

顺铂联合 8-硝基白杨素对人卵巢癌细胞裸鼠移植瘤生长的影响

陈丽, 白军(杭州市红十字会医院妇产科, 杭州 310003)

摘要: 目的 研究顺铂联合 8-硝基白杨素对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤生长的影响。方法 建立人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠皮下移植瘤模型, 随机分成 4 组, 每组 5 只: 生理盐水组、8-硝基白杨素组、顺铂组、8-硝基白杨素+顺铂组。观察各组裸鼠移植瘤体积、重量及裸鼠体质量的变化; 裸鼠血清乳酸脱氢酶、谷丙转氨酶、肌酐值和外周血白细胞计数的变化; FCM 测定瘤组织细胞凋亡率; Western blot 分析瘤组织细胞凋亡的可能分子生物学机制。结果 与顺铂组和 8-硝基白杨素组相比, 顺铂联合 8-硝基白杨素联合作用 COC1 细胞裸鼠移植瘤后, 移植瘤的体积、移植瘤的重量均明显降低($P<0.05$); 与顺铂组相比, 顺铂联合 8-硝基白杨素联合作用裸鼠体质量无明显差异($P>0.05$), 裸鼠血清乳酸脱氢酶、谷丙转氨酶、肌酐值和外周血白细胞计数无明显差异($P>0.05$); 顺铂和 8-硝基白杨素联合作用 COC1 细胞 16 d 后, COC1 细胞发生凋亡, 同时 bcl-2 蛋白表达降低, caspase-3 蛋白表达增高。结论 顺铂联合 8-硝基白杨素通过降低 bcl-2 蛋白表达, 活化 caspase-3 蛋白表达来抑制人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤生长。

关键词: 卵巢癌; 8-硝基白杨素; 顺铂; 移植瘤; 凋亡

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)03-0246-05

Effect of 5,7-Dihydroxyl-8-nitro Chrysin Combination with Cisplatin on the Growth of Human Ovarian Carcinoma COC1 Cells Xenografts in Nude Mice

CHEN Li, BAI Jun(Department of Obstetric and Gynecology of Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of 5,7-dihydroxyl-8-nitro chrysin(8-NOChR) combination with cisplatin(DDP) on the growth of human ovarian carcinoma COC1 cells xenografts in nude mice. **METHODS** Models of human ovarian cancer COC1 cells xenografts transplanted subcutaneously in nude mice were established, and randomly divided into four groups: saline group, 8-NOChR group, DDP group, 8-NOChR combination with DDP group. Tumor volume, tumor weight and the weight of nude mice were measured. The serum levels of LDH, ALT, Cr and WBC counts were determined. The rate of apoptotic cells of human ovarian carcinoma COC1 cells xenografts was analyzed by PI stained FCM. The expressions of bcl-2 protein and caspase-3 protein of COC1 cells xenografts were determined by Western blot. **RESULTS** There were significant difference in tumor volume and tumor weight between the nude mice treated with 8-NOChR combined with DDP and those treated with 8-NOChR or DDP($P<0.05$). There were no difference in the weight of nude mice and in the serum levels of LDH, ALT, Cr and WBC number in the nude mice treated 8-NOChR combined with DDP comparing with those treated with DDP($P>0.05$). The xenografts cells treated with 8-NOChR combined with DDP showed apoptosis. Western blot showed that expression of caspase-3 protein was upregulated and protein level of bcl-2 was depressed after treatment with 8-NOChR combined with DDP. **CONCLUSION** 8-NOChR and DDP have synergistic effects on the growth inhibition of human ovarian carcinoma COC1 cells xenografts in nude mice. Mechanism may be downregulation of bcl-2 expression and activation of caspase-3 expression.

KEY WORDS: ovarian cancer; 8-NOChR; cisplatin; xenografts; apoptosis

顺铂(cisplatin, DDP)是中心以二价铂同两个氯原子和两个氨分子结合的重金属络合物, 它抗癌谱广、作用强、与多种抗肿瘤药有协同作用、且无交叉耐药等特点, 目前顺铂及其衍生物为联合化疗中最常用的药物之一, 尤其在卵巢癌治疗方面效果显著^[1-2]。8-硝基白杨素(5,7-二羟基-8-硝基黄酮, 8-NOChR)是一种新型黄酮类抗肿瘤药物, 近几年文献报道 8-NOChR 体外有抑制肿瘤细胞增

殖, 诱导肿瘤细胞凋亡的作用, 在肿瘤治疗方面受到人们的关注, 但体内对人卵巢癌细胞的作用尚未报道^[3]。因此, 本实验通过建立人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠皮下移植瘤模型, 观察 8-NOChR 对该移植瘤生长的抑制作用及其诱导移植瘤细胞凋亡的作用, 并进一步探讨 8-NOChR 体内诱导 COC1 细胞凋亡的细胞分子生物学机制, 为卵巢癌的临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

8-硝基白杨素(5,7-二羟基-8-硝基黄酮, 8-NOChR), 参照文献[4]由湖南师范大学药物工程实验室曹建国教授合成惠赠; 人卵巢癌 COC1 细胞株购自武汉大学中国典型培养物保藏中心(亲代卵巢癌细胞 COC1 来自分化差的人卵巢癌患者癌性腹水, 由中国医学科学院肿瘤所 1993 年建株); RPMI-1640(Gibco); 新生小牛血清(杭州四季青, 批号: 20110512); 顺铂(山东齐鲁制药, 批号: WA2A1208052); 兔抗 caspase-3(Beyotime); 鼠抗 bcl-2 (Abzoom); 突变系 SPF 级 Balb/c-nu 小鼠 20 只, 4~6 周龄、♀、体质量 14~18 g, 由北京维通利华实验动物技术公司提供[合格证号: 0093102; 许可证号: SCXK(京)2007-0001]; 于无菌屏蔽环境(百级无菌室)中饲养。

1.2 仪器与设备

Epics-XL 型流式细胞仪(美国 Coulter 公司), 结果用 Multicycle 软件分析。垂直电泳仪和电泳槽为美国 BIO-RAD 公司产品, 结果用 Alpha Imager 2200 软件分析。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度下培养; 细胞贴壁生长于培养基中, 取对数生长期细胞用于实验。

1.3.2 人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠皮下移植瘤模型治疗实验 每只裸鼠颈部皮下注射 COC1 细胞 2×10^6 个。待移植瘤体积约为 90 mm³ 时(接种后 30 d), 按瘤体积和荷瘤鼠体质量均衡原则随机将 20 只成瘤裸鼠分成 4 组: 生理盐水组(NS 组)、8-NOChR 组(10 mg·kg⁻¹)、DDP 组(1 mg·kg⁻¹)、8-NOChR(10 mg·kg⁻¹)+DDP(1 mg·kg⁻¹)组。各组均每日皮下注射给药 1 次, 共 16 次。给药期间每 4 d 用游标卡尺测量移植瘤最长径和最短径, 计算皮下移植瘤体积($V=L \times W^2 \times 0.52$), 绘制移植瘤生长曲线, 每 4 d 称取裸鼠体质量 1 次, 绘制裸鼠体质量生长曲线^[5]。末次给药 48 h 后, 摘除眼球取血, 外周血白细胞计数及检测血清乳酸脱氢酶(LDH)、谷丙转氨酶(ALT)和肌酐(Cr)值。切取皮下移植瘤, 称取瘤重, 瘤重抑制率/%=(1-实验组瘤重均值/对照组瘤重均值)×100%。实验结束统计数值时, 去除一个离心的最大值和一个最小值, 实际样本数

目取 3 只。

1.3.3 PI 染色 FCM 分析 取瘤组织约 10 mm³, 用 4 °C 的 PBS 清洗 2 次。用眼科剪反复剪碎组织块后, 200 目尼龙网过滤 2 次, 制成单细胞悬液; 取 1×10^6 细胞, PBS 清洗 2 遍后, 加入 4 °C 的 75% 乙醇混匀固定, 4 °C 过夜后 PI 避光染色 30 min, 流式细胞仪检测^[6], 以上实验重复 3 次。

1.3.4 Western blot 印迹检测 取瘤组织细胞, 加入细胞裂解液冰面裂解提取蛋白, 取 30 μg 定量样品用 SDS-PAGE 电泳分离后将蛋白转移至 PVDF 膜上, 再用 5% 脱脂牛奶-TBST 室温摇床封闭 2 h, 一抗于 37 °C 孵育 3 h, 二抗于 37 °C 孵育 1 h, ECL 发光剂激发荧光, 压片显影定影^[7]。结果用灰度扫描仪处理分析。

1.4 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 组间均数比较用 One-Way ANOVA 分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤生长的影响

各实验组处理移植瘤 16 d 后, DDP 组和 8-NOChR 组对 COC1 细胞移植瘤生长抑制率分别为 19.15% 和 23.10%, 与 NS 对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 而 DDP+8-NOChR 组对 COC1 细胞移植瘤生长抑制明显增强, 抑制率为 89.37%, 大于 DDP 组和 8-NOChR 组单独作用于移植瘤的抑制率之和 42.25%, 表现出协同作用, 与 NS 对照组相比, 差异有统计学意义($P < 0.01$); DDP+8-NOChR 组与 DDP 组或 8-NOChR 组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 1。

2.2 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤重量的影响

给药后 16 d 处死裸鼠, 切取皮下移植瘤并称取其重量, 8-NOChR 组和 DDP 组皮下移植瘤重量低于 NS 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 8-NOChR+DDP 组皮下移植瘤重量显著低于 NS 组, 差异有显著统计学意义($P < 0.01$); 8-NOChR+DDP 组皮下移植瘤重量低于 8-NOChR 组和 DDP 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且 8-NOChR+DDP 组抑制率大于 8-NOChR 组和 DDP 组抑制率之和, 提示 8-NOChR 联合 DDP 抗肿瘤有协同作用。结果见表 1。

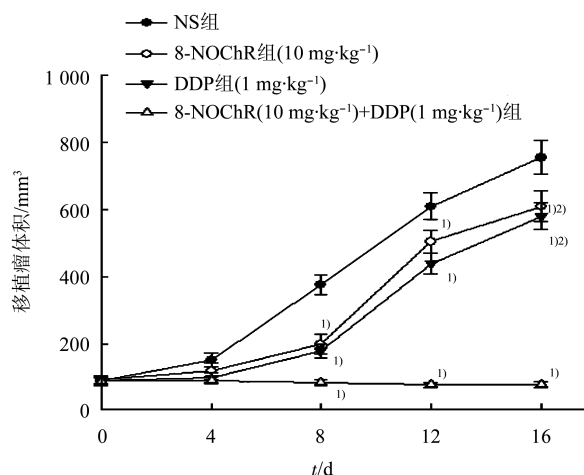


图1 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤生长的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与 8-NOChR +DDP 组比较, ²⁾ $P<0.05$

Fig 1 Effect of 8-NO-ChR combination with DDP on the growth of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with 8-NOChR +DDP group, ²⁾ $P<0.05$

表2 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 2 Effect of 8-NO-ChR combination with DDP on the nude mice weight of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组 别	裸鼠体质量/mg				
	第 0 天	第 4 天	第 8 天	第 12 天	第 16 天
NS 组	21.4±0.5	22.5±0.5	23.7±0.6	24.7±1.2	26.4±0.7
8-NOChR 组	20.1±0.7	21.4±0.4	22.4±0.7	23.2±0.6	24.1±0.7
DDP 组	19.7±0.6	21.4±0.4	18.5±1.2 ¹⁾	18.8±1.5 ¹⁾	17.0±2.5 ¹⁾
8-NOChR+DDP 组	19.9±0.8	20.7±0.6	16.8±0.8 ¹⁾	19.2±0.2 ¹⁾	16.0±0.3 ¹⁾

注: 与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$

2.4 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤 WBC 及 ALT、LDH、Cr 值的影响

8-NOChR 组治疗后裸鼠 WBC 及 ALT、LDH、Cr 值与 NS 组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。与 NS 组比较, DDP 组与 8-NOChR+DDP 组治疗后裸鼠 LDH 值显著升高, 差异有统计学意义($P<0.05$); ALT 值均升高, 但差异无统计学意义($P>0.05$); Cr 值均升高, DDP 组与 NS 组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 8-NOChR+DDP 组与 NS 组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); WBC 值均降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。DDP 组与 8-NOChR+DDP 组之间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表 3。

表1 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤重量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 1 Effect of 8-NO-ChR combination with DDP on the weight of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组 别	瘤重/mg	抑制率/%
NS 组	391±1.19	—
8-NOChR 组	315±1.46	19.44 ¹⁾²⁾
DDP 组	298±1.52	23.78 ¹⁾²⁾
8-NOChR +DDP 组	89±1.90	77.24 ¹⁾

注: 与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与 8-NOChR +DDP 组比较, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with 8-NOChR +DDP group, ²⁾ $P<0.01$

2.3 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠体质量的影响

8-NOChR 组治疗后裸鼠体质量与 NS 组相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), DDP 组与 8-NOChR+DDP 组治疗后裸鼠体质量明显降低, 与 NS 组比较差异有统计学意义($P<0.05$), DDP 组与 8-NOChR 联合 DDP 组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表 2。

表3 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤 WBC 及 ALT、LDH、Cr 值的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 3 Effect of 8-NO-ChR combination with DDP on the number of WBC,ALT,LDH and Cr of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组 别	LDH/ U·L ⁻¹	ALT/ U·L ⁻¹	Cr/ U·mol ⁻¹ ·L ⁻¹	WBC/ 1×10 ⁹ ·L ⁻¹
NS 组	945±313	68±12	64±6	7.96±1.62
8-NOChR 组	1 005±256	72±19	58±5	7.31±1.58
DDP 组	2 411±435 ¹⁾	81±15	80±12	4.67±1.15 ¹⁾
8-NOChR+DDP 组	2 578±238 ¹⁾	84±26	86±7 ¹⁾	4.07±1.26 ¹⁾

注: 与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$

Note: Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$

2.5 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤细胞凋亡的影响

各实验组对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤均有诱导凋亡的作用, 凋亡率分别为 16.6%, 27.3%、48%, 与 NS 组(凋亡率 1.64%)相比均有统计学意义($P<0.01$)。分别与 8-NOChR 组和 DDP 组比较, 8-NOChR+DDP 组凋亡率升高, 差异有统计学意义($P<0.01$)。结果见图 2。

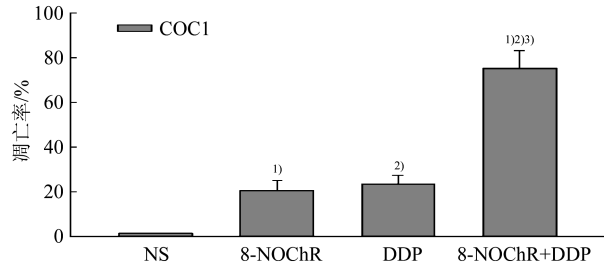


图 2 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)
与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与 8-NOChR 组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 DDP 组比较, ³⁾ $P<0.05$

Fig 2 Effect of 8-NOChR combination with DDP on apoptosis rate of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s, n=3$)
Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with 8-NOChR group, ²⁾ $P<0.05$; compared with DDP group, ³⁾ $P<0.05$

2.6 Western blot 印迹检测结果

经 NS 组、8-NOChR 组、DDP 组和 8-NOChR+DDP 组处理人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤 16 d 后, Western blot 检测结果显示, 与 NS 组比较, 经 8-NOChR+DDP 处理 COC1 裸鼠移植瘤细胞, bcl-2 蛋白表达降低, caspase-3 蛋白表达增高, 差异有统计学意义($P<0.01$)。而 DDP 组和 8-NOChR 组蛋白表达无明显变化, 两组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见图 3。

3 讨论

本实验分别检测了 DDP、8-NOChR、8-NOChR+DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠皮下移植瘤生长影响, 发现与 DDP 和 8-NOChR 单独作用人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠皮下移植瘤相比较, DDP+8-NOChR 对该移植瘤细胞生长有显著抑制作用, 其值为 DDP 和 8-NOChR 单独作用的抑制率之和, 提示 DDP 和 8-NOChR 联合使用有协同作用; 与 DDP 组相比较, DDP+8-NOChR 组裸鼠体质量并不受影响, 血中 WBC、LDH、ALT 和 Cr 没有明显改变; 取瘤组织细胞 FCM 检测发现, DDP+8-

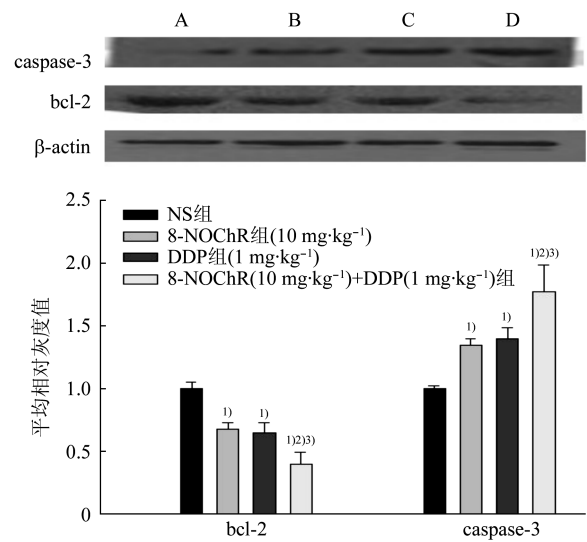


图 3 8-NOChR 联合 DDP 对人卵巢癌 COC1 细胞裸鼠移植瘤蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

与 NS 组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与 8-NOChR 组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与 DDP 组比较, ³⁾ $P<0.05$

Fig 3 Effect of 8-NO-ChR combination with DDP on expressions of protein of human ovarian cancer COC1 cell xenografts in nude mice($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compared with NS group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with 8-NOChR group, ²⁾ $P<0.05$; compared with DDP group, ³⁾ $P<0.05$

NOChR 在体内有诱导 COC1 细胞凋亡的效应, 说明诱导凋亡可能是 DDP+8-NOChR 抑制人卵巢癌 COC1 细胞生长的机制之一, 进而用蛋白质印迹的方法检测了 DDP 联合 8-NOChR 对蛋白表达的影响。

caspase-3 是哺乳动物胱天蛋白酶(cysteiny aspartate-specific protease,caspase)家族中极其重要的一员, 是细胞凋亡的执行人, 它可以直接降解细胞内的结构蛋白和功能蛋白引起细胞凋亡, 在正常情况下, caspase-3 是以无活性的酶原形式存在。在各种诱因的作用下, 酶原被切割而激活, 活化后的 caspase-3 具有在天冬氨酸残基后切断肽键的能力, 可以使细胞质、细胞核、细胞骨架的重要蛋白降解失活, 是执行细胞凋亡的最关键的酶, 也是引发凋亡的蛋白酶级联反应中的核心蛋白酶。药物通过 caspase-3 途径诱导肿瘤细胞凋亡时, 一方面是促进 caspase-3 蛋白的表达, 另一方面是促进 caspase-3 的活化^[8-9]。本实验表明: 8-NOChR 组、DDP 组和 DDP+8-NOChR 组分别作用于 COC1 细胞裸鼠移植瘤后, 移植瘤生长均受到抑制, 细胞均出现凋亡, caspase-3 蛋白表达均增高, 但 DDP+8-NOChR 组 caspase-3 蛋白增高的幅度大于 8-NOChR 组和 DDP 组, 提示 DDP 可能

通过某种途径敏化 8-NOChR 诱导凋亡的作用。这与 Ai 等^[3]报道的 8-NOChR 体外作用人胃癌 SGC-7901 细胞的结果相似。

bcl-2 癌基因是一种定位于线粒体膜、内质网膜以及外核膜上的一种抑癌基因,它通过阻止细胞凋亡的早期环节而发挥作用的,可阻止或降低细胞皱缩、染色质浓缩和 DNA 裂解的发生^[10]。本实验表明:8-NOChR 组和 DDP+8-NOChR 组作用于 COC1 细胞裸鼠移植瘤后,移植瘤生长均受到抑制,细胞均出现凋亡,bcl-2 蛋白表达均降低,但 DDP+8-NOChR 组 bcl-2 蛋白降低的幅度大于 8-NOChR 组,提示 DDP 可能通过某种途径敏化 8-NOChR 诱导凋亡的作用。这与 Ai 等^[3]报道的 8-NOChR 体外作用人胃癌 SGC-7901 细胞的结果相似。

本研究表明,8-NOChR 在抑制肿瘤生长的同时,对裸鼠外周血 WBC 水平和血清 ALT、Cr 和 LDH 值无明显影响,也不影响小鼠体质量,而 DDP 有降低 WBC 的作用和肾毒性,同时使小鼠体质量明显减轻。DDP 联合 8-NOChR 作用于肿瘤细胞后,毒性没有增加,而肿瘤细胞的生长抑制作用却明显的提高,提示 DDP 具有敏化 8-NOChR 抗肿瘤生长作用,两种药物联合在抗肿瘤作用方面表现为协同作用,两种药物联合使用在肿瘤临床治疗方面有广阔的应用前景。但是 DDP 具有敏化 8-NOChR 体内的机制尚无报道,因此,有关 DDP 联合 8-NOChR 体内抗肿瘤作用的机制需要进一步研究。

REFERENCES

- [1] LIU X H, DONG L, HOU X Y, et al. Enhancement of Aloe polysaccharide on inhibitory effects of cisplatin on growth of lung adenocarcinoma in nude mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(12): 1080-1084.
- [2] SU W, HUANG L, AO Q, et al. Noscaphine sensitizes chemoresistant ovarian cancer cells to inhibition of HIF-1 α [J]. Cancer Lett, 2011, 305(1): 94-99.
- [3] AI X H, ZHENG X, TANG X Q, et al. Induction of apoptosis of human gastric carcinoma SGC-7901 cell line by 5, 7-dihydroxy-8-nitrochrysin *in vitro* [J]. 2007, 13(28): 3824-3828.
- [4] PALEM C R, GANNU R, YAMSANI S K, et al. Development of a high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of pioglitazone and felodipine in pig serum: application to pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr, 2011, 25(8): 952-958.
- [5] DALMO J, RUDQVIST N, SPETZ J, et al. Biodistribution of ¹⁷⁷Lu-octreotate and ¹¹¹In-minigastrin in female nude mice transplanted with human medullary thyroid carcinoma GOT2 [J]. Oncol Rep, 2012, 27(1): 174-181.
- [6] HUANG T, GONG W H, LI X C, et al. Induction of apoptosis by a combination of paclitaxel and carboplatin in the presence of hyperthermia [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(1): 81-85.
- [7] NADIN S B, CUELLO-CARRION F D, SOTTILE M L, et al. Effects of hyperthermia on Hsp27 (HSPB1), Hsp72 (HSPA1A) and DNA repair proteins hMLH1 and hMSH2 in human colorectal cancer hMLH1-deficient and hMLH1-proficient cell lines [J]. Int J Hyperthermia, 2012, 28(3): 191-201.
- [8] LU B, XU Y, XU L, et al. Mechanism investigation of dioscin against CCl₄-induced acute liver damage in mice [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2012, 34(2): 127-135.
- [9] WANG C M, LI H X, ZHANG X F. Effect of artesunate on the expression of caspase-3 in human embryonic lung fibroblasts [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(1): 11-14.
- [10] RÖTHIG A, SCHRECKENBERG R, WEBER K, et al. Effects of nicotine on PTHrP and PTHrP receptor expression in rat coronary endothelial cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2012, 29(3/4): 485-492.

收稿日期: 2012-06-28

应用 UPLC 研究亚胺培南在大鼠体内的药动学

方洁^a, 张剑萍^b, 张建华^{a*} (上海交通大学附属第六人民医院, a. 儿内科; b. 药剂科, 上海 200233)

摘要: 目的 建立灵敏的超高效液相色谱法测定大鼠血浆中亚胺培南的浓度。方法 血浆样品采用乙腈蛋白沉淀方法, 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈; 以 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠(85%磷酸调 pH 至 7.0)-甲醇(45:55)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 35 °C; 检测波长为 295 nm。结果 亚胺培南血药浓度在 0.5~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好($r=0.9997$), 最低检测限为 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 日内、日间 RSD 均 $\leq 10\%$, 提取回收率在 80.5%~81.2%之间。6 只 SD 大鼠单剂量口服给予亚胺培南后药动学参数分别为: C_{max} (75.3 $\pm$ 6.2) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $t_{1/2}$ (6.72 $\pm$ 1.58)h; AUC_{0-4} (694.1 $\pm$ 28.3)h· $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ (746.2 $\pm$ 32.9)

作者简介: 方洁, 女, 副主任医师 Tel: (021)64369181 E-mail: fangjiecy@yeah.net
(021)64369181 E-mail: zjh12195@163.com

*通信作者: 张建华, 男, 博士, 主任医师 Tel: