

龙胆苦苷纳米乳的制备工艺及质量安全性评价

夏鹏飞^{1,2,3}, 马肖⁴, 吴国泰^{1,5}, 李阳^{1,2,3}, 樊秦^{1,2,3}, 赵磊^{1,2,3*}

¹甘肃中医药大学; ²甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室; ³甘肃省道地药材质量标准化技术与推广工程实验室; ⁴甘肃省第二人民医院; ⁵甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000

摘要: 通过筛选最佳处方制备龙胆苦苷纳米乳, 并对其质量安全性进行评价; 基于单因素考察及伪三元相图法, 筛选得到龙胆苦苷纳米乳制剂的处方为: 龙胆苦苷, 乙酸乙酯, 聚氧乙烯醚(35)蓖麻油, 无水乙醇, 水, 其质量比为 1.77:7.66:5.94:11.91:72.71, 龙胆苦苷纳米乳平均粒径为 23.08 nm; 建立高效液相色谱法测定龙胆苦苷纳米乳中龙胆苦苷的含量, 方法的专属性良好, 线性范围 0.00428~0.214 mg/mL; 不同温度、光照和湿度条件下含量无明显变化, 稳定性良好; 小鼠急性毒性实验结果表明属于实际无毒范围; 本研究研制的龙胆苦苷纳米乳制备工艺简单, 为提升龙胆苦苷口服生物利用度及扩大临床应用前景提供参考依据。

关键词: 龙胆苦苷; 纳米乳; 制备工艺; 质量评价

中图分类号: R944.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.11.003

Preparation and Evaluation of Quality and Security of Gentiopicroside Nanoemulsion

XIA Peng-fei^{1,2,3}, MA Xiao⁴, WU Guo-tai^{1,5}, LI Yang^{1,2,3}, FAN Qin^{1,2,3}, ZHAO Lei^{1,2,3*}

¹Gansu University of Chinese Medicine; ²Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the College of Gansu Province; ³Gansu province Engineering Laboratory for TCM standardization technology and popularization, Gansu University of Chinese medicine; ⁴Second People's Hospital of Gansu Province; ⁵Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology of TCM of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Abstract: The aim of this study was to optimize prescription of gentiopicroside nanoemulsion and evaluate its quality and security. Single-factor test and pseudo-ternary phase diagram were adopted to optimize prescription, optimal prescription was gentiopicroside/ethyl acetate/EL-35/absolute ethyl alcohol/Ultrapure water (1.77:7.66:5.94:11.91:72.71), the particle size of nanoemulsion was 23.08 nm; The content of gentiopicroside was determined by HPLC; Stability of prepared gentiopicroside nanoemulsion was good in the state of different temperatures, illumination intensity and humidity conditions; The security test demonstrated that there was no acute toxicity; The optimized preparation technology of gentiopicroside nanoemulsion was simple, repeatable and stable. It provided the possibility to improve the bioavailability and clinical application.

Key words: gentiopicroside; nanoemulsion; preparation technology; quality evaluation

龙胆苦苷为秦艽、龙胆等龙胆科植物的主要有效成分, 含量丰富。药理实验研究表明龙胆苦苷具有明确的保肝利胆、抗炎镇痛活性^[1], 同时还具有抗氧化、抑制肿瘤^[2]、抗病原微生物、中枢兴奋及

增强免疫等作用^[3], 可应用于肝炎防治及临床治疗^[4]。课题组前期实验还发现龙胆苦苷对骨关节炎具有一定的治疗作用^[5]。含有龙胆苦苷的中药剂型以口服制剂为主^[6]。龙胆苦苷为环烯醚萜类化合物, 极性较大, 易被酸水解, 口服后在生物体内吸收快、消除快, 研究表明其在大鼠体内代谢的消除半衰期只有 0.64 h, 生物利用度较低, 严重影响龙胆苦苷的药效发挥和开发利用。

纳米乳(nanoemulsion)可分为水包油型(O/W)、油包水型(W/O)及双连续型, 是由水相、油相、

收稿日期: 2017-06-09 接受日期: 2017-09-01

基金项目: 国家自然科学基金(81660577); 2014年度中医学院中青年科研基金(ZQ2014-2); 甘肃省科技计划(148RJZA064); 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室自主基金(ZDSYS-KJ-2016-008); 西北民族大学科研项目(31920160115); 甘肃省科技计划(148RJZA064)

* 通信作者 Tel: 86-931-8721802; E-mail: zzyhx@gszy.edu.cn

乳化剂和助乳化剂按适当比例组成的热力学稳定体系,能够通过将药物包裹,形成粒径在 10 ~ 100 nm 之间的球体,达到增加难溶药物的溶解度、提高易水解药物的稳定性的作用,进而达到缓释、靶向以及提高药物生物利用度的目的^[7],该技术已渗透到生物医药、化工、食品等领域,展现出良好的应用前景^[8]。本实验旨在筛选出适宜的油相、乳化剂以及助乳化剂,制备龙胆苦苷纳米乳,希望凭借纳米乳的特性,研制一种能够提高龙胆苦苷稳定性、疗效以及生物利用度的纳米乳制剂,并对其含量、黏度、密度、折光率、粒径、稳定性等参数进行了测定,以评价和控制纳米乳制剂的质量,最终通过小鼠口服急性毒性试验对纳米乳的安全性进行评价。

1 材料与仪器

龙胆苦苷(天津士兰科技有限公司,批号 20160308);聚氧乙烯醚(35)蓖麻油(EL-35),肉豆蔻酸异丙酯(IPM),聚氧乙烯醚(40)蓖麻油(EL-40),聚氧乙烯醚(40)氢化蓖麻油(RH40) 20(均为化学纯,江苏省海安石油化工厂);司盘-80,乳化剂 OP-10(中国莱阳市双双化工有限公司,山东);乙酸乙酯,无水乙醇,吐温-80(天津市大茂化学试剂厂);液体石蜡(天津欧博凯化工有限公司);大豆卵磷脂(天津市凯信化学工业有限公司);丙三醇(国药集团化学试剂有限公司),以上试剂为分析纯;液相用试剂为色谱纯,水为超纯水(实验室自制)。SPF 级 Km 小鼠,体重 20 ± 5 g,雌雄各半,购自甘肃中医药大学实验动物中心,动物合格证号: No. 62001000000336。

Tecnai G2 20 型分析透射电镜(美国 FEI 公司);激光纳米粒度仪(英国马尔文公司);JJ-3 控温磁力搅拌器(金坛市恒丰仪器厂);SW22 恒温水域振荡器(优莱博技术(北京)有限公司);PBJ 420-3M 电子分析天平(德国科恩公司);UW620H 电子分析天平(日本岛津公司);Agilent 1260II Infinity 高效液相色谱仪。

2 实验方法

2.1 筛选龙胆苦苷纳米乳的处方

2.1.1 水相和油相的选择

龙胆苦苷极性较大,在水中具有良好的溶解性,溶解度达到 $7.65 \text{ g}/100 \text{ g}$ ^[9],因此选择超纯水为水相;选取乙酸乙酯、IPM、液体石蜡、橄榄油及棕榈酸

异丙酯为待选油相,测定龙胆苦苷在各油相中的溶解度,最终选择对龙胆苦苷溶解能力稍大的乙酸乙酯为油相。

2.1.2 伪三元相图的绘制^[10]

将乳化剂与助乳化剂按照一定的质量比(Km)混匀形成混合乳化剂,再分别与油相按照 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的质量比混匀,在磁力搅拌的情况下逐滴加入超纯水,观察混合体系的变化,滴定过程中可借助丁达尔现象和偏光显微镜来判断是否形成了纳米乳,最终记录体系由浑浊变澄清时的临界加水量。采用 OriginPro 8.5 软件,以水相、油相及混合乳化剂的质量为三个顶点,绘制伪三元相图,以图中纳米乳区域面积的大小作为筛选各相的依据。

2.1.3 乳化剂和助乳化剂的筛选

乳化剂和助乳化剂的选择要考虑到纳米乳本身及其使用目的、经济性、安全性等问题,是筛选纳米乳处方组分的最重要一步。本课题选择 OP-10 乳化剂、RH-40、吐温-80、EL-35 及 EL-40 为待选乳化剂。

根据乳化理论和纳米乳的特性,纳米乳的形成需要有助表面活性剂提供短暂的负表面张力作用。醇类为应用最广泛的助表面活性剂,不仅可以协助表面活性剂降低界面张力,增加界面流动性,调节表面活性剂的 HLB 值,还可以增大药物溶解度,增大纳米乳区域面积。因此本课题选择无水乙醇、异丙醇、正丁醇及 1,2-丙二醇为待选助乳化剂。在考察乳化剂时选择无水乙醇为助乳化剂,按照“2.1.2”项下方法绘制伪三元相图,以图中纳米乳区域面积大小作为选择乳化剂及助乳化剂的依据。

2.1.4 乳化剂和助乳化剂比值(Km)筛选

分别将筛选得到的乳化剂与助乳化剂按照 Km = 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 混合,再按照“2.1.2”项下的方法绘制伪三元相图,以图中纳米乳区域面积大小作为选择 Km 值的依据。

2.2 观察、测定龙胆苦苷纳米乳的理化性质

2.2.1 外观和类型鉴别

正常光照下观察龙胆苦苷纳米乳的颜色、状态及流动性;纳米乳类型的鉴别采用染色法^[11],采用红色的油溶性染料苏丹红 III 和蓝色的水溶性染料亚甲兰在纳米乳中扩散的快慢来判断,蓝色的扩散速度大于红色,则纳米乳为 O/W 型;反之则为 W/O 型;二者一样快,则为双连续型。

2.2.2 密度、粘度、折光率和 pH

分别采用比重瓶、奥氏粘度计、阿贝折光仪及酸度计测定室温下龙胆苦苷纳米乳的密度、粘度、折光率和 pH。

2.2.3 形态

采用透射电镜观察龙胆苦苷纳米乳的形态及分布状态。

2.2.4 粒径和粒度分布

采用激光纳米粒度仪测定纳米乳的粒径与粒度分布。

2.3 龙胆苦苷纳米乳含量测定方法的建立

2.3.1 色谱条件

色谱柱: Thermo ODS HYPERSIL 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(25:75); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 275 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.3.2 标准曲线的建立

精密称取龙胆苦苷对照品 0.0107 g, 甲醇溶解并定容于 50 mL 量瓶中, 得到浓度为 0.214 mg/mL 的储备液, 4 °C 保存。精密吸取储备液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.7、5.0 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中, 甲醇定容, 得到龙胆苦苷系列浓度溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进行测定, 以峰面积 A 对龙胆苦苷浓度 C 进行线性回归。

2.3.3 供试品溶液的制备

按照筛选得到的处方制备龙胆苦苷纳米乳, 精密量取适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声

30 min 破乳, 静置 10 min, 取续滤液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 即得。同法制得空白纳米乳。

2.3.4 专属性考察

取龙胆苦苷对照品溶液、空白纳米乳、龙胆苦苷纳米乳按照“2.3.1”项下条件进行测定。

2.4 稳定性考察

龙胆苦苷纳米乳 10000 rpm 10 min; 室温下密封放置 90 d; 高温(40, 60 °C)、低温(4 °C)及光照(4500 ± 500) Lx 下进行实验, 于 3、7 d 取样测定, 观察上述条件下龙胆苦苷纳米乳是否出现分层、沉淀。

2.5 龙胆苦苷纳米乳的急性毒性实验

SPF 级 Km 小鼠, 适应性喂养三天, 随机分为三组, 每组 10 只 ♀ ♂ 各半, 采用灌胃法, 按 1、2、4、6、8 g/kg 经口一次给药, 给药前禁食 12 h, 自由饮水, 观察并记录各组小鼠给药后的饮食状况、活动状况、死亡数和死亡时间。

3 结果与分析

3.1 龙胆苦苷纳米乳的处方

3.1.1 乳化剂和助乳化剂的选择

按照“2.1.2”项下方法绘制伪三元相图, 以图中纳米乳区域面积大小作为选择乳化剂及助乳化剂的依据, (结果见图 1、2), 最终选择 EL-35 为乳化剂, 无水乙醇为助乳化剂。

3.1.2 乳化剂和助乳化剂比值(Km)筛选

结果表明当 Km = 2:1 及 1:2 时伪三元相图中纳

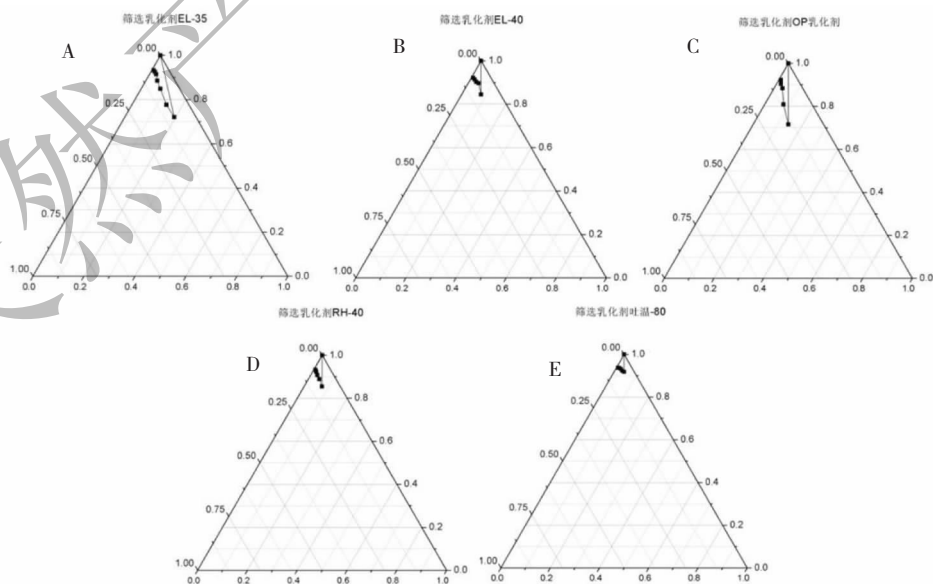


图 1 筛选乳化剂 EL-35(A)、EL-40(B)、OP-10(C)、RH-40(D)、吐温-80(E) 伪三元相图

Fig. 1 Effect of emulsifiers contained of EL-35(A), EL-40(B), OP-10(C), RH-40(D) and Tween-80(E) on nanoemulsion region

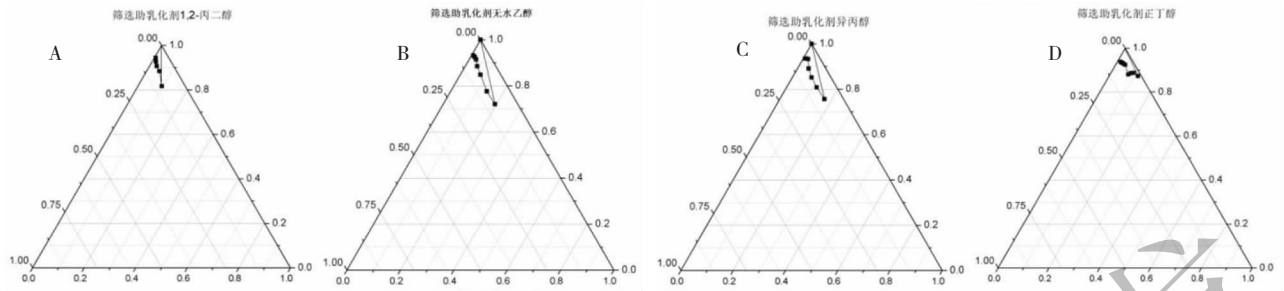


图2 筛选助乳化剂 1,2-丙二醇(A)、无水乙醇(B)、异丙醇(C)及正丁醇(D) 伪三元相图

Fig. 2 Effect of co-emulsifiers contained of propylene glycol (A), absolute ethyl alcohol (B), isopropyl alcohol (C) and n-butyl alcohol (D) on nanoemulsion region

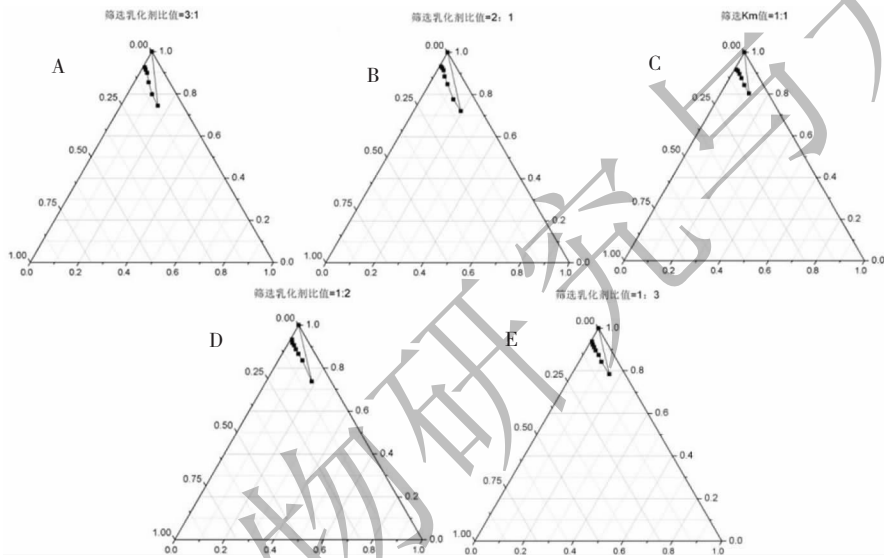


图3 筛选乳化剂和助乳化剂比值(A: Km = 3:1; B: Km = 2:1; C: Km = 1:1; D: Km = 1:2; E: Km = 1:3)

Fig. 3 Pseudoternary phase diagrams of gentiopicoside nanoemulsion and the Km of 3:1 (A), 2:1 (B), 1:1 (C), 1:2 (D), and 1:3 (E)

米乳区域较大(图3),考虑到无水乙醇的剪切作用及对龙胆苦苷的增溶作用,因此选择 Km = 1:2。

3.1.3 龙胆苦苷纳米乳的制备

以伪三元相图和药物稳定性为依据,确定龙胆苦苷纳米乳的处方组成为:龙胆苦苷,乙酸乙酯,EL-35,无水乙醇,水,其质量比为 1.77:7.66:5.94:11.91:72.71。按照该比值对各组分进行称取,室温下将龙胆苦苷溶于超纯水中,搅拌的同时加入乙酸乙酯,EL-35,无水乙醇,得到澄清透明的龙胆苦苷纳米乳。同法制得空白纳米乳。

3.2 龙胆苦苷纳米乳的理化性质

3.2.1 外观和类型鉴别

本实验研制的龙胆苦苷纳米乳为淡蓝色、澄清透明的液体,流动性良好,激光束照射呈现丁达尔效应;染色法结果表明龙胆苦苷纳米乳为 O/W 型。

3.2.2 密度、粘度、折光率和 pH

室温下龙胆苦苷纳米乳的密度为 1.0099;粘度为 4.4437×10^{-3} (Pa · S);折光率为 1.3448;pH 为 6.049。

3.2.3 形态

透射电子镜下观察纳米乳的形态呈圆球形,分布均匀,背景清晰无干扰(见图4、5)。

3.2.4 粒径和粒度分布

采用激光纳米粒度仪测定纳米乳的粒径与粒度分布(见图5)。结果表明,龙胆苦苷纳米乳的粒径主要集中在 10 ~ 100 nm 之间,平均粒径为 23.08 nm,多分散系数(PDI)为 0.24。

3.3 龙胆苦苷纳米乳含量的测定方法

3.3.1 标准曲线

以峰面积 A 对龙胆苦苷浓度 C 进行线性回归,得标准曲线的回归方程: $y = 12053x + 6.111$ ($r^2 =$

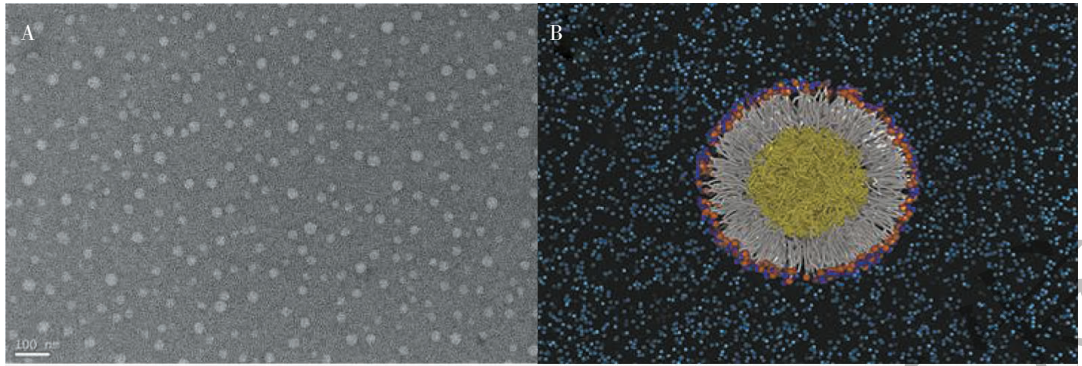


图4 龙胆苦苷纳米乳的透射电镜图(A)及模型图(B)

Fig. 4 Transmission electron microscope (A) and model diagram (B) of gentiopicroside nanoemulsion

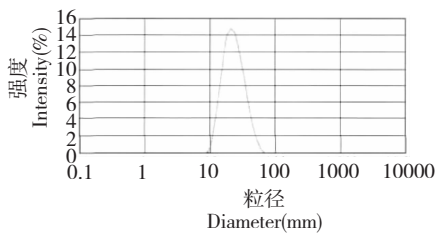


图5 龙胆苦苷纳米乳的粒度分布图

Fig. 5 The diameter distribution of gentiopicroside nanoemulsion

1),表明龙胆苦苷在 0.00428 ~ 0.214 mg/mL 范围内有良好的线性关系。

3.3.2 专属性考察

专属性考察结果表明龙胆苦苷色谱峰无干扰,峰形良好(结果见图6)。

3.3.3 方法学考察

重复性、稳定性、日间、日内精密密度 RSD 均小于 3%,加样回收率为 99.4%。

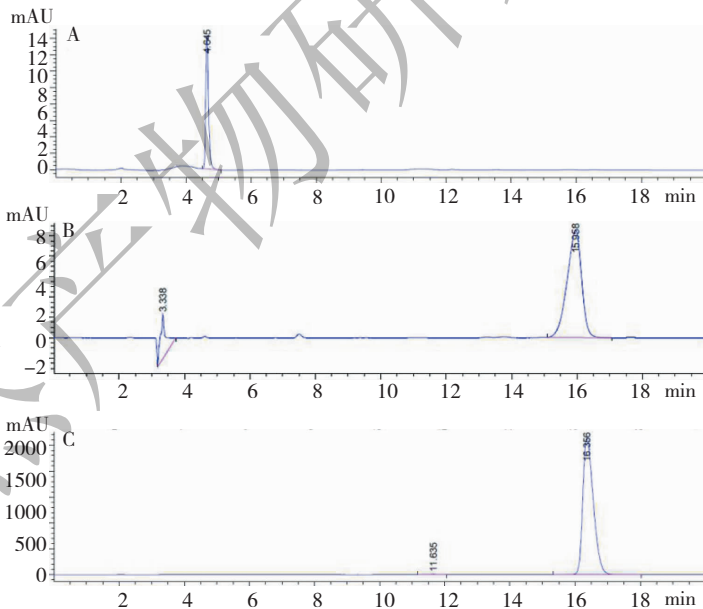


图6 空白纳米乳(A)、龙胆苦苷纳米乳(B)及龙胆苦苷对照品(C)的HPLC色谱图

Fig. 6 HPLC chromatograms of blank nanoemulsion (A), gentiopicroside nanoemulsion (B) and gentiopicroside nanoemulsion (C)

3.4 稳定性考察

龙胆苦苷纳米乳 10000 rpm 10 min,仍保持澄清透明,未出现分层、沉淀;室温下密封放置 90 d,仍保持澄清透明,无分层、药物析出现象;将龙胆苦苷纳

米乳放置于高温(40、60 ℃)、低温(4 ℃)及光照(4500 ± 500) Lx 下进行实验,于 3、7 d 取样测定,含量考察结果见表 1。结果表明,龙胆苦苷纳米乳在上述条件下含量、性质保持稳定。

表 1 稳定性实验结果 (mg/mL)
Table 1 Results of stability tests (mg/mL)

时间 Time (d)	条件 Condition			
	4 °C	40 °C	光照 (4500 ± 500) Lx Illumination intensity (4500 ± 500) Lx	相对湿度 92.5 % Relative humidity 92.5 %
0	0.1	0.0998	0.0996	0.0999
3	0.0996	0.0993	0.0995	0.0997
7	0.0994	0.0991	0.0995	0.0998

3.5 龙胆苦苷纳米乳的急性毒性实验

急性毒性实验表明龙胆苦苷纳米乳给药剂量达到 8g/kg 时小鼠的死亡率为 0%, 属于实际无毒范围。同时, 饮食状况等均良好, 小鼠处死后腹腔观察脏器及内容物, 给药组并无异常, 与空白组基本一致, 表明龙胆苦苷纳米乳对小鼠正常代谢无影响。

4 讨论与结论

纳米乳制剂的商品出现在 1928 年, 但直到 20 世纪的 90 年代, 作为药物新型载体才得到迅猛发展及药用纳米乳商品问世^[12]。文献显示, 有关纳米乳的形成机理存在多种理论, 但尚无统一的结论^[13]。据已有理论推测, 本实验制得的龙胆苦苷纳米乳形成机理为: 龙胆苦苷溶于水形成水相, 加入油相, 在表面活性剂的作用下形成普通乳状液, 再加入助表面活性剂, 表面活性剂和助表面活性剂就会吸附在油/水界面上, 产生混合吸附, 甚至产生瞬时负界面张力。由于负界面张力无法存在, 因此混合吸附体系将界面自发扩张, 使更多的表面活性剂和助表面活性剂吸附于界面, 直至界面张力恢复至零或微小的正值, 从而形成纳米乳(如图 4 所示)。

本实验筛选得到的龙胆苦苷纳米乳处方中选择乙酸乙酯为油相, 相比于 IPM、液体石蜡、橄榄油及棕榈酸异丙酯, 对龙胆苦苷的溶解度较大, 有助于提升纳米乳制剂的稳定性, 同时乙酸乙酯自身无色透明, 微带果香气味, 广泛应用于医药产业; 选择 EL-35 为乳化剂, 相比于 OP-10 乳化剂、RH-40、吐温-80 及 EL-40 所得伪三元相图纳米乳区域较大, 同时能满足作为药物原料时的临床要求; 醇类是常用的助乳化剂, 能增大药物溶解度, 提高载药量, 通过自身的剪切作用减小纳米乳的粒径, 最终选择无水乙醇为助乳化剂, 其纳米乳区范围大于异丙醇、正丁醇及 1,2-丙二醇, 并且综合考虑, 乳化剂与助乳化剂的质量比为 1:2, 但醇类具有挥发性, 因此在放置过程中

要保证密封性, 否则会导致药物析出, 影响纳米乳制剂的质量。

本实验基于单因素法结合伪三元相图法对纳米乳的处方进行筛选优化, 得到了龙胆苦苷纳米乳的最佳处方, 同时使处方中油相、乳化剂及助乳化剂的比例降低至最小, 以减少其对机体的影响; 通过测定纳米乳的理化性质, 发现制得的龙胆苦苷纳米乳平均粒径为 23.08 nm, 粒径较小, 多分散系数(PDI)为 0.24, 透射电镜显示纳米乳分布均匀无黏连, 背景清晰无干扰, 表明符合纳米乳性质的要求, 且质量较好, 表明制剂工艺合理; 通过建立含量测定的方法, 对纳米乳的质量进行检测和把控; 通过测定稳定性, 保证了纳米乳制剂在非正常状态下仍能保持性质、含量的稳定; 通过研究急性毒性实验, 证明纳米乳制剂属于实际无毒。

龙胆苦苷具有明显的抗炎镇痛作用^[14], 但该化合物极性较大, 口服后吸收快、消除快, 导致生物利用度较低。将龙胆苦苷制成纳米乳制剂, 减小其极性, 提高放置稳定性, 借助纳米乳形成的包裹物减慢其在体内的吸收、代谢速度。通过在大鼠体内的药动学实验证明将龙胆苦苷制成纳米乳制剂后, 药峰浓度增大的同时药峰时间推后, 使得生物利用度明显提高。

龙胆苦苷在水中具有良好的溶解度, 使得龙胆苦苷纳米乳的载药量得到了保障。同时, 本课题制备的龙胆苦苷纳米乳为 O/W 型纳米乳, 可以用大量水进行稀释, 自由调节浓度, 使用方便。通过本实验的开展, 为提升龙胆苦苷口服生物利用度及扩大临床应用提供参考依据。

参考文献

- Bai L (白兰), Yin RL (尹蓉莉), Li DF (李东芬), et al. The preparation of gentiopicrosidoliposomes. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2012, 34: 1484-1487.

- 2 Feng S(冯硕), Xu L(徐丽), Zhao J(赵骏). Preparation of the liposomes of gentiopicroin by the film-ultrasonic dispersion. *Chin Med J Res Prac*(现代中药研究与实践), 2012, 26:48-50.
- 3 Guan L(关丽), Chen LL(陈露露), Cai JH(蔡江辉), et al. Protection of gentiopicroside on acute liver injury of mice induced by sepsis. *Laser J*(激光杂志), 2013, 34:96-97.
- 4 Yao XW(姚新武), Liu CX(刘长霞), Zhang P(张鹏). Optimization of the multiple emulsion formulation of gentiopicroside liposome using response surface methodology. *J Beijing Univ Chem Tech, Nat Sci*(北京化工大学学报, 自科版), 2012, 39:68-73.
- 5 Zhao L(赵磊), Ye J(叶娟), Wu GT(吴国泰), et al. Gentiopicroside prevents interleukin-1beta induced inflammation response in rat articular chondrocyte. *J Ethnopharmacol*(民族药理学), 2015, 172:100-107.
- 6 Pu BC(蒲宝婵), Zhao J(赵骏), Qiu C(邱超), et al. Preparation of gentiopicroside liposomes by double emulsion method. *Drug Eval Res*(药物评价研究), 2011, 34:428-431.
- 7 Li YP(李艳萍), Zhang ZR(张志荣). The progress and application of nanoemulsion. *West China J Pharm Sci*(华西药理学杂志), 2010, 25:485-488.
- 8 Yang XF(杨雪峰). Preparation of compound amoxicillin and levofloxacin hydrochloride nanoemulsion and its pharmacodynamics study on bovine clinical mastitis. Yangling; Northwest A&F University(西北农林科技大学), PhD.
- 9 Zhao WN(赵文娜), Shang PP(尚平平), Sun WJ(孙文基). HPLC determination of apparent n-octanol/water partition coefficient of gentiopicroside. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2009, 29:1093-1095.
- 10 Hu HW(胡宏伟), Liu GX(刘根新), Wang J(王婧), et al. Preparation and property evaluation of artesunate nanoemulsion for injection. *Chin Hosp Pharm J*(药物分析杂志), 2009, 29:1780-1782.
- 11 Rui YP(芮亚培), Ouyang WQ(欧阳五庆), Qiu G(邱刚), et al. Study on preparation of erythromycin nanoemulsion and its pharmacy *in vitro*. *J Northwest A&F Univ, Nat Sci*(西北农林科技大学学报, 自科版), 2008, 36(3):59-63.
- 12 Zhang ZR(张志荣). Targeted therapeutic molecular basis and targeted drug design. Beijing: Science Press(科学出版社), 2005. 33.
- 13 Yang XF(杨雪峰). Preparation of compound amoxicillin and levofloxacin hydrochloride nanoemulsion and its pharmacodynamics study on bovine clinical mastitis. Yangling; Northwest A&F University(西北农林科技大学), MSc. 2009.
- 14 Chen L(陈雷), Wang HB(王海波), Sun XL(孙晓丽), et al. Study on the analgesic and anti-inflammatory activities of gentiopicroside. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2008, 20:903-906.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

广西壮族自治区药用植物园

广西科学院

重庆市药物种植研究所

中国科学院广西植物研究所

昆明医科大学药学院