

蛇床子-补骨脂在乳腺癌骨转移裸鼠模型中 吸收入血特征的研究

程旭锋^{1,2}, 刘胜^{2*}, 金惠³, 张新峰⁴, 刘琦⁵

(1. 河南中医学院第一附属医院乳腺外科, 郑州 450000;

2. 上海中医药大学附属龙华医院乳腺科, 上海 200032;

3. 华东理工大学生物反应器国家重点实验室 & 药学院, 上海 200237;

4. 河南省肿瘤医院中西医结合科, 郑州 450008; 5. 河南中医学院科研处, 郑州 450008)

[摘要] 目的:以蛇床子素和补骨脂素为靶标成分,从药物吸收入血角度探讨蛇床子-补骨脂配伍后疗效增加的机制。方法:采用左心室注射 MDA-MB-231BO 细胞法建立裸鼠乳腺癌骨转移模型,给予不同配比的蛇床子-补骨脂药物煎液,采用 HPLC-MS 法测定裸鼠血浆中蛇床子素和补骨脂素,观察蛇床子-补骨脂配伍后蛇床子素和补骨脂素吸收入血的特征。结果:蛇床子组血浆中可发现蛇床子素离子峰;补骨脂组血浆中可发现补骨脂素分子及其离子峰信号;蛇床子-补骨脂(1:3)组血浆中可发现蛇床子素分子及离子峰信号,未发现补骨脂素分子及离子峰信号,蛇床子-补骨脂(2:2)组可发现蛇床子素和补骨脂素的分子及离子峰信号,蛇床子-补骨脂(3:1)组可发现蛇床子素分子及离子峰信号,未发现补骨脂素分子及离子峰信号。结论:蛇床子素和补骨脂素均可被吸收入血;蛇床子与补骨脂 1:1 配伍可促进补骨脂中补骨脂素的吸收入血。

[关键词] 蛇床子; 补骨脂; 乳腺癌骨转移裸鼠模型

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0175-07

Study on Characteristics of Absorption into Blood of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit in Breast Cancer Bone Metastasis Nude Mice Model

CHENG Xu-feng^{1,2}, LIU Sheng^{2*}, JIN Hui³, ZHANG Xin-feng⁴, LIU Qi⁵

(1. Department of Breast Surgery, First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450000, China; 2. Department of Breast Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China; 3. State Key Laboratory of Bioreactor Engineering & School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 4. Department of Combining Traditional Chinese and Western Medicine of Henan Province Tumor Hospital, Zhengzhou 450008, China; 5. Department of Scientific Research, Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of curative effect increased of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit compatibility based on osthole and psoralen as the target components absorbed into the bloodstream. **Method:** The breast cancer bone metastasis nude mice models were established by injecting MDA-MB-231BO cells into left ventricular, and they were given different combinations of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit drugs decoction, osthole and psoralen in nude mice plasma were detected by HPLC-MS, and

[收稿日期] 20110921(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30772811);河南省教育厅自然科学基金项目(2010B360005);郑州市科技局科技攻关计划(112PPTSF319-14);郑州市金水区技术与开发经费支持项目(20093542)

[第一作者] 程旭锋,博士,副主任医师,从事乳腺疾病的中西医结合临床与基础研究,E-mail:cx09939@163.com

[通讯作者] *刘胜,主任医师,教授,博士生导师,从事乳腺疾病的中西医结合防治研究,Tel:021-64389551,E-mail:zhangtanhua2004@126.com

the characteristics of osthole and psoralen absorbed into the bloodstream were observed. **Result:** The plasma osthole's ion peak could be found in the plasmas of Common Cnidium Fruit group; the psoralen molecule and its ion peak signal could be found in the plasmas of Malaytea Scurfpea Fruit group; osthole molecule and its ion peak signal, but not psoralen molecule or its ion peak signal could be found in the plasmas of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit (1:3) group; not only osthole molecule and its ion peak signal but also psoralen molecule and its ion peak signal could be found in the plasmas of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit (2:2) group; osthole molecule and its ion peak signal, but not psoralen molecule or its ion peak signal could be found in the plasmas of Common Cnidium Fruit-Malaytea Scurfpea Fruit (3:1) group. **Conclusion:** Osthole and psoralen could be absorbed into the bloodstream, and the absorption into bloodstream of psoralen could be promoted by Common Cnidium Fruit and Malaytea Scurfpea Fruit 1:1 compatibility.

[**Key words**] Common Cnidium Fruit; Malaytea Scurfpea Fruit; breast cancer bone metastasis model in nude mice

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,在一些大中城市,乳腺癌已成为女性恶性肿瘤发病的首位^[1]。乳腺癌可发生多部位转移,骨是其最常见的远处部位之一,国外报道约 70% 的乳腺癌患者在自然病程中发生骨转移^[2]。乳腺癌发生骨转移后,可导致骨质疏松、高血钙症、脊髓压迫和病理性骨折等一系列并发症,严重降低患者生存质量,且基本不可治愈,中位生存期仅为 2 年^[3]。

笔者根据“肾主骨”理论提出乳腺癌骨转移基本病机为肾阳虚,温肾法为基本治则。蛇床子-补骨脂是临床常用的温肾药对,笔者以往的临床和基础研究^[4-7]表明:蛇床子、补骨脂在抗乳腺癌复发转移方面确切的疗效,且补骨脂与蛇床子 1:1 配伍后疗效优于单味补骨脂或蛇床子^[7];然而蛇床子-补骨脂药对的药效物质基础及其在乳腺癌骨转移裸鼠体内的代谢情况尚不明确。本实验采用高效液相-质谱联用技术研究不同配伍比例的补骨脂-蛇床子药对中补骨脂素和蛇床子素在乳腺癌骨转移裸鼠体内的药动学特征,以期阐明补骨脂-蛇床子药对治疗乳腺癌骨转移的药效物质基础及二药配伍后增强疗效的机制。

1 材料与方法

1.1 仪器和设备 Agilent 1100 LC/DAD/MS 系统,配有电喷雾离子化源(ESI)以及 Chemstation 工作站;Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配置四元梯度泵、在线脱气机、自动进样器和柱温箱;Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.60 mm × 150 mm, 5 μm),生物安全柜(苏州净化设备工程有限公司), Forma Series 11 CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司), GL-20G-11 型高速低温离心机(上海安亭科学仪器厂), TS100 型倒置显微镜(日本 NIKON 公司), XS-

105 型 1/10 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), Millipore 纯水系统(美国 Millipore 公司),超低温冰箱(美国 Thermo 公司)。

1.2 试剂和耗材 DMEM 高糖培养液、胎牛血浆、L-谷氨酰胺、0.25% 胰蛋白酶-EDTA 溶液(Gibico, 美国 Invitrogn 公司);蛇床子素对照品、补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 10822-200406, 110739-200511)。甲醇和乙腈均为色谱纯(美国 Tedia 公司),水为去离子水。蛇床子和补骨脂均购自上海中医药大学龙华医院中药房,经顾希钧教授鉴定分别为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. 和豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实。一次性细胞培养瓶(美国 Coster 公司), 0.22 μm 针头式无菌滤器(美国 Millopore 公司), 0.3% 戊巴比妥钠注射液(中国医药上海化学试剂公司),其他试剂均为分析纯。

1.3 动物 裸鼠(BALB/c-nude mice) 45 只,雌性, 6~8 周龄,动物合格证号 SCXK(沪)2008-0016,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供;饲养条件为 SPF 级,并补充鸡蛋、瓜子和维生素 C 等。室温为 26~28 °C,相对湿度保持在 40%~60%,实验人员须穿戴无菌的外科口罩、帽子、手套和隔离衣,笼具、垫料、食物和饮水均经高压蒸气灭菌(120 °C, 45 min)。使裸鼠适应新环境 1 周后开始实验。

1.4 药物及对照品溶液的制备

1.4.1 中药煎液的制备 A 为蛇床子 400 g, B 为补骨脂 400 g, C 为蛇床子 200 g-补骨脂 200 g, D 为蛇床子 100 g-补骨脂 300 g, E 为蛇床子 300 g-补骨脂 100 g。以上中药分别按 1:6 比例配水 2 400 mL, 浸泡 30 min;文火煎至 200 mL 时过滤至烧杯内;药渣再置 1 200 mL 水,煎出 200 mL;共 400 mL 药液装

于烧杯内,浓缩至 62.5 mL。分别得到煎液 A 为蛇床子-补骨脂(4:0),煎液 B 为蛇床子-补骨脂(0:4),煎液 C 为蛇床子-补骨脂(2:2),煎液 D 为蛇床子-补骨脂(1:3),煎液 E 为蛇床子-补骨脂(3:1)。最后将药液置 100 mL 消毒过的玻璃瓶中,密封后置冰箱内保存。

另外,分别取煎液 A, B, C, D, E 适量,采用 HPLC 测定煎液中蛇床子素和补骨脂素的含量:煎液 A 中蛇床子素为 $0.63 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,煎液 B 中补骨脂素为 $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,煎液 C 中蛇床子素为 $0.35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,补骨脂素为 $0.14 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,煎液 D 中蛇床子素为 $0.17 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,补骨脂素为 $0.19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;煎液 E 中蛇床子素为 $0.49 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,补骨脂素为 $0.11 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

以上中药煎液均由龙华医院制剂室制备、保存。

1.4.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品 2.45 mg、蛇床子素对照品 2.25 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,混匀,即得补骨脂素对照品溶液($0.049 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、蛇床子素对照品溶液($0.045 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),稀释待用。

1.5 乳腺癌骨高转移细胞株的培养和单细胞悬液的制备 人乳腺癌骨高转移细胞株 MDA-MB-231BO 由美国德克萨斯州立大学医学系内分泌所 Toshiyuki Yoneda 博士惠赠。将 MDA-MB-231BO 细胞培养于细胞瓶中,培养液为高糖型 DMEM (含 10% 胎牛血浆、 $3.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{NaHCO}_3$, 1% *L*-谷氨酰胺、 $100 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 $100 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 庆大霉素),培养条件为 $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , 湿度为 95%。在细胞长满细胞瓶壁 70% ~ 80% 时开始动物造模,造模前将贴壁的 MDA-MB-231BO 采用 0.25% 胰蛋白酶-EDTA 溶液消化培养,采用 PBS 平衡盐溶液稀释,配制成 $0.8 \times 10^7/\text{mL}$ 细胞悬液。

1.6 人乳腺癌骨转移裸小鼠模型的建立 根据文献方法^[8-9]进行裸鼠左心室注射 MDA-MB-231BO 细胞法造模:①裸鼠经腹腔注射硫喷妥钠($0.75 \text{ mg}/\text{只}$)和腿部肌肉注射氯胺酮($1.5 \text{ mg}/\text{只}$)麻醉;②将麻醉后的裸鼠仰卧固定在小鼠固定板上,常规皮肤消毒,约于裸鼠左第 2 肋间胸骨左旁 3 mm,确定注射器进针部位;③以 29 G 针尖的 1 mL 注射器吸取 0.1 mL 细胞悬液(细胞密度为 $0.8 \times 10^7/\text{mL}$),接种量为 $0.1 \text{ mL}/\text{只}$;进针部位为裸鼠剑突右侧;进针深度约为 0.8 cm ;④进针后,轻轻回抽注射器时见压力较高的浅红色细柱状血液进入针筒说明针尖已经进入裸鼠左心室,慢慢注射肿瘤细胞悬液,注射量为每只动物 0.1 mL 细胞悬液;⑤轻轻回抽注射

器,如有鲜红色血液进入注射器,提示针头仍在左心室内,说明左心室注射细胞悬液成功,迅速拔针,针孔以消毒棉球轻轻压迫,将裸鼠放回笼中饲养。

1.7 分组与处理 造模后 2 d 内裸鼠死亡 7 只,从存活的 38 只中随机选取 30 只,采用 Excell“随机数发生器”法^[10]随机分为 5 组:蛇床子组、补骨脂组、蛇床子-补骨脂(1:3)组、蛇床子-补骨脂(2:2)组、蛇床子-补骨脂(3:1)组,每组 6 只,并于造模后第 4 天开始给予中药煎液干预。蛇床子组:灌胃煎液 A $0.4 \text{ mL}/\text{只}$,每周 3 次;补骨脂组:灌胃煎液 B $0.4 \text{ mL}/\text{只}$,每周 3 次;蛇床子-补骨脂(2:2)组:灌胃煎液 C $0.4 \text{ mL}/\text{只}$,每周 3 次;蛇床子-补骨脂(1:3)组:灌胃煎液 D $0.4 \text{ mL}/\text{只}$,每周 3 次;蛇床子-补骨脂(3:1)组:灌胃煎液 E $0.4 \text{ mL}/\text{只}$,每周 3 次。以上给药量为人鼠等效剂量的 5 倍。

小鼠给药 6 周后,眼球取血约 1 mL 于抗凝的 EP 管中, $18\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min ,分离血浆, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存待分析。另取正常裸小鼠(未给予药物干预)血浆,即空白血浆,作为对照。

1.8 血浆样品处理 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 血浆 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵融; $100 \text{ }\mu\text{L}$ 血浆加入 $300 \text{ }\mu\text{L}$ 甲醇,涡旋 3 min ,离心($18\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 10 min ,取上清 $300 \text{ }\mu\text{L}$,离心($18\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 10 min ,取上清 $10 \text{ }\mu\text{L}$ 进样分析。

1.9 HPLC-MS 分析方法

1.9.1 蛇床子素液相检测条件 Diamonsil C_{18} 柱($4.60 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \text{ }\mu\text{m}$),流动相 A 为含 $4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵和 0.08% 甲酸水溶液, B 为乙腈, A-B(32:68);柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$,流速 $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $10 \text{ }\mu\text{L}$,DAD 检测器检测波长, 322 nm 。

1.9.2 蛇床子素质谱分析条件 电喷雾离子源(ESI),扫描方式:正离子检测模式,离子扫描参数范围 m/z 100 ~ 300,电离电压(IS) $3\ 400 \text{ V}$,离子源温度 $120 \text{ }^\circ\text{C}$,干燥气温度 $300 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.9.3 补骨脂素液相色谱检测条件 Diamonsil C_{18} 色谱柱($4.60 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \text{ }\mu\text{m}$),流动相 A 为含 $4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵和 0.08% 甲酸水溶液, B 为甲醇, A-B(45:55),柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$,流速 $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $10 \text{ }\mu\text{L}$,DAD 检测器的检测波长 246 nm 。

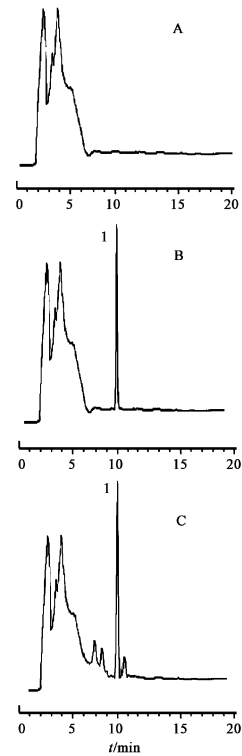
1.9.4 补骨脂素质谱分析条件 电喷雾离子源(ESI),扫描方式为正离子检测模式,离子扫描参数范围 m/z 100 ~ 200,电离电压(IS) $3\ 400 \text{ V}$,离子源温度 $120 \text{ }^\circ\text{C}$,干燥气温度 $300 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2 结果

2.1 蛇床子素和补骨脂素色谱行为 分别取补骨脂素对照品溶液($0.049 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、蛇床子素对照品溶液($0.045 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 甲醇稀释为质量浓度均为 $0.005 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 按照 1.9 项下分别进样分析, 另取空白甲醇作为对照进样分析。取空白血浆 $100 \mu\text{L}$, 加入蛇床子素对照品溶液($0.045 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $10 \mu\text{L}$, 按照 1.8 项下处理, 按照 1.9 项下进样分析。取空白血浆 $100 \mu\text{L}$, 加入补骨脂素对照品溶液(质量浓度为 $0.049 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $10 \mu\text{L}$, 按照 1.8 项下处理, 按照 1.9 项下进样分析波长 322 nm , 结果见图 1, 2。

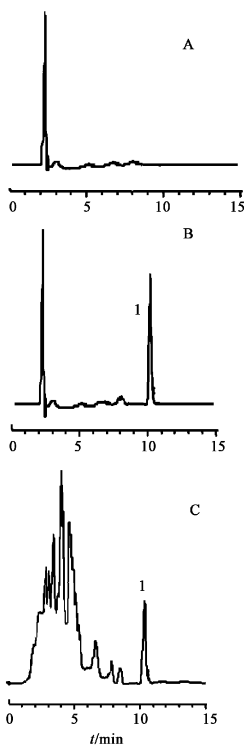
从图 1 中可以看出, 在蛇床子素高效液相检测条件下, 蛇床子素保留时间 $t_R = 10.58 \text{ min}$, 空白血浆对蛇床子素无干扰; 从图 2 中可以看出, 在补骨脂素高效液相检测条件下, 补骨脂素保留时间 $t_R = 9.64 \text{ min}$, 空白血浆对补骨脂素无干扰。

从图 3 中可以看出, 在蛇床子素质谱检测条件下, 空白血浆中未出现蛇床子素分子峰; 蛇床子素质谱测定时间为 10.58 , 出现相对分子质量为 $244.2, 243, 217$ 的蛇床子素的分子或离子峰。从图 4 中可以看出, 在补骨脂素质谱检测条件下, 空白血浆中未出现补骨脂素分子峰; 补骨脂素质谱

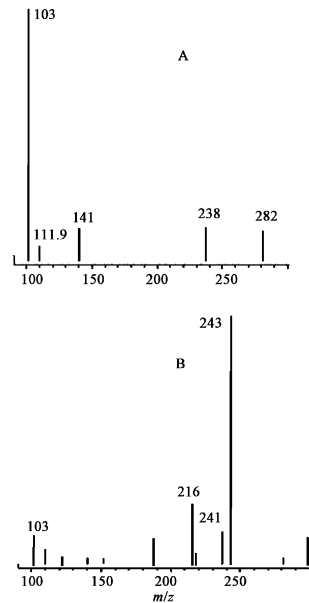


A. 空白样品; B. 补骨脂素对照品;
C. 补骨脂素血浆样品; 1. 补骨脂素

图 2 补骨脂素对照品 HPLC



A. 空白样品; B. 蛇床子素对照品;
C. 蛇床子素血浆样品; 1. 蛇床子素
图 1 蛇床子素对照品 HPLC 色谱

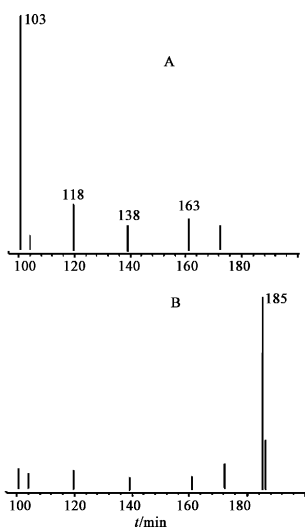


A. 空白(蛇床子素质谱条件, $t_R = 10.59 \text{ min}$);
B. 蛇床子素(蛇床子素质谱条件, $t_R = 10.59 \text{ min}$)

图 3 蛇床子素对照品 HPLC-MS 离子流色谱

测定时间为 9.64 min , 出现相对分子质量为 $186.5, 185.5$ 的补骨脂素的分子或离子峰。

2.2 各组裸小鼠血浆中蛇床子素和补骨脂素色谱行为 分别随机取蛇床子组、补骨脂组、蛇床子-补骨脂(1:3)组、蛇床子-补骨脂(2:2)组、蛇床子-



A. 空白血浆(补骨脂素质谱条件, $t_R = 9.64$ min);
B. 补骨脂素(补骨脂素质谱条件, $t_R = 9.64$ min)

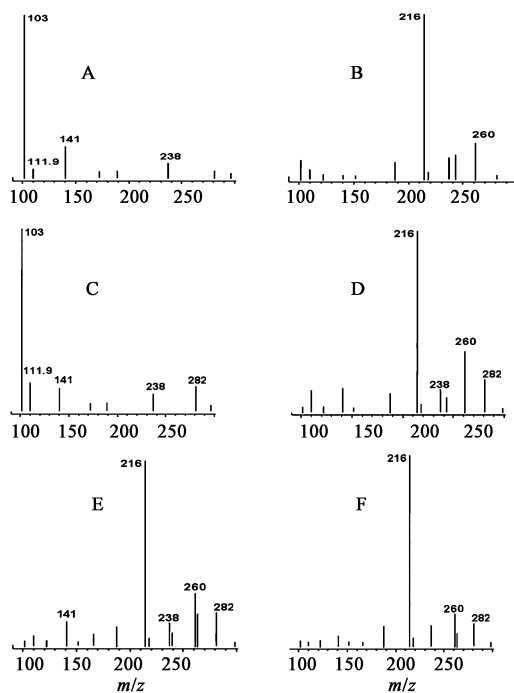
图4 补骨脂素对照品 HPLC-MS 离子流色谱

补骨脂(3:1)组裸小鼠血浆 100 μ L,按照 1.8 血浆样本处理项下处理,按照 1.9 项下进样分析;取空白血浆 100 μ L,加入补骨脂素对照品溶液 10 μ L,按照 1.8 项下处理,按照 1.9 项下进样分析,结果见图 5~6。

根据 LC-MS 图谱发现,蛇床子组出现相对分子质量为 260(相对分子质量 260 的离子可能是由于蛇床子素不稳定,被氧化而加了一个氧原子),216 的蛇床子素的离子峰;补骨脂组出现相对分子质量为 186.5,185 的补骨脂素的离子峰;蛇床子-补骨脂(1:3)组出现相对分子质量为 260,216 的蛇床子素的离子峰,未出现补骨脂素分子峰信号;蛇床子-补骨脂(2:2)组出现相对分子质量为 186.5,185 的补骨脂素的离子峰以及分子质量为 260,216 的蛇床子素的离子峰;蛇床子-补骨脂(3:1)组出现相对分子质量为 260,216 的蛇床子素的离子峰,补骨脂素分子及离子无明显信号。

3 讨论

本实验参考《中国药典》^[11]等文献,分别以蛇床子素和补骨脂素为靶标成分,了解中药蛇床子和补骨脂在乳腺癌骨转移裸鼠的吸收入血情况。由于蛇床子素、补骨脂素的极性和最大吸收波长(分别为 322,246 nm)的不同,本实验参考文献报道^[12-13]并结合本实验室条件,分别以乙腈-水(含 0.08% 甲酸和 4 mmol·L⁻¹ 乙酸铵)、甲醇-水(含 0.08% 甲酸和 4 mmol·L⁻¹ 乙酸铵)为流动相,等度洗脱,采用不同的 HPLC-MS 条件分别检测了血浆中蛇床子素、补骨脂素,实现了蛇床子素、补骨脂

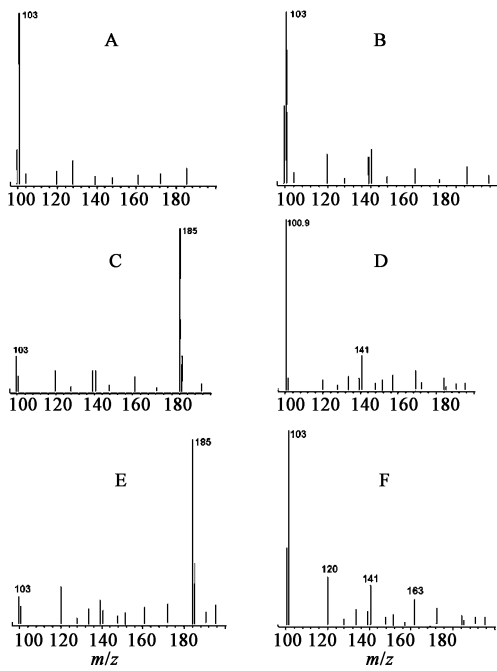


A. 空白血浆($t_R = 10.59$ min); B. 蛇床子($t_R = 10.59$ min);
C. 补骨脂($t_R = 10.59$ min);
D. 蛇床子-补骨脂(1:3)($t_R = 10.59$ min);
E. 蛇床子-补骨脂(2:2)($t_R = 10.59$ min);
F. 蛇床子-补骨脂(3:1)($t_R = 10.59$ min)

图5 各组血浆样品在蛇床子素质谱检测条件下的 HPLC-MS 离子流色谱

素与其他成分分离完全。该方法简单、快速,可用于定性测定裸鼠血浆中蛇床子素和补骨脂素成分,可用于蛇床子-补骨脂药对药效物质基础的研究和其配伍机制相关研究。

本实验发现,空白血浆加入蛇床子素及蛇床子组和蛇床子-补骨脂(2:2)组血浆中可出现相对分子量为 260,216 的蛇床子素的离子峰;空白血浆加入补骨脂素及补骨脂组合蛇床子-补骨脂(2:2)组血浆中可发现相对分子量为 186.5,185 的补骨脂素的离子峰。该结果提示:蛇床子素和补骨脂素均可被吸收入血。各组裸鼠模型分别给予中药煎液后,蛇床子含量较低且补骨脂含量较高的蛇床子-补骨脂(1:3)组血浆中可发现蛇床子素分子及离子信号,未发现补骨脂素分子及离子峰信号,说明该给药条件下蛇床子素吸收入血较多,而补骨脂素吸收入血较少;增加蛇床子含量且减少补骨脂含量的蛇床子-补骨脂(2:2)可发现蛇床子素和补骨脂素的分子及离子信号,说明蛇床子-补骨脂药对中适当增加蛇床子含量可促进补骨脂中补骨脂素的吸收入血;继续增加蛇床子含量且减



A. 空白血浆; B. 蛇床子; C. 补骨脂; D. 蛇床子-补骨脂(1:3);
E. 蛇床子-补骨脂(2:2); F. 蛇床子-补骨脂(3:1)

图6 各组血浆样品在补骨脂质谱检测条件下的
HPLC-MS 离子流色谱

少补骨脂含量的蛇床子-补骨脂(1:3)组血浆中可发现蛇床子素分子及离子信号,未发现补骨脂素分子及离子峰信号,说明该给药条件下蛇床子素吸收入血较多,而减少补骨脂较多后补骨脂素吸收入血较少。

刘胜等^[14]比较了不同配伍比例(4:0,3:1,2:2,1:3,0:4)的补骨脂-蛇床子对乳腺癌骨转移的抑制作用,并从 OPG/RANKL/RANK 系统探讨了其抑制乳腺癌骨转移的机制,发现与其他配伍比例组相比,蛇床子-补骨脂(1:1)配伍对乳腺癌骨转移的作用更强,且能够更明显地上调骨转移灶中 OPG 基因和蛋白的表达,并下调 RANKL, IL-8, PTHrP, M-CSF 基因和蛋白的表达;该实验结果从药效学角度说明了在不同的配伍比例中,蛇床子、补骨脂(1:1)配伍更能够增强其抑制乳腺癌骨转移的作用,该结果与本实验结果在一定程度上具有一致性;本文以蛇床子素和补骨脂素为靶标成分,试图从药物活性成分吸收入血角度探讨蛇床子-补骨脂配伍后疗效增加的机制,但由于蛇床子素、补骨脂素并不能代表中药蛇床子、补骨脂本身,且本实验为定性研究,因此蛇床子-补骨脂配伍

增疗的机制研究还需进行更多成分的药效、药动学相关的定性及定量研究。

[参考文献]

- [1] 张思维,陈万青,孔灵芝,等. 中国部分市县 1998 - 2002 年恶性肿瘤的发病与死亡[J]. 中国肿瘤, 2006, 15(7): 430.
- [2] Akhtari M, Mensuri J, Newman K A, et al. Biology of breast cancer bone metastasis[J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7(1): 3.
- [3] Kozlow W, Guise T A. Breast cancer metastasis to bone: mechanisms of osteolysis and implications for therapy[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2005, 10(2): 169.
- [4] 刘胜. 陆德铭治疗晚期转移性乳腺癌经验[J]. 中医杂志, 1996, 37(1): 18.
- [5] 刘胜,薛晓红,杨新伟,等. 乳宁方药物血清对人乳腺癌细胞基因表达的影响[J]. 中西医结合学报, 2006, 4(5): 490.
- [6] 刘胜,孙需平,花永强,等. 试论“治未病”思想在乳腺癌术后复发及转移治疗中的应用[J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(6): 3.
- [7] 李琼,刘胜,杨顺芳. 补骨脂与蛇床子抑制乳腺癌骨转移的体内实验[J]. 上海中医药大学学报, 2010, 24(1): 53.
- [8] Francisco ARGUELLO, Raymond B BAGGS, FRANTZ Christopher N. A murine model of experimental metastasis to bone and bone marrow[J]. Cancer Res, 1988, 48(23): 6876.
- [9] 程旭锋,刘胜,杨顺芳,等. 放射性骨显像支持下建立乳腺癌骨转移小鼠模型[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(9): 1588.
- [10] 顾晓鸣,陆群,沈伟. 运用 Excel“随机数发生器”进行随机化分组[J]. 中国医院统计, 2007, 14(3): 287.
- [11] 中国药典. 一部[S]. 2010: 295, 174.
- [12] 仇雅静,陈晓鹏. HPLC 法测定康乐洗液中蛇床子素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 19.
- [13] 孟召全,陈鸿楠,何希荣. HPLC 法测定补肾口服液中心异补骨脂素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 22.
- [14] 刘胜,吴春宇,程旭锋,等. 从 OPG/RANKL/RANK 系统阐述补骨脂-蛇床子抑制乳腺癌骨转移的机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(5): 684.

[责任编辑 邹晓翠]