

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.14.014

西黄丸含药血清干预人乳腺癌细胞增殖的 药效强度及其与采血时间的关系

何丽娟¹, 靳冉², 李晋生², 张晓笛², 张瀚涛², 朱晓光¹, 顾海鸥^{3*}

(1. 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 北京市南三环中路 20 号, 100079; 2. 北京中研同仁堂医药研发有限公司;
3. 中国北京同仁堂(集团)有限责任公司)

摘要 目的 探讨西黄丸大鼠含药血清对人乳腺癌细胞增殖的作用特点。方法 SD 大鼠 48 只随机分为空白对照组 12 只及西黄丸 0.5 h 组、西黄丸 1 h 组、西黄丸 2 h 组、西黄丸 3 h 组各 9 只。西黄丸各时间组给予 2.4 g/(kg·d) 西黄丸混悬液灌胃, 每日 2 次, 空白对照组大鼠给予等体积蒸馏水, 连续给药 7 次。于末次给药 0.5、1、2、3 h 后对相应组采血, 制备含药血清。MDA-MB-435 和 MCF-7 细胞分别设 10% 空白血清组、20% 空白血清组、30% 空白血清组、10% 西黄丸血清组、20% 西黄丸血清组和 30% 西黄丸血清组, 每组 6 个复孔。加入相应含药血清培养后, 采用 MTT 方法检测不同采血时间点、不同浓度的西黄丸大鼠含药血清对乳腺癌细胞株增殖的抑制作用。结果 与其他时间点相比, 西黄丸大鼠各浓度含药血清作用 24、48 h 均为采血时间 2 h 含药血清对 MDA-MB-435 细胞的抑制增殖作用最强; 西黄丸大鼠各浓度含药血清作用 24、48、72 h 均为采血时间 3 h 含药血清对 MCF-7 细胞的抑制增殖作用最强 ($P < 0.05$); 且均为 30% 西黄丸含药血清对 MDA-MB-435、MCF-7 两种细胞株增殖的抑制作用最强 ($P < 0.05$)。结论 西黄丸采血时间 2 h 含药血清对 MDA-MB-435 细胞的抑制增殖作用最强, 采血时间 3 h 含药血清对 MCF-7 细胞的抑制增殖作用最强, 且以 30% 含药血清抑制作用最强。

关键词 乳腺癌; 西黄丸; 细胞增殖; 时效关系

西黄丸由牛黄、乳香、没药、麝香组成, 《外科全生集》云其主治“乳岩, 横痃, 瘰疬, 痰核, 流注, 肺癰, 小肠疝”。乳岩者, 即现代医学中的乳腺癌。现代临床研究表明, 西黄丸具有抗肿瘤作用^[1-2]。基础研究亦发现, 西黄丸含药血清可以抑制人乳腺癌细胞、人结肠癌细胞、人肺癌干细胞的增殖并促进其凋亡^[3-5]。但是不同的含药血清制备方法对不同细胞增殖的影响也不相同^[6]。因此, 本研究对西黄丸含药血清的不同制备方法以及不同采血时间进行了观察, 以求建立适宜的西黄丸含药血清的制备方法, 在此基础上初步阐释西黄丸含药血清对人乳腺癌细胞的作用特点。

1 材料

1.1 细胞

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435 和 MCF-7, 购于中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心。

1.2 动物

SPF 级 SD 雌性大鼠 48 只, 体质量 220 ~ 240 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK(京)2012-0001。

1.3 药物

西黄丸, 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号: 15042143, 研磨粉碎, 用蒸馏水制成混悬液, 浓度为 0.24 g/ml。

1.4 主要试剂与仪器

噻唑蓝 (MTT, 批号 MKBW0025V), Sigma 公司; L15 基础培养液 (批号 AAK206995)、0.25% 胰蛋白酶 (批号 J150037)、胎牛血清 (FBS, 批号 GYK0119), 均为 Hyclone 公司产品; 磷酸盐缓冲液 (PBS, 批号: 11310212)、二甲基亚砜 (DMSO, 批号 516N025), 索莱宝生物科技有限公司; 戊巴比妥钠 (批号: MFCD00057561), Sigma 公司; 硫酸链霉素、青霉素溶液 (批号: 11415100), Corning 公司。

CKX41SF 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公

* 通讯作者: yarily@126.com, (010) 87632553

司), Epoch2 型酶标仪 (美国 BioTek 公司), DL-CJ-2N 型超净工作台 (北京东联哈尔仪器制造有限公司), cell 150 型 CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 西黄丸含药血清制备

48 只 SD 大鼠适应性饲养 10 天后, 根据随机数字表分为空白对照组 12 只和西黄丸组 36 只。西黄丸组用 SPSS 13.0 软件按照体重分层随机, 分为 4 组, 西黄丸 0.5 h 组、西黄丸 1 h 组、西黄丸 2 h 组、西黄丸 3 h 组, 每组 9 只。西黄丸各时间组给予西黄丸混悬液灌胃, 每次给药体积为 5 ml/kg, 每日给药 2 次, 每日累计给药剂量为 2.4 g/(kg·d); 空白对照组大鼠按照上述方法给予等体积蒸馏水。连续给药 7 次, 对相应各组分别于第 4 d 晨末次给药 0.5、1、2、3 h 后采血, 给药前禁食不禁水 12 h, 1% 戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉, 并行腹主动脉取血, 静置 2 h 后 3000 r/min, 离心 10 min, 离心半径 13.5 cm, 收集各组血清, 56℃ 灭活 30 min, 过滤分装, -80℃ 存放备用。

2.2 细胞培养

MDA-MB-435 和 MCF-7 细胞分别接种于含 100 U/ml 青霉素、100 mg/L 链霉素和 10% 胎牛血清的 L15 和 1640 培养液中, 置于含 5% CO₂、37℃ 的培养箱中培养 2~3 天。待细胞形成单层, 常规消化, 收集细胞。

2.3 不同采血时间西黄丸含药血清对乳腺癌 MDA-MB-435 和 MCF-7 细胞株细胞增殖的影响

细胞以 1×10^5 个/ml 浓度接种于 96 孔板, 每孔 200 μ l, 1 天后加入饥饿培养液饥饿 24 h 使细胞同步化, 后换 2.2 所取的含药血清配制的培养液, 含药血清浓度分别设 10%、20% 和 30%, 即 10% 空白血清组、20% 空白血清组、30% 空白血清组, 10% 西黄丸血清组、20% 西黄丸血清组和 30% 西黄丸血清组, 每组 6 个复孔, 加入相应含药血清培养 24、48、72 h 后加入 MTT 20 μ l/孔, 4 h 后加入 150 μ l DMSO 终止反应, 酶标仪 490 nm、630 nm 波长检测吸光度值, 并计算肿瘤细胞抑制率。抑制率 (%) = (对照组 OD 值 - 给药组 OD 值) / 对照组 OD 值 $\times 100\%$ 。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件处理数据, 计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 西黄丸含药血清对乳腺癌 MDA-MB-435 细胞株增殖的影响

表 1 示, 采血时间为 2 h 的各浓度西黄丸血清组人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞增殖的抑制作用在 24 h、48 h 均最强, 抑制率最高, OD 值最低。在干预 24 h 时, 与采血时间 2 h 比较, 20% 西黄丸血清组中采血时间 0.5 h 和 3 h 以及 30% 西黄丸血清组中采血时间 1 h 细胞的 OD 值升高 ($P < 0.05$), 仅 20% 西黄丸血清组抑制率其他采血时间点均显著降低 ($P < 0.05$); 各浓度西黄丸含药血清组在干预时间为 48 h 时与其他采血时间点比较, 采血时间 2 h 含药血清组细胞 OD 值显著降低 ($P < 0.05$); 与采血时间 2 h 比较, 各浓度西黄丸血清组采血时间 0.5 h 抑制率均显著降低 ($P < 0.05$), 30% 西黄丸血清组采血时间 1 h 和 3 h 的抑制率显著降低 ($P < 0.05$)。

与 10% 西黄丸血清组比较, 30% 西黄丸血清组在作用 48 h 后, 各个采血时间点的含药血清其抑制率均明显升高 ($P < 0.05$), 采血时间 2 h 含药血清在作用 48 h 后, 对 MDA-MB-435 细胞的抑制率最高 ($P < 0.05$)。与 20% 西黄丸血清组比较, 30% 西黄丸血清组在作用 24 h 和 48 h 后, 各个采血时间点的含药血清 OD 值和抑制率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在干预 24 h 时, 与 10% 西黄丸血清组同时间比较, 20%、30% 西黄丸血清组在各个时间点 OD 值均显著降低 ($P < 0.05$), 20% 西黄丸血清组采血时间 3 h 抑制率降低, 30% 西黄丸血清组采血时间 1 h、3 h 抑制率降低 ($P < 0.05$)。各浓度西黄丸血清组采血时间 1 h、2 h、3 h 含药血清干预 48 h 对 MDA-MB-435 细胞抑制率均较干预 24 h 升高 ($P < 0.05$)。

3.2 西黄丸含药血清对乳腺癌 MCF-7 细胞株增殖的影响

表 2 示, 随着血清浓度的增加、干预时间的增加以及采血时间点的推迟, 西黄丸大鼠含药血清对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用没有明显变化。与 3 h 同浓度西黄丸含药血清比较, 作用 24 h 后, 采血时间 1 h 和 2 h 10% 和 30% 西黄丸含药血清组对 MCF-7 细胞抑制率显著降低 ($P < 0.05$), 采血时间 0.5 h 10% 西黄丸含药血清对 MCF-7 细胞的抑制率显著升高 ($P < 0.05$); 作用 48 h 后, 各浓度西黄丸血清组

表 1 各组 MDA-MB-435 细胞株不同时间细胞增殖 OD 值、抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	采血时间	孔数	24 h		48 h	
			OD 值	抑制率 (%)	OD 值	抑制率 (%)
10% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.38 ± 0.03*	22.00 ± 12.55	0.57 ± 0.08**▲	24.05 ± 18.87▲
	1 h	6	0.36 ± 0.00	26.54 ± 9.89	0.43 ± 0.07**▲	45.09 ± 13.89#
	2 h	6	0.33 ± 0.09**	33.04 ± 17.41	0.30 ± 0.03**	51.13 ± 21.10#
	3 h	6	0.39 ± 0.10	21.82 ± 16.19	0.43 ± 0.03**▲	45.86 ± 7.67#
10% 空白血清组		6	0.49 ± 0.05		0.81 ± 0.106	
20% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.25 ± 0.03*△▲	19.08 ± 12.99▲	0.55 ± 0.10**▲	48.21 ± 10.27△▲#
	1 h	6	0.23 ± 0.03**△	24.86 ± 8.58▲	0.38 ± 0.07**▲	66.62 ± 6.09#
	2 h	6	0.19 ± 0.04**△	39.34 ± 15.87	0.23 ± 0.04**	71.33 ± 20.55#
	3 h	6	0.27 ± 0.06△▲	13.54 ± 8.45△▲	0.41 ± 0.06**▲	63.51 ± 5.74#
20% 空白血清组		6	0.31 ± 0.04		1.13 ± 0.04	
30% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.20 ± 0.02△	13.54 ± 18.56	0.50 ± 0.06**▲	53.41 ± 7.10△▲#
	1 h	6	0.25 ± 0.04△▲	11.74 ± 10.10△	0.35 ± 0.05**▲	69.11 ± 4.80△▲#
	2 h	6	0.16 ± 0.05**△	27.64 ± 23.88	0.15 ± 0.03**△	86.51 ± 3.00△#
	3 h	6	0.21 ± 0.05△	9.83 ± 6.76△	0.36 ± 0.04**▲	68.47 ± 4.00△▲#
30% 空白血清组		6	0.24 ± 0.03		1.56 ± 0.06	

注: 与同浓度空白血清组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 10% 西黄丸血清组同时间比较, △ $P < 0.05$; 与本组采血时间 2 h 比较, ▲ $P < 0.05$; 与本组 24 h 比较, # $P < 0.05$

表 2 各组 MCF-7 细胞株不同时间细胞增殖 OD 值、抑制率比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	采血时间	孔数	24 h		48 h		72 h	
			OD 值	抑制率	OD 值	抑制率	OD 值	抑制率
10% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.09 ± 0.03**	54.38 ± 11.58▲	0.20 ± 0.02#	12.03 ± 10.18#	0.29 ± 0.03△#	-8.88 ± 10.27▲#
	1 h	6	0.25 ± 0.03▲	-41.27 ± 38.60▲	0.22 ± 0.01	-0.88 ± 3.49	0.25 ± 0.01	3.74 ± 3.12#
	2 h	6	0.24 ± 0.03▲	-41.27 ± 38.60▲	0.21 ± 0.03	3.90 ± 3.45	0.27 ± 0.02	-7.19 ± 4.48▲#
	3 h	6	0.13 ± 0.02*	24.82 ± 10.49	0.22 ± 0.01#	-0.05 ± 3.32	0.22 ± 0.02*#	16.53 ± 7.59
10% 空白血清组		6	0.18 ± 0.04		0.21 ± 0.01		0.26 ± 0.02	
20% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.11 ± 0.01**	24.78 ± 11.80△	0.15 ± 0.02**	26.87 ± 13.34	0.22 ± 0.02**#	31.01 ± 7.54△
	1 h	6	0.15 ± 0.03△	-14.68 ± 14.00△	0.17 ± 0.03	27.75 ± 12.50△	0.26 ± 0.04▲#&	17.26 ± 11.30△▲
	2 h	6	0.13 ± 0.01△	20.09 ± 7.36△	0.15 ± 0.03**	24.03 ± 16.09	0.38 ± 0.07△▲#&	-26.94 ± 19.33△▲&
	3 h	6	0.11 ± 0.02**	21.38 ± 14.13	0.19 ± 0.03	17.99 ± 14.63△	0.16 ± 0.05**△	48.92 ± 17.38△#&
20% 空白血清组		6	0.14 ± 0.02		0.21 ± 0.04		0.31 ± 0.01	
30% 西黄丸血清组	0.5 h	6	0.12 ± 0.05	30.01 ± 18.15△	0.12 ± 0.02	22.23 ± 10.46	0.20 ± 0.03*	25.77 ± 11.28△
	1 h	6	0.15 ± 0.04△▲	-17.22 ± 7.50△▲	0.12 ± 0.03△	29.93 ± 2.22△	0.23 ± 0.04▲#&	17.16 ± 13.90△▲#
	2 h	6	0.13 ± 0.02△	6.46 ± 13.31△▲	0.13 ± 0.03△	24.43 ± 11.93	0.41 ± 0.08**△▲#&	-53.54 ± 34.20△▲#&
	3 h	6	0.09 ± 0.01*	35.37 ± 19.02	0.13 ± 0.03△	35.51 ± 15.19△	0.14 ± 0.07**△	49.79 ± 20.21△#
30% 空白血清组		6	0.15 ± 0.07		0.15 ± 0.04		0.27 ± 0.04	

注: 与同浓度空白血清组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 10% 西黄丸血清组同时间比较, △ $P < 0.05$; 与本组采血时间 3 h 比较, ▲ $P < 0.05$; 与本组 24 h 比较, # $P < 0.05$; 与本组 48 h 比较, & $P < 0.05$

在采血时间 1 h、2 h 的含药血清对 MCF-7 细胞的抑制率无统计学意义 ($P > 0.05$); 作用 72 h 后, 采血时间 1 h 和 2 h 20% 和 30% 西黄丸含药血清对 MCF-7 细胞的 OD 值显著升高, 抑制率显著降低 ($P < 0.05$)。

与 10% 西黄丸血清组比较, 20% 和 30% 西黄丸血清组在作用 24 h 后, 采血时间 0.5 h、1 h 和 2 h 抑制率均明显升高 ($P < 0.05$); 作用 48 h 后, 采血时间 1 h 和 3 h 抑制率均明显升高 ($P < 0.05$); 作用 72 h 后, 各采血时间抑制率均明显升高 ($P <$

0.05)。与 20% 西黄丸血清组比较, 30% 西黄丸血清组在作用 24 h、48 h 和 72 h 后, 各个采血时间点的含药血清 OD 值和抑制率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 24 h 比较, 干预 72 h 后, 采血时间 3 h 20% 和 30% 西黄丸血清组 MCF-7 细胞的抑制率明显升高 ($P < 0.05$); 与 48 h 比较, 干预 72 h 后, 采血时间 2 h 20% 和 30% 西黄丸血清组 MCF-7 细胞的 OD 值升高, 抑制率明显降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

西黄丸功能以清热解毒为主, 兼以活血消肿,

原用于治疗外科疮疡肿毒，现如今临床多用于治疗各种恶性肿瘤，尤其是对于乳腺癌的治疗，临床报道较多并有较好的疗效^[1,7]。MDA-MB-435 为三阴性人乳腺癌细胞株，而 MCF-7 为雌激素受体阳性人乳腺癌细胞株，在体外研究中 MDA-MB-435 和 MCF-7 通常作为研究乳腺癌的常用细胞株。

有研究^[6,8]报道，单次给药、连续两次（间隔 2 h 或 4 h 给药），以及连续 3 d、8 d、10 d 给药所获得的血清皆可表现出一定的药效。故我们按每日给药 2 次，连续给药 3 d，在末次给药后 0.5、1、2、3 h 采血，以期探讨西黄丸大鼠含药血清干预人乳腺癌细胞增殖的药效强度和采血时间的关系，并考察不同含药血清浓度、不同培养时间的含药血清对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 和 MCF-7 的抑制作用，筛选出最佳的采血时间和实验方案。

本实验结果显示，随着采血时间的推迟，西黄丸大鼠含药血清干预 MDA-MB-435 细胞的抑制作用逐渐增强，并且在末次给药后 2 h 达到峰值，3 h 血清药效回落，表明末次给药后 2 h 取血所得的西黄丸大鼠含药血清对 MDA-MB-435 细胞的抑制作用最明显；从培养时间上看，西黄丸大鼠含药血清对 MDA-MB-435 细胞 48 h 的抑制作用高于 24 h；从含药血清干预细胞的浓度上看，不同浓度的西黄丸大鼠含药血清对 MDA-MB-435 细胞在 24 h 时的抑制作用没有明显的变化，在 48 h 西黄丸大鼠含药血清对 MDA-MB-435 细胞的抑制作用随着浓度的增加而增强，但是差异无统计学意义，这可能是由于西黄丸大鼠含药血清干预 MDA-MB-435 细胞的血清药效在 48 h 时达到一定的稳态，进而呈现规律性增强趋势。

本实验结果同时表明，随着采血时间的推迟，西黄丸大鼠含药血清对 MCF-7 细胞的抑制作用未呈现一定的规律变化，但是在末次给药后 3 h 取血所得的西黄丸大鼠含药血清对 MCF-7 细胞的抑制作用最明显。从培养时间以及含药血清干预细胞的浓度上看，不同培养时间、不同浓度的西黄丸大鼠含药血清对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用没有明显的变化趋势规律。这可能是西黄丸的各种入血成分

对不同的肿瘤细胞的作用强度不同，同时也说明了西黄丸含药血清对 MDA-MB-435 细胞增殖的抑制作用要强于 MCF-7 细胞，间接说明了西黄丸对于雌激素受体阴性的乳腺癌细胞的抑制作用更强，而对于雌激素受体阳性的乳腺癌细胞的抑制作用不强。

综上所述，西黄丸大鼠含药血清在末次给药后 2 h 取血所制得的含药血清对 MDA-MB-435 细胞的抑增殖作用最强，在末次给药后 3 h 所制得的大鼠含药血清对 MCF-7 细胞的抑增殖作用最强。西黄丸含药血清在干预人乳腺癌细胞 48 h 后的血清药效基本上可达到稳态，同时实验结果也初步提示了西黄丸含药血清对于雌激素受体阴性的乳腺癌细胞的抑制作用可能要强于雌激素受体阳性的乳腺癌细胞，其机制尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 毛丹, 黄立中, 周春花, 等. 西黄胶囊治疗术后化疗后三阴乳腺癌 34 例疗效观察 [J]. 新中医, 2014, 46(4): 155-157.
- [2] 周建林, 张武坊, 杨武森, 等. 百令胶囊联合西黄丸对Ⅲ期乳腺癌患者雌激素受体、基质金属蛋白酶、肿瘤标志物及雌激素的影响研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(7): 60-65.
- [3] 梁文波, 张学梅, 宋旦旨. 西黄丸含药血清对人乳腺癌细胞生长的影响 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1371-1372.
- [4] 陈筱婷, 葛鑫宇, 刘彬, 等. 西黄丸含药血清对 SW480 人结肠癌细胞迁移及侵袭的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(2): 136-141.
- [5] 肖桦, 秦旭华, 赖宇, 等. 西黄丸含药血清经 Wnt 信号转导通路细胞周期蛋白 D1 调控人肺癌干细胞增殖的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(15): 172-176.
- [6] 詹红生. 含药血清实验方法及其在中药新药研制中的应用展望 [J]. 浙江中医学院学报, 2000, 24(2): 79-81.
- [7] 洪日, 吴永强, 吴越. 西黄丸辅助治疗中晚期乳腺癌的疗效观察 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1120-1123.
- [8] 孟李, 王宁生. 含药血清的制备方法研究 [J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(5): 290-292.

Relationship between the Pharmacodynamics Intensity and Blood Collection Time of *Xihuang Pills* (西黄丸) Containing Serum in the Intervention of the Proliferation of Human Breast Cancer Cells

HE Lijuan¹, JIN Ran², LI Jinsheng², ZHANG Xiaodi², ZHANG Hantao², ZHU Xiaoguang¹, GU Haiou³

(1. Beijing Tongrentang Technology Development Co., Ltd. Pharmaceutical Factory, Beijing 100079; 2. Beijing Zhongyan Tongrentang Medicine R&D Co., Ltd.; 3. China Beijing Tongrentang [Group] Co., Ltd.)

ABSTRACT **Objective** To investigate the action characteristics of *Xihuang Pills* (西黄丸) containing rat serum on proliferation of human breast cancer cell. **Methods** A total of 48 SD rats were randomly divided into a blank control group of 12 rats, a *Xihuang Pills* 0.5 h group, *Xihuang Pills* 1 h group, *Xihuang Pills* 2 h group and *Xihuang Pills* 3 h group, with 9 rats in each group. *Xihuang Pills* groups were given 2.4 g/(kg · d) *Xihuang Pills* suspension, twice a day. The rats in the blank control group were given an equal volume of distilled water for 7 times. Blood samples were collected from the corresponding groups at the last dose of 0.5, 1, 2, and 3 hours to prepare drug-containing serum. MDA-MB-435 and MCF-7 cells were respectively set to 10% blank serum group, 20% blank serum group, 30% blank serum group, 10% *Xihuang Pills* serum group, 20% *Xihuang Pills* serum group and 30% *Xihuang Pills* serum group, 6 duplicate wells per group. After adding the corresponding drug-containing serum, MTT method was used to detect the inhibitory effect of serum containing *Xihuang Pills* in different blood collection time points and different serum volume fractions on the proliferation of breast cancer cell lines. **Results** Compared with other time points, for the concentration of drug-containing serum in *Xihuang Pills* 24 h and 48 h after administration, the drug-containing serum had the strongest inhibitory effect on MDA-MB-435 cells at 2 h after administration. The drug-containing serum had the strongest inhibitory effects on MCF-7 cells at 3 h after 24, 48 and 72 h after administration ($P < 0.05$); and both were 30% *Xihuang Pills* containing serum had the strongest effects on the proliferation of MDA-MB-435 and MCF-7 cell lines ($P < 0.05$). **Conclusion** The 2 h drug-containing serum of *Xihuang Pills* has the strongest inhibitory effects on MDA-MB-435 cells. The drug-containing serum for 3 h has the strongest inhibitory effect on MCF-7 cells and 30% drug-containing serum had the most strongest inhibitory effects.

Keywords breast cancer; *Xihuang Pills* (西黄丸); cell proliferation; time-effect relationship

(收稿日期: 2018-12-07; 修回日期: 2019-04-12)

编辑: 王利芬

(上接第 1193 页)

Thinking of Syndrome Differentiation and Treatment of Inflammatory Bowel Disease in Traditional Chinese Medicine

ZHANG Tianhan, SHEN Hong

(The Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029)

ABSTRACT Inflammatory bowel disease belongs to the category of “chronic dysentery”, “intestinal afflux” in traditional Chinese medicine (TCM). Its pathogenesis is complex, which is manifested as the mixture of deficiency and excess, the mixture of cold and heat, and attacking both qi and blood. This paper discussed the thinking of syndrome differentiation and treatment as well as treatment principles and methods of inflammatory bowel disease. The treatment should distinguish disease type, disease site and the disease characteristics. It is suggested that deficiency of spleen and kidney is the basis of this disease. Pathological products such as damp-heat, stasis, toxin, phlegm and turbidity detain the veins of intestinal injury, which cause recurrence of the disease, and difficult to recovery. Therapeutically, it is essential to strengthen spleen and kidney, clear away heat and resolve dampness, cool blood and resolve blood stasis, astrinse ulcer and generate muscle. And the treatment should also pay attention to different stages, different levels and different parts. TCM and western medicine treatment is combined when necessary.

Keywords inflammatory bowel disease; deficiency of the spleen and kidney; thinking of syndrome differentiation; traditional Chinese medicine treatment

(收稿日期: 2019-02-20; 修回日期: 2019-03-20)

编辑: 黄健