

**<sup>131</sup>I-眼镜蛇毒细胞毒素14在大鼠体内的分布**郭慕平<sup>1</sup>, 王晴川<sup>2</sup>, 刘广芬 (福建医学院蛇毒研究室, 福州350004, 中国)

R996.3

**Distribution of <sup>131</sup>I-cytotoxin 14 from *Naja naja atra* venom in rats**GUO Mu-Ping<sup>1</sup>, WANG Qing-Chuan<sup>2</sup>, LIU Guang-Fen (Laboratory of Snake Venom Research, Fujian Medical College, Fuzhou 350004, China)

**ABSTRACT** Cytotoxin 14 (CT<sub>14</sub>) from *Naja naja atra* venom was labelled with <sup>131</sup>I by chloramine-T method and its tissue distribution was studied in rats. The highest concentration of the cytotoxin was found in kidney, 5979 dpm per mg weight, 14 times more than that of the control animals, at 0.5 h after iv injection and high concentrations were found in liver, spleen, pancreas, and adrenal. CT<sub>14</sub> was also found in brain at 2 h after injection, 50 dpm per mg weight, 3 times more than that of the control.

**KEY WORDS** cobra venoms; cytotoxins; iodine radioisotopes; tissue distribution

A

**摘要** 用<sup>131</sup>I按氯胺T法标记眼镜蛇毒细胞毒素14, 观察其在大鼠体内的分布。静脉给药后0.5 h, 分布最多的是肾, 每mg组织放射性达5979 dpm, 为对照组的14倍。肝、脾、胰、肾上腺亦有较高分布。给药后2 h, 脑组织亦见分布, 其每mg组织放射性为50 dpm, 是对照组的3倍。

碘131

**关键词** 眼镜蛇毒; 细胞毒素; 碘放射性同位素; 组织分布

眼镜蛇毒细胞毒素14 (cytotoxin 14, CT<sub>14</sub>)是我们从中华眼镜蛇(*Naja naja atra*)毒中分离的一个组分, 具有显著的抗癌活性<sup>[1]</sup>, 对其药物动力学亦曾加研究<sup>[2]</sup>, 本文用<sup>131</sup>I标记的方法, 观察其在大鼠体内的分布。

Received 1991-07-22

Accepted 1993-05-15

<sup>1</sup> Now in Quanzhou People's Hospital, Quanzhou 362000, China.

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed.

**MATERIALS AND METHODS**

用离子交换柱层析法<sup>[3]</sup>自广西产眼镜蛇(*Naja naja atra*)毒纯化制备CT<sub>14</sub>, 无载体Na<sup>131</sup>I, 中国科学院原子能研究所产品。Sephadex G-25, 瑞典Pharmacia公司产品。牛血清白蛋白, 上海生物制品研究所产品。氯胺T, 焦亚硫酸钠, CP, 上海化学试剂厂产品。

**<sup>131</sup>I-CT<sub>14</sub>的制备** 用氯胺T氧化法<sup>[3]</sup>进行<sup>131</sup>I标记。在配有电磁搅拌装置的小反应瓶中加入0.1 ml无载体Na<sup>131</sup>I 148 MBq和0.1 ml CT<sub>14</sub> 10 mg, 在电磁搅拌下加入新鲜配制的0.1 ml氯胺T 1 mg, 反应3 min, 加入0.1 ml焦亚硫酸钠2 mg终止反应。把反应液移入经1%牛血清白蛋白处理过的Sephadex G-25柱(1 cm × 15 cm), 磷酸盐缓冲液(PBS)洗脱, 自动收集器收集洗脱液, 用FT 603井型γ闪烁探头和FH-408型自动定标器计数各管dpm, 把蛋白峰中放射性最高的3管(3.4, 5管)合并, 冷藏备用, 不超过5 d。

**<sup>131</sup>I利用率测定** 取反应液0.01 ml, 用15%三氯醋酸沉淀, 离心, 计算沉淀物放射性所占%。

**标记蛇毒性质检查** 取4 μl (2 mg · ml<sup>-1</sup>)标记蛇毒和同量未标记蛇毒(6 mg · ml<sup>-1</sup>)混合点样于醋酸纤维素薄膜阳极端, 200 V电泳1 h (电泳缓冲液为醋酸铵0.05 mol · L<sup>-1</sup>, pH 5.5), Coomassie brilliant blue染色, 贴于X线底片上自显影3 d。比较电泳图和放射性自显影图。

**大鼠实验** 参照Gumaa等<sup>[5]</sup>的实验设计。Wistar大鼠, 体重193 ± 21 g, ♀♂兼用, 分给毒组和对照组, 每组8鼠。给毒组iv <sup>131</sup>I-CT<sub>14</sub> 0.45 mg · kg<sup>-1</sup>, 其放射性为6 × 10<sup>7</sup> dpm。大鼠注毒后0.5 h, 2 h分两批颈椎脱臼处死, 每批4鼠, 将各器官置井型γ探头作脉冲计数, 算出每mg标本的dpm。对照组8只大鼠, 在相同条件下, iv Na<sup>131</sup>I 6 × 10<sup>7</sup>

Tab 1. Distribution of  $^{125}\text{I}$  in rats ( $\text{dpm}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) after iv  $^{125}\text{I}$ -CT<sub>14</sub>.  $n=6$ ,  $\bar{x}\pm s$ . \* $P>0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$  vs control.

Tissue	0.5 h after iv $^{125}\text{I}$ -CT <sub>14</sub>		2 h after iv $^{125}\text{I}$ -CT <sub>14</sub>	
	Control	Intoxicated	Control	Intoxicated
Brain	61±34	61±12 <sup>c</sup>	15±8	50±19 <sup>c</sup>
Lung	545±233	760±100 <sup>c</sup>	184±104	232±54 <sup>c</sup>
Heart	219±73	272±23 <sup>c</sup>	58±19	204±65 <sup>b</sup>
Liver	353±192	1 551±460 <sup>c</sup>	100±42	756±142 <sup>c</sup>
Spleen	311±104	1 593±161 <sup>c</sup>	108±58	684±142 <sup>c</sup>
Pancreas	261±111	826±111 <sup>c</sup>	100±69	449±65 <sup>c</sup>
Lymph node	292±109	422±127 <sup>c</sup>	88±38	250±54 <sup>c</sup>
Intestine	511±196	549±61 <sup>c</sup>	388±77	576±180 <sup>c</sup>
Kidney	430±115	5 979±975 <sup>c</sup>	142±61	1 240±388 <sup>c</sup>
Adrenal	184±50	756±131 <sup>c</sup>	100±73	315±58 <sup>c</sup>
Leg muscle	111±50	238±84 <sup>b</sup>	77±69	131±23 <sup>c</sup>

$\text{dpm}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的和未标记原毒 $0.45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的临时混合液,并用同样方法算出各脏器每mg标本的dpm.

## RESULTS

CT<sub>14</sub>标记  $^{125}\text{I}$  利用率为83%。醋酸纤维素薄膜电泳,蛋白区带与放射自显影带基本一致说明CT<sub>14</sub>标记后,电泳行为未受影响。

分布 大鼠 iv  $^{125}\text{I}$ -CT<sub>14</sub>后0.5 h,分布最多的脏器是肾,每mg组织的放射性达5979 dpm,为对照组的14倍。肝、脾、肾上腺、胰等脏器都有较高分布。心、肺、骨骼肌、淋巴结的放射性参入量也显著高于对照组。给药后2 h,各脏器放射性参入量均有下降,但脑组织的放射性参入量相对于对照组却明显增高,其每mg组织的dpm为对照组的3倍。见Tab 1。

## DISCUSSION

给毒后0.5和2 h,多数脏器的放射性参入量显著高于对照组,说明眼镜蛇细胞毒素对组织具有较强的亲和力,在体内分布广泛。心脏是眼镜蛇细胞毒素的作用部位,但其放射性参

入量并未明显高于其他脏器,而供血丰富的器官,肝、脾、肾上腺等放射性参入量相对较高,表明细胞毒素对心脏并无特殊的亲和力,其亲和力应无明显的组织特异性。肝、脾、肾上腺等脏器分布较多,可能与血流丰富有关。各脏器以肾分布最高,为对照组的14倍,说明该毒素及其分解产物能迅速由肾脏排泄。脑组织放射性参入量在给毒后0.5 h与对照组比无显著性差异,但在给毒后2 h却高于对照组3倍,表明脑中有CT<sub>14</sub>分布,提示其可通过血脑屏障进入脑组织。Tseng等<sup>(6)</sup>直接用组织放射比方法,比较眼镜蛇毒及其所含神经毒素和心脏毒素在家兔和小鼠体内的分布,亦发现脑组织及脑脊液中均能测到放射性,其中较多的是心脏毒素,但其量甚少,不足以使动物中枢中毒死亡。至于CT<sub>14</sub>是否能损伤血脑屏障而导致毒素进入,从Tseng等<sup>(6)</sup>实验给兔所用剂量达 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 所得结果来看,似乎可以排除。

## REFERENCES

- Zhong XY, Liu GF, Wang QC. Purification and anti-cancer activity of cytotoxin 14 from the venom of *Naja naja atra*. Acta Pharmacol Sin 1993; 14: 279-82.

- 2 Guo MP, Wang QC, Liu GF. Pharmacokinetics of cytotoxin 14 from *Naja naja atra* venom. *Acta Pharmacol Sin* 1992; 13: 544-6.
- 3 Du TC, Shen JH, Wang KZ, Wu WY, Wu CR, Gu BX. Membrane toxins from Chinese cobra (*Naja naja atra*) venom: Cytolysis and synthesis of fragments. In: Shen ZW, editor. *Nucleic acids and proteins*. Beijing: Science Press. 1980; 163-8.
- 4 Wang QC, Wei JN, Liu GF. Distribution of <sup>125</sup>I-labelled thrombin-like enzymes isolated from *Agkistrodon acutus* venom in rats and mice. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1991; 5: 56-8.
- 5 Gumaa KA, Usman OH, Kertesz G. Distribution of <sup>125</sup>I-labelled *Bitis arietans* venom in the rats. *Toxicon* 1974; 12: 565-8.
- 6 Tseng LF, Chiu TH, Lee CY. Absorption and distribution of <sup>125</sup>I-labelled cobra venom and its purified toxins. *Toxicol Appl Pharmacol* 1968; 12: 526-35.

92-96

19

### 消旋四氢巴马汀对血压及外周组织去甲肾上腺素和肾上腺素含量的影响

邢淑华, 葛晓群, 颜梅, 卞春甫 (徐州医学院药理教研室, 徐州221002, 中国)

R965.2

**Effects of *dl*-tetrahydropalmatine on blood pressure and norepinephrine and epinephrine contents in peripheral tissues**

XING Shu-Hua, GE Xiao-Qun, YAN Mei, BIAN Chun-Fu (Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China)

**ABSTRACT** Administration of *dl*-tetrahydropalmatine (THP) iv, ip, and ig lowered the pressure and concurrently slowed the heart rate in anesthetized rats. The hypotensive and bradycardic effects were not produced by injecting THP into the vertebral artery in anesthetized rabbits. These results suggest that the site of hypotensive action of THP may not be a central one. The HPLC coupled with electrochemical detection showed that the contents of norepinephrine (NE) in the heart, aorta, and femoral artery and epinephrine (E) in the adrenal gland were markedly reduced by THP ( $P < 0.01$ ). A positive correlation was found between the hypotensive effect and the reduction of NE in the aorta and femoral artery ( $r = 0.97, P < 0.01$ ).

**KEY WORDS** *dl*-tetrahydropalmatine; norepinephrine; epinephrine; blood pressure; heart rate; high pressure liquid chromatography

**A 摘要** 消旋四氢巴马汀(THP) iv、ip 和 ig 均可明显地降低麻醉大鼠的血压和减慢心率。THP 1.0、5.0、10.0 mg·kg<sup>-1</sup> 椎动脉注射对麻醉兔血压和心率无明显影响, 而以等剂量 iv, 则可引起降压。高压液相色谱-电化学检测法测定结果表明 THP 可明显减少大鼠心脏、主动脉、股动脉中 NE 和肾上腺中 E 含量。THP 降压效应与血管中 NE 含量下降呈显著正相关。

**关键词** 消旋四氢巴马汀; 去甲肾上腺素; 肾上腺素; 血压; 心率; 高压液相色谱

消旋四氢巴马汀(*dl*-tetrahydropalmatine, THP) 是延胡索(*Corydalis yanhusuo* W T Wang) 的主要有效成分, 国内对其镇痛、镇静安定作用及机制曾进行过许多研究, 并获得较大进展<sup>1</sup>。虽有资料表明 THP 具有降压作用, 但对其降压机制则未见明确报道。本文旨在进一步观察不同途径给予 THP 对血压和心率的影响, 并测定心脏、血管及肾上腺中 NE 或 E 的含量, 以期初步探讨其降压作用机制。

#### MATERIALS AND METHODS

**药品** THP (南宁制药厂), 可乐定 (clonidine, Clo, 河北邢台制药厂), 利血平 (reserpine, Res, 广州侨光制药厂), 肾上腺素 (epinephrine, E) 和去甲肾上