

YILAN ZEHİRLERİ: III. ENZİMLER

Gökhan ERASLAN¹

Ali BİLGİLİ²

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kayseri-TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.05.2001

The Snake Venoms: III. The Enzymes

Summary

In this review, the hydrolytic and non-hydrolytic enzymes in snake venoms were investigated. Some detailed knowledge about the proteolytic enzymes and phospholipase A₂, acetyl cholinesterase (AChE), phosphomonoesterase, phosphodiesterase, hyaluronidase, which are hydrolytic enzymes are given. Information regarding the elastase, NAD nucleosidase, arginin esterase, haemorrhagins and the non-hydrolytic enzymes are given briefly. Additionally, the scientific use of some compounds in snake venoms were summarized.

Key Words: Snake, venom, enzymes.

Özet

Bu derlemede, yılan zehirlerinde bulunan hidrolitik ve hidrolitik olmayan enzimler incelendi. Hidrolitik enzimlerden fosfolipaz A₂, AkE, fosfomonoesteraz, fosfodiesteraz, hyaluronidaz ve proteolitik enzimler ile ilgili ayrıntılı bilgi verildi; elastaz, NAD nükleosidaz, arjinin esteraz, hemorajinler ve hidrolitik olmayan enzimlere kısaca değinildi. Ayrıca, yılan zehirlerindeki bazı bileşiklerin bilimsel kullanımı özeti lendi.

Anahtar Kelimeler: Yılan, venom, enzim.

Giriş

Yılan, kurbağa, karınca, akrep, örümcek ve arıları da içine alan bazı hayvan zehirlerinin enzymatik etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Bu hayvanlar arasında en zengin enzim kaynağını yılan zehirleri oluşturur. Diğer hayvan zehirleri; fosfodiesteraz, L-amino asit oksidaz, alkanin fosfomonoesteraz ve asetilkolin esteraz'dan yoksundur. Düşük düzeyde arjinin ester

hidrolaz etkinliği gösterirken yüksek düzeyde proteaz, 5'-nukleotidaz ve hyaluronidaz etkinliğine sahiptir (1,14,23).

Bu derlemede, sadece yılan zehirlerinde bulunan enzimler (tablo 1) üzerinde durulacaktır.

Tablo 1. Yılan zehirlerinde bulunan enzimler.

Hidrolitik enzimler	Fosfolipaz A ₂ , lizofosfolipaz, asetilkolin esteraz, alkanen fosfataz, asit fosfataz, 5'-nukleotidaz, fosfodiesteraz, deoksiribonukleaz, ribonukleaz (zehir RNAaz), amilaz, hyaluronidaz, heparinaz, NAD-nükleosidaz, kininojenaz, metalloproteinazlar (faktör X aktivatörü, elastaz), serin proteinazlar (protein C aktivatörü, ankrot, batroksobin)
Hidrolitik olmayan enzimler	a.Oksido-redüktazlar: Katalaz, laktat dehidrogenaz, L- amino asit oksidaz b.Transferazlar: Alanin amino transferaz c.Karbon-azot ligazlar

(14)

A. Hidrolitik Enzimler

Fosfolipaz A₂ (Phospholipaz A, lecitinase): Fosfolipaz A₂, yılan zehirlerinde bulunan, 30.000 molekül ağırlığında, 15 sistein, glisin ve prolin köprüsüne sahip, disülfit bağları sebebiyle hidrolize dayanıklı, hiç serbest sülfidril bağlı içermeyen bazik polipeptiddir. Fosfolipaz A kalsiyum tarafından et-

kinleştirilirken, EDTA tarafından etkisiz hale getirilir. Fosfolipaz A, kan hücreleri ve mitokondri membran fosfolipidlerine bağlanarak yağ asidi kalıntılarını parçalar aynı zamanda histamin ve 5-hidroksi triptamin (serotonin) saliverilmesine sebep

olur. Kan hücrelerindeki, membran fosfolipidlerine doğrudan bağlanmaz. Fosfolipaz A₁ leshitini, lizolesitine dönüştürür ve sonuçta hemoliz şekillenir. Mitokondrierde; dış membranın iç kısmına bağlanarak fosfolipid-sitokrom kompleksini parçalar ve hücre içi solunum kanetini kırar. Bazı yılan fosfolipazları etkisini gösterebilmesi için leshitine ihtiyaç duymaz. *Australya yılan zehirleri* ve *Kobra Naja naja*'nın zehirleri, eritrositleri parçalamak için leshitine ihtiyaç göstermez. Enzim kendi başına hasif kas nekrozuna sebep olurken, nekrotik etkinlik fosfatidilkolin'in varlığında daha da artar. Fosfolipaz A₂ indirekt ajan, oluşan lizofosfatidilkolin ise direkt ajandır (9,19).

Bungarus candidus zehiri, yüksek düzeyde fosfolipaz A₂ etkinliği gösterir. Zehirin öldürücü etkinliği yüksektir. LD₅₀ değeri farelerde 0.02 µg/g (F_{6A}) ve 0.18 µg/g (F_{4A}) olan bazik iki fosfolipaz A₂ içerir. *Trimeresurus wagleri* yılan zehirinden elde edilen fosfolipaz A₂'nın ise öldürücü etkinliği yoktur (25,27).

Krotalit (*Echis coloratus*, *Bothrops asper*, *Trimeresurus albolabris*) ve Elapid (*Naja melanoleuca*) zehirleri; *Agkistrodon bilineatus bilineatus*, *A. contortrix*, *Trimesurus* zehirleri (78-279 µmol/min/mg) orta derecede fosfolipaz A etkinliği gösterir. Kobra zehirlerinin, *N. naje* zehirinin fosfolipaz A₂ etkinliği çok düşüktür (10,16,23,24,30,31).

Zehir asetilkolinesterazları (AkE): Sinir uyarısının iletiminde görev alan asetil kolin'i parçalar. Elapid AchE'nin etkinliği diğer zehirlerden daha hızlıdır. Saf AkE, ham zehirde bulunanlardan 20 kez daha etkindir. Kobra zehir AkE'ları; asetilkolin esterlerinin yanı sıra propiyonat, bütirik ve kaproik asit esterlerini de hidrolize ederler. Fizositigmin, asetilkolin hidrolizini engeller. Zehir AkE'si, 55°C'de etkinliğini kaybederken zehirin LD₅₀'sında herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Bu da AkE'in, zehir gücү üzerinde direkt etkisi olmadığını göstermektedir (8).

Bu enzim; Mamba yılanları dışında, Elapid yılan zehirlerinde yüksek düzeyde bulunur. *P. textilis*'in dört türü düşük düzeyde AkE içerirken; *Viperid* ve *Kolibrit* ailesine ait zehirlerde hiç bulunmaz (5,15).

Fosfataz: Bu tip enzimler, *Bungarus fasciatus*, *Vipera russelli*, *Agkistrodon piscivorus*, *A. mokasen*, *Crotalus oreganus* ve *Crotalus adamanteus* yılan zehirleri dışında kalan yılan zehirlerinde oldukça yaygın olarak bulunur. Bu enzimler fosfomonoester bağı içeren farklı bileşikleri hidrolize eder. Bazı bazıları bunlardan yalnız birisini içerir. Enzimin optimum pH'sı 9.5'dur ve etkinliğini Ca²⁺ ve Mg²⁺

arttırır. Enzim; 5'AM, 5'd-AMP, riboz 5 fosfat, flavin mononükleotid, 5' fosforil riboz 1-pirofosfat, ATP, kütük oligonükleotidler ve mononükleosidaz 3'5' difosfatı hidroliz eder fakat pirofosfat ve uridine 2'-3'-siklik fosfatları hidrolize edemez (1,9). ATPaz ısıtıldığında tamamen etkinsizleşir. Zehir ATPaz'ları, ATP'nin alfa-beta pirofosfat bağıını hidrolize ederken, diğer hayvansal kaynaklı ATPaz'lar ise beta ve gamma bağıını hidrolize eder. Zehir fosfatazları Mg²⁺ tarafından etkinleştirilirken, Ca²⁺ iyonları tarafından etkisiz hale getirilir. Enzim, yılan zehirinin öldürücü etkisine birinci derecede katkıda bulunamaz. Örneğin; *B. fasciatus*dan izole edilen 5' nükleotidazın faredeki LD₅₀'sı 50 µg/g'dan daha büyük iken aynı zehirden izole edilen nörotoksinin farelerde LD₅₀'sı 0.04 µg/g'dır (9). Deniz yılanı zehirleri (*taxa yılanı*), *B. candidus* zehiri, *A. contortrix* ve *A. piscivorus*'un bütün alt tiplerinin enzimatik etkinliği (2-11 µmol/min/mg) arasındadır (23,25,26). *A. bilineatus bilineatus* zehirinde orta düzeyde (13-33 nmol/min/mg); *Osiophagus hannah* zehiri, *Txyuranus wagleri*, *Pseudonaja textilis*, *Oxyuranus scutellatus* ve *O. microlopidotus* zehirlerinin yüksek düzeyde fosfataz etkinliği vardır (16,22,24,27).

NAD Nükleotidaz: NAD nükleotidaz yada basitçe NADaz olarak adlandırılır ve bazı yılan zehirlerinde mevcuttur. NAD'in, nikotinamid-N-ribozidik bağıını hidrolize eder. Bu reaksiyonun ürünleri nikotinamid ve adenozin difosfat ribozdur. Enzim NADaz'ları; nükleotid pirofosfataz ile karıştırılmamalıdır. Nükleotid pirofosfataz ürünleri ise nikotinamid mononükleotid ve 5' AMP'dir. Yılan zehirlerinde nükleotid pirofosfataz bulunmaz (1).

Hyaluronidaz: Hyaluronidaz, hyaluronik asidi hidrolize eden enzimdir. Hyaluronik asit deri, bağ doku ve eklemde bulunan mukopolisakkarittir. Hücreler arasındaki yapışmayı sağlar ve eklemelerde kayganlaştırıcı olarak iş görür. Hyaluronik asit, kimyasal olarak (-N-G)n'ının tekrarlayan ünitelerinden oluşur. N;N-asetil-d-glukozamin ve G;d-glukronik asittir. N-G ve G-N arasında glikozidik bağ bulunur. Yılan zehiri hyaluronidazları glikozamid ünitesinin C₁ ve glukronik asit ünitesinin C₄ arasındaki glukozamin bağıını hidrolize eder. Enzim, sıklıkla ilerleyici faktör olarak da bilinir. Çünkü hyaluronik asidi hidrolize ederek, kurbanın dokusu içinde zehirin ilerleyişini hızlandırır (1,20). *A. acutus* zehirinden elde edilen hyaluronidaz, molekül ağırlığı 33.000 olan bir glikoproteindir. Enzim en yüksek etkinliğini pH 3.5-5 ve 37°C'da gösterir. Asidik koşullara dayanıklı olup, nötral ve bazik koşullara duyarlıdır. Fe²⁺, Cu²⁺ ve heparin, zehir hyaluronidazlarını inhibe eder. Diğer taraftan

flavonoid aglikonlardan apijenin ve kaemferol da zehirdeki hyaluronidaz etkinliğini engeller (11,29).

B. candidus zehirleri dışında, Elapid zehirleri ya zayıf hyaluronidaz etkinliği gösterir ya da hiç göstermez. Oysa Viperid zehirlerinde bu etkinlik oldukça belirgindir. Russel's viper zehirlerinde, hyaluronidaz etkinliği olan bileşiklerin molekül ağırlığı ortalama 14.000'dir. Zehirin etkinliği isya ve depolama koşullarına duyarlıdır (20).

Elastaz: Elastin; elastik dokularda bulunan sarı renkli skleroproteindir. Elastinolitik enzimler; yılan zehirleri dışında mikroorganizma, polimorfnükleer lensosit, makrosaj, pankreas dahil pekçok memeli hücre ve dokularda bulunur. Bütün elastazların elastin dışındaki peptid ve protein substratlarına karşı da katalitik etkisi vardır. Zehir elastazının ise rat aortasındaki elastik lifleri ve sentetik substratları hidrolize ettiği tespit edilmiştir. Fakat enzim henüz saf olarak elde edilememiştir (28).

Fibrinojeni fibrine dönüştüren enzimler: Trombinin pekçok etkinliği olmasına rağmen, bazı yılan zehirleri fibrinojeni fibrine dönüştüren trombin benzeri enzimlere sahiptir. Bu enzimler *Bitis gabonica*, *Cerastes vipera*, *Agistrodon contortrix contortrix*, *Crotalus adamanteus* ve *Bothrops atrox* yılan zehirlerinde yaygın olarak bulunur. Yılan zehiri fibrinojen dönüştürücü enzimler, fibrinojenden fibrinopeptid A ve fibrinopeptid B veya her ikisinin

salınma durumuna göre birkaç grupta ele alınır. Bu grupta bulunan bazı enzimlerden Arvin; pH'ı 2.5-8 arasında bulunan pihtlaşmaya sebep olan serin proteazlarındanadır. Pihtlaştırıcı etkisinin yanısıra katalitik etkisi de bulunmaktadır. Fibrinojen; Aalfa, Bbeta ve gama olarak bilinen üç polipeptid zinciri içeren alt ünitelerden oluşur. Trombin, Aalfa ve Bbeta zincirlerinin terminal azota bağlı arjinin-glisin bağıni hidrolize ettiğiinde fibrinopeptid A ve fibrinopeptid B açığa çıkar. Fibrinojenin geri kalan kısmı fibrin oluşturmak için polimerize olur. Arvinde ise fibrinojen, fibrine dönüşürken sadece fibrinopeptid A açığa çıkar. Arvin, trombin benzeri enzim olarak nitelendirilmesine rağmen trombinle özdeşleştirmek doğru olmaz. Trombinin oluşturduğu fibrin, arvinin oluşturduğundan kimyasal yapı ve fiziksel özellik yönünden farklıdır. Normal fibrin birbirine güçlü çapraz bağlarla bağlanmışmasına rağmen; arvinin oluşturduğu fibrin zayıf bağlardan oluşmuştur ve hızla parçalanır. Diğer taraftan; *Bitis gabonica*'dan (fibrinopeptid A, B açığa çıkarır) gabonaz, *A. contortrix contortrix*'den venzim (fibrinopeptid A>B açığa çıkarır), *Crotalus adamanteus*'dan krotalaz (fibrinopeptid A açığa çıkarır) ve *Bothrops atrox*'dan batroxobin (fibrinopeptid A açığa çıkarır) elde edilmiştir. Bu grupta bulunan bazı enzimler tablo 2'da verilmiştir (2,3,7,12).

Tablo 2. Yılan zehirinde bulunan fibrin oluşturan enzimlerin karşılaştırılması (10)

Özellik	Enzim				
	Ankrot	Batroksobin	Krotalaz	Gabonaz	Venzim
Zehir kaynağı	Calloselasma rhodostoma	Bothrops atrox (moojeni)	Crotalus adamanteus	Bitis gabonica	Agistrodon contortrix contortrix
Molekül ağırlığı	35400	36000	32700	30600	64000
İzoelektrik noktası (pI)	pI=4.2-6.2	pI=6.6	pI=4.6	pI=5.3	Tespit edilememiştir
Karbonhidrat düzeyi	% 36	%5.8	%8.3	%20.6	Tespit edilememiştir
Fibrinopeptid açığa çıkarması	A	A	A	A,B	B>A
Fibrinojen zincirinin parçalanması	Aα- zincir	Hiçbiri	Bβ- zincir	Hiçbiri	Tespit edilememiştir
Enzim etkinliği engelleyicileri	DFF	DFF	DFF	FMSF	FMSF
Protein yapısındaki engelleyiciler	α2- makroglobulin	Alfa-2 makroglobulin	Tespit edilememiştir	Tespit edilememiştir	STİ (kısmi inhibisyon)
Etkin yeri	Serin	Serin	Serin	Serin	Serin
Terminal uç (amino)	Valin	Valin	Valin	Valin	Tespit edilememiştir
Faktör XIII etkinleşmesi	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Hayır

DFF: Dizopropilflorofosfat

FMSF: Fenilmetsülfonilflorit

Proteazlar: Bradikinin serbestleştirici faktör; bradikininojendeki iki özel peptid bağımlı hidrolize ederek bradikinine dönüştürür. Brezilya yılani *B. jararacussu* zehirinde bradikininin düz kasları kasıcı etkinliğini güçlendiren peptidlerin bulunduğu tespit edilmiştir. Etkin peptidlerin; arteriyal kan basıncı ve izole edilmiş kobay ileumu üzerinde bradikinin etkilerini güçlendirmede kaptoprilden 2-3 kez daha etkindir. Ayrıca, Anjiyotensin I dönüştürücü enzimin etkinliğini engellemeye yeteneği de yüksektir (1,6).

Orta Asya yılantı zehirlerinden kininojen, kininaz ve bununla ilişkili olan enzimler tespit edilmiştir. Kobra zehirinde, kinin benzeri kasıcı etkinlik gösteren enzimler bulunur. Bu kasıcı etkinlik bradikinin ile karşılaşıldığında daha uzun sürelidir. *E. multisquamatus* zehirindeki düşük molekül ağırlıklı kısımlarının özel bradikininin güçlendirici etkisi olduğu ve bu etkinin kininaz II'nin inhibisyonu ile ilgili olduğu (anjiyotensin dönüştürücü enzim) tespit edilmiştir (4).

A.p. piscivorus'dan kallikrein benzeri enzim izole edilmiştir. Molekül ağırlığı 29.000'dir. Enzim, bradikinin salınması için bir kininojen anoloğu ve fibrinojenin, B beta zincirini ayırrır. Bu proteolitik etkinlik disopropilflorofosfat tarafından engellenir (17).

B. atrox yılantı zehirinden, *atroks* olarak adlandırılan bir enzim izole edilmiştir. Atroks'un fibrinopeptid A₂'yi ayırcı etkinliği; trombinden üç kat, batroksobin'den dört kat daha yavaştır (13,18).

Arjinin esteraz ve diğer esterazlar : Tripsine benzerlik göstermekle beraber zehir proteazlarının ve tripsinin proteolize neden olduğu bölgeler farklıdır. Proteazlar ve arjinin ester hidrolazları, substratları farklı kısımlara ayırır. Bütün yılantı zehirleri arjinin esterlerini hidrolize etmez. Arjinin ester hidrolazları genellikle Krotalidae ve Viperidae zehirlerinde mevcuttur. *C. scutatus scutatus* zehirinden AAE I ve AAE II olmak üzere iki arjinin ester hidrolazı elde edilmiştir. Her iki enzimin amino asit kalıntıları benzerdir ve her iki esteraz da karbonhidrat içerir. Enzimlerin esteraz etkinlikleri, pH 8-8.5 arasındadır ve serine özel ayıraçlar ve benzamid tarafından engellenirken EDTA veya soya fasulyesi tripsin

inhibitörü tarafından engellenmez. Her iki enzim de trombin benzeri etkinlik veya fibrinolitik etkinlik göstermez. AAEI ve AAEII'lerin kinin saliverici etkinlikleri de vardır (21).

Hemorajinler: Hemorajin, *Krotalid* ve *Viper* zehirinde bulunmaktadır. Isırık bölgesinde hızlı hemorajik ödeme, aşırı derecede kanın damar dışına sızmasına ve sistemik kanamaya sebep olur. Eskiden bütün hemorajinlerin proteolitik etkisinin olduğuna inanılırdı fakat proteolitik etkisi olmayan hemorojinler de bulunmaktadır. *Eastern diamond-back* yılantı, *C. adamanteus* zehirlerinin proteolitik etkinlikleri zayıftır fakat güçlü hemorajik etkinlik gösterir. Krotalid hemorajin *HR-I*'in yüksek öldürücü etkisi vardır ve bu etkisi, bütün bakteri ve hayvansal toksinlerden güçlündür. Yılantı zehirlerinden birkaç tip hemorajin izole edilmiştir. Yılantı zehirlerinin hemorajik etkisi üzerinde diğer enzimlerin rolü ihmali edilemez. Hemorajik etkinlik, esasta hemorajin'in etkisiyle olmasına rağmen; fosfolipazın, direkt eritici faktörün ve proteazların sinerjistik etkisi vardır. Viper zehir hemorajinleri hücre zehiridir; etkisini hücre içinde oluşturur. Hemorajik toksinlerin sitosidal ve sitopatik etkileri de vardır. Zehirin öldürücü etkinliği üzerinde hemorajinlerin etkisi zayıftır (9).

B. Hidrolitik olmayan enzimler: Enzim, prostetik grup olarak FAD (Flavin Adenin Dinükleotid) içerir ve izoelektrik noktaları farklı olan pek çok izomeri vardır. Enzimin, her molünde 2 mol FAD bulunur ve serbest -SH gruplarıyla beraber, disülfit bağlarını da içerir. Enzimin molekül ağırlığı 130.000'dir ve zehirin aşağı yukarı %3'ünü oluşturur. L-aminoasit oksidaz serbest amino asitleri, alfa keto asitlere dönüştürür. L-aminoasit oksidaz ısiya dayanıklıdır ve dondurma ile dönüşümlü olarak inaktive edilir. Enzim, yılantı zehirlerine yeşil rengi verir ve başlıca zehirli etkiden sorumlu değildir.

Enzimler; su yılantlarında bulunmazken, *O. scutellatus*, *O. icrolepidotus* ve *A. contortrix* zehirleri düşük düzeyde; *A. piscivorus*, *P. australis*, *Trimeresurus* zehirleri orta derecede; *A. bilineatus*, *C. rhodostroma* zehirleri yüksek düzeyde L-aminoasit oksidaz etkinliği gösterir (1,15,16,22).

Kaynaklar

1. Anthony TTU. Overview of snake venom chemistry. *Adv Exp Med Biol* 1996; 391: 37-65.
2. Aronson DL. Comparison of the actions of thrombin and the thrombin-like venom enzymes ancrod and batroxobin. *Thromb Haemost* 1976; 31(1): 9-13.
3. Ascenzi P, Bertolini A, Bolognesi M, Guarneri M, Menegatti E, Amiconi G. Primary specificity of ancrod, the coagulating serine proteinase from the malayan pit viper (*Agkistrodon rhodostoma*) venom. *Biochim Biophys Acta* 1986; 871(2): 225-228.
4. Benoit E and Dubois JM. Toxin I from the snake *Dendroaspis polylepis polylepis*: a highly specific blocker of one type of potassium channel in myelinated nerve fiber. *Brain Res* 1986; 377: 374-377.
5. Cousin X, Bon C. Acetylcolinesterase from snake venoms. *C.R. Seances Soc Biol Fil* 1997; 191(3): 381-400.
6. Ferreira LA, Henriques OB, Lebrun I, Batista MB, Prezoto BC, Andreoni AJ, Zelnik R, Habermehl G. Biologically active peptides from *Bothrops jararacussu* venom. *Agents Act* 1992; 36: 209-214.
7. Francis S, Markland JR. Inventory of α - and β -fibrinogenases from snake venoms. *Thromb Haemost* 1991; 65(4): 438-443.
8. Iyaniwura TT. Snake venom constituents: *Biochemistry and Toxicology* (part 1) *Vet Hum Toxicol* 1991; 33(5): 468-474.
9. Iyaniwura TT. Snake venom constituents: *Biochemistry and Toxicology* (Part 2), *Vet Hum Toxicol* 1991; 33(5): 475-479.
10. Kostiza T, Dahinden CA, Rihss A, Otten U, Meier J. Nerve growth factor in the venom of the Chinese cobra *Naja naja atra*: purification and description of non-neuronal activities. *TOXIA* 1995; 33(10): 1249-1261.
11. Kuppusamy UR, Das NP. Inhibitory effects of flavonoids on several venom hyaluronidases. *Exp Toxicol* 1991; 47(11-12): 1196-1200.
12. Markland FS. Snake Venoms. *Drugs* 1997; 54(3): 1-10.
13. Meh DA, Sibenlist KR, Bergstrom G, Mosesson MW. Comparison of the sequence of fibrinopeptide A cleavage from fibrinogen fragment B by thrombin, atroxin, or batroxobin. *Thromb Res* 1993; 70(6): 437-449.
14. Meier J, Stocker KF. Biology and distribution of venomous snakes of medical importance and the composition of snake venoms. *Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons*. Ed Meier, J and White, J. CRC press, New York. 1995; 367-412.
15. Nget-Hong T, Gnajoth G. A comparative study of the biological properties of Australian Elapid venoms. *Comp Biochem Physiol* 1990; 97(1): 99-106.
16. Nget-Hong T. A comparative study of the enzymatic and toxic properties of venoms of the Asian Lance-Headed Pit Viper (Genus *Trimeresurus*). *Comp Biochem Physiol* 1989; 93(4): 757-762.
17. Nikai T, Imai K, Nagasaka M, Sugihara H. Kallikrein-like enzyme from the venom of *Agkistrodon P. Piscivorus*. *Int J Biochem* 1988; 20(11): 1239-1245.
18. Pantigoso C, Escobar E, Malaga O, Yorleque A. Isolation and some properties of the proteinase atroxin from the venom of the snake *Bothrops atrox*. *Acta Cient Venez* 1996; 47(1): 67-73.
19. Pirinççi İ. Hayvansal zehirler. Ed. S. Kaya, İ. Pirinççi, A. Bilgili. Veteriner Klinik Toksikoloji 339-354. Medisan Yayınevi, Ankara, 1995.
20. Pukrittayakamee S, Ware DA, Desakorn V, McMichael AJ, White NJ, Bunnag D. The hyaluronidase activities of some Southeast Asian snake venoms. *TOXIA* 1988; 26(7): 629-637.
21. Schwartz MW, Bieber AL. Characterization of two arginin ester hydrolases from mojave rattlesnake (*Crotalus scutatus scutatus*) venom. *TOXIA* 1985; 23(2): 255-269.
22. Tan NG, Ponnudurai G. A comparative study of the biological activities of venoms from snakes of the Genus *Agkistrodon* (Moccasons and Copperheads). *Comp Biochem Physiol* 1990; 95(3): 577-582.
23. Tan NG, Ponnudurai G. Comparative study of the enzymatic, hemorrhagic, procoagulant and anticoagulant activities of some animal venoms. *Comp Biochem Physiol* 1992; 103(29): 299-302.
24. Tan NH, Hj MN. Enzymatic and toxic properties of *Ophiophagus hannah* (king kobra) venom and venom fractions. *TOXIA* 1989; 27(6): 689-695.
25. Tan NH, Poli CH, Tan CS. The lethal and biochemical properties of *Bungarus candidus* (Malayan krait) venom and venom fractions. *TOXIA* 1989; 27(9): 1065-1070.