

影响主次顺序为：超声时间>乙醇体积分数>超声温度>料液比。通过提取工艺响应面分析，确定了超声波辅助提取昆仑雪菊中总黄酮的最佳提取工艺为：乙醇体积分数 65%，料液比 40 g·mL⁻¹，超声时间 34 min，超声温度 62 °C，在此条件下昆仑雪菊总黄酮的提取量为 207.32 mg·g⁻¹，明显高于传统回流提取法^[10]。

REFERENCES

- [1] LIANG Q L. Research of *Coreopsis tinctoria* nuff [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2014, 42(8): 2305-2306.
- [2] ZHENG D C, MOURBOUL A, AYNUR T, et al. Preparation and preliminary analysis of water-soluble flavonoids of *Coreopsis tinctoria* flower from the Kunlun Mountain [J]. Asia-pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2010, 6(10): 18-20.
- [3] DIAS T, LIU B, JONES P, et al. Cytoprotective effect of *Coreopsis tinctoria* extracts and flavonoids on tBHP and cytokine-induced cell injury in pancreatic MIN6 cell [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 139(2): 485-492.

- [4] 梁淑红, 庞市宾, 刘晓燕, 等. 金鸡菊提取物降血脂作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 234-235.
- [5] SUN Y H, ZHAO J, JIN H T, et al. Vasorelaxant effects of the extracts and some flavonoids from the buds of *Coreopsis tinctoria* [J]. Pharm Biol, 2013, 51(9): 1158-1164.
- [6] 沙爱龙, 吴瑛, 盛海燕, 等. 昆仑雪菊黄酮对衰老模型小鼠脑及脏器指数的影响[J]. 动物医学进展, 2013, 2013(7): 66-68.
- [7] GUO L M, ZHANG P, ZHANG Q, et al. Recent advances in the analysis, extraction, characterization and biological activities of chemical substances of Kunlun Chrysanthemum (*Coreopsis tinctoria*) [J]. Food Sci(食品科学), 2014, 35(7): 298-304.
- [8] 薛峰, 李春娜, 李鹏收, 等. 超声提取在中药化学成分提取中的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 18(20): 231-234.
- [9] ZONG S C, YU Z C, ZHAO D Y, et al. Optimization of extraction technology for polysaccharides in *Inonotus obliquus* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(2): 167-172.
- [10] 热阳古·阿布拉, 夏娜, 木尼热·阿不都克里木, 等. 昆仑雪菊总黄酮的提取及含量测定[J]. 喀什师范学院报, 2013, 34(3): 45-47.

收稿日期: 2015-03-04

乳酶生菌种的安全性研究

甘永琦, 庞皓元, 朱斌* (广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

摘要: 目的 对乳酶生菌种进行安全性研究。方法 采用 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统检测菌种药物敏感性, 提取质粒进行电泳, 并对小鼠灌胃进行毒性试验。结果 粪肠球菌 140623 对克林霉素和大环内酯类抗菌药物具有天然耐药性, 对青霉素类、高浓度氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类、糖肽类、链阳霉素类、唑烷酮类及呋喃妥因均敏感, 含有质粒; 粪肠球菌 CGMCC1.595 对上述抗菌药物均敏感, 不含质粒。毒性试验结果符合中国药典 2010 版的要求。结论 乳酶生菌种具有一定的安全性, 但需加强生产菌株的管理并规范其来源。

关键词: 乳酶生; 药敏性; 毒性

中图分类号: R975 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2015)08-0951-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.08.012

Study on the Safety of the Strains of Lactasin

GAN Yongqi, PANG Haoyuan, ZHU Bin* (*Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the safety of the strains of lactasin. **METHODS** VITEK2 compact automatic microbiological analysis system was used to test drug sensitivity of strains. The plasmid were electrophoresed. The toxicities of strains were tested in mice. **RESULTS** *Enterococcus faecalis* 140623 with plasmid had natural drug-resistance to clindamycin and macrolide and was sensitive to penicillin, high concentration of aminoglycoside, quinolones, tetracyclines, glycopeptides, streptogramins, oxazo-lidinone and nitrofurantoin. *Enterococcus faecalis* CGMCC 1.595 without plasmid was sensitive to the above antibiotics. The results of toxicity test met the requirement of Ch.P 2010. **CONCLUSION** The strain of lactasin is safe to use, but its source should be supervised and standardized.

KEY WORDS: lactasin; drug sensitivity; toxicity

基金项目: 广西食品药品检验所科研项目(KY201401)

作者简介: 甘永琦, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0771)5827958
任药师 Tel: (0771)5827968 E-mail: zhubin1226@sina.com.cn

E-mail: jackygan_413@163.com *通信作者: 朱斌, 女, 硕士, 主

乳酶生(别名:表飞鸣)为乳酸菌制剂,是一种助消化药,用于治疗肠内异常发酵引起的肠胀气、消化不良引起的腹泻等。现收载于《卫生部药品标准》1998年版二部第六册生化药品第一分册,标准将菌种定义为“肠链球菌(*Streptococcus faecalis*)”,对应的中文学名为“粪链球菌”,现已被更名为“粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)”^[1]。由于标准中未明确规范生产菌株来源,导致国内各乳酶生原料生产企业引进菌种混乱。不同菌株间生物学特性(如耐药性、毒性等)存在差异,给该药物的使用带来了安全隐患。本研究以6个厂家生产的乳酶生片样品分离得到的菌株及引进的4个乳酶生生产相关标准菌株为试验样本,使用VITEK2 Compact AST-GP67药敏卡对试验菌株进行药物敏感性检测,参考中国药典2010年版三部的《微生态活菌制品总论》进行菌株毒性试验,以期今后该类药物的安全用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

粪肠球菌 140623(中国食品药品检定研究院);粪肠球菌 CGMCC1.2135、粪肠球菌 CGMCC1.595、屎肠球菌 CGMCC1.131 均购于中国普通微生物菌种保藏管理中心;粪肠球菌 ATCC29212(广东省环凯微生物科技有限公司);大肠埃希菌 pSE380(广西大学生命科学与技术学院)。

1.2 仪器与试剂

VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定仪(生物梅里埃公司);Mikro 22R 高速冷冻离心机(德国 Hettich 公司);Bio-Rad 凝胶电泳系统(美国伯乐)。

乳酶生片(市售)来源于灵宝市豫西药业有限责任公司(LB,批号:091215,规格:0.1 g)、河北环海药业有限公司(HB,批号:20091004,规格:0.1 g)、漯河市方汇药业有限公司(LH,批号:09040102,规格:0.15 g)、三门峡赛诺维制药有限公司(SMX,批号:20091003,20100922,20101001,规格:0.1 g)、桂林南药股份有限公司(GL,批号:091119,规格:0.15 g)、洛阳伊龙药业有限公司(LY,批号:091104,规格:0.15 g);革兰氏阳性细菌药敏卡片 AST-GP67(生物梅里埃公司,批号:132214340);SanPrep 柱式质粒 DNA 小量提取试剂盒(天根生化科技有限公司,批号:03128)。

1.3 动物

SPF 级健康小鼠 45 只,♀♂各半,体质量

18~22 g,由广西壮族自治区食品药品检验所药理学室提供,实验动物许可证号:SCXK(桂)2014-0001。

1.4 药敏试验

以粪肠球菌 ATCC29212 作为质控菌,用 AST-GP67 药敏卡对 4 个标准菌株及部分样品中分离的菌株进行克林霉素、红霉素、环丙沙星、呋喃妥因、青霉素、氨苄西林、高浓度庆大霉素、高浓度链霉素、左氧氟沙星、四环素、替加环素、万古霉素、奎奴普丁/达福普丁、利奈唑胺 14 种抗菌药物的药敏分析^[2],结果评价依据 2012 年美国临床实验室标准化委员会相关文件判断^[3]。

1.5 质粒提取及电泳

取含有菌种的肉汤培养基 1.5 mL,10 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,尽量倒尽上清液,20 mg·mL⁻¹ 的溶菌酶 37 °C 水浴 30 min。按照试剂盒操作说明书提取质粒,于-20 °C 保存备用。取质粒各 1 μL 混上染料后在 1.0%琼脂糖凝胶(含 Gel-Red 0.5 μg·L⁻¹)上进行电泳,电压为 100 V (5 V·cm⁻¹),用凝胶成像系统观察电泳结果并拍照。

1.6 毒性试验

按照中国药典 2010 年版三部的《微生态活菌制品总论》将小鼠分为稀释剂对照组及 8 个样品组,灌胃进行毒性试验。

2 结果

2.1 菌株药敏试验

结果显示,粪肠球菌 140623 和部分样品分离菌株对克林霉素和红霉素均具有耐药性,最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)均 ≥8 μg·mL⁻¹,对环丙沙星和呋喃妥因为中度敏感, MIC 值分别为 2, 64 μg·mL⁻¹,对青霉素、氨苄西林、高浓度庆大霉素、高浓度链霉素、左氧氟沙星、四环素、替加环素、万古霉素、奎奴普丁/达福普丁、利奈唑胺敏感;粪肠球菌 CGMCC1.595、SMX 20100922、20101001 菌株对以上 14 种抗菌药物均敏感;屎肠球菌 CGMCC1.131 对克林霉素和红霉素均具有耐药性,对呋喃妥因为中度敏感;粪肠球菌 CGMCC1.2135 只对克林霉素有耐药性。结果见表 1。

2.2 质粒的提取

以含有 pSE380 的大肠埃希菌为质控菌,由 1.0%琼脂糖凝胶电泳结果可知,粪肠球菌 29212、粪肠球菌 1.2135、屎肠球菌 1.131、粪肠球菌 140623 和部分样品分离菌株的电泳孔道上都有 1 条清晰的

表 1 药物对试验菌株的 MIC

Tab. 1 MIC of drugs on test strains

名称	粪肠球菌		乳酶生片样品						尿肠球菌			粪肠球菌		乳酶生片样品	
	29212	140623	HB	GL	SMX	LH	LB	LY	1.131	1.2135	1.595	SMX	SMX		
			20091004	091119	20091003	09040102	091215	091104				20101001	20100922		
青霉素	2	8	8	8	8	4	8	8	≤0.12	2	1	2	2		
氨苄西林	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2		
高浓度庆大霉素	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		
高浓度链霉素	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		
环丙沙星	≤0.5	2 ^I	≤0.5	1	≤0.5	≤0.5	≤0.5								
左氧氟沙星	1	2	2	2	2	2	2	4 ^I	0.5	1	0.25	0.5	0.5		
四环素	≥16 ^R	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1		
替加环素	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12	≤0.12		
万古霉素	2	1	1	1	1	1	1	1	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5	≤0.5		
奎奴普丁/达福普丁	4 ^R	1	1	1	1	1	1	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5		
红霉素	2 ^I	≥8 ^R	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25									
利奈唑胺	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
呋喃妥因	≤0.16	64 ^I	≤0.16	32	64 ^I	64 ^I									
克林霉素	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≥8 ^R	≤0.25	≤0.25	≤0.25		

注: S-敏感, I-中度敏感, R-耐药。

Note: S-sensitive, I-medium sensitivity, R-drug resistance.

主带, 大小约为 8 kb, 说明含有质粒; 而鉴定为海氏肠菌的粪肠球菌 CGMCC1.595 及 SMX20100922 和 SMX20101001 菌株的电泳孔道上均不含有条带, 说明不含质粒。结果见图 1。

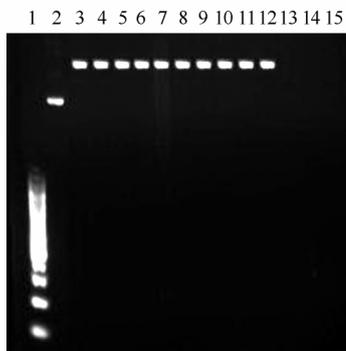


图 1 试验菌株质粒电泳图

1-100 bp Maker; 2-pSE380 大肠埃希菌; 3-粪肠球菌 140623; 4-粪肠球菌 29212; 5-尿肠球菌 1.131; 6-粪肠球菌 1.2135; 7-HB20091004; 8-GL091119; 9-SMX20091003; 10-LH09040102; 11-LB091215; 12-LY091104; 13-粪肠球菌 1.595; 14-SMX20101001; 15-SMX20100922。

Fig. 1 Electrophoresis of plasmid from test strains

1-100 bp Maker; 2-pSE380 *E.coli*; 3-*Enterococcus faecalis* 140623; 4-*Enterococcus faecalis* 29212; 5-*Enterococcus Faecium* 1.131; 6-*Enterococcus faecalis* 1.2135; 7-HB20091004; 8-GL091119; 9-SMX20091003; 10-LH09040102; 11-LB091215; 12-LY091104; 13-*Enterococcus faecalis* 1.595; 14-SMX20101001; 15-SMX20100922.

2.3 毒性试验

选取粪肠球菌 CGMCC1.595、粪肠球菌 140623 及 6 个厂家乳酶生片分离菌株作为样品组进行毒性试验。第 1~7 天, 各试验组小鼠均健康存活、未见任何异常症状, 每天体质量都在增加。7 d 后的各试验组小鼠体质量增重率均 >50%, 且各样品组小鼠体质量的增重率均不小于稀释剂对照组, 说明菌株无毒性。结果见图 2。

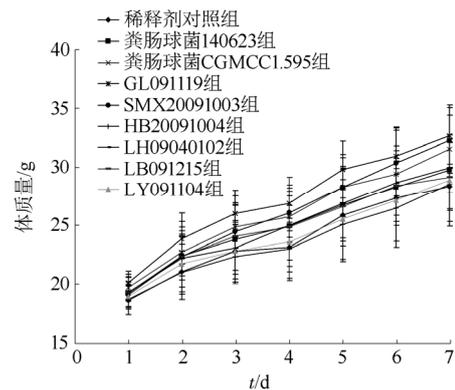


图 2 小鼠毒性试验结果

Fig. 2 Results of toxicity test in mice

3 讨论

肠球菌属广泛分布在自然界中, 常栖居在人、动物的肠道和女性生殖道, 是人类的正常菌群之

—^[4]。肠球菌属对多种抗菌药物呈天然耐药，而且易产生获得性耐药及药物耐受等情况^[5]，给临床治疗带来很大的麻烦。随着广谱抗菌药物、免疫抑制剂的广泛使用，细菌菌种分布及其耐药性因地区不同、时间变化而发生变迁。因此，作为活菌制品的生产菌株，其耐药谱对临床安全用药尤为重要。

VITEK2 Compact 全自动微生物鉴定仪近年来已被广泛应用于肠球菌属等的药敏性分析^[6-8]，与传统的双纸片扩散法相比，具有准确、快速等特点。AST-GP67 药敏卡对试验菌株药物敏感性检测发现，粪肠球菌 140623 和 6 个厂家部分乳酶生片样品分离菌株对克林霉素和红霉素均具有耐药性，它们相互间具有高度同源性^[9]及相近耐药谱。粪肠球菌 CGMCC1.595、SMX20100922 和 SMX20101001 菌株对检测的 14 种抗菌药物均敏感，它们相互间具有高度同源性^[9]及相近耐药谱。粪肠球菌 140623 及 6 个厂家乳酶生片样品分离菌株对克林霉素和大环内酯类抗菌药物具有天然耐药性，对其他抗菌药物，如青霉素类、高浓度氨基糖苷类、喹诺酮类、四环素类、糖肽类、链阳霉素类、唑烷酮类及呋喃妥因均敏感。因此，在临床用药时避免与上述几类抗菌药物同时服用，以免降低药效。

同时，粪肠球菌 CGMCC1.595、SMX20100922 和 SMX20101001 高度同源且具有耐药性的菌株均不含质粒；粪肠球菌 140623 和 HB20091004、GL091119、SMX20091003、LH09040102、LB091215、LY091104 乳酶生片样品分离菌株高度同源且具有耐药性的菌株均含有大小约为 8 kb 的质粒。菌株的克林霉素和大环内酯类抗菌药物耐药基因存在于基因组上还是质粒上，是否会通过质粒接合转移等方式将耐药性传递给其他菌株，有待进一步试验研究。而这几个菌株的毒性试验结果均符合中国药典 2010 年版三部的微生态活菌制品总论菌株毒性试验要求，说明粪肠球菌 140623 和粪肠球菌 CGMCC1.595 不存在毒性。国际上公布的益生菌类活菌制品评估指南中^[10-11]，专家工作组对益生菌类活菌制品安全性评价提出以下建议：①抗菌素耐药性类型的测定；②某些代谢活性的评价；③人体试验产生不良反应的评价；④售后消费者不良反应的流行病学调查；⑤待评价的菌株属于已知对哺乳动物有毒性的产毒菌

种，必须测定其产毒能力；⑥待评价的菌株属于已知具有溶血性的，必须测定其溶血活性等。2004 年 1 月 1 日—2012 年 11 月 1 日，乳酶生片的临床不良反应报告仅为 10 例，主要不良反应表现为红斑疹、瘙痒、便秘、恶心。结合本次菌株的耐药性及毒理研究结果，表明该产品可安全使用。

研究发现，个别厂家引进了中国普通微生物菌种保藏管理中心提供的粪肠球菌 CGMCC1.595 作为乳酶生生产菌株，该菌株标示为测叶酸用；而粪肠球菌 140623 标示为乳酶生生产用菌株，来源于中国食品药品检定研究院。这 2 株菌在生物学特性上有明显差异。上述情况表明，由于现行标准中对菌种的定义存在问题^[9]，且对乳酶生生产菌种来源缺乏明确规定，未将生产用菌种定义到株，导致乳酶生生产菌种现状较为混乱。中国药典 2010 年版三部的《微生态活菌制品总论》中，对活菌制品的菌种管理有非常严格的规定。乳酶生由于产品历史原因，其生产菌种管理一直缺失。由于乳酶生为活菌制品，菌种安全性非常重要，相同菌种的不同株，其安全性(如耐药性、毒性等)会有差异。因此，建议监管部门尽快明确乳酶生统一的、唯一的生产菌株，并对该菌株的耐药性、毒性等进行评价。只有明确并规范生产菌株的使用，才能明确该品种的定义，更准确有效地提高标准；才能对生产进行有效管理，对产品质量进行有效控制，更好地保证该品种的安全性、稳定性。

REFERENCES

- [1] GARRITY G. Bergey's manual of systematic bacteriology [M]. Vol 3. New York: Springer-Verlag New York Inc, 2009: 594-560.
- [2] HUANG H S, CAO H X, XIONG Z Z. Surveillance and analysis antimicrobial resistance of 51 strains from enterococcus faecalis [J]. Chin J Prim Med Pharm(中国基层医药), 2007, 14(2): 225-226.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing [M]. M100-S22. USA: CLSI, 2012.
- [4] YAO J, XU Y H, WEI Z H, et al. Antimicrobial resistance testing and comparison of clinically isolated *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* [J]. Acta Univ Med Anhui, (安徽医科大学学报), 2010, 45(2): 266-268.
- [5] SHEPARD B D, GILMORE M S. Antibiotic-resistant enterococcus: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance [J]. Microbes Infect, 2002, 4(2): 215-224.
- [6] DENG F W. Distribution and drug resistance of pathogens from intensive care unit [J]. Chin J Clin Infect Dis(中华临床感染病杂志), 2012, 5(1): 51-53.

- [7] XIONG J, ZOU Z Y, ZHU B, et al. Susceptibility analysis of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains [J]. Labeled Immunoassay Clin Med(标记免疫分析与临床), 2013, 20(5): 319-321.
- [8] KNOLL B M, HELLMANN M, KOTTON C N. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis in adults: Case series and review of the literature [J]. Scand J Infect Dis, 2013, 45(2): 131-139.
- [9] GAN Y Q, ZHU B, LIU T, et al. Study of identification method of the strain of lactasin [J]. West China J Pharm Sci(华西药理学杂志), 2013, 28(5): 529-531.
- [10] GUARNER F, KHAN A G, GARISCH J, et al. World gastroenterology organisation global guidelines: probiotics and prebiotics October 2011 [J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(6): 468-481.
- [11] GUIDELINES FOR THE EVALUATION OF PROBIOTICS IN FOOD. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food [M]. Canada: FAO/WHO, 2002.

收稿日期: 2015-01-07

缬沙坦刻痕片的药学研究

王娟^{1,2}, 方玉玲^{1,2}, 胡功允², 曾苏^{1*} (1.浙江大学药学院, 杭州 310058; 2.浙江华海药业股份有限公司, 浙江 临海 317024)

摘要: 目的 以单面中刻痕的缬沙坦片为例对刻痕片进行药学研究。方法 对缬沙坦刻痕片分割的方法及损失量进行考察, 并研究分割后的释放行为和脆碎度。结果 单面中刻痕的缬沙坦片利于分割, 且分割后损失量<0.16%, 单半片释放行为与整片相似, 脆碎度考察后能符合药典要求。结论 单面中刻痕的缬沙坦片可以被均匀的分割, 能正常释放, 有利于临床的剂量调整。

关键词: 缬沙坦片; 分割性试验; 刻痕研究

中图分类号: R944.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)08-0955-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.08.013

Scoring Study for Valsartan Tablets

WANG Juan^{1,2}, FANG Yuling^{1,2}, HU Gongyun², ZENG Su^{1*} (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Zhejiang Huahai Pharmaceuticals Co., Ltd., Linhai 317024, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Pharmaceutical investigate for the scoring study based on valsartan tablets which were scored on one side. **METHODS** Tablets splitting method of inspecting and loss of mass test, dissolution curve and friability test for segmentation were researched. **RESULTS** Valsartan tablets scored on one side could be splitted easily, the loss of mass was less than 0.16%. Dissolution curve of segmentation was similar with the whole tablet. Result of friability could be met the criterion of Ch.P. **CONCLUSION** Tablet segments of valsartan tablets which scored on one side can be splitted uniformly and released normally. The score benefits the clinical dose adjustments.

KEY WORDS: valsartan tablets; splitting test; scoring study

固体口服片剂已成为最普遍的一种药用剂型, 临床上为了用药方便经常会选择人为将药片分割(药剂科称为药片分劈), 并在国内住院药房中使用率达到 25.8%^[1], 国外一些国家达到 24.1%^[2], 已经成为临床上调节剂量普遍使用的一种方法。由参考文献[3-4]可知, 分劈片剂涉及范围广, 包括刻痕片和无刻痕片, 并且分割方式多种多样, 包括手掰法、剪刀、刀片和切药器分割, 有刻痕的片剂较无刻痕片剂, 深刻痕片剂较浅刻痕片剂

分割后剂量更容易保持一致。另据报道, 在规模性的刻痕片的分割实践中有 36%的患者给予了负面评价, 其中 32%的患者认为分割时有损失, 15%的患者认为分割难度大^[5]。可见在药学研究阶段片剂刻痕的研究对临床应用非常重要。而目前国内已有的关于考察片剂可分割性的文献大多是临床工作者参考欧洲药典对片剂分剂量准确性的考察^[3-4,6], 本研究以单面有中刻痕制剂缬沙坦片为例, 更进一步探讨刻痕片的药学研究。

作者简介: 王娟, 女, 硕士生, 工程师 Tel: (0576)85015628
教授 Tel: (0571)88208407 E-mail: zengsu@zju.edu.cn

E-mail: wangjuan@huahaipharm.com *通信作者: 曾苏, 男, 博士,