

МНОГООБРАЗИЕ ЗООТОКСИНОВ ПЕПТИДНО-БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ И ИХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ (ОБЗОР)

Астафьева О.В., Юдина Н.С., Рысев А.Ю., Кручинин Е.Г., Мясников В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации

Резюме.

Яды животных представляют собой богатый источник биологически активных веществ. Многие из этих природных биомолекул уже нашли свое применение в качестве компонентов фармацевтических препаратов. Благодаря многочисленным исследованиям состава ядов животных, на сегодняшний день выделено и охарактеризовано множество зоотоксинов. В настоящее время наиболее изучены и представляют большой интерес для прикладного применения пептидные токсины земноводных, белковые и пептидные токсины пресмыкающихся, членистоногих и морских беспозвоночных. Разнообразие токсинов животного происхождения отражено и в широком спектре биологических мишеней проявления их активности. Это свойство определяет активное применение зоотоксинов в рамках биохимических, фармакологических и биомедицинских исследований. Спектр потенциального фармакологического применения для этих соединений включает такие эффекты, как антибактериальные, противогрибковые, анальгезирующие, нейропротекторные, иммунопротекторные, противовоспалительные, противоопухолевые, кардиотоксические, кардиопротекторные и др. Проявление тех или иных физиологических свойств зависит от структуры белковых и пептидных токсинов. Отдельным классом выступают соединения насыщенные дисульфидными связями. За счет своих структурных особенностей они обладают повышенной стабильностью, способны связываться с ионными каналами, блокируя их или изменяя механизм стробирования. Благодаря своему разнообразию, токсины ядов животных охватывают широкую область возможного медицинского применения.

В представленном обзоре рассмотрены основные компоненты ядов позвоночных и беспозвоночных животных. Описаны токсические эффекты различных компонентов ядов животных и перспективные направления использования этих биологически активных белков и пептидов в качестве основы для разработки новых фармацевтических препаратов.

Ключевые слова: зоотоксины; белки; пептиды; физиологически активные вещества; яды животных

DIVERSITY OF ZOOTOXINS OF PEPTIDE AND PROTEIN NATURE AND THEIR BIOMEDICAL APPLICATION (REVIEW)

Astafyeva O.V., Yudina N.S., Rysev A.Y., Kruchinin E.G., Myasnikov V.A.

*State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of Ministry of Defense of the
Russian Federation*

Abstract.

Venom of animal are a rich source of biologically active substance. Many of these natural biomolecules have already founds their application as components of pharmaceutical preparations. Thanks to numerous studies of the composition of animal poisons, many zootoxins have been isolated and characterized to date. Currently, peptide toxins of amphibian, proteins and peptides toxins of reptiles, arthropods and marine invertebrates are more studied and of great interest for applies use. The diversity of animal toxins is reflected in a wide range of biological targets for their activity. This property defines activity the use of zootoxins in biochemical, pharmacological and biomedical research. The range of potential pharmacological applications for these compounds includes such effects as antibacterial, antifungal, analgesic, neuroprotective, immunoprotective, anti-inflammatory, antitumor, cardiotoxic, cardioprotective, etc. The manifestation of certain physiological properties depends on the structure of protein and peptide toxins. Compounds saturated with disulfide bonds are a separate class. Due to their structural features, they have increased stability, are able to bind to non-linear channels, blocking them or changing the gating mechanism. Due to their diversity, animal venoms toxins cover a wide range of possible medical applications.

In the present review considers the main components of vertebrate and invertebrate animals poisons. The toxic effects of various components of animal poisons and promising directions for the use of these biologically active proteins and peptides as a basis for the development of new pharmaceuticals are described.

Key words: zootoxins; proteins; peptides; physiologically active substances; animal venoms

Введение. На протяжении нескольких лет зарегистрировано и одобрено значительное количество фармацевтических препаратов на основе пептидно-белковых соединений природного происхождения [1]. Эти биомолекулы, являясь биорегуляторами большинства биохимических процессов в организме, имеют ряд преимуществ по сравнению с синтетическими малыми молекулами, а именно: высокое сродство к целевым участкам, бóльшая эффективность, селективность и специфичность, биосовместимость и биодоступность. Потенциал зоотоксинов, в частности белков и пептидов, в качестве прототипов при разработке компонентов фармацевтических препаратов до сих пор не

исчерпан и поиски новых перспективных молекул для новых мишеней продолжаются. В последние десятилетия, благодаря развитию аналитических методов таких как масс-спектрометрия и секвенирование, было выявлено множество новых последовательностей пептидных и белковых токсинов, которые нашли свое применение в процессе разработки высокоселективных пептидных лигандов.

Представленный обзор основных изученных белковых и пептидных токсинов, компонентов ядов животных, направлен на получение обобщенной информации об известных на сегодняшний день зоотоксинах, их биологических свойствах и мишенях. Систематизация накопленных данных об источниках, типах и биологической активности позволит свободно ориентироваться во всем многообразии зоотоксинов как в аспекте фармакологических изысканий, так и в исследованиях механизмов биорегуляции организмов.

1. Токсины беспозвоночных

Беспозвоночные составляют разнообразную группу, в которой ядовитые животные встречаются практически во всех классах. Тем не менее наиболее изучены и представляют интерес для дальнейшего медицинского применения в основном токсины Членистоногих и морских беспозвоночных.

1.1 Токсины членистоногих

Один из самых многочисленных типов животных, в том числе и по разнообразию ядовитых видов – членистоногие, что обусловлено разнообразием ядовитых аппаратов и способов использования ядов. Несмотря на то, что яды членистоногих вредны для человека, а некоторые, к примеру, яды скорпионов, пауков и ос могут приводить к летальному исходу, они в то же время представляют собой перспективные источники разнообразных биологически активных веществ и обладают высоким потенциалом для создания лекарственных препаратов. В последние десятилетия, благодаря развитию аналитических методов таких как масс-спектрометрия и секвенирование, было выявлено множество новых последовательностей пептидных и белковых токсинов, которые нашли свое применение в процессе разработки высокоселективных пептидных лигандов. Благодаря их специфичности к многочисленным типам ионных каналов, включая потенциал- и лиганд-зависимые каналы, нейротоксины (НТ) членистоногих применяются для выявления и лечения нейродегенеративных заболеваний и контроля эпилептических синдромов.

Среди основных групп наземных членистоногих некоторые классы включают ядовитые виды, такие как паукообразные (скорпионы и пауки), перепончатокрылые из класса насекомые (муравьи, пчелы, осы) и хилоподы (многоножки). Каждый из этих видов является продуцентом ядов, имеющих свои характерные особенности.

Яды скорпионов представляют собой сложные смеси пептидов, ферментов, мукопротеинов, свободных аминокислот, нуклеотидов, липидов, аминов, гетероциклических компонентов, неорганических солей и др. Пептиды веномов скорпионов в основном содержат нейротоксические и кардиотоксические пептиды, а также антимикробные пептиды с цитотоксической активностью. Мишенью НТ веномов скорпионов как правило выступают потенциал-зависимые ионные каналы, в отличие от НТ змей, действие которых направлено на лиганд-зависимые ионные каналы. Наиболее изучены фармакологические свойства НТ, действующих на натриевые (Na^+), калиевые (K^+), кальциевые (Ca^{2+}) и хлоридные (Cl^-) ионные каналы [2]. Токсины группы *калиотоксинов* (КТх) – OSK-1 – токсин скорпиона *Orthochirus scrobiculosus* семейства α -КТх и HelaTx1 – токсин скорпиона *Heterometrus laoticus* семейства β -КТх, представляют собой блокаторы потенциал-зависимых калиевых каналов и способны взаимодействовать с несколькими биологическими мишенями [3].

Компоненты веномов скорпионов могут использоваться для борьбы с паразитарной инвазией, лечения болевого синдрома, рака, аутоиммунных заболеваний. Однако, лишь несколько веществ из яда скорпионов, получили применение в качестве компонентов фармацевтических средств, дошедших до стадии клинических испытаний.

Один из этих компонентов – *хлоротоксин* – токсичный пептид с α/β мотивом, выделенный из яда *Leiurus quinquestriatus*, применяется в терапии глиомы, глиобластомы и меланомы (рисунок 1). Этот пептид специфично ингибирует эпителиальные Cl^- каналы за счет связывания с металлопротеиназой-2 (ММР-2). Гибридные белки на его основе используются для ограничения роста опухолей человека, предотвращения метастаз и отслеживания динамики раковых заболеваний [4].

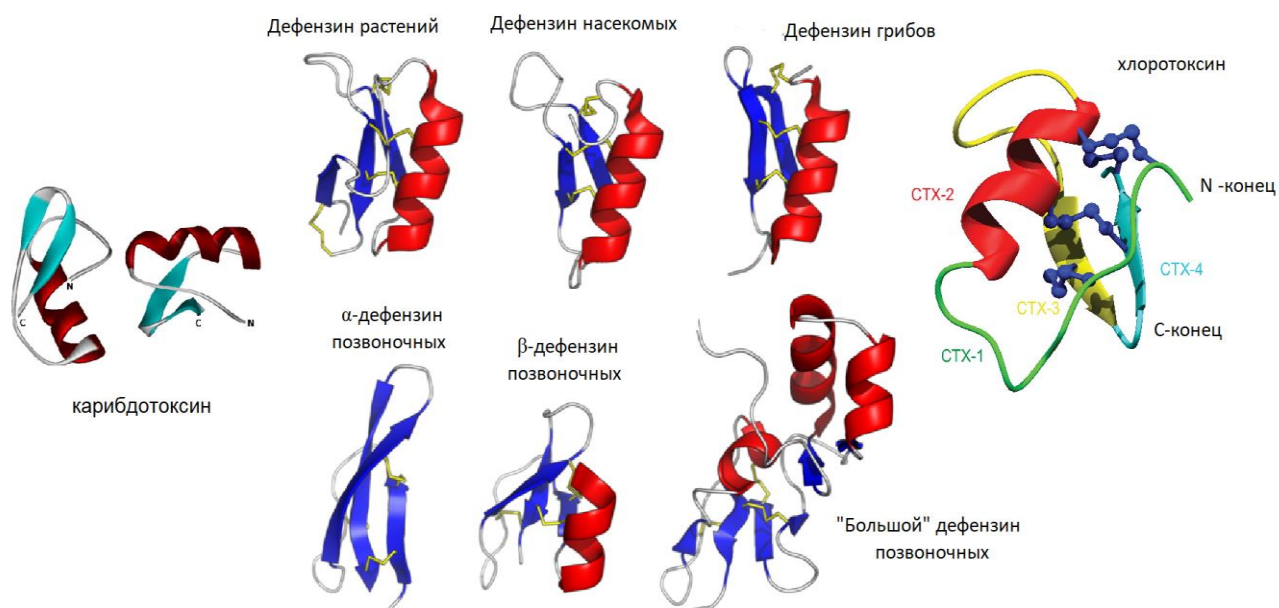


Рисунок 1 – Структуры некоторых дефензин-подобных пептидов и дефензинов разных групп организмов

Другая группа применяемых в клинических исследованиях токсинов скорпионов – *кальцины* – модулируют кальциевые каналы, такие как рианодиновые рецепторы в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) сердечных и скелетных мышц [5]. Действие кальцинов приводит к увеличению внутриклеточной концентрации кальция и, как следствие, к сократительному параличу. Кальцины обладают способностью проходить через клеточные мембраны, не вызывая их лизиса, что делает их перспективными кандидатами для разработок агентов для внутриклеточной доставки лекарств.

Многие компоненты яда скорпионов показали антимикробную активность в экспериментах. Например, блокатор калиевых каналов, *карибдотоксин*, структурно напоминающий дефензины (рисунок 1) – катионные пептиды иммунной системы, состоящие из 18-45 аминокислот с 6-8 цистеиновыми консервативными остатками, – активен против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Однако данный токсин не является селективным и проявляет общую цитотоксичность в отношении эукариот. Другой пептид из яда скорпионов – *стигмурин* – эффективен против грамположительных и грамотрицательных бактерий, протистов, таких как *Trypanosoma cruzi*, а также грибов рода *Candida* [6].

Андроктонин – пептид из гемолимфы скорпиона *Androctonus australis*, состоящий из 25 аминокислот, благодаря особенностям расположения дисульфидных связей напоминает α -конотоксин SII (рисунок 2) – блокатор *n*-ацетилхолиновых рецепторов из яда морского моллюска *Conus striatus*, и имеет сравнимую с ним аффинность к никотиновому рецептору ската *Torpedo*. Наличие дисульфидных связей оказывает значительное влияние на структуру пептидов и белков, которая в свою очередь влияет на функциональные свойства биомолекул. К примеру пептид андроктонин, действие которого выражено в нарушении целостности бактериальных мембран: насыщенный дисульфидными связями пептид активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, нитчатых и дрожжевых, в то время как его линейный аналог, не содержащий дисульфидных связей, сохраняет активность лишь в отношении грамположительных бактерий [7].

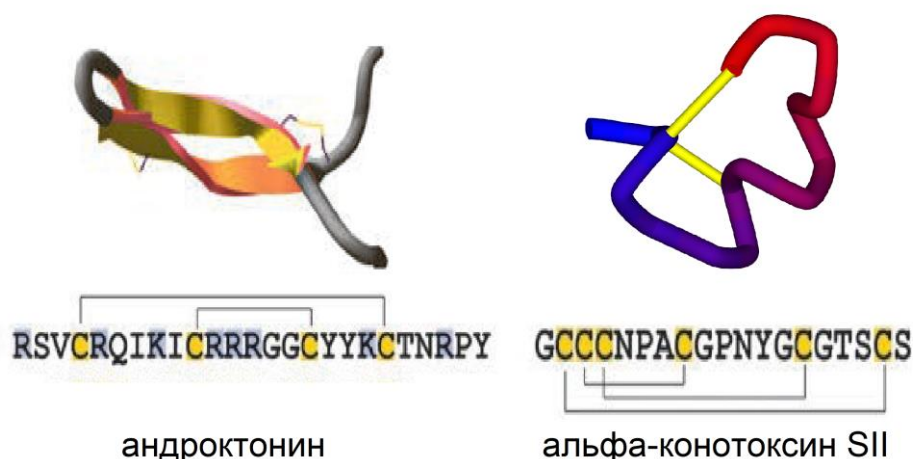


Рисунок 2 – Сравнение структур андроكتонина и альфа-конотоксина SII

В исследованиях, направленных на поиск иммуносупрессоров, рассматривают токсины, атакующие K^+ и Na^+ -каналы и способные взаимодействовать с эффекторными Т-клетками. Некоторые блокаторы K^+ -каналов ингибируют гиперчувствительность замедленного типа, подавляют секрецию поверхностного маркера раннего антигена активации Т-лимфоцитов CD69 и выработку интерлейкина-2. Пептиды группы *бутитоксинов* Hj1a и Hj2a, представляющие сильнодействующие агонисты потенциал-зависимого натриевого канала Nav1.1, могут быть использованы в качестве альтернативных инструментов для лечения эпилептических заболеваний [8]. Пептидные токсины, влияющие на K^+ и Na^+ -каналы других животных, но нетоксичные для млекопитающих (AmmVIII – токсины скорпиона *Androctonus mauretanicus mauretanicus*, TsNTxP – нейротоксины скорпиона *Tityus serrulatus* и др.), успешно использовали как обезболивающие в экспериментах на мышах [9].

Состав *ядов пауков*, в отличие от скорпионов, представлен, главным образом, нейроактивными пептидами, небольшим количеством кардиотоксинов и антимикробных пептидов, ферментами, способствующими возникновению паралича, отмиранию и перевариванию тканей добычи.

Активность литических и иных ферментов в составе паучьего яда наряду со свойствами токсинов изучают в контексте лечения рака. Особое внимание привлекают токсины пауков, воздействующие на натриевые каналы. Их потенциал заключается в предполагаемой возможности применения в полифармакалогии: для лечения комплекса патологий одним препаратом [10].

В яде пауков было определено три типа токсинов-блокаторов натриевых каналов (NaV-каналов): b-токсины, влияющие на активацию каналов, d-токсины, влияющие на

инактивацию каналов и m-токсины, ингибирующие каналы. Блокаторы NaV-каналов потенциально эффективны как компоненты противосудорожных препаратов, а также применимы при нейропатических болях или в качестве миорелаксантов. Токсины, блокирующие каналы Nav1.7 человека, используются для разработки инновационных обезболивающих. Также представляет интерес δ -ктениотоксин-Pn1a, который модулирует активность Nav-каналов, в результате чего увеличивается приток кальция и синтез оксида азота. Авторами был изучен антиноцицептивный эффект в моделях воспалительной, невропатической и острой боли [11]. Схожим действием обладают такие пептиды как хувентоксин-IV (HWTX-IV) и протоксин-2 (ProTx-II). Рассматривают также анальгезирующее и нейропротекторное действие агонистов калиевых, кальциевых и кислоточувствительных каналов. Блокаторы кальциевых ионных каналов, действующие на внутриклеточные процессы, связанные с индукцией апоптоза в клетках млекопитающих, содержатся в ядах пауков *Hadronyche versuta*, ω -гексатоксин-Hv1a, и *Haplopelma hainanum*, ω -терафотоксин-Hhn2a.

На основе α -латротоксина черной вдовы (*Latrodectus tredecimguttatus*) разрабатываются препараты от ожирения, шизофрении, биполярного расстройства и рака. Этот НТ стимулирует секрецию нейромедиаторов из синаптических окончаний нервных клеток позвоночных и эндокринных клеток [12]. Яд паука каракурта *Latrodectus mactans tredecimguttatus* также содержит α -латротоксин, но кроме него включает ряд белковых токсинов, стимулирующих пресинаптическую активность нервных клеток беспозвоночных. α -латротоксин – это белок с молекулярной массой около 120 кДа и изоэлектрической точкой pI ~ 5,2. Молекула белка содержит два функциональных фрагмента, один из которых представляет собой рецептор-связывающий домен, а другой обуславливает каналоформенные свойства токсина.

Кроме нейротоксических пептидов, интерес представляют и антимикробные пептиды веномов пауков. Так, из гемоцитов паука *Acanthoscurria gomesiana*, выделен гомезин, обладающий широким спектром антимикробной активности, направленный на грамотрицательные и грамположительные бактерии, паразитические простейшие, а также дрожжевые и нитчатые грибы. Гомезин способен связываться с поверхностью мембраны и ингибировать рост дрожжеподобного гриба *Cryptococcus neoforma* [13]. Кроме того, гомезин обладает противоопухолевой активностью как *in vitro* в отношении злокачественных клеток молочной железы и толстой кишки, и клеток меланомы, так и *in vivo* в экспериментах на мышях с привитой меланомой [13]. В тоже время гомезин обладает умеренной гемолитической активностью и токсичностью в отношении нормальных клеток.

Некоторые веномы пауков, например, *Loxosceles*, вызывают цитолитические эффекты, характеризующиеся некрозом тканей, инициированным действием такого фермента как *фосфолипаза Д* (сфингомиелиназа Д), которая обуславливает высокую дермoneкротическую активность венома.

Яды пчел и ос используются в медицине с древнейших времен и упоминаются даже в ранних религиозных текстах. Основными веществами веномов пчел являются пептиды (мелиттин, апамин, MSD-пептид, адолапин), ферменты (фосфолипаза А2, гиалуронидаза, кислая фосфатаза, фосфолипаза В, альфа-глюкозидаза), аминокислоты и легколетучие компоненты. Пчелиный яд также содержит соляную, муравьиную и ортофосфорную неорганические кислоты, биологически активные амины (гистамин, адреналин), ацетилхолин и другие компоненты [14].

Пчелиный яд воздействует на нервную систему, замедляет свертываемость крови, улучшает микроциркуляцию, препятствует образованию тромбозов, снижает содержание холестерина в крови, ведет к снижению артериального давления, повышает тонус кишечника, уменьшает выделение гормонов щитовидной железы. В ряде работ проведена оценка терапевтического потенциала компонентов венома пчел в лечении воспалительных заболеваний и заболеваний центральной нервной системы, таких как болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, амиотрофический боковой склероз [14]. Как терапевтическая активность, так и токсичность пчелиного яда в основном обусловлена мелиттином и апамином.

Мелиттин выделен как основной, физиологически нестабильный компонент пчелиного яда. Он составляет примерно 40–60 % сухого вещества яда. Это амфифильный линейный пептид, способный проходить через мембраны эу- и прокариотических клеток, перфорировать их, за счет чего проявляет ярко выраженную цитотоксическую и гемолитическую активность. Мелиттин обладает широким антибактериальным, противовоспалительным и противогрибковым спектром действия. Снижение стабильности мембран наблюдалось при действии крайне низких концентраций токсина: $n \times 10^{-8}$ мг/мл. Кроме того, мелиттин способен активировать катионные каналы переменного рецептора (TRPV1) в мембране болевых рецепторов, вызывая деполяризацию мембраны и активацию болевых рецепторов [15].

В недавних публикациях было показано, что мелиттин вызывает нейропластические изменения путем активации и сенсibilизации ноцицептивных клеток. При приеме в низких дозах он может оказывать противовоспалительный эффект при ревматоидном артрите и боковом амиотрофическом склерозе. Мелиттин может использоваться в терапии атопического дерматита, стимулируя продукцию фактора ускорения распада комплемента

(CD55) и макрофагальному маннозному рецептору (CD206), что приводит к облегчению симптомов заболевания. Ведутся разработки по использованию цитотоксичности мелиттина против раковых опухолей, однако достаточной специфичности еще не удалось достигнуть [15].

Апамин состоит из 18 аминокислот, является сильным НТ, обеспечивает противовоспалительное действие, повышает уровень адреналина. Содержание апамина в пчелином веноме составляет около 2 % в сухой массе, однако его вклад в суммарную биологическую активность венома сравним с действием мелиттина и других компонентов. Специфическим эффектом апамина на клеточном уровне является избирательное блокирование кальций-зависимых калиевых каналов. Симптомы его действия включают судороги, заторможенность спинальных рефлексов, тремор, атаксию, геморрагические эффекты в лёгких. В гладкой мускулатуре сосудов токсин способен подавлять пролиферацию и миграцию миоцитов, что подчёркивает потенциал апамина в стратегиях терапии атеросклероза. Кроме того, он может ингибировать NO-индуцированное расслабление спонтанной сократительной активности миометрии. Апамин был использован в доклинических испытаниях лечения болезни Паркинсона. Показано его влияние на миграцию лейкоцитов и активацию микроглии *in vitro* и *in vivo* [14, 15].

MCD-peptide (пептид «дегранулирующий тучные клетки») – состоит из 22 аминокислот – наименее токсичный компонент венома пчел. В низких концентрациях MCD-пептид способен высвободить гистамин из тучных клеток и базофилов, вызывая их «дегрануляцию» и последующее разрушение [16]. Обладает высокой противовоспалительной активностью (в 1000 раз активнее, чем гидрокортизон).

Адолапин обладает болеутоляющим и противовоспалительным действием. При фармакологическом и биохимическом изучении адолапина установлено преимущество его перед рядом синтетических противовоспалительных препаратов [15].

Фосфолипаза A2 (bvPLA2) составляет 12–15 % от сухой массы пчелиного яда. Состоит из 128 аминокислот и включает 4 S-S связи. Активный аллерген, отрицательно сказывается на свертывании крови. Механизм действия фосфолипазы A2 на липидные структуры мембраны связан с образованием поверхностно-активных продуктов гидролиза фосфолипидов: лизофосфолипидов и свободных жирных кислот. Наибольшая чувствительность к фосфолипазе A2 обнаружена в отношении синаптических мембран, где электрическая активность блокировалась на 30 %. Установленная авторами полулетальная доза ЛД50 фосфолипазы пчелиного яда [16] сравнима с аналогичной дозой цельного венома (7,4 мг/кг, что примерно в 2 раза ниже ЛД50 цельного яда или мелиттина). Активность bvPLA2 повышается в присутствии мелиттина: их комплекс вызывает синергический лизис

эритроцитов. Поры, образованные мелиттином, способствуют воздействию фосфолипазы на фосфолипиды мембран. Кроме того, экспериментальные данные демонстрируют иммунопротекторные свойства этого фермента при астме, болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. Действие bvPLA2 заключается в способности уменьшать накопление амилоидов, тем самым улучшая когнитивные функции в мозге мышей. Недавние исследования показали, что популяции регуляторных Т-клеток мышей можно модулировать обработкой bvPLA2 в модели мышей 3xTg-AD. Авторы предложили новый терапевтический подход для уменьшения прогрессирования болезни Альцгеймера за счет сочетания лечения bvPLA2 с вакцинной терапией амилоидом- β для предотвращения воспалительного ответа [17].

Глюкопротеиновые компоненты венома пчел, такие как гиалуронидаза, кислая фосфатаза, альфа-глюкозидаза, лизофосфолипаза (фосфолипаза В), обладают аллергическими свойствами и обуславливают сверхчувствительность к пчелиному яду [15].

Нейротропные эффекты пчелиного венома проявляются практически на всех уровнях нервной системы, связанных с механизмами синаптической передачи. Цельный яд и выделенные из него фосфолипаза А2 и апамин способны к пресинаптической блокаде передачи возбуждения в нервно-мышечном соединении. При внутривенном, внутрикаротидном введении и при прямой аппликации яд блокирует передачу возбуждения в симпатических ганглиях. Механизмы центрального действия включают также способность блокировать Н-холинореактивные структуры. На основе как цельного яда пчел, так и выделенных моно-компонентов разрабатываются и выпускаются лекарственные препараты в различных препаративных формах (мази, эмульсии, растворы и т.д.) [18].

Из токсинов венома ос наиболее изучен такой пептид как *мастопаран*. Это амфипатический пептид из 14 аминокислот, способный образовывать поры в мембранах. Эффект, оказываемый мастопараном, зависит от типа клеток-мишеней. Он вызывает секрецию гистамина тучными клетками, серотонина тромбоцитами и пролактина в передней доле гипофиза. Помимо прямого образования пор, мастопаран взаимодействует с G-белками, вызывая гибель клеток вследствие апоптоза. Перечисленные свойства послужили к использованию этого токсина в разработке антибиотиков и противоопухолевых препаратов. Отсутствие специфичности в проявлении цитотоксичности мастопараном не позволяет использовать его в качестве антибиотика, но исследование *in vivo* показало эффективность этого вещества при сепсисе. Низкая специфичность также замедляет исследования по воздействию мастопарана на раковые клетки, однако пертуморальная доставка активного вещества в липосомах позволила избежать побочных эффектов при лечении меланом у мышей [19].

1.2 Токсины морских беспозвоночных

Несмотря на разнообразие морских беспозвоночных как источников пептидных и белковых токсинов, компоненты их ядов менее изучены. Ядовитые виды встречаются среди морских беспозвоночных разных уровней организации: ядовитые губки, кишечнополостные, черви, моллюски и иглокожие. Разнообразие ядов кишечнополостных исследовано слабо. Фактически изучены лишь яды представителей трех классов: Anthozoa, Cubozoa и Hydrozoa.

В ядах кишечнополостных описаны пептиды массой от 3,5 до 6,5 кДа, способные связываться с разнообразными типами натриевых и калиевых каналов, модулируя их активность. Эти НТ имеют разнообразные эффекты необходимые для иммобилизации жертвы и защиты от хищников. В ядах кишечнополостных встречаются пептиды, способные модулировать активность TRPA1 (Transient Receptor Potential Ankyrin) каналов. Также обнаружены цитолитические пептиды, повышающие проницаемость клеточной мембраны. *Порообразующие токсины* β -PFT обнаружены в ядах целого ряда кишечнополостных. Образование пор в мембранах клеток в месте введения токсина приводит к их гибели и, в конечном итоге, к разрушению ткани и некрозу [17]. Малые цистеин-насыщенные пептиды (small cysteine-rich peptides, SC RiPs) – сравнительно недавно описанная группа НТ – слабо изучена, однако показано, что их инъекция вызывает паралич рыбок данио-рерио. По-видимому, их функция заключается в обездвиживании жертвы.

Несмотря на все разнообразие компонентов ядов кишечнополостных, большинство групп токсинных соединений не представляют интереса для фармакологической промышленности. Исключение составляют пептидные и белковые блокаторы ионных каналов, которые применяются для разработки лекарственных средств. В первую очередь – это токсин стиходактиля ShK (размер ~ 25 аминокислот) – блокатор Kv1.3 каналов в Т-лимфоцитах, выделенный из морских анемонов *Stichodactyla helianthus*. Подавление активности этих каналов в Т-клетках памяти позволяет справляться с аутоиммунными заболеваниями, такими как ревматоидный артрит и множественный склероз [20].

Токсины морских гастропод рода *Conus*, конотоксины, наравне с токсинами змей, являются одними из наиболее активно исследуемых молекул животного происхождения. Сильнодействующие НТ необходимы моллюскам для обездвиживания жертвы во время охоты на рыб, но эти яды действуют и на млекопитающих.

Конотоксины – небольшие белковые молекулы (10-30 аминокислот), как правило с двумя и более дисульфидными связями. Они разнообразны по структуре и функциям, однако чаще всего встречаются представители четырех групп конотоксинов: ω -, μ O-, α - и μ -конотоксины. Было показано, что α -конотоксины, блокируя N-холинорецепторы, могут быть эффективны в лечении нервных и мышечных патологий [21]. Возможность нацеленного

ограничения передачи нервных импульсов посредством блокады кальциевых каналов с незначительными побочными эффектами оставляет ω -конотоксины вне конкуренции в качестве действующих веществ в составе препаратов от хронических болевых синдромов, применяемых при заболеваниях рака, СПИД, артрите. Анальгезирующее действие также было установлено для μ -конотоксинов, блокаторов натриевых каналов [22]. Ингибиторы кальциевых каналов, κ -конотоксины, рассматриваются в фарминдустрии как перспективные кардиопротекторы.

Многие ω -конотоксины представляют собой селективные антагонисты потенциал-зависимых кальциевых каналов (VGCC) N-, P- или Q-типа, блокируют ноцицепцию в моделях воспалительной боли и аллодинию и/или гипералгезию в моделях нейропатической боли [23]. В настоящее время в медицине используется конотоксин ω -MVIIA (препараты «Prialt» и «Elan») для лечения тяжелой хронической боли у пациентов, не реагирующих на опиоидную терапию. Тем не менее, с его применением связаны неврологические и психиатрические отклонения, которые ограничивают возможности его применения [23]. Помимо ω -конотоксинов обезболивающими свойствами обладают α -конотоксины (Vc1.1, RgIA, PeIA, AuIB и Eu1.6) [24]. Циклический конотоксин Vc1.1 более селективен в отношении ингибирования кальциевых каналов HVA по сравнению с N-ацетилхолиновым рецептором $\alpha 9\alpha 10$ (nAChR) и активно используется как анальгетик в модели хронической висцеральной гиперчувствительности. Разработанные аналоги этого пептида RgIA, RgIA4, имеют высокую селективность в отношении $\alpha 9\alpha 10$ nAChR человека, мыши и крысы, и предотвращает вызванную химиотерапией невропатическую боль у мышей и крыс. Еще один атипичный α -конотоксин, обнаруженный в яде *Conus eburneus*, α -Eu1.6 – блокатор каналов Cav2.2 со слабым блокированием nAChR $\alpha 7$ и $\alpha 3\beta 4$. Он обладает анальгетической активностью в моделях частичного повреждения седалищного нерва и хронического повреждения нерва у крыс [24].

2. Токсины позвоночных

Среди почти всех таксонов позвоночных животных встречаются ядовитые виды, однако наибольшее распространение в разработке фармацевтических препаратов получили токсины земноводных и пресмыкающихся. Состав ядов позвоночных характеризуется широким спектром различных по биологической активности компонентов. Ввиду широкой распространенности ядовитых позвоночных их яды доступнее для исследований. Еще одним положительным фактором выступает возможность получения большего количества цельного яда за разовый отбор.

2.1 Токсины рыб

Яды морских позвоночных менее изучены по сравнению с веномами других групп животных. Долгое время главными биологическими источниками токсинов считались наземные организмы, однако, вследствие роста добычи и культивирования морепродуктов стали разрабатываться токсины морских организмов. Исследования токсинов морских природных соединений внесло свой вклад в развитие биомедицины. На сегодняшний день насчитывается не менее 2 000 ядовитых рыб, однако компоненты в составе яда охарактеризованы лишь для 20 из них [25]. Практически все рыбы вырабатывают токсины при помощи специальных желез, связанных с иглообразными структурами, за счет которых происходит попадание яда в организм жертвы при повреждении внешних (кожных) покровов.

Большинство токсинов рыб, синтезируемых ими, представляют собой белки [25]. Яды рыб как правило состоят из целого ряда белковых токсинов, ферментов, биологически активных пептидов и небелковых компонентов таких как серотонин, норэпинефрин и ацетилхолин [26]. Белковый состав включает цито- и гемолизины, проявляющие функцию порообразующих веществ, которая приводит к апоптозу, белки с ноцицептивной функцией, а также гистамин или гистамин-высвобождающие биомолекулы. *Каратоксин*, выделенные из *Hypodytes rubripinnis*, характеризуется митогенной, цитолитической и хемотаксической активностью. Цитолитический токсин *Scorpaena plumieri* (Sp-CTx, *Scorpaena plumieri* Cytolytic Toxin) один из немногих белковых нейротоксинов ядов рыб.

Для многих токсинов рыб на животных моделях показано их влияние на кровеносное давление (токсин Sp-CTx *Scorpaena plumieri*), частоту и силу сердечных сокращений (токсин-PC, *Plotosus canius*), нервную систему и мускулатуру (SA-HT, *Scatophagua argus*). Большинство ядов рыб содержат компоненты с провоспалительной активностью [25, 26].

Сообщалось, что *трахинилизин*, белковый токсин, выделенный из яда каменной рыбы, вызывает массивное высвобождение ацетилхолина из окончаний двигательных нервов изолированных нервно-мышечных препаратов и увеличивает высвобождение как цитозольных ионов кальция, так и катехоламинов из хромоаффинных клеток [27].

2.2 Токсины земноводных

Основным источником пептидных и белковых токсинов земноводных, как и у рыб, являются кожные секреты, которые обеспечивают защитную функцию эктодермы, в основном в отношении микроорганизмов. По химическому составу секреты ядовитых желез амфибий включают в основном низкомолекулярные соединения (батрахотоксины, биогенные амины, бради- и тахикинины, кардиотонические стероиды) и незначительное количество гемолитических и обезболивающих пептидов.

Спектр действия белковых и пептидных токсинов амфибий так же достаточно широк. Пептиды кожных секретов обладают антимикробной активностью, а также цитолитическим действием в отношении эукариот, облегчая доставку других токсинов белковой природы. Некоторые пептиды из секретов южноамериканских лягушек и жаб обладают антибиотическими и противораковыми свойствами [28,29]. Семейство пептидов *Bv8* ускоряет регенерацию, сокращая воспалительную фазу и интенсифицируя пролиферацию фибробластов в результате активации сигнального пути интерлейкина IL-1. Некоторые пептиды амфибий, например, вещество с последовательностью TKPTLLGLPLGAGPAAGPGKR-NH₂ и его производные, обладают значительной ингибирующей активностью в отношении холинэстераз, что приводит к увеличению уровня ацетилхолина в головном мозге и улучшению работы холинергических синапсов у пациентов с болезнью Альцгеймера, восстановлению нейротрансмиссии и когнитивных функций и поведения [30].

2.3 Токсины пресмыкающихся

Наиболее изученными в качестве источников токсинов среди пресмыкающихся, в том числе белковой и пептидной природы, являются яды змей. Змеиные яды, так же как яды ос и пчел, используются в народной медицине с давних лет. В современном мире они нашли применение в процессе создания антитоксических сывороток, на их основе синтезируют препараты для лечения патологий нервной, кровеносной, сердечно-сосудистой и других систем органов.

Веномы змей на 90–95 % состоят из белков (ферментов, токсических полипептидов, гликопротеинов), состав которых сильно варьируется на межвидовом уровне.

В отношении сердечно-сосудистой системы белки и пептиды веномов змей проявляют как кардиотоксическое, так и кардиопротекторное действие. К таким соединениям относят кардиотоксины кобр, фосфолипазу A₂, натрийуретические и брадикинин-потенцирующие пептиды. Белки с гипотензивным и кардиопротекторным действием усиливают ангиогенез и включают эндотелиальные факторы роста сосудов [31].

Брадикинин-потенцирующий пептид из яда бразильской змеи *Bothrops jararaca* – первое соединение змеиного яда [32], на основе которого созданы гипотензивные препараты каптоприл и эналаприл, используемые при лечении гипертонии и сердечной недостаточности.

Энтифибатид, выделенный из яда юго-восточной гремучей змеи и обладающий гемолитической активностью, является действующим веществом препарата интегрилин и используется для предотвращения острой ишемии сердца [33].

Препарат дефибразы на основе очищенного фермента *батроксобина* применяется для лечения кровотечений различного происхождения – при остром инфаркте мозга, стенокардии, внезапной глухоте [33]. Для предотвращения послеоперационных кровотечений предложен препарат на основе *гемокоагулазы*.

Современные тенденции в области разработки эффективных и селективных противораковых препаратов затрагивает и возможность применения выделенных компонентов ядов змей для этой цели. Один из перспективных белков яда змей, обладающие ферментативной активностью, – *дезинтегрины*. К ним относится белок *конортростатин* из яда медноголового щитомордника, он предотвращают адгезию клеток друг к другу и подавляют их взаимодействие с окружающими тканями, что приводит к блокировке подвижности и инвазивности раковых клеток [34].

Веномы многих видов кобр содержат *фактор яда кобры* (CVF) – структурный и функциональный аналог C3 фактора комплемента, который активирует и истощает систему комплемента млекопитающих. Это свойство позволяет использовать CVF как инструмент для изучения системы комплемента, а в аспекте медицинского применения – и как перспективный иммуносупрессор при трансплантации тканей и противораковой терапии [35].

Семейство Crotalinae является источником еще одного потенциального компонента для создания дизайнерских противораковых препаратов. *Кротамин* – миотоксин, напоминающий β -дефензины позвоночных, *in vivo* вызывает высвобождение кальция из ЭПР, деполяризацию и пенетрацию пролиферирующих опухолевых клеток и, как следствие, их апоптоз, при этом не оказывая токсического воздействия на здоровые ткани [36].

Состав ядов змей обуславливает его применение в качестве бактерицидного средства: это кардио- или цитотоксины, кротамин и богатые цистеином секреторные белки, – которые выполняют антимикробную функцию за счет изменения проницаемости или нарушения целостности клеточных мембран. *Кардиотоксин-3* тайваньской кобры увеличивает перфорацию мембраны грамотрицательных бактерий. Кротамин оказывает антимикотическое действие в отношении *Trichosporon* spp., *Cryptococcus neoformans* и *Candida* spp и антилейшманиозный эффект. *Кровирин* – цистеин-насыщенный секреторный белок из яда *Crotalus viridis* также ингибирует развитие и рост лейшмании и трипаносомы, блокируя нуклеотид-управляемые ионные каналы и актино-миозиновую активность [37].

Самыми изученными белковыми компонентами ядов змей являются многофункциональные *токсины с трехпальчатым паттерном конформации* (3FTXs), стабилизированным дисульфидными мостиками, длина которых варьирует от 57 до 81 аминокислоты (рисунок 3). Короткоцепочечными (57-64 аминокислотных остатка) 3FTX

представлены α -нейротоксины, β -кардиотоксины, цитотоксины, фасцикулины и мамбалгины; длинноцепочечные 3FTX так же представляют собой α -нейротоксины и γ -нейротоксины, а также ханналгезин и к-нейротоксины [38].

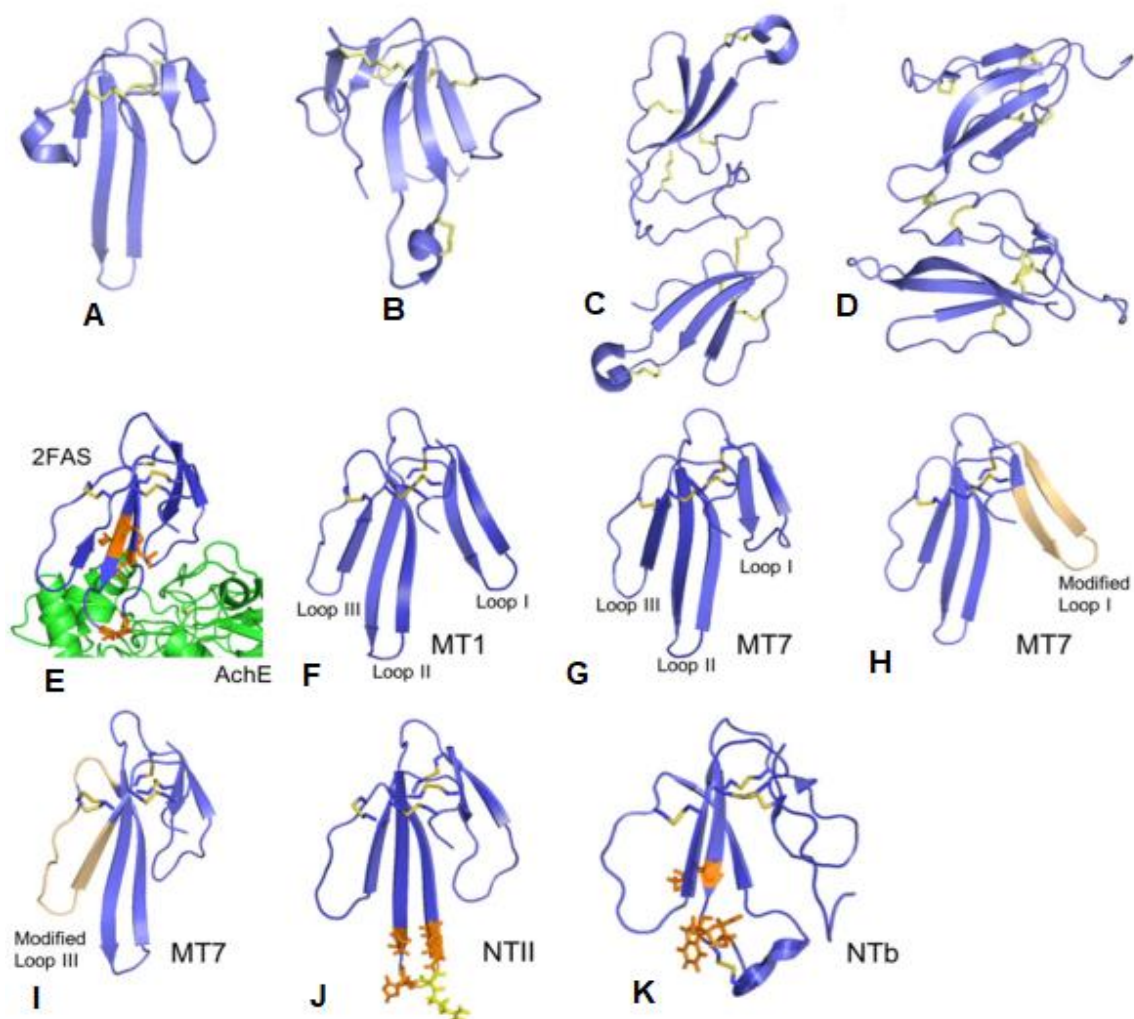


Рисунок 3 – Структура токсинов змей с трехпальчатым паттерном конформации [34]: А – трехмерная структура короткоцепочечного мамбалгина-1 (*Dendroapsis polylepsis polylepsis*), В – трехмерная структура длинноцепочечного α -бунгаротоксина (*Bungarus multicinctus*), С – трехмерная структура нековалентного гомодимера α -кобротоксина (*Naja kaouthia*), D – трехмерная структура ковалентного гетеродимерного ирдитоксина (*Boiga irregularis*); Е – трехмерная структура фасцикулина-2, связанного с AChE, оранжевым цветом показаны остатки Arg24, Lys25, Pro31, Leu35, образующие водородные связи с AChE; F–I – трехмерные структуры мускаринотоксина-1 (MT1) и мускаринотоксина-7 (MT7) и соответствующих аналогов, отображающих модифицированную петлю 1 и петлю 3 (показаны бежевым цветом); К – трехмерная структура нейротоксина NTII (*Naja oxiana*), оранжевым цветом выделены остатки Ser29, His31, Gly33 и Thr34, образующие водородные связи с α -субъединицей nAChR, желтым цветом выделен остаток Arg32,

образующий ионные взаимодействия с α -субъединицей nAChR; L – трехмерная структура нейротоксина NTb (*Ophiophagus hannah*), оранжевым цветом выделены остатки Lys24, Trp26 и Asp28, образующие водородные связи с α -субъединицей nAChR

Несмотря на структурное сходство, фармакологические эффекты 3FTx чрезвычайно разнообразны. Некоторые 3FTx могут вызывать остановку сердца, цитолиз клеток, анальгезию или судороги; другие влияют на память, артериальное давление, частоту сердечных сокращений или подвижность сперматозоидов; третьи ингибируют агрегацию тромбоцитов, коагуляцию крови или клеточную адгезию. Эффект от токсинов серьезно усугубляется при совместном действии с другими компонентами змеиного яда, такими как металлопротеиназы, сериновые протеазы и фосфолипазы A2 [32].

Кротоксин – нейротоксичный компонент яда гремучника *Crotalus durissus cascavella*, обладает обезболивающим, противовоспалительным и противоопухолевым действием. Однако, высокая токсичность ограничивала его использование в медицинских целях до разработки методов снижения токсичного воздействия без снижения терапевтического эффекта. Цитологические свойства кротоксина исследованы Sampaio S.C. с соавторами на многих человеческих клеточных линиях, в том числе опухолях ЦНС. По результатам этих экспериментов кротоксин предложен как потенциальный компонент противоопухолевых препаратов. Эффективность локального введения кротоксина в экстраокулярные мышцы для коррекции страбизма и блефароспазма у людей сравнима с действием ботулинического токсина. Авторы сообщают, что введение 2 единиц (1 единица равна 1 мышью LD₅₀ при внутрибрюшинном пути введения) вызывает стойкий эффект в течение 1-3 месяцев у большинства испытуемых [38]. При этом кротоксин на несколько порядков менее токсичен по сравнению с широко применяемым в фармацевтической промышленности бактериальным ботулотоксином *Clostridium botulinum*.

2.4 Токсины млекопитающих

Класс млекопитающих эволюционно имеет значительно меньшую потребность в таком способе защиты или нападения как яд. По этой причине для млекопитающих не характерна выработка токсинов, однако некоторые виды приобрели способность к выработке яда, например, утконосы *Ornithorhynchus anatinus* и толстые лори *Nycticebus spp.* [39].

Среди млекопитающих, подробно изучен только яд утконоса. Он содержит дефензин-подобные пептиды, натрийуретические пептиды С-типа, фактор роста нервов и ряд других, еще не охарактеризованных компонентов, в основном пептидов. Многие из этих пептидов уникальны для яда утконоса и их механизм действия остается не установленным. При экспериментальном введении яд вызывает отек, гипотонию и даже смерть лабораторных

животных. Предполагается, что один из механизмов действия этого яда связан с образованием ионных каналов, приводящих к оттоку ионов из клетки [40].

Заключение. Зоотоксины – это широкая группа соединений с разнообразной химической структурой и функциями, среди которых наиболее специфичными являются белковые и пептидные токсины, способные связываться с клетками-мишенями, реализуя определенные биологические эффекты. Эта функция позволяет использовать их в качестве платформы для разработки фармацевтических препаратов, а также для исследований биохимических механизмов функционирования клеток *in vitro*.

Основными мишенями действия пептидов и белков веномов животных являются ионные каналы, клеточные мембраны, реже N-ацетилхолиновые рецепторы и болевые рецепторы. Эти свойства активно используются при создании фармацевтических препаратов для терапии онкологических, нейродегенеративных заболеваний, эпилептического синдрома, в качестве иммуномодуляторов, блокаторов болевого синдрома различного генеза, как потенциальные соединения с антимикробными и антисептическими свойствами.

Среди наиболее перспективных для фармакологических исследований групп биомолекул можно выделить белковые и пептидные токсины змей и конусов. Токсины этих животных уже активно используются в качестве активных компонентов фармацевтических композиций, при этом исследования других перспективных зоотоксинов носят масштабный характер и продолжаются в настоящее время. Однако, стоит констатировать, что фармацевтическая промышленность и биотехнология все еще не реализовали фармакологический потенциал большей части токсинов животных.

Список литературы

1. Wang L., Wang N., Zhang W. et al. Therapeutic peptides: current applications and future directions. *Sig Transduct Target Ther.* 2022; 7: 48.
2. Olamendi-Portugal T., Bartok A., Zamudio-Zuniga F. et al. Isolation, chemical and functional characterization of several new K(+)-channel blocking peptides from the venom of the scorpion *Centruroides tecomanus*. *Toxins.* 2016; 115: 1-12. 2
3. Kasheverov I.E., Oparin P.B., Zhmak M.N. et al. Scorpion toxins interact with nicotinic acetylcholine receptors. *FEBS Letters.* 2019; 593: 2779-2789.
4. Cohen G., Burks S.R., Frank J.S. Chlorotoxin-A multimodal imaging platform for targeting glioma tumors. *Toxins (Basel).* 2018; 10(12): 496.
5. Cremonez C. M., Maiti M., Peigneur S. et al. Structural and functional elucidation of peptide Ts11 shows evidence of a novel subfamily of scorpion venom toxins. *Toxins.* 2016; 8(10): 288.
6. Parente A., Daniele-Silva A., Furtado A.A. et al. Analogs of the scorpion venom peptide stigmurin: Structural assessment, toxicity, and increased antimicrobial activity. *Toxins.* 2018; 10 (4): 161.
7. Пантелеев П.В., Болосов И.А., Баландин С.В. и др. Строение и биологические функции β -шпилечных антимикробных пептидов. *Acta Naturae.* 2015; 7, 1(24): 39-50.
8. Chow C.Y., Chin Y.K., Walker A.A. et al. Venom Peptides with Dual Modulatory Activity on the Voltage-Gated Sodium Channel NaV1. 1 Provide Novel Leads for Development of Antiepileptic Drugs. *ACS Pharmacology & Translational Science.* 2019; 3(1): 119-134.
9. Ahmadi S., Knerr J.M., Argemi L. et al. Scorpion venom: detriments and benefits. *Biomedicines.* 2020; 8(5): 118.
10. Cardoso F.C. Multi-targeting sodium and calcium channels using venom peptides for the treatment of complex ion channels-related diseases. *Biochemical Pharmacology.* 2020: 107-114.
11. Emerich B.L., Ferreira R.C.M., Cordeiro M.N. et al. δ -Ctenitoxin-Pn1a from *Phoneutria nigriventer* spider venom, shows antinociceptive effect involving opioid and cannabinoid systems, in rats. *Toxins,* 2016; 8(4):106.
12. Pineda S.S., Undheim E.A., Rupasingh D.B. [et al.] Spider venomics: Implications for drug discovery. *Future medicinal chemistry.* 2014; 6(15): 1699-1714.
13. Barbosa F.M., Daffre S., Maldonado R.A. et al. Gomesin, a peptide produced by the spider *Acanthoscurria gomesiana*, is a potent anticryptococcal agent that acts in synergism with fluconazole. *FEMS Microbiol Lett.* 2007; 274(2): 279-286.
14. Wehbe R., Frangieh J., Rima M. et al. Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. *Molecules.* 2019; 24(16): 2997.

15. Moreno M., Giralt E. Three Valuable Peptides from Bee and Wasp Venoms for Therapeutic and Biotechnological Use: Melittin, Apamin and Mastoparan. *Toxins* 2015; 7: 1126-1150.
16. Fitzgerald K.T., Flood A.A. Hymenoptera stings. *Clinical techniques in small animal practice*. 2006; 21(4): 194-204.
17. Омаров Ш.М., Атаев З.Ш., Магомедова М. Г. и др. Роль пчелиного яда и прополиса в структуре фармакотерапии. *Вестник международной академии наук*. 2006; 2: 35-42.
18. Суханова Л.В., Канарский А.В. Биологическая ценность пчелинового яда. *Вестник технологического университета*. 2016; 19(8): 145-150.
19. Lazcano-Perez F., Hernandez-Guzman U., Sanchez-Rodriguez J. et al. Cnidarian neurotoxic peptides affecting central nervous system targets. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2016; 16(3): 173-182.
20. Chang S.C., Huq R., Chabra S. et al. Terminally extended analogues of the K⁺ channel toxin from *Stichodactyla helianthus* as a potent and selective blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.3. *FEBS J*. 2015; 282(12): 2247-2259.
21. Margiotta F., Micheli L., Ciampi C. et al. *Conus regius*-Derived conotoxins: novel therapeutic opportunities from a marine organism. *Mar Drugs*. 2022; 20(12): 773.
22. Yang M., Zhou M. μ -conotoxin Ts-IIIa, a peptide inhibitor of human voltage-gated sodium channel hNav1.9. *Toxincon*. 2020; 186: 29-34.
23. Bourinet E., Zamponi G.W. Block of voltage-gated calcium channels by peptide toxins. *Neuropharmacology*. 2017; 127: 109-115.
24. Cai X.J., Wang L., Hu C.M. Effects of GABAB receptor activation on spatial cognitive function and hippocampal neurones in rat models of type 2 diabetes mellitus. *Bioscience reports*. 2018; 38(1): BSR-20171184_RET.
25. Ziegman R., Alewood P. Bioactive components in fish venoms. *Toxins*, 2015, 7(5): 1497-1531.
26. Gorman M.L., Judge S.J., Fezai M. et al. The venoms of the lesser (*Echiichthys vipera*) and greater (*Trachinus draco*) weever fish – A review. *Toxicon*; 6(20202): 100025.
27. Ouanounou G., Malo M., Stinnakre J. et al. Trachynilysin, a neurosecretory protein isolated from shellfish (*Synanceia Trachynis*) venom, forms nonselective pores in the membrane of NG108-15 cells. *Biol.Chem*. 2002; 277(42): 39119-39127.
28. Lin Y., Lin T., Cheng N. et al. Evaluation of antimicrobial and anticancer activities of three peptides identified from the skin secretion of *Hylarana latouchii*. *Acta Biochim Biophys sin (Shanghai)*. 2021; 53(11): 1469-1483.

29. Chen X., Liu S., Fang J. [et al.] Peptides isolated from Amphibian skin secretions with emphasis on antimicrobial peptides. *Toxins (Basel)*. 2022; 14(10): 722.
30. Prasasty V., Radifar M., Istyastono E. Natural peptides in drug discovery targeting acetylcholinesterase. *Molecules*. 2018; 23 (9): 2344.
31. Аверин А.С., Уткин Ю.Н. Сердечно-сосудистые эффекты токсинов змеиного яда: кардиотоксичность и кардиопротекция. *Acta naturae*. 2021; 13, 3(50): 4-14.
32. Kini R.M., Koh C.Y. Snake venom three-finger development targeting cardiovascular diseases. *Biochem Pharmacol*. 2020; 181:105-114.
33. Bansal A.B., Sattar Y., Jamil R.T. Eptifibatide. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; 2022.
34. Ferraz C.R., Arrahman A., Xie C. et al. Multifunctional toxins in snake venoms and therapeutic implications: from pain to hemorrhage and necrosis. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2019; 7, 218: 1-19.
35. Akhtar B., Muhammad F., Sharif A. et al. Mechanistic insights of snake venom desintegrins in cancer treatment. *Eur J Pharmacol*. 2021; 899: 174022.
36. Urrea F.A., Araya-Maturana R. Putting the brakes on tumorigenesis with snake venom toxins: New molecular insights for cancer drug discovery. *Seminars in Cancer Biology*. 2020, 80: 195-204.
37. Chan Y.S., Cheung R.C.F., Xia L. et al. Snake venom toxins: toxicity and medicinal applications. *Applied microbiology and biotechnology*. 2016; 100(14): 6165-6181.
38. Cavalcante W.L., Ponce-Soto L.A., Marangoni S. et al. Neuromuscular effects of venoms and crotoxin-like proteins from *Crotalus durissus ruruima* and *Crotalus durissus cumanensis*. *Toxicon*. 2015; 96: 46-49.
39. Nekaris K.A.I., Campera M., Nijman V. et al. Slow lorises use venom as a weapon in intraspecific competition. *Curr Biol*. 2020, 30(20): R1252-R1253.
40. Whittington C., Belov K. Platypus venom: a review. *Australian Mammalogy*. 2007, 29 (1): 57-62.