

# 尖吻蝮蛇毒研究进展

杨晨<sup>1,2</sup>, 张彬<sup>1,2</sup>, 陈曹娟<sup>1,2</sup>, 刘平安<sup>2</sup>, 彭艳梅<sup>2</sup>, 谭群英<sup>3</sup>, 李跃辉<sup>1,2\*</sup>(1.湖南中医药大学, 长沙 410208; 2.湖南省中医药研究院, 长沙 410013; 3.湖南永州异蛇生物制药有限公司, 湖南 永州 425000)

**摘要:** 尖吻蝮(又名五步蛇, 中药材名为蕲蛇)蛇毒, 是从尖吻蝮毒腺中分泌的毒液, 内含磷脂酶 A<sub>2</sub>、丝氨酸蛋白酶、金属蛋白酶、C型凝集素、L-氨基酸氧化酶等多种蛋白类成分和肽类成分, 具有多种生物活性, 在抗肿瘤、抗血栓、抗炎、抗菌等方面发挥着重要作用。近年来, 蛇毒研究日益广泛, 但目前仍缺乏对尖吻蝮蛇毒全面系统的研究。本文通过检索尖吻蝮蛇毒的相关研究进展, 在其来源、鉴别、活性成分、毒性研究及质量研究等方面进行总结与分析, 以期对尖吻蝮蛇毒进一步开发利用提供参考。

**关键词:** 尖吻蝮蛇毒; 鉴别; 活性成分; 毒性研究; 质量标准

中图分类号: R285.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)23-3324-10

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230099

引用本文: 杨晨, 张彬, 陈曹娟, 等. 尖吻蝮蛇毒研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(23): 3324-3333.

## Research Progress of *Deinagkistrodon Acutus* Venom

YANG Chen<sup>1,2</sup>, ZHANG Bin<sup>1,2</sup>, CHEN Caojuan<sup>1,2</sup>, LIU Ping'an<sup>2</sup>, PENG Yanmei<sup>2</sup>, TAN Qunying<sup>3</sup>, LI Yuehui<sup>1,2\*</sup>  
(1.Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2.Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410013, China; 3.Hunan Yongzhou Yishe Biopharmaceutical Co., Ltd., Yongzhou 425000, China)

**ABSTRACT:** *Deinagkistrodon acutus*(also known as the five-paced viper and the traditional Chinese medicine ingredient is called Agkistrodon) venom is a viscous liquid from the venom glands of the *Deinagkistrodon acutus*. It contains a variety of protein and peptide components such as phospholipase A<sub>2</sub>, serine protease, metalloproteinase, C-type lectin, L-amino acid oxidase, and has a variety of biological activities, playing an important role in anti-tumour, anti-thrombotic, anti-inflammatory and anti-bacterial activities. In recent years, snake venom research has become increasingly widespread, but there is still a lack of comprehensive and systematic studies on snake venom from *Deinagkistrodon acutus*. In this paper, the source, identification, active ingredients, toxicity studies and quality researches of *Deinagkistrodon acutus* venom are summarized and analysed by searching the related research progress, in order to provide reference for further development and utilization of *Deinagkistrodon acutus* venom.

**KEYWORDS:** *Deinagkistrodon acutus* venom; identify; active ingredients; toxicity study; quality standard

动物毒素是药物开发重要的来源之一<sup>[1]</sup>, 蛇毒则是人类迄今为止利用最多的动物毒素, 也是非常珍贵的药物原料。中国是世界上最早利用蛇毒治疗疾病的国家, 早在唐开元 29 年的《本草拾遗》一书中就有记载<sup>[2]</sup>。尖吻蝮蛇毒是从尖吻蝮毒腺中分泌出来的毒液, 又名五步蛇毒、蕲蛇毒, 其为生物毒素, 成分复杂, 主要由蛋白质和肽类构成<sup>[3]</sup>, 具有抗血栓, 抗肿瘤, 抗炎, 抗菌等药效作用。尖吻蝮属于国家保护的有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物<sup>[4]</sup>, 从其毒腺所提取出来的毒液也更显珍贵。随着药理学、生物化学、分子生物学等学科的发展, 蛇毒多种活性成分的研究越来越深入, 功效也愈发显著。本文通过检索尖吻蝮蛇毒的相关研究进展, 对其来源、鉴别、活性成分、毒性

及质量标准等方面进行全面总结与分析, 以期对尖吻蝮蛇毒进一步开发利用提供有益参考。

### 1 来源

尖吻蝮 *Deinagkistrodon acutus*, 隶尖吻蝮属, 为单型属, 也被称为五步蛇、蕲蛇、白花蛇、棋盘蛇, 在中国分布较广, 安徽(南部)、重庆、江西、浙江、福建(北部)、湖南、湖北、广西(北部)、贵州、广东(北部)、中国台湾等地均有分布, 具有重要的商业价值和药用价值。其别名众多, 种属易混淆, 因此对其进行分类学研究是质量控制和资源开发的基础。

据中国药典 2020 年版记载, 蕲蛇来源为蝮科动物五步蛇 *Agkistrodon acutus*(Güenther)的干燥体, 但根据动物学分类, 蕲蛇又被称为尖吻蝮

基金项目: 中央林业改革发展资金野生动植物保护项目(湘财资环指[2021]47号)

作者简介: 杨晨, 女, 硕士生 E-mail: 1198720388@qq.com

\*通信作者: 李跃辉, 女, 硕士, 研究员, 硕导 E-mail: 410256518@qq.com

*Deinagkistrodon acutus*(Güenther)<sup>[5]</sup>。拉丁学名命名规则为属名加种名加人名,两者种名、人名相同,只有属名存在差异<sup>[6]</sup>,原因在于1978年Gloyd将*Agkistrodon acutus*(Güenther)归于*Deinagkistrodon*属<sup>[7]</sup>,造成了其拉丁学名属名差异,但其种名与人名相同,因此五步蛇*Agkistrodon acutus*(Güenther)与尖吻蝮(*Deinagkistrodon acutus*)为同一种蛇。

## 2 鉴别

蛇毒制品通常制成冻干粉形式,仅仅依靠性状特征难以区分真伪与控制质量,蛇毒中复杂的成分给快速准确的鉴定带来了很大的挑战,目前已有各种技术对尖吻蝮蛇毒进行分析、鉴别,但多为探索性研究,尚未形成公认的标准方法。尖吻蝮蛇毒各类分析和鉴别技术应用汇总见表1。

### 2.1 常规鉴别方法

常规鉴定蛇毒来源的方法大都以蛋白成分差异为主要的检测指标,如蛋白电泳、ELISA和质谱等。二维凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2DE),可通过等电点(isoelectric point, pI)和蛋白质的表观分子量来分离成分,斑点序列在不同种间表现出不同的特征。2DE-WB<sup>[8]</sup>结合了2DE的高分辨率和Western blotting的高灵敏度,是表征复杂蛋白质样品的有力方法。此外,凝胶内消化和质谱检测可以获得更多的蛋白质信息,该方法可用于复杂样品中特异性蛋白的快速鉴定。酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[9-10]</sup>是利用蛇毒抗体进行免疫识别的一种应用广泛的

蛇毒检测方法,在蛇伤鉴定中发挥着重要作用,但是不同种类的蛇之间有很大的交叉反应,需要严格筛选物种特异性抗体。质谱分析法(mass spectrometry, MS)是蛋白质和生物大分子研究领域中最重要分析技术。蛇毒是一种复杂的蛋白质与多肽的混合物,在蛋白质或肽型毒素的结构鉴定方面,基于MS的蛋白质组学技术通过测量分子量、氨基酸序列和翻译后修饰直接显示结构证据<sup>[11]</sup>,为蛇毒的鉴别提供了新的可能性。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)<sup>[8]</sup>、电喷雾质谱联用(CESI-MS)<sup>[12]</sup>、液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)<sup>[13]</sup>等技术也已广泛用于蛇毒分析、鉴定。

### 2.2 新兴鉴别方法

目前,一些新兴的分析工具已被用于研究尖吻蝮蛇毒,如组合肽配体库(combinatorial peptide ligand library, CPLL)和生物传感器的使用。利用传统方法,难以检测到蛇毒中隐藏或微量的成分。CPLL通过稀释高丰度蛋白和集中低丰度蛋白,降低了蛋白质组的动态范围,可将其搜索范围扩大到毒液的完整分子质量范围。CPLL结合Shotgun Nano-LC-ESI-MS/MS技术,可获得更为全面的蛇毒信息,是毒液蛋白质组可视化的强大工具,为追踪隐藏成分提供了高效方法<sup>[14]</sup>。荧光传感器技术<sup>[15]</sup>是通过每个传感器元件与分析物之间不同的相互作用产生各种荧光信号,从而生成每种分析物特有的荧光指纹,具有体积小,响应快,灵敏度高

表1 尖吻蝮蛇毒分析和鉴别技术

Tab. 1 Analysis and identification techniques of *Deinagkistrodon acutus* venom

技术	内容简述	优势	参考文献
蛋白双向电泳(2DE-WB)	采用2DE-WB从经共同肽表位免疫的兔身上分离出抗体,并通过MALDI-TOF-MS进行分析,鉴定出尖吻蝮蛇毒液中的6个C型凝胶素	可用于复杂样品中特异性蛋白的快速鉴定	[8]
酶联免疫吸附测定(ELISA)	制备特异性抗体,通过ELISA检测方法鉴别出短尾蝮、眼镜蛇、蕲蛇和银环蛇4种蛇毒。在法医学鉴定中可采用ELISA法鉴定死者为何种毒蛇咬伤	应用最为广泛,成本低、灵敏度高、可快速鉴别	[9-10]
毛细管电泳电喷雾质谱联用(CESI-MS)	采用CESI-MS表征蛇毒蛋白,找到了8种不同蛇类的特征多肽,并利用该方法从蛇毒混合物中鉴别出了尖吻蝮蛇毒,为蛇毒产品的纯度鉴定建立了一种可靠的方法	较高的灵敏度和选择性,较低的样品消耗和良好的稳定性,特征肽可以作为超微量检测的可靠指纹	[12]
液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)	采用LC-MS/MS对尖吻蝮蛇毒组成进行了研究,共鉴定到来自8个蛇毒蛋白家族的29种不同的蛋白质	具有足够高的选择性和灵敏度	[13]
组合肽配体库(CPLL)	蛇毒经CPLL富集后,采用Shotgun Nano-LC-ESI-MS/MS技术,发现了一些以前未检测到的微量成分,尖吻蝮毒液由来自10个毒素家族的84个不同蛋白质和12个其他蛋白质组成	该联合方法为追踪隐藏成分提供了有力的工具,可检测到微量蛋白质成分	[14]
荧光传感器	受生物的味觉感知系统的启发,制作了荧光传感器阵列,对包括尖吻蝮蛇毒在类的7种蛇毒进行了鉴别,并建立了相应的荧光指纹图谱	体积小、响应快、灵敏度高、特异性好,适用于多种分析物的高效检测和复杂组分的分析	[15]

等优点,极大地促进了蛇毒检测的发展。

此外,分子鉴定技术的发展运用也为尖吻蝮蛇毒的鉴别提供了参考。近年来,分子鉴定技术逐步成为中药鉴定的重要手段,它通过分析遗传物质中DNA的多态性推断出物种内在的遗传变异而实现对药材的鉴定,特异性高<sup>[16]</sup>。该技术在蛇种鉴定中早有运用,中国药典自2010年版起,收录了蕲蛇的分子生物学方法——聚合酶链式反应法。此后,蕲蛇的分子鉴别方法蓬勃发展,在蛇种鉴别中发挥着重要作用。Smith等<sup>[17]</sup>运用DNA条形码成功对蝰科、游蛇科、眼镜蛇科蛇毒样本进行分类,正确鉴定了毒液样本。Roy等<sup>[18]</sup>采用聚合酶链式反应法成功地检测了商业毒液晶体中的蛇类来源。

### 3 主要活性成分及药理作用

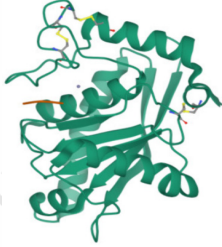
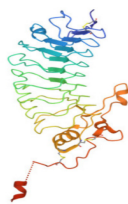
蛇毒含有多种蛋白质和肽类成分,通过对尖吻蝮蛇毒的分离与测定,发现其与大多数蝰科蛇

毒结构一致,主要由蛇毒金属蛋白酶(snake venom metalloproteinases, SVMPS)、蛇毒丝氨酸蛋白酶(snake venom serine proteases, SVSPs)、C型凝集素(C-type lectins, CLECs)、5'-核苷酸酶、核酸酶、蛇毒磷脂酶A<sub>2</sub>(snake venom phospholipase A<sub>2</sub>, SVPLA<sub>2</sub>)组成<sup>[13,19-20]</sup>。蛋白类成分中SVMPS、CLECs、PLA<sub>2</sub>、SVSP、L-氨基酸氧化酶(L-amino-acid oxidase, LAOs)含量较高,为主要活性成分。肽类成分作为尖吻蝮蛇毒重点起效成分,也发挥着多种治疗作用。

随着分离纯化技术的发展,目前多采用离子交换层析、凝胶过滤层析、亲和层析和反相高效液相层析等技术<sup>[21]</sup>分离纯化出蛇毒中各个组分,对这些活性成分的结构及作用机制进行探索,对于新药原料的开发具有重要的科学意义。从尖吻蝮蛇毒中分离纯化的活性成分见表2。

表2 尖吻蝮蛇毒活性成分


Tab. 2 Active components of *Deinagkistrodon acutus* venom

活性成分	示例	分离纯化方法	结构	作用	机制	参考文献
蛋白类成分						
蛇毒金属蛋白酶 (SVMPS)	SP	凝胶过滤层析: Sephadex TM G-75; 阴离子交换层析: SphadexA-50; 再次凝胶过滤层析: Sephadex TM G-75; 超滤技术	由202个氨基酸组成,相对分子质量为22.945 kDa, pI为5.78; SFGEWK、STEFQR、ENPPCIL NKP等3个特异性氨基酸序列片段属于金属蛋白酶SP	抗血栓作用	通过分解纤维蛋白原和抗血小板聚集来影响血液凝固和血栓形成	[22]
	FII	离子交换层析及凝胶过滤层析		抗弥漫性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC)作用,治疗内毒素血症,改善肝肾功能	抑制NF-κB的磷酸化,显著降低了促炎细胞因子TNF-α的水平	[23]
C型凝集素 (CLECs)	Agkisacucetin	阴离子柱层析、阳离子柱层析及凝胶过滤层析		抗血栓作用	作为血小板GPIIb受体的拮抗剂,抑制vWF与受体的结合,从而抑制血栓形成	[24-25]
ACFI、ACFII		离子交换层析和凝胶过滤层析	主要骨架构象为反平行β-折叠和α-螺旋结构	抗凝血,抗血栓,降血压	Ca <sup>2+</sup> 依赖性方式激活的凝血因子X结合蛋白,延长体外凝血时间; ACFII通过激活一氧化氮信号途径,产生降血压作用	[26-28]
蛇毒磷脂酶A <sub>2</sub> (SVPLA <sub>2</sub> )	/	/	3段α-螺旋、1个短的双股反平行β折叠,1个钙离子结合环以及连接它们的多段loop和7对二硫键	抗血栓作用	延长凝血时间及凝血酶原时间,抑制血小板聚集	[29-30]

续表 2

活性成分	示例	分离纯化方法	结构	作用	机制	参考文献
蛇毒丝氨酸蛋白酶(SVSP)	Da-36	阴离子交换层析: EAESepharose Fas Flow; 凝胶过滤层析: Superdex-75 PG、Sephadex G-25; 阴离子交换层析: DEAE-Sephadex A-50; 凝胶过滤层析: Sephacryl S-100		抗血栓作用	切断纤维蛋白原的 A $\alpha$ 、B $\beta$ 和 $\gamma$ 链使人血浆凝固	[31]
			PDB: 5XRF			
SVSP(已用于临床相关制剂)	注射用尖吻蝮蛇血凝酶(苏灵)	阴离子交换层析: 2 次 DEAE-Sephrose FF 柱层析	相对分子质量为 29 800 Da; 由 $\alpha$ 、 $\beta$ 2 个亚基构成, 亚基链间由二硫键连接	促凝, 手术预防性出血	促进纤维蛋白原释放 FPA 而不激活 FXIII 因子, 因此其发挥止血作用而不导致血栓形成	[32-33]
	注射用降纤酶	一般采用阴离子交换层析进行分离并结合凝胶过滤层析、亲和层析和反相高效液相层析等方法纯化	从天然尖吻蝮蛇中提取的分子量为 38 kDa 的类凝血酶的 N 端 15 个氨基酸的序列为 VIGGVECDINEHRFL	抗凝, 溶栓	激活纤溶系统、降低纤维蛋白原而起抗栓作用	[34]
	蕲蛇酶	阴离子交换层析: DEAE-葡聚糖凝胶 A-50; 凝胶过滤层析: 葡聚糖凝胶 G-75; 阳离子交换层析: CM-葡聚糖凝胶 C-50	相对分子质量为 39 kDa, 其复杂的 N-聚糖结构几乎完全由末端的 NeuAc $\alpha$ 2-8NeuAc disialyl units 覆盖, 最大的可检测结构由多达 4 个 disialylated antennae 组成	抗凝, 抗血栓, 用于急性脑梗死	作用于血浆纤维蛋白原, 降低其含量, 延长凝血酶时间, 缩短优球蛋白的溶解时间, 通过抑制血小板聚集功能来阻止血栓形成, 从而改善急性脑梗死病情	[35-37]
	去纤酶(纤溶酶)	阴离子交换层析及凝胶过滤层析	它由 17 种氨基酸、263 个残基组成的糖蛋白, 相对分子质量为 33.5 kDa	抗凝, 溶纤	具有纤维蛋白溶解活性, 可降低纤维蛋白原浓度, 减少血栓形成的基质, 抑制血栓的形成	[38]
	L-氨基酸氧化酶(LAAO)	ACTX-6 阴离子交换层析: DEAE Sepharose F.F. 阳离子交换层析: Source 30 S	共价结合的同源二聚体, 相对分子质量约为 96 kDa	抗肿瘤作用	诱导细胞凋亡, 可能与过氧化氢产生有关	[39]
		ACTX-8 阴离子交换层析: DEAE Sepharose F.F. 阳离子交换层析: Source 30 S	相对分子质量为 28 kDa; 是一种富含半胱氨酸的单链蛋白, 含有 4 个二硫键; pI 为 8.2; 其 n 端氨基酸序列为 ADDRNPLEEFRENNYEEFL	抗肿瘤作用	通过线粒体通路诱导的细胞凋亡: 诱导 Bcl-xL 与 Bak 解离, 促进 Bcl-xL 与 Bad 结合	[40]
肽类成分						
	Kunitz 肽	硫酸铵沉淀和亲和层析	由 50~60 个氨基酸组成, 具有 2 个反平行的 $\beta$ 折叠和 1 个或 2 个 $\alpha$ 螺旋区域, 通过 3 个高度保守的二硫键联接, 键合模式为 C1-C6、C2-C4 和 C3-C5	抗血栓作用	抑制 FXIa 活性	[41]
	DAA-8	超滤技术及反相高效液相层析	序列 IIWTEEDK, 是 acurhagin 的片段(位于 aa249-256)	抗血栓作用	抑制体外血小板聚集	[42]
	ACH-11	凝胶过滤层析: Sephadex G-2; 反相高效液相层析: Hedera ODS-2 色谱柱	相对分子质量为 1 260.77 Da; 序列 LTFPRIVFVLG	抗血栓作用	具有 FXa 抑制和抗血小板聚集活性, 出血风险低	[43]
	Pt-A、Pt-B	快速蛋白质液相层析(FPLC): Sephadex G-50 色谱柱; 反相高效液相层析	Pt-A(pGlu-Asn-Trp): 429 Da Pt-B(pGlu-Gln-Trp): 443 Da	抗血栓作用	两者作用机制不同, Pt-A 通过抗血小板聚集发挥抗血栓作用, Pt-B 则不能, 其机制尚未明确	[44]

续表 2

活性成分	示例	分离纯化方法	结构	作用	机制	参考文献
肽类成分						
	FP-CATH	/		抗菌作用	FP-CATH 不仅影响完整的细胞结构, 还与 LPS 和核酸等生物大分子相互作用, 干扰细胞的正常代谢	[45]
	DAvp-1	/	氨基酸序列为 NSLVLRGRMRDVKVR DDGRKSPSHHSHKFSGGTRNWQKLVKL	抗炎作用	与肿瘤坏死因子受体-1 (TNFR1) 结合, 从而介导细胞凋亡	[46]
	Acurhagin-C	凝胶过滤层析: BioSep-SEC-s2000; 阴离子交换层析: BioSep-DEAE-PEI	来源于金属蛋白酶 Acurhagin 的 c 端 23.5 kDa 片段; Glu-Cys-Asp(ECD) 解毒素	抗肿瘤作用	阻断整合素 $\alpha v/\alpha 5$ 介导和启动 caspase-8/-9 的凋亡通路来影响黑色素瘤细胞的行为; 以整合素 $\alpha 5$ 为靶点, 减缓骨肉瘤的发展	[47-48]

注: 结构图来源于 PDB 蛋白质结构数据库 <http://www.rcsb.org> 及相应参考文献。

Note: Structural diagram was sourced from the PDB protein structure database(<http://www.rcsb.org>) and corresponding references.

### 3.1 蛋白类成分

**3.1.1 SVMPs** SVMPs 是由一类含有不同结构域构成的锌依赖性蛋白酶, 分为 P-I 型、P-II 型和 P-III 型。P-I 型仅由一个金属蛋白酶结构域组成, P-II 型由一个金属蛋白酶结构域和去整合素结构域组成, P-III 类包括原结构域, 金属蛋白酶结构域, 类去整合素结构域和富含半胱氨酸结构域<sup>[49]</sup>。SVMPs 具有广泛的生理活性, 能够抑制血小板聚集, 是引起蛇伤后出血的主要因素。一些 SVMPs 已表现出抗凝血、抗血栓功效, 可能成为一种有效的药物。Huang 等<sup>[22]</sup>从尖吻蝮蛇毒中分离出一种具有显著抗血小板聚集活性的金属蛋白酶 SP, 通过动物实验证实, 它具有抗血栓作用, 有助于改善血液流变学和抗血小板聚集。体内试验表明, 它延长了小鼠凝血时间、部分凝血活酶时间、凝血酶原时间、凝血酶时间、纤维蛋白原时间, 同时降低了纤维蛋白原含量。FII 是从尖吻蝮蛇毒中分离纯化的一种金属蛋白酶, Wang 等<sup>[23]</sup>通过 LPS 诱导内毒素血症小鼠模型对 FII 抗内毒素血症功效进行评价, 发现 FII 通过抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 降低 TNF- $\alpha$  水平, 对 LPS 诱导的内毒素血症和器官损伤具有保护作用。

**3.1.2 CLECs** 凝集素是一类具有糖结合活性物

质的总称, 在动物、植物和微生物中普遍存在。CLECs 大多能够识别特异糖类物质, 具有凝聚红细胞的活性, 导致血小板减少, 是引起出血的主要成分。其被划分为真的 CLECs(含碳水化合物识别结构域, 可结合 1 个糖分子)和 CLECs 样蛋白(含碳水化合物识别相关的 CLECs 样结构域, 不结合糖分子), 与凝血因子及血小板受体相结合, 发挥抗凝作用与血小板调节活性<sup>[50]</sup>。蛇毒中的 CLECs 样蛋白不含钙和糖结合环, 因此将其命名为 Snaclecs。Snaclecs 具有基本的异源二聚体结构, 由  $\alpha$  和  $\beta$  2 个亚基构成, 异源二聚体通常以非共价形式或通过二硫键以共价形式进一步形成多聚体<sup>[51]</sup>。

Snaclecs 具有多种生物活性, 包括抗凝、促凝和血小板调节功能<sup>[52]</sup>, 由于其在血小板聚集中的作用, 它被认为是治疗血栓性疾病的药理学靶标。同时一些 Snaclecs 在肿瘤治疗<sup>[53]</sup>中也显示出潜在的前景。Agkisacucetin(商品名 Anfibatide)是一种从尖吻蝮蛇毒中分离得到能与血小板膜糖蛋白 Ib(glycoprotein Ib, GPIb)相结合的 Snaclecs, 从尖吻蝮蛇毒中分离得到。它作为血小板 GPIb 受体的拮抗剂, 能抑制血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)与受体的结合, 从而抑制血栓形成的最初步骤。其具有显著的抗血小板黏附、聚集的

效果,并具有出血倾向小,免疫原性低,不会对凝血功能造成影响等特点,是目前唯一以 GPIb 为靶点并在临床研究中的抗血栓药物,在 IIb 期临床试验显示了良好的结果<sup>[24]</sup>。ACFI、ACFII<sup>[26]</sup>是从尖吻蝮蛇毒中分离纯化得到的抗凝因子,以  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性方式与凝血因子 X(FXa) 特异性结合,具有显著的抗凝血活性。除此之外,ACFII 还具有降血压功效,王莎莎<sup>[27]</sup>通过测定小鼠血清中一氧化氮含量变化,对 ACFII 降血压机制进行了探索。

**3.1.3 SVPLA<sub>2</sub>** SVPLA<sub>2</sub> 广泛分布于自然界,在蛇毒、蜂毒、蝎毒中皆有分布,其可特异性地催化甘油酯 C-2 位置,从而生成溶血磷脂和脂肪酸。SVPLA<sub>2</sub> 是蛇毒液中含有较为丰富的组分,结构研究显示<sup>[29]</sup>,其具有一般 SVPLA<sub>2</sub> 的基本结构特点,包括 3 段  $\alpha$ -螺旋、1 个短的双股反平行  $\beta$  折叠,1 个钙离子结合环以及连接它们的多段 loop 和 7 对二硫键。SVPLA<sub>2s</sub> 具有某些重要的毒性作用,如神经毒性、肌毒性、心脏毒性、细胞毒性、出血毒性等<sup>[54]</sup>。同时,SVPLA<sub>2s</sub> 是一种具有高度医学意义的酶,具备多种药理作用和较高的临床应用价值,包括降压<sup>[55]</sup>,抗凝血<sup>[56]</sup>,抗血栓<sup>[57]</sup>,抗肿瘤<sup>[58]</sup>等。饶颖竹等<sup>[30]</sup>通过对大鼠静脉注射不同剂量的 SVPLA<sub>2</sub>,测定大鼠的凝血时间、凝血酶原时间、抗凝效价和血栓抑制率,证实了贵州产尖吻蝮 SVPLA<sub>2</sub> 具有较强的抗凝血和抗血栓作用。从蝰科蛇毒中分离出的部分 PLA<sub>2</sub> 具有抗肿瘤活性,提示这些分子可能是一类新的抗肿瘤药物<sup>[59]</sup>。但目前暂未发现从尖吻蝮蛇毒中提取其 PLA<sub>2</sub> 进行抗肿瘤作用的相关研究。

**3.1.4 SVSPs** SVSPs 是蛇毒中作用于凝血-纤溶系统的一种蛋白水解酶,具有由 His57、Asp102 和 Ser195 组成的特征催化三联体。其结构特征<sup>[21]</sup>还包括平均存在 235 个氨基酸残基在单链上,相对分子质量在 28~60 kDa,通常以球状蛋白的形式存在;其最外层表现出 2 种二级结构: $\alpha$ -螺旋与反平行  $\beta$ -折叠,形成 2 个桶状结构、12 个半胱氨酸残基形成 6 对二硫键。

SVSPs 在止血功能中发挥着重要作用,其对止血系统的影响,是通过作用于凝血系统中特定的目标,如诱导血小板聚集、分解纤维蛋白原、激活凝血因子 V、促进血纤维蛋白溶酶原活化和 C 型凝集素蛋白质活化<sup>[27]</sup>从而发挥疗效。Zheng 等<sup>[31]</sup>从尖吻蝮蛇毒中分离到一种新的丝氨酸蛋白酶

Da-36,该酶为单链蛋白,SDS-PAGE 表观分子量为 36 000, pI 为 6.59。通过研究 Da-36 对人纤维蛋白原的蛋白水解活性发现, Da-36 对人纤维蛋白原的切割具有剂量和时间依赖性,人纤维蛋白原的  $\text{A}\alpha$ 、 $\text{B}\beta$  和  $\gamma$  链均能被充分消化,因此其可成为临床探索治疗和预防血栓栓塞性疾病的新型去纤维蛋白原药物的先导化合物。一些以尖吻蝮蛇毒为来源而提取相关丝氨酸蛋白酶制成的制剂,在临床应用广泛,具有抗凝,溶栓,促凝等功效。其中苏灵、降纤酶、蕲蛇酶、去纤酶是其代表性药物。

**3.1.5 LAAOs** LAAOs 是蛇毒的主要成分,作用广泛,如细胞凋亡诱导、细胞毒性、诱导和/或抑制血小板聚集、出血、溶血、水肿,以及抗菌、抗寄生虫和抗 HIV 活性。LAAO 为同源二聚体,相对分子质量在 120~150 kDa,单体形式的相对分子质量为 50~70 kDa, pI 在 4.4~8.12 均有分布<sup>[60]</sup>。其存在酸性、中性和碱性 3 种形态,可共存于同一蛇毒中,并可能表现出不同的药理学特性。由于其重要的生物活性,研究人员通过分离表征蛇毒 LAAOs 以寻求具有临床价值的新药。Zhang 等<sup>[39]</sup>通过离子交换层析法从尖吻蝮蛇毒中纯化得到 LAAO,将其命名为 ACTX-6。该 LAAO 在体外试验中显示出对 A549 细胞具有细胞毒性;体内试验表明,小鼠静脉注射 ACTX-6 能有效抑制 Heps, S180, EAC 肿瘤生长,具有开发成抗肿瘤药物的潜力。ACTX-8 是从尖吻蝮蛇毒中分离出一种 L-氨基酸氧化酶,研究表明<sup>[40]</sup>其可通过线粒体通路诱导 Hela 宫颈癌细胞凋亡。

## 3.2 肽类成分

动物肽类物质是动物类中药的重点起效成分,从天然来源(包括动物毒素、植物提取物、真菌和细菌)中分离出的生物活性肽具有多种治疗特性,来源于蛇毒多肽的药物已有部分被应用于临床治疗。目前已从尖吻蝮蛇毒中分离纯化出多种活性肽成分,具有抗血栓、抗菌、抗炎、抗肿瘤等多种功效,可为新药开发提供参考。Jia 等<sup>[41]</sup>从尖吻蝮蛇毒中发现了 10 个 Kunitz 肽,其中大部分具有 FXIa 抑制活性,其中 DAKS1 对 FXIa 表现出最强的抑制活性。研究证实,DAKS1 在氯化铁诱导的小鼠颈动脉损伤模型中具有较强的血栓抑制作用。此外,在小鼠大脑中动脉短暂性闭塞模型中,DAKS1 剂量为  $2.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,脑梗死的面积显著

减少。这充分说明 DAKS1 可作为一种用于治疗血栓和中风疾病的候选药物。Kong 等<sup>[42]</sup>通过超滤技术和反相高效液相层析技术,从尖吻蝮蛇毒液中分离抗血小板肽,发现了 1 种名为 DAA-8 的新型八肽,其显示出显著的抗血栓活性:该肽能够抑制体外血小板聚集,减少大鼠动静脉旁路血栓模型中的血栓生成。Chen 等<sup>[43]</sup>从尖吻蝮蛇毒中提取出一种新型肽 ACH-11,研究表明其具有 FXa 抑制和抗血小板聚集活性,出血风险低,可作为抗血栓药物开发的先导化合物。Ding 等<sup>[44]</sup>从尖吻蝮蛇毒中分离出 Pt-A 和 Pt-B 2 种肽,用富含血小板的人血浆体外评估其抗血小板聚集作用,并通过 ADP 诱导的小鼠肺血栓栓塞试验证实 Pt-A 和 Pt-B 具有抗血栓作用。Zhong 等<sup>[45]</sup>运用生物信息学分析技术,在尖吻蝮蛇基因组中发现了蛇类抗菌肽 Cathelicidin 家族的新成员 FP-CATH,并通过最低抑菌浓度、最低杀菌浓度测定试验、人红细胞溶血试验和细胞毒性试验证实其具有快速、强大的广谱抗菌活性及低溶血毒性。Zhang 等<sup>[46]</sup>通过构建尖吻蝮蛇毒的噬菌体文库,筛选出尖吻蝮蛇毒中能与 TNFR1 结合并且最具开发抗炎药物潜力的肽——DAvp-1,这为开发新型抗炎药物提供参考,且在一定程度上分析了尖吻蝮蛇毒中活性成分的抗炎机制。解离素是一类能够阻断整合素及其配体结合的富含半胱氨酸的小分子多肽,在开发溶栓剂及抗肿瘤药物方面具有潜在的药理价值<sup>[61]</sup>。Acurhagin-C 是从尖吻蝮蛇毒中提取的一种 Glu-Cys-Asp(ECD)解离素,现已证实其在抑制肿瘤生长中发挥着重要作用<sup>[47-48]</sup>。

#### 4 毒性研究

据统计,全球每年有 270 万人受到毒蛇危害,中国每年约有 10 万人被毒蛇咬伤,死亡率 5%~10%,致残率高达 30%,且蛇咬伤患者的数量以 3%的比例递增<sup>[62-63]</sup>,对人类健康构成了极大的危害。

尖吻蝮蛇毒属于血液循环毒,溶血性强。肖纲<sup>[64]</sup>以皮下注射的方式对湖南地区的中华眼镜蛇毒和尖吻蝮蛇毒进行了半数致死量(median lethal dose, LD<sub>50</sub>)测定,显示中华眼镜蛇毒致死性高于尖吻蝮蛇毒,野生蛇毒毒液高于人工养殖蛇。宋天麟等<sup>[65]</sup>给小鼠灌胃不同剂量的尖吻蝮蛇毒,并对其口服后免疫功能进行了研究,表明尖吻蝮蛇毒在 2 000 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量下安全,小鼠生命体征良好,<120 mg·kg<sup>-1</sup> 的尖吻蝮蛇毒对正常小鼠

的免疫功能具有一定的增强作用。

蛇毒毒性机制研究表明,SVPLA<sub>2</sub> 具有肌毒性,可引起骨骼肌退化,抑制神经肌肉传递和血液凝固级联反应<sup>[66-67]</sup>。SVSPs 通过影响血液凝固、纤维蛋白溶解和血小板功能引起止血失衡<sup>[68]</sup>。SVMps 通过抑制血小板聚集、凝血酶原和凝血因子 X 的活化,引起出血、凝血功能障碍和炎症反应<sup>[20]</sup>。另有一些 Snaclecs 可以通过抑制凝血因子发挥抗凝血效果,从而导致出血<sup>[69]</sup>。与此同时,动物类有毒中药的毒性成分是其主要有效成分<sup>[70]</sup>,利用分离纯化方法提取蛇毒中的活性成分可达到降低毒性、提高疗效的目的,因此运用尖吻蝮蛇毒治疗疾病时,要严格把控其准确治疗剂量,掌握毒性反应及其减毒方法,保证蛇毒使用过程中的安全有效。

#### 5 质量标准研究

稀有药用动植物资源及其质量问题是影响中医药发展的关键因素<sup>[71]</sup>。尖吻蝮蛇毒目前尚未列入中国药典,也无相应的部颁标准、地方标准,质量标准处于空白状态,严重阻碍了其产品的开发利用。

经查阅历版中国药典、部颁标准与各省地方中药材标准,目前仅中国药典 2020 年版收录的矛头蝮蛇血凝酶项下附有矛头蝮蛇蛇毒;《福建省中药材标准》(2006 年版)中收录了眼镜蛇毒与蝮蛇毒。蛇毒相关药品仅有降纤酶、注射用降纤酶《国家药品监督管理局国家药品标准》(2000 年),蕲蛇酶注射液、巴曲酶注射液收录于《国家食品药品监督管理局国家药品标准》。可见蛇毒质量标准在一定程度上限制了其作为药品原料的产品开发,且已有标准质量控制项较简单,仅包含性状、鉴别、检查、蛋白质含量测定、贮藏项,用法用量项,并未写明具体治疗剂量,其真伪鉴别特异性方法、含量测定方法、用法用量等均需进一步建立与完善。

蛇的种类、产地、时间、蛇龄、性别、生长环境等不同会导致蛇毒化学成分差异<sup>[72]</sup>,因此在尖吻蝮蛇毒的质量标准建立中,应对其产地、采集时间、蛇龄、性别、养殖环境等进行研究。同时,蛇毒受热易变性,一般以冻干粉形式保存,还需对其采集方式、分离纯化技术、加工工艺、包装、贮藏条件等进行研究,从源头、过程各环节全面保障其临床应用安全有效。因此,需尽快

建立尖吻蝮蛇毒规范化质量标准, 为其作为药物原料提供法定依据, 为中药材市场监管与临床用药安全提供科学依据。

## 6 结语

尖吻蝮蛇毒是宝贵的医药资源, 具有良好开发前景。科研工作者应正确认识与科学应用尖吻蝮蛇毒, 其同一成分既是有效成分, 也是毒性成分, 如 SVMPs 既具有抗血栓作用, 又能够引起出血、凝血功能障碍和炎症反应。因此需要科学把控其用量, 将蛇毒“化害为利”, 同时应用现代分离纯化技术进一步筛选出其活性成分, 弃除毒性成分, 使尖吻蝮蛇毒向单一成分和相对纯的方向发展, 为其作为药用原料的有效性和安全性提供保障。随着蛇毒研究的不断深入, 今后尖吻蝮蛇毒的用途将越来越广泛, 相信会有越来越多的尖吻蝮蛇毒来源药物应用于临床, 使尖吻蝮蛇毒这一毒性物质得到更好的利用, 对保证尖吻蝮蛇毒的质量、促进尖吻蝮蛇毒中药资源的开发、推动中药现代化的研究具有重要意义。

## REFERENCES

- [1] UTKIN Y N. Animal venom studies: Current benefits and future developments[J]. World J Biol Chem, 2015, 6(2): 28-33.
- [2] LIU B Y, WANG Q P, WANG Z P, et al. Progress on bioactive enzymes in snake venom[J]. J Liaocheng Univ, (聊城大学学报: 自然科学版), 2021, 34(2): 81-88.
- [3] DONG D G, WANG W C, DENG Z P. Advances in snake venom studies: From lethal toxins to new drug development[J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2020, 55(9): 2019-2026.
- [4] 国家林业和草原局. 国家保护的有益的或者有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物名录[EB/OL]. (2017-03-15) [2022-12-20]. <http://www.forestry.gov.cn/main/3954/content-959027.html>.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第九册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 24, 430.
- [6] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [7] CHEN Y, WU X F, ZHAO E M. Classification of Agkistrodon species in China[J]. Toxicon, 1984, 22(1): 53-61.
- [8] WANG N, LI Y Y, ZHONG L P, et al. Targeted identification of C-type lectins in snake venom by 2DE and Western blot[J]. Toxicon, 2020(185): 57-63.
- [9] WANG J. Snake venomomics of two venomous snakes and application of species-specific antibody[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2013.
- [10] THEAKSTON R D, LAING G D. Diagnosis of snakebite and the importance of immunological tests in venom research[J]. Toxins, 2014, 6(5): 1667-1695.
- [11] TASOULIS T, PUKALA T L, ISBISTER G K. Investigating toxin diversity and abundance in snake venom proteomes[J]. Front Pharmacol, 2021(12): 768015.
- [12] LIU Y, ZHANG X H, YU Y, et al. Snake venom characteristic peptides: Novel fingerprints for species identification by sheathless capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Analyst, 2020, 145(14): 5027-5031.
- [13] CHEN P C, HUANG M N, CHANG J F, et al. Snake venom proteome and immuno-profiling of the hundred-pace viper, *Deinagkistrodon acutus*, in Taiwan[J]. Acta Trop, 2019(189): 137-144.
- [14] NIE X K, HE Q Y, ZHOU B, et al. Exploring the five-paced viper (*Deinagkistrodon acutus*) venom proteome by integrating a combinatorial peptide ligand library approach with shotgun LC-MS/MS[J]. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis, 2021(27): e20200196.
- [15] CHEN F, QIN M, LIU W, et al. Snake venom identification via fluorescent discrimination[J]. Anal Chem, 2021, 93(42): 14025-14030.
- [16] XU Y, LU Y, WU H P, et al. Progress in molecular identification of snake drugs[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42(15): 2930-2933.
- [17] SMITH C F, MCGLAUGHLIN M E, MACKESSY S P. DNA barcodes from snake venom: A broadly applicable method for extraction of DNA from snake venoms[J]. Biotechniques, 2018, 65(6): 339-345.
- [18] ROY D C, ABDURRAHIM M, ROY K, et al. Polymerase chain reaction-based snake origin tracing in commercial venom crystals by targeting the mitochondrial D-loop[J]. Toxicon, 2022(219): 106933.
- [19] TASOULIS T, ISBISTER G K. A review and database of snake venom proteomes[J]. Toxins, 2017, 9(9): 290.
- [20] HA S J, CHOI Y O, KWAG E B, et al. Qualitative analysis of proteins in two snake venoms, *Gloydius blomhoffii* and *Agkistrodon acutus*[J]. J Pharmacopuncture, 2022, 25(1): 52-62.
- [21] SIMOES-SILVA R, ALFONSO J, GOMEZ A, et al. Snake venom, A natural library of new potential therapeutic molecules: Challenges and current perspectives[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2018, 19(4): 308-335.
- [22] HUANG J, FAN H, YIN X J, et al. Isolation of a novel metalloproteinase from *Agkistrodon* Venom and its antithrombotic activity analysis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(17): 4088.
- [23] WANG Y W, QIN Z X, SHEN S H, et al. A novel fibrinogenase from *Agkistrodon acutus* venom protects against LPS-induced endotoxemia via regulating NF- $\kappa$ B pathway[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2015, 37(5): 413-420.
- [24] WAHEED H, MOIN S F, CHOUDHARY M I. Snake venom: From deadly toxins to life-saving therapeutics[J]. Curr Med Chem, 2017, 24(17): 1874-1891.
- [25] GAO Y X. Structural studies of two snake venom C-type lectins[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2012.
- [26] LU Q M, NAVDAEV A, CLEMETSON J M, et al. Snake venom C-type lectins interacting with platelet receptors. Structure-function relationships and effects on haemostasis[J]. Toxicon, 2005, 45(8): 1089-1098.
- [27] WANG S S. The study of a novel serine proteinase from the

- venom of *Deinagkistrodon acutus* and the hypotensive mechanism of ACF II [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2014.
- [28] CHEN J X, XU X L, LIU X H, et al. The effects of pH and metal ions on the secondary structure of anticoagulation factor II studied by CD spectroscopy[J]. Chin J Inorg Chem(无机化学学报), 2006, 22(1): 69-72.
- [29] ZENG F X. The structural-functional research of AhV<sub>7</sub>L-I and four kinds of PLA<sub>2</sub>[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2012.
- [30] RAO Y Z, XIAO G Y, ZHOU S X, et al. Study of phospholipase A<sub>2</sub> from the venom of agkistrodon acutus on anticoagulant and antithrombosis activity[J]. J Snake(蛇志), 1999, 11(2): 12-13.
- [31] ZHENG Y, YE F P, WANG J, et al. Purification, characterization and gene cloning of Da-36, a novel serine protease from *Deinagkistrodon acutus* venom[J]. Toxicon, 2013(67): 1-11.
- [32] 康辰医药股份有限公司. 尖吻蝮蛇蛇毒血凝酶: CN101358184A[P]. 2009-02-04.
- [33] LI H X, HUANG Y, WU X, et al. Effects of hemocoagulase agkistrodon on the coagulation factors and its procoagulant activities[J]. Drug Des Devel Ther, 2018(12): 1385-1398.
- [34] LUO X Q, YANG H X, JIN S H. Study advances of defibrase[J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2008, 22(11): 1008-1013.
- [35] WANG Q C, LIU G F. Antithrombotic drug Acutobin from snake venom[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2009, 21(12): 1-8.
- [36] WANG Y M, TSAI I H, CHEN J M, et al. Correlation between the glycan variations and defibrinogenating activities of acutobin and its recombinant glycoforms[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100354.
- [37] LIN B Y, LI X K. Commonly used snake venom coagulant hemostatic preparation and anticoagulant thrombolytic preparation[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2016, 28(1): 183-184.
- [38] LU H B, DAI D Y, LIU L L, et al. Clinical application and warning of five snake venom preparations[J]. J Mod Med Health(现代医药卫生), 2012, 28(16): 2495-2496.
- [39] ZHANG L, WU W T. Isolation and characterization of ACTX-6: A cytotoxic L-amino acid oxidase from *Agkistrodon acutus* snake venom[J]. Nat Prod Res, 2008, 22(6): 554-563.
- [40] ZHANG L, WEI L J. ACTX-8, a cytotoxic L-amino acid oxidase isolated from *Agkistrodon acutus* snake venom, induces apoptosis in Hela cervical cancer cells[J]. Life Sci, 2007, 80(13): 1189-1197.
- [41] JIA Z P, LIU Y Y, JI X R, et al. DAKS1, a kunitz scaffold peptide from the venom gland of *Deinagkistrodon acutus* prevents carotid-artery and middle-cerebral-artery thrombosis via targeting factor XIa[J]. Pharmaceuticals, 2021, 14(10): 966.
- [42] KONG Y, SUN Q, ZHAO Q, et al. Purification and characterization of a novel antiplatelet peptide from *Deinagkistrodon acutus* venom[J]. Toxins, 2018, 10(8): 332.
- [43] CHEN M M, YE X H, MING X, et al. A novel direct factor xa inhibitory peptide with anti-platelet aggregation activity from *Agkistrodon acutus* venom hydrolysates[J]. Sci Rep, 2015(5): 10846.
- [44] DING B, XU Z H, QIAN C D, et al. Antiplatelet aggregation and antithrombosis efficiency of peptides in the snake venom of *Deinagkistrodon acutus*: Isolation, identification, and evaluation[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015(2015): 412841.
- [45] ZHONG L P, LIU J Y, TENG S Y, et al. Identification of a novel cathelicidin from the *Deinagkistrodon acutus* genome with antibacterial activity by multiple mechanisms[J]. Toxins, 2020, 12(12): 771.
- [46] ZHANG K R, LIU Y, TANG Y Z. Screening of TNFR1 binding peptides from *Deinagkistrodon acutus* venom through phage display[J]. Toxins, 2022, 14(2): 155.
- [47] SHIH C H, CHIANG T B, WANG W J. Inhibition of integrins  $\alpha v/\alpha 5$ -dependent functions in melanoma cells by an ECD-disintegrin acurhagin-C[J]. Matrix Biol, 2013, 32(3/4): 152-159.
- [48] SHIH C H, CHIANG T B, WANG W J. Synergistic suppression of a disintegrin acurhagin-C in combination with AZD4547 and reparixin on terminating development for human osteosarcoma MG-63 cell[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 492(3): 513-519.
- [49] OLAOBA O T, KARINA DOS SANTOS P, SELISTRE-DE-ARAUJO H S, et al. Snake venom metalloproteinases (SVMPs): A structure-function update[J]. Toxicon X, 2020(7): 100052.
- [50] FAN Q S. Research progress on main components of snake venom[J]. Med J Natl Defending Forces Southwest China(西南国防医药), 2017, 27(8): 901-904.
- [51] CLEMETSON K J. Snaclecs (snake C-type lectins) that inhibit or activate platelets by binding to receptors[J]. Toxicon, 2010, 56(7): 1236-1246.
- [52] ZHAO Q, KONG Y. Research progress on the functional components of platelets in snake venom toxins[J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2018, 33(6): 851-854.
- [53] CALDERON L A, SOBRINHO J C, ZAQUEO K D, et al. Antitumoral activity of snake venom proteins: New trends in cancer therapy[J]. Biomed Res Int, 2014(2014): 203639.
- [54] GUTIÉRREZ J M, LOMONTE B. Phospholipases A<sub>2</sub>: Unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins[J]. Toxicon, 2013(62): 27-39.
- [55] YANG Y, DENG L P. Research progress of antihypertensive components in snake venom[J]. J Snake(蛇志), 2020, 32(1): 26-28, 31.
- [56] GIMENEZ B T, CEZARETTE G N, BOMFIM A S, et al. Role of crotoxin in coagulation: Novel insights into anticoagulant mechanisms and impairment of inflammation-induced coagulation[J]. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis, 2020(26): e20200076.
- [57] GASANOV S E, DAGDA R K, RAEL E D. Snake venom cytotoxins, phospholipase A<sub>2</sub>s, and Zn<sup>2+</sup>-dependent metalloproteinases: Mechanisms of action and pharmacological relevance[J]. J Clin Toxicol, 2014, 4(1): 1000181.
- [58] CUMMINGS B S. Phospholipase A<sub>2</sub> as targets for anti-cancer drugs[J]. Biochem Pharmacol, 2007, 74(7): 949-959.
- [59] NELSON J, BARLOW K, BECK D O, et al. Synergistic

- effects of secretory phospholipase A2 from the venom of *Agkistrodon piscivorus piscivorus* with cancer chemotherapeutic agents[J]. *Biomed Res Int*, 2013(2013): 565287.
- [60] COSTA T R, BURIN S M, MENALDO D L, et al. Snake venom L-amino acid oxidases: An overview on their antitumor effects[J]. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2014(20): 23.
- [61] HU Y X, LI Y M, DU Y B, et al. Research progress of antitumor active components from snake venom[J]. *J Hebei Norm Univ(河北师范大学学报: 自然科学版)*, 2021, 45(5): 522-529.
- [62] SCHNEIDER M C, MIN K D, HAMRICK P N, et al. Overview of snakebite in Brazil: Possible drivers and a tool for risk mapping[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2021, 15(1): e0009044.
- [63] SHI R. Epidemiological study of 348 cases of snake bites and effect analysis of intervention of traditional Chinese medicine[D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2020.
- [64] XIAO G. Composition analysis and toxicity study of two kinds of snake venom in Hunan[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021.
- [65] SONG T L, ZHOU M L, MENG Y, et al. Immune effects of the *Deinagkistrodon acutus* venom in mice[J]. *J Snake(蛇志)*, 2021, 33(1): 1-4.
- [66] FAN C Y, QIAN Y C, YANG S L, et al. cDNA cloning and sequence analysis of Lys-49 phospholipase A2 from *Agkistrodon acutus*[J]. *Genet Anal*, 1999, 15(1): 15-18.
- [67] XIAO H X, PAN H, LIAO K R, et al. Snake venom PLA<sub>2</sub>, a promising target for broad-spectrum antivenom drug development[J]. *Biomed Res Int*, 2017(2017): 6592820.
- [68] SERRANO S M, MAROUN R C. Snake venom serine proteinases: sequence homology vs. substrate specificity, a paradox to be solved[J]. *Toxicon*, 2005,45(8):1115-1132.
- [69] TIAN H W. Study on the mechanism of two snake venom C type lectin-like proteins assisting vipers in predation and causing thrombotic microangiopathy[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [70] AN F X, TANG J, MENG X S, et al. Research progress of bioactive constituents and quality standard of gecko[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2022, 39(20): 2677-2683.
- [71] LI P, SONG J, GUAN H F, et al. Analysis and countermeasures on use of endangered wild fauna and flora resources in traditional Chinese medicine[J]. *Food Drug(食品与药品)*, 2021, 23(2): 168-172.
- [72] LIU Y X, LIU Y, FENG L Y, et al. Research progress on the snake venom of *Agkistrodonacutus*[J]. *Biol Chem Eng(生物化工)*, 2018, 4(6): 137-141.

收稿日期: 2023-01-13

(本文责编: 曹粤锋)