

双金散结颗粒治疗乳腺增生的药效及物质基础

毕于聪^{1,2}, 史渊源¹, 张林^{1,2}, 范春兰¹, 李佳林¹, 任冬玲¹, 徐砚通¹, 王春国¹, 王婷^{1,2*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 国家中医药管理局 名医名方重点实验室, 北京 100029)

[摘要] 目的: 利用乳腺增生SD大鼠模型及超高效液相色谱-高分辨质谱联用(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS)技术探讨双金散结颗粒治疗乳腺增生的药效及物质基础。方法: 将乳腺增生SD大鼠模型动物分组给药, 测量乳头高度及直径, 检测血清中雌二醇(E₂), 孕酮(P)及催乳素(PRL)含量, 病理学检测乳腺组织增生情况, 免疫组化检测雌激素受体α(ERα), 雄激素受体(AR), 孕酮受体(PR), 肿瘤坏死因子-α(TNF-α)等蛋白表达, 最后用UHPLC-LTQ-Orbitrap MS技术检测双金散结颗粒主要化学成分, 与药效结合分析药效物质基础。结果: 动物实验结果显示, 与正常组比较, 模型组乳头高度增加, 直径增宽(P<0.01); 血清E₂显著升高(P<0.01); 病理学检测表明乳腺组织异常增生; ERα, AR, PR, TNF-α蛋白表达增加(P<0.01); 与模型组比较, 双金散结颗粒组乳头高度降低, 直径减小(P<0.01); 血清E₂显著下降(P<0.01); 病理学检测表明乳腺组织异常增生减弱; ERα, AR, PR, TNF-α蛋白表达显著降低(P<0.01)。物质基础研究结果显示, 从双金散结颗粒中共鉴定出85个化学成分, 其中16种化学成分为生物碱类化合物, 7种成分为黄酮类化合物, 15种为萜类化合物, 9种为酚酸类化合物, 3种香豆素类化合物, 10种酯类及内酯类化合物, 7种脂肪酸类化合物, 4种氨基酸类化合物和14种其他类成分, 其中生物碱类及萜类成分可能与药效作用密切相关。结论: 双金散结颗粒可有效改善乳腺增生病变情况, 其药效物质基础可能是柴胡皂苷a, d; 贝母素甲、乙等成分。

[关键词] 双金散结颗粒; 乳腺增生; 药效; 物质基础

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)13-0111-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201328

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200418.2109.002.html>

[网络出版日期] 2020-4-20 9:45

Efficacy and Material Basis of Shuangjin Sanjie Granules in Treatment on Hyperplasia of Mammary Gland

BI Yu-cong^{1,2}, SHI Yuan-yuan¹, ZHANG Lin^{1,2}, FAN Chun-lan¹, LI Jia-lin¹, REN Dong-ling¹,
XU Yan-tong¹, WANG Chun-guo¹, WANG Ting^{1,2*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Key Laboratory of Famous Doctors and Famous Prescriptions Under State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** The SD rat model of hyperplasia of mammary gland(HMG) and the ultrahigh-performance liquid chromatography and mass spectrometry (UHPLC-LTQ-Orbitrap MS) technology were used to explore the pharmacological material basis of Shuangjin Sanjie granules (SJSJG) for the treatment on HMG.

Method: SD rat models of HMG were administered in groups, and the nipple height and the diameter were measured; the levels of estradiol (E₂), progesterone (P) and prolactin (PRL) in serum were detected, pathological examination was conducted for the hyperplasia of breast tissue. Histochemical methods were used to detect the expressions of estrogen receptor α (ERα), androgen receptor (AR), progesterone receptor (PR),

[收稿日期] 20200103(011)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301011)

[第一作者] 毕于聪, 在读硕士, 从事中药新药研发研究, E-mail: byc1206@163.com

[通信作者] * 王婷, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药新药研发研究, E-mail: wangting1973@sina.com

tumor necrosis factor- α (TNF- α) proteins. Finally, UHPLC-LTQ-Orbitrap MS technology was used to detect the main chemical constituents of SJSJG, and the pharmacodynamic substance basis was analyzed based on the pharmacological effect. **Result:** The results of animal experiments showed that compared with the normal group, nipple height and diameter of the model group increased remarkably ($P < 0.01$), serum E_2 significantly increased ($P < 0.01$). Pathological examination showed abnormal hyperplasia of breast tissue, expressions of $ER\alpha$, AR, PR and TNF- α increased, compared with the model group, the nipple height and diameter of the SJSJG group decreased remarkably ($P < 0.01$), serum E_2 was decreased significantly ($P < 0.01$), pathological examination showed weakened abnormal hyperplasia of breast tissue, $ER\alpha$, AR, PR and TNF- α protein expressions were significant decreased ($P < 0.01$). The results of basic material study showed that 85 chemical components were identified from SJSJG, including 16 alkaloids, 7 flavonoids, 15 terpenes, 9 phenolic acid compounds, 3 coumarin compounds, 10 esters and lactone compounds, 7 fatty acids compounds, 4 amino acids compounds, and 14 other types of ingredients, among them, alkaloids and terpenoids chemical drug substances were closely related. **Conclusion:** SJSJG can effectively improve the condition of breast hyperplasia, and its medicinal substance basis may include saikosaponin A, Saikosaponin D, verticinone, peimine.

[Key words] Shuangjin Sanjie granules; hyperplasia of mammary gland; pesticide effect; substance basis

乳腺增生(HMG)是指乳腺导管和小叶的病变,高发于中年女性^[1]。研究表明,乳腺增生好发于25~45岁女性,其发病率占乳腺疾病的首位^[2],中国育龄妇女中乳腺增生的发生率为15.00%~22.41%^[3],严重影响了患者的正常生活。目前,现代医学治疗乳腺增生主要以内分泌治疗为主^[4],因为激素受体的多样性分布靶点,患者容易出现月经紊乱、白带增多、烦躁不安等不良反应^[5],而局部手术常因容易复发,不被大多数人接受^[6]。因此,乳腺增生的治疗需要补充和替代疗法。中药对复杂疾病具有独特的治疗优势,现代临床研究表明,中药复方通过全程调节,具有多环节,多途径,多靶点协同作用,在治疗乳腺增生中有着独特优势^[7]。

双金散结颗粒(SJSJG)处方由北柴胡、郁金、炒白芍、鸡内金、当归、浙贝母、蒲公英、路路通、莪术、荔枝核、橘核、瓜蒌12味中药组成,来源于全国名老中医秦月好主任医师的临床经验方^[8],所含化学成分复杂,对其化学成分的分析 and 阐释能够为SJSJG的药效物质基础研究、新药开发、质量控制等提供数据参考,但目前此部分研究仍属空白,严重阻碍了SJSJG的进一步开发利用。本研究通过对乳腺增生模型动物给予SJSJG治疗后,考察乳头高度及直径、血清激素水平、乳腺组织病理检测、雌激素受体 α ($ER\alpha$),雄激素受体(AR),孕酮受体(PR),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)蛋白表达等各项指标,对双金颗粒开展药效学评价,并采用超高效液相色谱-高分辨质谱联用(UHPLC-LTQ-Orbitrap MS)技术对其物

质基础进行研究。

1 材料

1.1 药材 处方组成:北柴胡、郁金、炒白芍、鸡内金、当归、莪术、荔枝核、橘核、浙贝母、蒲公英、路路通、瓜蒌(北京本草方源药业集团有限公司,批号分别为20180715, 20180612, 20190103, 20180922, 20180914, 201806023, 20180927, 20180818, 20180827, 20180711, 20180911, 20180616),饮片经北京中医药大学中药学院李向日教授鉴定均为正品。

1.2 试剂 兽用苯甲酸雌二醇注射液($1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,江西博莱大药厂有限公司,批号20180802);黄体酮注射液(赤峰博恩药业有限公司,批号20181002, $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$);戊巴比妥钠(上海荣柏生物技术有限公司,批号201806);苏木素-伊红(HE)染色液(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,批号20180426);孕酮(P),雌二醇(E_2),泌乳素(PRL)放射免疫试剂盒(北京福瑞润泽生物技术有限公司,批号均为20190120); $ER\alpha$, AR, PR, TNF- α 抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为GR3254733-3, AF07127349, AI07319504, AF08012667);DAB显色试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,批号20180426);柴胡皂苷a, 柴胡皂苷d, 贝母素甲, 贝母素乙(中国食品药品检定研究院,批号分别为110777, 110778, 110750, 110751);甲醇、甲酸、乙腈(质谱纯,美国Fisher公司);水为自制超纯水,其他化学试剂和溶剂均为分析纯。

1.3 仪器 EG1150C型石蜡包埋机, RM2245型轮转式切片机(德国Leica公司); Centrifuge 5430型小型高速离心机(德国Eppendorf公司); Dionex Ultimate 3000型超高效液相色谱-高分辨质谱联用系统(美国Thermo Scientific公司); 奥林巴斯BX53型正置病理显微成像系统(北京东方奥舟科技发展有限公司)。

1.4 动物 SPF级雌性未孕SD大鼠, 8周龄, 体重180~220 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号SCXK(京)2016-0006, 均饲养于北京中医药大学研究院屏障环境动物室, 实验期间动物无束缚, 自由饮水、取食, 室温22~25 °C, 湿度为45%~75%, 光照周期明暗均为12 h, 通风正常。由北京中医药大学实验动物伦理委员会审查通过, 编号为BUCM-4-2018111502-4026。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 以药材饮片为原料, 加入10倍量水, 加热冷凝回流提取1 h, 共2次。将提取液过滤, 减压干燥, 最终得干膏, 出膏率23%。干膏粉碎成细粉, 密封置于4 °C冰箱中保存, 备用。

将大鼠按照体质量随机分为正常组, 模型组, SJSJG组(生药11.14 g·kg⁻¹·d⁻¹), 每组各8只。参照经典乳腺增生造模方法^[9], 模型组, SJSJG组肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液0.5 mg·kg⁻¹, 每日1次, 连续25 d后, 肌肉注射黄体酮注射液4 mg·kg⁻¹, 每日1次, 连续5 d。本实验选择以乳腺腺泡增生为造模成功的主要评判依据^[10], 乳腺增生模型成功后, 持续灌胃给药28 d。经本课题组前期对其使用剂量进行探索研究, 确定SJSJG组剂量为药效学起效剂量, 与临床常用药乳癖消药效相当。

2.2 药效学研究

2.2.1 大鼠乳头高度及直径测量 给药结束后, 测量大鼠第二对乳头高度和直径。

2.2.2 血清激素水平测定 末次给药后禁食12 h, 各组动物用1%戊巴比妥钠溶液(30 mg·kg⁻¹)进行腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 以3 000 r·min⁻¹离心15 min, 分离出血清, 用放射免疫法测定血清中P、E₂、PRL含量。

2.2.3 乳腺组织病理学检测 大鼠取血后处死, 取下右侧第2对乳头及周围乳腺组织样本, 置于4%多聚甲醛中固定组织标本, 再经过选块、脱水, 包埋制成蜡块, 后切成3 μm切片, 最后采用HE染色, 封片, 进而在显微镜下观察动物乳腺组织病理切片。

2.2.4 免疫组化测定大鼠乳腺组织蛋白表达 大

鼠处死之后, 取下胸部第2对右侧乳头及周围乳腺组织样本, 置于4%多聚甲醛中固定组织标本。使用二甲苯以及梯度浓度乙醇脱蜡, 蒸馏水浸泡。再使用高压锅进行抗原热修复后使用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次。每张切片加1滴正常非免疫血清, 37 °C孵育30 min, 滴加一抗(AR 1:400, PR 1:400, TNF-α 1:400, ERα 1:100), 4 °C孵育过夜。使用PBS洗涤3次, 每张切片加1滴二抗(与一抗相对应的生物素标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(1:25)), 37 °C孵育40 min。使用PBS浸泡洗涤3次, 每张切片滴加1滴辣根过氧化酶标记的链亲和素溶液(1:200), 置于37 °C孵育40~50 min。最后使用PBS洗涤3次, 在每张切片上滴加2滴新配制的DAB工作液, 显微镜下观察随时终止反应。最后使用蒸馏水浸泡5 min, 苏木素(1:25)复染10 min, 蒸馏水浸泡5 min, 晾干, 中性树胶封固。每个样本选取具有代表性的乳腺腺泡及腺管3个视野, 使用软件Image Pro Plus 6.0测量图像免疫组化反应物的黄色区域积分吸光度。

2.2.5 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行统计分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较是否齐性, 事后分析采用Dunnett's Multiple Comparison Test方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.3 物质基础研究

2.3.1 色谱条件 AQUITY UPLC C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈溶液(B), 梯度洗脱(0~2 min, 5%B; 2~20 min, 5%~50%B; 20~30 min, 50%~85%B; 30~30.1 min, 85%~5%B; 30.1~35 min, 5%B); 流速0.3 mL·min⁻¹; 进样量2 μL; 柱温35 °C。

2.3.2 质谱条件 正离子的检出模式, 加热电喷雾离子源(H-ESI), 离子源温度350 °C, 电离源电压3 kV, 毛细管电压35 V, 管透镜电压110 V; 鞘气和辅助气为99.99%的高纯氮气, 流速分别为30, 10 arb。负离子的检出模式, H-ESI离子源, 离子源温度350 °C, 电离源电压3 kV, 毛细管电压35 V, 管透镜电压110 V; 鞘气和辅助气99.99%的高纯氮气, 其流速分别为40, 20 arb。使用傅里叶变换高分辨全扫方式采集正离子以及负离子数据。

2.3.3 SJSJG样品溶液的制备 取粉碎至中粉的SJSJG干膏粉0.5 g, 精密称定, 置于100 mL圆底烧

瓶中,加甲醇50 mL,超声处理30 min,放冷,摇匀,取过0.22 μm微孔滤膜续滤液,置液相小瓶中作为供试品溶液备用。

2.3.4 对照品溶液的制备 分别取柴胡皂苷a,柴胡皂苷d,贝母素甲,贝母素乙4个对照品适量,称定,加甲醇制成质量浓度0.10 g·L⁻¹的溶液,置液相

小瓶中作为对照品溶液备用。

3 结果

3.1 SJSJG对大鼠乳头高度和直径的影响 与正常组比较,模型组第2对乳头测量数据高度增加,直径增宽($P<0.01$);与模型组比较,SJSJG组第2对乳头高度及直径均减小($P<0.01$)。见表1。

表1 SJSJG对乳腺增生大鼠乳头高度和直径的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	乳头高度		乳头直径	
		左侧	右侧	左侧	右侧
正常	-	1.44±0.04	1.43±0.03	1.16±0.02	1.18±0.02
模型	-	1.68±0.05 ¹⁾	1.67±0.06 ¹⁾	1.52±0.03 ¹⁾	1.52±0.02 ¹⁾
SJSJG	11.14	1.55±0.02 ²⁾	1.55±0.01 ²⁾	1.44±0.02 ²⁾	1.45±0.02 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$ (表2同)。

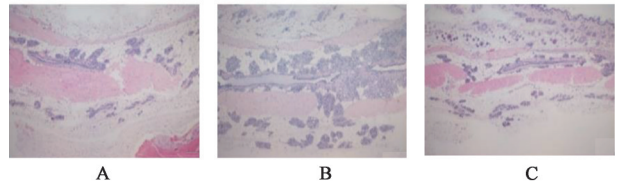
3.2 SJSJG对大鼠血清激素水平的影响 与正常组比较,模型组E₂水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,SJSJG组E₂水平显著降低($P<0.01$)。各组P和PRL水平差异无统计学意义。见表2。

表2 SJSJG对乳腺增生大鼠血清激素的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	E ₂ /ng·L ⁻¹	P/μg·L ⁻¹	PRL/mU·L ⁻¹
正常	-	5.26±2.24	7.36±5.50	148.08±34.23
模型	-	10.05±2.19 ¹⁾	4.37±4.20	179.78±17.52
SJSJG	11.14	5.68±1.79 ²⁾	2.54±3.10	171.51±25.56

3.3 SJSJG对大鼠乳房组织病理学的影响 正常组乳腺组织中没有明显的异常增生,模型组的乳腺组织为轻微至中度增生,主要表现为轻微至轻度的乳腺腺泡增生,轻微至中度的腺泡腔扩张和腺泡分泌,乳腺导管内可见分泌液;与模型组比较,SJSJG

组乳腺组织增生情况明显改善,具体表现为乳腺小叶数量减少,腺腔内分泌物减少及腺泡直径及数量。见图1。



A. 正常组;B. 模型组;C. SJSJG组(图2同)

图1 SJSJG对乳腺增生大鼠乳腺组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of SJSJG on pathology in SD rats with HMG (HE, ×200)

3.4 SJSJG对大鼠乳腺蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组中ERα, AR, PR, TNF-α表达明显显著增加($P<0.01$)。与模型组比较,SJSJG组乳腺组织中ERα, AR, PR和TNF-α表达明显降低($P<0.05, P<0.01$)。见表3,图2。

表3 SJSJG对乳腺增生大鼠乳腺组织中蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ERα	AR	PR	TNF-α
正常	-	22 721.59±31 991.18	4 065.48±2 446.31	13 912.95±2 983.11	4 362.92±1 439.73
模型	-	90 088.96±4 152.75 ¹⁾	34 839.43±5 943.58 ¹⁾	102 355.34±26 150.06 ¹⁾	23 848.37±44 406.99 ¹⁾
SJSJG	11.14	50 496.36±2 125.19 ²⁾	18 560.35±3 135.46 ³⁾	49 832.61±12 086.30 ³⁾	15 108.30±8 788.93 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ 。

3.5 SJSJG物质成分检测 按照2.3方法分析SJSJG,得到其总离子流图(图3)。共鉴定了85个成分,其中正负离子分别检测到35,50种化学成分。所鉴定得到的85个化学成分,包含16种生物碱类化合物,7种黄酮类化合物,15种萜类化合物,9种酚

酸类化合物,3种香豆素类化合物,10种酯类及内酯类化合物,7种脂肪酸类化合物,4种氨基酸类化合物和14种其他类成分。

3.6 对照品的裂解规律 与4种对照品裂解规律比对发现,在SJSJG供试品溶液的正离子模式下检

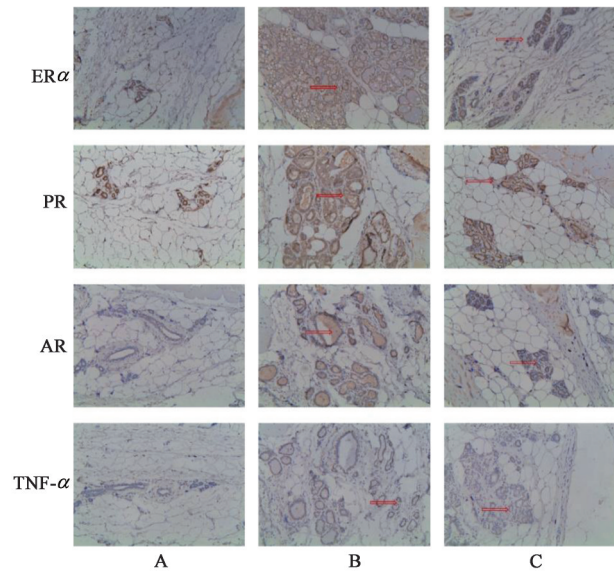
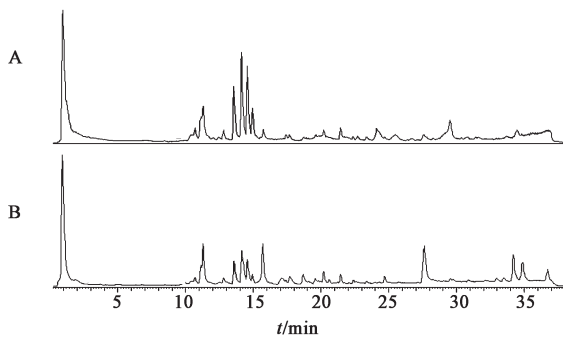


图2 SJSJG对乳腺增生大鼠乳腺组织中相关蛋白表达的影响(IHC, ×200)

Fig. 2 Effect of SJSJG on protein expressions in breast tissue of SD rat with HMG(IHC, ×200)



A. 正离子模式; B. 负离子模式

图3 LTQ-Orbitrap MS对SJSJG主要化学成分的鉴定

Fig. 3 Identification of main chemical components of SJSJG by LTQ-orbitrap MS

测出贝母素甲和贝母素乙(如图4A, B),在负离子模式下检测出柴胡皂苷a, 柴胡皂苷d(如图4C, D),推测贝母素甲和贝母素乙均来自于浙贝母, 柴胡皂苷a, 柴胡皂苷d均来自于北柴胡。

3.7 SJSJG药效物质基础分析 研究表明柴胡饮片中主要含有皂苷类(如柴胡皂苷a, d等), 挥发油, 黄酮类及多糖等化学成分^[11], 其中皂苷类成分具有显著的抗炎作用^[12], 对炎性渗出, 毛细血管通透性升高及炎症介质释放均有抑制作用^[13]。浙贝母主要有效成分为生物碱类和皂苷类成分, 其中贝母素甲和贝母素乙的为其生物碱类成分的代表^[14]。研究表明贝母素甲具有镇痛及抗炎作用^[15], 此外贝母素甲可通过降低4T1乳腺癌细胞中转化生长因子-β(TGF-β)和血管内皮生长因子(VEGF)的信使RNA

相对表达量达到对细胞炎性微环境的调节作用^[16], 贝母素甲可以通过抑制TNF-α, 白细胞介素(IL)-6, IL-8的表达, 达到降低人类肥大细胞(HMC-1)过敏性炎症反应的效果^[17]。同时动物实验结果显示SJSJG可以降低乳腺增生组织中TNF-α的表达量以达到降低炎症反应的效果, 说明SJSJG可能通过以上有效成分调节体内炎症反应以达到治疗乳腺增生的作用。由此可见, SJSJG发挥乳腺增生治疗作用的物质基础主要与生物碱类及萜类等成分密切相关。

4 讨论

SJSJG来源于全国名老中医秦月好主任医师的临床经验方, 以“疏肝理气、活血通络、化痰散结”治疗原则, 针对肝郁气滞、痰瘀互结型乳腺增生有良好的治疗效果^[18]。方中北柴胡苦、辛、微寒, 归肝、胆经, 其性轻清辛散, 善于条达肝气、疏利胆腑;《本草经解》言其“轻清升达胆气, 胆气条达, 则十一藏从之宣化……凡有结气, 皆能散之。”白芍味苦酸、性微寒, 炒制去其酸敛之性, 取其养血柔肝止痛之功; 二者配伍同用, 行气、活血、消痰并施, 共为君药。当归味甘辛、性温, 补血行血, 补中有动、行中有补, 为血中之气药。北柴胡、当归同用, 血和则肝和, 血充则肝柔, 补肝体而助肝用, 体现逍遥散之意。郁金辛苦微寒, 主归肝、胆、心经, 其性能行能散, 与柴胡同入气分、血分, 善活血止痛、行气解郁、清气化痰, 长于治疗气血瘀滞之痛证; 临床有柴胡郁金汤方, 用治恼怒忧郁伤肝, 肝胃同病, 本方亦取其意。浙贝母味苦、性寒, 《本草备要》中记载: 最降痰气, 散开郁结, 止结痛, 消胀满, 清肝火; 本方用其达到清热化痰、散结消痞的效果。瓜蒌味甘微苦、性寒, 利气开郁、清热散结消肿, 能导痰浊下行而奏宽胸散结之效, 助柴胡、郁金以增理气消痰之功。上4味共为臣药。再入橘核仁、荔枝核行气散结止痛, 专治乳房结块; 蒲公英消肿散结、疏郁散痞; 鸡内金宽中健脾、散结消积; 莪术消癥化积、行气止痛; 路路通“通十二经”, 梳理肝经而通络, 上6味共为佐使药。方中莪术、郁金治疗瘀血共奏奇效, 另有郁金与鸡内金, 二者合用, 一通一补, 纵观全方药性平和, 虽为为攻邪而立, 但组方用药平和精巧, 无过寒过热之虞, 兼顾了临床的安全性与有效性。

本研究参考经典的造模方法, 模拟育龄期妇女发病的实际情况, 并结合临床具体情况, 紧密围绕乳腺增生的病因病机, 进行药效学实验。先后观察了SJSJG对乳腺增生大鼠血清激素、乳头直径以及

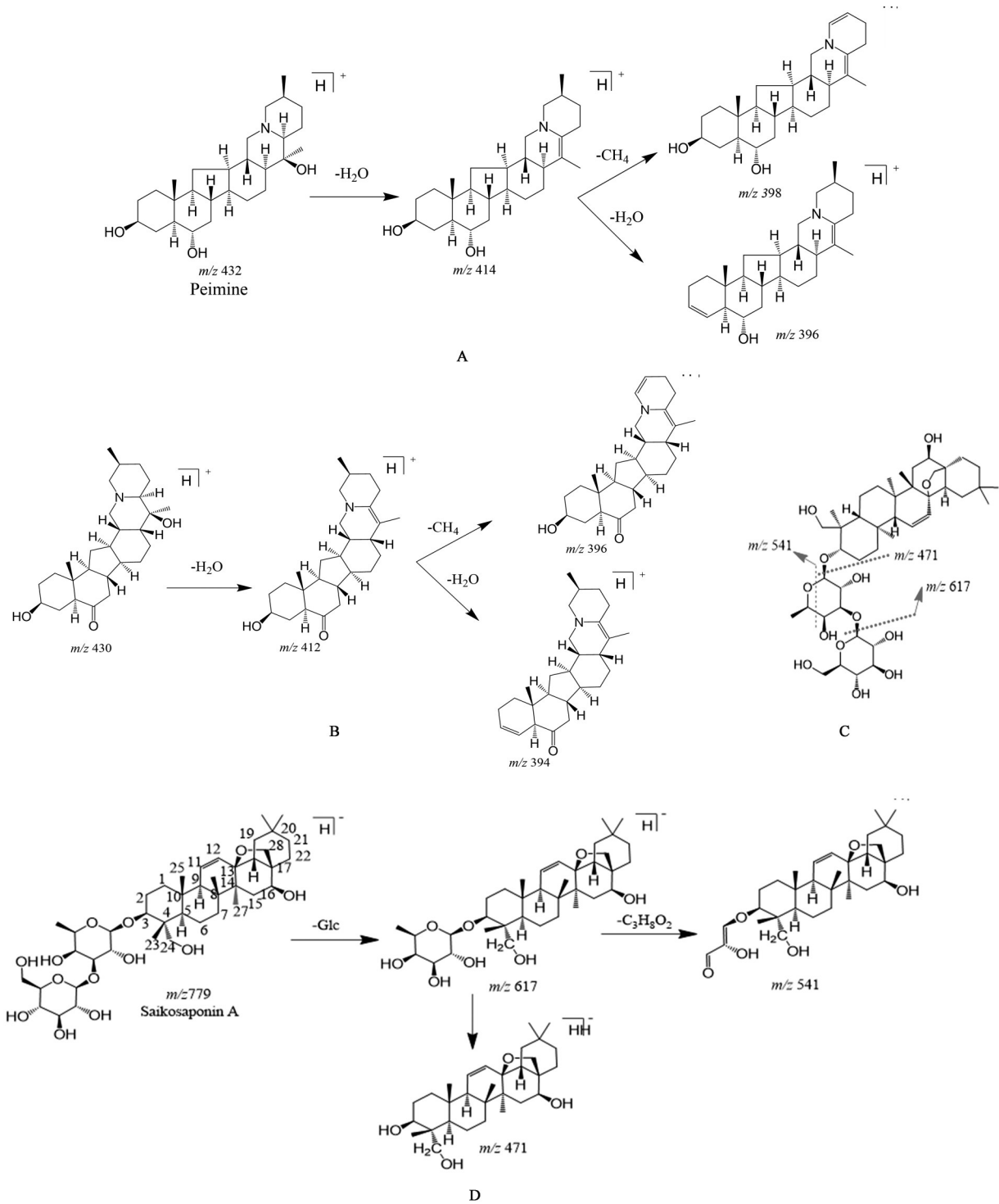


图4 对照品的质谱裂解行为

Fig. 4 Fragmentation pathway of standards

乳腺病理学的影响,其实验结果显示 SJSJG 可以有效降低乳腺增生大鼠血清 E₂ 水平,而且还可以降低乳腺增生组织中 ER α , AR 以及 PR 的表达量,说明 SJSJG 可能通过调节内分泌系统来影响细胞的增殖

和凋亡,并最终对乳腺增生产生治疗作用。

UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术因其高灵敏度、高专属性等特点已成为中药成分定性定量分析有力的技术手段^[19]。研究中采用 UHPLC-LTQ-

Orbitrap MS 技术对 SJSJG 化学成分进行了较全面的系统研究,此方法可实现双金散结方中 85 种化学成分的快速鉴别,同时在正离子模式下检测出贝母素甲和贝母素乙,在负离子模式下检测出柴胡皂苷 a,柴胡皂苷 d 等化学成分,由以上结果可初步推测处方中生物碱类及萜类成分可能与药效作用密切相关。

通过将动物实验与 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 技术相结合,初步探讨了 SJSJG 治疗乳腺增生的物质基础。但是中药复方本身就是一个复杂多样的整体,在本研究中仅分析出 SJSJG 的部分有效成分,对复方颗粒剂的物质基础研究仍有待不断丰富和完善,在后续研究工作中,将继续深入对 SJSJG 进行全面的研究,以保证临床应用、推广。

[参考文献]

- [1] ZHENG J J, ZHAO Y, WANG Y F, et al. The infrared radiation temperature characteristic of acupoints of mammary gland hyperplasia patients[J]. Evid-based Complement Altern Med, 2013, 2013: 567987.
- [2] 李明,丰纪明,彭明德. 乳腺增生病患者中医体质特点研究[J]. 河南中医,2016,36(6):1081-1083.
- [3] 艾比拜姆·喀迪尔,米哈古丽·阿布力孜. 浅谈乳腺增生症的发病机制及研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(62):34.
- [4] 童玉春,宋捷,江一鸣,等. 乳腺增生病药物治疗机制研究进展[J]. 药物评价研究,2019,42(10):2106-2110.
- [5] MOURITS M J, DE VRIES E G, WILLEMSE P H, et al. Tamoxifen treatment and gynecologic side effects: a review[J]. Obstet Gynecol, 2001, 97(5): 855-866.
- [6] 曾万智. 研究外科手术治疗乳腺增生伴癌变的临床特点[J]. 养生保健指南,2016(25): 44.
- [7] LI X L, XIN P, WANG C F, et al. Mechanisms of

traditional Chinese medicine in the treatment of mammary gland hyperplasia [J]. Am J Chin Med, 2017, 45(3): 443-458.

- [8] 李佳林,苏泽琦,彭莉,等. 秦月好治疗乳腺增生病经验[J]. 中医学报,2018,33(5):778-781.
- [9] 苗明三,温亚娟,白明,等. 乳腺增生动物模型制备规范(草案)[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(24): 17-22.
- [10] 段好刚,魏玉辉,李波霞,等. 疏乳消块丸对大鼠乳腺增生的治疗作用及其机制[J]. 中国医院药学杂志, 2012,32(16):1273-1276.
- [11] 颜美玲,杨柳,侯阿娇,等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2018,35(5):103-109.
- [12] 辛国,赵昕彤,黄晓巍. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. 吉林中医药,2018,38(10):1196-1198.
- [13] BENITO B P, MARTÍNEZ J A M, SEN M S A, et al. *In vivo* and *in vitro* antiinflammatory activity of saikosaponins [J]. Life Sci, 1998, 63 (13) : 1147-1156.
- [14] 张明发,沈雅琴. 浙贝母药理研究进展[J]. 上海医药,2007,28(10):459-461.
- [15] 钱伯初,许衡钧. 浙贝母碱和去氢浙贝母碱的镇咳镇静作用[J]. 药学学报,1985,20(4):306-308.
- [16] 张玉人,林洪生,张英. 贝母素甲、贝母素乙对 4T1 乳腺癌细胞炎性微环境的干预调节作用[J]. 中国中医基础医学杂志,2014,20(11):1504-1506.
- [17] JH P, B L, HK K, et al. Peimine inhibits the production of proinflammatory cytokines through regulation of the phosphorylation of NF- κ B and MAPKs in HMC-1 cells[J]. Pharmacogn Mag, 2017, 13(50): 359-364.
- [18] 李佳林,苏泽琦,彭莉,等. 秦月好治疗乳腺增生病经验[J]. 中医学报,2018,33(5):778-781.
- [19] 李志霞,聂继云,闫震,等. 液相色谱-质谱联用技术在果品质量安全风险研究中的应用进展[J]. 中国果树,2017(4):57-62.

[责任编辑 张丰丰]