

四角菱茎多酚的超声提取工艺优化及体外抗肿瘤活性研究^Δ

李峰^{1*}, 王延伟², 俞力超¹, 汤建², 徐秀泉^{2#} (1. 江苏大学附属医院心胸外科, 江苏镇江 212001; 2. 江苏大学药学院制药工程系, 江苏镇江 212013)

中图分类号 R284.2; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)31-4414-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.31.28

摘要 目的: 优化四角菱茎中多酚的超声提取工艺并考察其体外抗肿瘤活性。方法: 以多酚得率为因变量, 以乙醇体积分数、提取时间、液料比为自变量, 采用 Box-Behnken 设计的响应面法优化四角菱茎中多酚的超声提取工艺; 采用 MTT 法检测不同质量浓度的四角菱茎多酚对子宫癌细胞 HeLa 细胞、人胶质瘤 U251 细胞、人肝癌 HepG2 细胞体外增殖的影响, 计算其半数抑制浓度 (IC₅₀), 并观察细胞的形态变化。结果: 最优超声提取工艺为液料比 34, 45% 乙醇, 在 50 °C 下超声提取 24 min。在此优化条件下多酚得率为 29.36 mg/g (RSD=0.72%, n=3), 与模型预测值 29.89 mg/g 的相对误差为 1.77%。四角菱茎多酚对 HeLa、U251、HepG2 细胞均具有明显的增殖抑制作用, IC₅₀ 分别为 166.2、141.7、126.6 μg/ml, 并呈现良好的量效关系, 且各细胞均出现一定程度的凋亡形态。结论: 响应面法优化所得四角菱茎多酚超声提取工艺方法简单、预测性良好; 四角菱茎多酚具有较好的体外抗肿瘤活性。
关键词 四角菱茎; 多酚; 超声提取; Box-Behnken 设计; 响应面法; 体外抗肿瘤活性

Optimization of Ultrasonic Extraction Technology of Polyphenol from the Stem of *Trapa natans* and Study on Its *in vitro* Antitumor Activities

LI Feng¹, WANG Yanwei², YU Lichao¹, TANG Jian², XU Xiuquan² (1. Dept. of Cardiothoracic Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212001, China; 2. Dept. of Pharmaceutical Engineering, School of Pharmacy, Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the ultrasonic extraction technology of polyphenol from the stem of *Trapa natans* and conduct *in vitro* antitumor activity test. METHODS: Using the yield of polyphenol as dependent variable, ethanol concentration, extraction time and liquid-material ratio as independent variables, the ultrasonic extraction technology of polyphenol from the stem of *T. natans* was optimized by response surface methodology designed by Box-Behnken design. The effects of different concentrations of polyphenol from the stem of *T. natans* on the proliferation of HeLa cells, U251 cells and HepG2 cells were detected by MTT assay, IC₅₀ were calculated, and morphologic changes of them were observed. RESULTS: The optimal condition as follows as the liquid-material ratio was 34, 45% ethanol, ultrasonic extracting for 24 min at 50 °C. Under this condition, the yield of polyphenol was 29.36 mg/g (RSD=0.72%, n=3), the relative error of which from predicted value 29.89 mg/g was 1.77%. The proliferation of HeLa cells, U251 cells and HepG2 tumor cells were all significantly inhibited by polyphenol with IC₅₀ of 166.2, 141.7, 126.6 μg/ml, showing good dose-effect relationship. The apoptosis of those cells was presented to certain extent. CONCLUSIONS: Optimized ultrasonic extraction technology of polyphenol from the stem of *T. natans* by response surface methodology is simple and predictable. The polyphenol from the stem of *T. natans* has significant anti-tumor effect *in vitro*.

KEYWORDS Stem of *Trapa natans*; Polyphenol; Ultrasonic extraction; Box-Behnken design; Response surface methodology; Antitumor activity *in vitro*

四角菱 (*Trapa natans* L. Var. *incisa* Makino) 为一年水生草本植物, 属菱科、菱属, 主要分布于我国山东、湖北、江苏等湖网密集地区^[1], 其果实称为菱角。《本草纲目》记载: “菱角具有补脾胃, 强股膝, 健力益气等功效”^[2], 是药食两用的佳品。但是菱角食用时只选用菱肉部分, 菱角壳常被丢弃, 而四角菱茎仅限于食用, 并未得到有效利用。近来研究发现, 四角菱角壳醇提取物和水提取物均具有显著抗氧化及抑制肿瘤细胞增殖的作用, 且其作用大小与其中多酚类化合物含量密切相关^[3-4]。虽然目前菱角壳的活性已得到了科研工作者的重视, 但是四角菱的菱茎却还未引起人们的注意。笔者前期研究发现, 四角菱茎中富含多酚类化合物, 值得深入研究。本试验即

以多酚得率为因变量, 乙醇体积分数、提取时间、液料比为自变量, 采用响应面法优化四角菱茎中多酚的提取工艺, 并对多酚的体外抗肿瘤活性进行初步研究, 为四角菱的深入开发和综合利用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

UV-2660 紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司); KQ-250DB 超声波仪 (昆明市超声仪器有限公司); BS 110 S 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); TS100 Nikon 倒置相差显微镜 (日本尼康公司); Spectra Max 190 酶标仪 (美国 Molecular Device 公司)。

1.2 药材、试剂与细胞株

四角菱茎 (2014 年 9 月购自山东省微山湖商贸有限公司, 经江苏大学药学院汤建副教授鉴定为菱科菱属四角菱的干燥茎叶, 粉碎过 40 目筛备用); 没食子酸 (中国食品药品检定研究院, 批号: 1110831-201204, 供含量测定用); 胰蛋白酶、青霉素、

Δ 基金项目: 江苏省中医药局科技项目 (No. LZ13244)

* 副主任医师, 博士研究生。研究方向: 天然产物活性分析。
E-mail: lifengjs@163.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 天然产物活性分析。电话: 0511-85038201。E-mail: xxq781026@ujs.edu.cn

乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、链霉素(美国 Amresco 公司,均为分析纯,纯度: >99.5%); MEM、1640 培养基(美国 Gibco 公司); MTT、5-氟尿嘧啶(5-FU, 美国 Sigma 公司, 纯度: >98.0%); 小牛血清、胎牛血清(杭州四季青生物工程公司); 二甲亚砜(DMSO)等其他试剂均为国产分析纯。

人肝癌 HepG2 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、人脑胶质瘤 U251 细胞由江苏大学药学院高静教授惠赠。

2 方法与结果

2.1 多酚含量测定

2.1.1 多酚标准曲线的绘制^[6] 精密称取干燥至恒质量的没食子酸 10.0 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加乙醇适量溶解, 定容至刻度, 摇匀, 取上述溶液 2.5 ml 定容至 25 ml, 即得 100 μg/ml 没食子酸对照品溶液。精密量取不同体积该溶液置于 10 ml 量瓶中, 依次加入 Folin-Ciocalteu 试剂 0.5 ml, 振摇 1 min, 加入 20% Na₂CO₃ 溶液 2 ml, 振摇 1 min, 然后加双蒸水至刻度, 室温放置 60 min。以双蒸水为空白对照, 于 760 nm 波长处测定吸光度。以没食子酸质量浓度(*c*)对吸光度(*A*)进行线性回归, 得线性方程为 $A=0.0143c+0.002$ ($r=0.9996$), 没食子酸检测质量浓度线性范围为 10~80 μg/ml。精密度和重复性试验的 RSD 分别为 0.82%、1.36% ($n=6$), 稳定性试验中供试品在 24 h 内吸光度的 RSD 为 1.24% ($n=6$), 加样回收率试验中平均回收率为 98.62% (RSD=2.05%, $n=6$)。上述结果表明采用此含量测定方法测定多酚含量, 可满足样品检测的要求。

2.1.2 四角菱茎多酚的提取及得率的测定 精确称取 2.0 g 四角菱茎粉末, 加入一定体积分数和体积的乙醇溶液, 一定温度下超声波(超声功率 200 W, 频率 40 kHz)提取一定时间, 过滤, 定容至 50 ml。将该溶液稀释至一定倍数后, 精密量取 1 ml, 按“2.1.1”项下方法测定吸光度, 计算多酚得率[提取出的多酚质量(mg)/四角菱茎质量(g)]。

2.2 响应面法优化提取工艺

2.2.1 试验设计 在单因素预试验基础上, 结合中心组合设计原理, 以乙醇体积分数(X_1)、提取时间(X_2)、液料比(X_3) 3 个因素为自变量, 以多酚得率(Y)为因变量, 采用 Design-Expert 8.0.5 软件中的 Box-Behnken 进行试验设计。各因素与水平见表 1, 试验设计与结果见表 2。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

因素	代码	编码水平		
		-1	0	1
乙醇体积分数, %	X_1	40	50	60
提取时间, min	X_2	20	25	30
液料比, ml/g	X_3	25	30	35

2.2.2 建立模型方程与显著性检验 采用 Design-Expert 8.0.5 软件对表 1 中的数据进行二次多元回归拟合分析, 得到多酚得率随各因素变化的回归方程为: $Y=29.37-0.30X_1+0.14X_2+0.71X_3-0.40X_1X_2-1.10X_1X_3-1.18X_2X_3-1.12X_1^2-1.25X_2^2-0.95X_3^2$ 。对回归模型方程进行显著性方差分析检验, 结果见表 3。

由表 3 可知, 模型 $P=0.0023$ ($P<0.01$), 失拟项 $0.05<P<0.6558$, 表明因变量与各自变量之间多元回归关系高度显著, 数据拟合效果较好, 模型能够较好地反映真实试验值。模型的调整确定系数 $R_{adj}^2=0.9218$, 表明该模型能够解释 92.18% 试验数据的变异性, 证明应用响应面法优化的提取工艺提取四角菱茎多酚是可行的。由 P 值可看出各因素对多酚得率的影响顺序依次为 $X_3>X_1>X_2$ 。交互项 X_1X_3 、 X_2X_3 对多

表 2 试验设计与结果

Tab 2 Experimental design and result

试验号	编码水平			多酚得率, mg/g
	X_1	X_2	X_3	
1	-1(40)	-1(20)	0(30)	26.9
2	-1(40)	1(30)	0(30)	28.0
3	-1(40)	0(25)	-1(25)	25.8
4	-1(40)	0(25)	1(35)	29.1
5	1(60)	-1(20)	0(30)	26.8
6	1(60)	1(30)	0(30)	26.3
7	1(60)	0(25)	-1(25)	27.7
8	1(60)	0(25)	1(35)	26.6
9	0(50)	-1(20)	-1(25)	25.0
10	0(50)	-1(20)	1(35)	29.1
11	0(50)	1(30)	-1(25)	27.6
12	0(50)	1(30)	1(35)	27.0
13	0(50)	0(25)	0(30)	29.4
14	0(50)	0(25)	0(30)	28.9
15	0(50)	0(25)	0(30)	29.8

表 3 回归模型方差分析结果

Tab 3 Variance analysis results of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方和	F	P
X_1	0.72	1	0.72	4.50	0.0872
X_2	0.15	1	0.15	0.95	0.3573
X_3	4.06	1	4.06	24.41	0.0040**
X_1X_2	0.64	1	0.64	4.00	0.1018
X_1X_3	4.84	1	4.84	30.28	0.0027**
X_2X_3	5.52	1	5.52	34.55	0.0020**
X_1^2	4.64	1	4.64	29.02	0.0030**
X_2^2	5.73	1	5.73	35.86	0.0019**
X_3^2	3.30	1	3.30	20.67	0.0061**
残差	0.80	5	0.16		
失拟项	0.39	3	0.13	0.64	0.6558
误差	0.41	2	0.20		
总离差	28.62	14			
模型	27.82	9	3.09	14.51	0.0023**
模型的确定系数 $R^2=0.9721$			模型的调整确定系数 $R_{adj}^2=0.9218$		

注: **表示 $P<0.01$

Note: ** means $P<0.01$

酚得率有高度显著影响, X_1X_2 影响不显著。二次项中 3 个因素均对多酚得率有高度显著影响, 这表明各因素对多酚得率的影响不是简单的线性关系, 而是呈二次关系。

2.2.3 响应面分析及最优提取条件的确定 根据回归方程, 采用 Design-Expert 8.0.5 软件绘制各因素的响应面图, 见图 1。

由图 1 可见, 响应面的曲面坡度平缓, 说明提取因素对多酚得率影响较小; 坡度陡峭, 说明对多酚得率影响较大^[6]。另外, X_3 对多酚提取得率影响显著, 表现为曲面坡度陡峭, 这与方差分析结果一致。多酚得率随乙醇体积分数、液料比的提高及提取时间的延长, 先增加后降低。这可以解释为不同体积分数乙醇的极性不同, 根据“相似相溶”的原则, 只有某一定体积分数乙醇极性或多酚极性相近时, 才能得到最大程度的溶出。液料比增大到一定值, 再增加液料比将会减少单位体积所获得的超声能量, 提取时间延长可能会导致多酚类化合物的氧化降解^[7-8]。所以只有在适当的液料比和超声提取时间内多酚得率才能达到最高值。

2.2.4 最优工艺的确定与验证试验 根据所得模型, 预测四角菱茎多酚最优提取条件为: 液料比 34, 固定超声功率 200 W, 频率 40 kHz, 温度 50 °C, 以 45% 乙醇提取 24 min; 预测多酚得

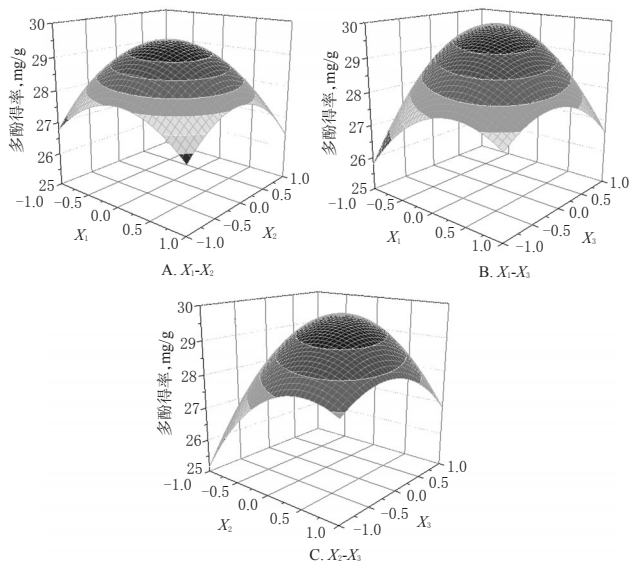


图1 各因素对多酚得率影响的响应面图

Fig 1 Response surface plot for the effect of each factor on the yield of polyphenol

率为 29.89 mg/g。准确称取四角菱茎 20.00 g, 按此提取条件重复试验 3 次, 求得其平均得率为 29.36 mg/g (RSD=0.72%, n=3), 实际值与预测值的相对误差为 1.77% (小于 2%), 充分验证了所建模型的可行性。

2.3 四角菱茎多酚体外抗肿瘤活性分析

2.3.1 MTT 法检测四角菱茎多酚的体外抗肿瘤细胞增殖活性^[9] 取不同对数生长期肿瘤细胞 HeLa、U251 和 HepG2, 胰酶消化、计数后, 以 $4 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ 的密度, 每孔 100 μl 接种于 96 孔板中。培养 24 h 后, 将经 AB-8 大孔吸附树脂纯化的四角菱茎多酚及阳性对照 5-FU (用 DMSO 制备成质量浓度均为 500、250、125、62.5 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液) 处理肿瘤细胞。24 h 后弃去上清液, 加入 1 mg/ml 的 MTT 100 μl , 继续培养 4 h, 每孔加入 100 μl DMSO, 振荡混匀, 用酶标仪在 570 nm 波长处测定吸光度。计算抑制率 [(阴性对照组吸光度 - 给药组吸光度) / (阴性对照组吸光度 - 空白组吸光度)] $\times 100\%$, 其中阴性对照组为不加药物组, 空白组为只加入培养基组和半数抑制浓度 (IC_{50}), 结果见图 2。

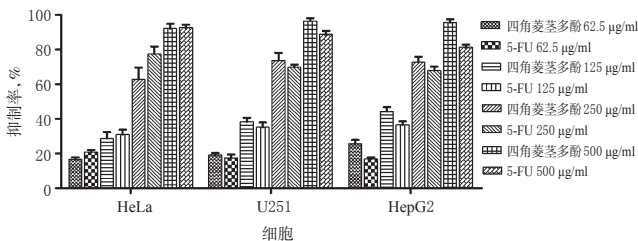


图2 不同质量浓度四角菱茎多酚和 5-FU 对 3 种肿瘤细胞的增殖抑制率

Fig 2 Effects of different concentrations of polyphenol from the stem of *T. natans* and 5-FU on the proliferation inhibition rate of 3 kinds of tumor cells

由图 2 可知, 不同质量浓度四角菱茎多酚对 3 种肿瘤细胞的增殖均具有明显的抑制作用, 作用 24 h 后对 HeLa、U251 和 HepG2 细胞的 IC_{50} 值分别为 166.2、141.7、126.6 $\mu\text{g/ml}$, 接近或者低于 5-FU 的 143.27、159.45、174.68 $\mu\text{g/ml}$, 且均呈现良好的量效关系。四角菱茎多酚对各细胞的增殖抑制作用无明显差

异, 表明其具有较广谱的体外抗肿瘤活性。

2.3.2 四角菱茎多酚对肿瘤细胞形态的影响 由“2.3.1”项试验结果可知, 250 $\mu\text{g/ml}$ 的多酚具有中等强度的抗肿瘤活性。为便于观察细胞形态, 选取此质量浓度下的四角菱茎多酚作用于不同肿瘤细胞 24 h, 倒置相差显微镜观察此质量浓度组与“2.3.1”项下阴性对照组细胞的生长情况及形态变化, 结果见图 3。

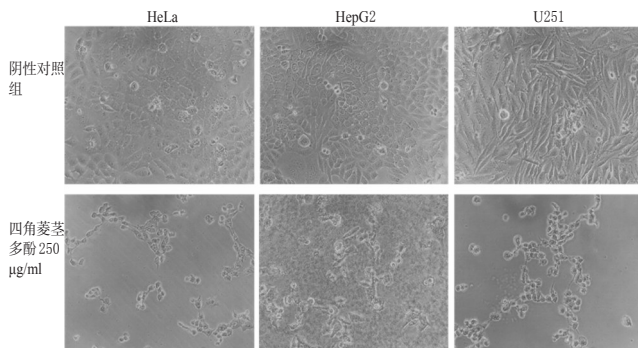


图3 四角菱茎多酚作用于 3 种细胞 24 h 后肿瘤细胞形态的变化
Fig 3 Morphologic changes of 3 kinds of tumor cells after treated with polyphenol from the stem of *T. natans* for 24 h

由图 3 可知, 未加药物的阴性对照组细胞贴壁生长, 外形完整、规则、整齐。与阴性对照组比较, 四角菱茎多酚处理 24 h 后的细胞形态发生显著改变: 细胞贴壁能力下降, 细胞皱缩变圆, 细胞间距明显变大, 细胞数目显著减少。这表明四角菱茎多酚能够有效地抑制肿瘤细胞的增殖, 并在一定程度上诱导细胞的凋亡, 再次说明其具有良好的体外抗肿瘤活性。

3 讨论

多酚是广泛存在于植物中且富含酚羟基的一大类化合物, 目前已知的植物酚类物质超过 8 000 种上。该类化合物结构中的酚羟基使其具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种生理活性, 但同时也导致了其在提取过程中的不稳定性^[10]。传统的加热回流提取过程温度高、提取时间长, 很容易造成多酚类化合物的氧化, 降低提取率及多酚生理活性^[11]。超声辅助提取技术因其提取时间短、温度低等优点能够较大程度地避免多酚类化合物在提取过程中的氧化和降解, 近年来得到了广泛的应用^[12]。

响应面法是采用多元二次回归方程来拟合各因素与响应值之间函数关系的一种统计方法, 特别适合于各因素之间有相互影响的复杂试验条件的优化。本试验采用超声辅助提取法, 利用超声波的机械效应、空化效应和热效应, 能够有效促进四角菱茎细胞壁的破裂, 加速溶剂进入植物细胞, 促使多酚成分的溶出, 大大缩短提取时间, 降低能量消耗。通过 Box-Behnken 设计的响应面法, 优化工艺得到的四角菱茎多酚得率与理论预测值基本吻合, 确认利用该法得到的超声提取工艺具有一定的实用价值, 从而为四角菱茎多酚的综合开发利用提供了参考。

四角菱茎在我国南方多数地区作为一种可供食用的绿色蔬菜, 还未有其化学成分及生理活性的相关文献报道。本试验研究发现, 四角菱茎多酚对 HeLa、U251 和 HepG2 等肿瘤细胞具有良好的体外增殖抑制作用, 并呈现良好的量效关系。本试验结果为开发高效、低毒的抗肿瘤药物提供了一定的试验依据。

参考文献

和肝理脾颗粒的包合及制粒工艺研究[△]

赵 锋*,李江英#,张炜华(西安市中医医院,西安 710021)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)31-4417-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.31.29

摘要 目的:优化和肝理脾颗粒的包合及制粒工艺条件。方法:以包合物得率和包合率的综合评分为指标,以 β -环糊精(β -CD)与挥发油配比、包合温度、包合时间为考察因素,采用正交试验优化和肝理脾颗粒总挥发油包合工艺;以成型率、溶化率、流动性和吸湿率的综合评分为指标,以药辅比、润湿剂乙醇的体积分数及用量为因素,采用正交试验优选和肝理脾颗粒浸膏粉的制粒工艺;对所制颗粒进行质量评价。结果:总挥发油最优包合工艺为总挥发油与 β -CD之比为1:6,50℃恒温条件下采用饱和水溶液法包合1h;浸膏粉的最优制粒工艺为药辅比1:1(浸膏粉-可溶性淀粉-糊精之比为5:3:2),90%乙醇用量为浸膏粉用量的20%。验证试验中3批颗粒的综合评分分别为96.8、95.7、95.9分(RSD=0.65%, $n=3$),且质量均符合要求。结论:优化所得和肝理脾颗粒的包合及制粒工艺稳定、可靠,可用于工业化大生产。

关键词 和肝理脾颗粒;制备;包合工艺;制粒工艺;正交试验

Study on Inclusion and Granulating Technology of Hegan Lipi Granules

ZHAO Feng, LI Jianguying, ZHANG Weihua (Xi'an Hospital of TCM, Xi'an 710021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the inclusion and granulating technology of Hegan lipi granules. METHODS: Using yield of inclusion complex and inclusion rate as comprehensive index, the ratio of β -CD to volatile oil, inclusion temperature, inclusion time as factors, orthogonal test was adopted to optimize the inclusion technology of volatile oil from Hegan lipi granules. Using the comprehensive score of moldability, dissolubility, mobility and hygroscopicity as index, the ratio of drug to excipients, volume fraction and amount of ethanol as factors, orthogonal test was adopted to optimize the granulating technology of Hegan lipi granule powdered extract. The quality of prepared granule was evaluated. RESULTS: The optimal inclusion technology of volatile oil was that the ratio of volatile oil to β -CD was 1:6 and the inclusion time was 1 h with inclusion temperature of 50℃ by saturated aqueous solution method. The optimal granulating technology was that the ratio of drug to excipients was 1:1 (extract powder-soluble starch-dextrin ratio was 5:3:2), 90% ethanol were used as the wetting agent with a weight of 20% extract powder. The verification tests showed that comprehensive scores of 3 batches of granules were 96.8, 95.7, 95.9 (RSD=0.65%, $n=3$). The quality of them were all in line with the requirement. CONCLUSIONS: Optimized inclusion and granulating technology of Hegan lipi granules are stable and reliable, and can be used for the industrialized production.

KEYWORDS Hegan lipi granules; Preparation; Inclusion technology; Granulating technology; Orthogonal experiment

[1] 李鹏婧,柳旭光,龙海荣,等.超声波辅助提取菱角壳总黄酮及抗氧化性研究[J].食品科技,2011,36(1):167.

[2] 明·李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,1982:1901.

[3] 伍茶花,丁扬洲,裴刚,等.不同菱角壳提取物抑制肺癌A549细胞生长的研究[J].湖南中医药大学学报,2012,32(1):27.

[4] 谢艳茹.菱角提取物诱导人肝癌SMMC-7721细胞凋亡[J].肿瘤学杂志,2011,17(1):34.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:通则203.

[6] 杨小军,丁永辉.响应面法优化藏药绿萝花总黄酮的超声波辅助提取工艺[J].中国药房,2015,26(25):3565.

[7] Wang J, Sun BG, Cao YP, et al. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from

wheat bran[J]. *Food Chem*, 2008, 106(2):804.

[8] Cisse M, Bohuon P, Sambe F, et al. Aqueous extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa: experimental kinetics and modeling[J]. *J Food Eng*, 2011, 109(1):16.

[9] Krstic M, Stojadinovic M, Smiljanic K, et al. The anti-cancer activity of green tea, coffee and cocoa extracts on human cervical adenocarcinoma HeLa cells depends on both pro-oxidant and anti-proliferative activities of polyphenols[J]. *RSC Adv*, 2015, 5(5):3260.

[10] Ananga A, Georgiev V, Tsolova V. Manipulation and engineering of metabolic and biosynthetic pathway of plant polyphenols[J]. *Curr Pharm Design*, 2013, 19(34):6186.

[11] Ho SK, Tan CP, Thoo YY, et al. Ultrasound-assisted extraction of antioxidants in Misai Kucing (Orthosiphon stamineus)[J]. *Molecules*, 2014, 19(8):12640.

[12] Liu CW, Wang YC, Lu HC, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for total phenols with anti-hyperglycemic activity from Psidium guajava leaves [J]. *Process Biochem*, 2014, 49(10):1601.

(收稿日期:2016-01-12 修回日期:2016-06-12)

(编辑:刘萍)

[△] 基金项目:陕西省2013年度科学技术研究发展计划项目(No.2013k12-07-06)

* 主任药师。研究方向:医院管理、医院药学。电话:029-89626601。E-mail:zfb369@126.com

通信作者:主任药师。研究方向:医院药事管理、制剂研发。电话:029-89626820。E-mail:lijiangy@126.com