

麦门冬汤加减方联合顺铂对 Lewis 肺癌移植瘤模型小鼠的抑瘤作用及机制研究[△]

方芳^{1,2*}, 吴万垠^{1,3#}, 杨春旭², 宁雪坚², 谢伶俐¹, 斯 韬²(1.广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510006; 2.柳州市中医医院肿瘤科, 广西柳州 545000; 3.广东省中医院芳村分院肿瘤科, 广州 510370)

中图分类号 R734.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1226-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.15

摘要 目的:研究麦门冬汤加减方联合顺铂对 Lewis 肺癌移植瘤模型小鼠的抑瘤作用,并探究其可能的作用机制。方法:通过腋下接种 Lewis 肺癌细胞复制 Lewis 肺癌移植瘤小鼠模型。将 60 只小鼠随机分为模型组(生理盐水,每天灌胃 1 次)、顺铂组(6 mg/kg,每周腹腔注射 1 次)、麦门冬汤加减方组(20 g/kg,每天灌胃 1 次)和联合组(每周腹腔注射 6 mg/kg 顺铂 1 次+每天灌胃 20 g/kg 麦门冬汤加减方 1 次),每组 15 只。所有小鼠均连续给药 2 周。给药结束后,检测各组小鼠瘤质量和胸腺指数,苏木精-伊红(HE)染色后观察其瘤体组织病理变化,TUNEL 法检测其瘤体细胞凋亡指数,Western blot 法检测其瘤体组织中 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)和促凋亡基因 Bax 蛋白表达。结果:与模型组比较,麦门冬汤加减方组、顺铂组和联合组小鼠瘤质量、Bcl-2 蛋白表达量均显著降低($P < 0.05$),胸腺指数、瘤体细胞凋亡指数、Bax 蛋白表达量均显著升高($P < 0.05$);并且联合组小鼠瘤质量、Bcl-2 蛋白表达量明显低于麦门冬汤加减方组和顺铂组($P < 0.05$),胸腺指数、瘤体细胞凋亡指数、Bax 蛋白表达量明显高于麦门冬汤加减方组和顺铂组($P < 0.05$)。HE 染色结果显示,麦门冬汤加减方组、顺铂组和联合组小鼠肿瘤细胞密度有所降低,肿瘤组织坏死区域增多,并且联合组小鼠的坏死区面积明显大于麦门冬汤加减方组和顺铂组。结论:麦门冬汤加减方可通过下调瘤组织中 Bcl-2 蛋白表达和上调 Bax 蛋白表达,从而抑制 Lewis 肺癌移植瘤模型小鼠肿瘤的生长。

关键词 麦门冬汤加减方;顺铂;Lewis 肺癌;移植瘤;B 细胞淋巴瘤 2;小鼠

Study on Inhibitory Effect of Modified Maimendong Decoction Combined with Cisplatin on Lewis Lung Cancer Transplantation Model Mice and Its Mechanism

FANG Fang^{1,2}, WU Wanyin^{1,3}, YANG Chunxu², NING Xuejian², XIE Lingli¹, SI Tao²(1.Second Clinical Medical College, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China; 2.Dept. of Oncology, Liuzhou Hospital of TCM, Guangxi Liuzhou 545000, China; 3.Dept. of Oncology, Fangcun Branch, Guangdong Provincial Hospital of TCM, Guangzhou 510370, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effect of modified Maimendong decoction combined with cisplatin on Lewis lung cancer transplantation model mice, and to explore its potential mechanism. METHODS: Lewis lung cancer transplantation mice model was induced via subaxillary inoculation of Lewis lung cancer cells. 60 mice were randomly divided into model group (normal saline, once a day, i.g.), cisplatin group (6 mg/kg, once a week, i.p.), modified Maimendong decoction group (20 g/kg, once a day, i.g.) and combination group (cisplatin 6 mg/kg, once a week, i.p.+modified Maimendong decoction, once a day, i.g.), with 15 mice in each group. All mice were treated for consecutive 2 weeks. After medication, tumor weight and thymus index were detected; HE staining was used to observe the pathological change of tumor tissue. TUNEL was used to detect apoptotic index of tumor tissue. The protein expressions of Bcl-2 and Bax were detected by Western blot assay. RESULTS: Compared with model group, tumor weight and protein expression of Bcl-2 were decreased significantly in modified Maimendong decoction, cisplatin group and combination group ($P < 0.05$), and thymus index, tumor apoptotic index and the protein expression of Bax were increased significantly ($P < 0.05$). Tumor weight and protein expression of Bcl-2 in combination group were significantly lower than modified Maimendong decoction group and cisplatin group ($P < 0.05$); thymus index, tumor apoptotic index and the protein expression of Bax were significantly higher than addition and subtraction of modified Maimendong decoction group and cisplatin group ($P < 0.05$). HE staining showed that the density of tumor cells was decreased to certain degree in modified Maimendong

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81803919);广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项(No.GZPT13-49);广西中医药大学自然科学研究课题(No.2017QN030)

* 主治医师,硕士。研究方向:中医药对分子靶向药物治疗肺癌的增敏研究。E-mail:xqfan7210@126.com

通信作者:主任医师,教授,博士。研究方向:中医药对分子靶向药物治疗肺癌的增敏研究。E-mail:wwanyin@126.com

decoction group, cisplatin group and combination group; the area of necrosis area in the combination group was significantly larger than in modified Maimendong decoction group and cisplatin group. CONCLUSIONS: Modified Maimendong decoction can inhibit the growth of Lewis lung cancer transplanted tumor in mice by down-regulating the protein expression of Bcl-2 and up-regulating the protein

expression of Bax.

KEYWORDS Modified Maimendong decoction; Cisplatin; Lewis lung cancer; Transplanted tumor; Bcl-2; Mice

肺癌是一种涉及遗传及环境等多种因素的复杂病变过程,尤其与癌基因活化及抑癌基因失活密切相关^[1]。B细胞淋巴瘤2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)是临床公认的肺癌原癌基因之一,其与促凋亡基因Bax共同影响着癌细胞的凋亡进程^[2]。中医认为肺癌的发病机制与痰瘀密切相关,肺癌患者局部伴气滞、痰凝以及毒聚之改变^[3]。麦门冬汤主要由麦冬、半夏、人参、甘草、粳米和大枣组成,是治燥方剂之一,临床多用于治疗虚热肺痿、咳嗽痰喘等病。本研究中的麦门冬汤加减方为柳州市中医院肿瘤科肺癌协定方,是在传统麦门冬汤方的基础上去粳米、大枣,加海浮石、百合、白英、瓜蒌皮、玄参、牡蛎、鳖甲、炮山甲和灵芝而成,在柳州市中医院肿瘤科应用多年,并取得了良好疗效。前期笔者在临床应用中发现,麦门冬汤加减方联合化疗治疗气阴两虚痰浊泛肺型非小细胞肺癌能提高疾病无进展率,改善患者生活质量^[4]。基础研究也发现,麦门冬汤加减方对肺腺癌细胞化疗具有增敏作用^[5]。本研究拟在前期研究的基础上,进一步开展动物体内实验,建立Lewis肺癌移植瘤小鼠模型,探讨麦门冬汤加减方联合顺铂给药后对模型小鼠的抑瘤作用,为进一步阐明其抑瘤机制及其临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

PB100高速组织匀浆机(美国Wheaton公司);Frontier 5000离心机(美国Ohaus公司);XSP-2C生物显微镜(上海光学仪器厂);IVIS小动物活体光学成像系统(美国Perkin Elmer公司)。

1.2 药品与试剂

麦门冬汤加减方汤剂(柳州市中医院制剂室,批号:0612051,规格:200 mL,每1 mL药液中含生药量为1.32 g);顺铂注射液(南京制药厂有限公司,批号:20070202,规格:20 mg/20 mL);Bcl-2、Bax多克隆山羊抗人抗体(美国Santa Cruz公司);二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)、小鼠抗地高辛单克隆抗体[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];小鼠抗 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(上海心语生物科技有限公司)。

1.3 动物

SPF级C57BL/6J小鼠60只,♀♂各半,鼠龄6周,体重18~20 g,购自南京斯科瑞生物科技有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2017-0003。购入后将小鼠饲养于温度为20~22℃、相对湿度为50%~70%、明暗各12 h交替的动物房中,饲养期间自由摄食和饮水。

1.4 细胞

Lewis肺癌细胞由南京大学医药生物技术国家重点实验室提供。

2 方法

2.1 麦门冬汤加减方的制备

分别称取人参15 g、生地黄15 g、海浮石30 g、麦冬15 g、百合30 g、白英30 g、瓜蒌皮15 g、玄参15 g、法半夏10 g、鳖甲30 g、牡蛎30 g、炙甘草6 g、炮山甲10 g和灵芝30 g,将以上诸药纳入煎药机中,水煎400 mL,即得。

2.2 Lewis肺癌移植瘤小鼠模型的建立

将Lewis肺癌细胞取出,水浴解冻,以含12%胎牛血清的DMEM培养液于温箱内对细胞进行培养,环境设置为37℃、5% CO₂。待细胞生长至对数期,且台盼蓝染色率(即活细胞率)高于95%时,选用胰蛋白酶消化并制备成细胞密度为 2×10^4 个/mL的细胞悬液,备用。小鼠常规喂养3 d后,腋下接种上述细胞悬液(0.2 mL/只),复制Lewis肺癌移植瘤小鼠模型,造模1周后可见明显移植瘤者表示造模成功^[6]。

2.3 分组与给药

将60只小鼠随机分为模型组、顺铂组、麦门冬汤加减方组和联合组,每组15只。其中,模型组小鼠灌胃等体积生理盐水;顺铂组小鼠腹腔注射6 mg/kg顺铂注射液,每周给药1次;麦门冬汤加减方组小鼠灌胃20 g/kg麦门冬汤加减方,每天给药1次;联合组小鼠腹腔注射6 mg/kg顺铂注射液(每周给药1次)+灌胃20 g/kg麦门冬汤加减方(每天给药1次)。所有小鼠均连续给药2周。给药剂量根据文献^[6]并结合前期预实验结果确定。

2.4 瘤质量及胸腺指数测定

给药期间,用小动物活体光学成像系统在给药第1、3、7、14天检测肿瘤成像大小并记录信号强弱,计算肿瘤体积^[5]。给药结束后,将小鼠过度麻醉处死(处死前再次使用活体成像技术记录瘤快大小),称定其体质量,切除瘤体及胸腺,分别称定其质量,根据以下公式计算胸腺指数:胸腺指数(g/10 g)=胸腺质量(g)/体质量(10 g)^[6]。

2.5 瘤体组织病理学观察

将瘤体样本浸泡于福尔马林内12 h,取出后冲洗,选用酒精脱水,二甲苯透明后,常规包埋并行4 μ m切片,苏木精染色5 min,伊红复染2 min,封片,选用显微镜进行镜检,观察瘤体组织病理学变化。

2.6 瘤体细胞凋亡指数检测

采用TUNEL法检测瘤体细胞凋亡指数。将瘤体样本切片后,置于染色缸内,二甲苯洗涤2次,随后依次用95%、75%乙醇各洗涤1次。将20 μ g/mL蛋白酶K滴入

磷酸盐缓冲液(PBS)内,并加入染色缸中,在室温下反应10 min,取出,PBS洗涤2次,然后置于载玻片上,吸弃多余液体,滴入2 mL末端脱氧核苷酸转移酶(TDT)缓冲液,室温下反应5 min,PBS洗涤2次,滴入2 mL小鼠抗地高辛单克隆抗体,室温下反应60 min,PBS洗涤2次,二氨基联苯胺(DAB)显色,甲基绿复染,封片镜检;随机选取10个视野,检测阳性染色(细胞核为棕黄色)平均光密度及阳性表达表面积,计算瘤体细胞凋亡指数:凋亡指数(%)=平均光密度×阳性表达表面积×100%。

2.7 瘤体组织中Bcl-2、Bax蛋白表达

采用Western blot法。将瘤体组织剪碎,PBS洗涤2次,4 500 r/min离心5 min,弃洗涤液,取出样本置于匀浆器内,按组织-蛋白裂解液(1 g:1 L)进行匀浆后,振荡10 min,随后进行95 °C金属浴灭活。然后以5 000 r/min离心10 min,取上清,BCA法进行蛋白定量,琼脂糖凝胶电泳并转移至聚偏二氟乙烯膜,5%脱脂奶粉封闭2 h,选用Bcl-2、Bax(1:50)和 β -actin(1:500)一抗,-4 °C冷藏过夜;TBST缓冲液溶液洗膜2次,每次3 min;加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(1:1 000),常温下孵化3 h,TBST洗膜2次,每次3 min,发光后选用凝胶成像系统,以目的蛋白条带灰度值与内参(β -actin)条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。

2.8 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠给药不同时间后肿瘤体积测定结果

给药第1天,各组小鼠肿瘤体积差异均无统计学意义($P > 0.05$)。随着给药时间的延长,各组小鼠的肿瘤体积均不断增加。在给药第3、7、14天,与模型组比较,各给药组小鼠肿瘤体积均显著减小($P < 0.05$),且联合组小鼠肿瘤体积显著小于麦门冬汤加减方组和顺铂组($P < 0.05$)。给药不同时间后各组小鼠肿瘤体积测定结果见表1。

表1 给药不同时间后各组小鼠肿瘤体积测定结果($\bar{x} \pm s, n = 15, \text{mm}^3$)

Tab 1 Results of tumor volume of mice in each group after different administrations ($\bar{x} \pm s, n = 15, \text{mm}^3$)

组别	给药第1天	给药第3天	给药第7天	给药第14天
模型组	13.29 ± 3.22	89.82 ± 12.20	220.02 ± 73.33	430.03 ± 102.11
麦门冬汤加减方组	12.83 ± 2.90	80.03 ± 11.28*	190.02 ± 68.29*	364.33 ± 110.05*
顺铂组	13.03 ± 2.83	74.44 ± 13.21**	160.06 ± 82.22**	310.02 ± 100.62**
联合组	13.10 ± 3.33	62.83 ± 12.21*** ^Δ	130.04 ± 78.81*** ^Δ	256.33 ± 104.49*** ^Δ

注:与模型组比较,* $P < 0.05$;与麦门冬汤加减方组比较,** $P < 0.05$;与顺铂组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. model group, * $P < 0.05$; vs. modified Maimendong decoction group, ** $P < 0.05$; vs. cisplatin group, ^Δ $P < 0.05$

3.2 瘤质量和胸腺指数测定结果

与模型组比较,各给药组小鼠的瘤质量均显著降低($P < 0.05$),胸腺指数均显著升高($P < 0.05$);且联合组小鼠瘤质量显著低于麦门冬汤加减方组和顺铂组($P < 0.05$),胸腺指数显著高于麦门冬汤加减方组和顺铂组($P < 0.05$)。各组小鼠瘤质量和胸腺指数测定结果见表2。

表2 各组小鼠瘤质量和胸腺指数测定结果($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Tab 2 Determination results of tumor weight and thymus index of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	瘤质量,g	胸腺指数,g/10 g
模型组	1.70 ± 0.12	0.001 0 ± 0.000 4
麦门冬汤加减方组	1.34 ± 0.10*	0.001 3 ± 0.000 5*
顺铂组	1.02 ± 0.14**	0.001 5 ± 0.000 4**
联合组	0.86 ± 0.11*** ^Δ	0.001 9 ± 0.000 4*** ^Δ

注:与模型组比较,* $P < 0.05$;与麦门冬汤加减方组比较,** $P < 0.05$;与顺铂组比较,^Δ $P < 0.05$

Note: vs. model group, * $P < 0.05$; vs. modified Maimendong decoction group, ** $P < 0.05$; vs. cisplatin group, ^Δ $P < 0.05$

3.3 瘤体病理组织学观察结果

模型组小鼠瘤体组织中肿瘤细胞分布密集,细胞核较大、染色深,多呈点状坏死;各给药组小鼠瘤体组织中肿瘤细胞密度均有所降低,坏死区域均增多,且其中联合组坏死区面积明显大于麦门冬汤加减方组和顺铂组,坏死区面积呈大片状。各组小鼠瘤体组织病理学观察结果见图1。

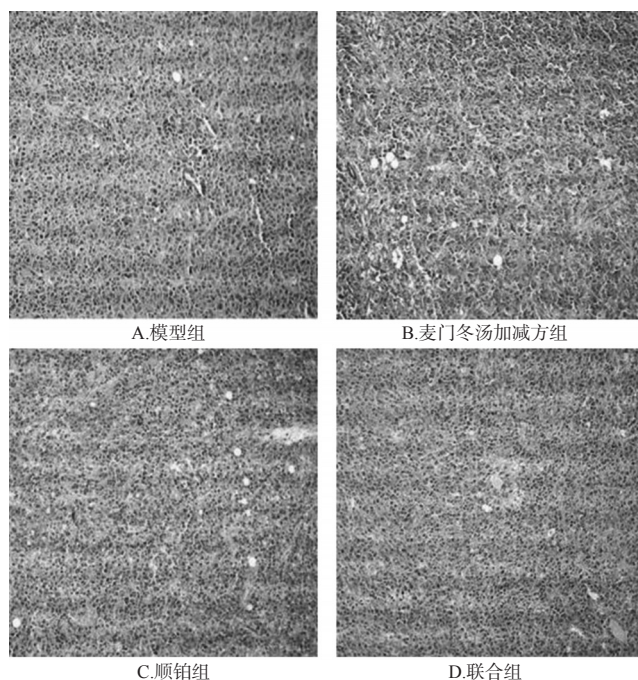


图1 各组小鼠瘤体组织病理学观察结果(HE染色,×100)

Fig 1 Histopathological observation of tumor tissue of mice in each group(HE staining, ×100)

3.4 瘤体细胞凋亡指数测定结果

与模型组比较,各给药组小鼠瘤体细胞凋亡指数均显著升高($P<0.05$),且联合组小鼠瘤体细胞凋亡指数显著高于麦门冬汤组和顺铂组($P<0.05$)。各组小鼠瘤体细胞凋亡指数测定结果见表3。

表3 各组小鼠瘤体细胞凋亡指数测定结果($\bar{x} \pm s, n=15$)

Tab 3 Determination results of apoptotic index of tumor cells of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	细胞凋亡指数, %
模型组	8.29 ± 2.11
麦门冬汤加减方组	13.39 ± 3.84*
顺铂组	20.82 ± 5.19**
联合组	33.28 ± 6.33***

注:与模型组比较, * $P<0.05$;与麦门冬汤加减方组比较, # $P<0.05$;与顺铂组比较, $\Delta P<0.05$

Note: vs. model group, * $P<0.05$; vs. modified Maimendong decoction group, # $P<0.05$; vs. cisplatin group, $\Delta P<0.05$

3.5 瘤体组织中 Bcl-2、Bax 蛋白表达测定结果

与模型组比较,各给药组小鼠瘤体组织中 Bcl-2 蛋白表达量均显著降低($P<0.05$), Bax 蛋白表达量均显著升高($P<0.05$);与麦门冬汤加减方组或顺铂组比较,联合组小鼠瘤体组织中 Bcl-2 蛋白表达量进一步降低($P<0.05$), Bax 蛋白相对表达量进一步升高($P<0.05$)。各组小鼠瘤体组织中 Bcl-2、Bax 蛋白表达电泳图见图2,测定结果见表4。

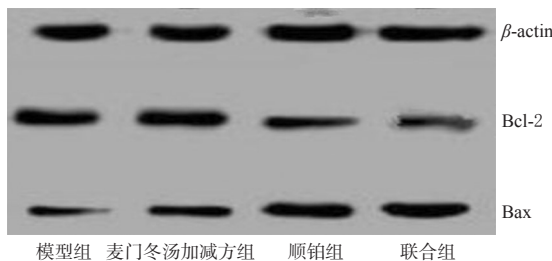


图2 各组小鼠瘤体组织中 Bcl-2、Bax 蛋白表达电泳图
Fig 2 Electropherogram of protein expressions of Bcl-2 and Bax in tumor tissue of mice in each group

表4 各组小鼠瘤体组织中 Bcl-2、Bax 蛋白表达测定结果($\bar{x} \pm s, n=15$)

Tab 4 Determination results of protein expressions of Bcl-2 and Bax in tumor tissue of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	灰度值	
	Bcl-2/ β -actin	Bax/ β -actin
模型组	1.022 ± 0.132	0.354 ± 0.100
麦门冬汤加减方组	0.767 ± 0.104*	0.404 ± 0.102*
顺铂组	0.565 ± 0.113**	0.686 ± 0.104**
联合组	0.304 ± 0.103***	0.843 ± 0.107***

注:与模型组比较, * $P<0.05$;与麦门冬汤加减方组比较, # $P<0.05$;与顺铂组比较, $\Delta P<0.05$

Note: vs. model group, * $P<0.05$; vs. modified Maimendong decoction group, # $P<0.05$; vs. cisplatin group, $\Delta P<0.05$

4 讨论

中医将肺癌归属于“肺痞”“胸痛”等范畴,其病因与正气亏虚、血瘀痰凝、邪毒入肺以及烟毒内蕴等有关^[7]。本院在挖掘中医经典古籍基础上,结合肿瘤临床治疗的经验,拟合了麦门冬汤加减方。其中最典型的对药是麦冬与半夏,麦冬滋阴润肺兼清虚火,半夏燥湿化痰兼以散结,两药合用,麦冬使半夏不燥,半夏使麦冬不腻,共奏清肺降逆、活血化痰之功^[8-9],体现了在“燥湿相混致癌论”指导下的燥湿化痰而不伤阴、滋阴清热而不助痰治法在肺癌治疗上的具体应用。在本研究中,给予麦门冬汤加减方后模型组小鼠瘤质量明显低于模型组,表明麦门冬汤加减方具有明显的抑瘤作用,但是其作用不及联用组。

Bcl-2 是分子量为 26 kD, 含 2 个内含子、3 个外显子的线粒体膜蛋白,其对多种因素诱导的细胞凋亡具有抑制效应^[10-11]。Bcl-2 可抑制细胞色素 C (Human cytochrome-C, Cyt-C) 表达,促使 Cyt-C 活性下降从而无法激活下游含胱天蛋白酶 (Caspase), 阻滞 Caspase 的蛋白质切割能力,以此来减少细胞的凋亡^[12]。Bax 是分子量为 21.4 kD 的促凋亡蛋白^[13-14], 同属于 Bcl-2 家族,其可与 Bcl-2 相互作用形成异二聚体,并以此抑制 Bcl-2 功能^[15]。在本研究中,联合组小鼠瘤体组织中 Bcl-2 蛋白表达量明显低于麦门冬汤加减方组和顺铂组;与此同时,联合组小鼠瘤体组织中 Bax 蛋白表达量明显高于麦门冬汤加减方组和顺铂组。该结果提示,麦门冬汤加减方联合顺铂可在一定程度上促进模型小鼠癌细胞凋亡,从而获得较好的抑瘤效果。并且 HE 染色结果也显示,给药后模型小鼠瘤体组织中瘤细胞密度有所降低,坏死区域增大,其中联合组小鼠坏死区面积明显大于麦门冬汤加减方组和顺铂组,这表明麦门冬汤加减方联合顺铂给药可有效促进小鼠癌细胞凋亡,抑制小鼠癌细胞增殖。

综上所述,麦门冬汤加减方联合顺铂能明显抑制小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的生长,相关作用可能与下调瘤体组织中 Bcl-2 蛋白表达和上调瘤体组织中 Bax 蛋白表达有关,但其更具体的作用机制有待进一步阐明。

参考文献

- [1] 符宝春,王涛,于新洲.利多卡因硬膜外阻滞复合全麻对肺癌患者术后相关指标的影响[J].中国药房,2017,28(12):1626-1629.
- [2] KE L, GU X, JING L, et al. Inhibition of disheveled-2 re-sensitizes cisplatin-resistant lung cancer cells through down-regulating Wnt/ β -catenin signaling[J]. ECR, 2016, 347(1): 105-113.
- [3] 王红燕,沙参麦门冬汤治疗老年多重耐药性呼吸相关性肺炎临床研究[J].中医学报,2017,32(8):1403-1406.
- [4] 杨琴琴,王三虎,冯献斌,等.润肺散结汤治疗气阴两虚痰浊泛肺型晚期肺鳞癌临床研究[J].河南中医,2010,30(7):661-663.

补肾祛瘀颗粒的质量标准研究[△]

卢婉妃^{1*}, 顾超群², 马佳丽², 袁强^{2#}(1.钦州市中医医院临床药学科, 广西钦州 535000; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

中图分类号 R286 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1230-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.16

摘要 目的:建立补肾祛瘀颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对补肾祛瘀颗粒中的金樱子、菟丝子、制何首乌、紫草进行定性鉴别;采用紫外分光光度法测定补肾祛瘀颗粒中总多糖的含量;采用高效液相色谱(HPLC)法对补肾祛瘀颗粒中芦丁、槲皮素、金丝桃苷进行含量测定,色谱柱为BDS C₁₈,流动相为乙腈-0.08%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为1 mL/min,柱温为30 ℃,检测波长为370 nm,进样量为10 μL。结果:4种药材的TLC供试品色谱与对照品或对照药材在相应位置上呈现相同斑点或荧光。葡萄糖、芦丁、槲皮素、金丝桃苷的检测质量浓度线性范围分别为0.003~0.018 mg/mL、0.225~7.20 μg/mL、0.07~2.24 μg/mL、1.25~39.88 μg/mL($r=0.999\ 5$ 或 $0.999\ 9$, $n=6$),精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 3.80\%$ ($n=6$),平均回收率分别为102.2%、101.2%、100.9%、101.0% (RSD=1.28%、2.93%、2.41%、1.59%, $n=6$),平均含量分别为0.46 g/g、5.48 μg/g、8.18 μg/g、102.88 μg/g ($n=3$)。结论:本研究建立的补肾祛瘀颗粒的质量标准准确可靠,可为补肾祛瘀颗粒的质量控制提供科学依据。

关键词 补肾祛瘀颗粒;质量标准;薄层色谱法;紫外分光光度法;多糖;高效液相色谱法;芦丁;槲皮素;金丝桃苷

Study on Quality Standard of Bushen Quyu Granules

LU Wanfei¹, GU Chaoqun², MA Jiali², YUAN Qiang²(1.Dept. of Clinical Pharmacy, Qinzhou Municipal Hospital of TCM, Guangxi Qinzhou 535000, China; 2.College of Pharmacy, Zhejiang University of TCM, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Bushen quyu granules. METHODS: TLC was used for qualitative identification of *Rosa laevigata*, *Cuscuta chinensis*, processed *Fallopia multiflora* and *Lithospermum erythrorhizon* in

- [5] 方芳,谢伶俐,宁雪坚,等.麦门冬汤加减联合顺铂对A549细胞化疗增敏的作用机制[J].中国实验方剂学杂志, 2019,25(4):49-56.
- [6] 王美江,齐琳.外周血干细胞输注对肺腺癌免疫行为的影响[J].中国组织工程研究,2017,21(9):1402-1407.
- [7] 丁瑞麟,谢芳,胡月,等.载内皮抑素壳聚糖纳米粒联合顺铂对小鼠Lewis肺癌移植瘤的治疗作用[J].第三军医大学学报,2017,39(2):116-122.
- [8] 缪苗苗,张艳霞,吴勇杰,等.蛇葡萄素钠协同卡铂对肺癌Lewis细胞增殖的抑制作用[J].中国药房,2015,26(19):2664-2666.
- [9] 康荻,李彧,朱曼,等.肺痿论治干预肺纤维化大鼠肺功能的实验研究[J].世界中医药,2017,12(2):390-393.
- [10] 刘珺,吴晨雯,熊绍军.经方麦门冬汤预防放射性肺损伤及其对血浆TGF-β1的影响[J].实用癌症杂志,2016,31(12):1947-1950.
- [11] LI Y, QI K, ZU L, et al. Anti-apoptotic brain and reproductive organ-expressed proteins enhance cisplatin resistance in lung cancer cells via the protein kinase B signaling pathway[J]. *Thoracic Cancer*, 2016, 7(2): 190-198.
- [12] 王布,张志华,顾鑫,等.川芎嗪注射液联合顺铂注射剂对Lewis肺癌小鼠移植瘤生长及血管生成的抑制作用[J].中国临床药理学杂志,2016,32(22):2085-2088.
- [13] PAN J, WU X, WANG X, et al. NEAT1 upregulates EGCG-induced CTR1 to enhance cisplatin sensitivity in lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28): 43337-43351.
- [14] 师林,柯斌,黄圆圆,等.加味龟鹿二仙胶汤联合顺铂对小鼠Lewis肺癌PI3K/AKT/mTOR通路的影响[J].中成药, 2017, 39(10): 2148-2152.
- [15] 邓日强,程江涛,张宏华,等.蚤休薯蓣皂苷联合顺铂抑制小鼠移植瘤生长及转移[J].中南医学科学杂志,2016,44(5):504-509.
- [16] 李珍,叶志华,冯娟娟.痰热清注射液辅助化疗对小鼠Lewis肺癌的抑瘤效果及其作用机制[J].山东医药, 2016, 56(20): 25-28.

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81873049);浙江省中药现代化项目计划(No.浙经信医化[2010]421号)

* 主管药师, 硕士。研究方向:医院药学、临床药学。电话:0777-3788267。E-mail: Luwf1986@163.com

通信作者:教授, 博士。研究方向:中药药效物质基础及创新药物。电话:0571-86613778。E-mail: Yuanqiang0825@sina.com

(收稿日期:2018-12-28 修回日期:2019-02-24)

(编辑:林 静)