

德都红花-7 味散原药方与优化方对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原 mRNA 表达的影响

巴图德力根^{1*}, 徐艳华¹, 韩志强¹, 山丹², 塔娜², 安达¹, 娜日苏¹

(1. 内蒙古民族大学附属医院, 内蒙古通辽 028007;

2. 内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古通辽 028000)

[摘要] **目的:**探讨德都红花-7 味散原药方及优化方对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原 mRNA 表达的影响。**方法:**40 只 Wistar 大鼠分为正常组、模型组、阳性药组、原药组、优化组。大鼠 ip 30% CCl₄ 橄榄油溶液建立肝纤维化模型。同时 1 次/日 ig 给药, 阳性药组给予秋水仙碱片 0.4 mg·kg⁻¹; 原药组给予德都红花-7 味散 0.6 g·kg⁻¹; 优化组给予德都红花-7 味散优化方 0.6 g·kg⁻¹。连续 40 d 后处死大鼠。取肝脏天狼星红染色, 观察肝组织纤维化程度和 I, III 型胶原分型。酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测肝组织匀浆 III 型前胶原和 IV 型胶原, 层粘连蛋白 (LN), 透明质酸 (HA) 含量。实时荧光定量 PCR 法检测 I 型胶原, III 型胶原 mRNA 表达变化。**结果:**天狼星红染色模型组 I, III 型胶原纤维较正常组增多, 阳性药组、原药组、优化组 I, III 型胶原纤维较模型组减少。与正常组比较, 酶联免疫法检测模型组 IV 型胶原, HA 含量升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 阳性药组、原药组、优化组 III 型前胶原、IV 型胶原、HA 含量明显降低 ($P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 法检测模型组 I 型胶原 mRNA 和 III 型胶原 mRNA 表达较正常组上调 ($P < 0.01$)。阳性药组、原药组、优化组 I 型胶原 mRNA 和 III 型胶原 mRNA 表达较模型组下调 ($P < 0.01$)。原药组、优化组 I 型胶原 mRNA 表达较阳性药组下调 ($P < 0.05$)。优化组 I 型胶原 mRNA 表达较原药组下调 ($P < 0.05$)。**结论:**德都红花-7 味散原药方与优化方是通过抑制 I 型胶原 mRNA 和 III 型胶原 mRNA 的转录, 达到阻断或延缓肝纤维化的发生发展, 德都红花-7 味散优化方优于原药方。

[关键词] 德都红花-7 味散; 肝纤维化, I 型胶原 mRNA; III 型胶原 mRNA

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)07-0134-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070134

Effect of Dedu Honghua-7 Powder and Its Optimized Prescriptions on mRNA Expressions of Type I, III Collagen in Rats with Liver Fibrosis

BA-TU De-li-gen¹, XU Yan-hua¹, HAN Zhi-qiang¹, SHAN Dan², TA Na², AN Da¹, NA Ri-su¹

(1. *Affiliated Hospital of Inner Mongolian University for the Nationalities, Tongliao 028007, China;*

2. *School of Mongolian Medicine, Inner Mongolian University for the Nationalities, Tongliao 028000, China*)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Dedu Honghua-7 powder and its optimized prescriptions on mRNA expression of type I and III collagen in rats with liver fibrosis. **Method:** Forty Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, positive group, original drug group and optimized prescription group. The liver fibrosis models were induced by abdominal cavity injection of olive oil solution containing 30% of CCl₄. At the same time, drugs were given 1 time/day by intragastrical administration. Rats in positive group received 0.4 mg·kg⁻¹ of colchicine pill; rats in the original drug group received 0.6 g·kg⁻¹ of Dedu Honghua-7 powder; rats in optimized prescription group received 0.6 g·kg⁻¹ of Dedu Honghua-7 powder optimized product. The rats were sacrificed after 40 days of treatment. The livers were picked out for picosirius red staining to observe fibrosis degree of liver tissues and type I, III collagen classifications. ELISA assay was applied to detect the

[收稿日期] 20150416(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260574)

[通讯作者] * 巴图德力根, 硕士, 教授, 从事蒙药临床药理研究, Tel:0475-8267317, E-mail:bt8151290@163.com

levels of type III procollagen, type IV collagen, hyaluronic acid (HA) and laminin (LN) in liver tissue homogenate. The real-time qPCR was used to detect changes in mRNA expression of type I collagen and type III collagen. **Result:** In picosirius red staining, the levels of type I and III collagenous fibers in model group were higher than those in normal group; the levels of type I, III collagenous fibers in positive group, original drug group and optimized prescription group were lower than those in model group. In ELISA assay, the levels of type IV collagen and HA in model group were higher than those in normal group ($P < 0.05$). The levels of type III procollagen, type IV collagen, and HA contents in positive group, original drug group, and optimized prescription group were lower than those in model group ($P < 0.05$). In real-time qPCR method, mRNA expressions of type I and III collagen in model group were higher than those in normal group ($P < 0.01$). The mRNA expressions of type I and III collagen in positive group, original drug group and optimized prescription group were lower than those in model group ($P < 0.01$). The mRNA expressions of type I collagen in original drug group and optimized prescription group were lower than those in positive group ($P < 0.05$). The mRNA expression of type I collagen in optimized prescription group was lower than that in original drug group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Dedu Honghua-7 powder and its optimized prescription can block or delay the occurrence and development of liver fibrosis by inhibiting the mRNA transcription of type I, III collagen, and the efficacy of optimized prescription is better than that of original powder.

[**Key words**] Dedu Honghua-7 powder; liver fibrosis; mRNA expression of type I collagen; mRNA expression of type III collagen

肝纤维化是慢性肝炎发展致肝硬化的必经阶段,是肝硬化必经的早期可逆阶段^[1]。蒙古族药德都红花-7 味散原药方由藏红花、诃子、麻黄、木通、蓝盆花等 7 味药组成,性凉、具有清肝热功能,主治肝损伤,肝伤症,肝血热、眼睛发黄等^[2]。蒙古族药德都红花-7 味散优化方,根据蒙古族医理论中肝纤维化疾病发展的临床表现特点,对德都红花-7 味散原药方进行组方优化。本课题组前期研究表明德都红花-7 味散具有显著降低猪血清所致肝纤维化大鼠细胞因子白细胞介素-1(IL-1),IL-6,增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能^[3]。能够明显改善四氯化碳(CCl₄)所诱导实验性肝纤维化组织病理变化^[4],降低肝脏纤维 4 项指标含量^[5]。其机制可能与抗脂质过氧化,提高 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性,改善肝线粒体钠泵功能有关^[6]。同时,德都红花-7 味散通过调节转化生长因子(TGF)/Smads 蛋白通路,达到阻断转化生长因子表达,抑制细胞外基质的合成,促进细胞外基质的降解^[7]。通过调节和维持基质金属蛋白酶(MMP)/基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)的稳态,阻断 TGF- β 表达,达到延缓肝纤维化的发生发展^[8]。本次主要从基因表达角度研究德都红花-7 味散原药方及优化方对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠 I 型胶原(Col-I)mRNA,Col-III mRNA 表达的影响,着重揭示其基因调控治病靶点,达到更进一步阐明德都红花-7 味散降纤机制,同时对德都红花-7 味散原

药方及优化方进行降纤效果初步的对比。

1 材料

1.1 动物 取 SPF 级 Wistar 雄性大鼠 40 只,吉林大学实验动物中心提供,体重 180 ~ 220 g。动物合格证号 SCXK(吉)2013-0002。

1.2 药物及试剂 蒙药德都红花-7 味散,由红花、诃子、麻黄、木通、蓝盆花等 7 味药组成,由内蒙古民族大学附属医院蒙古族药制剂室提供(批号 110806);秋水仙碱片(西双版纳版纳药业有限责任公司,批号 201305),天青石蓝染液(如吉生物科技公司,批号 140822),苏木精(成都科龙化工,批号 070610),酸性品红(天津博迪化工,批号 20140305),III 型前胶原(批号 201405),Col-IV(批号 201405),层粘连蛋白(LN,批号 201405),透明质酸(HA,批号 201405)酶联免疫吸附检测(ELISA)试剂盒购自上海沪尚试剂公司;总 mRNA 提取试剂盒(批号 201308),反转录试剂盒(批号 201308),荧光定量 PCR 试剂盒(批号 201308)均购自德国 Qiagen 公司。Col-I mRNA 引物,上游 5'-ATCAAGGTCTACTGCAACAT-3',下游 5'-CAGGATCGGAACCTTCGCTT-3',片段长度 178 bp; Col-III mRNA 引物,上游 5'-TGCCACCCTGAACTCAAGAGC-3',下游 5'-AGCACCAGCATCTGTCCACA-3',片段长度 162 bp。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物,上游 5'-CCTCCAGATTGTCAGCAAT-3';下游 5'-CCATCCACAGTCTTCTGACT-3',

片段长度 141 bp。均由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

1.3 仪器 DM2500 型光学显微镜, RM2235 型石蜡组织切片机和 EG1150H 型石蜡组织包埋机(均购自德国 Leica 公司); RS-232C 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司), IKA MTS 型酶标板振荡器(德国 IKA 公司), 7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司), DYCP-31DN 型琼脂糖凝胶电泳仪(北京六一仪器厂)。

2 方法

2.1 分组与给药 大鼠按体重随机分成正常组、模型组、阳性药组、原药组、优化组等 5 组, 每组各 8 只。大鼠 *ip* 30% CCl_4 橄榄油溶液(除正常组大鼠外), $2.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每 4 d 1 次, 建立肝纤维化模型。同时 *ig* 给药, 阳性药组 *ig* 秋水仙碱片, 每次 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 原药组 *ig* 德都红花-7 味散, 每次 $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 优化组 *ig* 德都红花-7 味散优化方, 每次 $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。正常组和模型组 *ig* 等体积蒸馏水, 每天 1 次, 持续 40 d, 于第 10 次造模后处死大鼠。

2.2 天狼星红法染色 取肝脏制作肝组织病理切片, 天狼星红染色法染色, 观察纤维化程度, Col-I, Col-III 纤维。肝组织取材后, 福尔马林固定, 梯度乙醇逐级脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, $5 \mu\text{m}$ 切片, 进行天狼星红染色法染色^[9](Col-I 纤维紧密排列, 显示很强的双折光性, 为黄色或红色的纤维, Col-II 显示弱的双折光性, 呈多种颜色的疏松网状分布; Col-III 纤维为疏网状, 显示弱的双折光性, 为绿色的细纤维; Col-IV 纤维显示弱的双折光性的基膜, 呈淡黄色)。

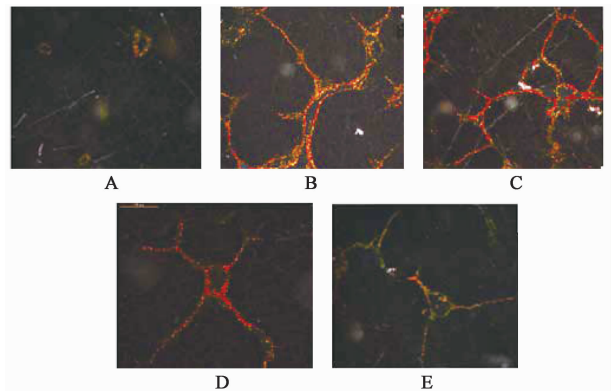
2.3 ELISA 检测指标含量 血清纤维 4 项含量制作 10% 肝组织匀浆, 按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤进行, 酶标仪 450 nm 波长检测吸光度 *A*, 计算各检测指标含量(III 型前胶原, Col-IV, HA, LN)。

2.4 荧光定量 PCR 法检测 Col-I, Col-III mRNA 的表达 取肝脏, 按照总 mRNA 提取试剂盒说明书进行总 mRNA 提取, 反转录试剂盒说明书将总 mRNA 反转录成 cDNA, 实时荧光定量 PCR 说明书进行扩增、采集荧光信号。数据结果, 以正常组 1 号样品为校准值 1, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行统计, 分析基因调控情况。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

3 结果

3.1 对大鼠肝脏胶原纤维的影响 模型组胶原纤维自汇管区向外延伸, 大量红色 Col-I 纤维、绿色 Col-III 纤维, 纤维带较粗, 已形成假小叶, 表明肝纤维化模型已形成。秋水仙碱组、德都红花-7 味散组、优化组胶原纤维纤细较模型组少, 其中优化组 Col-I 纤维和 Col-III 纤维最少, 接近正常组。表明德都红花-7 味散方和优化方、秋水仙碱能够降解 Col-I, Col-III 纤维, 且德都红花-7 味散优于秋水仙碱, 德都红花-7 味散优化方优于德都红花-7 味散方。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 秋水仙碱组; D. 德都红花-7 味散组; E. 优化组
图 1 德都红花-7 味散对大鼠肝脏胶原纤维的影响(天狼星红法, $\times 200$)

Fig. 1 Effects of Dedu Honghua-7 powder on liver collagen fibrosis in rats (sirius red, $\times 200$)

3.2 对大鼠血清 III 型前胶原, Col-IV, HA, LN 含量的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 III 型前胶原, Col-IV, HA, LN 含量明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 秋水仙碱组、德都红花-7 味散组、优化组明显降低大鼠血清 III 型前胶原, Col-IV, HA 含量 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 对大鼠肝脏 Col-I, Col-III mRNA 基因表达变化的影响 与正常组比较, 模型组 Col-I mRNA 和 Col-III mRNA 表达显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 秋水仙碱组和德都红花-7 味散组、优化组 Col-I mRNA 和 Col-III mRNA 表达显著降低 ($P < 0.01$)。德都红花-7 味散组、优化组 Col-I mRNA 表达比秋水仙碱组下调 ($P < 0.05$)。优化组 Col-I mRNA 表达比德都红花-7 味散组下调 ($P < 0.05$)。见表 2。

4 讨论

通过前期研究表明德都红花-7 味散能够明显改善 CCl_4 所诱导实验性肝纤维化组织病理变化, 降低肝纤维化血清白细胞介素-1 (IL-1), IL-6, 肿瘤坏

表 1 德都红花-7 味散对大鼠血清Ⅲ型前胶原, Col-IV, HA, LN 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effects of Dedu Honghua-7 powder on serum content of type III precollagen, type IV collagen, HA, LN in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Ⅲ型前胶原/μg·L ⁻¹	Col-IV/μg·L ⁻¹	HA/ng·L ⁻¹	LN/μg·L ⁻¹
正常	-	17.98 ± 1.99	33.49 ± 5.40	266.27 ± 34.82	9.32 ± 2.09
模型	-	18.35 ± 1.04	41.44 ± 5.04 ¹⁾	326.38 ± 21.76 ¹⁾	9.82 ± 0.94
秋水仙碱	4 × 10 ⁻⁴	14.85 ± 2.37 ³⁾	34.50 ± 4.16 ³⁾	274.09 ± 32.44 ³⁾	9.62 ± 3.57
德都红花-7 味散	0.6	15.47 ± 1.89 ³⁾	33.04 ± 5.72 ³⁾	302.83 ± 31.86	9.86 ± 0.90
优化	0.6	13.36 ± 2.06 ³⁾	33.14 ± 4.97 ³⁾	274.09 ± 36.84 ³⁾	9.59 ± 1.14

注:与正常组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01;与模型组比较³⁾P < 0.05, ⁴⁾P < 0.01,与秋水仙碱组比较⁵⁾P < 0.05;与德都红花-7 味散组比较⁶⁾P < 0.05(表 2 同)。

表 2 德都红花-7 味散对大鼠肝脏 Col-I, Col-III mRNA 基因表达变化的影响

Table 2 Effects of Dedu Honghua-7 powder on mRNA gene expression of liver type I collagen and type III collagen in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Col-I mRNA	Col-III mRNA
正常	-	0.40 ± 0.20	0.97 ± 0.38
模型	-	27.38 ± 19.00 ²⁾	10.58 ± 5.74 ²⁾
秋水仙碱	4 × 10 ⁻⁴	3.68 ± 3.43 ⁴⁾	2.38 ± 1.59 ⁴⁾
德都红花-7 味散	0.6	1.63 ± 1.27 ^{4,5)}	2.31 ± 1.49 ⁴⁾
优化	0.6	1.30 ± 0.55 ^{4,5,6)}	2.49 ± 1.62 ⁴⁾

死因子-α(TNF-α)等含量,具有抗肝纤维化作用^[5]。目前认为,肝星状细胞的活化、增殖、过度分泌是肝纤维化形成的中心环节。肝星状细胞激活后转化为肌成纤维母细胞样细胞表型,合成大量细胞外基质(ECM)大量沉积于肝脏,导致肝纤维化的发生^[10]。ECM 主要由胶原蛋白构成,其中 Col-I, Col-III 是 ECM 的主要成分。肝纤维化时,Col-I, Col-III 增多,尤以 Col-I 增多为主,占肝硬化组织中增加的总胶原含量的 70% ~ 80%,取代 Col-III 成为肝内主要胶原^[11]。肝纤维化病理组织切片染色是诊断肝纤维化的重要指标。苦味酸天狼星红染色、偏振光法观察可确定肝纤维化组织胶原类型、分布、排列与含量,是明确早期肝纤维化分期较理想方法^[12]。本实验模型组胶原纤维自汇管区向外延伸,大量红色 Col-I 纤维、绿色 Col-III,纤维带较粗,已形成假小叶,表明肝纤维化模型已形成。秋水仙碱组和德都红花-7 味散组、优化组胶原纤维纤细较模型组少,其中优化组 Col-I 纤维和 Col-III 最少,接近正常组。表明德都红花-7 味散、德都红花-7 味散方和优化方,秋水仙碱能够降解 Col-I, Col-III 纤维,且德都红花-7 味散优于秋水仙碱,德都红花-7 味散优化方

优于德都红花-7 味散方。另外,检测纤维 4 项(Ⅲ型前胶原, Col-IV, HA, LN)对诊断早期肝纤维化具有临床意义^[13]。结果显示,模型组Ⅲ型前胶原, Col-IV, HA, LN 含量升高,与正常组比较 Col-IV, HA 指标有统计学差异。秋水仙碱组、德都红花-7 味散组、优化组Ⅲ型前胶原, Col-IV, HA 含量较模型组降低。优化组Ⅲ型前胶原, HA 含量较德都红花-7 味散组降低。表明,德都红花-7 味散和秋水仙碱能够降低肝纤维化大鼠血清Ⅲ型前胶原, Col-IV, HA 含量,德都红花-7 味散优化方有优于德都红花-7 味散方的趋势。同时,模型组 Col-I mRNA 和 Col-III mRNA 表达比正常组上调。秋水仙碱组和德都红花-7 味散组、优化组 Col-I mRNA 和 Col-III mRNA 表达比模型组下调。德都红花-7 味散组、优化组 Col-I mRNA 表达比秋水仙碱组下调。优化组 Col-I mRNA 表达比德都红花-7 味散组下调。据文献报道,肝纤维化模型大鼠肝组织中的 Col-I, Col-III mRNA 表达高于正常组,而治疗组与模型组比较 Col-I, Col-III mRNA 表达降低^[14]。本实验结果与文献相符。

综上所述,德都红花-7 味散和秋水仙碱能够下调肝纤维化大鼠肝组织 Col-I mRNA, Col-III mRNA 表达,德都红花-7 味散优于秋水仙碱,德都红花-7 味散优化方优于德都红花-7 味散方。德都红花-7 味散对 CCl₄ 致肝纤维化的治疗作用与 Col-I mRNA, Col-III mRNA 表达具有密切的相关性。德都红花-7 味散通过降低 Col-I, Col-III, Col-IV, HA, LN 的表达,同时阻断和抑制 Col-I mRNA 和 Col-III mRNA 转录,延缓肝纤维化发展,达到治疗目的。

[参考文献]

[1] 赵松峰, 阚全程. 六味五灵片对四氯化碳所致大鼠肝纤维化的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2011, 27

- (6):872-875.
- [2] 巴根那,赵百岁,海银梅. 蒙药方剂学[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:212.
- [3] 巴图德力根,徐艳华,韩志强,等. 德都红花-7 味散对猪血清诱导慢性肝纤维化大鼠 IL-1、IL-6、TNF- α 及对小鼠脾淋巴细胞、巨噬细胞的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(1):116-118.
- [4] 巴图德力根,韩志强,娜日苏,等. 德都红花-7 味散对 CCl₄ 诱导实验性肝纤维化治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):267-272.
- [5] 巴图德力根,韩志强,娜日苏,等. 德都红花-7 味散对 CCl₄ 诱导实验性肝纤维化疗效和 IL-1、IL-6、TNF- α 的影响[J]. 中国免疫学杂志,2012,28(4):316-322.
- [6] 韩志强,巴图德力根,娜日苏. 蒙药德都红花-7 味散对慢性肝损伤大鼠肝组织 SOD,MDA 及肝线粒体钠钾 ATP 酶活性的影响[J]. 中华中医药学刊,2013,31(5):1076-1078.
- [7] 徐艳华,巴图德力根,韩志强,等. 德都红花-7 味散对肝纤维化组织中转化生长因子 β_1 及 smad 蛋白通路的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(22):2246-2248.
- [8] 巴图德力根,徐艳华,韩志强,等. 德都红花-7 味散对基质金属蛋白酶及转化生长因子 β_1 在肝纤维化中表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(15):1523-1529.
- [9] 彭瑞云,李杨. 现代实用病理技术[M]. 北京:军事医学科学出版社,2012:86.
- [10] 中国中西医结合学会肝病专业委员会. 肝纤维化中西医结合诊疗指南[J]. 药品评价,2007,4(4):260-264.
- [11] 陈少丽,都广礼,鲁艳平,等. 下瘀血汤全药与组分处方对免疫性肝纤维化大鼠肝组织 Col- I α_1 ,TIMP-1 mRNA 表达影响的比较研究[J]. 上海中医药大学学报,2012,26(3):82-84.
- [12] 王卫卫,田野,赖日权. 天狼星红偏振光法在早期肝纤维化诊断中的应用[J]. 诊断病理学杂志,2003,10(5):289-290.
- [13] 李继昌,顿国亮. 肝纤维化诊断中肝穿病理分期及非创伤性指标相关性研究[J]. 临床研究,2010,48(12):31-33.
- [14] 郑旭锐,韦永红,周莉英,等. 加味四逆散对肝纤维化大鼠肝组织 I, III 型胶原 mRNA 影响的研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(8):1923-1924.

[责任编辑 周冰冰]

欢迎订阅 2016 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中华中医药学会、中国中医科学院中药研究所主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月,主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、资源与鉴定、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊,16 开本,234 页,标准刊号 ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号 2-417;国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行,代号 SM4655,欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购,地址:北京市东城区东直门内南小街 16 号,收件人:《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编 100700,Tel:(010)84076882,E-mail:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。