

М.М. МОНАСТЫРНАЯ, Е.В. ЛЕЙЧЕНКО, И.Н. ГЛАДКИХ,  
Е.А. ЗЕЛЕПУГА, О.В. СИНЦОВА, Р.С. КАЛИНА, А.Н. КВЕТКИНА,  
Э.П. КОЗЛОВСКАЯ

## Фармакологический потенциал пептидов актиний рода *Heteractis*

*Представлены результаты исследования структуры и функции пептидов актиний рода Heteractis: нейротоксинов II структурного типа, APETx-подобных пептидов, пороформирующих токсинов, ингибиторов сериновых протеаз Кунитц-типа и альфа-амилаз, – показавших свой значительный фармакологический потенциал.*

*Ключевые слова: актинии, нейротоксины, APETx-подобные пептиды, пороформирующие токсины, ингибиторы Кунитц-типа, биологические мишени.*

**Pharmacological perspectives of peptides from sea anemones of the *Heteractis* genus.** M.M. MONASTYRNAYA, E.V. LEYCHENKO, I.N. GLADKIKH, E.A. ZELEPUGA, O.V. SINTSOVA, R.S. KALINA, A.N. KVETKINA, E.P. KOZLOVSKAYA (G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok).

*The study results of structure and function of peptides from sea anemone of the Heteractis genus, including structural type II neurotoxins, APETx-like peptides, pore-forming toxins, Kunitz-type serine protease inhibitors and alpha-amylases, that showed a visible pharmacological potential, are presented.*

*Key words: sea anemones, neurotoxins, APETx-like peptides, pore-forming toxins, Kunitz-type, biological targets.*

В последние годы усилия коллектива лаборатории химии пептидов ТИБОХ ДВО РАН были направлены на установление структуры физиологически активных соединений белковой природы, изучение молекулярных механизмов их взаимодействия с биологическими мишенями, оценку фармакологического потенциала с целью выявления соединений, высокоспецифичных по отношению к различным биологическим мишеням. Как известно, сбой в работе таких молекулярных мишеней, как ионные каналы и рецепторы, вызывают серьезные патологические состояния, а воздействие специфичных по отношению к тем или иным мишеням пептидных лигандов корректирует их функциональную активность и оказывает таким образом лечебный эффект. Расширение необходимого фармакологического инструментария для медицинского применения является актуальным направлением развития наук о жизни.

Одним из широко исследуемых и перспективных природных источников биологически активных веществ является ядовитый секрет морских кишечнорастных – актиний, в частности тропических видов *Heteractis crispa* и *Heteractis magnifica* (тип Cnidaria, класс

---

\*МОНАСТЫРНАЯ Маргарита Михайловна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, ЛЕЙЧЕНКО Елена Владимировна – кандидат химических наук, заведующая лабораторией, ГЛАДКИХ Ирина Николаевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ЗЕЛЕПУГА Елена Александровна – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, СИНЦОВА Оксана Владимировна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник, КАЛИНА Римма Сергеевна – младший научный сотрудник, КВЕТКИНА Александра Николаевна – младший научный сотрудник, КОЗЛОВСКАЯ Эмма Павловна – доктор химических наук, заведующая лабораторией (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток). \*E-mail: rita1950@mail.ru

Anthozoa), представляющий собой смесь множества пептидов, используемых актиниями для защиты от потенциальных хищников и нападения на жертвы. Установлено, что в ходе эволюции генома актиний гены, кодирующие пептиды, различающиеся структурными фолдами, претерпели множественную дупликацию, которая привела к образованию мультигенных семейств. Благодаря мутациям новых копий генов пептидные токсины, кодируемые представителями данных семейств (нейротоксины структурных типов I и II, APETx-подобные пептиды, пороформирующие токсины (ПФТ), ингибиторы сериновых протеаз Кунитц-типа), диверсифицировали и образовали комбинаторные библиотеки высокоомологичных пептидов, различающихся точечными заменами аминокислотных остатков (а.о.). Представители различных комбинаторных библиотек приобрели полифункциональность и уточненный механизм взаимодействия с различными биологическими мишенями жертв актиний, способность избирательно взаимодействовать с различными типами и подтипами потенциал-зависимых и протон-активируемых ионных каналов ( $K_v$ ,  $Na_v$ , ASICs), ионотропных рецепторов (TRPV1, TRPA, гистаминовые H1), сфингомиелин (SM)-содержащих цитоплазматических мембран, эндогенных протеаз (сериновые, цистеиновые, аспарагиновые) и амилаз. Нарушение нормальной функциональной активности таких биологических мишеней обуславливает развитие серьезных патологий, нарушение механизмов сигнальной трансдукции, клеточного цикла, иммунного ответа и др. Пептиды вышеназванных структурных классов проявляют при взаимодействии с мишенями модулирующую (активирующую/потенцирующую или блокирующую) активность и оказывают тем самым фармакологический эффект [17]. Изучение молекулярных механизмов белок-лигандных взаимодействий пептидных компонентов ядов с биологическими мишенями позволяет использовать их, в силу уникальных свойств и огромного структурного разнообразия, в качестве инструментов исследования молекулярной организации и механизмов функционирования ионных каналов, рецепторов, ферментов и цитоплазматических мембран.

Данная обзорная статья обобщает полученные в последние годы в лаборатории химии пептидов результаты исследования структурно-функциональных взаимоотношений нескольких групп пептидных токсинов актиний *H. crispa* и *H. magnifica*, показывает возможные перспективы их применения в качестве фармакологических агентов.

### ***Heteractis* нейротоксины – модуляторы $Na_v$ каналов**

Ранее у пяти высокотоксичных для млекопитающих и крабов нейротоксинов структурного типа II, RTX-I – RTX-V (48 а.о., 5 кДа), выделенных из актинии *H. crispa* [4], были определены аминокислотные последовательности и локализация дисульфидных связей: C<sup>3</sup>–C<sup>43</sup>, C<sup>5</sup>–C<sup>33</sup>, C<sup>26</sup>–C<sup>44</sup> (рис. 1).

Недавно методами структурной химии белка и тандемной масс-спектрометрии были установлены структуры еще двух нейротоксинов *H. crispa*: RTX-VI, аналог RTX-III без остатка Arg13, и  $\delta$ -SHTX-Hcr1f [15], аналог нейротоксина RpII (P01534) из *Heteractis pau-totensis* (данные не опубликованы). Исследование механизма действия этих нейротоксинов выявило определенную специфику связывания пептидов с различными субтипами  $Na_v$ , экспрессированными в ооцитах лягушки *Xenopus laevis*. Однако при некоторых различиях в аффинности связывания нейротоксинов структурного типа II с сайтом 3 субтипов  $Na_v$  1.2, 1.3, 1.6 наблюдаются значительное замедление кинетики их инактивации и пролонгация потенциала действия, что приводит к массивному выходу нейротрансмиттеров из нервных терминалей [7]. Благодаря наличию позитивного инотропного эффекта *Heteractis* нейротоксины оказывают кардиостимулирующий эффект, который может быть использован при экстремальных ситуациях. Возможно, в дальнейшем будут получены аналоги, подобные малотоксичным для млекопитающих нейротоксинам RTX-II и RTX-IV, пригодные для применения в кардиологии.

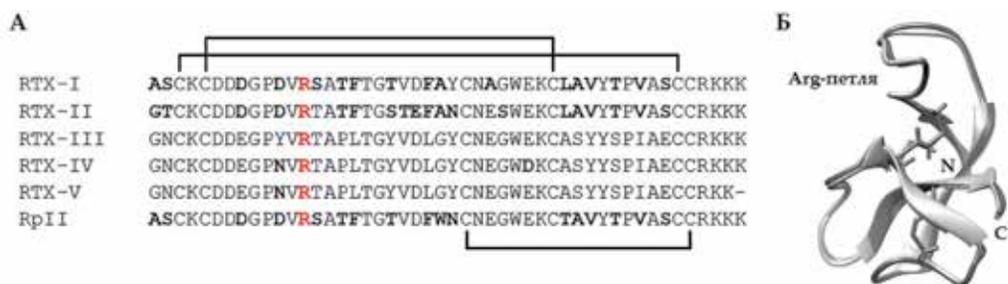


Рис. 1. Структура нейротоксинов актиний.

**А** – множественное выравнивание аминокислотных последовательностей нейротоксинов структурного типа II: RTX-I (P30831), RTX-II (P30783), RTX-III (P30832) [4], RTX-IV (P30784), RTX-V (P30785) из *Heteractis crispa*, RpII (P01534) из *H. paumotensis*. Жирным шрифтом показаны точечные замены остатков в последовательностях, красным цветом – функционально значимый для связывания с  $\text{Na}_v$  остаток Arg13. Прямые линии показывают локализацию дисульфидных связей C<sup>3</sup>-C<sup>43</sup>, C<sup>5</sup>-C<sup>33</sup>, C<sup>26</sup>-C<sup>44</sup>;

**Б** – суперпозиция теоретической модели 3D структуры нейротоксина RTX-III (темно-серый) и прототипа RpIIsh1 (светло-серый, PDB ID: 1Sh1), представленных в виде ленточных диаграмм, стержневые фрагменты показывают расположение дисульфидных связей. Визуализация выполнена с помощью программы Chimera 1.10.1

### *Heteractis* APETx-подобные ингибиторы ASICs каналов

Поиск и исследование лигандов протон-активируемых ASICs каналов представляют огромный интерес для фармакологии, поскольку эти ионные каналы включены в ряд патофизиологических процессов. Лиганды ASICs каналов, оказывая специфическое воздействие на их функциональную активность, в том числе механизмы генерации боли, потенцируют или частично ингибируют различные субтипы ASICs [20].

Недавно из актинии *H. crispa* выделено и охарактеризовано три новых пептида,  $\pi$ -AnmTX Hcr 1b-2, -3 и -4 (Hcr 1b-2, -3, -4) [14] (41 а.о., 4,5 кДа) (рис. 2), гомологичных полученным ранее пептидам  $\pi$ -AnmTX Hcr 1b-1 (Hcr 1b-1) [2] и APETx2 из актинии *Anthopleura elegantissima* [8], имеющих  $\beta$ -дефензин-подобный фолд.

Электрофизиологическое тестирование пептидов показало, что, в отличие от APETx2, обратимо ингибирующего только гомомерные ASIC3 (с  $\text{IC}_{50} = 63 \text{ nM}$ ) и некоторые гетеромерные каналы, такие как ASIC2b+3 ( $\text{IC}_{50} = 117 \text{ nM}$ ), ASIC1b+3 ( $\text{IC}_{50} = 0,9 \text{ мкМ}$ ) и ASIC1a+3 ( $\text{IC}_{50} = 2 \text{ мкМ}$ ) [8], все *Heteractis* APETx-подобные пептиды ингибируют не только



Рис. 2. Структура APETx-подобных пептидов актиний.

**А** – множественное выравнивание аминокислотных последовательностей APETx-подобных пептидов Hcr 1b-1 (UniProt ID: P0DL87) [2], Hcr 1b-2 (C0HL52), Hcr 1b-3 (C0HL53), Hcr 1b-4 (C0HL54) [14] из *Heteractis crispa* и APETx2 (P61542) [8] из *Anthopleura elegantissima*. Идентичные и консервативные остатки изображены на темном и сером фоне соответственно. Прямые линии показывают локализацию дисульфидных связей, C<sup>4</sup>-C<sup>37</sup>, C<sup>6</sup>-C<sup>30</sup>, C<sup>20</sup>-C<sup>38</sup>. Выравнивание выполнено с помощью программы Vector NTI;

**Б** – суперпозиция теоретических моделей 3D структур пептидов Hcr 1b-2 (темно-серый), -4 (черный) и прототипа APETx2 (светло-серый, PDB ID: 1WXN). Модели представлены в виде ленточных диаграмм, стержневые фрагменты показывают расположение дисульфидных связей. Визуализация выполнена с помощью программы Chimera 1.10.1

гомомерные ASIC3, но и ASIC1a каналы [14]. Преобладающий пептид, Hcr 1b-2, является первым ингибитором ASIC1a. Он обратимо ингибирует как rASIC1a ( $IC_{50} = 4,8$  мкМ), так и rASIC3 ( $IC_{50} = 15,9$  мкМ), проявляя, подобно Hcr 1b-1 [2], анальгетический эффект на модели кислотоиндуцированной боли, и значительно снижает порог болевой чувствительности экспериментальных животных.

### ***Heteractis* актинопорины и их биологические мишени**

Известно, что многие виды актиний продуцируют несколько гомологичных пороформирующих токсинов ( $\alpha$ -ПФТ, или актинопорины, 20 кДа) [18], двойственность природы которых (фолд  $\alpha/\beta$ -сэндвич, рис. 3, А) обуславливает специфичность взаимодействия их амфифильных  $\alpha$ -спирализованных N-концевых фрагментов (28 а.о.) с биологическими мишенями – сфингомиелин-содержащими мембранами эукариотов. Образование функционально активных белок-липидных пор вызывает быстрый лизис мембран (рис. 3, Б). Нами обнаружено большое мультигенное семейство, кодирующее актинопорины (47 представителей) [16], разнообразие которых и множественные мутации а.о. в N-концевом фрагменте свидетельствуют об их диверсификации, направленной на увеличение количества различных биологических мишеней. Кроме того, обнаружено альтернативное взаимодействие трипептида RGD некоторых актинопоринов с интегринами цитоплазматических мембран [10]. Подобный механизм порообразования позволяет использовать актинопорины в качестве противоопухолевых агентов. Установлено, что цитотоксическое действие актинопорина RTX-A на опухолевые клетки (HeLa, THP-1, MDA-MB-231, SNU-C4, HL-60) обусловлено индукцией p53-независимого апоптоза и ингибированием активности онкогенных ядерных факторов AP-1 и NF- $\kappa$ B [9].

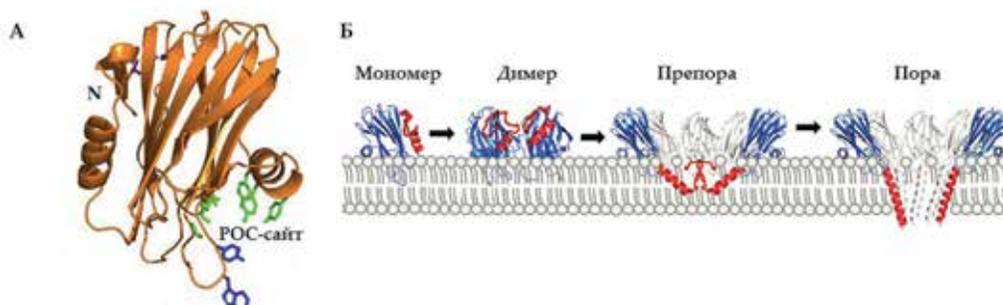


Рис. 3. Структура и механизм действия актинопоринов актиний.

А – теоретическая модель 3D структуры актинопорина;

Б – модель порообразования: мономер связывается с мембраной, обеспечивая белок-белковое взаимодействие двух молекул с образованием димера, который затем взаимодействует с мономером или димером, затем происходят включение удлинившихся в мембранном интерфейсе N-концевых фрагментов в липидный бислой и образование первоначально препоры, а затем и функциональной поры

### ***Heteractis* ингибиторы сериновых протеаз и амилаз**

К настоящему времени из *H. crispa* выделено и охарактеризовано несколько ингибиторов сериновых протеаз (56 а.о., ~6 кДа), имеющих Кунитц-фолд, стабилизированный тремя дисульфидными мостиками (рис. 4) [1, 5, 11, 12]. Этот вид актиний содержит мультигенное HCGS суперсемейство пептидов Кунитц-типа (более 70 представителей), образующих комбинаторную библиотеку, аминокислотные последовательности которых, выведенные на основе кДНК сиквенсов [13], имеют ряд точечных замен. Согласно филогенетическому и структурно-функциональному анализу, диверсификация ингибиторов Кунитц-типа обусловила их суб- и неофункционализацию, что привело к появлению

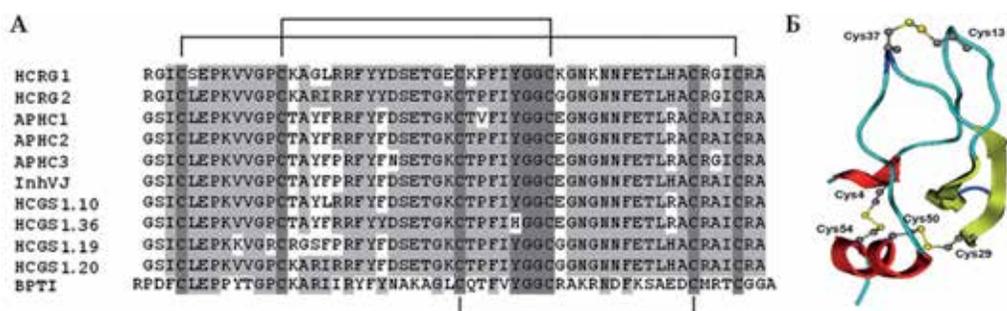


Рис. 4. Структура пептидов Кунитц-типа.

*А* – множественное выравнивание аминокислотных последовательностей пептидов Кунитц-типа: HCRG1 (CONJU6) и HCRG2 (CONJU7) [12], APHC1 (B2G331), APHC2 (CONJF4) и APHC3 (CONJF3) [1, 5, 6], InhVJ (P0DMJ5) [11], rHCGS 1.10, rHCGS 1.36, rHCGS 1.19, rHCGS 1.20 [13] из *Heteractis crispera*; BPTI (P00974) из *Bos taurus*. Идентичные и консервативные остатки изображены на темном и сером фоне соответственно. Прямые линии показывают локализацию дисульфидных связей C<sup>4</sup>–C<sup>34</sup>, C<sup>13</sup>–C<sup>37</sup>, C<sup>29</sup>–C<sup>50</sup>. Выравнивание выполнено с помощью программы Vector NTI;

*Б* – теоретическая модель 3D структуры пептида HCRG1, представленная в виде ленточной диаграммы, шаростержневые фрагменты показывают расположение дисульфидных связей. Визуализация выполнена с помощью программы Discovery Studio 4.1

полифункциональности у некоторых представителей семейства [13]. Так, нативные пептиды комбинаторной библиотеки APHC1, APHC2, APHC3 [1, 5] и рекомбинантный пептид HCRG21 [19], будучи слабыми ингибиторами сериновых протеаз (*K<sub>i</sub>* в диапазоне концентраций 10<sup>-6</sup>–10<sup>-7</sup> М), взаимодействуют с рецептором TRPV1 и проявляют анальгетическое и противовоспалительное действие *in vivo* (показано для APHC1-3 [1, 5, 6]). APHC1 был первым пептидным модулятором TRPV1, ингибирующим 32 % капсаицин-индуцируемых токов (EC<sub>50</sub> = 54 нМ) [5], тогда как HCRG21 оказался первым пептидным блокатором этого рецептора (IC<sub>50</sub> = 6,9 мкМ) [19].

Кроме того, было установлено, что некоторые рекомбинантные пептиды (HCGS 1.10, 1.19, 1.20 и 1.36) обладают анальгетическим действием *in vivo* [23] и антигистаминной активностью *in vitro* (HCGS 1.19, 1.20 и 1.36) [21], что, вероятно, указывает на их возможное противовоспалительное действие. Показано, что нативные пептиды HCRG1 и HCRG2 снижают уровень секреции медиаторов воспаления в макрофагах, активированных липополисахаридом [12], и, вероятно, также могут проявлять противовоспалительный эффект.

Недавно из актинии *H. magnifica* выделен нетоксичный пептид с β-дефензин-подобным фолдом, магнификамид (4,7 кДа, 44 а.о.) [22], ингибирующий панкреатическую α-амилазу, участвующую в развитии диабета второго типа. Получен активный рекомбинантный аналог ингибитора, и в дальнейшем будет проведена оценка его фармакологического потенциала.

## Заключение

Представленные данные согласуются с утвердившимся мнением о том, что пептиды актиний являются перспективными лидерными молекулами для создания относительно безопасных, эффективных фармакологических препаратов направленного действия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов С.А., Андреев Я.А., Мурашев А.Н., Скобцов Д.И., Дьяченко И.А., Гришин Е.В. Новые полипептидные компоненты с анальгетической активностью из морской анемоны *Heteractis crispera* // Биоорг. химия. 2009. Т. 35, № 6. С. 789–798.

2. Козлов С.А., Осмаков Д.И., Андреев А.Я., Кошелев С.Г., Гладких И.Н., Монастырская М.М., Козловская Э.П., Гришин Е.В. Полипептидный токсин из морской анемоны, ингибирующий протончувствительный канал ASIC3 // Биоорган. химия. 2012. Т. 38, № 6. С. 653–659.
3. Синцова О.В., Монастырская М.М., Пислягин Е.А., Менчинская Е.С., Лейченко Е.В., Аминин Д.Л., Козловская Э.П. Противовоспалительная активность полипептида актинии *Heteractis crispa* // Биоорган. химия. 2015. Т. 41, № 6. С. 657–663.
4. Зыкова Т.А., Винокуров Л.М., Козловская Э.П., Еляков Г.В. Аминокислотная последовательность нейротоксина III из актинии *Radianthus macrodactylus* // Биоорган. химия. 1985. Т. 11, № 3. С. 302–310.
5. Andreev Y.A., Kozlov S.A., Koshelev S.G., Ivanova E.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Grishin E.V. Analgesic compound from sea anemone *Heteractis crispa* is the first polypeptide inhibitor of vanilloid receptor 1 (TRPV1) // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 23914–23921.
6. Andreev Y.A., Kozlov S.A., Korolkova Y.V., Dyachenko I.A., Bondarenko D.A., Skobtsov D.I., Murashev A.N., Kotova P.D., Rogachevskaja O.A., Kabanova N.V., Kolesnikov S.S., Grishin E.V. Polypeptide modulators of TRPV1 produce analgesia without hyperthermia // Mar. Drugs. 2013. Vol. 11. P. 5100–5115.
7. Catterall W.A., Beress L. Sea anemone toxin and scorpion toxin share a common receptor site associated with the action potential sodium ionophore // J. Biol. Chem. 1978. Vol. 253. P. 7393–7396.
8. Diochot S., Baron A., Rash L.D., Deval E., Escoubas P., Scarzello S., Salinas M., Lazdunski M. A new sea anemone peptide, APETx2, inhibits ASIC3, a major acid-sensitive channel in sensory neurons // EMBO J. 2004. Vol. 23. P. 1516–1525.
9. Fedorov S., Dyshlovoy S., Monastyrnaya M., Shubina L., Leychenko E., Kozlovskaya E., Jin J.O., Kwak J.Y., Bode A.M., Dong Z. et al. The anticancer effects of actinoporin RTX-A from the sea anemone *Heteractis crispa* (= *Radianthus macrodactylus*) // Toxicon. 2010. Vol. 55. P. 811–817.
10. García-Linares S., Richmond R., García-Mayoral M.F., Bustamante N., Bruix M., Gavilanes J.G., Martínez-Del-Pozo A. The sea anemone actinoporin (Arg-Gly-Asp) conserved motif is involved in maintaining the competent oligomerization state of these pore-forming toxins // FEBS J. 2014. Vol. 281. P. 1465–1478.
11. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Leychenko E. et al. Atypical reactive center Kunitz-type inhibitor from the sea anemone *Heteractis crispa* // Mar. Drugs. 2012. Vol. 10. P. 1545–1565.
12. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Zelepuga E., Sintsova O., Tabakmakher V., Gnedenko O., Ivanov A., Hua K.-F., Kozlovskaya E. New Kunitz-Type HCRG Polypeptides from the Sea Anemone *Heteractis crispa* // Mar. Drugs. 2015. Vol. 13. P. 6038–6063.
13. Isaeva M.P., Chausova V.E., Zelepuga E.A., Guzev K.V., Tabakmakher V.M., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. A new multigene superfamily of Kunitz-type protease inhibitors from sea anemone *Heteractis crispa* // Peptides. 2012. Vol. 34. P. 88–97.
14. Kalina R., Gladkikh I., Dmitrenok P., Chernikov O., Koshelev S., Kvetkina A., Kozlov S., Kozlovskaya E., Monastyrnaya M. New APETx-like peptides from sea anemone *Heteractis crispa* modulate ASIC1a channels // Peptides. 2018. Vol. 104. P. 41–49.
15. Kalina R., Gladkikh I., Peigneur S., Dmitrenok P., Zelepuga E., Monastyrnaya M. Type II toxins from sea anemone *Heteractis crispa* with various effects on activation and inactivation of voltage-gated sodium channels // Toxicon. 2019. Vol. 159. P. S18.
16. Leychenko E., Isaeva M., Tkacheva E., Zelepuga E., Malyrenko O., Kvetkina A., Pavlenko A., Monastyrnaya M., Kozlovskaya E. Pore-forming toxins from sea anemone *Heteractis crispa*: diversity and pharmacological potential // Mar. Drugs. 2018. Vol. 16. E183 [1–18]. DOI: 10.3390/md16060183.
17. Madio B., King G.F., Undheim E.A.B. Sea Anemone Toxins: A Structural Overview // Mar. Drugs. 2019. Vol. 17. E325 [1–26]. DOI: 10.3390/md17060325.
18. Monastyrnaya M., Leychenko E., Isaeva M., Likhatskaya G., Zelepuga E., Kostina E., Trifonov E., Nurminski E., Kozlovskaya E. Actinoporins from the sea anemones, tropical *Radianthus macrodactylus* and northern *Oulactis orientalis*: Comparative analysis of structure-function relationships // Toxicon. 2010. Vol. 56. P. 1299–1314.
19. Monastyrnaya M., Peigneur S., Zelepuga E., Sintsova O., Gladkikh I., Leychenko E., Isaeva M., Tytgat J., Kozlovskaya E. Kunitz-type peptide HCRG21 from the sea anemone *Heteractis crispa* is a full antagonist of the TRPV1 receptor // Mar. Drugs. 2016. Vol. 14. E229 [1–20]. DOI: 10.3390/md14120229.
20. Rash L.D. Acid-Sensing Ion Channel Pharmacology, Past, Present, and Future... // Adv. Pharmacol. 2017. Vol. 79. P. 35–66.
21. Sintsova O.V., Pisyagin E.A., Gladkikh I.N., Monastyrnaya M.M., Menchinskaya E.S., Leychenko E.V., Aminin D.L., Kozlovskaya E.P. Kunitz-type peptides of the sea anemone *Heteractis crispa* – potential anti-inflammatory compounds // Russ. J. Bioorg. Chem+. 2017. Vol. 43. P. 91–97.
22. Sintsova O., Gladkikh I., Chausova V., Monastyrnaya M., Anastyuk S., Chernikov O., Yurchenko E., Aminin D., Isaeva M., Leychenko E., Kozlovskaya E. Peptide fingerprinting of the sea anemone *Heteractis magnifica* mucus revealed neurotoxins, Kunitz-type proteinase inhibitors and a new  $\beta$ -defensin  $\alpha$ -amylase inhibitor // J. Proteomics. 2018. Vol. 173. P. 12–21.
23. Tabakmakher V.M., Sintsova O.V., Krivoschapko O.N., Zelepuga E.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. Analgesic effect of novel Kunitz-type polypeptides of the sea anemone *Heteractis crispa* // Dokl. Biochem. Biophys. 2015. Vol. 461. P. 80–83.