

离心沉淀-离心超滤法测定盐酸青藤碱脂质体的包封率

郑杭生, 佐拉·沙肯迪克, 王湘林, 徐莲英

上海中医药大学, 上海 201203

摘要: 目的 建立盐酸青藤碱 (sinomenine hydrochloride, SM-HCl) 脂质体包封率的测定方法, 并阐明药物在脂质体中的滞留特性。方法 采用薄膜分散法制备 SM-HCl 脂质体。以 HPLC 法测定脂质体药物的量, 色谱柱为 Kromasil ODS C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-乙二胺 (55:45:0.225), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 265 nm。以离心沉淀-离心超滤法测定 SM-HCl 脂质体的包封率, 并与以枸橼酸缓冲液 (pH 7.0) 水化的脂质体样品稀释前后的包封率进行对比。结果 辅料与溶剂对青藤碱的定量测定无干扰, 青藤碱在 9.82~78.56 μg/mL 线性关系良好 ($r=0.9997$), 平均回收率在 99.29%~100.8%, 日内与日间精密度良好 (RSD≤2.1%)。50 μL 药液可使超滤膜对药物的吸附达到饱和。以枸橼酸缓冲液 (pH 7.0) 水化的脂质体样品的包封率为 33.16%, 稀释 1 倍后该样品的包封率降至 14.75%。结论 HPLC 法与离心沉淀-离心超滤法结合可用于测定 SM-HCl 脂质体的包封率, 该方法快速、准确; 离心超滤中应弃去 50 μL 初滤液以确保滤液与脂质体外水相药物浓度一致; 青藤碱与脂质双分子层有一定的亲和力, 但在脂质体中的滞留性较差。

关键词: 盐酸青藤碱脂质体; 青藤碱; 包封率; 离心沉淀; 离心超滤

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)08-1523-05

Determination of entrapment efficiency of sinomenine hydrochloride liposomes with centrifugation sedimentation combined with centrifugation ultrafiltration

ZHENG Hang-sheng, ZUOLA Shakendike, WANG Xiang-lin, XU Lian-ying

Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To develop a method for determining the entrapment efficiency of sinomenine hydrochloride (SM-HCl) liposomes and to illuminate the drug retention property in the liposomes. **Methods** Thin film hydration method was employed to prepare SM-HCl liposomes. HPLC was used to determine drug content of the liposomes. A Kromasil ODS C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with an isocratic elution composed of methanol, water, and ethylenediamine in the ratio of 55 : 45 : 0.225 at a flow rate of 1.0 mL/min. The column was maintained at 30 °C. The UV detector was set at 265 nm. Centrifugation sedimentation combined with centrifugation ultrafiltration was used to determine drug entrapment efficiency of the liposomes. The entrapment efficiencies of an SM-HCl liposome sample (hydrated with citric buffer solution at pH 7.0) and its diluted sample were compared. **Results** The pharmaceutical excipients and solvents for analysis had no interference with the determination of sinomenine. Sinomenine had a good linear relation in the range of 9.82—78.6 μg/mL ($r = 0.9997$), the intra-day and inter-day precisions were with RSD≤2.1% and the averaged recovery was within 99.29%—100.8%. SM-HCl solution (50 μL) was able to saturate the drug absorption of ultrafiltration films. The entrapment efficiencies of the SM-HCl liposome sample (hydrated with citric buffer solution at pH 7.0) and its double-volume diluted sample were 33.16% and 14.75%, respectively. **Conclusion** HPLC and centrifugation sedimentation combined with centrifugation ultrafiltration are able to determine the entrapment efficiency of SM-HCl liposomes efficiently and accurately. Initial filtrate (50 μL) should be discarded in the process of ultrafiltration in order that the drug concentration in filtrate may be equal to that of external aqueous phase of liposomes. The retention of sinomenine in the liposomes is poor, although it has considerable affinity to the lipid bilayers.

Key words: sinomenine hydrochloride liposomes; sinomenine (SM); entrapment efficiency; centrifugation sedimentation; centrifugation ultrafiltration

收稿日期: 2010-10-29

基金项目: 上海市教委重点学科资助项目 (J50302); 上海中医药大学课程建设项目 (实验教学组)

作者简介: 郑杭生, 男, 副教授, 博士, 研究方向为中药新剂型及其体内过程。Tel: (021)51322210 13671574060 E-mail: HS-zheng@163.com

青藤碱 (sinomenine, SM) 是从防己科植物青风藤 *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. et Wils. 中提取的生物碱单体, 药用多为其盐酸盐 (sinomenine hydrochloride, SM-HCl)。青藤碱具有抗炎、免疫抑制、镇痛、降压、抗心律失常、抗脂质过氧化等药理作用, 临床用于治疗风湿、类风湿关节炎及心律失常等病症^[1-2]。但该药临床长期服用易引起皮疹、白细胞减少、血小板减少以及胃痛等胃肠道不良反应^[3-6], 为减少其不良反应并发挥最佳的治疗作用, 制剂研究人员已开展多项关于该药物的经皮吸收脂质体制剂的研究^[7-12]。药物包封率是脂质体制剂质量评价的重要指标之一, 含药脂质体通常采用合适的方法将外水相中的游离药物与脂质体进行分离测定, 根据测定中样品是否经历稀释过程可以分为平衡测定法与非平衡测定法^[13-14]。根据文献报道, 目前 SM 脂质体制剂研究中药物包封率测定采用了葡聚糖凝胶柱分离法^[7, 9, 15]与透析法^[16], 这两种方法均属于非平衡测定法, 测定中被脂质体包裹的药物可能由于外水相中药物浓度的降低而发生泄漏, 从而导致测定值偏小^[17]。为了更准确地测定 SM 脂质体的药物包封率, 同时阐明药物在脂质体中的滞留特性, 本实验建立了 HPLC 法测定 SM 脂质体的药物量, 并在此基础上建立了一种平衡测定法——离心沉淀-离心超滤法, 测定脂质体的药物包封率。

1 仪器与材料

HP8453 可见-紫外分光光度计 (美国惠普公司); LC-2130 高效液相色谱仪 (上海天美科学仪器有限公司); T25 高剪切分散仪 (德国 IKA 公司); Nicomp 380 CLS 激光散射粒度测定仪 (美国 PSS 公司); R 系列旋转蒸发器 (上海申生科技有限公司); 2—16k 冷冻高速离心机 (Sigma 公司); BX51 光学显微镜 (日本奥林巴斯); BS 124 S 电子天平 (德国萨多利斯公司); 超滤单元 (Microcon YM 100, 截留相对分子质量为 1×10^5 , Millipore 公司)。

胆固醇 (CH, 批号 F20050815, 分析纯, 中国医药集团上海化学试剂公司); 维生素 E (VE, 批号 082K1382, Sigma 公司); 大豆磷脂 (sbPC, 批号 040406, 注射级, 磷脂酰胆碱质量分数大于 70%, 上海太伟药业有限公司); SM-HCl (批号 Bsy090415, 标示质量分数为 98%, 本实验室以 HPLC 外标法实测质量分数为 92.67%, 西安博胜生物科技有限公司); SM 对照品 (批号 0774-200206, 中国药品生物制品检定所); 枸橼酸缓冲液 (CBS): 将 0.1 mol/L

枸橼酸溶液与 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液按一定比例混合配成; 甲醇为色谱纯; HPLC 用水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 脂质体的制备

根据前期工艺研究结果^[18], 将 SM-HCl 0.05 g、sbPC 0.3 g、CH 0.05 g、VE 0.005 g 溶于 35 mL 二氯甲烷-甲醇 (5:2) 中, 转移至 500 mL 茄形瓶中, 在 45 °C 50 r/min 下减压旋转蒸去有机溶剂, 得到干膜, 室温下抽真空 2 h, 再以氮气吹干膜 15 min 后加入 15 mL 一定 pH 值的 CBS 水化干膜, 至水化完全后在冰水浴中用高剪切分散仪以 9 500 r/min 进行处理, 每次剪切持续 30 s, 间隔 1 min, 重复 6 次, 即得脂质体混悬液样品。以激光散射粒度测定仪测得脂质体的平均粒径为 854 nm, 多分散指数为 0.267, Zeta 电位为 -25.36 mV。

2.2 脂质体混悬液样品中 SM-HCl 的 HPLC 测定

2.2.1 检测波长的选择 以 HPLC 流动相为溶剂配制 SM 对照品溶液, 在 200~600 nm 进行吸光度扫描, 结果表明在 265 nm 处有一最大吸收峰, 故此波长确定为 HPLC 的检测波长。

2.2.2 色谱条件 色谱柱为 Kromasil ODS C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-乙二胺 (55:45:0.225); 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 265 nm; 以定量环定量进样 20 μL。

2.2.3 对照品储备液的制备 精密称取 60 °C 减压干燥至恒定质量的 SM 对照品 9.82 mg, 置 50 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 SM 196.4 μg/mL 的对照品储备液。

2.2.4 供试品溶液的制备 精密量取脂质体混悬液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀, 取所得溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.2.5 色谱峰的专属性 分别取空白脂质体与 SM-HCl 脂质体混悬液样品各 1 mL (后者相当于 SM-HCl 约 3.3 mg), 按“2.2.4”项操作, 分别得到两者的供试品溶液, 取上述两份供试品溶液与青藤碱对照品溶液 (29.46 μg/mL), 分别进样 20 μL 进行分析, 色谱图见图 1, 可见溶剂与辅料对 SM-HCl 的测定无干扰。

2.2.6 线性关系的考察 分别精密量取 SM 对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得 9.82、

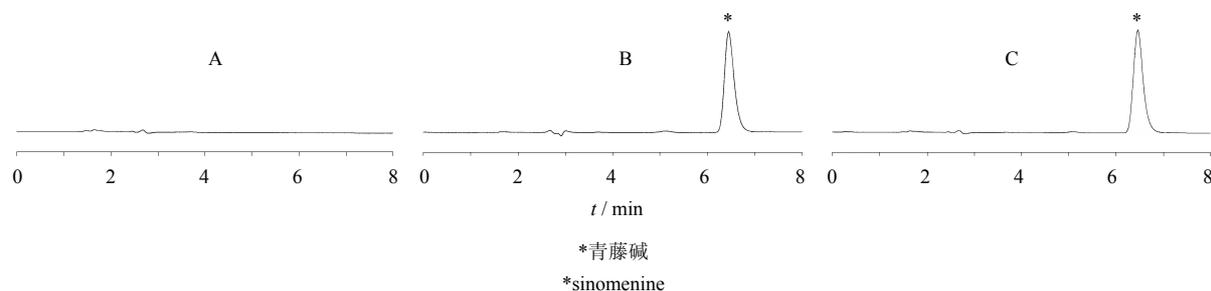


图 1 空白脂质体 (A)、青藤碱对照品 (B) 和盐酸青藤碱脂质体 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank liposomes (A), SM reference substance (B), and SM-HCl liposomes (C)

19.64、29.46、39.28、58.92、78.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液。在上述色谱条件下进行分析,以 SM 峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=26.6091X-26.2275$, $r=0.9997$,表明 SM 在 9.82~78.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.7 精密度试验 取低、中、高质量浓度 (9.82、29.46、78.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 3 份 SM 对照品溶液,分别连续进样 5 次,以及连续 5 天内每天分别进样 1 次,记录色谱图,计算 SM 色谱峰面积的 RSD 值。结果日内精密度分别为 0.4%、0.8%、0.9%; 日间精密度分别为 2.0%、2.1%、1.6%。

2.2.8 重现性试验 取脂质体混悬液样品平行制备供试品溶液 5 份,分别进样分析,记录色谱图,计算得脂质体混悬液中 SM-HCl 质量浓度的 RSD 为 0.6%。

2.2.9 稳定性试验 取脂质体混悬液样品制备供试品溶液,分别于 0、1、4、8、12、24 h 进样分析,记录 SM 的峰面积,计算得 SM 峰面积的 RSD 为 0.6%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.10 回收率试验 精密量取空白脂质体混悬液 1 mL 置 10 mL 量瓶中,共 9 份,分为 3 组,分别加入 SM 对照品约 2.4、3.0、3.6 mg (分别为每毫升

脂质体混悬液所含 SM 量的 80%、100%、120%),精密称定,摇匀,制备供试品溶液,进样分析,计算回收率。结果不同加药量下的平均回收率分别为 100.8%、99.29%、99.79%,RSD 值分别为 0.7%、1.0%、1.3%。

2.2.11 样品测定 取脂质体混悬液样品平行制备供试品溶液 3 份,进样分析,结果脂质体混悬液中 SM-HCl 的质量浓度为 3.31 mg/mL, RSD 为 0.2%。

2.3 离心沉淀-离心超滤法测定脂质体封装率

2.3.1 超滤膜吸附 SM-HCl 达饱和所需药液体积的考察 精密称取 SM-HCl 样品 4 份 (50.1、24.8、12.6、6.6 mg),分别置 10 mL 量瓶中,加蒸馏水溶解,定容,摇匀。从所得的 4 份溶液中各吸取 50 μL ,分别经 4 个超滤单元进行超滤并收集滤液,超滤单元不换,再分别同法超滤 3 次。各滤液与滤过前的药液均以流动相稀释 100 倍后按“2.2.2”项条件进行 HPLC 分析,记录 SM 的峰面积,结果见表 1。可以看出在各个质量浓度下第 2 份滤液的峰面积与滤过前药液一致,故在超滤过程中应弃去前 50 μL 初滤液。

2.3.2 测定过程 取待测脂质体混悬液样品,摇匀,取少量进行光学显微镜观察,确认其中不含 SM-HCl 结晶。精密称取约 1 g,置精密称定质量的 1.5

表 1 超滤膜吸附 SM-HCl 达饱和所需药液体积考察结果

Table 1 Required volumes of drug solutions to saturate SM-HCl adsorption of ultrafiltration films

理论质量浓度*/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	超滤前药液 HPLC 峰面积/($\text{mV}\cdot\text{s}$)	连续超滤 4 次 (每次加药液 50 μL) 后各次所得滤液的 HPLC 峰面积/($\text{mV}\cdot\text{s}$)			
		第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次
4.64	1 211.359	1 128.684	1 205.450	1 232.234	1 206.106
2.30	578.952	531.538	577.454	582.480	579.141
1.17	281.200	262.615	278.642	281.793	283.185
0.61	129.235	125.003	126.112	131.336	132.489

*理论质量浓度根据 SM-HCl 样品的质量分数为 92.67% 计算得到

*Theoretical concentration was calculated based on purity of SM-HCl sample equal to 92.67%

mL 具塞塑料离心管中，离心（转速 15 300 r/min，温度 20 ℃）15 min，使大部分脂质体沉淀，取适量上清液进行离心超滤（转速 6 000 r/min，温度 20 ℃），弃去 50 μL 初滤液，收集续滤液，按“2.2.2”项下 HPLC 条件分别测定续滤液（以流动相稀释适当倍数）与离心前脂质体混悬液样品（按“2.2.4”项操作制备供试品溶液）中 SM-HCl 的质量浓度。进一步离心（转速 15 300 r/min，温度 20 ℃）脂质体样品足够长时间使脂质体完全沉淀，除去上清液，精密称定沉淀的脂质体与具塞塑料离心管的总质量，计算得外水相质量，计算包封率（EE）。

$$EE = 1 - W_{EA} \times \rho_S \times C_{EA} / (W_S \times \rho_{EA} \times C_S) \quad (1)$$

W_{EA} 与 C_{EA} 分别为外水相的质量（g）与外水相中的 SM-HCl 质量浓度（mg/mL）， W_S 与 C_S 分别为脂质体样品取样量（g）与其中 SM-HCl 质量浓度（mg/mL）， ρ_{EA} 与 ρ_S 分别为外水相与脂质体样品的密度（g/mL）

ρ_{EA} 与 ρ_S 可以近似地确定为 1 g/mL，故（1）式可以转化为：

$$EE = 1 - W_{EA} \times C_{EA} / (W_S \times C_S) \quad (2)$$

又因脂质体样品中外水相的比例 $EA = W_{EA} / W_S$ ，故（2）式可进一步转化为：

$$EE = 1 - EA \times C_{EA} / C_S \quad (3)$$

2.3.3 样品与稀释后样品的测定 取按“2.1”项下处方工艺制备的脂质体混悬液，水化液 CBS 的 pH 值为 7.0，测得脂质体混悬液的 pH 值为 7.0，以水化液稀释脂质体 1 倍，摇匀，得稀释后的脂质体样品。按“2.3.2”项方法分别测定稀释前后脂质体的包封率，每个样品平行测定 3 份，结果见表 2。可以看出，脂质体的药物包封率较低，稀释一倍后包封率明显降低，降低了 18.41%。

3 讨论

本实验建立了 HPLC 测定 SM-HCl 脂质体药物的方法。因为脂质体的外水相属于脂质体样品的一

表 2 稀释前后 SM-HCl 脂质体（pH 7.0 CBS 水化）的包封率测定结果（n=3）

Table 2 Entrapment efficiencies of a SM-HCl liposome sample (hydrated with pH 7.0 CBS) before and after being diluted (n = 3)

样 品	平均包封率/%	包封率 RSD/%	样品中脂质体囊泡的质量分数/%
SM-HCl 脂质体	33.16	2.2	12.06
稀释后 SM-HCl 脂质体	14.75	3.1	6.54

部分，所以本实验未进行外水相中药物量测定的方法学验证。

本实验建立了离心沉淀-离心超滤法测定 SM-HCl 脂质体的药物包封率，测定中样品不经历稀释过程，故属于平衡测定法，测定结果更准确。该法与单纯的离心沉淀法相比得到的外水相无小单室脂质体干扰，故测得的外水相质量浓度与实际更接近，同时，与单纯的超滤法相比可显著降低超滤膜的截留物质量，故可以缩短超滤时间。此外，由于离心沉淀与离心超滤两个步骤均可以实现多份样品的平行操作，故本方法的效率较高。因此本法可用于 SM-HCl 脂质体的处方工艺筛选与优化以及成品的质量控制与稳定性评价。

以往的研究表明超滤膜对药物吸附较小（小于 7%），故忽略了超滤膜吸附药物对药液质量浓度产生的影响^[8]。为了消除这种影响，使滤液中药物质量浓度与脂质体外水相更一致，本实验考察了超滤膜吸附药物达饱和和所需的药液体积，进而在超滤操作中弃去对应体积的初滤液。

根据本课题组以往的研究结果，该超滤膜可以完全截留脂质体，滤液中无脂质体存在^[8]，故本研究中未进行超滤滤液中脂质体的检测。

离心沉淀-离心超滤法测定脂质体包封率中误差的主要来源是离心沉淀分离脂质体与外水相时对于有些样品两者未能完全地分离，即沉淀的脂质体囊泡外周还存在少量的水分或去除的外水相中含有少量的小粒径脂质体囊泡，故在将来的研究中可以对这方面进行改进。

根据 SM-HCl 脂质体（pH 7.0 CBS 水化）包封率测定结果，稀释前样品包封率为 33.16%，样品中脂质体囊泡的质量分数为 12.06%，稀释后样品包封率为 14.75%，样品中脂质体囊泡的质量分数为 6.54%，而直接载药法制得的脂质体的内、外水相中的药物浓度可以认为相同，因此，可以推断药物与脂质双分子层有较强的亲和力。

根据 SM-HCl 脂质体（pH 7.0 CBS 水化）包封率测定结果，稀释前后的样品包封率分别为 33.16%、14.75%，此外本课题组还按“2.1”处方工艺制备了 pH 5.0 CBS 水化的 SM-HCl 脂质体样品，经测定，其包封率为 27.77%，可见，直接载药法制得的 SM-HCl 脂质体药物包封率均较低，故在后续的工作中应开展提高包封率的研究。

根据 SM-HCl 脂质体（pH 7.0 CBS 水化）包封

率测定结果, 稀释 1 倍后的样品包封率较稀释前有了明显的下降, 说明药物在脂质体中滞留性较差, 同时提示样品在测定时不能稀释, 并且所有的非平衡测定法都不适用于 SM-HCl 脂质体的包封率测定。此外, 可以推测, 如果将 SM-HCl 脂质体静注或口服, 包封的药物将很快泄漏, 但在目前大部分研究中以皮肤外用形式给药, 可以避免药物泄漏, 故 SM-HCl 脂质体制剂尚有应用价值。

参考文献

- [1] 刘 强, 周莉玲, 李 锐. 青藤碱的研究概况 [J]. 中草药, 1997, 28(4): 247-279.
- [2] 刘 刚, 王 辉, 张先洲, 等. 青藤碱清除氧自由基和抗脂质过氧化作用 [J]. 中草药, 2006, 37(1): 84-87.
- [3] 柯小英, 于孟学, 蒋 明, 等. 青藤碱治疗类风湿关节炎的临床观察 [J]. 北京医学, 1986, 8(3): 186-187.
- [4] 马兆兴, 史甫敏, 张乃峥, 等. 毛青藤总碱治疗类风湿性关节炎 172 例 [J]. 陕西中医, 1987, 8(2): 54-55.
- [5] 史甫敏, 马兆兴, 张文珍, 等. 青风藤总碱治疗类风湿性关节炎 60 例 [J]. 新医学, 1986, 17(6): 292.
- [6] 林小军, 蔡小燕, 叶静华. 青藤碱治疗类风湿关节炎临床观察 [J]. 湖南中医药大学学报, 2009, 29(8): 52-54.
- [7] 张 岩, 吴 迪, 韩 飞, 等. 盐酸青藤碱柔性纳米脂质体的制备及质量考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(9): 690-694.
- [8] 韩文霞, 李伟泽, 汪兴军, 等. 盐酸青藤碱纳米柔性脂质体的制备及其性质研究 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 671-675.
- [9] 姜素芳, 姚 瑶, 陶昱斐, 等. 盐酸青藤碱传递体的制备及质量评价 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 362-365.
- [10] 甄小龙, 刘 婷, 杨文婧, 等. 青藤碱水凝胶贴剂的微针经皮给药的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(6): 892-896.
- [11] 王 岩, 王 婴, 凌家俊, 等. 青藤碱脂质体贴剂的经皮渗透行为研究 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(24): 2108-2111.
- [12] 郝保华, 王彦玲, 李伟泽, 等. 青风藤电离巴布剂电致孔透皮给药的药动学研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1060-1062.
- [13] 郑杭生, 张亚军, 徐 真, 等. 全缘千里光碱脂质体包封率测定方法的研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(14): 1075-1078.
- [14] 杨硕晔, 王杏林, 杨志强, 等. HPLC 法测定洛莫司汀-碘海醇复方脂质体的药物含量及包封率 [J]. 药物评价研究, 2009, 32(1): 38-42.
- [15] 周莉玲, 王 岩, 刘清飞, 等. 青藤碱脂质体包封率的测定 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(9): 731-734.
- [16] 姜素芳, 姚 瑶, 丁燕飞, 等. 反相高效液相色谱法测定盐酸青藤碱纳米脂质体药物含量及包封率 [J]. 中南药学, 2005, 3(4): 213-215.
- [17] Teshima M, Kawahami S, Nishida K, *et al.* Prednisolone retention in integrated liposomes by chemical approach and pharmaceutical approach [J]. *J Controlled Release*, 2004, 97(2): 211-218.
- [18] 佐拉·沙肯迪克. 盐酸青藤碱脂质体的制备工艺与质量研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2010.

郑重声明

天津中草药杂志社(出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4 本期刊)未与任何单位或个人签署版面合作及论文代理发表协议, 凡是以天津中草药杂志社及其所属期刊的名义进行的版面合作及论文代理发表等非法活动, 均严重侵害了天津中草药杂志社的合法权益, 天津中草药杂志社将保留对其采取法律行动的权利, 特此郑重声明。

希望广大作者、读者认准天津中草药杂志社门户网站“www.中草药杂志社.中国或 www.tiprpress.com”, 切勿上当受骗; 若发现假冒天津中草药杂志社及所属期刊的情况, 请检举揭发。

Tel: (022)27474913 E-mail: zcy@tiprpress.com

天津中草药杂志社