

基于指示剂置换法的肝素含量测定 ——推荐一个分析化学综合设计性实验

张自品^{1,*}, 赵祖志²

¹ 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012

² 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032

摘要: 介绍一个由科研成果转化的分析化学综合设计性实验“基于指示剂置换法的肝素含量测定”。本实验基于指示剂置换法的分析原理,以甲基紫精(MV²⁺)作为肝素受体,以8-羟基芘-1,3,6-三磺酸三钠盐(pyranine)作为光学指示剂,基于MV²⁺和肝素、pyranine之间结合能力的不同,利用加入肝素后pyranine-MV²⁺体系的紫外-可见光谱吸光度的变化,实现对肝素的定量分析。

关键词: 分析化学; 综合设计性实验; 指示剂置换法; 肝素

中图分类号: G64; O6

An Indicator Displacement Assay (IDA)-based Analytical Method for Heparin Detection: A Comprehensive Experiment in Analytical Chemistry

Zipin Zhang^{1,*}, Zuzhi Zhao²

¹ School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China.

² School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, China.

Abstract: Herein we describe a comprehensive experiment designed for laboratory teaching of analytical chemistry. The experiment was developed based on the results of one of our recent studies. Methyl viologen (MV²⁺) and 8-hydroxypyrene-1,3,6-trisulfonic acid trisodium salt (pyranine) were used as the heparin receptor and optical indicator, respectively. Once heparin was introduced in the reaction system, competitive binding led to pyranine displacement, thereby resulting in changes in the UV-Vis absorbance of the pyranine/MV²⁺ system. Using the changes in UV-Vis absorption as the output signal, heparin concentration can be accurately measured using the IDA-based method.

Key Words: Analytical chemistry; Comprehensive design experiment; Indicator displacement assay (IDA); Heparin

分析化学是研究物质的组成和结构,确定物质在不同状态和演变过程中化学成分、含量、时空分布和相互作用的测量科学。分析化学是一门实践性和应用性很强的学科,实验教学在其课程教学中占有重要地位,是培养学生创新能力的主要途径。目前在分析化学实验教学中设置的实验项目主要是验证性实验,验证性实验可以培养学生熟练地掌握基础知识、基本实验技能以及加深对基本理

收稿: 2022-12-05; 录用: 2023-01-16; 网络发表: 2023-02-06

*通讯作者, Email: zpzhang@ahtcm.edu.cn

基金资助: 安徽省自然科学基金面上项目(2008085MH293); 安徽省高校自然科研项目重点项目(2022AH050459); 安徽省2020年省级质量工程项目(2020MOOC265); 安徽医科大学国际教育类教改项目(gjjyxm202011)

论的理解。但在长期的实践教学过程中我们深刻地意识到,现有的实验教学对于培养学生独立思考、解决实际问题能力,尤其是对于培养和训练学生的科研素质和实践创新能力是非常有限的。

2012年,教育部在《关于全面提高高等教育质量的若干意见》中提出,“探索拔尖创新人才培养模式,促进科研与教学活动,及时把科研成果转化为教学内容”。近年来,随着创新驱动发展战略的逐步实施以及高等学校创新创业教育的深化改革,高校正在全面提升创新能力,高等教育工作者也在实践中不断探索如何将高校的科研平台优势转化为教学优势,利用科研反哺教学从而促进教学质量的提高,也符合国家对创新人才培养的要求^[1-3]。因此,如何探索科研反哺教学的新途径、新思路,培养学生科学素养与创新能力,是高校面临的一个重要难题^[4-6]。推进教学与科研紧密结合,将先进、前沿的科研成果转化为适应基础教育的本科实验教学资源,推动教师把国际前沿学术进展和最新研究成果融入实验课堂教学,是改革实验教学体系和培养学生实践探索能力和创新能力的重要措施。因此在开设验证性实验的基础上,根据实际情况逐步开设基于科教融合的综合设计性实验,可以提高学生专业知识的综合运用能力、创新实践能力、分析和解决问题的能力,并且有助于培养学生的基本科学素养与团队合作精神^[7-9]。作者结合多年从事分析化学实验的教学经验,基于科研成果向教学实践探索转化的思路,对课题组科研成果进行筛选和提炼,将基于指示剂置换(indicator displacement assay, IDA)的肝素的分析新方法转化为本科生综合设计性实验教学项目^[10]。

肝素是一种荷大量负电荷的线性聚合糖胺多糖(结构式如图1a所示),自1935年起在临床上被广泛用作凝血相关疾病的预防和治疗药剂,尤其是用作手术中的抗凝血剂^[11]。但长期和过量使用肝素会引起诸如出血、血小板减少等副作用,因此肝素的剂量需要严格的监控^[12-14]。临床上用于肝素定量检测传统的方法是基于凝血原理和机制的方法,诸如活化凝血时间法(ACT)、活化部分凝血活酶时间法(aPTT)、和凝血酶原时间(pTT)等^[15-17]。这些方法具有耗时、价格昂贵、间接检测、数据不可靠等缺点。针对肝素传统分析方法的缺点,分析化学工作者们基于肝素的化学性质和特点设计合成了诸如主-客体复合物^[18]、聚合物和多肽^[19,20]、自组装微纳结构^[21]等,结合各种分析信号读出机制,建立了肝素的比色、UV-Vis光谱、和荧光、电化学等分析新方法。然而,这些方法大多不可避免地需要精巧复杂、耗时繁琐的合成步骤,因而开发低成本、简单快速、灵敏准确的肝素分析方法是十分必要的。

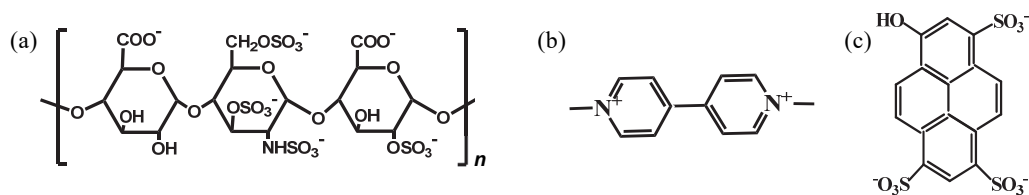


图1 (a) 肝素、(b) MV²⁺和(c) pyranine的化学结构式

指示剂置换法(IDA)是一种基于分析物对指示剂进行竞争取代,根据取代前后指示剂信号的变化对分析物进行定量的分析方法。这种方法中,指示剂和受体分子可逆结合,由于分析物和受体的结合力大于指示剂和受体的结合力,因而在引入分析物的情况下,分析物会取代指示剂和受体结合而引起指示剂信号的变化,因此利用指示剂信号的变化可以对分析物进行定量分析。基于IDA的分析方法无需复杂合成工艺和步骤,具有成本低、操作简单、指示剂选择灵活多样、灵敏准确等优势,近年来已逐步应用于分析和传感领域^[22]。作者课题组前期基于IDA的原理和技术,以甲基紫精(methyl viologen, MV²⁺, 结构式见图1b)作为肝素受体,以8-羟基芘-1,3,6-三磺酸三钠盐(pyranine, 结构式见图1c)作为光学指示剂,利用MV²⁺和肝素、pyranine之间结合的亲和力不同,利用pyranine光谱信号(紫外-可见光谱吸收和荧光强度)的变化,实现了肝素的定量分析。本方法操作简单、快速、结果可靠、成本低廉,适于血清、血浆以及肝素注射液中的肝素定量分析检测^[10]。

本文从分析化学的学科特点出发,基于科研与教学相互转化、相互促进、科研反哺教学的理念,以及科研成果向教学实践探索转化的思路,结合作者多年从事分析化学实验教学经验,对课题组科研成果进行筛选和提炼,将基于IDA策略和技术的肝素分析新方法转化为本科生综合设计性实验教学项目。选取该研究成果的紫外-可见光谱法部分的内容,将其设计成教学实验。其难度适中,内容新颖,创新性和综合性强,有利于培养学生的综合素质和实践创新能力。

1 实验目的

- 1) 巩固紫外-可见分光光度法的理论知识,掌握紫外-可见光谱仪的基本操作。
- 2) 了解指示剂置换法的原理;理解基于pyranine-MV²⁺体系用紫外-可见光谱法测定肝素的原理和策略;理解分析原理和方法上的多样性,了解分析化学新方法、新原理能够为解决实际问题提供技术支撑。
- 3) 掌握实验数据处理技能,理解分析化学中分析方法的线性、检测限、灵敏度等概念;
- 4) 提高学生综合运用知识能力、创新能力、实践能力、独立分析和解决问题的能力,以及培养学生的基本科学素养与团队合作精神。

2 实验原理

Pyranine是一种低毒、水溶性的有机光酸,在生理pH条件下荷负电,其结构如图1c所示。Pyranine通常被认为是 π 电子给体,它在紫外-可见区具有较强的吸收,可以作为光学指示剂^[23]。1,1-二甲基-4,4'-联吡啶阳离子,又称甲基紫精(MV²⁺),其结构式如图1b所示,通常被认为是 π 电子受体^[24-26]。如图2所示,pyranine和MV²⁺二者之间可以通过非共价作用结合生成pyranine-MV²⁺电荷转移复合物(CT complex I),该反应可在生理条件下快速完成,无需苛刻反应条件。正电荷的MV²⁺是肝素的有效受体,可以和肝素形成heparin-MV²⁺复合物(CT complex II),并且MV²⁺和肝素结合的亲和力大于和pyranine结合的亲和力。因此,当向pyranine-MV²⁺体系中加入肝素后,肝素会迅速置换出pyranine而和MV²⁺结合生成CT complex II,从而使pyranine从pyranine-MV²⁺复合物中游离出来。像这种基于指示剂pyranine和受体MV²⁺以及分析物肝素之间的竞争作用原理的分析技术被称为指示剂置换法。

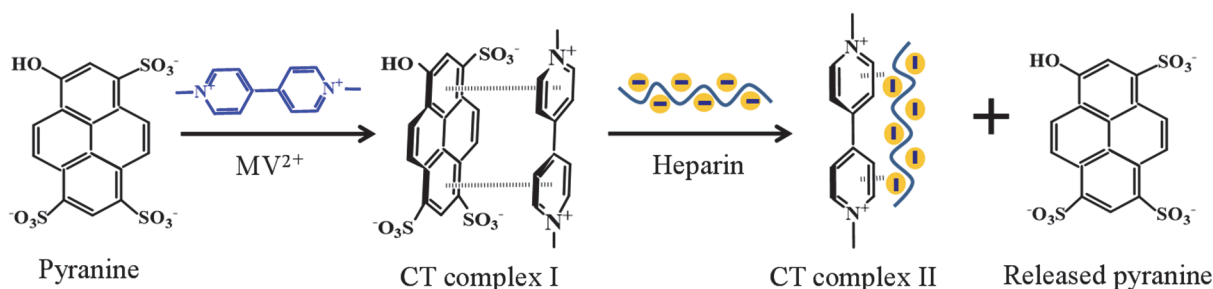


图2 基于pyranine-MV²⁺体系的肝素指示剂置换法的原理示意图

我们前期的研究结果表明,Pyranine酚羟基 pK_a 约为7.14,在水溶液中存在酚羟基的酸碱解离平衡。Pyranine酸式体和碱式体在紫外-可见区的最大吸收波长分别在405 nm和455 nm,在生理pH条件下(pH 7.4),游离的pyranine吸收光谱如图3黑线所示。相同条件下,往pyranine溶液中加入MV²⁺后,pyranine在405 nm的特征吸收峰显著降低,同时455 nm处的特征吸收红移至468 nm处,该结果表明二者生成了pyranine-MV²⁺复合物。而加入肝素至pyranine-MV²⁺体系后,体系则会立刻恢复pyranine的特征吸收,如图3蓝线所示。这是由于肝素-MV²⁺的结合亲和力大于pyranine-MV²⁺结合亲和力,肝素置换出pyranine。因而本实验基于指示剂置换法的原理,以pyranine-MV²⁺溶液作为测试肝素的测试溶液,用溶液在405 nm处的吸光度对肝素进行定量测定。

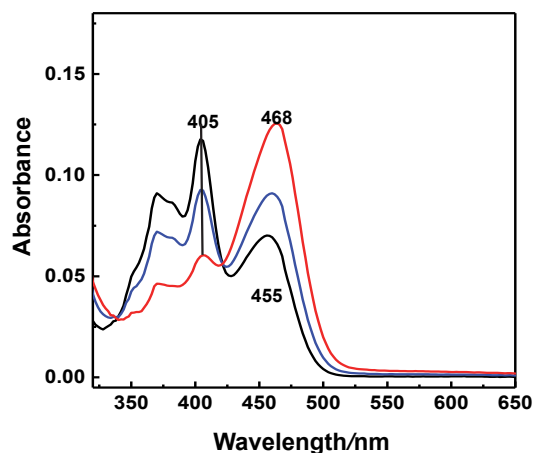


图3 基于pyranine-MV²⁺体系的指示剂置换法进行肝素定量分析的紫外-可见光谱验证和表征

10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine (黑线); 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine + 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MV²⁺ (红线);

10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine + 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MV²⁺ + 100 U·mL⁻¹ 肝素(蓝线); 以上溶液为25 mmol·L⁻¹ HEPES (pH7.4)

电子版为彩图

3 实验部分

3.1 试剂与仪器

甲基紫精(MV²⁺, 上海麦克林生化科技有限公司), 8-羟基芘-1,3,6-三磺酸盐(pyranine), 肝素, 葡萄糖、精氨酸、葡聚糖均购于阿拉丁试剂有限公司。牛血清白蛋白(BSA), 抗坏血酸(AA), 尿酸(UA), 三磷酸腺苷(ATP), 硫酸软骨素(CHS)购置于国药集团化学试剂有限公司, 透明质酸购于上海源叶有限公司。25 mmol·L⁻¹磷酸缓冲溶液(PBS)、25 mmol·L⁻¹三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)缓冲溶液、25 mmol·L⁻¹ 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)缓冲溶液均由实验前新鲜配制并用0.1 mol·L⁻¹ NaOH溶液调节至pH 7.4。实验中所用试剂和药品均至少为分析纯。

紫外-可见光谱测试实验采用Specord 205紫外-可见分光光度计(德国耶拿分析仪器股份公司)并配以1 cm石英比色皿采集紫外-可见吸收光谱, 光谱波长扫描范围为330–650 nm。采用移液枪进行测试样品的配制和移取。

3.2 实际样品处理

将成年雄性SD大鼠(200–250 g)随机分为对照组($n = 3$)和实验组($n = 3$), 经0.8%的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 mg·kg⁻¹, i.p.)后麻醉。对照组和实验组分别腹腔注射0.9%生理盐水(10 mL·kg⁻¹)和肝素(5000 U·kg⁻¹)。给药30 min后, 两组大鼠从腹主动脉取血, 然后转入含有所需量EDTA抗凝液的离心管中, 3000 r·min⁻¹离心15 min, 所得血浆用于紫外-可见光谱测试。实验结束后, 实验动物立即麻醉后断头处死。

3.3 实验内容和实验过程

3.3.1 实验原理和策略的紫外-可见光谱验证

以25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)为空白溶液, 在330–650 nm波长范围内, 采集背景光谱, 再以含10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine + 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MV²⁺、10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine + 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MV²⁺ + 50 U·mL⁻¹肝素的25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)为测试溶液分别采集测试溶液的样品光谱。引导学生以pyranine的紫外-可见光谱为依据, 判断加入MV²⁺后生成pyranine-MV²⁺复合物, 以及加入肝素进行指示剂置换后的紫外-可见光谱变化特点, 从而理解指示剂置换法的原理和基于pyranine-MV²⁺体系对肝素进行紫外-可见测定的原理和策略。

3.3.2 实验条件的优化

(1) pyranine和MV²⁺浓度的选择。

以25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)为空白溶液, 在330–650 nm波长范围内, 采集背景光谱。固定pyranine为10 μmol·L⁻¹, 分别考察pyranine: MV²⁺浓度比为1:1、1:2、1:5以及1:10时, pyranine-MV²⁺体系对0、1、2、5、10、以及20 U·mL⁻¹肝素的响应。并分别以不同浓度比的pyranine-MV²⁺在405 nm处的吸光度变化率 $\Delta A/A$ 对肝素的浓度作图, 进行线性拟合, 从而比较不同pyranine: MV²⁺浓度比条件下对肝素响应信号的大小和响应的灵敏度来筛选pyranine: MV²⁺最佳浓度比, 并能解释二者浓度比影响方法分析性能的原因。这里吸光度变化率 $\Delta A/A$, ΔA 为pyranine-MV²⁺溶液在加入肝素后和未加入肝素时在405 nm处的吸光度之差, A 为pyranine-MV²⁺溶液在未加入肝素时在405 nm处的吸光度。

(2) 缓冲溶液的选择。

缓冲溶液的和荷电性质会影响负电荷肝素和正电荷的MV²⁺的相互作用, 从而影响pyranine-MV²⁺体系对肝素的紫外-可见光谱响应, 因而本实验选用负电荷的PBS缓冲溶液、正电荷的Tris-HCl缓冲溶液, 以及两性缓冲溶液HEPES作为不同荷电性质的缓冲溶液的典型代表, 考察不同缓冲溶液对方法分析性能的影响。分别以25 mmol·L⁻¹, pH为7.4的PBS、Tris-HCl、和HEPES缓冲溶液为空白溶液采集背景光谱。再固定pyranine为10 μmol·L⁻¹, 根据(1)所获得的pyranine: MV²⁺的最佳浓度比, 分别考察在不同缓冲溶液中, pyranine-MV²⁺对0、1、2、5、10、20 U·mL⁻¹肝素的响应。并分别以不同缓冲溶液下pyranine-MV²⁺在405 nm处的吸光度对肝素的浓度作图, 进行线性拟合, 从而比较不同缓冲溶液条件下对肝素响应信号的大小和响应的灵敏度来筛选最佳缓冲溶液。

3.3.3 方法学考察

1) 线性。

根据3.3.2筛选的实验条件, 以25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)为空白溶液采集背景光谱, 以含有10 μmol·L⁻¹ pyranine和50 μmol·L⁻¹ MV²⁺的25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)作为测试溶液, 依次向测定溶液中加入一系列浓度的肝素, 采集样品光谱。以肝素浓度为横坐标, 以溶液在405 nm波长处的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 确定该方法的线性范围、建立线性方程。并理解分析方法的线性、灵敏度、检测限概念。建议肝素浓度从0.1 U·mL⁻¹开始逐渐增加到40 U·mL⁻¹。整个实验过程中, 为降低测试溶液的稀释因子和减小实验误差, 要求滴加肝素溶液的体积不超过测试溶液体积的3%。因此实验前需综合考虑肝素储备液的浓度以及移液枪的最小刻度等因素。

2) 选择性。

根据3.3.2筛选的实验条件, 以25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)为空白溶液采集背景光谱, 以含有10 μmol·L⁻¹ pyranine和50 μmol·L⁻¹ MV²⁺的25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)作为测试溶液采集样品光谱后, 再依次向测试溶液中加入1 mmol·L⁻¹葡萄糖, 50 μmol·L⁻¹尿酸, 50 μmol·L⁻¹抗坏血酸、2 μmol·L⁻¹多巴胺、2 μmol·L⁻¹ 5-羟色胺、0.1 mg·mL⁻¹牛血清白蛋白、2 μmol·L⁻¹精氨酸、10 μmol·L⁻¹ ATP、5 mg·mL⁻¹透明质酸、0.5 mg·mL⁻¹硫酸软骨素, 分别采集样品光谱。根据测定溶液在加入上述物质后在405 nm处吸光度是否有明显变化来确定这些物质是否对测定产生干扰。理解用该方法测定生理样品时, 需要考察哪些代表性内源性生理活性小分子和蛋白。思考并理解本实验项目中为何需要考察正电荷和负电荷的内源性小分子以及肝素的结构类似物。

3.3.4 实际样品的测定

对照组和给药组SD大鼠血浆均用25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)稀释10倍后作为待测样品。在3.3.2筛选的最佳实验条件下, 以25 mmol·L⁻¹ HEPES缓冲溶液(pH 7.4)采集背景光谱, 配制2 mL含10 μmol·L⁻¹ pyranine-50 μmol·L⁻¹ MV²⁺的25 mmol·L⁻¹ HEPES (pH 7.4)缓冲溶液作为测试溶液, 采集样品光谱, 再依次向测试溶液中先后加入10 μL对照组和给药组大鼠血浆, 分别采集样品光谱。分别测定加入血浆样品后405 nm处吸光度。实际样品平行测定3次, 根据3.3.3方法学考察中(1)线性中的线性方程计算对照组和给药组大鼠血浆中的肝素浓度值。注意, 计算时不要忽略了稀释倍数。

3.4 主要实验结果参考

根据我们前期的研究结果以及在小范围推行的学生实验结果, 这里提供本实验项目的主要实验结果以供执行本实验项目的老师和同学参考和借鉴。

1) Pyranine : MV^{2+} 最佳浓度比筛选结果。

固定pyranine浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 考察不同pyranine : MV^{2+} 浓度比的条件下, 以pyranine- MV^{2+} 体系在405 nm处吸光度对肝素在 $0.1\text{--}20 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围的响应, 参考结果如图4所示。结果表明, pyranine : MV^{2+} 浓度比在 $1:1\text{--}1:5$ 之间时, 随着 MV^{2+} 浓度的增加, pyranine- MV^{2+} 吸光度变化对肝素浓度响应的线性的斜率逐渐增大, 表明体系对肝素检测的灵敏度逐渐增加。而当 MV^{2+} 浓度继续增加时, 即pyranine : MV^{2+} 浓度比小于 $1:5$ 时, pyranine- MV^{2+} 体系对肝素检测的灵敏度又开始逐渐下降。这是因为, MV^{2+} 浓度增加, 由于形成了pyranine- MV^{2+} CT complex I, 降低了pyranine在405 nm处的吸光度, 因而降低检测肝素使的背景吸光度(如图3所示)。背景信号的降低有利于提高灵敏度。当 MV^{2+} 浓度太大时, 又会增加肝素置换pyranine的难度, 因而方法的灵敏度会下降。因此, 推荐pyranine : MV^{2+} 为 $1:5$ 为实验的最佳浓度比。

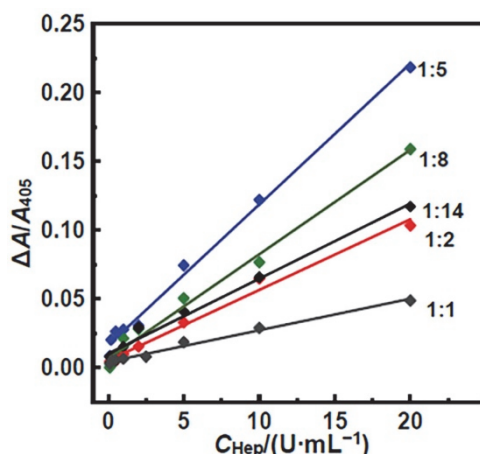


图4 不同pyranine : MV^{2+} 浓度比条件下, pyranine- MV^{2+} 体系在405 nm处的吸光度变化率对不同肝素浓度的响应

2) 缓冲溶液的选择。

分别以含 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pyranine + $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MV^{2+} 的浓度为 $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH为7.4的PBS、Tris-HCl和HEPES缓冲溶液作为测试溶液测定其对0、1、2、5、10、以及 $20 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 肝素的响应, 参考结果如图5所示。结果表明在在HEPES缓冲溶液, 体系对肝素的响应最灵敏, 其线性的斜率 $0.0052 \text{ mL}\cdot\text{U}^{-1}$, 而PBS和Tris-HCl条件下的斜率分别为 0.0018 和 $0.0033 \text{ mL}\cdot\text{U}^{-1}$ 。因此, 推荐 $25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 7.4的HEPES作为肝素测定的最佳缓冲。

4 教学安排与组织的建议

本实验重点在于让学生理解指示剂置换法测定阴离子的作用机制以及紫外-可见分光光度法定量分析的基本原理和方法; 掌握对肝素进行定量分析的方法, 以及学会对分析方法进行评价。

本实验的实验讲义并没有详细的步骤, 如何引导学生分工合作、自行设计方案验证实验方法的可行性、合理安排和利用课堂实验时间、探索最佳条件, 以及让学生掌握本实验数据处理的方法与步骤, 是指导教师指导该实验的核心内容。

建议在完成分析化学课程中化学分析和仪器分析理论课程以及相关实验课程之后开设, 或面向化学、药学相关专业高年级本科生开设。可安排8–10学时, 分2–3次实验课完成。前4–6个学时主要

任务和目的是实验原理的验证以及实验条件的优化,后4个学时安排本方法的方法学考察以及实际样品的测定。实验课前布置检索和阅读本实验相关的国内外文献的任务,并于实验开始前安排部分学生参与实验准备,包括缓冲溶液的配制,pyranine、 MV^{2+} 以及肝素储备液的配制。

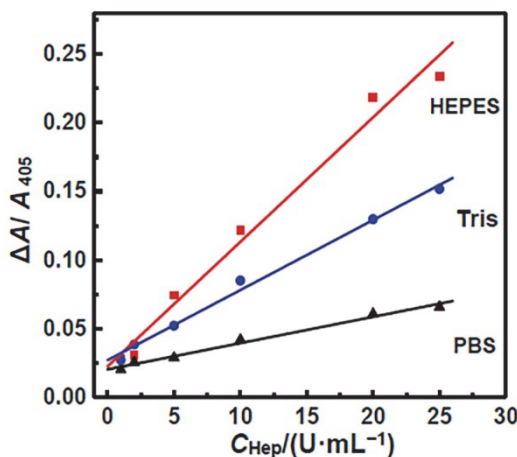


图5 不同缓冲溶液中pyranine- MV^{2+} 体系在405 nm处的吸光度变化率对不同肝素浓度的响应

此外,关于实际样品的测试,若具备条件,可以根据本实验项目的实验内容推荐,将SD大鼠分为对照组和给药组,腹主动脉取血,血浆可以在实验前准备好,冰箱冷藏备用。对于不具备动物实验条件的学校或实验室,实际样品测定可以测定肝素钠注射液或肝素钠软膏中肝素含量。

需要注意的是,本实验中使用的甲基紫精是有毒药品,实验前须让学生充分了解 MV^{2+} 的规范和安全使用,实验时须做好自身安全防护,需要带护目镜、乳胶手套或PE手套,按实验室规范着装并穿实验服。

实验项目结束后,撰写小论文形式的实验报告,并以小组为单位进行实验结果PPT汇报和答辩,以培养学生的科技论文写作能力和综合表达能力。

5 结语

综合设计性实验可以激发学生的求知欲和创新意识,在实验任务和目标的执行过程中可集中调动学生的认知基础与实践经验,在培养实验分析能力的同时,充分锻炼思维的应变能力、整合能力和创新能力,促进学生的创造力,提高学生的科学素养和综合素质。目前本实验项目在我校药学相关专业筛选报名的20名本科生中,作为分析化学综合性研究性实验项目首次开设,实验包括实验原理的验证、实验条件优化、定量检测及实际样品的分析,实验教学效果良好。拟逐年优化,有计划有步骤地面向我校药学各专业本科生作为分析化学综合性设计性实验项目开设。该实验项目既保证了实验内容的前沿性与创新性,又无需昂贵的大型分析设备,无需复杂耗时的合成步骤,实验操作简便,是一项可以推广的分析化学类综合设计性实验。本实验项目可作为医药院校药学相关专业、综合类和师范类院校化学相关专业高年级本科生的分析化学、仪器分析综合设计性实验。

参 考 文 献

- [1] 余朝文,贺达江,杨吉兴,杨若邻. 教师, 2020, No. 14, 119.
- [2] 王岩. 中国科技投资, 2017, No. 30, 361.

- [3] 李玉菊, 朱俞青. 江苏大学学报: 社会科学版, **2021**, No. 6, 124.
- [4] 陈思, 吕春艳, 朱琳. 学校党建与思想教育, **2021**, No. 8, 71.
- [5] 刘德宝, 李春亮. 实验室科学, **2021**, 24 (1), 237.
- [6] 王莹, 宋囡, 杜莹, 谷丽艳, 吕美君, 曹媛, 冷雪. 中国中医药现代远程教育, **2019**, 17 (4), 141.
- [7] 吕超杰. 中医药管理杂志, **2021**, 29 (8), 21.
- [8] 李曦, 李玉刚, 黎欢. 科研转化为化学综合实验的教学实践. 第十三届全国大学化学教学研讨会, 武汉, 2015: 343–34.
- [9] 兰瑞家, 苏文斌. 化学教育, **2019**, 40 (6), 40.
- [10] Zhang, Z. P.; Zhou, R.; Dong Y. L.; Song, M. M; Tian, L.; Zhao, Z. *Biosens. Bioelectron.* **2021**, 194, 113612
- [11] Barrowcliff, T. W. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2012**, 207, 3.
- [12] Ray, B.; Keyrouz, S. G. *Crit. Care* **2014**, 18 (3), 1.
- [13] Salter, B. S.; Weiner, M. M.; Trinh, M. A.; Heller, J.; Evans, A. S.; Adams, D. H.; Fischer, G. W. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2016**, 67 (21), 2519.
- [14] Alquwaizani, M.; Buckley, L.; Adams, C.; Fanikos, J. *Curr. Emerg. Hosp. Med. Rep.* **2013**, 1 (2), 83.
- [15] Marlar, R. A.; Clement, B.; Gausman, J. *Semin. Thromb. Hemost.* **2017**, 43 (3), 253.
- [16] Raymond, P. D.; Ray, M. J.; Callen, S. N.; Marsh, N. A. *Perfusion* **2003**, 18 (5), 269.
- [17] Vandiver, J. W.; Vondracek, T. G. *Pharmacotherapy* **2012**, 32 (6), 546.
- [18] Välimäki, S.; Beyeh, N. K.; Linko, V.; Ras, R. H. A.; Kostianen, M. A. *Nanoscale* **2018**, 10 (29), 14022.
- [19] Liu, Q.; Välimäki, S.; Shaukat, A.; Shen, B.; Linko, V.; Kostianen, M. A. *ACS Omega* **2019**, 4 (26), 21891.
- [20] Mehta, P. K.; Lee, H.; Lee, K. H. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, 91 (15), 545.
- [21] Tena-Solsona, M.; Marson, D.; Rodrigo, A. C.; Bromfield, S. M.; Escuder, B.; Miravet, J. F.; Apostolova, N.; Laurini, E.; Priel, S.; Smith, D. K. *Biomater. Sci.* **2019**, 7 (9), 3812.
- [22] Sedgwick, A. C.; Brewster, J. T.; Wu, T. H.; Feng, X.; Bull, S. D.; Qian, X. H.; Sessler, J. L.; James, T. D.; Anslyn, E. V.; Sun, X. L. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50 (1), 9.
- [23] Zhao, Z. Z.; Zhang, F. W.; Zhang, Z. P. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2018**, 199 (15), 96.
- [24] Gong, W. J.; Yang, X. R.; Zavalij, P. Y.; Isaacs, L.; Zhao, Z. Y.; Liu, S. M. *Chem-A Eur. J.* **2016**, 22 (49), 17612.
- [25] Szakacs, Z.; Bojtár, M.; Hessz, D.; Rousseva, S.; Bitter, I.; Drahos, L.; Hilbers, M.; Zhang, H.; Kállay, M.; Kubinyi, M. *New J. Chem.* **2019**, 43 (17), 6666.
- [26] Tian, T.; Qin, T. J.; Jiang, T. T.; Deng, Y. K.; Li, X. P.; Yuan, W.; Chen, Y. L.; Wang, Y. X.; Hu, W. P. *Chem. Commun.* **2020**, 56 (28), 3939.