

重组去整合素 rAdinbitor 对肝癌细胞 H22 生长的抑制作用^Δ

刘雪梅^{1,2*}, 王冬梅², 王 众³, 田余祥^{1#}, 赵宝昌¹(1.大连医科大学生物化学教研室, 辽宁大连 116044; 2.赤峰学院生物化学教研室, 内蒙古赤峰 024000; 3.大连医科大学七年制 2009 级, 辽宁大连 116044)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)09-0790-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.09.08

摘要 目的:探讨源于白眉蝮蛇的重组去整合素 rAdinbitor 对肝癌细胞 H22 生长的抑制作用及其机制。方法:通过诱导重组表达、纯化、鉴定等步骤获得 rAdinbitor;采用右腋皮下注射 1×10^6 个 H22 细胞制备肝癌小鼠模型,随机分为模型组(0.9%氯化钠注射液 0.2 ml/kg)、阳性对照组(重组人血管内皮抑制素 1.65 mg/kg)和高、中、低剂量治疗组(rAdinbitor 5、1.25、0.5 mg/kg),每组 8 只,肌肉注射相应药物,每日 1 次,连续给药 3 周后处死小鼠,取瘤称质量,镜下观察肿瘤组织切片中 5 个视野下的血管数量。结果:成功诱导表达并纯化 rAdinbitor,其蛋白含量为 1.4 mg/ml,相对分子质量约为 9 kD。各组小鼠瘤质量和血管数量分别为模型组:(1.513 ± 0.922) g 和 3.34 ± 0.58 ;阳性对照组:(0.562 ± 0.304) g 和 1.33 ± 0.58 ;高剂量治疗组:(0.318 ± 0.205) g 和 1.18 ± 0.56 ;中剂量治疗组:(0.434 ± 0.323) g 和 1.32 ± 0.60 ;低剂量治疗组:(0.536 ± 0.328) g 和 1.35 ± 0.58 。与模型组比较,各剂量治疗组小鼠的瘤质量和血管数量均明显下降($P < 0.05$);与阳性对照组比较,中、高剂量治疗组小鼠的瘤质量差异有统计学意义($P < 0.05$),高剂量治疗组小鼠的血管数量差异有统计学意义($P < 0.05$),其余差异无统计学意义。结论:rAdinbitor 对 H22 细胞的生长具有明显的抑制作用,其机制可能是抑制肿瘤组织周边新血管的形成。

关键词 rAdinbitor;去整合素;肝癌细胞 H22;血管新生;抑制作用

Inhibitory Effect of Recombinant Disintegrin rAdinbitor on the Growth of H22 Hepatoma Cells

LIU Xue-mei^{1,2}, WANG Dong-mei², WANG Zhong³, TIAN Yu-xiang¹, ZHAO Bao-chang¹(1.Dept. of Biochemistry, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 2.Dept. of Biochemistry, Chifeng College, Inner Mongolia Chifeng 024000, China; 3.Grade 2009, Seven-year-system, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the inhibitory effect and mechanism of recombinant disintegrin rAdinbitor from *Gloydius blomhoffii brevicaudus* on the growth of H22 hepatoma cells. METHODS: rAdinbitor was obtained after recombinant expression, purification and identification. Hepatic cancer model was induced by 1×10^6 H22 cells subcutaneously via right armpit. Model mice were randomly divided into model group (0.9% Sodium chloride injection 0.2 ml/kg), positive control group (recombinant human endostatin 1.65 mg/kg) and high-dose, medium-dose and low-dose groups (rAdinbitor 5, 1.25 and 0.5 mg/kg) with 8 rats in each group. They were given relevant drugs intramuscularly once a day for consecutive 3 weeks. Mice were sacrificed and tumors were weighted. The vesicular number of 5 visual fields was counted under the microscope. RESULTS: The total protein reached 1.4 mg/ml and relative molecular mass was 9 kD after rAdinbitor was induced and purified successfully. The tumor weight and vascular number of each group were (1.513 ± 0.922) g and 3.34 ± 0.58 in model group, (0.562 ± 0.304) g and 1.33 ± 0.58 in positive control group, (0.318 ± 0.205) g and 1.18 ± 0.56 in high-dose group, (0.434 ± 0.323) g and 1.32 ± 0.60 in medium-dose group and (0.536 ± 0.328) g and 1.35 ± 0.58 in low-dose group. Compared with model group, tumor weight and vascular number of other groups were decreased significantly ($P < 0.05$); compared with positive control group, there was statistical significance in tumor weight of medium-dose and high-dose groups ($P < 0.05$). There was statistical significance in vascular number of high-dose group ($P < 0.05$); there was no other statistical significance. CONCLUSIONS: The growth of H22 hepatoma cells is inhibited by rAdinbitor significantly, which may be associated with inhibiting the formation of tumor vessel.

KEYWORDS rAdinbitor; Disintegrin; H22 hepatoma cells; Angiogenesis; Inhibitory effects

去整合素(Disintegrin)是一组源于出血性蛇毒抗黏附蛋白质的总称,因其强力的拮抗整合素(Integrin)作用而得名。

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30572141)

* 副教授,硕士研究生。研究方向:肿瘤的基因治疗。E-mail: liuxuemei8263838@sohu.com

通信作者:教授,硕士研究生导师。研究方向:肿瘤的基因治疗。电话:0411-86110307。E-mail:tianyx@126.com

去整合素多为单链蛋白质,相对分子质量为 5~9 kD,其特征是富含半胱氨酸残基并且多含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列(RGD)或赖氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列(KGD)的亲水性模体,与跨细胞膜的整合素具有很高的亲和力^[1-3]。

本研究室从中国旅顺白眉蝮蛇(*Gloydius blomhoffii brevicaudus*)毒腺中提取总 RNA,利用自行设计的引物进行逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)扩增,获得了 219 bp 的白眉蝮蛇去

整合素基因。将该基因进行克隆、转化和诱导后,高效表达了带有组氨酸标签的可溶性融合蛋白,获得了相对分子质量约为9 kD的均质蛋白,命名为rAdinbitor。我们的前期工作表明,rAdinbitor具有抑制血小板聚集和血管新生的功能^[4],以及抑制人肝癌SSMC7721细胞的增殖、迁移和促进细胞凋亡的作用^[5]。本研究选取另一种肝癌细胞株H22,旨在进一步探讨rAdinbitor对肿瘤细胞生长的抑制作用及其作用机制,为其将来的开发利用奠定实验基础。

1 材料

1.1 仪器

TDL 40B 高速低温离心机(德国 Zentifug 公司);Tanon GIS-100 凝胶成像系统[天能科技(上海)有限公司];JY92-II 型超声波细胞破碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);UV-754 型分光光度计(上海第三分析仪器厂);组氨酸亲和层析柱(德国 Novagen 公司)。

1.2 药品与试剂

重组人血管内皮抑制素注射液(山东先声麦得津生物制药有限公司,批号:20120206102011396,规格:15 mg:3 ml);氨苄西林片[石药集团中诺药业(石家庄)有限公司,批号:08081017,规格:每片 250 mg];低分子质量蛋白 marker(美国 Amersham Biosciences 公司);异丙基硫代半乳糖苷(IPTG,宝生物工程(大连)有限公司,批号:9030);三羟甲基氨基甲烷(Tris,美国 Sigma 公司,批号:T8060-100);三(羟甲基)甲基甘氨酸(Tricine,美国 Amresco 公司,批号:E170/22561);鼠源 β -肌动蛋白(β -actin,美国 Santa Cruz 公司,批号:sc-47778);ECL 化学发光试剂盒(美国 Pierce 公司,批号:32106)。

1.3 菌株和细胞株

重组表达菌 BL21/pET23b-rAdinbitor(大连医科大学生物化学教研室构建);H22 肿瘤细胞株购自中国科学院上海细胞库。

1.4 动物

40 只 BALB/C 小鼠(SPF 级),8 周龄,体质量约 20 g,♂ ♀ 各半,由大连医科大学实验动物中心提供,使用许可证:SYXK(辽)2008-0002。

2 方法

2.1 BL21/pET23b-rAdinbitor 的 IPTG 诱导表达

取冻存于 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的重组表达菌 BL21/pET23b-rAdinbitor 接种于 5 ml LB 培养液(含氨苄西林 100 mg/L)中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养 5 h。按 1:100 比例转入 LB 培养液(含氨苄西林 100 mg/L)中继续培养至 600 nm 波长处的光密度(OD)为 0.6,达到对数生长期。加入 IPTG 至 IPTG 终浓度为 0.6 mmol/L, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 诱导培养 2、3、4、5、6 h。

取上述诱导表达不同时间的培养物 100 ml 于 250 ml 离心管中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, $10\ 000\times g$ 离心 10 min,弃上清液,收获细菌;以每 100 ml 培养液加入 4 ml 冷的 $1\times$ Bind buffer[5 mmol/L 咪唑,0.5 mol/L NaCl,20 mmol/L Tris-HCl(pH 7.9)]悬浮收获的细菌,冰上超声裂解细菌(功率 200 W,每次 5 s,间隔 10 s); $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, $12\ 000\times g$ 离心 10 min,收集上清液。采用考马斯亮蓝(Bradford)法测定上清液中的蛋白含量。

2.2 亲和层析法对诱导表达的 rAdinbitor 进行纯化及其电泳鉴定

吸去 His-BindColumn 亲和层析柱上室贮液,打开下面管口,用 10 ml $1\times$ Bind buffer 对柱子进行平衡。将超声裂解离心后收集的上清液经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,将滤液上柱。用 10 ml

$1\times$ Bind buffer 洗柱,再用 10 ml $1\times$ Wash buffer[60 mmol/L 咪唑,0.5 mol/L NaCl,20 mmol/L Tris-HCl(pH 7.9)]洗柱,最后用 5 ml $1\times$ Elute buffer[1 mmol/L 咪唑,0.5 mol/L NaCl,20 mmol/L Tris-HCl(pH 7.9)]洗脱目的蛋白,收集流出液。采用 Bradford 法测定所收集的流出液中的蛋白含量。

采用 18% Tricine-十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)及蛋白印迹法鉴定总蛋白及亲和层析纯化后蛋白,以确定相对分子质量为 9 kD 的 rAdinbitor 的存在。

2.3 建模、分组、给药及肿瘤生长抑制实验

取小鼠 40 只,小鼠右腋下接种 1×10^6 个 H22 细胞,随机分为模型组(0.9%氯化钠注射液 0.2 ml/kg)、阳性对照组(重组人血管内皮抑制素 1.65 mg/kg)和高、中、低剂量治疗组(rAdinbitor 5、1.25、0.5 mg/kg,剂量依据预实验和药理学药物剂量原则所得),每组 8 只,肌肉注射相应药物,每日 1 次。连续给药 3 周后处死小鼠,称瘤质量,苏木精-伊红(HE)染色镜下观察肿瘤组织切片 5 个视野下的血管数量。

2.4 数据处理

应用 SPSS13.0 统计分析软件进行数据的均方差分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 BL21/pET23b-rAdinbitor 的 IPTG 诱导表达结果

结果显示,诱导培养 2、3、4、5、6 h 后,BL21/pET23b-rAdinbitor 的蛋白含量分别为 1.902、2.168、2.385、2.907、2.601 mg/ml,以诱导 5 h 的蛋白含量最高。

3.2 亲和层析法纯化诱导表达的 rAdinbitor 及其电泳鉴定结果

18% Tricine-SDS-PAGE 和蛋白印迹法鉴定结果显示, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, IPTG 诱导重组菌表达 5 h,总蛋白提取物见 9 kD 的 rAdinbitor 条带,亲和层析纯化和蛋白印迹法鉴定为单一条带,纯化后的蛋白含量为 1.4 mg/ml。Tricine-SDS-PAGE 鉴定重组 rAdinbitor 表达见图 1(图中 1~3:亲和层析纯化后蛋白;4~6:超声裂解表达菌提取总蛋白;M:低分子质量蛋白标准),蛋白印迹法鉴定重组 rAdinbitor 表达见图 2(图中 M:低分子质量蛋白标准;1:亲和层析纯化后蛋白;2:超声裂解表达菌提取总蛋白)。

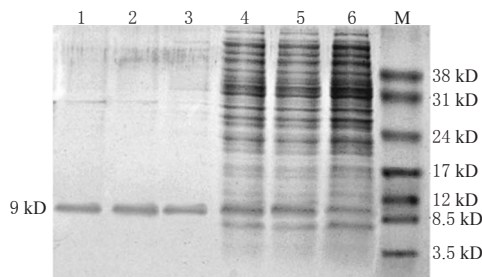


图 1 Tricine-SDS-PAGE 鉴定重组 rAdinbitor 表达

Fig 1 Identification of the expression of recombinant rAdinbitor by Tricine-SDS-PAGE

3.3 rAdinbitor 对 H22 肿瘤质量的影响

结果显示,与模型组比较,高、中、低治疗组小鼠的瘤质量明显减小($P<0.05$);与阳性对照组比较,高、中剂量治疗组小鼠的瘤质量明显减小($P<0.05$),具体见表 1。

3.4 rAdinbitor 对 H22 肿瘤组织血管数量的影响

镜下观察 HE 染色瘤组织切片血管数量,可见动、静脉血管。动脉血管管壁略厚,管壁可见平滑肌细胞,管腔内可见数

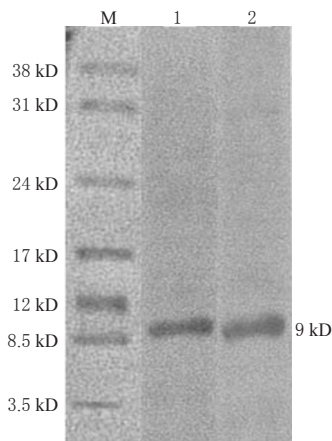


图2 蛋白印迹法鉴定重组 rAdinbitor 表达

Fig 2 Identification of the expression of recombinant rAdinbitor by Western blotting

表1 各组小鼠的瘤质量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 1 Comparison of tumor weight in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 瘤质量, g |
|--------|-----------------|
| 模型组 | 1.513 ± 0.922 |
| 阳性对照组 | 0.562 ± 0.304 |
| 高剂量治疗组 | 0.318 ± 0.205** |
| 中剂量治疗组 | 0.434 ± 0.323** |
| 低剂量治疗组 | 0.536 ± 0.328* |

与模型组比较: * $P < 0.05$; 与阳性对照组比较: # $P < 0.05$

vs. model group: * $P < 0.05$; vs. positive control group: # $P < 0.05$

个染色鲜红的红细胞。与模型组比较,高、中、低剂量治疗组小鼠瘤组织血管数量均明显下降($P < 0.05$);与阳性对照组比较,高剂量治疗组小鼠瘤组织血管数量明显下降($P < 0.05$),各组小鼠瘤组织切片血管数量比较见表2。

表2 各组小鼠瘤组织血管数量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Comparison of vascular number of tumor tissues in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 血管数/5个视野 |
|--------|---------------|
| 模型组 | 3.34 ± 0.58 |
| 阳性对照组 | 1.33 ± 0.58 |
| 高剂量治疗组 | 1.18 ± 0.56** |
| 中剂量治疗组 | 1.32 ± 0.60* |
| 低剂量治疗组 | 1.35 ± 0.58* |

与模型组比较: * $P < 0.05$; 与阳性对照组比较: # $P < 0.05$

vs. model group: * $P < 0.05$; vs. positive control group: # $P < 0.05$

4 讨论

蛇毒是自然界最复杂的天然毒性蛋白质混合物之一,具有非常广泛的生物活性,很早就引起国内外学者的注意。去整合素可凭借其分子中的RGD序列成为细胞外基质与细胞表面整合素间强有力的竞争性拮抗剂^[6-7]。整合素是一细胞表面受体的异源二聚体家族,是一组跨膜糖蛋白,目前已知有18种不同的 α 亚基和8种不同的 β 亚基,组成至少24种异源二聚体^[8]。整合素主要介导细胞与细胞外基质以及细胞间的黏附,对细胞增殖、分化、转移、凋亡等方面都有重要的作用。含有RGD模体的蛇源去整合素可与整合素 $\alpha\beta3$ 结合,表现出抑制肿瘤生长、侵袭和迁移的作用^[9-11],可用于治疗肿瘤^[12-13]。

本研究通过用IPTG诱导重组表达菌BL21/pET23b-rAdin-

bitor表达重组蛇源的去整合素 rAdinbitor,并观察 rAdinbitor对H22肝癌细胞生长的抑制作用。重组人血管内皮抑制素(商品名:恩度)在2005年被原国家食品药品监督管理局正式批准为生物制品一类抗肿瘤新药,为血管生成抑制类重组蛋白药品,已进入临床治疗肿瘤,故本研究以重组人血管内皮抑制素作为阳性对照。结果表明,高、中、低治疗组小鼠的瘤质量和镜下血管数都明显低于模型组($P < 0.05$);与阳性对照组相比,高、中剂量治疗组小鼠的抑瘤效果明显优于阳性对照组($P < 0.05$),高剂量治疗组的血管数差异也有统计学意义($P < 0.05$),说明重组的白眉蝮蛇去整合素 rAdinbitor对H22肝癌细胞的生长有明显的抑制作用。肿瘤组织周边血管生成是影响肿瘤细胞生长的主要原因,肿瘤组织新生血管的生成可为肿瘤细胞的生长提供氧气和必要的营养物质。阻遏肿瘤血管的生成就可抑制肿瘤细胞的生长,此即为肿瘤的“饥饿疗法”。本研究的结果表明, rAdinbitor具有良好的抑制血管生成的作用,说明 rAdinbitor抑制肿瘤生长的这种作用机制可能与抑制肿瘤组织周边血管的形成有关。

参考文献

- [1] Calvete JJ, Marcinkiewicz C, Monleón D, et al. Snake venom disintegrins: evolution of structure and function[J]. *Toxicon*, 2005, 45(8): 1 063.
- [2] Takeya H, Nishida S, Nishino N, et al. Primary structures of platelet aggregation inhibitors (disintegrins) autoproteolytically released from snake venom hemorrhagic metalloproteinases and new fluorogenic peptide substrates for these enzymes[J]. *J Biochem*, 1993, 113(4): 473.
- [3] Swenson S, Ramu S, Markland FS. Anti-angiogenesis and RGD-containing snake venom disintegrins[J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(28): 2 860.
- [4] Wang JH, Wu Y, Ren F, et al. Cloning and characterization of adinbitor, a novel disintegrin from the snake venom of *Agkistrodonhalys brevicaudus stejnegeri*[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2004, 36(6): 425.
- [5] 胡燕荣, 刘淑清, 田余祥, 等. 白眉蝮蛇去整合素 Adinbitor对Akt信号转导通路及对SSMC7721细胞增殖、迁移和凋亡的影响[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2009, 25(7): 662.
- [6] Gould RJ, Polokoff MA, Friedman PA, et al. Disintegrins: a family of integrin inhibitory proteins from viper venoms [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1990, 195(2): 168.
- [7] Montenegro CF, Salla-Pontes CL, Ribeiro JU, et al. Blocking $\alpha v \beta 3$ integrin by a recombinant RGD disintegrin impairs VEGF signaling in endothelial cells[J]. *Biochimie*, 2012, 94(8): 1 812.
- [8] Berman AE, Kozlova NI. Integrins: structure and functions [J]. *Membr Cell Biol*, 2000, 13(2): 207.
- [9] Yeh CH, Peng HC, Yang RS, et al. Rhodostomin, a snake venom disintegrin, inhibits angiogenesis elicited by basic fibroblast growth factor and suppresses tumor growth by a selective $\alpha v \beta 3$ blockade of endothelial cells[J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59(5): 1 333.
- [10] Kang IC, Kim DS, Jang Y, et al. Suppressive mechanism of salmosin, a novel disintegrin in B16 melanoma cell me-

氚标记小牛胸腺DNA在大鼠和犬体内的药动学研究

杨硕晔^{1*}, 陈西敬²(1.河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001; 2.中国药科大学药物代谢动力学研究中心, 南京 210009)

中图分类号 R965;R751.05 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)09-0793-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.09.09

摘要 目的:研究氚标记小牛胸腺DNA(³H-小牛胸腺DNA)在大鼠和Beagle犬体内的药动学特征。方法:采用氘水交换法制备³H-小牛胸腺DNA。取大鼠尾静脉注射高、中、低剂量(15、5、1.67 mg/kg, n=5)的³H-小牛胸腺DNA, 中、高剂量组大鼠连续给药7 d(第1、7天给予³H-小牛胸腺DNA, 其余时间给予未标记小牛胸腺DNA), 低剂量大鼠仅单次给药;另取犬前肢静脉注射高、中、低剂量(1.5、0.5、0.167 mg/kg, n=3)的³H-小牛胸腺DNA, 中剂量犬连续给药7 d, 低、高剂量犬仅单次给药。分别于第1、7天给药后0.033、0.25、1、2、4、6、8、12、24 h取血, 分离血浆后加入闪烁液并使用液闪计数仪分析, 以WinNonlin软件计算药动学参数。结果:高、中、低剂量³H-小牛胸腺DNA在大鼠体内的药动学参数分别为:单次给药的AUC_{0-24h}为(11 742±2 245)、(3 571±851)、(727±202) ng·Eq·h/g, t_{1/2}为(21.4±5.08)、(13±6.0)、(6.8±1.76) h;重复给药高、中剂量的AUC_{0-24h}为(5 706±1 009)、(7 601±1 861) ng·Eq·h/g, t_{1/2}为(16.0±10.13)、(9±2.7) h。高、中、低剂量³H-小牛胸腺DNA在犬体内的药动学参数分别为:单次给药的AUC_{0-24h}为(4 444±999)、(2 719±139)、(501±101) ng·Eq·h/g, t_{1/2}为(17.6±7.57)、(14.0±1.76)、(16.4±2.39) h;重复给药中剂量的AUC_{0-24h}为(3 073±200) ng·Eq·h/g, t_{1/2}为(20.6±6.62) h。结论:³H-小牛胸腺DNA在大鼠与Beagle犬体内单次给药和重复给药均可被快速消除。

关键词 氚标记小牛胸腺DNA; 大鼠; Beagle犬; 药动学

Pharmacokinetics Study of Tritium-labeled Calf Thymus DNA in Rats and Dogs

YANG Shuo-ye¹, CHEN Xi-jing² (1.College of Bioengineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 2.Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the pharmacokinetic characteristics of tritium-labeled calf thymus DNA (³H-ctDNA) in rats and Beagle dogs. METHODS: Isotope exchange method was used to synthesize ³H-ctDNA. The rats were given high-dose, medium-dose and low-dose of ³H-ctDNA via tail vein injection (15, 5, 1.67 mg/kg, n=5); high-dose and medium-dose groups were given ³H-ctDNA for consecutive 7 days (injecting with ³H-ctDNA on first and seventh day and non-labeled calf thymus DNA on other days) while low-dose group was given ³H-ctDNA just once. Dogs were given high-dose, medium-dose and low-dose of ³H-ctDNA via forelimb vein (1.5, 0.5, 0.167 mg/kg, n=3); medium-dose group was given ³H-ctDNA for consecutive 7 days while other two groups were given ³H-ctDNA just once. The blood samples were collected 0.033 h, 0.25 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h and 24 h after medication on first and seventh day, respectively. Scintillation solution was added into samples after separating plasma, and then analyzed with scintillation count. The pharmacokinetic parameters were estimated by using WinNonlin software. RESULTS: Pharmacokinetic parameters of high-dose, medium-dose and low-dose of ³H-ctDNA in rats were as follows: in single dose, AUC_{0-24h} were (11 742±2 245) ng·Eq·h/g, (3 571±851) ng·Eq·h/g and (727±202) ng·Eq·h/g, t_{1/2} were (21.4±5.08) h, (13±6.0) h and (6.8±1.76) h; in multiple dose, AUC_{0-24h} of high-dose and medium-dose were (5 706±1 009) ng·Eq·h/g and (7 601±1 861) ng·Eq·h/g, t_{1/2} were (16.0±10.13) h and (9±2.7) h. Pharmacokinetic parameters of high-dose, medium-dose and low-dose of ³H-ctDNA in Beagle dogs were as follows: in single dose, AUC_{0-24h} were (4 444±999) ng·Eq·h/g, (2 719±139) ng·Eq·h/g and (501±101) ng·Eq·h/g, t_{1/2} were (17.6±7.57) h, (14.0±1.76) h and (16.4±2.39) h; in multiple dose, AUC_{0-24h} of medium-dose were (3 073±200) ng·Eq·h/g, t_{1/2} were (20.6±6.62) h. CONCLUSIONS: Single dose and multiple doses of ³H-ctDNA are rapidly eliminated in rats and Beagle dogs.

KEYWORDS Tritium-labeled calf thymus DNA; Rats; Beagle dogs; Pharmacokinetics

- tastasis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275(1): 169.
- [11] Selistre-de-Araujo HS, Pontes CL, Montenegro CF, et al. Snake venom disintegrins and cell migration[J]. *Toxins*, 2010, 2(11): 2 606.
- [12] Paolillo M, Russo MA, Serra M, et al. Small molecule integrin antagonists in cancer therapy[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9(12): 1 439.
- [13] Vivas D, Inga R, Yarlequé A. Potential use of snake venom components in cancer treatment[J]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 2012, 29(3): 396.

* 讲师, 博士。研究方向: 药剂学与药动学。电话: 0371-67756371。E-mail: yangshuozechaut@163.com

(收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-10-24)