

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.13.015

实验研究

固肺消积饮治疗非小细胞肺癌作用机制的网络药理学分析

贺佐梅¹, 曾普华², 鄧文辉³, 徐云⁴, 黄惠勇^{3*}

(1. 湖南中医药大学研究生院, 湖南省长沙市岳麓区学士路 300 号, 410208; 2. 湖南省中医药研究院附属医院; 3. 湖南中医药大学中医学院; 4. 湖南省湘潭市第一人民医院)

摘要 目的 基于网络药理学方法探讨固肺消积饮治疗非小细胞肺癌的可能作用机制。方法 利用 TCMSp 数据库, 采用口服生物利用度筛选和药物相似性评价筛选固肺消积饮药物有效成分, 并预测疾病靶点, 构建成分-靶点网络图, 并筛选核心网络图, 用 DAVID 数据库进行基因富集分析, 获得 GO 功能注释结果及 KEGG 通路分析注释结果, 并在 KEGG 通路分析中获得参与相关通路的候选基因及功能。结果 从 TCMSp 数据库筛选出固肺消积饮的 149 种活性成分, 与肺癌相关的 246 个潜在靶标; 成分-靶点网络图显示 1502 个成分-靶点相互作用, 以其中相关程度值大于 8 的 53 种成分构建核心网络图; 基因富集分析提示, 42 个靶点参与多条通路, 其中大量靶点与 PI3K-AKT 通路及 Ca^{2+} 信号通路调控有关。结论 固肺消积饮可能通过调控 PI3K-AKT 通路及 Ca^{2+} 信号通路而达到延缓非小细胞肺癌化疗耐药、降低化疗毒副作用、增加化疗敏感性的效果。

关键词 非小细胞肺癌; 固肺消积饮; 药物靶点; 基因富集分析; 网络药理学

肺癌的发病居各肿瘤之首, 非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 则占肺癌发病的 85%^[1]。目前针对肺癌的治疗方法主要有手术治疗、放疗、化疗和靶向治疗, 其中化疗是最普遍的治疗方式, 但患者往往出现耐药^[2]。固肺消积饮是湖南省中医药研究院肿瘤研究中心长期使用的肺癌治疗经验方, 由 9 种中药 (黄芪, 白参, 枸杞子, 女贞子, 补骨脂, 土贝母, 莪术, 半枝莲, 重楼) 组成, 已有研究显示其对 NSCLC 具有良好的临床效果, 包括缓解 NSCLC 患者的临床症状、延缓化疗耐药、降低化疗毒副作用、增加化疗敏感性^[3-5]。然而, 固肺消积饮的药物作用机制和活性物质仍未明确, 值得进一步研究。一般来说, 大多数中药通过靶向人体的多个分子来发挥治疗作用, 但是中药的多个靶点很难确定。网络药理学是一个新兴领域, 其通过结合口服生物利用度预测、

多药物靶点预测和网络分析, 来了解中药的活性成分和治疗靶点^[6-7]。本研究使用了网络药理学方法, 通过系统地纳入活性成分预测、治疗靶点预测和药物靶点网络分析来研究固肺消积饮的作用机制和活性物质。

1 方法

1.1 药物活性成分筛选

目前尚无有效地鉴定药用植物中含有的活性成分的方法。根据已有研究使用 TCMSp 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), 应用口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 筛选和药物相似性评价 (drug-likeness, DL) 的组合来研究中药的活性物质^[8]。我们通过前期多次预筛选, 认为满足所有药物筛出的成分总数在 50~150 范围内时 Cytoscape 软件成图效果最理想, 以 $OB \geq 20\%$ 、 $DL \geq 0.12$ 值筛选固肺消积饮药物活性成分较合适。

1.2 药物潜在靶点预测

中药配方可以通过多种成分和靶点的协同作用有效预防复杂疾病, 因此, 除了筛选复方的活性成

基金项目: 湖南省工程研究中心建设项目; 湖南省自然科学基金 (2016JJ4067); 湖南省科技计划 (2016SK2034); 湖南中医药大学中医诊断重点学科开放基金 (2015ZYZD09)

* 通讯作者: huanghy68@126.com

分外, 还需要进行潜在治疗靶点的预测。将药物名称输入 TCMSMP 数据库, 获得每一味药物的主要活性成分, 并使用 TCMSMP 数据库预测每一药物活性成分的主要潜在作用靶点, 最后在 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 进行靶点-基因名转换。

1.3 药物成分-靶点网络图构建及核心网络的筛选

中药复方通过多种成分和靶点产生广泛的生物和药理作用。为了了解成分及其相应目标在系统层面上的复杂相互作用, 我们应用 Cytoscape 3.2.1 软件, 基于固肺消积饮候选成分和潜在靶点构建了单味药物的成分-靶点网络图, 并使用 Cytoscape 3.2.1 软件的 Bisogenet 插件将复方所有药物成分-靶点网络图进行合并, 软件会根据相关度自动计算出成分-靶点相关程度值, 根据相关程度值进一步筛选获得成分-靶点核心网络图。

1.4 基因富集分析

将成分-靶点核心网络图中所得基因数据进一步分析, 利用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行基因富集分析, 获得 GO 功能注释结果, 解析核心靶点基因参与的生物学过程、分子功能以及细胞成分; KEGG 通路分析注释结果, 在 KEGG 通路分析中获得参与相关通路的候选基因及功能。

2 结果

2.1 药物化学成分筛选结果

本研究从固肺消积饮的各味中药成分中收集了 138 种 $OB \geq 20\%$ 、 $DL \geq 0.12$ 的潜在成分, 另外还有 11 种药物相似指数不详的成分具有广泛的药理活性, 是中药的典型成分, 也将这些成分纳入候选成分用于进一步分析。白参、黄芪、女贞子、枸杞子、半枝莲、重楼、莪术、补骨脂、土贝母分别筛选到 60、29、26、67、69、2、14、8、23 个成分, 并且 9 种药物之间存在大量重复的成分。

2.2 潜在作用靶点预测结果

共预测到了 246 个潜在靶点。其中白参、黄芪、女贞子、枸杞子、半枝莲、重楼、莪术、补骨脂、土贝母分别预测到 99、133、125、119、154、25、60、68、67 个靶点, 并且 9 种药物之间、不同成分之间存在大量重复的靶点。

2.3 复方成分靶点网络图构建

成分-靶点网络发现了 344 个节点 (9 个中药, 149 个候选成分, 108 个潜在靶点) 与 1502 个成分-靶点相互作用。中位相关程度值为 8, 定义相

关程度值大于 8 为大节点, 以此来筛选核心网络 (图 1)。有 53 种成分相关程度值大于 8, 这表明大多数成分调节多个靶标以发挥各种治疗作用。相关程度值分别为 91、80 和 66 的 3 种成分, 即槲皮素 (quercetin)、延胡索碱 (Fumarine)、山柰酚 (Kaempferol), 均为固肺消积饮的关键活性成分。以山柰酚为例, 该成分干预肺癌 A549 细胞系的生长有抑制作用, 对 A549 细胞的增殖有较强的抑制作用, 并且能够下调 rDNA 的转录、降低上游结合因子磷酸化水平^[8]。体内数据显示, 山柰酚增加肿瘤细胞凋亡和杀伤辐射, 通过抑制 PI3K-AKT 途径、细胞外调节蛋白激酶途径和线粒体凋亡途径的活化, 体外和体内辐射增加肿瘤细胞杀伤, 并证明山柰酚是安全和潜在的放射增敏剂^[14]。此外, 本结果表明, 成分-靶点网络中多种成分受到多个靶点的调节。有 42 个靶点相关程度值大于 8, 这些靶点发挥重要的病理作用, 包括 RNA 聚合酶 II 启动子的转录调控、信号转导、肽基-苏氨酸磷酸化、腺苷酸环化酶抑制性 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路调控等。

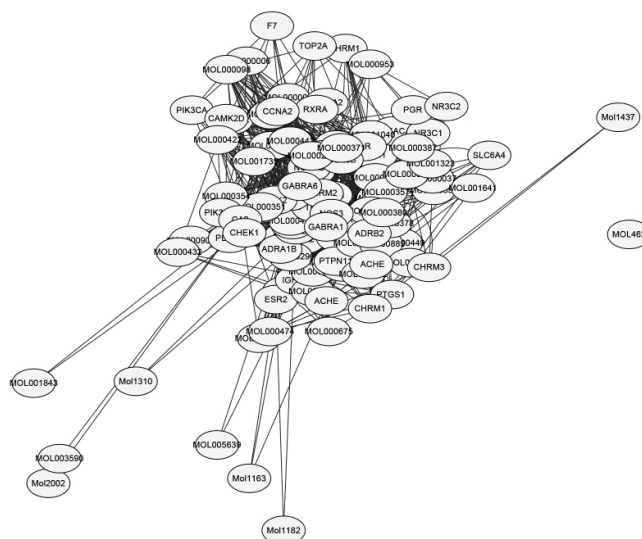


图 1 固肺消积饮各药物合并相关程度值大于 8 的核心网络

2.4 核心靶点功能富集分析

使用 DAVID 数据库富集分析蛋白靶点参与的相关 KEGG 通路, 42 个靶点参与多条通路, 其中 P 值 < 0.05 的通路具体见表 1。本研究筛选得到的候选成分-靶点-基因中有 8 个基因参与 PI3K-AKT 通路, 分别为 CHRM1 (31, 相关程度值, 下同)、CHRM2 (11)、CDK2 (15)、GSK3B (29)、HSP90AA1 (26)、NOS3 (29)、PIK3CA (8)、RXRA (12), 这些基因从多方面调控 PI3K-AKT 通

路,在肺癌发生、发展、复发、转移及治疗耐药方面扮演着重要角色^[1-13];有 9 个基因参与 Ca^{2+} 信号通路,分别为 ADRA1B (12)、ADRB2 (15)、CAMK2D (18)、CHRM1 (31)、CHRM2 (11)、CHRM3 (18)、NOS2 (37)、NOS3 (29)、PRKACA (10),这些基因从多方面调控 Ca^{2+} 通路^[14],而 Ca^{2+} 通路也在肺癌发生发展过程中具有重要影响^[15-16]。

表 1 固肺消积饮药物靶点蛋白参与的 KEGG 通路

序号	通路名称	参与 基因数	P 值
1	Ca^{2+} 信号通路	9	<0.001
2	孕酮介导的卵母细胞成熟	7	<0.001
3	神经活性配体-受体相互作用通路	10	<0.001
4	胆碱能突触	7	<0.001
5	心肌细胞中的肾上腺素能信号传导	7	<0.001
6	雌激素信号通路	6	<0.001
7	逆行内源性大麻素信号	6	<0.001
8	肿瘤途径	10	<0.001
9	甲状腺激素信号通路	6	<0.001
10	催乳素信号通路	5	<0.001
11	cAMP 信号通路	7	<0.001
12	小细胞肺癌	5	0.001
13	前列腺癌	5	0.001
14	吗啡成瘾	5	0.002
15	PI3K-AKT 信号通路	8	0.002
16	卵母细胞减数分裂	5	0.003
17	调节脂肪细胞中的脂肪分解	4	0.004
18	Epstein-Barr 病毒感染	6	0.004
19	神经营养因子信号通路	5	0.004
20	血管内皮生长因子信号通路	4	0.004
21	肿瘤中的蛋白聚糖	6	0.005
22	胃酸分泌	4	0.007
23	催产素信号通路	5	0.011
24	γ -氨基丁酸能突触	4	0.011
25	唾液分泌	4	0.011
26	环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G 信号通路	5	0.013
27	瞬时受体电位通道的炎症介质调节	4	0.016
28	缺氧诱导因子 1 信号通路	4	0.016
29	尼古丁成瘾	3	0.020
30	胰岛素抵抗	4	0.021
31	病毒癌变	5	0.025
32	细胞周期	4	0.030
33	多巴胺能突触	4	0.033
34	血小板活化	4	0.034
35	丙型肝炎	4	0.036
36	肾素分泌	3	0.048

3 讨论

大量研究证据表明,NSCLC 中 PI3K-AKT 通路的异常活化在肿瘤细胞增殖、凋亡和存活中起着至关重要的作用,包括治疗耐药性^[17]。顺铂作为一线化疗药广泛应用于 NSCLC 治疗,但顺铂耐药严

重影响其临床疗效。顺铂耐药是一个复杂的过程,各种机制参与相互作用,其中 PI3K-AKT 通路保持持续激活是最重要的原因之一^[17]。表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂靶向治疗是近年肺癌研究的热点,但患者亦常发生耐药,而其耐药的发生也与 PI3K-AKT 通路异常激活密切相关^[18-19]。本研究结果显示,有 8 个基因参与 PI3K-AKT 通路,提示固肺消积饮发挥效应的机制可能与 PI3K-AKT 通路相关。

Ca^{2+} 信号通路异常与肿瘤患者对顺铂发生耐药关系密切,这可能与细胞中氧化应激减弱、线粒体钙稳态失衡、 Ca^{2+} 激活的钾通道亚基减少等有关^[20-22]。本研究结果显示,有 9 个基因参与 Ca^{2+} 通路,提示固肺消积饮发挥效应的机制可能与 Ca^{2+} 调控通路相关。

CHRM1、CHRM2 及 NOS3 为 PI3K-AKT 通路、 Ca^{2+} 调控通路中两条通路中共同的潜在靶点,且均在肺癌的发生、发展中发挥重要作用,CHRM1 和 CHRM2 参与毒蕈碱性乙酰胆碱受体介导各种细胞反应,包括腺苷酸环化酶的抑制、磷酸肌醇的分解和通过 G 蛋白的作用调节钾通道,属于 G 蛋白偶联受体 1 家族,并且 CHRM2 使乙酰胆碱受体/NF- κ B 信号转导失活、发生上皮-间质转化并抑制非小细胞肺癌的迁移和侵袭^[23]。NOS3 内含子 4 中的串联重复多态性的可变数量与 NSCLC 相关^[24],一氧化氮(NO)是一种参与致癌作用的自由基,通过内皮 NO 合成酶(eNOS)从 L-精氨酸合成的内皮 NO 抑制细胞凋亡并促进血管生成、肿瘤细胞增殖和转移^[25]。因此,我们推测固肺消积饮可能对 PI3K-AKT 通路及 Ca^{2+} 调控通路发生交叉调控,主要调控点可能在 CHRM1、CHRM2 以及 NOS3,从而缓解临床耐药反应、提高治疗获益。

本研究通过网络药理学方法分析药物组成及靶点,构建固肺消积饮发挥药效的成分-靶点网络图,初步推测了发挥药效的潜在化学成分,筛选出 42 个候选蛋白,初步预测了固肺消积饮治疗 NSCLC 的作用机制可能是对 PI3K-AKT 通路及 Ca^{2+} 调控通路发生交叉调控,主要调控点可能在 CHRM1、CHRM2 及 NOS3,可为进一步深入研究提供参考。

参考文献

- [1] CASTAÑEZ, FILLMORE CM, KIM CF, et al. The bed and the bugs: interactions between the tumor microenvironment and cancer stem cells [J]. Semin Cancer Biol, 2012, 22(5/6):462-470.

- [4] 刘一诚. 黄芪甲甙协同顺铂对非小细胞肺癌细胞敏感性的作用研究 [J]. 成都: 成都中医药大学, 2016: 1.
- [5] 蔡美, 蒋益兰, 曾普华, 等. 益气养阴化瘀解毒方治疗肺癌脑转移 17 例 [J]. 湖南中医杂志, 2011, 27(5): 50-51.
- [6] 郜文辉, 曾普华, 滕久祥, 等. 益气化瘀养阴解毒方药物血清对人肺癌 A549 细胞增殖及周期的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(3): 34-35.
- [7] 刘伟, 蒋益兰, 曾普华, 等. 益肺败毒方维持治疗晚期非小细胞肺癌临床观察 [J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(11): 2389-2391.
- [8] WANG S, WANG H, LU Y. Tianfoshen oral liquid: a CFDA approved clinical traditional Chinese medicine, normalizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14549-14569.
- [9] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufei Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15290. doi: 10.1038/srep15290.
- [10] YUE SJ, XIN LT, FAN YC, et al. Herb pair Danggui-Honghua: mechanisms underlying blood stasis syndrome by system pharmacology approach, scientific reports [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40318. doi: 10.1038/srep40318.
- [11] 左一雄, 蔡湘仪, 吴彦萍, 等. 山萘酚对人非小细胞肺癌细胞系 A549 增殖的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(31): 6001-6005.
- [12] KUO WT, TSAI YC, WU HC, et al. Radiosensitization of non-small cell lung cancer by kaempferol [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(5): 2351-2356.
- [13] HU S, DANILOV AV, GODEK K, et al. CDK2 inhibition causes anaphase catastrophe in lung cancer through the centrosomal protein CP110 [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(10): 2029-2038.
- [14] SHI Y, LIU X, LOU J, et al. Plasma levels of heat shock protein 90 alpha associated with lung cancer development and treatment responses [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23): 6016-6022.
- [15] WANG L, CHEN G, CHEN K, et al. Dual targeting of retinoid X receptor and histone deacetylase with DW22 as a novel antitumor approach [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12): 9740-9755.
- [16] 郭庆民. Ca^{2+} /钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II 信息通路 在阿片依赖的受体信号转导机制中的作用 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2001: 86-114.
- [17] 江黎明. 环孢霉素 A 通过抑制 Ca^{2+} /calcineurin/Erk 通路增强克唑替尼抗非小细胞肺癌活性 [D]. 杭州: 浙江大学, 2016: 1.
- [18] 张四洋, 李春艳, 高建, 等. 应用 Ca^{2+} 荧光探针 fluo-3 和 fluo-4 测定 H_2O_2 诱导的 A549 细胞凋亡过程中的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化 [J]. 中国肺癌杂志, 2014, 17(3): 197-202.
- [19] ZHANG Y, LU H, XU G. Effect of PI3K/AKT pathway on cisplatin resistance in non-small cell lung cancer [J]. *Thoracic Can*, 2014, 17(8): 635-642.
- [20] PÉREZ-RAMÍREZ C, CAÑADAS-GARRE M, MOLINA M, et al. PTEN and PI3K/AKT in non-small-cell lung cancer [J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(16): 1843-1862.
- [21] FUMAROLA C, BONELLI MA, PETRONINI PG, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR pathway in non small cell lung cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 90(3): 197-207.
- [22] FLOREA AM, VARGHESE E, MCCALLUM JE, et al. Calcium-regulatory proteins as modulators of chemotherapy in human neuroblastoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(14): 22876-22893.
- [23] SUN X, WEI Q, CHENG J, et al. Enhanced Stim1 expression is associated with acquired chemo-resistance of cisplatin in osteosarcoma cells [J]. *Hum Cell*, 2017, 30(3): 216-225.
- [24] XU P, JIANG YF, WANG JH. shRNA-mediated silencing of sorcin increases drug chemosensitivity in myeloma KM3/DDP and U266/ADM cell lines [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 2300-2310.
- [25] ZHAO Q, YUE J, ZHANG C, et al. Inactivation of M2 AChR/NF- κ B signaling axis reverses epithelial-mesenchymal transition (EMT) and suppresses migration and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 29335-29346.
- [26] ZHANG J, LI BS, ZHOU CC, et al. Single nucleotide polymorphisms in NOS2A and NOS3 genes are not associated with treatment response of non-small cell lung cancer patients following the definitive radiochemotherapy [J]. *Neoplasma*, 2012, 59(6): 631-640.
- [27] FUJITA S, MASAGO K, HATACHI Y, et al. Genetic polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene correlate with overall survival in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy [J]. *BMC Med Genet*, 2010, 11: 167. doi: 10.1186/1471-2350-11-167.

Analysis of the Mechanism of *Gufei Xiaojiyin* (固肺消积饮) in Treating Non-small Cell Lung Cancer Based on the Network Pharmacology

HE Zuomei¹, ZENG Puhua², GAO Wenhui³, XU Yun⁴, HUANG Huiyong³

(1. Graduate School, Hunan University of Chinese medicine, Changsha 410007; 2. Affiliated Hospital of Hunan Provincial Traditional Chinese Medicine Research Institute; 3. Chinese Medicine College, Hunan University of Chinese medicine; 4. First People's Hospital of Xiangtan City, Hunan Province)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of *Gufei Xiaojiyin* (固肺消积饮, GFXJY) in treating non-small cell lung cancer (NSCLC) based on the network pharmacology. **Methods** The TCMSP database was used to screen the effective components of GFXJY by oral bioavailability screening and drug similarity assessment. The target of the disease was predicted, and the target network was constructed. The core network was screened. Enrichment analysis was performed to obtain GO functional annotation results and KEGG pathway annotation results, and to obtain candidate genes and functions involved in the related pathways in the KEGG pathway analysis. **Results** A total of 149 active components of GFXJY were screened from the TCMSP database and 246 potential targets associated with lung cancer. The target network map showed the interaction of 1502 target components, 53 of which had correlation values greater than 8. Components were used to construct the core network map; gene enrichment analysis suggested that 42 targets participated in multiple pathways, and a large number of targets were related to the regulation of PI3K-AKT pathway and Ca²⁺ signaling pathway. **Conclusion** GFXJY may delay the chemotherapy resistance of non-small cell lung cancer, reduce the side effects of chemotherapy, and increase the sensitivity of chemotherapy by regulating the PI3K-AKT pathway and Ca²⁺ signaling pathway.

Keywords non-small cell lung cancer; *Gufei Xiaojiyin* (固肺消积饮); drug target; gene enrichment analysis; network pharmacology

(收稿日期: 2017-10-17; 修回日期: 2018-04-18)

编辑: 王利芬

中医杂志社北京医海林音像书店销售 VCD 光盘目录

VCD 光盘

中医

经外奇穴的部位和临床应用 48 元, 针灸方法 (上下) 96 元, 耳针疗法 48 元, 八纲辨证 48 元, 中医舌诊 48 元, 中医按诊 48 元, 腧穴疗法 48 元, 痛经的针灸治疗 48 元, 针灸推拿应用精选 45 元, 实用针灸 45 元, 中国腕踝针疗法 35 元

诊断学

导尿术和灌肠术 38 元, 脊柱与四肢体格检查 48 元, 骨伤科临床常用检查方法 48 元

内科学

腹部检查 (解放军音像出版社出版) 35 元, 肺部检查 (解放军音像出版社出版) 45 元, 心脏听诊 (多普乐超声) 45 元, 慢性肾功能衰竭的诊断和治疗 38 元, 急性脑血管疾病的诊断和治疗 48 元, 肺结核的诊断和治疗 38 元, 甲型肝炎的诊断与治疗 38 元, 乙型肝炎的诊断与治疗 48 元

皮肤病学

淋病的诊断与治疗 38 元, 真菌性皮肤病的诊断与治疗 38 元

皮肤病诊断

梅毒的诊断与治疗 (上下) 76 元, 性传播疾病 淋病 35 元

中华医学会音像出版社 VCD 光盘

1. 中国针灸学

第 9 辑内科证治 (一) 40 元, 第 10 集内科证治 (二) 40 元, 第 12 辑内科证治 (四) 40 元, 第 24 辑颞三针和

围针法 40 元, 第 30 辑心悸心痹 40 元

2. 针灸

头针 50 元

3. 中国骨伤学

第 1 辑中国骨伤学发展史 50 元, 第 2 辑骨折总论 50 元, 第 3 辑上肢骨折 (1) 50 元, 第 4 辑上肢骨折 (2) 50 元, 第 5 辑下肢骨折 (1) 50 元, 第 6 辑下肢骨折 (2) 50 元, 第 7 辑躯干骨折 50 元

4. 中医推拿按摩

石氏伤科 50 元, 急性腰扭伤 50 元, 急性腰扭伤 40 元, 头颈部疾病按摩基本手法 50 元, 骨关节损伤治疗手法 50 元, 骨伤科外用药物的配制与应用 50 元, 外洗药在骨伤科临床应用 50 元, 牵引技术 50 元

5. 中医基础

藏象 50 元, 金匱要略 (脏腑经络篇) 50 元, 金匱要略 (妇人篇) 50 元

6. 其他

激光治疗皮肤病 50 元, 常用中草药 50 元

以上音像制品一律五折免邮资。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 收款人: 北京医海林音像书店收, 邮编: 100700, 联系人: 张伟平, 购买地址: 北京市东直门内南小街 16 号中国中医科学院大白楼 831 房间 (周六、日休息), 电话: (010) 64035632, 开户行: 北京工商银行北新桥支行

户名: 北京医海林音像书店, 帐号: 0200004309006536006