

冬凌草甲素通过线粒体途径诱导人黑色素瘤 A375-S2 细胞凋亡

张春玲^{1,2}, 吴立军², 左海军², 田代真一³, 小野寺敏³, 池岛乔^{1*}

(1. 沈阳药科大学中日医药研究所, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学 天然药物化学研究室, 辽宁 沈阳 110016;

3. 昭和药科大学 病态科学研究室, 日本 东京 194-8543)

摘要: 目的 研究冬凌草甲素诱导人黑色素瘤 A375-S2 细胞凋亡的作用机制。方法 MTT 法检测冬凌草甲素对 A375-S2 细胞生长的影响及各种 Caspase 抑制剂、佛波酯 (PMA)、PKC 抑制剂 H-7 对冬凌草甲素作用的影响; DNA 凝胶电泳法检测细胞凋亡; LDH 法测定乳酸脱氢酶 (LDH) 活力。结果 冬凌草甲素对 A375-S2 细胞生长有显著抑制作用, 并能显著诱导 A375-S2 细胞发生凋亡, 其作用呈明显的量效关系和时间依赖性。形态学观察可见凋亡小体的形成, 琼脂糖凝胶电泳可见凋亡典型的 DNA 梯带; Caspase 家族抑制剂, Caspase-9 抑制剂能显著抑制冬凌草甲素诱导 A375-S2 细胞的凋亡。大剂量 PMA (400 ng/mL) 显著抑制 34.3 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素诱导 A375-S2 细胞凋亡, 而小剂量 PMA (10 ng/mL) 与冬凌草甲素有协同杀死细胞的作用, 且 PKC 抑制剂 H-7 也可下调这种凋亡作用。Caspase-3 的抑制剂可抑制 Caspase-3 的活力升高。结论 适宜浓度的冬凌草甲素 (34.3 $\mu\text{mol/L}$) 诱导 A375-S2 细胞凋亡, 这种作用是通过线粒体调节 Caspase 的激活来实现的。

关键词: 冬凌草甲素; A375-S2 细胞; 凋亡; 线粒体; Caspase; PKC

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)04-0423-04

Oridonin-induced A375-S2 cell apoptosis through mitochondrial pathway

ZHANG Chun-ling^{1,2}, WU Li-jun², ZUO Hai-jun², TASHIRO Shin-ichi³,

ONODERA Satoshi³, IKEJIMA Takashi^{1*}

(1. China-Japan Research Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences; 2. Department of Phytochemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. Department of Clinical and Biomedical Sciences, Showa Pharmaceutical University, Tokyo 194-8543, Japan)

Abstract: **Object** To study the mechanisms of oridonin-induced A375-S2 cell apoptosis. **Methods** MTT assay, morphological observation, agarose gel electrophoresis, LDH release and Caspase inhibitors, PMA, PKC were used. **Results** Oridonin had significant apoptotic effect on A375-S2 cells in a dose- and a time-dependent manners. The marked morphological changes including condensed chromatin, nuclear fragmentation and apoptotic bodies; and DNA ladder in agarose gel were observed. The activity of Caspase-3 was increased after treatment with oridonin about 6 times as much as the control value, since high dose PMA inhibited PKC activity, low dose PMA activated PKC. In this study, 400 ng/mL PMA blocked 34.3 $\mu\text{mol/L}$ oridonin-induced A375-S2 cell apoptosis and PKC inhibitor H-7 down-regulated the apoptotic effect, however, low dose PMA (10 ng/mL) more sensitized A375-S2 cell to oridonin. **Conclusion** Oridonin (34.3 $\mu\text{mol/L}$) can induce A375-S2 cell apoptosis via mitochondrial-regulated Caspase pathway activation, PKC activation is involved in this mechanism.

Key words: oridonin; A375-S2 cell; apoptosis; mitochondria; Caspase; PKC

冬凌草甲素 (oridonin) 是从冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 中提取出的一种四环二萜类化合物, 许多研究表明它具有抑制肿瘤细胞生长的作用^[1,2], 但其对人黑色素瘤 A375-S2 细胞生长的抑制作用机制不明。本实验以 A375-S2 细胞为材料, 应用光学显微镜, 琼脂糖凝胶电泳技术, 研究冬凌草甲素抑制 A375-S2 细胞生长的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: 冬凌草甲素 (纯度 > 98%) 由中国科学院昆明植物研究所提供。Caspase 家族抑制剂 z-VAD-fmk 与 Caspase-8 抑制剂 z-IETD-fmk 购自 Enzyme System (CA, 美国); Caspase-3 抑制剂 z-DEVD-fmk 与 Caspase-9 抑制剂 Ac-L-EHD-CHO 购自 Calbiochem (CA, 美国); Caspase-1 抑制剂

收稿日期: 2003-09-15

作者简介: 张春玲 (1973—), 女, 黑龙江人, 博士研究生, 主要从事天然产物抗肿瘤的机制研究。

Tel: (024) 23844463 E-mail: lzm1993@yahoo.com

* 通讯作者 E-mail: ikejima@vip.sina.com

Ac-YVAD-cmk 购自 Bachem (Bubendorf, 瑞典); MTT 购自 Sigma (MO, 美国); *p*-iodonitro tetrazolium violet (NT) 与 *L*(+)-乳酸钠为 Sigma (MO, 美国) 公司生产。N-methylphen azinium methylsulfate (PMS) 购自中国医药公司北京采购站。β-nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 由中国医药(集团)上海化学试剂公司提供。胎牛血清购自北京元亨圣马生物技术研究所。

1.2 细胞培养: 人黑色素瘤细胞 A375-S2 购自 ATCC (# CRL, 1872, Rockville, MD), 细胞于含 10% 胎牛血清, 1% *L*-谷酰胺, 1×10^5 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 RPMI-1640 培养液中, 在 37℃, 5% CO₂ 细胞培养箱内培养。

1.3 体外药物敏感性实验: 取对数生长期 A375-S2 细胞, 接种于 96 孔培养板 (1×10^4 /孔), 培养 10 h 后, 加入不同浓度 (8.6, 17.2, 34.3, 68.6, 102.9, 137.2 μmol/L) 冬凌草甲素 [二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, DMSO 浓度 < 0.1%], 每个浓度设 3 个平行孔, 对照孔加不含药物的 0.1% DMSO 培养液, 空白孔不加细胞只加 0.1% DMSO 培养液及不同浓度冬凌草甲素, 于 37℃, 5% CO₂ 条件下继续培养 12, 24, 36, 48 h, 每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μL, 培养 4 h 后, 每孔加入 150 μL DMSO 溶解, 于酶标仪 492 nm 波长处检测各孔吸光度 (A) 值, 按文献方法^[3]计算细胞死亡率并绘制各组时效反应曲线。

1.4 乳酸脱氢酶 (LDH) 活力测定: 根据文献^[4]方法稍作改动, 将 A375-S2 细胞接种于 96 孔培养板中培养, 10 h 后加入冬凌草甲素, 培养 12 h 后收集细胞加入 LDH 底物 (pH 8.2, 0.2 mol/L Tris-HCl 10 mL 中各组份终浓度分别为: *L*(+)-乳酸钠 0.05 mol/L, NT 6.6 × 10⁻⁴ mol/L, PMS 2.8 × 10⁻⁴ mol/L, NAD 1.3 × 10⁻³ mol/L), 每孔设 3 个平行孔, 分别测定上清液中 LDH 的量 (LDH_e) 作为细胞坏死的指数; 悬浮细胞中 LDH 的量 (LDH_p) 作为细胞凋亡指数; 培养瓶中贴壁细胞中 LDH 的量 (LDH_i) 为细胞内的乳酸脱氢酶的含量。计算细胞凋亡率及细胞坏死率。

$$\text{凋亡率} = \text{LDH}_p / (\text{LDH}_p + \text{LDH}_e + \text{LDH}_i) \times 100\%$$

$$\text{坏死率} = \text{LDH}_e / (\text{LDH}_p + \text{LDH}_e + \text{LDH}_i) \times 100\%$$

1.5 细胞 DNA 提取及电泳观察^[5]: 将细胞接种于 6 孔板 (2×10^6 /孔), 培养 12 h 后加入冬凌草甲素 34.3 μmol/L, 于不同时间收集细胞 (1×10^6), 150 × *g* 离心 5 min, PBS 洗涤 1 次, 加入细胞裂解液 100 μL (Tris-HCl 10 mmol/L pH 7.4, EDTA

10 mmol/L pH 8.0, Triton X-100 0.5%), 4℃ 放置 10 min, 7 200 × *g* 离心 20 min。取上清液加 2 μL RNase A (20 μg/μL), 37℃ 孵育 60 min, 再加入 2 μL 蛋白酶 K (20 μg/μL), 37℃ 孵育 60 min, 加入 NaCl (0.5 mol/L) 及 50% 异丙醇, -20℃ 放置过夜。取出后 7 200 × *g* 离心 15 min, 尽量去除异丙醇, 加入 TE 溶解液 (Tris-HCl 10 mmol/L pH 7.4, EDTA 1 mmol/L pH 8.0), 加溴酚蓝染色液, 置 100 V, 2% 琼脂糖凝胶电泳 40 min, 用 0.1 mg/mL 溴化乙啶染色 30 min, 紫外透射仪下观察。

1.6 Caspase 抑制剂对冬凌草甲素诱导细胞凋亡的影响: 将 A375-S2 细胞接种于 96 孔培养板中, 10 h 后分别加入各种 Caspase 抑制剂: z-DEVD-fmk (10 μmol/L), Ac-YVAD-cmk (10 μmol/L), z-IETD-fmk (20 μmol/L), Ac-LEHD-CHO (10 μmol/L), z-VAD-fmk (10 μmol/L), 60 min 后, 各孔加入冬凌草甲素 34.3 μmol/L, 设 3 个平行孔, 于 37℃, 5% CO₂ 条件下继续培养 12 h 后, 各孔按 1.3 项方法进行 MTT 检测。

1.7 Caspase-3 活力测定: A375-S2 细胞 (5×10^5) 在 34.3 μmol/L 冬凌草甲素及 Caspase-3 抑制剂共同作用不同时间, 利用凋亡检测试剂盒 (Santa, Cruz, Biotech, CA, 美国) 测定 Caspase-3 活力。

1.8 佛波酯 (PMA) 及 PKC 抑制剂对冬凌草甲素诱导细胞凋亡的影响: 将 A375-S2 细胞接种于 96 孔培养板中, 培养 10 h 后分别处理如下: 加入高剂量的 PMA (200, 400 ng/mL), 继续培养 24 h; 继续培养 23 h 后加入 PKC 抑制剂 H-7, 继续培养 1 h; 继续培养 23.75 h 后加入小剂量的 PMA (5, 10 ng/mL), 继续培养 15 min。各种处理后加入冬凌草甲素 34.3 μmol/L, 每种处理设 3 个平行孔, 于 37℃, 5% CO₂ 条件下继续培养 12 h 后, 各孔按 1.3 项方法进行 MTT 检测。

1.9 统计处理: 数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 冬凌草甲素对 A375-S2 细胞生长、LDH 活力及细胞凋亡的影响: 图 1 是冬凌草甲素 (8.6~137.2 μmol/L) 分别作用于 A375-S2 细胞 12, 24, 36, 48 h 后的抑制曲线, 从图中可见冬凌草甲素对 A375-S2 的细胞毒作用是随时间、剂量而改变的, 具有明显的时效和量效关系。不同浓度冬凌草甲素 (8.6~137.4 μmol/L) 作用于 A375-S2 细胞 12 h 后, 通过测定不同部位 LDH 释放的量, 检测不同药物剂量诱导细胞凋亡与坏死的程度。表 1 可见大剂

量冬凌草甲素 ($137.2 \mu\text{mol/L}$) 作用于 A 375-S2 细胞 12 h 时, 诱导坏死的程度强于凋亡, 而在适宜的浓度下 ($34.3 \mu\text{mol/L}$), 冬凌草甲素诱导其凋亡的能力强。结果表明冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞的凋亡要有适宜的浓度和适宜的作用时间。 $34.3 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素作用 A 375-S2 细胞 12 h 后可见细胞在形态上的变化, 对照组细胞连接紧密, 大小均匀, 加入冬凌草甲素作用 2 h, 可见细胞先变圆, 体积缩小, 细胞皱缩, 6, 12 h 核膜周边有的形成小芽, 正处于形成凋亡小体的过程中 (数据未显示)。

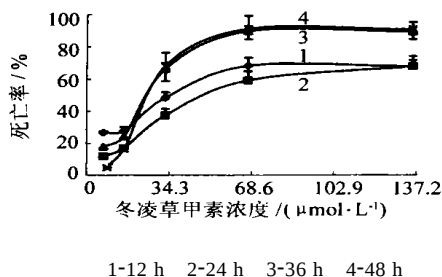


图 1 冬凌草甲素对 A375-S2 细胞生长抑制作用

Fig 1 Inhibition of oridonin on A375-S2 cell growth

表 1 冬凌草甲素诱导 A375-S2 细胞凋亡与坏死 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Oridonin-induced A375-S2 cells to apoptosis and necrosis ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

冬凌草甲素浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	凋亡率/%	坏死率/%
8.6	16.4 ± 0.5	13.8 ± 0.5
17.2	21.3 ± 0.9	16.8 ± 0.7
34.4	22.5 ± 2.9	18.4 ± 1.9
68.7	27.0 ± 1.9	39.5 ± 3.9
137.4	23.0 ± 0.7	53.0 ± 1.5

2.2 细胞凋亡的电泳观察: 细胞发生凋亡时, 较显著的生化标志是 DNA 被有规律的切断, 在琼脂糖凝胶电泳上形成梯状带子 (DNA ladder)。冬凌草甲素 ($34.3 \mu\text{mol/L}$) 作用 A 375-S2 细胞 12 h 时, 可诱导其发生明显的 DNA 片段化。不同时间的电泳结果表明随着时间的增加, DNA 带子强度增强, 细胞凋亡呈明显的时效关系, 见图 2。



图 2 冬凌草甲素诱导 A375-S2 细胞 DNA 片段化

Fig 2 Oridonin-induced A375-S2 cell to fragmentation of DNA

2.3 Caspase 抑制剂对冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡的抑制作用: Caspase 家族抑制剂 z-VAD-

fmk, Caspase-1 抑制剂 Ac-YVAD-cmk, Caspase-3 抑制剂 z-DEVD-fmk, Caspase-8 抑制剂 z-IETD-fmk 对冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡有不同程度抑制作用, z-VAD-fmk, z-DEVD-fmk 与 Ac-YVAD-cmk 表现出较强的抑制效应 ($P < 0.01$), 而 z-IETD-fmk 的抑制效果稍弱 ($P < 0.05$), 见表 2。据此结果推测: 冬凌草甲素诱导 A 375-S2 凋亡激活了 Caspase 途径。尤其是 Caspase-9 抑制剂 Ac-LEHD-CHO 能显著下调这种凋亡作用。说明冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡启动了线粒体途径, 因 Caspase-9 是此途径中关键的 Caspase^[6]。

表 2 Caspase 抑制剂对冬凌草甲素诱导细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Effect of Caspase inhibitors on oridonin-induced A375-S2 cell apoptosis ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样 品	细胞存活率/%
培养液	100.0 ± 0.3
0.1%DM SO	98.8 ± 2.3
冬凌草甲素	31.2 ± 1.9
VAD+ 冬凌草甲素	$72.5 \pm 1.1^{**}$
DEVD+ 冬凌草甲素	$60.7 \pm 1.4^{*}$
LEHD+ 冬凌草甲素	$50.1 \pm 3.4^{*}$
YVAD+ 冬凌草甲素	49.6 ± 2.3
IETD+ 冬凌草甲素	44.8 ± 2.2

与冬凌草甲素组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs oridonin group

2.4 Caspase-3 活力检测: 冬凌草甲素作用 A 375-S2 细胞 12 h 后, 检测 Caspase-3 活力, 结果 caspase-3 活力是对照组的 6 倍左右, 见表 3。提示冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡是激活 Caspase 途径。

表 3 冬凌草甲素对 A375-S2 细胞 Caspase-3 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Effect of oridonin on activities of Caspase-3 of A375-S2 cell ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样 品	Caspase-3 活力			
	0 h	12 h	24 h	36 h
冬凌草甲素	5.1 ± 0.3	$31.2 \pm 0.2^{**}$	$21.3 \pm 0.4^{*}$	$16.4 \pm 0.3^{*}$
DEVD+ 冬凌草甲素	10.5 ± 0.4			

与冬凌草甲素 0 h 组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs oridonin-treated group for 0 h

2.5 PMA 及 PKC 抑制剂 H-7 对冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡的作用: 文献^[7]已报道高剂量的 PMA (200 ng/mL) 预先 24 h 加入可抑制 PKC 的活性, 但小剂量的 PMA (10 ng/mL) 预先 15 min 加入可激活 PKC 的活性。在本实验中发现, 预先 24 h 加入 PMA (400 ng/mL) 可减弱冬凌草甲素 ($34.3 \mu\text{mol/L}$) 诱导的 A 375-S2 细胞凋亡。但小剂量的 PMA (10 ng/mL) 预先 15 min 加入可增强冬

凌草甲素杀死细胞的作用。且 PKC 抑制剂 H-7 (500 nmol/L) 较强抑制冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡的作用, 见表 4。这一结果提示: 诱导 A 375-S2 细胞凋亡通过线粒体途径激活 Caspase 的过程中, PKC 的激活参与了这一机制。

表 4 PMA 与 PKC 抑制剂对冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 4 Effect of PMA and PKC inhibitor on oridonin induced A375-S2 cell apoptosis ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样 品	细胞存活率/%
培养液	100.0 $\pm$ 1.5
0.1%DM SO	98.4 $\pm$ 6.1
冬凌草甲素	40.1 $\pm$ 5.8
PMA (400 ng/mL)+ 冬凌草甲素	64.5 $\pm$ 5.7*
PMA (200 ng/mL)+ 冬凌草甲素	55.6 $\pm$ 8.9
PMA (10 ng/mL)+ 冬凌草甲素	15.1 $\pm$ 0.7**
PMA (5 ng/mL)+ 冬凌草甲素	18.2 $\pm$ 1.9*
H-7 (50 nmol/L)+ 冬凌草甲素	50.5 $\pm$ 0.7
H-7 (500 nmol/L)+ 冬凌草甲素	59.3 $\pm$ 3.0*

与冬凌草甲素组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs oridonin group

3 讨论

近年来, 寻找有效的抗肿瘤天然药物成为研究的热点之一, 文献^[8,9]报道冬凌草甲素对多种肿瘤具有杀伤作用, 临床上用于治疗食管癌、肝癌等多种癌症。体外实验研究^[10]表明冬凌草甲素不仅可延缓细胞从 G_2 进入 M 期, 且对肿瘤细胞 DNA、RNA 和蛋白质合成均有明显抑制作用。但冬凌草甲素诱导肿瘤细胞凋亡的信号转导机制未明。本研究显示冬凌草甲素 (34.3 μ mol/L) 作用 A 375-S2 细胞 12 h, 可使 Caspase-3 活力升高 6 倍。通常认为^[11] Caspase-1, Caspase-8 具有长的 N-末端属于上游的半胱氨酸裂解酶, 发挥传导信号, 激活下游 Caspase-3 的作用, 从而引起 DNA 的片段化, 导致细胞凋亡。而 Caspase-9 位于线粒体途径中接受细胞色素 C 传来的信号, 最后激活下游的 Caspase-3 等, 引起细胞凋亡^[12]。本研究发现 Caspase-3、Caspase-9 抑制剂能显著抑制冬凌草甲素诱导的 A 375-S2 细胞凋亡, 提示冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡可能通过线

粒体启动 Caspase 途径, 且因大剂量 PMA (400 ng/mL) 与 PKC 抑制剂均能减弱这种作用, 而小剂量 PMA (10 ng/mL) 激活 PKC^[9]、增加 A 375-S2 细胞对冬凌草甲素的敏感性, 说明 PKC 的激活参与了这一过程。这一结果有助于进一步探讨其作用机制, 同时, 冬凌草甲素 (137.2 μ mol/L) 可使细胞大量坏死, 最新报道^[13]认为 Fas 介导的信号转导也可诱导坏死, 冬凌草甲素也可能发挥这样的作用。本研究结果为研究冬凌草甲素诱导 A 375-S2 细胞凋亡与坏死的信号转导提供参考依据。

References

- [1] Fujita T, Takeda Y, Sun H D, et al. Cytotoxic and antitumor activities of *Rabdosia* diterpenoids [J]. *Planta Med*, 1988, 54(5): 414-417.
- [2] Zhang C L, Wu L J, Tashiro A I, et al. Oridonin induced HeLa cell apoptosis through caspase pathway [J]. *Chin Pharm acol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19(5): 521-525.
- [3] Tada H, Shiho O, Kuroshima K. An improved colorimetric assay for interleukin 2 [J]. *J Immunol Method*, 1986, 93(2): 157-165.
- [4] Charrier L, Jorry A, Toquet C, et al. Growth phase-dependent expression of ICAD-L/DFF45 modulates in human colonic cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(4): 2169-2174.
- [5] Arakaki N, Kazihara T, Ohnishi T, et al. Hepatocyte growth factor activates the apoptotic signaling pathway by increasing Caspase-3 activity of Sarcoma 180 cell [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245(1): 211-215.
- [6] Hausmann G. Pro-apoptotic apoptosis protease-activating factor 1 (Apaf-1) has a cytoplasmic localization distinct from Bcl-2 or Bcl-xL [J]. *J Cell Biol*, 2000, 149(3): 623-634.
- [7] Ahn J H, Park S M, Cho H S, et al. Non-apoptotic signaling pathways activated by soluble fas ligand in serum-starved human fibroblasts [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(5): 47100-47106.
- [8] Li X T, Lin C, Li P Y. Characteristics of cytostatic effect of oridonin in vitro [J]. *Acta Pharm acol Sin* (中国药理学报), 1986, 7(5): 361-363.
- [9] Feng C W, Pan X L, Zou J H, et al. Oridonin inhibit human leukemia K562 cells growth [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2000, 24(3): 225-226.
- [10] Zhang T M, Shou M G, Wang M Y. Antitumor effects of different combinations of oridonin, bleomycin A5 and nitro-caphane [J]. *Acta Pharm acol Sin* (中国药理学报), 1986, 7(5): 457-460.
- [11] Enari M, Talanian R V, Wong W W. Sequential activation of ICE-like and CPP32-like proteases during Fas-mediated apoptosis [J]. *Nature*, 1996, 380: 723-726.
- [12] Green D R, Reed J C. Mitochondria and apoptosis [J]. *Science*, 1998, 281: 1309-1311.
- [13] Wajant H. The fas signaling pathway: more than a paradigm [J]. *Science*, 2002, 296: 1635-1636.

欢迎订阅《中草药》杂志 2002 年增刊

为了加快中药现代化的进程, 交流中药指纹图谱研究的经验, 讨论入世后我国中药产业面临的挑战和对策, 本刊在 2002 年 10 月底出版以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容的增刊。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅。定价: 60.00 元, 另加 5.00 元邮费, 款到寄刊。

本刊另有 1996—2001 年增刊, 欢迎订阅。

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编: 300193

电话: (022) 27474913 23006821 传真: (022) 23006821 E-mail: zcyzzbjb@tjpcr.com