

长氯化铵所致心律失常小鼠和肾上腺素诱发急性水肿小鼠的存活时间^[21]。发酵云芝多糖对组胺引起豚鼠皮肤血管通透性亢进和小鼠浮肿有明显的抑制效应,对肾上腺素引起小鼠水肿有保护作用^[22]。

3.10 镇痛镇静作用:小鼠腹腔注射 5%PSP 上清液 12.5 mg/10 g,对照组给同体积生理盐水,用醋酸扭体法观察其镇痛作用。PSP 组 10 min 内扭体数为 2.6 ± 6.3 ,对照组为 25.0 ± 10.1 ($P < 0.01$),说明 PSP 有显著镇痛作用^[1]。给小鼠腹腔注射 PSP,观察其自活动明显减少,表现出镇静作用^[1]。对 PSP 抑制小鼠自活动活动和轮转活动初步研究也表明其具有较明显镇痛镇静作用^[23]。

3.11 其它作用:小鼠腹腔注射云芝多糖对致突变剂环磷酰胺引起染色体损伤有对抗作用,对香烟烟雾染毒致突变也有对抗作用^[24]。小鼠腹腔注射 PSP 可显著提高小鼠耐缺氧能力,给药组与对照组存活时间均值分别为 $1\ 972 \pm 196$ s 和 $1\ 495 \pm 174$ s ($P < 0.001$)^[1]。

综上所述,云芝多糖具有广泛的药理活性。现已获中药二类新药证书并正式投产。随着临床应用日益增多,研究方法不断改进,可

望取得更大进展。

参考文献

- 1 胡月娟,等. 中成药,1988,11:29
- 2 张利明,等. 中国医药工业杂志,1989,20(6):252
- 3 蔡本联,等. 中成药,1991,13(7):45
- 4 王 望,等. 中国药理学与毒理学,1990,4(1):70
- 5 阎玉森,等. 解放军医学杂志,1985,10(3):183
- 6 任宝柱,等. 中国肿瘤临床,1993,20(5):348
- 7 胡其乐,等. 中国抗生素杂志,1988,13(6):425
- 8 方静芬,等. 抗生素,1982,7(3):178
- 9 胡月娟,等. 中成药,1990,12(11):23
- 10 钮 振,等. 抗生素,1986,11(5):386
- 11 陈鸿珊,等. 抗生素,1986,11(5):390
- 12 赵景颜,等. 辽宁中医杂志,1992,19(2):26
- 13 宋 武,等. 中国药理学通报,1985,4:216
- 14 蔡仙德,等. 中草药,1986,17(5):44
- 15 邓文龙,等. 抗生素,1983,8(6):403
- 16 邓文龙,等. 抗生素,1985,10(1):47
- 17 谭建权,等. 中成药,1992,14(9):25
- 18 王汉涛,等. 中国药学杂志,1993,28:722
- 19 竺 青,等. 中成药,1990,12(11):29
- 20 李怀义,等. 中国药理学报,1993,14(增刊):44
- 21 巫冠中,等. 中国药科大学学报,1991,22(5):301
- 22 谢谨灼,等. 广州医药,1988,19(5):36
- 23 高菊芳,等. 中草药,1996,27(10):607
- 24 杭秉茜,等. 南京药学院学报,1986,17(4):305

(1997-04-02 收稿)

东亚钳蝎毒素的研究及应用

沈阳药科大学(110015) 付爱玲* 牟孝硕 张宝凤**

东亚钳蝎 *Buthus martensii* Karsch, (简称 BmK) 即问荆蝎,广泛分布于我国和东亚地区。用电刺激法将其含毒腺的尾末节剪下研磨萃取即可采得蝎毒。蝎毒包括一系列短链多肽(少于 40 个氨基酸残基)和长链多肽(60~70 个氨基酸残基)。其中长链毒素按作用对象可分为三类:抗哺乳动物神经毒素、抗昆虫神经毒素和抗甲壳纲类动物神经毒素。

国内对 BmK 毒素的研究始于 80 年代初,目前

已取得一些进展。不同 BmK 毒素的功能有着显著差异,因而是研究结构与功能的理想药物;并且抗昆虫毒素有望成为新型生物杀虫剂。另外,蝎还是一种名贵中药,对一系列神经疾患,如神经麻痹、半身不遂、癫痫、中风等症有重要的医疗价值。因此,蝎毒不仅有重要的研究价值,还展现了广阔的应用前景。

1 BmK 毒素多肽的一级结构研究

1.1 传统方法:粗毒以水提取后,经 Sephadex G50

* 付爱玲 女,1993 年开封医专毕业,后在开封医专药物研究所工作。1996 年至今在沈阳药科大学生理教研室就读硕士学位,从事时间药理学研究。

** 指导教师

和 SP-Sephadex G-25 柱层析,选择适当成分,进行纯化、鉴定(聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦电泳、SDS-PAGE 测分子量),确定不同毒素氨基酸组成。

1.2 分子克隆技术:从 BmK 尾腺中分离纯化 mR-NA 逆转录得到 cDNA,再用 PCR 技术进行扩增。扩增产物经纯化、克隆、筛选后,双酶切处理装入测序载体,经测序确定 BmK 神经毒素的 cDNA 基因序列。根据测定的 cDNA 序列推导出毒素前体,再与其它同源蝎毒对比,确定成熟毒蛋白的氨基酸排列顺序。迄今为止,已测出 5 个抗哺乳动物神经毒素及 3 个抗昆虫神经毒素的氨基酸排列顺序^[1~4]。

就总体而言,BmK 各类毒素的氨基酸组成有许多相似之处:分子中大多含有较多的 Cys,组成 4~5 对二硫键;Asp、Gly 含量也较多;几乎都不含 Met;His 的含量也较少等。不同的毒素因其结构中存在细微差别而功能各异^[5],如 BmK 1 和 2 都含有 64 个氨基酸残基,但因 BmK 1 上 59、62 位的 Val、Lys 由 BmK 2 上的 Ile、Asn 取代,静脉注射给予小鼠,BmK 1 的效力是 BmK 2 的 6 倍,这提示末端带正电残基对毒素与受体的结合起重要作用。

2 BmK 毒素多肽的初步晶体学研究

将 BmK 毒素经 Sephadex G50 和 SP-Sephadex G25 两次柱层析后,根据毒性作用的不同,选取强、中、弱效毒素进行初步晶体学研究,以求建立一个具有显著不同生物活性的 BmK 毒素晶体学研究体系。纯化结晶毒素后,应用 X-ray 衍射照像显示以及结合 CAD,四圆衍射仪进行精确分析,确定了 BmK 1(强)^[6]、BmK 5(中)^[7]、BmK 4(弱)^[8]这三种毒素的晶体结构类型。再运用 Mathews 统计分析依据 SDS-PAGE 电泳所估计的分子量,推断出晶体中每个不对称单位所含的分子数。

初步晶体学的研究为阐明 BmK 毒素分子的空间结构奠定了基础。虽然有不同种属蝎神经毒素(Lq III)的晶体结构已见报道^[9],但有关蝎神经毒素与受体 Na⁺通道的作用机制、作用位点的分子结构,目前知道很少。上述 3 种毒素有很高的同源性,但在毒性上却有较大差别,形成了一个活性不同的晶体系列。对这一系列三维结构测定及其相关活性比较,将揭示 BmK 不同活性与分子结构的关系,有助于查明这类毒蛋白分子生物毒性的作用机理。

3 BmK 毒素多肽的生物活性的应用

3.1 新型生物杀虫剂:蝎抗昆虫毒素是昆虫可兴奋细胞膜上 Na⁺通道的阻滞剂,可与该通道特异性结合,从而对昆虫有专一选择性神经麻痹致死作用。国

外 Barton 等人已把蝎抗昆虫毒素 Aa II 基因转入烟草并与转苏云金芽胞杆菌 δ -内毒素基因的烟草杂交,成功地获得了即能表达毒素、又对人畜无害的抗昆虫植株^[10]。英国 Lorna 等人于 1991 年首次成功地构建了一个含有蝎抗昆虫毒素基因的杆状病毒杀虫剂^[11]。把蝎抗昆虫毒素基因重组到生物体内,获得抗虫害或杀虫能力,在农业上有非常诱人的前景。

3.2 中枢镇痛作用:分别向大鼠侧脑室内注射 0.01% 或 0.03% 的 BmK 毒液 2 μ L,均可使由辐射热引起的甩尾反射潜伏期延长;向大鼠中脑导水管周围灰质内注射微量 BmK 毒素,可使束旁交核内痛相关神经元对痛刺激反应减弱,表明它有明显的中枢镇痛作用^[12]。另有研究表明 BmK 毒素的镇痛作用较同剂量、同浓度的吗啡强,且无躯体依赖性,有望成为新型高效镇痛药取代吗啡用于临床^[13]。但毒素多肽镇痛有效成分的分离、提纯、鉴定工作,还需进一步开展。

3.3 抗血栓作用:钳蝎毒素多肽 0.16 mg/kg 即可明显延长大鼠颈动脉血栓形成时间,升高血浆中 PGI₂ 含量和促纤溶作用。提示钳蝎毒素多肽作为一种抗血栓活性多肽有深入研究的意义^[14]。

4 展望

我国对东亚钳蝎的使用历史悠久,近 10 年加强了对蝎毒素药理作用及构效关系的研究。揭示蝎毒素多肽及其相关靶受体的结构和功能关系,将为探讨有应用价值的蝎毒素有效成分提供重要参考,并为新药开发展示广阔的前景。

参考文献

- 1 刘建宁,等. 科学通报,1998,33(1):79
- 2 熊玉梅,等. 生物化学与生物物理学报,1997,29(2):200
- 3 吉永华,等. 中国科学(B辑),1993,23(1):46
- 4 朱新生,等. 科学通报,1996,41(20):1882
- 5 Ji Yonghua, et al. Toxicon, 1996, 34: 987
- 6 李宏民,等. 科学通报,1994,40(3):746
- 7 李宏民,等. 生物化学与生物物理学报,1995,27(2):145
- 8 金雷,等. 科学通报,1993,38(6):561
- 9 Celine L, et al. Eur J Biochem, 1996, 236: 395
- 10 EP 1990, No 0,431,829 A1
- 11 Lorna M D. Nature, 1991, 352: 85
- 12 刘敏芝,等. 白求恩医科大学学报,1995,21(3):260
- 13 李芳,等. 中国药理与毒理学杂志,1997,11(2):154
- 14 宋益民,等. 中国药理学会通讯,1995,12(3):22

(1997-07-25 收稿)