



## ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 577.(121.2+152.34+352.334)

© 1991 г.

*Т. Н. Акопян, А. М. Арзуманян, А. Г. Агаджанян,  
А. А. Арутюнян.*

## СИНАПСОМНОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ

*Институт экспериментальной биологии АН Республики Армения, Ереван*

На уровне синапсомных плазматических мембран рассмотрены протеолитические превращения ряда нейропептидов, обладающих нейротрансмиттерными и нейромодуляторными свойствами. Особое внимание уделено выяснению пептидных связей, в первую очередь подвергающихся гидролизу под действием мембранных пептидаз. На основании анализа накопленных данных сделаны некоторые обобщенные выводы о свойствах ферментной системы, ответственной за биологическую инактивацию пептидов на уровне синапсов.

## Введение

Многие нейропептиды кроме гормональной активности проявляют также свойства, характерные для нейромедиаторов. В настоящее время они объединяются в новый класс пептидных нейротрансмиттеров [1, 2]. Для понимания процесса регуляции активности подобных нейропептидов в организме чрезвычайно важно выяснение путей их образования и инактивации.

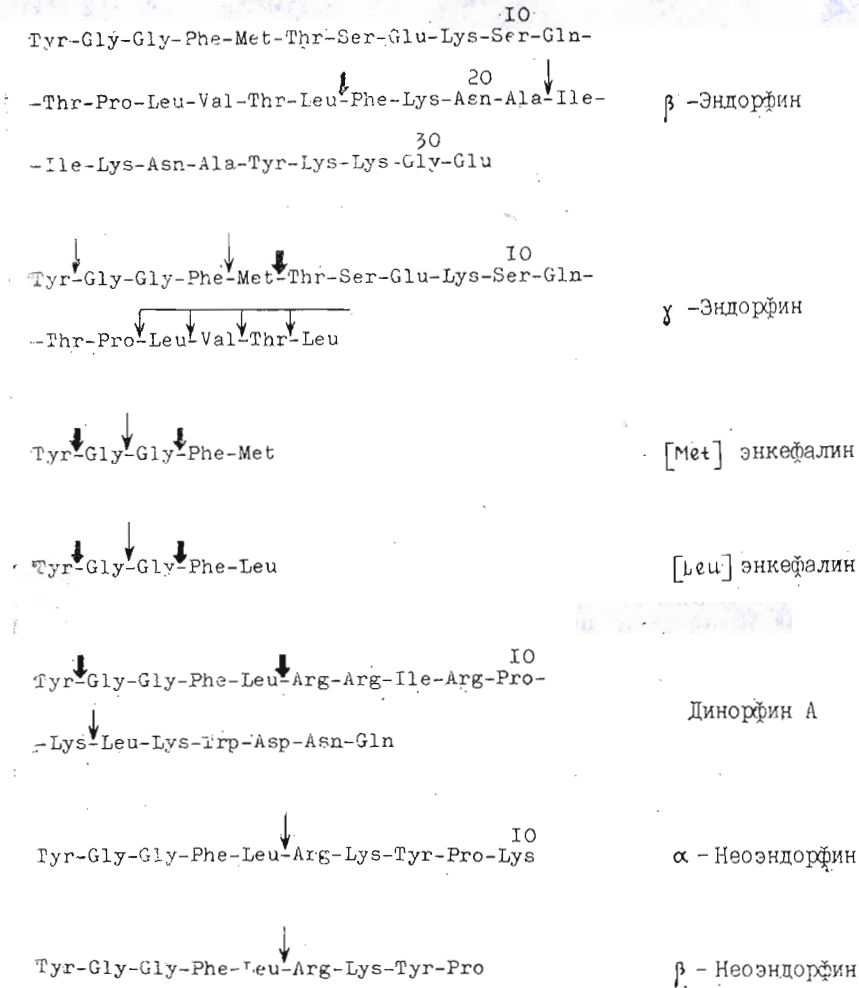
Известно, что инактивация классических нейромедиаторов происходит двумя путями: 1) метаболизацией выделившегося медиатора, 2) обратным его захватом в пресинаптический элемент. Для большинства пептидных нейротрансмиттеров не удалось показать наличие системы обратного захвата [3–5], следовательно, терминация их действия происходит путем протеолитического расщепления. В ряде случаев в процессе протеолиза известных пептидов образуются фрагменты, обладающие физиологическими активностями [6]. В этом аспекте вполне оправданна интенсификация исследований по изучению расщепления нейропептидов на уровне плазматических мембран нейронов (интактные синапсомы, плазматические мембраны синапсом, очищенные ферменты из мембран).

В данном обзоре сделана попытка суммировать результаты по протеолитическому расщеплению пептидов на уровне нейрональной мембраны и обозначить контуры общих закономерностей процесса биологической инактивации нейропептидов. Частично эти результаты обобщены в работах [6–8].

## Эндорфины и энкефалины

Установлено, что под действием ферментов синапсомных мембран в  $\beta$ -эндорфине расщепляются в основном две связи:  $\text{Leu}^{17}-\text{Phe}^{18}$  и  $\text{Ala}^{21}-\text{Phe}^{22}$  (менее интенсивно) [9, 10] (схема 1). Важное функциональное значение имеет разрыв связи  $\text{Leu}^{17}-\text{Phe}^{18}$ , приводящий к образованию  $\gamma$ -эндорфина ( $\beta$ -эндорфин-(1–17)-пептид). Мембранная эндопептидаза ( $M$  200 кДа), катализирующая образование  $\gamma$ -эндорфина, является цистеино-

Сокращения: ЦНС – центральная нервная система, АСТН – адренокортикотропный гормон, MSH – меланофорстимулирующий гормон.



Расщепление эндорфинов и энкефалинов под действием ферментов синаптических мембран. Стрелками в схемах указаны первичные места атаки ферментов (жирные стрелки обозначают наиболее интенсивно гидролизуемые связи в пептидах)

вой протеиназой и отличается от всех ранее описанных эндопептидаз мозга [11-13].

Образующийся γ-эндорфин подвергается дальнейшему расщеплению, катализируемому эндо- и экзопептидазами. Под действием аминопептидазы образуется des-Tyr<sup>1</sup>-γ-эндорфин, а под действием эндопептидазы — фрагменты γ-эндорфин-(5-17) и γ-эндорфин-(6-17) (дез-энкефалин-γ-эндорфин) [12] (схема 1). Все образующиеся пептиды сохраняют нейролептическую активность, характерную для γ-эндорфина [14].

С другой стороны, под действием карбоксипептидаз на первом этапе протеолиза из γ-эндорфина образуется α-эндорфин (γ-эндорфин-(1-16)), который в отличие от γ-эндорфина проявляет активность, сходную с активностью психостимулирующих препаратов. Действие карбоксипептидаз приводит также к образованию фрагментов 1-15, 1-14 и 1-13, не обладающих физиологической активностью. Наличие остатка Pro в положении 13 предотвращает дальнейшее расщепление пептидов под действием этих ферментов.

Бурбах и др. [15] предполагают, что вышеописанный процесс протеолиза β-эндорфина имеет место in vivo. В пользу этого предположения говорят следующие факты: а) обнаружение в ЦНС указанных фрагментов

[16, 17]; б) корреляция в распределении  $\beta$ -эндорфина и его фрагментов в разных участках нервной ткани [16, 17]; в) наличие в синапсомембранных ферментов, способных образовывать подобные фрагменты из  $\beta$ -эндорфина.

Нужно отметить, что система протеолитических ферментов синаптических мембран очень чувствительна к колебаниям рН. Так, соотношение  $\gamma$ - $\alpha$ -эндорфинов, равное 2,9 при рН 6,7, снижается на порядок (0,29) при рН 5,8 [10].

Известно, что расщепление любой из четырех пептидных связей в энкефалине приводит к биологической инактивации пептида. Предполагается, что в ЦНС существуют четыре возможных пути метаболизма энкефалинов [18].

Первый состоит в гидролизе связи  $\text{Tyr}^1\text{—Gly}^2$  под действием аминопептидазы (схема 1). Установлено, что как растворимая, так и мембранная фракции, полученные из мозга разных животных, содержат аминопептидазы, гидролизующие эту связь. Некоторые из них выделены и достаточно хорошо изучены [19–23]. Все изученные аминопептидазы принадлежат к металлопротеиназам. По данным Ротановой и др. [24, 25], аминопептидазы растворимой и мембранной фракций идентичны как в отношении различных ингибиторов, так и по каталитическим параметрам реакции гидролиза энкефалинов. Аналогичные данные были получены в работе [26] при сравнительном исследовании цитозольной и мембраносвязанной аминопептидазы из мозга крыс, способных расщеплять [Met]энкефалин.

Мембранная фракция проявляет также ферментативную активность, катализирующую расщепление связи  $\text{Gly}^2\text{—Gly}^3$ . Фермент был выделен и классифицирован как дипептидиламинопептидаза [27, 28].

Расщепление связи  $\text{Gly}^2\text{—Gly}^3$  в энкефалинах происходит также под действием мембраносвязанной металлопептидазы (энкефалиназы В), выделенной из мозга крыс. По мнению авторов, именно эта пептидаза осуществляет деградацию энкефалинов *in vivo* [29].

Третий фермент, который может принимать участие в расщеплении энкефалинов, — ангиотензинконвертаза (КФ 3.4.15.1), наличие которой в нейрональных мембранах установлено [30]. Фермент катализирует расщепление связи  $\text{Gly}^3\text{—Phe}^4$  [30, 31].

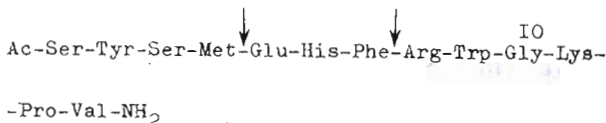
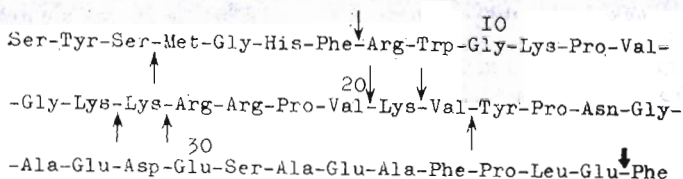
Четвертый фермент, как и ангиотензинконвертаза, гидролизует связь  $\text{Gly}^3\text{—Phe}^4$ . Он был обнаружен в мембранах синапсом Малфроем и др. [32] и по предложению авторов был назван энкефалиназой (КФ 3.4.24.11). Фермент является металлопротеиназой и обнаруживается в плазматических мембранах разных органов [33].

Использование различных специфических ингибиторов позволило заключить, что после секреции энкефалинов из нервных окончаний их деградация осуществляется в основном под действием двух ферментов: аминопептидазы и энкефалиназы [34]. Внутрицеребральное введение ингибиторов двух указанных ферментов практически полностью блокирует расщепление энкефалинов.

Быстрая утилизация в мозге энкефалинсодержащего пептида — динорфина А — показана в условиях *in vivo* [35]. При введении крысам [ $^3\text{H}$ ]динорфина появляется неактивный  $\text{des-Tyr}^1$ -динорфин в качестве основного метаболита. При инкубации динорфина с мембранами мозга происходит образование как  $\text{des-Tyr}^1$ -динорфина, так и частично [Leu]энкефалина [35] (схема 1).

Аскеру и др. [36] удалось показать, что синапсомы содержат мембраносвязанную эндопептидазу (КФ 3.4.24.15), которая эффективно катализирует образование [Leu]энкефалина из динорфин-(1–8)-пептида,  $\alpha$ - и  $\beta$ -неоэндорфинов, а также [Met]энкефалина из [Met]энкефалин- $\text{Arg}^6\text{—Gly}^7\text{—Leu}^8$  (модельного пептида) в присутствии ингибиторов ангиотензинконвертазы (КФ 3.4.11.1) и энкефалиназы. Основная часть этого фермента локализована в растворимой фракции синапсом [37].

Другой трипсиноподобный фермент ( $M$  28–32 кДа), расщепляющий связь  $\text{Arg}^6\text{—Arg}^7$  и  $\text{Lys}^{11}\text{—Leu}^{12}$  в динорфине, был выделен из нейробластомы и охарактеризован [38].



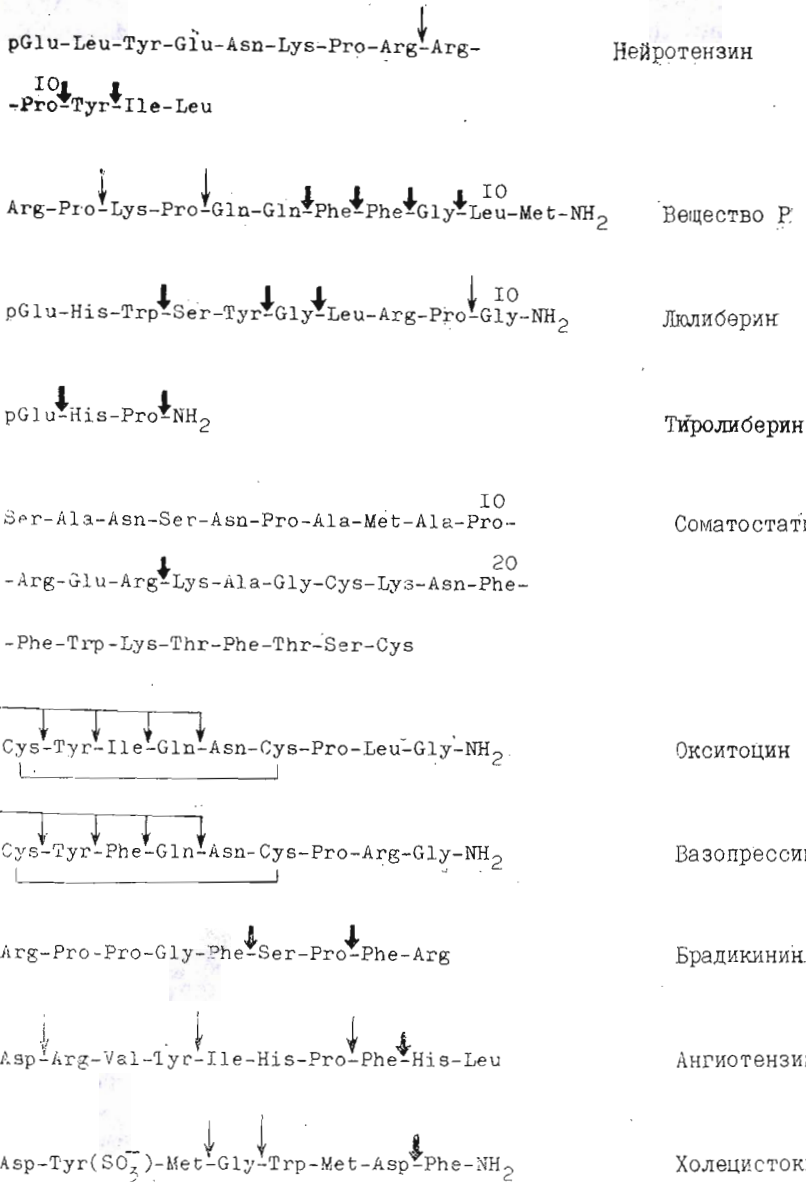
Первичное расщепление АСТН и  $\alpha$ -MSH под действием протеолитических ферментов мембран синапсом. Верхние стрелки указывают на действие ферментов при pH 7,4, нижние — при pH 8,5

Суммируя, можно сказать, что синаптические мембраны содержат ферменты, ответственные как за генерацию энкефалинов и некоторых эндорфинов из их предшественников, так и за их инактивацию.

### Адренокортикотропин (АСТН)

Известно, что нейроактивным действием обладает ряд фрагментов АСТН, обнаруженных в качестве эндогенных нейропептидов в ЦНС [39]. Возможность образования подобных фрагментов путем биотрансформации АСТН ферментами синаптических мембран мозга описана в работе [40]. Инкубация пептида с мембранами при pH 7,4 приводит к образованию АСТН-(1-38)-пептида как основного продукта протеолиза вместе с АСТН-(7-21) и АСТН-(7-20), а также ряда продуктов вторичного расщепления вышеуказанных фрагментов (схема 2). При pH 6,2 идет генерирование фрагментов АСТН 1-38, 1-37 и 1-36, тогда как при pH 8,5 образуются фрагменты АСТН 1-16, 17-39, 22-39 и 3-15. Образование пептида АСТН-(1-38) при pH 7,4 как основного метаболита установлено также в работе [41].

Формирование фрагмента АСТН-(1-16), лишённого адренокортикотропной активности, особенно интересно, так как именно с этим участком связывают ряд центральных эффектов, проявляемых АСТН [39]. Для исследования расщепления этого фрагмента под действием синаптических мембран мозга был использован модельный пептид АСТН-(1-16)-NH<sub>2</sub> [42]. Показано, что при pH 7,4 и 8,5 образуются фрагменты АСТН-(3-16)-NH<sub>2</sub>, АСТН-(4-16)-NH<sub>2</sub>, АСТН-(5-16)-NH<sub>2</sub> и АСТН-(7-16)-NH<sub>2</sub>, причем пептид АСТН-(3-16)-NH<sub>2</sub> — основной метаболит при pH 8,5. Полученные результаты указывают на наличие в мембранной фракции аминокатабической активности, ответственной за образование фрагментов АСТН-(4-16)-NH<sub>2</sub> и АСТН-(7-16)-NH<sub>2</sub>, обладающих более выраженным центральным действием, чем исходный пептид [39]. Авторы работы предполагают, что мембраносвязанные ферменты, вовлеченные в биотрансформацию АСТН и его фрагментов, могут принимать участие в модуляции центральной активности АСТН.



Первичные сайты расщепления пептидов протеолитическими ферментами мембраны синапсом. Обозначения как на схеме 1

$\alpha$ -Меланофрестимулирующий гормон ( $\alpha$ -MSH) — один из основных N-концевых фрагментов АСТН (участок 1—13) — обладает выраженным центральным действием [43]. Инкубация пептида с синапсоматами приводит к расщеплению связей Met<sup>4</sup>-Glu<sup>5</sup> и Phe<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup> с потерей его биологической активности [44] (схема 2).

### Нейротензин

При инкубации нейротензина с синаптическими мембранами в качестве основных метаболитов были идентифицированы фрагменты нейротензин-(1—10) и нейротензин-(1—11) (схема 3). По мнению авторов, расщепление пептида обеспечивается ферментативной активностью, характерной для энкефалиназы [22].

Другими исследователями было установлено, что препараты синаптических мембран расщепляют связи Arg<sup>8</sup>-Arg<sup>9</sup>, Pro<sup>10</sup>-Tyr<sup>11</sup> и Tyr<sup>11</sup>-Phe<sup>12</sup> в

нейротензине [45] (схема 3). Авторы полагают, что расщепление связей  $\text{Tyr}^{11}-\text{Phe}^{12}$  осуществляется энкефалиназой, а гидролиз связи  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$  происходит под действием ангиотензинпревращающего фермента на фрагмент нейротензин-(1-10).

Исследования с очищенными энкефалиназой и ангиотензинконвертазой подтверждают возможность участия этих ферментов в метаболизме нейротензина [46]. Ангиотензинпревращающий фермент расщепляет нейротензин по типу дипептидилкарбокисептидазы, отщепляя фрагмент  $\text{Phe}^{12}-\text{Leu}^{13}$ . Фермент не гидролизует образующийся пептид нейротензин-(1-11), что, вероятно, связано с наличием остатка  $\text{Pro}$  в положении 10. Энкефалиназа же расщепляет связи  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$  и  $\text{Tyr}^{11}-\text{Phe}^{12}$  более интенсивно.

Спорным остается вопрос о характере мембранного фермента, ответственного за расщепление связи  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$ . Хотя очищенная энкефалиназа и способна расщеплять эту связь, однако специфический ингибитор — фермент тюрфан лишь частично блокирует ее гидролиз. Чеклер и др. [45, 47] высказали предположение, что расщепление связи  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$  осуществляется некой неидентифицированной протеиназой, отличной от пролиловой эндопептидазы и энкефалиназы, также способных гидролизовать эту связь. В дальнейшем удалось из синаптических мембран мозга крыс выделить и охарактеризовать этот фермент ( $M$  75 кДа) [48-50]. Он был классифицирован как нейтральная металлоэндопептидаза, обладающая высоким сродством к нейротензину ( $K_m$  2,6 мкМ). Фермент эффективно гидролизует связь  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$  также и в С-концевых фрагментах нейротензина 4-13, 6-13, 8-13 и 9-13. Нужно отметить, что физиологическая функция этого фермента может состоять в терминации действия не только нейротензина, но и других нейроактивных пептидов. Среди 20 исследованных нейропептидов фермент эффективно использует в качестве субстратов нейромедин N ( $K_m$  2,5 мкМ), хемопсин ( $K_m$  3 мкМ), ангиотензин I ( $K_m$  4 мкМ).

Наличие остатка  $\text{pGlu}$  на N-конце молекулы нейротензина защищает его от действия аминопептидаз. В пользу этого говорит тот факт, что расщепление нейромедина (представителя семейства нейротензинов, имеющего свободный N-конец) осуществляется в основном аминопептидазой [51].

Как было отмечено выше, расщепление связи  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$  в нейротензине приписывается действию ангиотензинпревращающего фермента на фрагмент нейротензин-(1-10) [45]. Чеклер и др. [52] установили, что разрыв связи  $\text{Arg}-\text{Arg}$  на уровне мембраны синапсом катализируется другим, ранее неидентифицированным ферментом. Другой образующийся продукт — нейротензин-(9-13)-пептид, по их мнению, быстро расщепляется дипептидиламинопептидазой с образованием фрагмента нейротензин-(11-13), дальнейшая деградация которого под действием аминопептидазы приводит к появлению свободного  $\text{Tyr}$  [52].

При изучении превращения нейротензина на уровне культуры нейронов было установлено, что первичными участками расщепления являются связи  $\text{Pro}^7-\text{Arg}^8$ ,  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$  и  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$  [53]. Использование специфических ингибиторов позволило установить, что за разрыв связи  $\text{Pro}^7-\text{Arg}^8$  и частично  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$  ответственна пролиловая эндопептидаза (КФ 3.4.21.26). Фермент, осуществляющий расщепление связи  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$ , по всей вероятности, сходен с металлоэндопептидазой, выделенной из синаптических мембран [49]. Фермент, катализирующий образование фрагментов нейротензин-(1-8) и нейротензин-(9-13), по своим свойствам аналогичен металлоэндопептидазе (КФ 3.4.24.-), описанной в работах [52, 54].

Второй этап деградации нейротензина в культуре нейронов характеризуется ферментативным гидролизом фрагмента нейротензин-(11-13) с последующим отщеплением  $\text{Tyr}^{11}$  под действием бестатинчувствительной аминопептидазы, а также быстрым расщеплением фрагмента нейротензин-(8-13) по связи  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$ , катализируемым пролиловой эндопептидазой. Данные по изучению расщепления нейротензина на уровне культуры нейронов частично расходятся с результатами, полученными при исследовании препаратов синаптических мембран, что, по-видимому, обусловлено

разницей набора пептидаз в указанных системах. В частности, культура нейронов в отличие от глиальных клеток не содержит энкефалиназу и ангиотензинконвертазу [55].

Мак-Дермотт и др. [56], используя специфические ингибиторы, установили, что расщепление нейротензина на уровне гипоталамических срезов происходит в основном по связи  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$ . Показано, что такие мембранные ферменты, как энкефалиназа, ангиотензинпревращающий фермент, пролилвая эндопептидаза, не участвуют в первичном расщеплении пептида. Фермент, гидролизующий связь  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$ , является тиолзависимой металлоэндопептидазой и, вероятно, идентичен ферменту, описанному в работе [54].

Несмотря на некоторые противоречивые данные, можно констатировать, что расщепление нейротензина на уровне плазматических мембран нервных окончаний происходит в основном по связям  $\text{Pro}^{10}-\text{Tyr}^{11}$ ,  $\text{Tyr}^{11}-\text{Phe}^{12}$ , а также  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$  (схема 3). В пользу этого заключения говорят также результаты испытания синтетических аналогов пептида, устойчивых к протеолизу. Так, показано, что замена остатка  $\text{Tyr}^{11}$  на  $D\text{-Tyr}$  или  $D\text{-Phe}$  приводит к повышению резистентности при инкубации с синаптическими мембранами [57]. Сходные данные были получены и при исследовании влияния интактных синапсов на указанные аналоги пептида [47]. Показано, что ферменты синапсом гидролизуют синтетические субстраты в 15 раз медленнее, чем нейротензин. В случае синаптических мембран отношение скоростей расщепления возрастает до 100 раз. При исследовании продуктов ферментативного гидролиза аналога нейротензина выяснилось, что мембраны расщепляют преимущественно связи  $\text{Tyr}^3-\text{Glu}^4$ ,  $\text{Glu}^4-\text{Asn}^5$  и  $\text{Asn}^5-\text{Lys}^6$ , т. е. замена одного аминокислотного остатка в пептиде приводит к резкому изменению картины деградации. При изучении действия очищенной металлоэндопептидазы, ответственной за расщепление связи  $\text{Arg}^8-\text{Arg}^9$ , было обнаружено, что фермент гидролизует [ $D\text{-Tyr}^{11}$ ]нейротензин в 30 раз медленнее, чем нативный пептид [52].

Высокая биологическая активность [ $D\text{-Tyr}^{11}$ ]нейротензина (по сравнению с нейротензином), по всей видимости, объясняется его повышенной метаболической устойчивостью к действию пептидаз.

## Вещество Р

Первые работы по изучению мембранного расщепления вещества Р были проведены на уровне срезов и грубой митохондриальной фракции, содержащей синапсомы [3, 4, 58, 59].

Бергер и др. [3] при исследовании инактивации вещества Р при его обработке субклеточными фракциями, выделенными из мозговой ткани, показали, что грубая митохондриальная фракция обладает ферментативной активностью, расщепляющей вещество Р. Брадикинин и нейротензин также могут служить субстратами для этой ферментативной системы.

Расщепление вещества Р и некоторых его фрагментов под действием грубой митохондриальной фракции исследовано также Блумбергом и соавт. [58]. Сравнение скоростей протеолиза нативного пептида и некоторых его С-концевых фрагментов показало, что вещество Р намного стабильнее его гекса- и гептапептидных фрагментов.

Необходимо отметить, что во всех вышеприведенных работах в качестве модельной системы мембранных ферментов использовалась грубая митохондриальная фракция, содержащая синапсомы. Но, так как сами очищенные митохондрии проявляют пептидазную активность относительно вещества Р [3], представляется затруднительным однозначно интерпретировать полученные результаты.

Исследованиями по деградации вещества Р ферментной системой интактных синапсом [60–62] установлено, что интактные синапсомы, выделенные из различных участков мозга крысы, способны расщеплять вещество Р, а также нейротензин, тиролиберин, люлиберин и брадикинин. Наибольшая ферментативная активность для вещества Р обнаруживается в полосатом теле и коре, а для других пептидов имеет разное распреде-

ление и не коррелирует с литературными данными по количественному распределению пептидов в ЦНС. Характерно, что наименьшую протеолитическую активность по отношению ко всем исследованным пептидам проявляют синаптосомы, выделенные из спинного мозга. Данные по выявлению ингибиторов пептидаз и идентификации продуктов расщепления вещества Р под действием ферментов синаптосомных плазматических мембран позволили установить, что в процессе протеолиза пептида участвуют эндо- и экзопептидазы, причем действие экзопептидаз лимитировано действием эндопептидаз. Идентификация продуктов гидролиза вещества Р показала, что на первых стадиях происходит расщепление связей  $\text{Phe}^7\text{—Phe}^8$  и  $\text{Gly}^9\text{—Leu}^{10}$  (химотрипсиноподобная специфичность) (схема 3). Образующиеся при этом пептиды подвергаются дальнейшей фрагментации под действием экзопептидаз. В гидролизатах при длительной инкубации наблюдается накопление продуктов, соответствующих действию пролилковой эндопептидазы, катализирующей гидролиз связи  $\text{Pro}^2\text{—Lys}^3$  и  $\text{Pro}^4\text{—Gln}^5$ . В дальнейшем из мембранной фракции мозга крыс была выделена и охарактеризована дипептидиламинопептидаза, способная расщеплять связь  $\text{Pro}^2\text{—Lys}^3$  [63].

Ли и др. [64] из мембранной фракции промежуточного мозга человека выделили фермент, расщепляющий вещество Р ( $M$  40–50 кДа). Учитывая результаты ингибиторного анализа, фермент был классифицирован как нейтральная металлоэндопептидаза [59]. Очищенный фермент гидролизует в веществе Р следующие связи:  $\text{Gln}^6\text{—Phe}^7$ ,  $\text{Phe}^7\text{—Phe}^8$  и  $\text{Phe}^8\text{—Gly}^9$ . Конкурентными субстратами в этой реакции для фермента являются филомедузин, физалемин, эледиозин, соматостатин, бомбезин, люлиберин, ангиотензин I, брадикинин, но не тиролиберин, нейротензин, вазопрессин.

Сопоставление полученных данных с результатами расщепления вещества Р под действием ферментов плазматических мембран синаптосом выявило близкое сходство картин деградации пептида в этих двух системах [64]. Этот факт, по мнению авторов, свидетельствует в пользу решающей роли нейтральной металлоэндопептидазы как основной протеиназы, ответственной за синаптическую инактивацию вещества Р.

Матсас и др. [65] при изучении расщепления вещества Р под действием синаптических мембран, выделенных из хвостатого ядра мозга свиньи, установили идентичность ферментативной активности мембран с активностью эндопептидазы (КФ 3.4.24.11), выделенной из почек свиньи. Эта эндопептидаза расщепляет связи  $\text{Gln}^6\text{—Phe}^7$ ,  $\text{Phe}^7\text{—Phe}^8$ ,  $\text{Gly}^9\text{—Leu}^{10}$  в молекуле вещества Р (схема 3). На основании полученных результатов по гидролизу вещества Р и влиянию различных ингибиторов авторы приходят к выводу, что подобная эндопептидаза присутствует также и в синаптических мембранах, выделенных из хвостатого ядра. Эта протеиназа, по мнению авторов, является основным ферментом, ответственным за расщепление вещества Р [65].

Имеется также сообщение о том, что мембранная фракция мозга крыс содержит эндопептидазу, отличную от фермента КФ 3.4.24.11 и способную расщеплять связи  $\text{Pro}^4\text{—Gln}^5$ ,  $\text{Gln}^5\text{—Gln}^6$  и  $\text{Gln}^6\text{—Phe}^7$  [66]. Эта металлоэндопептидаза ( $M$  58 кДа) была выделена и охарактеризована.

Юкосава и др. [67] установили, что ангиотензинпревращающий фермент, выделенный из мембранной фракции мозга, способен расщеплять связи  $\text{Phe}^7\text{—Phe}^8$  и  $\text{Phe}^8\text{—Gly}^9$  в веществе Р. Первичные продукты гидролиза — фрагменты вещества Р 1–7 и 1–8 — подвергаются дальнейшей деградации под действием фермента с образованием соответствующих дипептидов. Приведенные в работе результаты показывают, что в отношении к веществу Р фермент проявляет эндопептидазную активность (разрыв связей  $\text{Phe}^7\text{—Phe}^8$  и  $\text{Phe}^8\text{—Gly}^9$ ), что, по-видимому, связано с наличием амидной группы на С-конце.

Хотя в приведенных работах имеются определенные расхождения, можно констатировать, что при расщеплении вещества Р под действием ферментов синаптосомных плазматических мембран происходит преимущественный гидролиз С-концевого участка пептида, тогда как N-концевой локус проявляет относительную резистентность. Быстрый гидролиз С-кон-



цевого участка пептида, несущего основную ответственность за биологическую активность вещества P, может обеспечить эффективную инактивацию пептида в синапсе.

### Люлиберин

Наличие в мембранных препаратах ферментативной активности, ответственной за расщепление люлиберина, установлено в работах [68, 69]. Инкубация высокоочищенных плазматических мембран с люлиберином приводит к появлению нескольких фрагментов пептида [67]. Как основные метаболиты были идентифицированы N-концевой трипептид и N-концевой гексапептид, т. е. участками расщепления являются связи  $\text{Gly}^6\text{—Leu}^7$  и  $\text{Trp}^3\text{—Ser}^4$  (схема 3). Согласно данным авторов, образование трипептида 1—3 за счет разрыва связи  $\text{Trp}^3\text{—Ser}^4$  не является результатом вторичного гидролиза N-концевого гексапептида, а носит самостоятельный характер. Расщепление связи  $\text{Trp}^3\text{—Ser}^4$  при инкубации с синаптическими мембранами было подтверждено также в работе [70]. Образующийся трипептид подвергается дальнейшему расщеплению под действием пироглутамиламинопептидазы (КФ 3.4.19.3).

В то же время исследования другой группы ученых показали, что основным местом расщепления люлиберина при инкубации с мембранными фракциями, полученными из коры, гипофиза и гипоталамуса мозга крыс, является связь  $\text{Tyr}^5\text{—Gly}^6$  [71]. В присутствии дитиотреита наблюдается также разрыв связи  $\text{Pro}^9\text{—Gly}^{10}$ . Предполагается, что за гидролиз этой связи ответственна пролиловая эндопептидаза (возможность подобного превращения под действием очищенного фермента из мозга показана [72], схема 3).

При изучении деградации люлиберина под воздействием мембранной фракции и экстрактов из очищенных синапсом коры и гипоталамуса было установлено полное сходство механизмов расщепления пептида [22]. В обоих случаях в качестве основного метаболита был идентифицирован фрагмент люлиберин-(1—5). Фрагмент люлиберин-(6—10) также был обнаружен, однако в меньших количествах, что связано с его дальнейшей быстрой деградацией. Этот факт подтверждает, что основным участком протеолиза на уровне мембранных пептидаз является связь  $\text{Tyr}^5\text{—Gly}^6$ . Применение специфических ингибиторов позволило заключить, что за расщепление данной связи ответственна описанная в литературе металлоэндопептидаза (КФ 3.4.24.15) [73]. Выявление минорных количеств фрагментов люлиберин-(1—4), люлиберин-(1—3), свободных Trp и Tyr свидетельствует о том, что образующийся фрагмент люлиберин-(1—5) расщепляется под действием карбоксипептидазы. Был идентифицирован также пептид люлиберин-(1—9), образующийся вследствие гидролиза связи  $\text{Pro}^9\text{—Gly}^{10}$ .

Дальнейшие исследования с применением очищенных ферментов позволили заключить, что в инактивации люлиберина могут участвовать пироглутамиламинопептидаза, эндопептидаза КФ 3.4.24.15, гидролизующая связь  $\text{Tyr}^5\text{—Gly}^6$ , пролиловая эндопептидаза [74], а также ангиотензинпревращающий фермент [75].

### Тиролиберин

Метаболические превращения тиролиберина имеют важное физиологическое значение, поскольку некоторые метаболиты пептида обладают нейрональным действием и их наличие в ЦНС установлено [76—78].

Усилиями различных групп исследователей было показано, что в расщеплении тиролиберина в ЦНС участвуют разные ферменты [79, 80] (схема 3). Один из них, пироглутамиламинопептидаза, отщепляет концевой пироглутамильный остаток. Исследования по субклеточной локализации показали, что синаптические мембраны обладают подобной активностью [81]. Мембранная пироглутамиламинопептидаза была выделена из мозга различных животных и охарактеризована [82—85]. Установлено, что этот фермент является металлоэндопептидазой (*M* 230 кДа).

Образующийся фрагмент тиролиберина His<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-NH<sub>2</sub> подвергается дальнейшему расщеплению аминопептидазой с выходом свободного His и Pro-NH<sub>2</sub> [86]. Для проявления активности фермента обязательное условие — наличие амидированной карбоксильной группы пролина. Субстрат cyclo(-His-Pro-) не расщепляется, но является эффективным ингибитором этого фермента, принадлежащего, по-видимому, к классу тиоловых пептидаз [86].

Третий фермент, претендующий на участие в метаболизме тиролиберина, — дезамидаза, специфически катализирующая образование pGlu<sup>1</sup>-His-Pro<sup>3</sup> [86]. Предполагается идентичность этой дезамидазы с пролиловой эндопептидазой. После отщепления пироглутамильного остатка от тиролиберина образующийся пептид His<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-NH<sub>2</sub> может дезамидироваться под действием пролиловой дипептидиламинопептидазы (наличие последней в синаптических везикулах установлено) [87].

Изучение деградации тиролиберина в различных участках мозга человека выявило наличие высокой ферментативной активности в коре [88]. Установлено также, что существует определенная разница в механизмах гидролиза пептида, катализируемого ферментами растворимой и мембранной фракций. В случае растворимой фракции основным метаболитом является дезамидированная форма тиролиберина, а в случае мембранной — cyclo(-His-Pro-) [88].

### Соматостатин

В настоящее время установлено, что соматостатин в ЦНС представлен в составе 28-членного пептида (соматостатин-14 — C-концевой фрагмент этого пептида), обладающего физиологической активностью [89]. Зинг и др. [90] исследовали превращение соматостатина-28 на уровне различных субклеточных фракций, полученных из гипоталамуса крыс. Было показано наличие ферментативной активности, катализирующей образование соматостатина-14 из соматостатина-28. Максимальная активность была обнаружена в синаптосомной фракции. По мнению авторов, фермент является мембраносвязанной протеиназой и локализован в плазматических мембранах синаптосом. Предполагается, что путем подобного ограниченного протеолиза регулируется баланс двумя формами пептида. С физиологической точки зрения этот процесс может играть важную роль, поскольку установлено, что участки ЦНС различаются по степени сродства соматостатина к рецепторам. Например, в гипофизе обнаружены рецепторы, обладающие высоким сродством к соматостатину-28, а в гипоталамусе и коре мозга — к соматостатину-14.

N-Концевой фрагмент 1—12 соматостатина-28 также обнаружен в ЦНС. Показано, что при повышении концентрации K<sup>+</sup> в среде наблюдается кальцийзависимый выход этого пептида из гипоталамических срезов [91, 92]. Фрагменту соматостатин-(1—12) приписывается нейротрансмиттерная функция [93].

Глушанков и др. [94] установили, что кора мозга крысы содержит фермент, принимающий участие в образовании как соматостатина-14, так и фрагмента 1—12 соматостатина-28. Установлено, что наряду с образованием фрагментов происходит также высвобождение свободного Arg и Lys. Высокая активность данного фермента обнаруживается в мембранах нейросекреторных гранул [95, 96]. После солюбилизации фермента и изучения его действия на ряд структурных аналогов соматостатина была выявлена его строгая специфичность (*M* 90 кДа) к дипептидному локусу Arg<sup>13</sup>-Lys<sup>14</sup>. Скорость гидролиза этой связи зависит также от соседних аминокислотных остатков. На первых этапах протеолиза происходит расщепление связи Arg<sup>13</sup>-Lys<sup>14</sup>, после чего наблюдается появление свободных Arg и Lys, что приводит к формированию соматостатина-14 и N-концевого фрагмента соматостатин-(1—12) (схема 3).

Мембранное расщепление самого соматостатина мало изучено. На основании работ Нанна и др. [97] можно констатировать, что расщепление пептида под действием плазматических мембран синаптосом, выделенных

из мозга крысы и человека, включает в себя согласованное действие ряда металлопептидаз: предположительно эндопептидазы КФ 3.4.24.11, ангиотензинпревращающего фермента, аминопептидазы N.

### Окситоцин и вазопрессин

Показано, что С-концевой трипептид окситоцина Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> — фактор, тормозящий выход α-MSH [98]. В дальнейшем было обнаружено наличие в общей мембранной фракции ферментной системы, осуществляющей выщепление этого трипептида из окситоцина [99]. Открытие физиологически активного трипептида позволило рассматривать окситоцин в качестве предшественника активных фрагментов, обладающих собственной биологической активностью.

Бурбах и др. [93, 100—102] проводили поиск подобных активных фрагментов, исследуя расщепление окситоцина и вазопрессина под действием ферментов плазматических мембран синапсом. Было установлено, что основной путь метаболизации окситоцина в этой системе — последовательное отщепление аминокислотных остатков с N-конца (схема 3). В продуктах гидролиза кроме свободных Tyr, Ile и Gln были обнаружены также фрагменты окситоцина 2—9, 3—9, 4—9 и 5—9, у которых показано наличие дисульфидного мостика между цистеиновыми остатками в положениях 1 и 6. Этот факт свидетельствует о том, что расщепление, катализируемое аминопептидазой, идет без предварительного восстановления дисульфидной связи. Среди образующихся пептидов в наибольшей концентрации обнаруживается фрагмент окситоцин-(4—9), у которого происходит спонтанная циклизация N-концевого Gln. Образование остатка pGlu предотвращает дальнейший гидролиз фрагмента окситоцин-(4—9) под действием аминопептидазы.

При изучении влияния фрагмента окситоцин-(4—9) с защищенным N-концевым остатком в тесте пассивного избегания было установлено, что активность пептида в 100 раз превышает активность окситоцина, хотя сократительная активность, характерная для окситоцина, полностью отсутствует [93].

Сходный механизм превращения под действием препаратов синаптических мембран был установлен и для вазопрессина [101, 103—105] (схема 3). Образующийся фрагмент вазопрессина 4—9 с N-концевым остатком pGlu при церебровентрикулярном введении содействует консолидации памяти в тесте пассивного избегания, превышая активность самого вазопрессина в 3000 раз [104]. Для указанного фрагмента показано отсутствие прессорных свойств вазопрессина.

Необходимо отметить, что скорость расщепления окситоцина и вазопрессина под действием мембранных ферментов различна. Окситоцин проявляет почти в 4—5 раз большую резистентность к гидролизу, чем вазопрессин, что, очевидно, связано с различием аминокислотных остатков в положении 3. В процессе деградации идет также незначительное накопление свободного С-концевого глицинамида.

### Брадикинин

Установлено, что как растворимая, так и мембранная фракции, полученные из мозга, содержат ферменты, инактивирующие брадикинин [106, 107]. Растворимые ферменты (кининазы) достаточно хорошо описаны [108, 109], тогда как картина расщепления брадикинина под действием мембранных препаратов остается малоизученной. Существует ряд работ, где исследована деградация брадикинина очищенными ферментами. Показано наличие некоторых из них в синаптических мембранах. Очищенная пролиловая эндопептидаза из мембран гидролизует связь Pro<sup>3</sup>-Gly<sup>4</sup> в образовавшемся фрагменте брадикинин-(1—7) [110]. Предполагается также [111] возможность участия в деградации брадикинина другого мембранного фермента — ангиотензинконвертазы.

При действии общей мембранной фракции на брадикинин в качестве основных участков гидролиза были идентифицированы связи  $\text{Phe}^5\text{-Ser}^6$  и  $\text{Pro}^7\text{-Phe}^8$  [107] (схема 3). Образующиеся фрагменты подвергаются дальнейшему расщеплению до свободных аминокислот и дипептидов.

### Ангиотензины

Установлено, что ангиотензин II может образоваться из ангиотензина I под действием синаптических мембран путем отщепления С-концевого дипептида  $\text{His-Leu}$  [112] (схема 3). Образующийся ангиотензин II проявляет относительную резистентность к протеолитическим ферментам синаптических мембран, но быстро метаболизирует под действием ферментов растворимой фракции. Кроме ангиотензина II мембраносвязанные ферменты генерируют образование трех других минорных фрагментов. Один из них был идентифицирован как пептид ангиотензин-(1-7), а второй — как ангиотензин III (фрагмент ангиотензин-(2-8)) (схема 3). Предполагается, что образование вышеуказанных фрагментов может происходить на уровне как ангиотензина I, так и ангиотензина II. Образование ангиотензина II является хлорзависимым процессом и подавляется EDTA, что характерно для ангиотензинконвертирующего фермента из мозга [113]. Показано, что ангиотензинконвертаза — мембраносвязанный фермент и локализована в нервных окончаниях [114, 115]. Группа авторов при изучении расщепления ангиотензинов под действием мембраносвязанных ферментов установила, что наряду с указанными связями происходит также расщепление связи  $\text{Tyr}^4\text{-Ile}^5$  [116]. Полагают, что образование фрагмента ангиотензин-(2-7) из ангиотензина III — основной путь биологической инактивации пептида.

### Холецистокинин

Установлено, что в процессе образования этого октапептида из предшественника участвует набор ферментов, причем генез холецистокинина-8 сопровождается образованием множества фрагментов, в частности холецистокинина-4, который был идентифицирован в нейрональной ткани [117-119].

Синаптосомная фракция способна расщеплять как сульфатированную, так и немодифицированную форму пептида [120]. Исследования с очищенными синаптосомами из коры мозга и гипоталамуса показали, что несulfатированная форма пептида расщепляется в 3 раза быстрее, чем модифицированная [121]. Как основные метаболиты были идентифицированы фрагменты холецистокинина 1-3 и 4-8, свидетельствующие о том, что первичным сайтом расщепления является связь  $\text{Met}^3\text{-Gly}^4$  [122] (схема 3). В качестве минорных компонентов выявлены фрагменты холецистокинина 2-8, 1-7 и 5-8, что указывает на наличие аминокептидазной и карбоксипептидазной активностей. Расщепление связи  $\text{Met}^3\text{-Gly}^4$  было подтверждено работами других исследователей [123, 124]. Показано, что образующийся фрагмент холецистокинин-(5-8) подвергается дальнейшему гидролизу под действием пурамицинчувствительной аминокептидазы.

В отличие от вышеприведенного было установлено, что ферменты синаптических мембран расщепляют пептид по двум другим связям:  $\text{Asp}^7\text{-Phe}^8\text{-NH}_2$  и  $\text{Gly}^4\text{-Trp}^5$  [125, 126]. Гидролиз первой из указанных связей происходит в 4 раза быстрее второй. Кроме того, в малой степени наблюдается разрыв связи  $\text{Trp}^6\text{-Met}^7$  [125]. Матсас и др. [126] показали, что за расщепление этой связи может быть ответственна эндопептидаза (КФ 3.4.24.11).

### Заключение

Приведенные в обзоре данные позволяют заключить, что биологическая инактивация нейротрансмиттерных и нейромодуляторных пептидов после секреции из нервных окончаний происходит путем их протеолиза на уровне синапсов. Как интактные синаптосомы, так и их плазматические

мембраны содержат ферментативную систему, способную расщеплять множество активных пептидов.

Ферментная система, локализованная на плазматических мембранах синапсом, включает в себя набор ферментов (протеиназ), состоящий как из эндо-, так и из экзопептидаз, причем для большинства пептидов действие экзопептидаз ограничено первичным действием эндопептидаз. Изучение свойств некоторых из этих ферментов (эндопептидазы КФ 3.4.24.11, пролиновой эндопептидазы, ангиотензинпревращающего фермента и др.) показывает, что, как правило, один и тот же фермент может в качестве субстрата использовать ряд нейропептидов. Представляется, что именно комбинация нескольких неспецифических пептидаз обеспечивает эффективный метаболизм нейротрансмиттерных пептидов в ЦНС.

Анализ накопленных результатов позволяет оценивать протеолиз нейроактивных пептидов на уровне мембраны не только как процесс их биологической инактивации, но в некоторых случаях и как фактор, ответственный за генерацию пептидных фрагментов, обладающих физиологическими активностями, отличными от активности родительских пептидов (протеолиз  $\beta$ -эндорфина, окситоцина, вазопрессина, тиролиберина и др.). Несомненно, что в ближайшие годы работы по протеолитическим превращениям нейропептидов на уровне плазматических мембран синапсом (определение связей, подвергающихся первичному гидролизу, выяснение природы и свойств ферментов и ферментных систем, участвующих в расщеплении, путей регуляции активности этих ферментов) будут интенсифицированы, поскольку подобные исследования не только помогают подойти к пониманию механизма действия пептидов, но и намечают подходы к целенаправленному синтезу метаболически стабильных аналогов и разработке эффективных методов их применения в медицине.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fahrenkrug J.* // *Acta neurol. scand.* 1984. V. 69. № 2. P. 312–314.
2. *Snyder S. H., Innis R. B.* // *Ann. Rev. Biochem.* 1979. V. 48. P. 755–782.
3. *Berger H., Fechner K., Albrecht E., Niedrich H.* // *Biochem. Pharmacol.* 1979. V. 28. P. 3173–3180.
4. *Iversen L. L., Jessel T., Kanazava I.* // *Nature.* 1976. V. 246. № 1. P. 81–83.
5. *Koch Y., Baram T., Hazum E., Fridkin M.* // *Endocrin. Res. Commun.* 1977. V. 4. № 5. P. 247–255.
6. *Griffiths E. C., McDermott J. R.* // *Neuroendocrinology.* 1984. V. 39. № 2. P. 573–581.
7. *Littlewood G. M., Iversen L. L., Turner A. J.* // *Neurochem. Int.* 1988. V. 12. № 3. P. 383–388.
8. *Turner A. J.* // *Neurochem. Int.* 1975. V. 7. № 3. P. 385–389.
9. *Burbach P. J. H., De Kloet E. R., Scotman P., De Wied D.* // *J. Biol. Chem.* 1981. V. 256. P. 12463–12469.
10. *Burbach P. J. H., Loeber J. G., Verhoef J., Wiegant V. M., De Kloet E. R., De Wied D.* // *Nature.* 1980. V. 283. № 1. P. 96–97.
11. *Burbach P. J. H., Loeber J. G., Verhoef J., De Kloet E. R.* // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1980. V. 92. № 2. P. 725–732.
12. *Lebouille J. L. M., Hendriks R. W., Burbach P. J. H., De Kloet E. R.* // *Proc. 25th Dutch Federation Meeting. Dutch Foundation. P/Fb. 6.* 1984.
13. *Lebouille J. L. M., Hendriks R. W., Soeter N. M., Burbach P. J. H.* // *J. Neurochem.* 1989. V. 52. № 6. P. 1714–1721.
14. *De Wied D., Van Rec J. M., Greven H. M.* // *Life Sci.* 1980. V. 26. P. 1575–1579.
15. *Burbach P. J. H., De Kloet E. R.* // *Peptides.* 1982. V. 3. P. 451–453.
16. *Dorsa O. M., Majumder L. A., Champan M. B.* // *Peptides.* 1981. V. 2. № 1. P. 74–76.
17. *Verhoef J., Wiegant V. M., De Wied D.* // *Brain Res.* 1982. V. 231. P. 454–460.
18. *Schwartz J. C.* // *Trends Neurosci.* 1984. V. 6. № 1. P. 45–48.
19. *Жерносеков Д., Генгин М., Рева А., Шрам С.* // *Докл. АН УССР. Б.* 1985. Т. 1. № 1. С. 65–67.
20. *Gross G., Civros B., Schwartz J.* // *Biochemistry.* 1985. V. 24. P. 2179–2185.
21. *Hersh L.* // *J. Neurochem.* 1985. V. 44. P. 1427–1435.
22. *McDermott J. R., Smith A. J., Dodd P. R., Hardy J. A., Edwardson J. A.* // *Peptides.* 1983. V. 4. № 1. P. 25–30.
23. *Schnebli H. P., Phillips M. A., Barclay B. K.* // *Biochim. et biophys. acta.* 1979. V. 569. № 1. P. 89–98.
24. *Колеснова Е. Ф., Роганова Т. В., Америк А. Ю., Гинодман Л. М., Антонов В. К.* // *Биоорган. химия.* 1986. Т. 12. № 3. С. 340–348.
25. *Роганова Т. В., Колеснова Е. Ф., Дывак И. А., Шрам С. И., Гинодман Л. М., Антонов В. К.* // *Биоорган. химия.* 1986. Т. 12. № 3. С. 348–356.

26. Hui K. S., Hui M. P. P., Lajtha A. // *J. Neurosci. Res.* 1988. V. 20. № 2. P. 231–240.
27. Gorenstein C., Snyder S. H. // *Proc. Roy. Soc.* 1980. V. 210. № 1. P. 123–132.
28. Hazarto T., Inagaki-Shimamura M., Katayama T., Yamamoto T. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1982. V. 105. № 1. P. 470–475.
29. Inoaka Y., Tamaoki H. // *Biochim. et biophys. acta.* 1987. V. 925. № 1. P. 27–35.
30. Defendini R., Zimmerman E. A., Weare J. A., Alhouce-Geles F., Erdős E. G. // *Regulatory Peptides: From Molecular Biology to Function/Eds Costa E., Trabucchi M. N. Y.:* Raven Press, 1982. P. 271–280.
31. Erdős E. G., Johnson A. L., Boyden N. T. // *Biochem. Pharmacol.* 1978. V. 27. P. 843–848.
32. Malfroy B., Swerts J. P., Guyon A., Roques B. P., Schwartz J. // *Nature.* 1978. V. 276. P. 523–536.
33. Kenny A. J. // *Biomed. et biochim. acta.* 1986. V. 45. № 11–12. P. 1503–1513.
34. Schwartz J., Baume S., Yi C. C., Chaillet P., Marais-Collado H., Costentin J. // *J. Neurol. Trans.* 1983. Suppl. 18. P. 235–243.
35. Young E. A., Walker J. M., Houghten R., Akil H. // *Peptides.* 1987. V. 8. № 4. P. 701–707.
36. Asker G. M., Molineaux Ch., Orlowski M. // *J. Neurochem.* 1987. V. 48. № 1. P. 284–292.
37. Chu T. G., Orlowski M. // *Endocrinology.* 1985. V. 116. № 4. P. 1418–1425.
38. Satoh M., Yokosawa H., Ishii S. // *J. Biochem.* 1988. V. 103. № 3. P. 493–498.
39. De Wied D., Jolles J. // *Physiol. Revs.* 1982. V. 62. P. 977–1059.
40. Wang X. Ch., Burbach P. J. H., Verhoef G. J., De Wied D. // *J. Biol. Chem.* 1983. V. 258. P. 7942–7947.
41. Codd E. E., Burbach P. J. H., Verhoef J. G., Wang X. Ch., Witter A. // *J. Neurochem.* 1983. V. 41. № 1. P. 284–286.
42. Wang X. Ch., Burbach P. J. H., Verhoef J. G. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1983. V. 111. № 1. P. 259–265.
43. Smith A. J., Kaith A. B., Edwardson J. A., Biggins J. A., McDermott J. R. // *Neurosci. Lett.* 1982. V. 30. № 1. P. 133–138.
44. Edwardson J. A., McDermott J. R. // *Brit. Med. Bull.* 1982. V. 38. P. 259–264.
45. Checler F., Vincent J. P., Kitabgi P. // *J. Neurochem.* 1983. V. 41. № 2. P. 375–384.
46. Skitgel R., Enderbrecht S., Johnson A., Erdős E. // *Peptides.* 1984. V. 5. P. 769–776.
47. Checler F., Emson P. C., Vincent J. P., Kitabgi P. // *J. Neurochem.* 1984. V. 43. № 5. P. 1295–1301.
48. Barelli H., Girard F., St-Piere S., Kitabgi P., Vincent J. P., Checler F. // *Neurochem. Int.* 1988. V. 12. № 3. P. 351–359.
49. Checler F., Vincent J. P., Kitabgi P. // *J. Biol. Chem.* 1986. V. 261. № 20. P. 11274–11281.
50. Yoshikawa Sh., Tashiro T., Takahashi K. // *J. Biochem.* 1988. V. 104. № 6. P. 1007–1010.
51. Checler F., Vincent J. P., Kitabgi P. // *Eur. J. Pharmacol.* 1986. V. 126. № 1. P. 239–244.
52. Checler F., Vincent J. P., Kitabgi P. // *J. Neurochem.* 1985. V. 45. № 5. P. 1509–1513.
53. Checler F., Mazella J., Kitabgi P., Vincent J. P. // *J. Neurochem.* 1986. V. 47. № 6. P. 1742–1748.
54. Orlowski M., Michaud C., Chu T. G. // *J. Biochem.* 1983. V. 13. № 1. P. 81–88.
55. Horsthemke B., Hamprecht B., Bauer K. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1983. V. 115. № 2. P. 423–429.
56. McDermott J. R., Virman M., Turner J. A., Kidd A. // *Peptides.* 1986. V. 7. № 1. P. 225–230.
57. Checler F., Vincent J. P., Kitabgi P. // *Pharmacol. and Exp. Ther.* 1983. V. 227. № 3. P. 743–748.
58. Blumberg S., Teichberg V. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1979. V. 90. № 1. P. 347–354.
59. Lee C. M., Aregue A., Iversen L. L. // *Biochem. Pharmacol.* 1979. V. 28. P. 553–556.
60. Arzumanyan A. M., Arutunyan A. A., Akopyan T. N. // *Neurochem. Res.* 1985. V. 10. № 12. P. 1623–1634.
61. Akopyan T. N., Arzumanyan A. M., Arutunyan A. A. // *Abstr. 6th ESN General Meeting, Prague, 1986. P. 237.*
62. Akopyan T. N., Arzumanyan A. M., Arutunyan A. A., Berger H., Oehme P. // *Abstr. Inter. Substance P. Symposium. Irish. J. Med. Sci. Dublin, 1983. V. 152. Suppl. 1. P. 11.*
63. Mentlein R., Struckhoff G. // *J. Neurochem.* 1983. V. 53. № 4. P. 1284–1293.
64. Lee C. M., Sandberg B. E. B., Hanley M. R., Iversen L. L. // *J. Biochem.* 1981. V. 114. № 2. P. 315–327.
65. Maisas R., Fulcher I. S., Kenny A. J., Turner A. J. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1983. V. 80. P. 3111–3115.
66. Endo S. A., Yokosawa H., Ishii Sh. // *J. Biochem.* 1988. V. 104. P. 999–1006.
67. Yokosawa H., Endo S., Ogura Y., Ishii Sh. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1983. V. 116. № 2. P. 735–742.
68. Elkabes S., Fridkin M., Koch Y. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1981. V. 103. № 1. P. 240–248.
69. Elmore M. A., O'Cuinn G. // *Regul. Peptides.* 1989. V. 25. № 3. P. 343–352.
70. O'Connor B., O'Cuinn G. // *Biochem. Soc. Trans.* 1986. V. 14. № 2. P. 456–457.
71. McDermott J. R., Smith A. J., Biggins I., Edwardson J. A., Griffiths E. // *Regul. Peptides.* 1982. V. 3. P. 257–269.

72. Wilk S., Benuck M., Orlowski M., Marks N. // *Neurosci. Lett.* 1979. V. 14. № 1. P. 275-279.
73. Molineaux C. J., Lasdun A., Michaud C., Orlowski M. // *J. Neurochem.* 1988. V. 51. № 2. P. 624-633.
74. Hersthemke B., Knisatschek H., Rivier J., Sandow J., Bauer K. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1981. V. 100. № 2. P. 753-759.
75. Skitgel R., Erdös E. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1985. V. 82. № 4. P. 1025-1030.
76. Emerson C. H., Vogel W., Curre B. L. // *Endocrinology.* 1980. V. 107. P. 443-449.
77. Prasad C., Mori M., Wilber J. F., Pierson W., Pegner J., Yayaraman A. // *Peptides.* 1982. V. 3. P. 591-598.
78. Stone T. W. // *Eur. J. Pharmacol.* 1983. V. 92. № 1. P. 113-118.
79. Hersh L., McKelvy J. F. // *Brain Res.* 1979. V. 168. P. 553-564.
80. Matsui T., Prasad C., Peterkofsky A. // *J. Biol. Chem.* 1979. V. 254. № 7. P. 2439-2445.
81. Greaney A., Phelan J., O'Cuinn G. // *Biochem. Soc. Trans.* 1980. V. 8. P. 423-425.
82. Coggins P. J., McDermott J. R., Snell C. R., Gibson A. M. // *Neuropeptides.* 1987. V. 10. № 2. P. 147-156.
83. Elmore M. A., Smyth M., Griffiths E. C., O'Cuinn G. // *J. Endocrinol.* 1989. V. 121. Suppl. P. 85.
84. O'Connor B., O'Cuinn G. // *Eur. J. Biochem.* 1984. V. 144. P. 271-279.
85. Wilk S., Wilk E. // *Neurochem. Int.* 1989. V. 15. № 1. P. 81-89.
86. Griffiths E. C., McDermott J. R. // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1983. V. 33. № 1. P. 1-25.
87. O'Connor B., O'Cuinn G. // *Anal. Biochem.* 1986. V. 154. № 2. P. 329-335.
88. Griffiths E. C., Baris Ch., Visser T., Kloot-Wijk W. // *Regul. Peptides.* 1985. V. 10. № 1. P. 145-149.
89. Reichlin S. // *New Engl. J. Med.* 1983. V. 309. P. 1459-1501, 1556-1563.
90. Zing H., Petel Y. // *Life Sci.* 1983. V. 33. № 13. P. 1241-1247.
91. Bakhit G., Benoit R., Bloom F. E. // *Nature.* 1983. V. 301. P. 524-526.
92. Benoit R., Ling N., Bakhit G., Morrison J. H., Alford B., Cuillemin R. // *Endocrinology.* 1982. V. 111. P. 2149-2151.
93. Burbach P. J. H., Bohus B., Kovacs G., Van Nispen J. W., Greven H. // *Eur. J. Pharmacol.* 1983. V. 94. № 1. P. 125-131.
94. Gluschkof P., Morel A., Benoit R., Cohen P. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1985. V. 128. № 3. P. 1051-1057.
95. Gomez S., Gluschkof P., Morel A., Cohen P. // *J. Biol. Chem.* 1985. V. 19. P. 10541-10545.
96. Morel A., Gluschkof P., Gomez S., Cohen P. // *Ann. Endocrinol.* 1986. V. 47. № 1. P. 35-39.
97. Nunn J. D., Walker B., Williams C. H. // *Biochem. Soc. Trans.* 1988. V. 16. № 3. P. 405-406.
98. Walter R. // *Psychoneuroendocrinology*/Ed. Natotani N. Kargel. Bassel: Pergamon Press, 1974. P. 285-294.
99. Walter R., Griffiths E., Hooper K. C. // *Brain Res.* 1973. V. 60. P. 499-508.
100. Burbach P. J. H., De Kloet E. R., De Wied D. // *Brain Res.* 1980. V. 202. P. 401-408.
101. Burbach P. J. H., Lebouille J. L. M. // *J. Biol. Chem.* 1983. V. 258. P. 1487-1494.
102. Burbach P. J. H., Scotman P., De Kloet E. R. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1980. V. 97. P. 1005-1010.
103. Burbach P. J. H., Kovacs G. L., De Wied D., Van Nispen J. W., Greven H. // *Science.* 1983. V. 221. P. 1310-1312.
104. Burbach P. J. H., Kovacs G. L., Wang X., De Wied D. // *Biomed. and Clinical Aspects of Neuropeptides.* Acad. Press, 1983. P. 211-222.
105. Burbach P. J. H., Wang X., Van Ittersum K. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1982. V. 108. № 3. P. 1165-1171.
106. Camargo A. C. M., Graf F. C. // *Biochem. Pharmacol.* 1969. V. 18. P. 548-549.
107. Cicilini M. A., Caldo H., Berti J., Camargo A. C. M. // *Biochem. J.* 1977. V. 163. P. 433-439.
108. Martins A. R., Bertin E. A., Berti J. D., Lachat J. J., DelBel E. A. // *Recent Progress on Kinins. Agents and Actions Supplements* Birk-Läuser Verlag, 1982. P. 424-429.
109. Martins A. R., Caldo H., Coelho H. L. L., Moreira A. C., Rodrigues J. A., Greene L. J., Camargo A. C. M. // *J. Neurochem.* 1980. V. 34. № 1. P. 100-107.
110. Wilk S., Orlowski M. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1979. V. 90. № 1. P. 1-6.
111. Dorer F., Ryan J., Stewart J. // *Biochem. J.* 1974. V. 141. P. 915-922.
112. Tonnaer J. A. D. M., Engels G. M. H., Wiegant V. M., Burbach P. J. H., De Yong W., De Wied D. // *Eur. J. Biochem.* 1983. V. 131. № 2. P. 415-421.
113. Benuck M., Marks N. // *J. Neurochem.* 1978. V. 30. P. 1653-1655.
114. Erdös E. G., Skitgel R. // *Biochem. Soc. Trans.* 1985. V. 13. № 1. P. 42-44.
115. Martin P., Printz M., Harnas E., Unger T., Lang R., Ganten G. // *Brain Res.* 1985. V. 334. № 2. P. 315-324.
116. Abhdel R. H., Harding J. W. // *Pharmacol. and Exp. Ther.* 1988. V. 241. № 1. P. 171-177.
117. Rehfeldt J. F., Hansen H. F. // *J. Biol. Chem.* 1986. V. 261. № 13. P. 5832-5840.
118. Reinfelt M. C. // *Neuropeptides.* 1983. V. 3. P. 411-427.
119. Steardo L., Khigh M., Taminga C., Barone P., Kesik A., Chase T. // *J. Neurochem.* 1985. V. 45. № 3. P. 784-790.

120. Deschodt-Lankman M., Bui N. O., Noyer M., Christopher J. // Regul. Peptides. 1981. V. 2. № 1. P. 15-30.
121. McDermott J. R., Smith A. J., Hardy J. A., Dodd P. R., Edwardson J. A. // Regul. Peptides. 1982. V. 3. № 1. P. 77-78.
122. McDermott J. R., Dodd P. R., Edwardson J. A., Hardy J. A., Smith A. J. // Neurochem. Int. 1983. V. 5. № 5. P. 641-647.
123. Durieux C., Charpentier B., Palapret D., Roques B. // Neuropeptides. 1986. V. 7. № 1. P. 1-11.
124. Steardo L., Knight M., Taminga C., Chase T. // Neurosci. Lett. 1985. V. 54. № 2. P. 319-325.
125. Durieux C., Charpentier B., Fellior E., Gracel G., Palapret D., Roques B. // Peptides. 1985. V. 6. № 3. P. 495-501.
126. Matsas R., Turner A. J., Kenny A. // FEBS Lett. 1984. V. 175. № 1. P. 124-128.

Поступила в редакцию  
26.X.1990

После доработки  
28.III.1991

T. N. AKOPYAN, A. M. ARZUMANYAN, A. G. AGHAJANYAN, A. A. ARUTYUNYAN

### SYNAPTOSOMAL DEGRADATION OF NEUROPEPTIDES

*Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences, Republic of Armenia, Yerevan*

Proteolytic conversions of some neuropeptides possessing neurotransmitter and neuromodulator properties were studied on the synaptosomal plasma membrane level. The main goal was to describe the peptide bonds being primarily hydrolysed by membrane peptidases. The analysis of the accumulated data allowed one to make some summarizing conclusions about properties of the enzyme system responsible for the biological inactivation of the peptides in synapsis.