

替硝唑对盆腔炎模型大鼠血浆和子宫组织中左氧氟沙星药动学的影响[△]

黄艳^{1*}, 孔令希², 王宁^{2#} (1.重庆市南川区人民医院药剂科, 重庆 408400; 2.重庆医科大学附属第一医院药理学部, 重庆 400016)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)31-4360-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.31.12

摘要 目的:探讨替硝唑对盆腔炎模型大鼠血浆和子宫组织中左氧氟沙星(LVFX)药动学的影响。方法:取雌性大鼠,复制慢性盆腔炎模型,将模型大鼠随机分为实验组(替硝唑溶液 100 mg/kg+乳酸 LVFX 混悬液 80 mg/kg)和对照组(乳酸 LVFX 混悬液 80 mg/kg),每组 48 只,建模第 4 天 ig 相应药物,分别于给药后 0.25、0.5、1、1.5、2、4、8、12 h 各处死 6 只大鼠,采集血浆和子宫,以环丙沙星为内标,采用高效液相色谱法测定血浆和子宫组织中 LVFX 浓度, DAS 2.0 软件计算药动学参数。结果:实验组和对照组大鼠血浆和子宫组织的药-时曲线均符合二室模型,主要药动学参数血浆 c_{max} 分别为 (15.17 ± 0.87) 、 (14.94 ± 0.46) $\mu\text{g/ml}$, 子宫组织 c_{max} 分别为 (14.18 ± 1.20) 、 (11.86 ± 0.84) $\mu\text{g/ml}$; 血浆 t_{max} 分别为 (1.42 ± 0.20) 、 (1.5 ± 0.01) h, 子宫组织 t_{max} 分别为 (1.25 ± 0.27) 、 (1.17 ± 0.26) h; 血浆 $t_{1/2\beta}$ 分别为 (7.69 ± 2.61) 、 (7.32 ± 2.80) h, 子宫组织 $t_{1/2\beta}$ 分别为 (7.95 ± 5.29) 、 (9.16 ± 3.00) h; 血浆 $AUC_{0-12\text{h}}$ 分别为 (52.65 ± 6.07) 、 (51.15 ± 3.53) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, 子宫组织 $AUC_{0-12\text{h}}$ 分别为 (52.92 ± 5.87) 、 (42.59 ± 3.91) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; 血浆 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 (61.27 ± 7.93) 、 (58.86 ± 4.58) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, 子宫组织 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 (60.64 ± 7.20) 、 (47.41 ± 4.75) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; 血浆 CL/F 分别为 (1.37 ± 0.26) 、 (1.35 ± 0.10) $\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, 子宫组织 CL/F 分别为 (1.32 ± 0.16) 、 (1.67 ± 0.17) $\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 。两组大鼠子宫组织的 c_{max} 、 $AUC_{0-12\text{h}}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 和 CL/F 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论:替硝唑可明显提高 LVFX 在盆腔炎模型大鼠子宫组织中的吸收,降低其消除率;其对血浆中 LVFX 的吸收几乎无影响。

关键词 替硝唑;左氧氟沙星;盆腔炎;药动学;雌性;大鼠

Effects of Tinidazole on the Pharmacokinetics of Levofloxacin in Plasma and Uterine Tissue of Pelvic Inflammatory Model Rats

HUANG Yan¹, KONG Lingxi², WANG Ning² (1. Dept. of Pharmacy, Chongqing Nanchuan District People's Hospital, Chongqing 408400, China; 2. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of tinidazole on the pharmacokinetics of levofloxacin (LVFX) in plasma and uterine tissue of pelvic inflammatory model rats. METHODS: Female rats were selected to establish chronic pelvic inflammation model. Those model rats were randomly divided into experimental group (tinidazole 100 mg/kg+lactic acid LVFX suspension 80 mg/kg) and control group (lactic acid LVFX suspension 80 mg/kg), with 48 rats in each group. They were given relevant medicine intragastrically 4th day after modeling. 6 rats were respectively sacrificed 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8 and 12 h after medication. The plasma and uterine samples were collected. Using ciprofloxacin as internal standard, the concentrations of LVFX in plasma and uterine tissue were detected by HPLC, and the pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 2.0 software. RESULTS: Plasma concentration-time curves of LVFX in plasma and uterine tissue of rats in experimental group and control group both fit the two-compartment model. The main pharmacokinetics parameters as follows as c_{max} were (15.17 ± 0.87) vs. (14.94 ± 0.46) $\mu\text{g/ml}$ for plasma, (14.18 ± 1.20) vs. (11.86 ± 0.84) $\mu\text{g/ml}$ for uterine tissue; t_{max} were (1.42 ± 0.20) vs. (1.5 ± 0.01) h for plasma, (1.25 ± 0.27) vs. (1.17 ± 0.26) h for uterine tissue; $t_{1/2\beta}$ were (7.69 ± 2.61) vs. (7.32 ± 2.80) h for plasma, (7.95 ± 5.29) vs. (9.16 ± 3.00) h for uterine tissue; $AUC_{0-12\text{h}}$ were (52.65 ± 6.07) vs. (51.15 ± 3.53) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ for plasma, (52.92 ± 5.87) vs. (42.59 ± 3.91) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ for uterine tissue; $AUC_{0-\infty}$ were (61.27 ± 7.93) vs. (58.86 ± 4.58) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ for plasma, (60.64 ± 7.20) vs. (47.41 ± 4.75) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ for uterine tissue; CL/F were (1.37 ± 0.26) vs. (1.35 ± 0.10) $\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ for plasma, (1.32 ± 0.16) vs. (1.67 ± 0.17) $\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ for uterine tissue. There were statistical significance in c_{max} , $AUC_{0-12\text{h}}$, $AUC_{0-\infty}$ and CL/F of uterine tissue between 2 groups ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Tinidazole can obviously increase the distribution of LVFX in the uterine tissue of pelvic inflammatory model rats, reduce the elimination rate but has no effect on the distribution of LVFX in plasma.

KEYWORDS Tinidazole; Levofloxacin; Pelvic inflammation; Pharmacokinetics; Female; Rats

[△] 基金项目:重庆市卫生计生委医学科研计划项目(No.20142188)

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:023-64594596。

E-mail:379754164@qq.com

通信作者:主管药师。研究方向:临床药理。电话:023-68898185。E-mail:244702946@qq.com

盆腔炎(Pelvic inflammatory disease, PID)是由女性生殖道炎症引起的一组疾病,包括子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢脓肿和盆腔腹膜炎等^[1],是妇科常见疾病。PID 能够引起宫外孕、不孕症及慢性盆腔疼痛等妇科疾病,是很多妇科疾病发病的重要因素^[2],严重影响妇女生殖健康及家庭和睦。PID 患

者发病部位较多,病情一般较为复杂,且容易发生混合感染等情况,因此其治疗较为困难。PID常为混合感染,临床上多采用左氧氟沙星(Levofloxacin, LVFX)联合抗厌氧菌药物替硝唑进行治疗^[3],但是联合使用替硝唑后对LVFX在盆腔组织分布的影响尚未见报道,所以有必要从药动学方面探讨替硝唑对LVFX药动学的影响。本研究通过建立大鼠慢性PID模型,采用高效液相色谱(HPLC)法检测模型大鼠血浆和子宫组织中LVFX的浓度,观察联合用药后替硝唑对模型大鼠血浆和子宫组织中LVFX药动学的影响。

1 材料

1.1 仪器

LC-20系列HPLC仪,包括双泵、梯度洗脱、可调波长紫外检测器、自动进样系统和Labsolution工作站(日本岛津公司);GF-1型高速分散器(江苏其林医用仪器厂);TGL-10型高速台式离心机(白洋离心机厂,离心半径:12 cm);SK-1型快速混匀器(江苏中大仪器厂);BP61型电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

乳酸LVFX片(浙江医药股份有限公司新昌制药厂,批号:20140214,规格:每片0.2 g);替硝唑对照品(印度Aarti Drugs公司,批号:140819,纯度:99.5%);LVFX对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130455-200604,纯度:97.3%);环丙沙星(CF,内标,重庆药友制药有限公司,批号:060402,纯度:98.16%);甲醇、二氯甲烷为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

清洁级健康SD大鼠,♀,体质量180~220 g,由重庆医科大学动物实验中心提供,动物合格证号为SCXK(渝)2012-0001。动物实验经重庆医科大学附属南川人民医院伦理委员会论证通过。

1.4 菌种

大肠埃希菌标准菌种,由重庆医科大学附属第一医院传染科实验室提供,使用时用生理盐水配制成浓度为 1.8×10^7 CFU/ml的混悬液。

2 方法与结果

2.1 慢性PID模型的建立

参照文献[4],取大鼠100只,禁食不禁水12 h,iv 3%戊巴比妥钠30 mg/kg麻醉后,剪去下腹正中皮毛,乙醇棉球消毒,于下腹部正中切口2 cm,暴露子宫,用0.1 ml注射器配0.2 ml注射器的针头,于子宫分岔处进针入左右子宫腔内并行黏膜损伤,将 1.8×10^7 CFU/ml的大肠埃希菌混悬液0.1 ml多点注入。建模完成缝合大鼠腹壁肌肉皮肤,碘伏消毒伤口后放回鼠笼,术后自由进食及饮水。

2.2 分组与给药

成模后,将大鼠随机分为实验组和对照组,每组48只。实验组大鼠于建模第4天ig替硝唑溶液(100 mg/kg,按人临床常用剂量折算)和乳酸LVFX混悬液(80 mg/kg,按人临床常用剂量折算),对照组大鼠同法ig相同质量浓度的乳酸LVFX混悬液。

2.3 标本采集

于给药后的0.25、0.5、1、1.5、2、4、8、12 h分别取各组6只大鼠处死,采集血样,并取出子宫。血样经5 000 r/min离心后吸取血浆;子宫经滤纸吸干,称质量后剪碎放入试管中,加入2 ml生理盐水,制成组织匀浆;血浆和组织匀浆均置于-20 °C低温冰箱中保存,用于LVFX浓度的测定。

2.4 样品的处理

分别取血浆、子宫组织匀浆上清液500 μ l,均加入33.6 μ g/ml的CF溶液30 μ l,涡旋10 s混匀后,加入4 ml二氯甲烷,涡旋提取1 min,3 000 r/min离心2 min,静置分层,取下层有机

相,50 °C水浴氮气吹干,加入100 μ l流动相复溶,涡旋混匀,进样40 μ l。

2.5 LVFX血浆与组织浓度的测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱:Amethyst C₁₈-II(100 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇(0.008 mol/L)-磷酸盐缓冲液(0.5 mol/L)-四丁基氯化铵(25:75:4, V/V/V),流速:0.4 ml/min;紫外检测波长:290 nm;柱温:40 °C;进样量:40 μ l。

2.5.2 专属性考察 取空白血浆、空白子宫组织匀浆、空白血浆+LVFX+CF、空白子宫组织匀浆+LVFX+CF及给药1 h后的血浆样品和子宫组织匀浆样品,处理后进样测定,记录色谱。结果显示,LVFX与CF二者峰形良好,且均不受内源性物质干扰;LVFX保留时间为5.0 min左右,其与CF达到基线分离,分离度大于1.5。色谱图见图1。

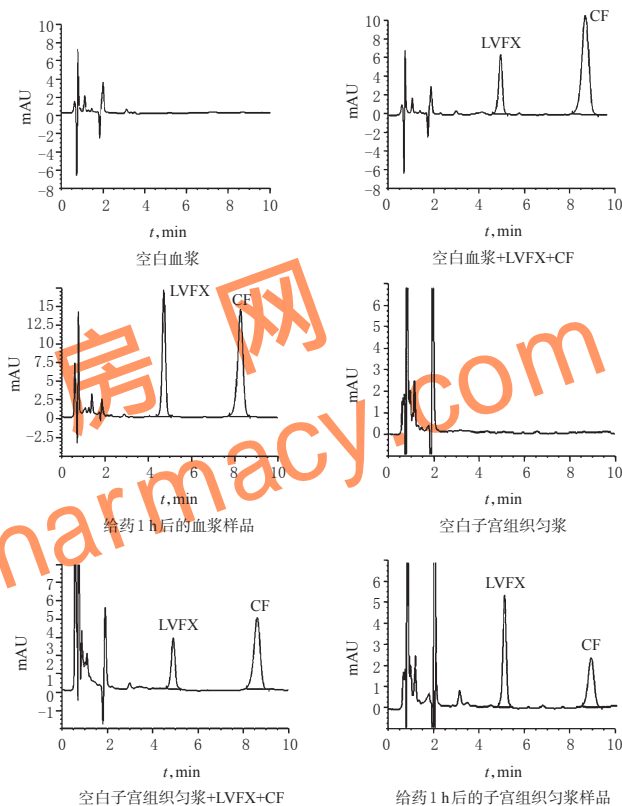


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.5.3 线性关系考察 在空白血浆和空白子宫组织匀浆中加入LVFX使其质量浓度分别为18.432、11.52、5.76、2.88、1.44、0.72、0.36、0.18 μ g/ml和7.936、3.968、1.984、0.992、0.496、0.248、0.124、0.062 μ g/ml,按“2.4”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积。以LVFX峰面积与CF峰面积之比(y)为纵坐标、LVFX质量浓度(x)为横坐标进行回归分析。得血浆样品中LVFX的回归方程为 $y_{\text{血浆}} = 3.313 9x_{\text{血浆}} - 0.322$ ($r = 0.999 9$),线性范围为0.18~18.432 μ g/ml,定量下限为0.18 μ g/ml;子宫组织匀浆样品中LVFX的回归方程为 $y_{\text{子宫}} = 3.032 2x_{\text{子宫}} - 0.277 8$ ($r = 0.999 9$),线性范围为0.062~7.936 μ g/ml,定量下限为0.062 μ g/ml。

2.5.4 精密度试验 制备含LVFX高、中、低质量浓度的血浆样品(11.52、2.88、0.36 μ g/ml)和子宫组织匀浆样品(3.968、0.992、0.248 μ g/ml),每个质量浓度5份,按“2.4”项下方法处理后进样测定,记录峰面积。同日内测定5次,考察日内精密度;连续测定5 d,考日间精密度。结果显示,高、中、低质量浓度血浆样品峰面积的日内RSD分别为4.32%、7.31%、8.42% ($n = 5$),日间RSD分别为3.25%、4.68%、6.12% ($n = 5$);子宫组织

匀浆样品峰面积的日内RSD分别为4.30%、4.93%、8.84% (n=5), 日间RSD分别为5.63%、4.72%、7.26% (n=5)。

2.5.5 冻融稳定性 制备含LVFX高、中、低质量浓度的血浆样品(11.52、2.88、0.36 μg/ml)和子宫组织匀浆样品(3.968、0.992、0.248 μg/ml), 每个质量浓度3份, 经反复冻融后, 按“2.4”项下方法处理, 进样测定, 记录峰面积。结果显示, 高、中、低质量浓度血浆样品的峰面积RSD分别为4.84%、9.66%、3.98% (n=3); 子宫组织匀浆样品的峰面积RSD分别为6.27%、4.32%、6.38% (n=3)。

2.5.6 回收率试验 制备含LVFX高、中、低质量浓度的血浆样品(11.52、2.88、0.36 μg/ml)和子宫组织匀浆样品(3.968、0.992、0.248 μg/ml), 每个质量浓度5份, 按“2.4”项下方法处理后, 进样测定, 记录峰面积, 依据回归方程计算LVFX浓度, 计算方法回收率。结果显示, 高、中、低质量浓度血浆样品的方法回收率分别为(100.01 ± 5.9)%、(97.63 ± 7.83)%、(95.43 ± 8.95)% (n=5); 子宫组织匀浆样品的方法回收率分别为(96.21 ± 5.75)%、(97.09 ± 2.69)%、(101.82 ± 9.6)% (n=5)。

2.5.7 基质效应考察 同“2.5.6”项下方法测定高、中、低质量浓度的血浆样品和子宫组织匀浆样品中LVFX的峰面积; 另取同上质量浓度的LVFX甲醇液500 μl, 氮气吹干后流动相复溶, 测定其中LVFX的峰面积, 计算基质效应。结果显示, 高、中、低质量浓度血浆样品的基质效应分别为(96.18 ± 4.88)%、(96.04 ± 6.83)%、(100.91 ± 3.88)% (n=5); 子宫组织匀浆样品的基质效应分别为(97.88 ± 3.98)%、(94.55 ± 3.23)%、(98.29 ± 7.84)% (n=5)。

2.6 药-时曲线

取两组大鼠不同时间点的血浆样品和子宫组织匀浆样品, 按“2.4”项下方法处理后, 进样测定, 记录峰面积, 依据回归方程计算LVFX浓度, 绘制药-时曲线, 结果见图2。

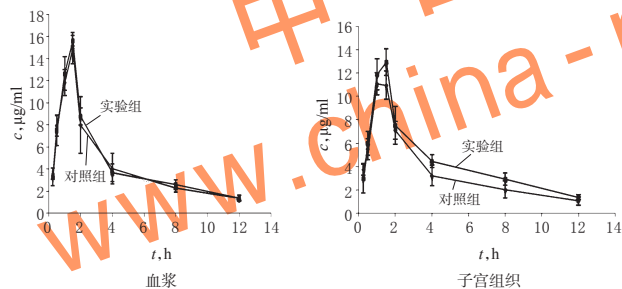


图2 两组大鼠血浆与子宫组织中LVFX的药-时曲线(n=6)

Fig 2 Plasma concentration-time curves of LVFX in plasma and uterine tissue of rats in two groups (n=6)

2.7 药动学参数

采用DAS 2.0软件自动拟合两组大鼠血浆样品和子宫组织匀浆样品中LVFX浓度的数据结果, 按二室模型计算药动学参数。采用PASS 17.0软件进行统计分析, 组间比较行t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。两组大鼠体内LVFX的药动学参数见表1。

由表1可知, 两组大鼠血浆样品中LVFX的药动学参数差异均无统计学意义($P > 0.05$); 两组大鼠子宫组织中LVFX的药动学参数 c_{max} 、 AUC_{0-12h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 和 CL/F 差异有统计学意义($P < 0.05$), 这说明联用替硝唑后, LVFX在子宫组织的达峰时间和分布均有所提高, 药物在子宫组织的清除减慢。

3 讨论

LVFX体内浓度的测定可采用HPLC法, 此法简便、灵敏、回收率高、重复性好^[5]。本研究采用有机相二氯甲烷一次性萃取, 简单方便, 萃取率高。在流动相选择上, 本研究采取低浓

表1 两组大鼠体内LVFX的药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of LVFX in rats of two groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	血浆样品		子宫组织样品	
	实验组	对照组	实验组	对照组
$c_{max}, \mu\text{g/ml}$	15.17 ± 0.87	14.94 ± 0.46	14.18 ± 1.20*	11.86 ± 0.84
t_{max}, h	1.42 ± 0.20	1.50 ± 0.01	1.25 ± 0.27	1.17 ± 0.26
$t_{1/2\beta}, \text{h}$	7.69 ± 2.61	7.32 ± 2.80	7.95 ± 5.29	9.16 ± 3.00
$AUC_{0-12h}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	52.65 ± 6.07	51.15 ± 3.53	52.92 ± 5.87*	42.59 ± 3.91
$AUC_{0-\infty}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$	61.27 ± 7.93	58.86 ± 4.58	60.64 ± 7.20*	47.41 ± 4.75
$CL/F, \text{L}/(\text{kg}\cdot\text{h})$	1.37 ± 0.26	1.35 ± 0.10	1.32 ± 0.16*	1.67 ± 0.17
$V, \text{L/kg}$	3.56 ± 1.73	2.65 ± 1.02	2.78 ± 0.52	3.39 ± 0.57

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$

Note: vs. control group, * $P < 0.05$

度甲醇和较高浓度磷酸盐缓冲液加上一定量的离子极化剂四丁基溴化铵, 该流动相可避开血浆或组织中杂峰对药物峰的影响, 使药物与内标充分分离, 峰形良好。本文所采用的方法可适用于生物样品中LVFX的测定。

PID是妇科常见病及多发病, 引起PID的致病菌通常分为内源性 & 外源性两种, 内源性病原体为来自寄居于阴道内的菌群, 主要包括需氧菌(葡萄球菌、链球菌、大肠埃希菌等)及厌氧菌(消化链球菌、消化球菌及脆弱类杆菌等); 外源性病原体包括沙眼衣原体、淋病奈瑟菌及支原体等。多数引起PID的致病微生物是由阴道上行而来的, 且多为混合感染, 并常为需氧菌及厌氧菌同时感染。在选择抗菌药物时, 应注意抗菌谱应覆盖这些常见病病原体与厌氧菌^[6], 临床常用硝基咪唑类联合头孢菌素或氟喹诺酮类药物(对头孢菌素过敏时)治疗PID。

LVFX是氧氟沙星的左旋体, 抗菌活性约高于氧氟沙星2倍, 主要机制是通过抑制细菌DNA的复制发挥药效, LVFX的生物利用度可高达99%, 吸收迅速且组织渗透性强, 在血浆及组织中药物浓度高, 适用于敏感菌引起的轻、中度泌尿生殖系统感染, 尤其是PID感染^[7]。硝基咪唑类药物包括甲硝唑、奥硝唑、替硝唑等, 主要用于厌氧菌感染的治疗, 临床上多采用LVFX联合抗厌氧菌药物治疗PID^[8]。两种抗菌药物联合针对PID常见致病菌及厌氧菌广覆盖, 两者合用具有协同作用, 在临床上疗效显著。但是对于联合用药后对LVFX的药动学是否改变还未见研究报道。LVFX属于浓度依赖性的抗菌药物, 联合用药后LVFX的浓度是否增加对于治疗效果及不良反应的发生密切相关, 所以有必要从药动学方面探讨联合用药后替硝唑对LVFX药动学的影响。

本研究通过建立大鼠慢性PID模型, 用HPLC法检测模型大鼠血浆和子宫组织中LVFX的浓度, 观察联合用药后替硝唑对模型大鼠血浆和子宫组织中LVFX药动学的影响。结果显示, 替硝唑与LVFX联合后, 替硝唑可明显提高后者在模型大鼠子宫组织中的药物浓度, 并且可明显改变LVFX在子宫组织分布的药动学参数, 如 c_{max} 、 AUC_{0-12h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 CL/F 。这提示替硝唑可通过增加LVFX在子宫组织中浓度, 达到提高药效的目的。替硝唑提高LVFX在子宫组织中浓度可能是因为替硝唑有较强的抗炎作用, 可改善子宫组织周围的炎症反应, 降低肿胀, 使微循环得到改善, 进而有益于LVFX到达子宫组织而提高其浓度。如图2所示, 子宫组织中LVFX药物浓度的增加均呈现在给药后4~6h后。但该作用是否与替硝唑直接影响血管的舒缩有关, 尚有待进一步探讨。本研究对PID的联合用药的药动学相互作用作了初步的探索, 可为临床用药提供参考。

参考文献

[1] 秦君璞, 张帝开. 盆腔炎性疾病与盆腔痛[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(3): 170.

云芝多糖对小鼠黑色素瘤 B16 细胞体外增殖和凋亡的影响及其机制^Δ

魏士杰^{1*}, 陈文强^{2#}(1. 陕西理工大学附属医院, 陕西 汉中 723000; 2. 陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723000)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)31-4363-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.31.13

摘要 目的: 研究云芝多糖(CVP)对小鼠黑色素瘤 B16 细胞体外增殖、凋亡的影响及其机制。方法: 采用 MTT 法测定以二甲亚砜(DMSO, 阴性对照)和 0(空白对照)、0.156、0.312 5、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 μg/ml CVP 分别培养细胞 48、72 h 后的细胞存活率, 计算半数抑制浓度(IC₅₀); 流式细胞术测定以 DMSO(阴性对照)和 0(空白对照)、0.5 μg/ml CVP 分别培养细胞 24、48、72 h 后的细胞凋亡率; 实时荧光定量聚合酶链式反应法测定以 DMSO(阴性对照)、0.5 μg/ml CVP 培养细胞 48、72 h 后细胞中凋亡相关基因 P53、Bcl-2、Fas mRNA 的表达。结果: 0.156~10.0 μg/ml CVP 对 B16 细胞的生长均有抑制作用, 并在 0.156~0.625 μg/ml 范围内呈浓度和时间依赖性, 培养 48、72 h 的 IC₅₀ 分别为(0.32±0.01)、(0.18±0.04) μg/ml。0.5 μg/ml CVP 培养细胞 24、48、72 h 后, 细胞凋亡率较阴性对照和空白对照均明显升高($P<0.01$); 0.5 μg/ml CVP 培养细胞 48、72 h 后, 细胞中 P53、Bcl-2、Fas mRNA 表达水平较阴性对照明显降低($P<0.01$)。结论: CVP 可抑制小鼠 B16 细胞的增殖并诱导其凋亡, 其机制可能与下调细胞中 P53、Bcl-2 和 Fas 基因的表达有关。

关键词 云芝多糖; 黑色素瘤 B16 细胞; 增殖; 凋亡; 体外

Effects of *Coriolus versicolor* Polysaccharides on Proliferation and Apoptosis of Murine Melanoma B16 Cell *in vitro* and Its Mechanism of Action

WEI Shijie¹, CHEN Wenqiang²(1. Center Hospital Affiliated to Shaanxi Sci-Tech University, Shaanxi Hanzhong 723000, China; 2. School of Biological Science and Engineering, Shaanxi Sci-Tech University, Shaanxi Hanzhong 723000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of *Coriolus versicolor* polysaccharides (CVP) on *in vitro* proliferation and apoptosis of murine melanoma B16 cell and its mechanism. **METHODS:** MTT assay was used to determine the survival rate of murine melanoma B16 cell after cultured with DMSO (negative control), 0 (blank control), 0.156, 0.312 5, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 and 10.0 μg/ml CVP for 48, 72 h, and the IC₅₀ was calculated. Flow cytometry was used to determine the apoptotic rate of murine melanoma B16 cell after cultured with DMSO (negative control), 0 (blank control), 0.5 μg/ml CVP for 24, 48, 72 h. Quantitation Real-time PCR (qRT-PCR) was used to determine the mRNA expression of cell apoptosis-related gene P53, Bcl-2 and Fas in murine melanoma B16 cell after cultured with DMSO (negative control), 0.5 μg/ml CVP for 48, 72 h. **RESULTS:** 0.156-10.0 μg/ml CVP could inhibit the growth of B16 cells, in concentration and time-dependent manner within 0.156-0.625 μg/ml; IC₅₀ of B16 cells after cultured for 48 and 72 h were (0.32±0.01), (0.18±0.04) μg/ml. After cultured with 0.5 μg/ml CVP for 24, 48, 72 h, apoptotic rates of B16 cells were increased significantly, compared to negative control and blank control ($P<0.01$). After cultured with 0.5 μg/ml CVP for 48, 72 h, mRNA expression of P53, Bcl-2 and Fas were decreased significantly, compared to negative control ($P<0.01$). **CONCLUSIONS:** CVP can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of B16 cells, the mechanism of which may be associated with the expression down-regulation of P53, Bcl-2 and Fas gene.

KEYWORDS *Coriolus versicolor* polysaccharides; Murine melanoma B16 cell; Proliferation; Apoptosis; *in vitro*

[2] 杨秀英. 盆腔炎致病因素 100 例分析[J]. 中外医疗, 2009, 28(20): 2.

[3] 孔熙. 左氧氟沙星联合替硝唑治疗盆腔炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(14): 1 536.

[4] 黄丽, 孙培文, 罗隽, 等. 慢性盆腔炎模型的建立与评价

Δ 基金项目: 陕西省“13115”科技创新工程计划项目(No. 2008 ZDGC-04)

* 主治医师。研究方向: 药用真菌对肿瘤细胞的影响。E-mail: 448347936@qq.com

通信作者: 教授。研究方向: 药用真菌资源的开发和利用。电话: 0916-2642832。E-mail: wenqiangc@126.com

[J]. 中南药学, 2010, 8(6): 469.

[5] 颜永芽, 周燕文, 石全, 等. 盐酸左氧氟沙星片人体药动学及生物等效性研究[J]. 中国药房, 2008, 19(26): 2 033.

[6] 刘朝晖, 廖秦平. 盆腔炎性疾病致病微生物及治疗方案研究[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26(7): 522.

[7] 黄华民. 盐酸左氧氟沙星在盆腔炎治疗中的临床疗效及安全性评估[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(7): 989.

[8] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 盆腔炎性疾病诊治规范: 草案[J]. 中华妇产科杂志, 2008, 43(7): 556.

(收稿日期: 2016-06-02 修回日期: 2016-06-27)

(编辑: 邹丽娟)