 min, 终止反应, 以水为空白对照同法显色, 在 490 nm 处测定^[8]。

6. 精益求精, 进行精密性、稳定性与重复性试验

科学研究讲求实事求是, 需要科研人员严谨、细致, 一丝不苟, 因此需要进行精密性、稳定性、重复性试验, 以保证结果的准确性。为了培养学生的科研意识, 我们首先让学生查阅并比较这 3 项试验的区别, 了解做这 3 项试验的意义, 通过理论联系实际, 加深对知识的理解与掌握。

6.1 精密性试验

精密性是指在同一条件下, 用同一方法对某一物理量或物质中某一成分含量测定多次时, 所测得各数值间相互接近的程度, 常以相对标准偏差 RSD 表示。精密性用以表示测量方法的重现性。

实践中, 要求各活动小组取同一组粗多糖供试品溶液连续测定 10 次, 记录吸光度并计算 RSD 值, 据此判断仪器性能是否良好, 操作是否精确。

6.2 稳定性试验

稳定性试验的目的是考察原料药或药物制剂在温度、湿

度、光线的影响下随时间变化的规律, 并通过试验建立药品的有效期。

实践中, 各小组精密量取粗多糖供试品溶液, 按样品测定方法测定, 显色反应完成后 0~1h 内每隔 10 min 测定 1 次。结果显示, 该法在 1h 内样品稳定。

6.3 重复性试验

重复性试验的目的是验证相同的方法, 同一试验材料, 在相同的条件下获得的一系列结果之间的一致程度。

实践中, 指导各小组取同一批样品, 按照供试品方法制备, 测定吸光度, 计算粗多糖含量并计算 RSD 值, 引导学生查阅相关知识, 确定实验合理的重复性 RSD 值范围, 并据此判断各自小组的实验重复性情况。

7. 加样回收率试验

加样回收率试验的目的是在没有被测物质的空白样品基质中加入定量的标准物质, 按样品的处理步骤分析得到的结果与理论值的比值。利用加样回收率的测定结果来反映测试结果的准确度。

在实践活动中, 6 个实验小组分别精密吸取已知含量的供试品溶液 1 份, 分别加入不同量的葡萄糖对照品溶液, 测定溶液加样前后的多糖含量, 计算回收率。6 个小组的回收率结果见表 1。

表 1 总多糖加样回收率实验结果 (n=6)

原有量 (μg)	加入量 (μg)	测定量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
20.04	16.12	36.17	100.06		
20.04	16.12	36.03	99.19		
20.04	20.15	39.78	97.97	99.32	1.51
20.04	20.15	40.06	99.35		
20.04	24.18	44.64	101.74		
20.04	24.18	43.64	97.60		

8. 样品中总多糖的含量测定

指导各实验小组按 2.4 项下供试品溶液的制备方法, 按 2.5 项下多糖含量测定方法进行测定, 某小组玉米须多糖含量测定结果见表 2。

表 2 玉米须多糖的含量 (n=3)

样品	多糖含量 (%)	平均值 (%)
1	0.92	
2	0.86	0.91
3	0.94	

9. 讨论总结

引导学生科学分析实验数据, 讨论本次实训所采用的紫外-可见分光光度法测定玉米须多糖含量方法的可行性, 结果表明, 该方法稳定、可行, 可作为玉米须多糖的含量测定方法。

三、查阅文献, 总结玉米须多糖药理作用研究进展

通过实训, 实践活动小组发现玉米须中多糖含量较高, 那么玉米须中的多糖有何应用呢? 我们开展玉米须中多糖含量的测定意义何在呢? 我们指导布置课外活动小组的同学们查阅文献, 总结玉米须多糖的药理作用有哪些。经过各小组对最新的文献梳理研究发现: 玉米须多糖在抗菌、抗氧化、调节免疫、降血糖、抗肿瘤、利尿、止血、保肝等方面都有一定的药理作用^[9-17], 证明玉米须多糖具有很好地开发和利用价值。

结语

本次课外实践活动, 综合利用了天然药物化学、分析化学、生药学、仪器分析和药理等学科的专业知识。学生通过小组合作, 从亲自查阅文献, 拟定实验方法, 亲自动手操作, 摸索合适的实验条件, 到根据各种实验结果进行分析与讨论, 最后得到总结, 进行了一次完整的科研活动。不仅使学生对科学研究的基本环节和思路有所了解, 而且加强了学生的基础实验技能, 对学生查阅、整理文献的能力、团队沟通协作能力和分析问题总结问题的能力等也都有极大地提高。通过几个学期课外实践活动的开展, 我们发现在天然药物化学课外实践教学中引入综合性实训能够使学生对科研活动有更加具体直观的认识, 使学生不再对科研有畏难或不切实际的幻想, 提高了学生的自主学习能力和创新意识, 有助于其建立科学的思维和方法, 使其具备进行初步科学研究的能力, 为学生将来进入本科学习阶段打下坚实的基础。

参考文献

- [1] 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977. 777
- [2] 张佳佳, 何志涛, 王新茹, 等. 玉米须多糖药理作用研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(1): 64-66.
- [3] 周伟斌, 周学锋, 王宇阳, 等. 中药多糖成分前处理及检测方

法研究进展[J]. 分析测试学报, 2020, 39(9): 1168-1175.

[4] 陈燕萌, 招幸辰, 张鹏. 响应面优化水提法提取玉米须多糖的工艺研究[J]. 山东化工, 2021, 50(11): 49-52.

[5] 王晴, 钱玉梅, 李红侠, 等. 玉米须多糖高效提取工艺及生物活性研究[J]. 佳木斯大学学报(自然科学版), 2020, 38(2): 110-113.

[6] 王恒禹, 罗云凤, 姜京华, 等. 玉米须多糖的提取纯化及结构研究[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2019, 40(1): 44-49.

[7] 宫春宇, 刘羽婷, 单佳明, 等. 玉米须多糖的乙醇沉淀分离及体内免疫调节作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(1): 143-147.

[8] 杜洪志, 陈子愉, 覃春叶, 等. 不同产地对叶百部总多糖的含量测定[J]. 微量元素与健康研究, 2021, 38(4): 31-32.

[9] 刘东琦, 韩雪, 石俊姣, 王喜庆. 玉米须多糖不同提取方法对体外活性的影响[J]. 农产品加工, 2021(07): 36-38.

[10] 李新, 李凌, 刘慧卿. 玉米须多糖对肉鸡血清生化指标及抗氧化能力的影响[J]. 中国饲料, 2020(17): 63-66.

[11] 王明, 王贺元. 玉米须多糖对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用研究[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(8): 1315-1318.

[12] 宫春宇, 单佳明, 邢悦, 余世锋. 玉米须多糖体内免疫调节作用研究[J]. 食品科技, 2020, 45(5): 191-195.

[13] 胡玉立, 丁雷, 李梅, 刘玮, 赵丹, 吴丽丽, 秦灵灵, 刘铜华. 玉米须多糖对糖尿病大鼠的糖脂代谢及PGC-1 α 蛋白糖异生信号通路的影响[J]. 环球中医药, 2021, 14(6): 1000-1006.

[14] 吴先闯, 杜钢军, 郝海军, 宋晓勇, 刘瑜新, 刘伟杰. 玉米须多糖对H₂(22)荷瘤小鼠的肿瘤抑制作用及其对小鼠免疫功能的影响[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(1): 26-29.

[15] 董长颖, 赵玉青, 刘波. 玉米须水提物的利尿作用及抗菌活性研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014(3): 149-151.

[16] 杜娟, 许启泰. 玉米须多糖的止血作用研究[J]. 河南医学研究, 2011, 20(4): 398-400+403.

[17] 舒涛, 王浩然, 李恩丞, 金颖新, 谷青芸, 尤清欣, 李子轩, 张东东, 梁衍锋. 玉米须多糖对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏miR-146a/NOX4/ROS通路的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2020, 43(4): 10-12.