

岩黄连总碱对人肺癌 A549 细胞增殖, 凋亡 及 Caspase, Survivin 表达的影响

李金花, 王绩英*, 曾锦荣, 高远, 李蜜蜜, 余圆圆
(桂林医学院附属医院, 广西桂林 541001)

[摘要] **目的:**初步探讨岩黄连总碱对人肺腺癌 A549 细胞增殖抑制及诱导凋亡的作用,及其可能的作用机制。**方法:**将肺癌 A549 细胞株在体外条件下加入不同质量浓度岩黄连总碱。用四甲基偶氮唑蓝比色 (MTT) 法检测不同浓度 (0.1, 0.05, 0.01, 0.005 g·L⁻¹) 岩黄连总碱分别作用 24, 48, 72 h 后, 对人肺腺癌 A549 细胞的生长抑制情况。采用 Hoechst 染色法检测岩黄连总碱处理 A549 细胞 48 h 的生长情况。流式细胞术检测岩黄连总碱不同药物浓度诱导凋亡的情况。RT-PCR 法检测岩黄连及顺铂对 A549 细胞中 Caspase-3, Survivin mRNA 的表达影响变化情况。**结果:**MTT 结果提示岩黄连总碱对肺癌 A549 细胞增殖具有一定的抑制作用, 且抑制作用呈现时间-剂量关系。MTT 及 Hoechst 染色显示岩黄连总碱组较阴性组明显抑制 A549 细胞增殖 ($P < 0.05$)。流式细胞仪检测结果显示岩黄连诱导 A549 细胞凋亡作用随着药物浓度的增加, 凋亡率升高。RT-PCR 结果提示岩黄连组较阴性组上调了 Caspase-3 mRNA 的表达, 下调了 Survivin mRNA 的表达。**结论:**岩黄连总碱具有一定的抑制人肺腺癌 A549 细胞增殖和诱导凋亡作用, 并呈时间-剂量关系。其机制可能与上调 Caspase-3 的表达和下调 Survivin 的表达有关。

[关键词] 岩黄连; 肺癌; 增殖; 凋亡; Caspase-3; Survivin

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0165-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090165

Effect of *Corydalis saxicola* Total Alkaloids on Human A549 Cell Proliferation, Apoptosis and Expressions of Caspase, Survivin LI Jin-hua, WANG Ji-ying*, ZENG Jin-rong, GAO Yuan, LI Mi-mi, YU Yuan-yuan (Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to study the impact of total alkaloids of *Corydalis saxicola* on human lung cancer A549 cell proliferation and apoptosis and to explore its possible mechanism. **Method:** The logarithmic growth phase of A549 cells were cultured *in vitro* and incubated with *C. saxicola* Banting. MTT assay was used to detect the proliferation of A549 cells after the treatment of *Corydalis saxicola* at different concentrations (0.1, 0.05, 0.01, 0.005 g·L⁻¹) for different time (24, 48, 72 h). Hoechst stain was applied to analyze the apoptosis effects. Flow cytometry were used to analyze cell apoptosis. The mRNA expression changes of Caspase-3 and Survivin after treatments were detected by RT-PCR. **Result:** *C. saxicola* could inhibit the proliferation of A549 cells in dose-time manner. After 48 h, inhibition of *C. saxicola* group in A549 cells was stronger than the control group ($P < 0.05$). Flow cytometry showed that the apoptotic rate increased with the concentration increased ($P < 0.05$). RT-PCR results suggested that compared with the control group, *C. saxicola* group up-regulated the expression of Caspase-3 mRNA and down-regulated the expression of Survivin mRNA ($P < 0.05$). **Conclusion:** *C. saxicola* can inhibit proliferation and induce the apoptosis of A549 cells in a time-and dose-dependent manner. The mechanism may be related to the up-regulation of Caspase-3 expression and down-regulation of Survivin expression.

[Key words] *Corydalis saxicola*; lung cancer; proliferation; apoptosis; Caspase-3; surviving

[收稿日期] 20140826(027)

[基金项目] 广西卫生厅中医药科技专项(GZPT13-46, GZPT14-37, GZLC14-37); 广西壮族自治区卫生厅重点课题项目(重 2011008)

[第一作者] 李金花, 硕士, 从事肺癌基础与临床研究, E-mail: 2533791327@qq.com

[通讯作者] * 王绩英, 硕士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 从事肺癌基础与临床研究, E-mail: 2335344783@qq.com

肺癌已成为发病率和死亡率最快的恶性肿瘤。非小细胞肺癌(NSCLC)约占肺癌的 75%~85%,手术、化疗、放疗依然是治疗肺癌的主要方法,然而大多数的患者确诊时已属晚期,失去手术机会,放化疗成为主要治疗手段。确诊肺癌的患者中位生存期约为 6 个月,5 年生存率约为 5%~10%。近年来,中晚期肺癌主张多学科多方法综合治疗,以提高生存质量,延长生存期。目前,靶向治疗给患者带来新型治疗手段,但疗效有限。中西药联合化疗治疗晚期 NSCLC 与靶向治疗联合化疗相似。

岩黄连(*Corydalis saxicola*, CS),多年生草本植物,具有清热解毒、利湿、止痛止血之功效,常用来治疗急性黄疸型肝炎、肝硬化、疮疖肿毒、急性肠胃炎等疾病^[1]。赵一等^[2]发现岩黄连总碱(C. *saxicola* total alkaloids, CSTA)对小鼠多种肝癌有较好的抑制作用;李晋芳等^[3]发现 CS 对舌鳞癌也有抑制作用。本研究通过观察 CSTA 对 A549 细胞增殖的影响,观察 CSTA 是否具有抑制 A549 细胞的作用,并初步探讨其作用机制,为临床肺癌的治疗提供新思路。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器 人肺腺癌细胞株 A549(中国科学院昆明细胞库,批号 10374),GMEM 高糖培养液(Gibico 公司,批号 8114355),胎牛血清(Gimini 公司,批号 130105),岩黄连注射液(广西河丰药业有限责任公司,批号 131201),顺铂注射液(山东齐鲁制药有限公司,批号 315312),Hoechst 33258,MTT(Sigma 公司,批号 151126),PI 凋亡试剂盒(北京嘉美公司,批号 20140321),Trizol 试剂盒,RT-PCR System, *Taq* 酶(北京天根生化科技有限公司,批号#M1802),Caspase-3, Survivin mRNA 引物(上海英骏生物公司,批号分别为#M2603, #AK2401),CO₂ 培养箱(德国 Thermo scientific 公司),Olympus Ixtifl 倒置荧光相差显微镜(日本奥林巴斯公司),mLDEL680 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养 用含有 10% 胎牛血清,100 U·mL⁻¹青霉素,100 U·mL⁻¹链霉素的高糖 DMEM 培养液培养 A549 细胞,并将 A549 细胞放置于 37 ℃,CO₂ 浓度为 5% 的培养箱中培养。以 0.25% 的胰蛋白酶消化传代,2~3 d 传代 1 次,取对数生长期细胞待用。

1.2.2 MTT 法检测 CSTA 对 A549 细胞增殖的影响 将处于对数生长期的 A549 细胞用胰酶消化制成 1×10⁵/mL 的单细胞悬液,加入到 3 块 96 孔细胞培

养板中,每孔加入 200 μL 含 10% 胎牛血清的 1640 培养液。待 A549 腺癌细胞充分贴壁后,弃培养液,分别加入不同质量浓度 CSTA (0.1, 0.05, 0.01, 0.005 g·L⁻¹) 的培养液,每个浓度设 6 个平行孔,继续培养 24, 48, 72 h。培养结束后,每孔加入 20 μL 质量浓度为 5 g·L⁻¹ 的 MTT,继续培养 4 h,小心吸净培养液,每孔加 DMSO 200 μL,摇床避光震荡 5 min,待沉淀充分溶解后用酶标仪测 490 nm 吸光度(A)。按下面公式计算出 CSTA 对 A549 细胞的增殖抑制率,根据上述步骤筛选出 CSTA 最佳药物质量浓度为 0.01 g·L⁻¹;顺铂参考本课题组前期实验及国内外文献,选用 0.002 g·L⁻¹。随机将 A549 细胞分为 3 组:阴性组, CSTA 组,顺铂组,按上述步骤分别加入相应药物并培养 48 h 后用酶标仪分别测每组 490 nm 处 A。

$$\text{细胞增殖抑制率} = [(A_{\text{对照孔}} - A_{\text{实验孔}}) / A_{\text{对照孔}}] \times 100\%$$

1.2.3 Hoechst 法检测 CSTA 对 A549 细胞增殖的影响 将对数生长期的 A549 细胞接种于 6 孔板中,每孔 4×10⁴ 个细胞,待细胞贴壁后,随机分为阴性组, CSTA (0.01 g·L⁻¹) 组,顺铂 (0.002 g·L⁻¹) 组,并分别加入对应药物,继续培养 48 h,吸净培养基。4% 多聚甲醛室温下固定 20 min,吸净多聚甲醛,再用 PBS 缓冲液小心清洗 2 次,吸尽 PBS 缓冲液。每孔加入 10 mg·L⁻¹ 的 Hoechst 33258 染液 800 μL,避光染色 20 min。蒸馏水冲洗 3 次,避光风干,荧光倒置显微镜下观察细胞并拍照。

1.2.4 流式细胞仪 PI 染色观察岩黄连对 A549 细胞凋亡的情况 取对数期细胞用含 10% 胎牛血清细胞培养液调整细胞密度为 1×10⁵ 接种于六孔板中,培养 12 h 待细胞贴壁后,12 h 后分别按上述不同药物浓度处理,每个浓度设 3 个复孔,培养 48 h 后收集细胞,PBS 重悬细胞,用 1×binding buff 重悬制成单细胞,加入 PI 染液后上机检测。

1.2.5 RT-PCR 检测不同组别 A549 细胞 Caspase-3 mRNA 和 Survivin mRNA 的表达 随机将 A549 细胞分为阴性组, CSTA (0.01 g·L⁻¹) 组,顺铂 (0.002 g·L⁻¹) 组,并分别加入对应药物,继续培养 48 h 后,收集每组细胞并按 TRIZOL 试剂盒说明书要求裂解细胞,提取总 RNA,鉴定完 RNA 纯度和浓度后,分别取 1 μg 总 RNA 用逆转录试剂盒,逆转录成 cDNA 长期保存以备。取等量上述 3 组细胞的 cDNA,用 PCR 扩增仪扩增,将 PCR 产物用 5.0% 琼脂糖凝胶 120 V 恒压电泳 30 min,凝胶成像系统拍照并对凝胶条带的信号强度进行半定量分析,以 Caspase-

3/ β -actin 作为 Caspase-3 的相对表达强度,以 Survivin/ β -actin 作为 Survivin 的相对表达强度。引物: Caspase-3-F 5'-CAGGCCGTGAGGAGTTAGCGA-3', Caspase-3-R 5'-CCAGAGTCCATTGATTTCGCT-3', 扩增条件: 94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s, 62 °C, 30 s, 72 °C, 1 min, 30 个循环; 72 °C, 5 min。产物长度 194 bp。引物: Survivin-F 5'-TGACGACCCCATAGAG-GAAC-3', Survivin-R 5'-CACCTCTGGTGCCACTTT-CA-3', 扩增条件: 94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s, 55 °C, 30 s, 72 °C, 1 min, 30 个循环; 72 °C, 5 min。产物长度 398 bp。引物: 内参 β -actin-F 5'-GGCATCCTCAC-CCTGAAGT-3', β -actin-R 5'-GGGATAGCACAGCCT-GGAT-3', 扩增条件: 94 °C, 5 min; 94 °C, 30 s, 55 °C, 30 s, 72 °C, 1 min, 30 个循环; 72 °C, 5 min。产物长度 238 bp。

1.2.6 统计学方法 所得数据均用 SPSS 19.0 软件进行数据处理。以上所有实验均重复 3 次。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示、多个样本比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *t* 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度、时间 CSTA 对 A549 细胞增殖的影响 通过 MTT 法检测 CSTA 在质量浓度分别为 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 $g \cdot L^{-1}$ 时各作用 24, 48, 72 h 后 A549 细胞的增殖抑制率, 可以看出 CSTA 对 A549 细胞的抑制作用表现为随着 CSTA 药物作用时间的越长抑制效果越强, CSTA 浓度的越高抑制效果越强, 即 CSTA 对 A549 细胞的增殖作用表现为时间-剂量效应。通过 MTT 法检测 0.01 $g \cdot L^{-1}$ CSTA 以及 0.002 $g \cdot L^{-1}$ 顺铂分别作用于 A549 细胞 48 h, 与阴性组相比较, 可以发现 CSTA 组的抑制率为 (51.3 \pm 0.070)%, 顺铂组的抑制率为 (55.1 \pm 0.225)% ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Hoechst 荧光染色检测 CSTA 作用 48 h 后对 A549 细胞增殖的影响 通过 Hoechst 荧光染色法可以看到阴性组细胞核保持均匀蓝染, CSTA 组和顺铂组与阴性组相比较, 可见核膜破裂的细胞, 细胞数量明显减少。见图 1。

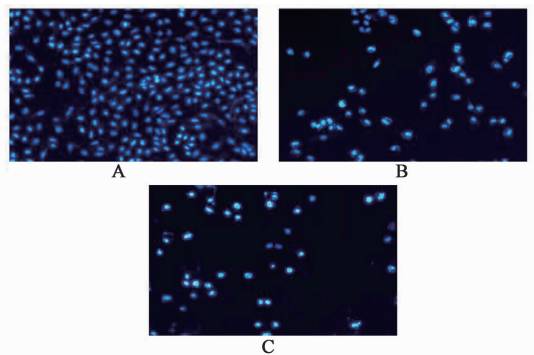
2.3 流式细胞仪检测诱导细胞凋亡的实相 在不同浓度岩黄莲总碱组: CSTA (0.000 5, 0.01, 0.02 $g \cdot L^{-1}$), 随着浓度的逐渐增加各组的凋亡指数分别是 (15.8 \pm 0.04)%, (32.0 \pm 0.22)%, (42.6 \pm 0.16)%, 与阴性组 (3.7 \pm 0.23)% 相比, 差异显著 ($P < 0.05$)。见图 2。

表 1 不同质量浓度、时间的 CSTA 对 A549 细胞的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Inhibition ratio of A549 cell with different concentration and time of CSTA ($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	剂量 / $g \cdot L^{-1}$	抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
阴性	-	0	0	0
CSTA	0.1	73.7 \pm 0.482 ¹⁾	96.3 \pm 0.167 ¹⁾	98.2 \pm 0.006 ¹⁾
	0.05	38.6 \pm 0.729 ¹⁾	77.8 \pm 0.337 ¹⁾	87.7 \pm 0.236 ¹⁾
	0.01	9.9 \pm 0.240 ¹⁾	51.3 \pm 0.070 ¹⁾	46.6 \pm 0.360 ¹⁾
	0.005	6.3 \pm 0.008	11.3 \pm 0.007 ¹⁾	37.2 \pm 0.422 ¹⁾

注: 与阴性组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。



A. 阴性组; B. CSTA 0.01 $g \cdot L^{-1}$ 组; C. 顺铂组 (图 3 同)

图 1 CSTA 及顺铂作用 48 h 后对 A549 细胞增殖的影响 (Hoechst 荧光, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of A549 cell proliferation with CSTA and cis-platinum affect 48 hours later (Hoechst fluorescence stain, $\times 400$)

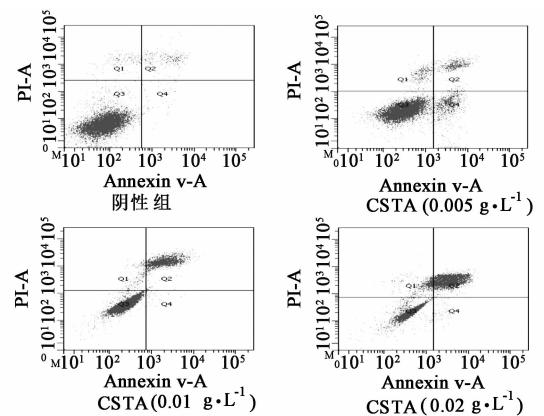


图 2 不同 CSTA 的浓度诱导 A549 细胞的凋亡率

Fig. 2 A549 cell apoptosis rate with deferent CSTA concentration

2.4 CSTA, 顺铂作用 48 h 后对 A549 细胞 Caspase-3, Survivin 的 mRNA 表达的影响 Caspase-3 mRNA 相对分子质量大小为 194 bp, Survivin mRNA 相对分子质量大小为 398 bp, 作为内参的 β -actin 相对分子质量大小为 238 bp, 通过半定量 RT-PCR 检测

CSTA、顺铂作用 48 h 后对 A549 细胞 Caspase-3 mRNA 及 Survivin mRNA 的表达情况,结果显示,在阴性组 A549 细胞中有少量的 Caspase-3 mRNA 表达,通过药物干预后,CSTA 组和顺铂组中 Caspase-3 mRNA 表达较阴性组升高 ($P < 0.05$)。Survivin mRNA 在阴性组中高表达,通过药物干预后,CSTA 组,顺铂组 Survivin mRNA 表达呈现减少的趋势 ($P < 0.05$)。Caspase-3 mRNA 的相对表达量分别为阴性组 (0.58 ± 0.01),CSTA 组 (0.97 ± 0.01),顺铂组 (1.04 ± 0.46);Survivin mRNA 的相对表达量分别为阴性组 (1.59 ± 0.48),CSTA 组 (1.15 ± 0.39),顺铂组 (1.07 ± 0.27)。见图 3。

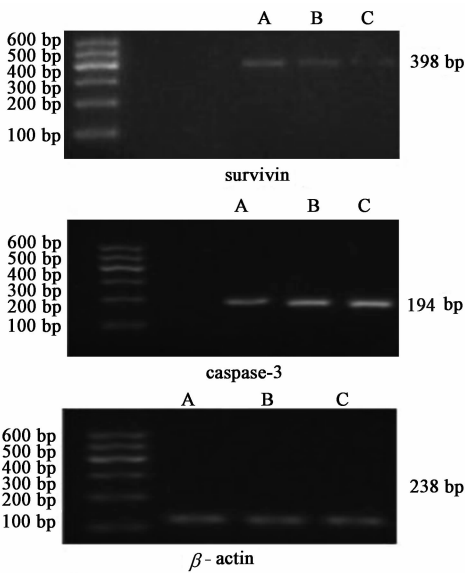


图 3 CSTA、顺铂作用 48 h 后对 A549 细胞 Caspase-3 mRNA 及 Survivin 的 mRNA 表达的影响

Fig. 3 Exprresion of Caspase-3 mRNA, Survivin mRNA of A549 cell after treated by CSTA and Cis-platinum for 48 hours

3 讨论

CSTA 提取自中草药岩黄连,陆续有学者发现 CSTA 有抑制肝癌、舌鳞癌的作用^[2-3],但 CSTA 对肺癌的作用研究较少。

本实验通过 MTT 法以及 Hoechst 荧光染色法观察岩 CSTA 组与阴性组,顺铂组,笔者可以看到,CSTA 组和顺铂组都可以明显抑制 A549 细胞的增殖,并呈时间-剂量依赖性,与阴性组相比差异有统计学意义。流式细胞仪检测诱导细胞凋亡结果显示 CSTA 具有诱导细胞凋亡作用,并随着浓度增加,凋亡率增大。因此,笔者推测 CSTA 可能是通过诱导凋亡,阻滞细胞周期而抑制肺癌细胞增殖。RT-PCR 结果显示,相对于阴性组,CSTA 组和顺铂组中 Caspase-3 mRNA 的表达量增多,同时,Survivin

mRNA 的表达量减少。目前证实,肿瘤的发生与肿瘤细胞凋亡失衡有密切关系,而不仅是肿瘤细胞增殖失控和细胞分化异常所致。随着肿瘤的发展,增殖与凋亡的平衡被破坏,导致肿瘤细胞无限增殖^[4]。因此,通过诱导肿瘤细胞凋亡成为现在的研究热点。CSTA 诱导细胞凋亡的机制尚不十分清楚。目前已证实,有 3 条重要的凋亡通路参与细胞凋亡的启动过程,分别是:线粒体介导的内源性信号通路、死亡受体介导的外源性信号通路及内质网通路。内源性凋亡通路主要机制是:启动细胞凋亡的重要细胞器是线粒体,是 ROS 产生的主要场所。在生物体内,氧气作为有氧代谢过程的电子接受体,能量代谢过程中不可避免的产生活性氧(ROS)自由基^[5]。线粒体通路被 Bcl-2 蛋白家族成员在接受到胞内死亡信号后激活,Bax 亚家族发生寡聚后插入线粒体膜,致线粒体膜通透性改变,其膜电位降低,从而促发 Cyt C(细胞色素 C)释放到细胞质,因而启动内源性凋亡通路。当 ATP/dATP 存在时,Cyt C 与凋亡蛋白酶活化因子形成复合体,该复合体募集 Caspase-9 前体,使 Caspase-9 前体自我剪切并启动 Caspase 级联反应,激活了下游的 Caspase-3,引起细胞凋亡;外源性凋亡通路(死亡受体通路)的主要机制是:Fas 是已知的死亡受体,其配体是 FasL。当胞外的信号通过死亡受体进入胞内时,不同的胞质蛋白与 FasL 的死亡域结合,结合后直接与 Fas 相关死亡域蛋白结合,从而激活 Caspase-8,活化的 Caspase-8 通过激活下游 Caspase-3 直接致细胞凋亡,还可以降低线粒体膜电位,使 Bcl-2 蛋白家族成员裂解,促发 Cyt C 的释放,激活 Caspase-9,启动细胞凋亡。Caspase-3 是迄今研究基本透彻的一个,是凋亡执行的重要效应分子,广泛表达于正常人体组织及多种肿瘤组织中^[6-7]。被称为“死亡蛋白酶”的 Caspase-3 一旦被激活,即促发下游的级联反应,使凋亡不可避免的发生。而 Caspase-3 是这两条通路的共有的下游基因,其在细胞凋亡过程起着重要作用。本实验 RT-PCR 结果显示相对阴性组,CSTA 和顺铂组上调了 Caspase-3 的表达。笔者推测可能通过内源性凋亡通路诱导凋亡,然而,具体的机制需要进一步研究。Survivin 是凋亡抑制蛋白家族的新成员,Survivin 具有肿瘤特异性,只表达于肿瘤和胚胎组织,且与肿瘤细胞的增殖及浸润转移密切相关。Tamm 等^[8]发现 Survivin 作用于凋亡通路的下游。有别于其他凋亡抑制蛋白家族(IAP),Survivin 结构独特,其羧基末端缺少直接与 Caspase-3 的环指结构

结合。已有文献报道:Survivin 调控凋亡的过程并无死亡受体途径的参与,而是通过线粒体途径调控凋亡。本实验采用实时定量 PCR,结果显示 CSTA 和顺铂组下调 Survivin 表达。提示 Survivin 可能通过线粒体途径降低凋亡终末效应分子 Caspase-3 的活性而抑制细胞凋亡。具体机制笔者有待深入研究证实。

总而言之,本实验以中草药岩黄连提取物 CSTA 作为干预因素,以细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3, Survivin 为分子靶点,证明了岩黄连总碱可以抑制肺癌 A549 细胞的增殖,并且这种抑制作用具有一定的剂量-效应关系,并且具有诱导 A549 细胞凋亡作用。为将岩黄连总碱在肺癌的临床治疗中提供了理论支持。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第3册[M]. 上海:上海科学出版社,1999:638-639.
[2] 赵一,李爱媛,周芳,等. 岩黄连抗肿瘤的实验研究

[J]. 广西中医药,1979,3:27-31.

[3] 李晋芳,廖建兴,李慧梁,等. 岩黄连总碱抑制 Tca8113 细胞及其端粒酶活性的实验研究[J]. 口腔颌面外科杂志,2007,17(1):32-35.
[4] Evan G I. Vousden K H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer [J]. Nature, 2001, 411 (6835): 342-348.
[5] 王君明,崔瑛,王峥涛,等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):265-269
[6] 李静岩. Caspase-3 与肿瘤关系的研究[J]. 医学综述, 2005,11(5):430-432.
[7] 曾军英,李胜华,伍贤进,等. 垂盆草醇提物抑制 HepG2 细胞 STAT-3 信号通路诱导细胞凋亡的研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(17):3349-3352.
[8] Tamm I, Wang Y, Sausville E, et al. IAP-family protein survivin inhibits Caspase activity and apoptosis induced by Fas(CD95), Bax, Caspase, and anticancer drugs[J]. Cancer Res, 1998, 58 (23):5315-5320.

[责任编辑 邹晓翠]

《中国中药杂志》2015 年征订启事

《中国中药杂志》创刊于 1955 年 7 月,是由中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中医药学术期刊,在国际国内医药学领域内具有广泛影响。位居中国中文核心期刊、中国科技核心期刊“双核心”首位。曾荣获第三届国家期刊奖百种重点期刊、国家新闻出版广电总局“中国百强报刊”,以及历届国家中医药管理局全国优秀中医药期刊评比一等奖、百种中国杰出学术期刊、中国精品科技期刊等奖项。在国际上被 Medline, Scopus 等国外十余家著名数据库收录。全面反映我国中药与天然药物学科领域最新进展与研究动态。主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、临床等专业。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、民族药、学术探讨、药事管理等栏目。主要读者对象为各级管理部门、科研院所、大专院校、工厂企业以及医院等从事中医药科研、管理、生产、医院制剂及临床等方面的人员。

2015 年本刊每期定价为 50 元,208 页,全年定价 1200 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。欢迎广大读者到本编辑部或当地邮局订阅,邮发代号 2-45。本刊地址:北京东直门内南小街 16 号;邮政编码 100700;电子信箱 cjcmm2006@188.com;联系方式详见中国中药杂志网站 www. cjcmm. com. cn