



УДК 577.112.017

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФРАГМЕНТЫ
ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ *in vitro*

© 1997 г. М. М. Филиппова*, А. А. Карелин, В. Т. Иванов

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 27.08.96 г.

Описано более 100 разнообразных пептидных структур, идентифицированных в результате многочисленных работ по изучению продуктов протеолитической обработки белков и препаратов тканей *in vitro*. Для многих из них характерен широкий спектр разнообразных биологических эффектов. На основании литературных данных проводится сравнение биологических свойств протеолитических фрагментов функциональных белков со свойствами некоторых групп эндогенных регуляторных пептидов. Обсуждается возможность моделирования *in vitro* эндогенных процессов протеолитической деградации белков, приводящих к образованию биологически активных молекул.

Ключевые слова: функциональные белки, протеолиз, пептидные фрагменты, биологическая активность.

Исследования регуляторных процессов в организме высших животных доказали, что одной из наиболее значимых систем эндогенной регуляции является пептидергическая, т.е. связанная с реализацией биологической активности пептидных молекул. Эти вещества опосредуют передачу сигнала в целом ряде регуляторных систем – нервной, эндокринной и параэндокринной, иммунной и т.д.

На сегодняшний момент выделено более 1000 пептидных молекул, для которых показана или постулирована биологическая активность различного характера. Как правило, эндогенные пептидные биорегуляторы – это вещества, имеющие специфический и, как предполагается, неактивный белок-предшественник, из которого путем процессинга, обычно катализируемого трипсиноподобными ферментами, высщепляются биологически активные пептидные молекулы [1–4]. Далее эти соединения секретируются во внеклеточное пространство (или в синаптическую щель), причем механизм секреции также является специфическим процессом, чаще всего Ca^{2+} -зависимым [5, 6]. Секретированные пептиды взаимодействуют со специфическими рецепторными молекулами, локализованными на клеточной мембране и осущест-

вляющими передачу сигнала внутрь клетки. Таким образом реализуется биологическая активность подавляющего большинства гормонов, паргормонов и нейротрансмиттеров пептидной природы, которые можно определить как “классические” пептидные биорегуляторы [1–4, 7–15].

Вместе с тем достаточно давно известно, что при протеолитической обработке различных белков и тканей образуются вещества, проявляющие биологическую активность в различных тест-системах. Первые работы в этой области относятся к 1941 г., когда было показано, что при обработке белков плазмы пепсином образуются вещества, обладающие способностью индуцировать выброс гистамина из тучных клеток [16]. Тогда этот феномен не получил объяснения в связи с несовершенством технической базы исследований.

В настоящее время показано, что появление биологически активных соединений при ферментативной обработке препаратов биологического происхождения (как белков, так и тканей) связано с образованием веществ пептидной природы. Таких пептидов идентифицировано несколько меньше, чем известных эндогенных пептидных биорегуляторов, но их список уже приближается к 300 и продолжает стремительно расти (табл. 1).

Данные пептиды представлены фрагментами таких белков, как гемоглобин [17–19], казеины [20–27], основной белок миеллина [28–30], глютен [31–33], сывороточный альбумин [34–47], лактоферрин [48–51] и некоторые другие [52–65].

Имеющиеся в литературе данные указывают на потенциальную способность многих функцио-

Сокращения: DHM – дигидроморфин; DAGO – [D-Ala², MePhe⁴, глицинол⁵]энкефалин; DALAMID – [D-Ala², тирозил-3,5-H]энкефалин-(5-L-метионинамид); DADLE – [D-Ala², D-Leu⁵]энкефалин; 3-PPP – 3-(3-гидроксифенил)-N-(1-пропил)пиперидин; ENC – этилкетотциклозоцин; ACE – ангиотензин-I-конвертаза (КФ 3.4.15.1); PEP – пролинэндопептидаза (КФ 3.4.13.9); AC – аденилатциклаза (КФ 4.6.1.1).

*Автор для переписки.

Таблица 1. Пептидные фрагменты функциональных белков, полученные в результате ферментативного гидролиза *in vitro*

Номер пептида	Название	Структура	Протеиназа	Литература
Гемоглобин крупного рогатого скота				
(1)	Геморфин-4	YPWT	Катепсин + пепсин	66, 67
(2)	-5	YPWTQ	То же	66, 67
(3)	VV-геморфин-7*	VVYPWTQRF	Пепсин	18, 68*, 69*
(4)	LVV-геморфин-7*	LVVYPWTQRF	»	18, 68-71*
(5)		LANVST	»	19
(6)		ASHLPSEDFTPAVHASL	»	72
Глютен пшеницы				
(7)	Глютен-экзорфин А4	GYYP	Пепсин + трипсин + + химотрипсин + термолизин	31, 33
(8)	А5	GYYPТ	То же	31, 33
(9)	В4	YGGT	»	31, 33
(10)	В5	YGGTL	»	31, 33
(11)	С	YPISL	»	32, 33
α-Лактоальбумин человека				
(12)	α-Лакторфин	YGLF	Пепсин	52, 53
Имуноглобулин G человека				
(13)		GPSVFPLAPSSK	Трипсин	57
(14)		SLTCLVKGFYPSDI	»	57
(15)		TKP	Набор неспецифических протеиназ	59
Цитохром b крупного рогатого скота				
(16)	Цитохрофин-4	VPFT	Катепсин + пепсин	67, 73
(17)	-5	VPFTI	То же	67, 73
β-Лактоглобулин крупного рогатого скота				
(18)	β-Лакторфин	YLLF	Пепсин + трипсин	52, 53
(19)	Лактотензин	HIRL	Химотрипсин	21, 54
Лактоферрин человека				
(20)	Лактоферроксин А	YLGSGY-OMe	Пепсин	48
(21)	В	RYYGY-OMe	»	48
(22)	С	KYLG PQY-OMe	»	48
(23)	Лактоферрицин В	VSQPEATKCFQWQRNMRKVRGP- PVSCIKRDSPIQCI (цепь А) GRRRRSVQWCA (цепь В)	»	51
(24)	Н	FKCRRWQWRMKKLGAP SITCVRRAF	»	51
Фибрин(оген) человека				
(25)	Пептид 6D	SQLQKVPPEWK	Плазмин	62
(26)	6А	ARPAK	»	62
(27)	6Е	TSEVK	»	62
(28)		ARGHRPLDKKRIEEAPSLRPAIP- PISGGGYRA	Эластаза	63
(29)		RPAPPISGGGYKA	»	63
Глицинин сои				
(30)		HCQRPR	Трипсин	61

Таблица 1. (Продолжение)

Номер пептида	Название	Структура	Протеиназа	Литература
Сывороточный альбумин крысы				
(31)	Ксенопсин-1(XP-1) ^{3*}	FHPKRPWIL	Пепсин	74, 75
(32)	-2(XP-2) ^{3*}	HPKRPWIL	»	74, 75
(33)	NRP ^{3*}	VARRHPYFL	»	76
(34)	r-HRP-1	VARRHPYF	Пепсин + ренин + + катепсин D	77
(35)		GEYGFQ	Пепсин	40, 44
Сывороточный альбумин собаки				
(36)	NRP ^{3*}	VARRHPYFL	Пепсин	76
(37)	Кинетензин ^{3*}	IARRHPYFL	»	78
(38)	HRP-1*	IARRHPYF	Пепсин + ренин + + катепсин D	77, 79*
Сывороточный альбумин кролика				
(39)		A(I, L)SAAQER	Трипсин	35
(40)		TPVSEK	»	35
(41)		LVEGSSK	»	35
Сывороточный альбумин человека				
(42)	Альбутензин А ^{4*}	AFKAWAVAR	Трипсин	38
(43)	NRP ^{3*}	VARRHPYFL	Пепсин	76
(44)	Кинетензин ^{3*}	IARRHPYFL	»	78
(45)	HRP-1*	IARRHPYF	Пепсин + ренин + + катепсин D	77, 79*
(46)		VRYTKKVPQVSTPTL	Пепсин	80
Сывороточный альбумин свиньи				
(47)	Альбутензин А ^{4*}	AFKAWSLAR	Трипсин	38
Сывороточный альбумин крупного рогатого скота				
(48)	Серорфин	YGFQNA	Пепсин	39
(49)	Альбутензин А ^{4*}	ALKAWSVAR	Трипсин	37, 38
(50)	А'	AWSVAR	»	37
(51)	С	RHPEYAVSVLLR	»	37
(52)	С'	HPEYAVSVLLR	»	37
(53)	NRP ^{3*}	VARRHPYFL	Пепсин	76
(54)	Кинетензин ^{3*}	IARRHPYFL	»	78
(55)	HRP-1*	IARRHPYF	Пепсин + ренин + + катепсин D	77, 79*
(56)	-2	YEIARRHPYF	То же	81
(57)	Инсулинстимулирующий пептид	LKPDNPTLCDEFKADKKFWGKYLY(I)- AR (цепь А) RHPYFYAPELLYYANKYNGVFQECQA- EDKGACLLPK(I, E, T)MR (цепь В)	Трипсин	36
(58)		GEYGFQ	Пепсин	40, 44
(59)		EKLGEYGFQ	»	40
(60)		YFL	»	40
(61)		VESSK	Трипсин	34
(62)		TPVSEK	»	35
(63)		IETMR	»	35

Таблица 1. (Продолжение)

Номер пептида	Название	Структура	Протеиназа	Литература
Сывороточный альбумин индейки				
(64)	Ксенопсин-1(ХР-1) ^{3*}	FHPKRPWIL	Пепсин	74, 75
(65)	-2(ХР-2) ^{3*}	HPKRPWIL	»	74, 75
Овальбумин				
(66)	Овокинин	FRADHPFL	Пепсин	64
α_{s1} -Казеин крупного рогатого скота				
(67)	α -Казеин-экзорфин-(90-95)	RYLGL	Пепсин	20
(68)	-(90-96)	RYLGLE	»	20
(69)		FFVAPFPEVFGK	Трипсин	82
(70)		FFVAP	Набор неспецифических протеиназ	83
(71)		TTMPLW	Трипсин	84
(72)		AYFYPE	Протеиназа <i>Lactobacillus helveticus</i> CP 790	26
(73)		QTQYTDAPSFPSDIGSENEKTTMPLW	То же	26
(74)		AYPS	»	26
(75)		RPKHPI	»	26
(76)		RPKHPIKHQ	»	26
(77)		FVAPFPQV	»	26
(78)		GAWYYVPL	»	26
(79)		QLDAYPSGAWYYVP	»	26
(80)		GSENSEK	»	26
(81)		GSEN	»	26
(82)		YLGYLEQLLR	Трипсин	85
α_{s1} -Казеин человека				
(83)	Казоксин D	YVPFPPF	Пепсин + химотрипсин	21
β -Казеин человека				
(84)	h-Казоморфин-5	YPFVE	Набор неспецифических протеиназ	23
(85)	-8*	YPFVEPIP	То же	86-90
(86)	-9	YPFVEPIPY	Термолизин + лейцин-аминопептидаза	27
(87)	-4-9	VEPIPY	Трипсин	91
(88)		GLF	»	92
β -Казеин крупного рогатого скота				
(89)	Казоморфин-5	YPPFG	Пепсин + катепсин	23
(90)	-7 ^{2*}	YPPFGPI	То же	23, 62 ^{2*}
(91)	Проказоморфин-9	VYPPFGPIHN	Термолизин	27
(92)		LLY	Трипсин	92
(93)		AVPYQR	Набор неспецифических протеиназ	83
(94)		RGPFPIIV	То же	81
(95)		GPFPIIV	Трипсин	93
(96)		KYPQPFTESQSLTL	Протеиназа <i>Lactobacillus helveticus</i> CP 790	26
(97)		SKVLPVPE	То же	26
(98)		PPQSVLSLLSQSKVLPVPE	»	26

Таблица 1. (Окончание)

Номер пептида	Название	Структура	Протеиназа	Литература
β-Казеин крупного рогатого скота				
(99)		RDMPIQAF	Протеиназа <i>Lactobacillus helveticus</i> CP 790	26
(100)		LLYQQPVLGPVRGPFPIIV	То же	26
(101)		YQQPVLGPVRGPFPIIV	»	26
(102)		KAVPYPQ	»	26
(103)		AVPYPQ	»	26
(104)		QSLTL	»	26
(105)		HKEMPFKYPVQPF	»	26
(106)		GPVRGPF	»	26
(107)		DELQDKIHFAQTQSLVYFPFGPIPN	»	26
(108)		LPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSK	»	26
(109)		LSSSEESITRINKKIEKFQSEEQQQTEDEL-QDKIHFAQTQSLVYFPFGPIPN	»	26
(110)		LSSSEESITRINKKIEKFQSEEQQQTEDEL-QDKIHFAQTQSLVYFPFGPIPNPLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSK	»	26
κ-Казеин крупного рогатого скота				
(111)	Казоксин А	YPSYGLNY	Пелсин + трипсин	21
(112)	С	YIPIQYVLSR	Трипсин	21
(113)	6	SRYPY-OMe	Пелсин	21
Основной белок миеллина крупного рогатого скота				
(114)		SKYLASASTMDHAR	Трипсин	28
(115)		DTGILDSLGRFFGSDR	»	29
(116)		GHDAQGTLKIFKLGGRDSR	»	28
(117)		GRGLSLSRFSWGAEGQKPGFGYGGR	»	28
(118)		GLSLSRFSWGAEGQKPGFGYGGR	»	28
(119)		AQHGRPQDENPVVHFFKNIVTPR	»	29
(120)		AcAAQKRPSQRSKYLASASTMDHARHGFLPRHRDTGIL	Катепсин D	94
(121)		AcAAQKRPSQRSKYLASASTMDHARHGFLPRHRDTGILDSLGRF	»	94
(122)		FGSDRGAPKRGSGKDGHHAAART-THYGSLPQKAQHGRPQDENPVVHF	»	94
(123)		FGSDRGAPKRGSGKDGHHAAART-THYGSLPQKAQHGRPQDENPVVHF	»	94
(124)		FGSDRGAPKRGSGKDGHHAAART-THYGSLPQKAQHGRPQDENPVVHFFKN	»	94
Основной белок миеллина морской свинки				
(125)		AcAAQKRPSQRSKYLASASTMDHARHGFLPRHRD	Протеиназа V8	30
(126)		AcAAQKRPSQRSKYLASASTMDHARHGFLPRHRDTGILD	»	30
(127)		FKNIVTPRTPPPSQGKGRGLSLSRFSWGAE	»	30
(128)		GQKPGFGYGGRASDYKSAHKGLKGH-DAQGTLKFKLGGDRSRSGSPMARR	»	30
(129)		GRASDYKSAHKGLKGHDAQGTLKFKLGGDRSRSGSPMARR	»	30

* Идентифицирован эндогенный аналог пептида.

2* Детектирован эндогенный иммунореактивный материал, соответствующий физико-химическим характеристикам пептида.

3* Пептиды с идентичной структурой, выделены из гидролизатов белков разных животных и имеют одинаковые названия.

4* Пептиды с различающейся структурой, выделены из гидролизатов белков разных животных и имеют одинаковые названия.

нальных белков продуцировать при определенных условиях протеолитического расщепления набор биологически активных фрагментов.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ, ОБРАЗУЕМЫХ *in vitro*

Исторически сложилось так, что работы по выделению и структурно-функциональному исследованию протеолитических фрагментов функциональных белков проводят по схеме "от активности к структуре". Это подразумевает выбор скрининговой тест-системы, регистрирующей параметры заданной биологической активности, и последующее многостадийное фракционирование исходного материала с постоянным контролем обогащения активным компонентом получаемых фракций на каждом этапе разделения. Цель считается достигнутой, если удается выделить индивидуальный продукт, демонстрирующий значимую активность в выбранной системе тестирования. В то же время вопрос о том, насколько использованная тест-система адекватно отражает биологические процессы в организме, как правило, не поднимается.

При оценке биологической значимости продуктов протеолитической деградации *in vitro* функциональных белков необходимо различать понятия "биологические свойства" или "активность" и "биологическая функция", которые во многих случаях определяются недостаточно четко.

Под понятием "биологическая активность" какого-либо вещества обычно подразумевается, что в произвольно выбранной тест-системе регистрируемые показатели, характеризующие поведение этой биологической системы *in vivo* или *in vitro* в присутствии исследуемого вещества, достоверно отличаются от соответствующих показателей контрольного эксперимента.

В общем случае наличие у какого-либо вещества активности в одной или нескольких тест-системах еще не свидетельствует о наличии или отсутствии у него биологической функции *in vivo*. Яркими примерами биологически активных веществ, не имеющих эндогенных функций, являются алкалоиды, экзотоксины или химические лекарственные препараты. О наличии биологической функции у вещества в организме можно судить только по совокупности его свойств, включающей реальный уровень его содержания *in vivo* и существование рецепторной мишени. Это положение в максимальной степени относится к продуктам протеолиза *in vitro* препаратов биологического происхождения.

Исходя из вышесказанного представляется целесообразным при анализе работ по исследованию биологически активных пептидных фраг-

ментов, получаемых при протеолизе белков *in vitro*, прежде всего рассмотреть набор тест-систем, используемых для характеристики активности пептидов.

Большинство работ по изучению биологической активности фрагментов протеолитической деградации *in vitro* функциональных белков сводится к одному из пяти основных направлений.

1. Изучение молекулярных основ действия пептидов, т.е. определение их рецепторных мишеней [18, 20, 23, 31–33, 38–40, 48, 53, 64, 74, 78, 95, 96].

2. Действие на препараты гладкой мускулатуры [17–19, 21–25, 31–35, 37–40, 45, 46, 48, 52–54], стенок сосудов [21, 64, 65] и семявыводящих протоков [20, 39, 48].

3. Действие на ферментативные системы *in vitro* [19–21, 26, 27, 34, 35, 40, 45, 46, 70, 82–84, 97–101].

4. Действие на культуры клеток, прежде всего иммунокомпетентных [38, 60, 61, 91, 92, 102–104].

5. Исследование поведенческих и физиологических эффектов *in vivo* [23, 64, 69, 73–79, 81, 85, 93, 105–108].

Как видно из изложенного, фрагменты функциональных белков, образующиеся в результате ферментативной обработки *in vitro*, исследовались в довольно ограниченном круге биологических моделей. Тем не менее эффекты, детектируемые в этих тест-системах, присущи практически всем группам эндогенных пептидных биорегуляторов.

Рецепторные мишени продуктов протеолиза *in vitro* функциональных белков

Наиболее важны и интересны при изучении молекулярных основ действия биологически активных фрагментов функциональных белков исследования по выявлению их возможных рецепторных мишеней.

Основная часть таких работ посвящена исследованию взаимодействия протеолитических фрагментов таких функциональных белков, как казеины, лактоферрин, гемоглобин, основной белок пшеницы глютен и др., с опийными рецепторами. Известно, что опийная рецепторная система весьма гетерогенна, т.е. характеризуется наличием множества охарактеризованных подтипов рецепторов (μ , δ , σ , κ и некоторые другие, менее изученные). Для некоторых протеолитических фрагментов использование набора селективных лигандов позволило охарактеризовать их специфичность по отношению к различным подтипам опийных рецепторов (табл. 2).

Анализ данных литературы показывает, что продукты протеолиза по сродству к опийным рецепторам, как правило, значительно уступают эндогенным опиоидным пептидам. В частности,

Таблица 2. Константы ингибирования связывания тритированных лигандов опиатных рецепторов фрагментами функциональных белков

Лиганд*	Константа ингибирования связывания опиоидных лигандов с рецепторами (мкМ)							Литература
	μ		δ	μ и δ	κ	σ	Налоксон	
	DAGO	DHM	DADLE	DALAMID	ENC	3-PPP		
[Leu]энкефалин	0.037	–	0.003	0.00087	–	–	–	31–33
Морфин	–	–	–	–	–	–	0.023	53
(3) VV-геморфин-7-(31–40)	–	–	–	–	–	–	15.2	18
(4) LVV-геморфин-7-(32–40)	–	–	–	–	–	–	30.7	18
(7) Глутен-экзорфин А4	>1000	–	3.8	–	–	–	–	31, 33
(8) А5	700	–	1.5	–	–	–	–	31, 33
(9) В4	0.17	–	0.18	–	–	–	–	31, 33
(10) В5	0.045	–	0.005	–	–	–	–	31, 33
(11) С	110	–	30	–	–	–	–	32, 33
(12) α-Лакторфин	–	–	–	–	–	–	67.0	52, 53
(18) β-Лакторфин	–	–	–	–	–	–	38.0	52, 53
(20) Лактоферроксин А	23.5	–	18.2	–	100	–	–	48
(21) В	6.2	–	11.1	–	28.6	–	–	48
(22) С	19.3	–	45	–	>500	–	–	48
(48) Серорфин	3.5	–	0.78	–	–	–	–	39
(60) Туг-Phe-Leu	–	–	–	–	–	–	700	40
(67) α-Казеин-экзорфин-(90–95)	–	1.2	–	0.7	–	–	–	20
(85) β-Казоморфин-8	5.3	–	–	–	–	>1000	–	109
(68) α-Казеин-экзорфин-(90–96)	–	12	–	3.6	–	–	–	20
(89) β-Казоморфин-5	8.9	–	–	–	–	360	–	23
(90) -7	–	–	–	–	–	–	14.0	23

* Нумерация пептидов дается в соответствии с табл. 1.

для μ-опиатного рецептора константы ингибирования связывания радиоактивного лиганда DAGO серорфином (48) [39], лактоферроксином А (20) [48] и [Leu]энкефалином [33] составляют 3500, 23500 и 37 нМ соответственно. Тем не менее следует отметить, что фрагмент глютена – глютен-экзорфин В5 (10) – ингибирует связывание лиганда δ-опиатного рецептора DADLE с эффективностью, близкой к таковой для [Leu]энкефалина, – 5 и 3 нМ соответственно [31, 33].

Значительный интерес представляют результаты изучения взаимодействия с опиатными рецепторами некоторых протеолитических фрагментов, эндогенные аналоги которых были обнаружены в организме животных и человека. Так, для фрагментов гемоглобина VV-геморфина-7 (3) и LVV-геморфина-7 (4) константы ингибирования связывания неспецифического антагониста опиатных рецепторов налоксона составляет 15.2 и 30.7 нМ [18, 53]. Тем не менее, несмотря на то что эти величины в 1000 раз меньше константы связывания самого налоксона, высокое содержание эндогенных фрагментов гемоглобина в тканях (для головного мозга крупного рогатого ско-

та до 3 нмоль/г) делает возможным реализацию опиоидных эффектов этих пептидов.

Опиатные рецепторы – не единственная мишень действия пептидных продуктов, получаемых при протеолизе *in vitro*. К сожалению, данные о взаимодействии таких пептидов с другими рецепторными системами носят разрозненный характер.

Исключение составляют нейротензинподобные пептиды, получаемые при протеолитической обработке ряда тканей животных, часть из которых с высокой эффективностью взаимодействует с рецепторами нейротензина [74, 78, 95].

Для кинетенинов (37), (44) и (54) и пептидов NRP (33), (36) и (53), выделенных из пепсиновых гидролизатов плазмы крови млекопитающих, сродство к нейротензиновым рецепторам несколько ниже, чем у нейротензина (IC₅₀ для нейротензина составляет 3–4 нМ, а для кинетенинов – 100–150 нМ) [7]. В то же время, по данным радиолигандного анализа, проведенного на препаратах мембран мозга свиньи с использованием [¹²⁵I]нейротензина, пептиды ХР-1 (31) и (64) и ХР-2 (32), (65) имеют такое же сродство к рецепторам, как

нейротензин (величина IC_{50} для ХР-1 составила 1, для ХР-2 – 0.5, а для нейротензина – 0.3 нМ) [74].

Среди последних работ следует отметить сообщение о том, что альбутензины А (42), (47) и (49) обладают сродством к бомбезиновому рецептору [38], а фрагмент овальбумина – овокинин (66) и фрагмент казеина – казоксин D (83), ранее известный как антагонист опиатного рецептора, обладают сродством к брадикининовому V_1 -рецептору [64, 110].

Большая степень гетерогенности пептидных рецепторов препятствует однозначному заключению, могут ли протеолитические фрагменты функциональных белков иметь собственные рецепторы или они взаимодействуют с рецепторами эндогенных пептидных биорегуляторов [33, 111–113]. На основании вышеперечисленных результатов логичнее предположить, что основная часть биологически активных фрагментов функциональных белков имеет своей мишенью рецепторы известных регуляторных пептидов.

Действие пептидов, получаемых протеолитической деградацией белков *in vitro*, на препараты гладкой мускулатуры

Одним из наиболее распространенных подходов к изучению биологической активности пептидов является исследование их воздействия на различные препараты гладкой мускулатуры млекопитающих. Для большинства известных эндогенных пептидных биорегуляторов многочисленные исследования подобной активности проводились с использованием разнообразных мышечных препаратов; в случае изучения продуктов протеолиза функциональных белков *in vitro*, как правило, использовались препараты подвздошной кишки (ileum) [17–19, 21–25, 31–35, 37–40, 45, 46, 48, 52–54], стенок сосудов [21, 64, 65] и семявыводящих протоков (vas deferens) [20, 39, 48].

Классическим тестом, с помощью которого обычно в первую очередь изучается действие пептидов на гладкую мускулатуру, является определение активности веществ по отношению к изолированным препаратам подвздошной кишки морской свинки (GPI). Практически все биологически активные продукты протеолиза функциональных белков *in vitro* (белки молока (α -, β - и κ -казеины [21–25], α -лактоальбумин [52, 53], β -лактоглобулин [52–54], лактоферрин [48]), гемоглобин [17, 18]) демонстрируют наличие активности в этой тест-системе [31–33, 39, 40], но, как правило, как по действующим концентрациям, так и по направленности вызываемых эффектов уступают эндогенным пептидным биорегуляторам на 1–2 порядка.

Фрагменты β -казеинов человека (84)–(86) и быка (89)–(91) [23–25], бычьего гемоглобина (3) и

(4) [17, 18], α -лактоальбумина (12) [52, 53], альбумина (48) [39, 40] и глютена пшеницы (7)–(11) [48], действуя в различных концентрациях, обладают сходной активностью, ингибируя электрически вызванное сокращение отрезка подвздошной кишки морской свинки. Поскольку действие перечисленных пептидов на препарат гладкой мускулатуры – налоксонзависимо, можно предположить, что оно опосредовано опиатными рецепторами.

Фрагмент бычьего β -лактоглобулина – β -лакторфин (18) [52, 53], фрагменты α - и β -казеинов – казоксины (83) и (111)–(113) [21, 22] и фрагменты лактоферрина – лактоферроксины (20)–(22) [48] в этой тест-системе проявляют действие, противоположное вышеописанному, вызывая сокращение мускулатуры, ингибируемое агонистами опиатных рецепторов, из чего можно предположить, что они обладают антагонистическим действием по отношению к опиатным рецепторам.

Помимо этого все перечисленные выше группы пептидов (за исключением β -лакторфина, который в этом тесте не исследовался), а также фрагменты сывороточного альбумина – альбутензины (49)–(52) [37, 38] и фрагмент β -лактоглобулина – лактотензин (19) [54] обладают сократительной активностью на нестимулированных препаратах гладкой мускулатуры кишечника [21, 48].

Представители семейства альбутенинов – альбутензины А (42), (47) и (49), казоксины С (112) и D (83), фрагмент овальбумина – овокинин (66), а также фрагменты фибриногена (25)–(29) активны в тесте с препаратами стенок артерий [21, 62–65]. Интересно, что если казоксин С проявляет при этом сократительную активность, то казоксин D, альбутензин А и овокинин вызывают расслабляющий эффект [21, 64].

Фрагменты α -казеина быка – α -казеин-эксорфины (67) и (68), лактоферроксины (20)–(22) и фрагмент бычьего сывороточного альбумина – серорфин (48) ингибируют сокращение стимулированных препаратов семявыводящих протоков мышцы; лактоферроксины проявили аналогичную активность на семявыводящих протоках кролика [40, 39, 48]. Для эксорфинов и серорфина показано налоксонзависимое ингибирование сокращения [20, 39], а для лактоферроксинов удалось более детально охарактеризовать активность пептидов, как реализуемую через μ -, δ - и σ -подтипы опиатных рецепторов [48].

Фрагменты бычьего и кроличьего сывороточного альбумина (61)–(63) и (40)–(41) соответственно, а также фрагмент 129–134 α -цепи гемоглобина (5) вызывают усиление сократительной активности брадикинина по отношению к нестимулированной гладкой мускулатуре кишечника [19, 34, 35, 45, 46]. Механизм действия этих пептидов, как предполагается, связан с ингибировани-

ем ферментов ангиотензин-ренинового комплекса (см. ниже).

Из представленных результатов видно, что значительная часть исследованных продуктов протеолитического расщепления функциональных белков *in vitro* воздействует на препараты гладкой мускулатуры, что, несомненно, сближает их с эндогенными пептидными биорегуляторами (табл. 3).

Действие пептидных продуктов протеолиза белков на ферментативные системы *in vitro*

Известно, что эндогенные биологически активные пептиды участвуют в регуляции различных ферментативных систем, будучи субстратами или ингибиторами ферментов, поэтому для изучения механизмов действия того или иного вещества используют модели фермент-субстратного взаимодействия *in vitro*. Как правило, направленность действия подобных соединений подтверждается наличием активности в других тест-системах. Часто в качестве подобного сопутствующего теста выступает исследование воздействия пептидов на препараты гладкой мускулатуры (см. выше).

Наибольшее число публикаций в этой области посвящено изучению влияния продуктов протеолитической деградации функциональных белков на ангиотензин-рениновый комплекс [19, 21, 26, 27, 34, 35, 45, 46, 82–84, 97, 98]. В основе большинства подобных исследований стоит задача поиска потенциальных сердечно-сосудистых препаратов, действие которых связано с ингибированием ангиотензин-I-конвертазы и повышением, таким образом, уровня содержания брадикинина в организме, приводящим, в свою очередь, к снижению кровяного давления, т.е. к гипотензивному эффекту.

Было показано, что фрагменты различных функциональных белков (альбумина, казеинов, гемоглобина) действуют как ингибиторы этого фермента [21, 26, 27, 82–84, 97, 98]. Все пептиды, выделенные из лизатов белков с использованием соответствующей скрининговой тест-системы, отнесены к двум близким группам: брадикинин-потенцирующие пептиды [19, 34, 35, 45, 46] и ингибиторы ангиотензин-I-конвертазы [26, 82–84]. Ярким примером такого подхода к поиску веществ с заданной активностью является работа по выделению пептидных ингибиторов ангиотензин-I-конвертазы протеиназой из *Lactobacillus helveticus* CP 790 из продуктов гидролиза α_{s1} - (71)–(81) и β -казеинов (96)–(110) [26].

Результаты рассмотренных выше работ говорят о том, что фрагменты функциональных белков, являющиеся ингибиторами ангиотензин-I-конвертазы, вызывают одинаковый эффект в концентрациях, близких к концентрациям клас-

сических регуляторных пептидов (1–10 мкМ) [21, 26, 27, 82–84, 97, 98].

Интересно, что ингибировать ангиотензин-I-конвертазу могут пептиды, которые проявляют другие типы активности, в частности опиоидную (геморфины (3) и (4), фрагменты сывороточного альбумина – альбутенины А (42), (47) и (49), казоморфины (83), (111) и (112) [21, 27, 97, 98]).

Фрагменты фибриллярных белков и β -казеина, в том числе и казоморфины, ингибируют активность сериновых пептидаз, в частности пролин-эндопептидазы [99–101], а эндогенный фрагмент 31–37 β -цепи бычьего гемоглобина ингибирует энкефалиназу [70].

Для α -казеиновых экзорфинов (67) и (68) и фрагмента бычьего сывороточного альбумина Tyr-Phe-Leu (60) была показана способность ингибировать аденилатциклазную систему в мембранных препаратах гибридных клеток нейробластомы \times глиомы [20, 40].

Анализ результатов вышеперечисленных работ позволяет предположить, что, поскольку воздействие пептидов на ферментативные системы *in vitro* свидетельствует о значительной специфичности исследуемых веществ, сопоставимой с рецепторным связыванием, для эндогенных аналогов этих соединений существует возможность реализации подобных эффектов *in vivo*.

Влияние протеолитических фрагментов функциональных белков на иммунокомпетентные клетки в тестах *in vitro*

Наибольшее число работ в этой области посвящено действию пептидов на различные типы иммунокомпетентных клеток *in vitro* [38, 60, 61, 91, 92, 102–104]. Результаты подобных исследований не всегда поддаются четкой интерпретации в связи с неопределенностью мишеней, на которые действуют пептиды, и большой элюсированностью их действия, однако можно считать доказанным наличие у исследованных соединений иммуноотривной активности.

Было показано, что ряд фрагментов функциональных белков влияет на процессы, происходящие в иммунной системе. Так, фрагменты β -казеина (87) и (90) стимулируют секрецию антител против эритроцитов барана в клетках селезенки мыши и повышают устойчивость к некоторым инфекциям [91]. Большая группа пептидов, включающая в себя представителей альбутенинов (42), (47) и (49), казоморфинов (87) и (90), фрагменты A_{1a} -субъединицы соевого глицинина (30), иммудоглобулина G человека (13), (14), участвует в стимуляции фагоцитоза различных клеток перитонеальными макрофагами [38, 60, 61, 91, 92, 102–104]. Казоморфин-7 (90) также стимулирует пролиферацию лим-

Таблица 3. Биологические эффекты, вызванные продуктами протеолитической деградации функциональных белков *in vitro**

Название**	Активность на гладкомышечных препаратах			Рецепторная мишень	Биологическая активность		Ингибируемый фермент
	GPI	vas def- ence	артерия		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	
(1) Геморфин-4	Релаксация [67]	-	-	-	-	Анальгезия [66]	-
(2) -5	» [67]	-	-	-	-	» [66]	-
(3) VV-геморфин-7	» [18]	-	-	Опиоидная [18]	-	Гипотензивная [97]	АСЕ [97]
(4) LVV-геморфин-7	» [18]	-	-	» [18]	-	» [97]	АСЕ [97]
(7) Глютен-экзорфин А4	» [31]	Релаксация [31]	-	» [31]	-	-	-
(8) А5	» [31]	» [31]	-	» [31]	-	-	-
(9) В4	» [31]	» [31]	-	» [31]	-	-	-
(10) В5	» [31]	» [31]	-	» [31]	-	-	-
(11) С	» [32]	» [32]	-	» [31]	-	-	-
(12) α-Лакторфин	» [52]	-	-	» [52]	-	-	-
(18) β-Лакторфин	Сокращение [52]	-	-	» ^а [52]	-	-	-
(20) Лактоферроксин А	» [48]	Сокращение [48]	-	» ^а [48]	-	-	-
(21) В	» [48]	» [48]	-	» ^а [48]	-	-	-
(22) С	» [48]	» [48]	-	» ^а [48]	-	-	-
(31) ХР-1	» [74]	-	Вазодилатация [74]	Нейротензиновая [74]	Секреция гистамина [74]	-	-
(32) ХР-2	» [74]	-	» [74]	» [74]	» [74]	-	-
(48) Серорфин	Релаксация [39]	Релаксация [39]	-	Опиоидная [39]	-	Гипотензивная [39]	-
(53) NRP	Сокращение [76]	-	Вазодилатация [76]	Нейротензиновая [76]	Секреция гистамина [76]	-	-
(60) Туг-Phe-Leu	Отсутствует [40]	-	-	Опиоидная [40]	-	-	АС [40]
(66) Овокинин	-	-	Вазодилатация [64]	Брадикениновая [64]	-	Гипотензивная [64]	-
(67) Экзорфин (90-95)	-	Релаксация [20]	-	Опиоидная [20]	-	-	АС [20]
(68) (90-96)	-	» [20]	-	» [20]	-	-	АС [20]
(83) Казоксин D	Сокращение [21]	-	Вазодилатация [21]	» ^а [21]	-	Гипотензивная [21]	АСЕ [21]
(85) α-Кавоморфин-8	Релаксация [109]	-	-	» [109]	-	Анальгезия [73]	РЕР [100]
(86) -9	» [27]	Релаксация [27]	-	» [27]	-	Гипотензивная [27]	АСЕ [27], РЕР [100]
(87) -4-9	-	-	-	-	Фагоцитоз [91]	Устойчивость к инфекциям [91]	РЕР [100]

Таблица 3. (Окончание)

Название**	Активность на гладкомышечных препаратах			Рецепторная мишень	Биологическая активность		Ингибируемый фермент
	GPI	vas deference	артерия		in vitro	in vivo	
(89) β-Казоморфин-5	Релаксация [23]	Релаксация [23]	–	Опиоидная [23]	–	Анальгезия [23]	–
(90) -7	» [23]	» [23]	–	» [23]	Фагоцитоз [91], пролиферация PBL [103]	Анальгезия [23], устойчивость к инфекциям [91]	ACE [114]
(91) про-β-Казоморфин-9	» [27]	» [27]	–	» [27]	–	Гипотензивная [27]	ACE [27]
(111) Казоксин А	Сокращение [21]	–	–	» ^a [21]	–	» [21]	ACE [21]
(112) С	» [21]	–	Сокращение [21]	» ^a [21]	–	» [21]	ACE [21]
(113) 6	» [22]	–	–	» ^a [21]	–	–	–

* Прочерк означает отсутствие данных об активности.

** Нумерация пептидов дается в соответствии с табл. 1.

^a Антагонист опиатных рецепторов.

фоцитов, выделенных из периферической крови человека (PBL) [103].

Фрагмент иммуноглобулина IgG₁ (289–291) (15) стимулирует высвобождение интерлейкина-1, секретлируемого макрофагами [102], а фрагмент основного белка миелина 74–96 (119) принимает участие в стимуляции Т-лимфоцитов [29].

Для всех нейротензинподобных веществ (31)–(34), (36)–(38), (44), (53)–(56), (64), (65) показана стимуляция высвобождения гистамина из перитонеальных тучных клеток [74–77].

Наличие у протеолитических фрагментов белков биологических эффектов, описанных в этом разделе, не может служить прямым доказательством реализации ими таких процессов в организме. Тем не менее сравнение свойств исследованных соединений со свойствами некоторых эндогенных пептидных иммунорегуляторов позволяет получить дополнительные аргументы в пользу отнесения соответствующих пептидных продуктов протеолиза к какой-либо из известных групп биологически активных пептидов.

Биологическая активность фрагментов функциональных белков в тест-системах *in vivo*

Традиционными для исследования “классических” пептидных регуляторов являются поведенческие и физиологические тест-системы *in vivo*, которые, за редким исключением, служат для подтверждения наличия у исследуемого вещества связи с определенной пептидергической регулятор-

ной системой [23, 69, 73, 81, 85, 93, 105, 107, 108]. Поскольку к настоящему моменту наиболее интенсивно исследуется биологическая активность протеолитических фрагментов функциональных белков, обладающих опиоидоподобными [17, 18, 20–25, 27, 31–33, 39, 40, 48, 52–54, 73, 98, 107] или нейротензинподобными [74–79, 106] свойствами, чаще других изучается воздействие пептидов на болевую чувствительность организма и уровень кровяного давления.

Для казоморфинов (84) и (90) и геморфинов (1) и (2) проведено изучение центральных эффектов в системе *in vivo*, показывающее наличие у них анальгетического эффекта [23, 73, 107]. Для казоморфина-7 (90) показано также, что при внутривенном введении он вызывает слабый кататонический эффект [73].

При ингибировании ангиотензин-1-конвертазы происходит повышение уровня содержания брадикинина в крови, что приводит к снижению кровяного давления у животных, т.е. к гипотензивному эффекту [21, 26, 27, 82–84, 97, 98]. Этот эффект был показан для фрагмента овальбумина – овокинина (66) [64].

С помощью косвенных методов для кинетенинов (37), (44) и (54) был продемонстрирован эффект высвобождения гистамина *in vivo*. При введении очищенного препарата кинетенина из плазмы лошади или человека крысам в количестве 50–100 нМ на животное подкожно фиксировали аллергические проявления на месте инъекции [76].

К работам по изучению физиологических эффектов, вызываемых фрагментами функциональных белков – казеинов и гемоглобина, можно отнести опыты по определению вкусовых характеристик пептидов, проведенные на добровольцах [81, 85, 93, 105].

За исключением классического теста на налоксонзависимую анальгетическую активность, результаты которого являются одним из главных доказательств опиоидной природы действия изучаемых веществ, все остальные исследования носят фрагментарный характер и могут быть интерпретированы только в контексте более широкого исследования свойств каждого пептида.

ОТНЕСЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ in vitro ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ К ОТДЕЛЬНЫМ ГРУППАМ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ

Одно из основных свойств эндогенных регуляторных пептидов – полифункциональность, т.е. проявление ими активности в широком круге тестов. Отнесение таких веществ к той или иной группе эндогенных биорегуляторов основывается на совокупности опосредуемых ими эффектов, причем определяющим показателем служит наличие у пептидов взаимодействия с соответствующими рецепторными молекулами (табл. 3).

Из результатов исследований биологической активности протеолитических фрагментов функциональных белков следует несколько важных выводов: во-первых, значительная часть этих пептидов обладает биологической активностью; во-вторых, ряд веществ вызывает разнообразные эффекты, что говорит об их полифункциональности; в-третьих, для некоторых пептидов показано специфическое взаимодействие с пептидергическими рецепторами, из чего следует, что биологические эффекты фрагментов протеолитической деградации функциональных белков могут реализовываться через связывание с соответствующими рецепторами или через модуляцию этих рецепторов.

На основании вышесказанного некоторые фрагменты белков с большой долей вероятности могут быть классифицированы как представители известных групп эндогенных пептидных биорегуляторов, в то время как для других такое утверждение требует дополнительных исследований.

Фрагменты функциональных белков, являющиеся лигандами опиатной рецепторной системы

К настоящему моменту довольно широко изучена биологическая активность продуктов протеолитической деградации функциональных бел-

ков, обладающих опиоидоподобными свойствами [17, 18, 20–25, 27, 31–33, 39, 40, 48, 52–54, 73, 98, 107]. В литературе обычно принято различать собственно опиоидные пептиды, к которым относятся “классические” пептидные биорегуляторы (энкефалины, эндорфины, динарфины и т.д.), и опиоидоподобные пептиды, т.е. продукты экзогенного или эндогенного протеолиза функциональных белков (геморфины, цитохрофины, казоморфины и т.д.).

Особую группу веществ, образующихся при протеолитической обработке белков, составляют пептиды, демонстрирующие антагонистические свойства по отношению к опиатной системе.

Основными признаками как для агонистов, так и антагонистов считается их активность в классической триаде тестов, т.е. способность вызывать анальгетический эффект *in vivo*, проявлять миотропный эффект на изолированных препаратах гладкой мускулатуры кишечника, артерий и/или семявыводящих протоков, а также конкуренция со специфическими лигандами за связывание с опиатными рецепторами на препаратах клеточных мембран.

Опиоидоподобные пептиды

К настоящему времени идентифицировано довольно много опиоидоподобных пептидов, образующихся в результате протеолиза функциональных белков. Это прежде всего продукты ферментативного гидролиза белков молока α - и β -казеинов (67), (68), (84)–(87), (89)–(91), α -лактоальбумина (12), а также фрагменты альбуминов (48) и (60), гемоглобина (1)–(4), цитохрома *b* (16) и (17) и основного белка пшеницы глютена (7)–(11) [17, 18, 20–25, 27, 31–33, 39, 40, 48, 52–54, 73, 98, 107]. Большинство этих пептидов объединены в структурно-функциональные группы, имеющие собственные названия (табл. 1 и 2).

Для большинства фрагментов функциональных белков, проявляющих опиоидоподобные свойства, показано сродство к различным типам опиатных рецепторов и/или исследована сократительная активность на препаратах гладкой мускулатуры и анальгетические эффекты *in vivo*. Диапазон концентраций, в которых изучают активность опиоидных пептидов в тест-системах *in vitro*, составляет 10^{-3} – 10^{-9} М. Большая часть опиоидоподобных фрагментов функциональных белков в таких тестах действует в концентрациях 10^{-4} – 10^{-6} М, т.е. их активность на 2–4 порядка ниже, чем у эндогенных опиоидных пептидов.

Наиболее ярко весь концентрационный диапазон проявлений опиоидной активности, присущий фрагментам протеолиза белков, иллюстрируют фрагменты основного белка пшеницы глютена, так называемые глютен-экзорфины (7)–(11), при

взаимодействии с μ -опиатным рецептором (табл. 2). Наименее активен глютен-экзорфин А4 (7), для которого эффективность связывания с μ -опиатным рецептором больше 10^{-3} М. Далее по нарастанию активности располагаются глютен-экзорфин А5 (8), глютен-экзорфин С (11), глютен-экзорфин В4 (9), глютен-экзорфин В5 (10). При этом последний пептид взаимодействует с μ -опиатным рецептором с такой же эффективностью, как и эндогенные опиоидные пептиды (4.5 нМ) [31–33].

Для казоморфинов и геморфинов показано наличие анальгетического эффекта *in vivo*, блокируемого налоксоном [23, 73, 107].

Как уже отмечалось, для большинства природных биорегуляторов характерна полифункциональность, поэтому неудивительно, что проявления биологической активности опиоидных и опиоидоподобных пептидов не ограничиваются только главными характеристическими тестами (налоксонзависимая анальгезия, миотропная активность и взаимодействие с опиатными рецепторами *in vitro*). Результаты исследования иммуотропных свойств пептидов и их воздействия на ряд ферментативных систем показали, что и в этих тестах эффекты опиоидных и опиоидоподобных пептидов в значительной степени сходны (табл. 3).

Для некоторых фрагментов протеолиза были показаны иммунорегуляторные эффекты *in vitro*, например стимуляция фагоцитоза и пролиферации лимфоцитов периферической крови [95, 103]. Подобные свойства присущи энкефалинам и β -эндорфину [115].

Геморфины, казоксины и казоморфины подобно β -эндорфину, энкефалинам и динорфинам ингибируют ангиотензин-1-конвертазу [21, 27, 97, 98, 114, 116, 117].

Подобно энкефалинам [118] α -казеин-экзорфины (67) и (68) и фрагмент бычьего сывороточного альбумина Tug-Phe-Leu (60) обладают также способностью ингибировать аденилатциклазную систему *in vitro* [20, 40].

На основании изложенных выше данных можно сделать вывод, что неспецифическая протеолитическая деградация довольно значительного числа различных белков, весьма различающихся по исходной функции, приводит к образованию фрагментов со спектром биологической активности, практически идентичным таковому у эндогенных пептидных лигандов опиатных рецепторов.

Пептидные антагонисты опиатных рецепторов

Антагонисты в отличие от агонистов при связывании с рецептором блокируют его. Лиганды опиатных рецепторов проявляют различную активность в отношении нестимулированных пре-

паратов гладкой мускулатуры: агонисты – релаксирующую, а антагонисты – контрактильную.

Активность по отношению к опиатным рецепторам, которую можно определить как антагонистическую, проявляли метилэтерифицированные пептиды (20)–(22), выделенные после пепсинного гидролиза лактоферрина (лактоферроксины), фрагменты α - и κ -казеинов (казоксины), а также фрагмент β -лактоглобулина (β -лакторфин) [21, 48, 52, 53] (табл. 2 и 3).

К настоящему времени не идентифицированы эндогенные антагонисты опиатной системы, поэтому проблема возможной эндогенной реализации протеолитических процессов, приводящих к образованию представителей этой группы веществ, представляет значительный интерес.

Фрагменты функциональных белков, обладающие нейротензинподобной активностью

Еще одной достаточно охарактеризованной группой пептидов являются фрагменты функциональных белков, обладающие нейротензинподобными свойствами (табл. 4).

Эндогенные пептиды группы нейротензина локализованы в центральной нервной системе и желудочно-кишечном тракте. Для них характерна способность оказывать воздействие на регуляцию моторики кишечных и сосудистых тканей как *in vitro*, так и *in vivo* [7, 119–124]. Пептиды данной группы обычно обладают контрактильной активностью в отношении гладкой мускулатуры кишечника и дилаторной активностью в отношении препаратов артерий; проявляют иммунореактивность по отношению к антителам на С-концевой участок нейротензина; стимулируют высвобождение гистамина из тучных клеток; вытесняют радиоактивный нейротензин на препаратах мембран мозга крысы [74, 78, 95, 106].

К настоящему времени идентифицировано и выделено несколько нейротензинподобных пептидов, для которых установлена аминокислотная последовательность: кинетенины – (37), (44) и (54) [78]; гистаминподобные пептиды – HRP-1 (34), (38) и (55) и HRP-2 (56) [77]; нейротензинподобные пептиды – NRP (33), (36) и (53) [76]; ксенопсинподобные пептиды – XP-1 (31), (64) и XP-2 (32), (65) [74, 75]. Эти вещества были выделены из тканей желудка и кишечника различных млекопитающих, гидролизованных пищеварительными ферментами, и идентифицированы. Биологическую активность прочих компонентов тканевых гидролизатов исследовали непосредственно на пептидных смесях без установления структуры [76, 106, 125–128].

Для всех нейротензинподобных веществ показано наличие характерных для нейротензина био-

логических активностей: стимуляция высвобождения гистамина из тучных клеток и вытеснение, причем с высокой эффективностью, [¹²⁵I]нейротензина на препаратах мембран мозга крысы [74, 76, 106].

Изучение зависимости секреции гистамина перитонеальными тучными клетками *in vitro* от концентрации пептидов показало, что кинетензины и HRP даже более активны, чем нейротензин. Например, концентрация кинетензина (37), вызывающая секрецию 40% гистамина из клеток, составила 5–10 мМ, тогда как для нейротензина она равна 100 мМ [113]. Кроме того, для кинетензина косвенно показана способность вызывать секрецию гистамина *in vivo* [76].

Соотношение концентраций ХР-2 и нейротензина, вызывающих секрецию 40% гистамина, такое же, как у кинетензина. Активность в этом тесте ксенопсинподобных пептидов несколько выше, чем для самого ксенопсина (соответствующая активная концентрация составляет 10 мМ [75]). Для ХР-2 было показано, что этот пептид в концентрациях порядка 0.01–0.1 пМ вызывает подобно брадикинину увеличение сосудистой проницаемости кожи [75].

Для HRP-1 было продемонстрировано, что при стимуляции перитонеальных тучных клеток крысы происходит секреция этого пептида [77].

Для ксенопсинподобных пептидов было обнаружено их влияние на регуляцию сердечно-сосудистой и желудочно-кишечной систем, влияние на болевую чувствительность и секрецию гистамина, а также повышение сосудистой проницаемости кожи [74].

Несмотря на то что однозначно определить белковый предшественник для большинства нейротензинподобных фрагментов, полученных при протеолитической обработке тканей, не удастся, высокий уровень содержания этих соединений в гидролизатах указывает на их происхождение из функциональных белковых молекул, а факт идентификации некоторых из этих пептидов *in vivo* предполагает возможность эндогенной реализации процессов образования подобных или близких структур.

Альбутензины – лиганды бомбезиновых рецепторов

Предполагалось, что кроме рассмотренных выше пептидов нейротензинподобными свойствами могут обладать фрагменты трипсинолиза альбуминов – альбутензины (47), (42), (49)–(52) и фрагмент β-лактоглобулина – лактотензин (19). Это предположение основывалось на том, что перечисленные пептиды проявляют сходную с нейротензином активность на препаратах гладкой мускулатуры кишечника и артерий [37, 54]. Одна-

Таблица 4. Нейротензинподобные пептиды, гомологичные фрагментам последовательности сывороточного альбумина человека

Название*	Структура	Литература
Нейротензин	pELYENKPRRPYIL	7
(31) Ксенопсин-1 (ХР-1)	FHPKRPWIL	74, 75
(32) -2 (ХР-2)	HPKRPWIL	74, 75
(53) NRP	VARRHPYFL	76
(54) Кинетензин	IARRHPYFL	78
(55) HRP-1	IARRHPYF	77
(56) -2	YEIARRHPYF	77
Альбумин 137–149	YLYEIARRHPYFL	76
329–341	YLYEYSRRHPYF	76
527–539	ALVELLKHKPKAT	76

* Нумерация пептидов дается в соответствии с табл. 1.
pE – пироглутаминовая кислота.

ко результаты, полученные при изучении рецепторных мишеней альбутензинов А (42), (47) и (49), указывают на их сродство к бомбезиновым рецепторам [38].

Пептиды бомбезиновой группы, как и нейротензины, локализованы в центральной нервной системе и желудочно-кишечном тракте. Об этой группе пептидов известно сравнительно немного. Кроме указанных выше эффектов для представителей этой группы показана способность ингибировать ангиотензин-1-конвертазу [21].

Хотя присутствие альбутензинов *in vivo* на сегодняшний момент не показано, высокие концентрации альбумина в плазме крови, обладающей мощным ферментативным потенциалом, позволяют предположить, что существование эндогенных аналогов бомбезиновых пептидов вполне вероятно.

Фрагменты функциональных белков, обладающие кининоподобными свойствами

Достаточно большая группа фрагментов различных функциональных белков, таких, как альбумины (40)–(42), (47), (49), (61)–(63); казеины (69)–(73), (83), (86), (91), (93), (96)–(101), (107), (108), (110)–(112); гемоглобин (3)–(5) и овальбумин (66), в ряде тестов проявляет активность, подобную активности тканевого пептидного гормона кининового ряда – брадикинина [19, 21, 26, 27, 34, 35, 45, 46, 64, 82–84, 97, 98].

Представители этой группы веществ, объединенных названием “брадикининпротенцирующие пептиды”, вызывают селективное усиление сократительной активности, индуцируемое брадикинином, на препаратах гладкой мускулатуры кишечника [19, 34, 35, 45, 46].

Фрагменты различных функциональных белков (альбумина, казеинов, гемоглобина), для которых было показано непосредственное ингибирование ангиотензин-I-конвертазы (71)–(81) и (96)–(110), также проявляют подобно брадикинину сократительную активность на препаратах гладкой мускулатуры в тестах *in vitro* и вызывают гипотензивный эффект *in vivo* [26, 82–84].

Вышеперечисленные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности связи между перечисленными группами продуктов протеолиза функциональных белков и кининовой пептид-ергической системой. Тем не менее для представителей этой группы пептидов не были проведены прямые эксперименты по изучению их взаимодействия с рецепторами брадикинина или других родственных пептидных гормонов, из чего следует, что для однозначного отнесения вышеуказанных веществ к группе кининов требуются дальнейшие исследования. Исключение составляют фрагмент овальбумина – овокинин и фрагмент казеина – казоксин D, ранее известный как антагонист опиатного рецептора, для которых были получены предварительные результаты, указывающие на их сродство к V_1 -рецептору брадикинина [64, 110].

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ *in vitro* и *in vivo*

Суммируя все вышесказанное, можно считать, что ряд фрагментов функциональных белков, полученных в результате протеолиза *in vitro*, демонстрирует биологические эффекты, сопоставимые с активностью лигандов по крайней мере двух пептид-ергических систем: опиатной [17, 18, 20–25, 27, 31–33, 39, 40, 48, 52–54, 73, 98, 107], нейротензиновой [74–78, 106, 125–128], а, по предварительным данным, также бомбезиновой [38] и кининовой [64, 110].

Трудно представить, что совпадение совокупности свойств, характеризующих различные группы эндогенных биорегуляторов, с аналогичными параметрами ряда продуктов протеолиза белков *in vitro* случайно. Естественнее предположить, что, поскольку потенциально активные структуры присутствуют в последовательностях белков, широко представленных в организме и доступных комплексу эндогенных протеолитических ферментов, то при определенных условиях можно ожидать выщепления подобных пептидов *in vivo*. Возникают вопросы: во-первых, в какой степени реализуется этот процесс, а во-вторых, в какой мере полифункциональность фрагментов белков, показанная в модельных тест-системах, соотносится с регуляторными процессами в организме?

Для того чтобы ответить на эти вопросы, необходимо разобраться, в чем же заключается различие между протеолитическими процессами, происходящими *in vitro* и *in vivo*. Рассматривая процесс протеолиза, можно выделить как минимум четыре группы изменяющихся параметров.

1. Суммарная специфичность используемого при протеолизе набора ферментов.

2. Мишень, т.е. структурные особенности объекта (или объектов), на которые направлено действие ферментативного комплекса.

3. Глубина протекания процесса, обусловленная временем протеолиза и соотношением концентраций ферментов и субстратов (белков).

4. Компонентный состав результирующего пептидного набора.

При протеолизе *in vitro* исследователем фиксируются два параметра: направление процесса (выбор фермента) и мишень (белок). Объектом изучения в данном случае являются два параметра, а именно глубина протекания процесса протеолиза и результат процесса, т.е. набор пептидов.

В случае эндогенного протеолиза белков исследователь может судить о происходящих процессах лишь опосредованно, по результирующему пептидному набору, т.е. может лишь констатировать факт наличия того или иного фрагмента в определенной ткани; при этом ничего нельзя сказать о самом процессе расщепления белков-субстратов. Моделирование эндогенного протеолитического процесса путем ферментативной обработки различных тканей является как бы промежуточным вариантом, позволяющим судить именно о возможности протекания конкретного протеолитического процесса в этих тканях.

Продукты протеолитической обработки *in vitro* биологических тканей

При протеолитической обработке *in vitro* биологических тканей фиксируется только один параметр – фермент, что дает возможность определить мишени, на которые в реальных условиях организма преимущественно действует этот фермент, и глубину протекания процесса. Таким образом создается модельная система, максимально приближенная к эндогенным условиям. К настоящему времени подобное моделирование проведено с использованием тканей желудочно-кишечного тракта, плазмы и цельной крови млекопитающих. Продуктами подобной протеолитической обработки тканей действительно являются в основном фрагменты функциональных белков, для некоторых из них подтверждено наличие активности [34, 40, 44–46, 66, 67, 74–78, 106, 119–132].

Так, обработка пепсином препаратов кишечника и плазмы крови млекопитающих приводит к образованию значительных количеств (до 1–5 мкМ)

нейротензин- и энкефалиноподобного иммунореактивного материала пептидной природы, обладающего характерными для этих пептидов биологическими свойствами. Некоторые компоненты этой смеси были выделены в гомогенном виде, охарактеризованы с точки зрения структуры и активности. Первичная структура этих пептидов указывает на их происхождение из функциональных белковых молекул, в частности из сывроточного альбумина [20, 40, 74, 76, 78, 106, 125–128, 131, 132].

Обработка плазмы крови трипсином приводит к образованию коротких пептидов – фрагментов альбумина, обладающих брадикинин- и кининпотенцирующим действием [34, 45, 46].

Пептиды, обладающие опиоидоподобными свойствами (фрагменты гемоглобина, альбумина и цитохрома b), были выделены из катепсин-пепсиновых и пепсиновых препаратов компонентов крови [40, 44, 66, 67, 129, 130] (табл. 1–3).

Правомерность использования ферментативной обработки биологического материала в качестве модели эндогенного протеолитического процесса подтверждается тем фактором, что некоторые из активных продуктов такой обработки были идентифицированы в дальнейшем *in vivo*. Наиболее ярким примером может служить группа опиоидоподобных пептидов – геморфинов [31, 68, 69, 71, 86–88, 133–136].

Эндогенные пептиды – продукты протеолитической деградации функциональных белков

Скрининговые исследования состава низкомолекулярных фракций экстрактов тканей, таких, как препараты головного и костного мозга крупного рогатого скота [69, 137, 138], эритроцитов [139, 140] и мозжечка человека [141, 142], показали, что основная масса пептидных компонентов в анализируемом биологическом материале представлена фрагментами функциональных белков, содержащимися в весьма значительных количествах (до нескольких наномолей на 1 г исходной ткани). Количество таких пептидов составляет от нескольких десятков до 300–400 различных веществ, при этом компонентный состав и уровень содержания отдельных пептидов специфичны для каждого органа.

Свыше 200 идентифицированных эндогенных продуктов протеолитической деградации функциональных белков представлены фрагментами таких белков, как цитохром-с-оксидаза [55, 56, 69], основной белок миелина [69, 70, 94, 102, 143–146], γ -глобулины [57, 58], сывроточный альбумин [77, 79, 147, 148] и некоторые другие [60, 69, 70, 88, 99, 142, 147, 149–154], но основным источником подобных пептидов, несомненно, является

гемоглобин [60, 68, 69, 71, 98, 133–135, 142, 149, 155–168].

Исторически сложилось так, что эндогенные продукты протеолитической деградации функциональных белков с точки зрения потенциальной биологической активности индивидуальных компонентов изучены хуже, чем полученные при протеолизе *in vitro*. Тем не менее для ряда этих веществ показано наличие активности в различных тест-системах.

Так, например, группа опиоидоподобных фрагментов гемоглобина – геморфинов – была выделена из различных источников. Например, из гипофиза человека был выделен LVV-геморфин-6 (фрагмент 32–40 β -цепи гемоглобина человека) [109], из экстрактов гипоталамуса, клеток спинного мозга и субкортекса крупного рогатого скота – фрагмент 31–37 β -цепи гемоглобина, обладающий помимо опиоидной активности способностью ингибировать энкефалиназу [69, 70, 135, 149]; из спинно-мозговой жидкости человека, гипоталамуса и субкортекса крупного рогатого скота выделен LVV-геморфин-7 (фрагмент 31–40 β -цепи гемоглобина человека), обладающий также ACE-ингибирующей и коронаро-констрикторной активностью [69–71, 135, 160].

Фрагменты кислых фибриллярных белков, ингибирующие активность сериновых пептидаз, в частности пролинэндопептидазы, были выделены из мозга крупного рогатого скота [70, 99–101, 149].

Выделение и идентификация эндогенных фрагментов протеолиза функциональных белков в настоящее время идет достаточно интенсивно, равно как и изучение биологических функций этой группы пептидов.

Идентификация эндогенных аналогов фрагментов протеолитической деградации функциональных белков *in vitro*

Сравнение структур пептидов, идентифицированных при ферментативной обработке белков и препаратов тканей *in vitro*, с эндогенными фрагментами протеолитической деградации функциональных белков позволяет оценить, насколько адекватно использование протеолиза *in vitro* для моделирования эндогенных протеолитических процессов.

К настоящему времени из различных источников выделены 4 пептида, которые образуются при протеолитической обработке белков *in vitro*. Это фрагменты гемоглобина (VV-геморфин-7 и LVV-геморфин-7), один из нейротензинподобных пептидов (HRP-1) и β -казоморфин-8 [68–71, 79, 88, 124].

На первый взгляд сравнительно невысокое число совпадающих последовательностей свидетельствует о неправомочности моделирования

эндогенных протеолитических процессов в условиях *in vitro*. Однако при этом необходимо учитывать некоторые различия в подходах к анализу пептидов в каждом из этих случаев.

При анализе веществ, образующихся в результате ферментативной обработки биологического материала *in vitro*, по результатам тестирования, как правило, преследуется цель идентификации и выделения наиболее активного компонента, вне зависимости от уровня содержания этого вещества в суммарном материале. В то же время для продуктов эндогенной протеолитической деградации белков показано образование групп веществ, близких по структуре, все компоненты которых в большей или в меньшей степени проявляют однонаправленную биологическую активность. Поскольку вещество, обладающее максимальной активностью и, следовательно, являющееся основной целью выделения при работах *in vitro*, далеко не всегда присутствует в эндогенном пептидном пуле в значимых количествах, возможность выделения продуктов ферментативной обработки белков *in vitro*, идентичных по структуре эндогенным пептидам, выделенным из экстрактов тканей, крайне низка и выделенные пептиды не полностью соответствует реальному набору веществ, присутствующих в анализируемых смесях [69, 137, 138].

С другой стороны, при выделении эндогенных веществ в процессе тотальных скрининговых работ идентифицируются наиболее доступные вещества, т.е. вещества, уровень содержания которых довольно высок (>10 – 100 пмоль/г ткани). Из этого следует, что потенциально активные пептиды, являющиеся промежуточными продуктами протеолитической деградации белков и, следовательно, содержащиеся в несколько меньших количествах, выпадают из набора анализируемых веществ. Для иллюстрации такой возможности можно обратиться к работам по исследованию содержания нейротензин- и энкефалиноподобного иммунореактивного материала в некоторых тканях. В них было показано присутствие в тканях веществ, взаимодействующих с антителами к пептидам, выделенным ранее из обработанных протеиназами препаратов ткани *in vitro*, и обладающих свойствами, характерными для исходных субстанций. На основании этих данных был сделан вывод о существовании эндогенных аналогов соединений, ранее полученных *in vitro*. Выделение этих веществ в гомогенном состоянии является самостоятельной задачей, не укладывающейся в методы рутинного анализа компонентов основного пептидного комплекса ткани вследствие малого содержания этих веществ в природных источниках [40, 44, 76, 106, 125, 126–128, 131, 132]. Аналогично присутствие эндогенных фрагментов основного белка миелина в различных экстрактах было показано иммунохимическими ме-

тодами, но не подтверждено структурными исследованиями [94, 144, 145].

И наконец, сам факт присутствия *in vivo* даже нескольких продуктов модельного расщепления белковых субстратов свидетельствует о возможности реализации аналогичных или близких протеолитических процессов непосредственно в организме.

Исходя из сказанного выше нам представляется, что моделирование протеолитической деградации белков *in vitro* – достаточно адекватная модель, иллюстрирующая потенциально существующие эндогенные процессы образования биологически активных пептидов, предшественниками которых служат функциональные белки.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПЕПТИДОВ – ПРОДУКТОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕГРАДАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ

Рассмотренный материал позволяет сделать вывод о том, что кроме традиционного представления о пептидной регуляции как о высокоспецифической системе, включающей особый белок-предшественник, специализированные ферменты и узлокализированные участки секреции, возможно существование и иного пути пептидергической регуляции.

Такой способ регуляции физиологических процессов в организме связан с изменением общего уровня протеолитической активности и осуществляется колебаниями содержания продуктов этих ферментативных реакций в различных тканях. Совершенно очевидно, что каждая ткань организма обладает специфическим набором белков, совокупное действие которых обуславливает функционирование этой ткани, а следовательно, организма в целом. Компоненты такого белкового пула постоянно синтезируются клетками, выполняют свои функции и затем элиминируются тканеспецифическим набором протеолитических ферментов. Можно с уверенностью утверждать, что этот процесс не хаотическая сумма протеолитических реакций, имеющих целью исключительно утилизацию белковых молекул в форме аминокислот, как это было принято считать ранее, а представляет собой сложную, но упорядоченную систему взаимодействия расщепляемых белков-субстратов и специфической для каждой ткани комбинации протеолитических ферментов. Результатом этого взаимодействия является образование большой, но конечной по количеству основных компонентов группы пептидов. Эта группа, которую можно назвать пептидным фоном или, как уже упоминалось, пептидным пулом (правильнее было бы определить ее как основной пептидный комплекс ткани), также специ-

фична для каждого органа как по компонентному составу, так и по уровню содержания отдельных пептидов.

Как было показано выше, компоненты основного пептидного комплекса могут обладать выраженной биологической активностью. Реализация данной активности связана со способностью этой группы пептидов взаимодействовать с широким кругом рецепторных молекул и возможностью модулировать таким образом действие высокоспецифичных физиологически активных веществ, т.е. "классических" биорегуляторов. Если пептидные сигнальные молекулы нервной (нейротрансмиттеры) и эндокринной (гормоны) систем специфически выщепляются из узкого круга конкретных предшественников, наличие собственной биологической активности для которых не показано, то компоненты основного пептидного комплекса ткани могут образовываться из любых белков.

Если предположить однонаправленное действие "классических" регуляторных пептидов и пептидных фрагментов протеолитической деградации функциональных белков, то можно ожидать модуляции гормональных сигналов при изменении эндогенной протеолитической активности. Как было отмечено выше, высокий уровень содержания компонентов основного пептидного комплекса ткани в значительной степени компенсирует сравнительно невысокие параметры лиганд-рецепторного взаимодействия.

Поскольку интенсивность протеолитических процессов в тканях, приводящих к формированию пептидного фона, зависит от такого сравнительно устойчивого параметра, как общий уровень метаболизма, можно предположить, что основной пептидный комплекс ткани регулирует долговременные состояния организма (например, сон, циркадные или сезонные ритмы, иммунный статус), а также реагирует на возникновение в организме патологических процессов [69, 71, 88, 123, 140, 141, 153, 161, 166].

Для ряда функциональных белков показана зависимость интенсивности образования продуктов протеолитической деградации этих белков от физиологического состояния организма, в том числе при его тяжелых патологических изменениях. Такая зависимость установлена для фрагментов основного белка миелина при ранних постнатальных нарушениях центральной нервной системы [69]; для крупных фрагментов гемоглобина при болезни Альцгеймера и лимфогранулематозе [140, 141]; для нейротензинподобных фрагментов бычьего сывороточного альбумина при целом ряде заболеваний [123] и некоторых других пептидов [69, 71, 88, 108, 141, 153, 161].

Было показано наличие β -казоморфин-8-подобного иммунореактивного материала в плазме

[87] и спинно-мозговой жидкости [86], а также в моче женщин в период беременности и послеродовой период [86, 87]. Недавно было доказано присутствие указанного пептида в молоке женщин с постродовым психозом [88].

Из всего вышесказанного вытекает, что предполагаемая биологическая роль компонентов основного пептидного комплекса состоит главным образом в поддержании гомеостатического равновесия организма, в том числе и в "коррекции" гормональных сигналов в тех случаях, когда организм по каким-либо причинам не готов к их восприятию. Это допущение автоматически подразумевает и наличие обратной связи, т.е. изменение интенсивности локальных протеолитических процессов, как результат реализации гормонального сигнала.

Определяя постулируемую новую систему пептидергической регуляции как совокупность белков, протеолитических ферментов и продуктов их взаимодействия, т.е. пептидных фрагментов, можно сделать вывод о значительной мультифункциональности системы, поскольку все ее элементы тесно связаны друг с другом. Возможно, консерватизм подобного континуума отражает его главные биологические функции – адаптацию и компенсацию [88].

Содержание представленной работы иллюстрирует тот факт, что современное состояние методов разделения, структурного и химического анализа пептидно-белковых веществ позволяет ставить и решать задачу детального описания набора пептидных компонентов тканей живых организмов, причем в разных физиологических состояниях [69, 71, 88, 123, 140, 141, 153, 161, 166]. Таким образом, модель протеолитической деградации *in vitro* – достаточно адекватная модель потенциально существующего эндогенного процесса образования биологически активных пептидов, предшественниками которых являются функциональные белки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Noda M., Fututani Y., Takahashi H., Touosato M., Hirose T., Inayama S., Nakanishi S., Numa S. // *Nature*. 1982. V. 295. P. 202–206.
2. Comb M., Seeburg P.H., Adelman J., Eiden L., Herbert E. // *Nature*. 1982. V. 295. P. 663–666.
3. Kakidani H., Fututani Y., Takehashi H., Noda M., Moromoto Y., Hirose T., Asai M., Inayama S., Nakanishi S., Numa S. // *Nature*. 1982. V. 298. P. 245–249.
4. Kislauskis E., Bullock B., McNeil S., Dobner P.R. // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 4963–4968.
5. McKelvy J.F., Kin C.-J., Chan L. // *Brain Peptides: a New Endocrinology* / Eds A.M. Gotto et al. Amsterdam: Elsevier, 1979. P. 183–196.
6. Tschopp J., Jongeneel C.V. // *Biochemistry*. 1988. V. 27. P. 2641–2646.

7. Carraway R., Leeman S.E. // J. Biol. Chem. 1973. V. 248. P. 6854–6861.
8. Kangawa K., Matsuo H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1984. V. 118. P. 131–139.
9. Jones C.N., Grant L.D., Prane A.J. (Jr.) // Psychopharmacology. 1978. V. 59. P. 217–224.
10. Margules D.L. // Soc. Neurosci. 1980. V. 5. P. 221.
11. Telegdy G. // Acta Phys. Acad. Sci. Hung. 1980. V. 55. P. 273–281.
12. Schally A.V., Coy D.H., Meyers C.A. // Ann. Rev. Biochem. 1978. V. 47. P. 89–120.
13. Okuma Y., Osumi Y. // Life Sci. 1982. V. 30. P. 77–84.
14. Albeck D., Smock T., McMechen P., Purves D., Floyd L. // Brain Res. 1990. V. 511. P. 7–14.
15. Smock T., Albeck D., McMechen P., Purves D. // Brain Res. 1990. V. 511. P. 15–20.
16. Croxatto H.R., Croxatto R. // Rev. Soc. Argent. Biol. 1941. V. 17. P. 439–451.
17. Piot J.M., Zhao Q., Guillochon D., Ricart G., Thomas G. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1992. V. 189. P. 101–110.
18. Garreau I., Zhao Q., Pejoan C., Cupo A., Piot J.-M. // Neuropeptides. 1995. V. 28. P. 243–250.
19. Piot J.-M., Zhao Q., Guillochon D., Ricart G., Thomas D. // FEBS Lett. 1992. V. 299. P. 75–79.
20. Loukas S., Zioudrou Ch., Streaty R.A., Klee W.A. // Biochemistry. 1983. V. 22. P. 4567–4573.
21. Yoshikawa M., Tani F., Shiota A., Suganuma H., Usui H., Kurahashi K., Chiba H. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 43–48.
22. Yoshikawa M., Tani F., Ashikaga T., Yoshimura T., Chiba H. // Agric. Biol. Chem. 1986. V. 50. P. 2951–2954.
23. Brantl V., Teschemacher H., Blasig J., Henschen A., Lottspeich F. // Life Sci. 1981. V. 28. P. 1903–1909.
24. Brantl V. // Eur. J. Pharmacol. 1984. V. 106. P. 213–214.
25. Henschen A., Lottspeich F., Brantl V., Teschemacher H. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1979. V. 360. P. 1217–1224.
26. Yamamoto N., Akino A., Tanako T. // J. Dairy Sci. 1994. V. 77. P. 917–922.
27. Yoshikawa M., Suganuma H., Takahashi M., Fukudome S.-L., Chiba H. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 38–42.
28. Nicot C., Vacher M., Denoroy L., Kahn P.C., Waks M. // J. Neurochem. 1993. V. 60. P. 1283–1291.
29. Baxevanis C.N., Reulos G.J., Servis C., Anactasopoulos E., Arsenis P., Katsiyiannis A., Matikas N., Lambris J.D., Papamichail M. // J. Neurochem. 1989. V. 52. P. 23–30.
30. Deibler G.E., Nomura K., Kies M.W. // J. Neurochem. 1982. V. 39. P. 1090–1100.
31. Fukudome S., Yoshikawa M. // FEBS Lett. 1992. V. 296. P. 107–111.
32. Fukudome S., Yoshikawa M. // FEBS Lett. 1993. V. 316. P. 17–19.
33. Fukudome S., Yoshikawa M. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 18–25.
34. Ufkes J.G.R., Aarsen P.N., Van Der Meer C. // Eur. J. Pharmacol. 1977. V. 44. P. 89–97.
35. Weyers R., Hagel P., Das B.C., Van Der Meer C. // Biochim. Biophys. Acta. 1972. V. 279. P. 331–335.
36. Ueno A., Hong Y.-M., Arakaki N., Takeda Y. // J. Biochem. 1985. V. 98. P. 269–278.
37. Suganuma H., Fujiu E., Shiota A., Tani F., Kurahashi K., Usui H., Chiba H., Yoshikawa M. // Peptide Chemistry 1992 / Ed. N. Yanaihara. Leiden: ESCOM, 1993. P. 612–614.
38. Yoshikawa M., Takahashi M., Moriguchi Sh., Nakagiri R., Ikeno M., Suganuma H., Sasaki R. // Peptides. Chemistry, Structure and Biology / Eds P.T.P. Kaurmaya, R.S. Hodges. Mayflower Scientific Ltd., 1996, in press.
39. Tani F., Shiota A., Chiba H., Yoshikawa M. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 49–54.
40. Garreau I., Pejoan C., Bressollier P., Verneuil B., Cucumel K., Cupo A. // Peptides. 1994. V. 15. P. 1195–1204.
41. Peters Th. (Jr.), Feldhoff R.C. // Biochemistry. 1975. V. 14. P. 3384–3391.
42. Habeeb A.F.S.A., Atassi M.Z. // J. Biol. Chem. 1976. V. 251. P. 4616–4621.
43. Feldhoff R.C., Peters Th. (Jr.) // Biochemistry. 1975. V. 14. P. 4508–4514.
44. Shen F.-S., Lindberg I. // Neuropeptides. 1989. V. 13. P. 17–22.
45. Assreuy J., Almeida A.A., Guimaraes J.A. // Eur. J. Pharmacol. 1989. V. 168. P. 231–237.
46. Ufkes J.G.R., Visser B.J., Heuvel G., Van der Meer C. // Eur. J. Pharmacol. 1978. V. 50. P. 119–122.
47. Heaney-Kieras J., King T.P. // J. Biol. Chem. 1977. V. 252. P. 4326–4329.
48. Tani F., Iio K., Chiba H., Yoshikawa M. // Agric. Biol. Chem. 1990. V. 54. P. 1803–1810.
49. Bellamy W., Takase M., Yamauchi K., Wakabayashi H., Kawase K., Tomita M. // Biochim. Biophys. Acta. 1992. V. 1121. P. 130–136.
50. Yamauchi K., Tomita M., Giehl T.J., Ellison R.T. (3d). // Infect. Immunol. 1993. V. 61. P. 718–728.
51. Odell E.W., Sarra R., Foxworthy M., Chapple D.S., Evance R.W. // FEBS Lett. 1996. V. 382. P. 175–178.
52. Paakkari I., Jarvinen A., Antila P., Mattila M.J., Pihlanto-Leppala A. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 34–37.
53. Antila P., Paakkari I., Jarvinen A., Mattila M.J., Laukanen M., Pihlanto-Leppala A., Mantsala P., Hellman J. // Int. Dairy J. 1991. V. 1. P. 215–229.
54. Yoshikawa M., Chiba H. // Proceedings of the International Symposium on Amino Acid Research / Ed. K. Takai. Amsterdam: Elsevier, 1992.
55. Bennett H.P.J., Chang R.Y., Nelbach L., Adelson J.W. // Regul. Pept. 1990. V. 29. P. 241–250.
56. Adelson J.W., Nelbach L., Yates G.B., Ehrlich A., Glaser Ch. B., Chang R. // J. Biol. Chem. 1986. V. 261. P. 10569–10575.
57. Julliard J.H., Shibasaki T., Ling N., Guillemin R. // Science. 1980. V. 208. P. 183–185.
58. Najjar V.A. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1983. V. 419. P. 1–11.
59. Auriault C., Joseph M., Tartar A., Bout D., Tonnel A.B., Capron A. // Int. J. Immunopharm. 1985. V. 7. P. 73–79.
60. Georgiev V.S. // Trends Pharm. Sci. 1990. V. 11. P. 239–244.

61. Yoshikawa M., Kishi K., Takahashi M., Watanabe A., Miyamura T., Yamazaki M., Chiba H. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994. V. 716. P. 375–376.
62. Belew M., Gerdin B., Linderberg G., Porath J., Saldeen T., Wallin R. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1980. V. 621. P. 169–178.
63. Saldeen T. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1983. V. 408. P. 424–437.
64. Fujita H., Sasaki R., Yoshikawa M. // *Biosci. Biotech. Biochem.* 1995. V. 59. P. 2344–2345.
65. Belew M., Gerdin B., Porath J., Saldeen T. // *Thromb. Res.* 1978. V. 13. P. 983–994.
66. Brantl V., Teschemacher H. // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1979. V. 306. P. 303–304.
67. Liebmann C., Schrader U., Brantl V. // *Eur. J. Pharmacol.* 1989. V. 166. P. 523–526.
68. Chang R.C.C., Huang W.-Y., Redding T.W., Arimura A., Coy D.H., Schally A.V. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1980. V. 685. P. 266–273.
69. Ivanov V.T., Karelin A.A., Mikhaleva I.I., Vaskovsky B.V., Sviryaev V.I., Nazimov I.V. // *Soviet J. Bioorgan. Khim.* 1993. V. 18. P. 677–702.
70. Galoyan A. // *Abstracts of the 9th Russia-Germany Symposium on Chemistry of Peptides and Proteins.* M.: Inst. Bioorg. Chem., 1994. P. 10.
71. Glamsta E.-L., Meyerson B., Silberring J., Terenius L., Nyberg F. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992. V. 184. P. 1060–1066.
72. Cempel N., Aubry J.M., Piot J.M., Guillochon D. // *Bio-technol. Appl. Biochem.* 1995. V. 21. P. 287–294.
73. Brantl V., Teschemacher H., Henschen A., Lottspeich F. // *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 1979. V. 360. P. 1211–1216.
74. Carraway R.C., Mitra S.P., Muraki K. // *Regul. Pept.* 1990. V. 29. P. 229–239.
75. Carraway R.E., Mitra S.P. // *Endocrinol.* 1987. V. 120. P. 2101–2107.
76. Carraway R.E., Mitra S.P., Cochrane D.E. // *J. Biol. Chem.* 1987. V. 262. P. 5968–5973.
77. Carraway R.E., Cochrane D.E., Boucher W., Mitra S.P. // *J. Immunol.* 1989. V. 143. P. 1680–1684.
78. Mogard M.H., Kobayashi R., Chem C.-F., Lee T.D., Reeve J.R., Shively J.E., Walsh J.H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986. V. 136. P. 983–988.
79. Cochrane D.E., Carraway R.E., Feildberg R.S., Boucher W., Gelfand J.M. // *Peptides.* 1993. V. 14. P. 117–123.
80. Sugiyama K., Ogino T., Ogata K. // *Jpn. J. Pharmacol.* 1989. V. 49. P. 165–171.
81. Minamiura N., Matsumura Y., Fukumoto J., Yamamoto T. // *Agric. Biol. Chem.* 1972. V. 36. P. 588–595.
82. Maruyama S., Suzuki H. // *Agric. Biol. Chem.* 1982. V. 46. P. 1393–1397.
83. Maruyama S., Mitachi H., Tanaka H., Tomizuka N., Suzuki H. // *Agric. Biol. Chem.* 1987. V. 51. P. 1581–1586.
84. Maruyama S., Mitachi H., Awaya J., Kurono M., Tomizuka N., Suzuki H. // *Agric. Biol. Chem.* 1987. V. 51. P. 2557–2561.
85. Van-Leeuwen H.J. // *Agric. Biol. Chem.* 1978. V. 42. P. 1375–1378.
86. Nyberg F., Lieberman H., Lindstrom L.H., Lyrenas S., Koch G., Terenius L. // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1989. V. 68. P. 283–289.
87. Koch G., Wiedermann K., Drebes E., Zimmermann W., Link G., Teschemacher H. // *Regul. Pept.* 1988. V. 20. P. 107–117.
88. Renlund A., Erlandsson I., Hellman U., Silberring J., Wernstedt Ch., Lindstrom L., Nyberg F. // *Peptides.* 1993. V. 14. P. 1125–1132.
89. Koch G., Wiedermann K., Drebes E., Zimmermann W., Link G., Teschemacher H. // *Adv. Biosci.* 1987. V. 65. P. 35–40.
90. Koch G., Wiedermann K., Teschemacher H. // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1985. V. 331. P. 351–354.
91. Parker F., Migliore-Samour D., Floch F., Zerial A., Werner G.H., Jolles J., Casaretto M., Zahn H., Jolles P. // *Eur. J. Biochem.* 1984. V. 145. P. 677–682.
92. Berthou J., Migliore-Samour D., Lifchitz A., Delettre J., Floc'h F. // *FEBS Lett.* 1987. V. 218. P. 55–58.
93. Matoba T., Nagayashi C., Hagayasu R., Hata T. // *Agric. Biol. Chem.* 1969. V. 33. P. 1662–1663.
94. Whitaker J.N., Seyer J.M. // *J. Biol. Chem.* 1979. V. 254. P. 6956–6963.
95. Feurle G.E., Carraway R.C., Rix E., Knauf W. // *J. Clin. Invest.* 1985. V. 76. P. 156–162.
96. Арефьева И.А., Гривенников И.А., Алфеева Л.Ю., Незавибатько В.Н. // *Биол. мембраны.* 1992. Т. 9. С. 1079–1081.
97. Zhao Q., Sannier F., Garreau I., Guillochon D., Piot J.-M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 204. P. 216–223.
98. Lantz I., Glamsta E.-L., Talback L., Nyberg F. // *FEBS Lett.* 1991. V. 287. P. 39–41.
99. Ohmori T., Nakagami T., Tanaka H., Maruyama S. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 202. P. 809–815.
100. Asano M., Nio N., Ariyoshi Y. // *Agric. Biol. Chem.* 1991. V. 55. P. 825–828.
101. Maruyama S., Miyoshi S., Osa T., Tanaka H. // *Ferment. Bioeng.* 1992. V. 74. P. 145–148.
102. Takamatsu K., Tatemoto K. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990. V. 172. P. 1167–1174.
103. Kayser H., Meisel H. // *FEBS Lett.* 1996. V. 383. P. 18–20.
104. Burton P.M., Horner B.L., Jones G.H., Lin T., Nestor J.J. (Jr.), Newman Sh.R., Parks T.L., Smith A.J., White A. // *Int. J. Immunopharm.* 1987. V. 9. P. 297–305.
105. Aubes-Dufau I., Capdevielle J., Seris J.L., Combes D. // *FEBS Lett.* 1995. V. 364. P. 115–119.
106. Carraway R.E., Mitra S.P., Ferris C.F. // *Endocrinology.* 1986. V. 119. P. 1519–1526.
107. Davis T.P., Gillespie T.J., Porreca F. // *Peptides.* 1989. V. 10. P. 747–751.
108. Зиганин Р.Х., Свиряев В.И., Васьковский Б.В., Михалева И.И., Иванов В.Т., Кокос Ю.М., Алексеев А.Е., Корыстова А.Ф., Сухова Г.С., Емельянова Т.Г., Усенко А.Б. // *Биоорг. химия.* 1994. V. 20. P. 899–918.
109. Glamsta E.-L., Marclund A., Hellman U., Wernstedt C., Terenius L., Nyberg F. // *Regul. Pept.* 1991. V. 34. P. 169–179.
110. Kato M., Fujiwara Y., Akamoto A., Yoshikawa M., Chiba H., Uda Sh. // *Biosci. Biotech. Biochem.* 1995. V. 59. P. 2056–2059.
111. Арефьева И.А., Алфеева Л.Ю., Андреева Л.А., Гривенников И.А., Зайцев Д.А., Ильина Г.С., Ло-

- тман В.Н., Незавибатько В.Н. // Биол. мембрана. 1991. Т. 8. С. 1167–1168.
112. Goldman R., Bar-Shavit Z. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1983. V. 419. P. 143–155.
 113. Stabinsky Y., Gottlieb P., Zakuth V., Spiner Z., Fridkin M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1978. V. 83. P. 599–606.
 114. Meisel H., Schlimme E. // β -Casomorphins and Related Peptides / Ed. V. Brantl. B.: VCH, 1992. P. 27–33.
 115. Кукайн Э.М., Муцениеце Р.К., Клуша В.Е. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1982. Т. 8. С. 79–82.
 116. Erdos E.G., Johnson A.R., Boyden N.T. // Biochem. Pharmacol. 1978. V. 27. P. 843–848.
 117. Lanz I., Terenius L. // FEBS Lett. 1985. V. 193. P. 31–34.
 118. Chang K.-J., Cuatrecasas P. // Fed. Proc. 1981. V. 40. P. 2729–2734.
 119. Carraway R.E., Leeman S.E. // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. P. 1907–1911.
 120. Carraway R.E., Leeman S.E. // J. Biol. Chem. 1976. V. 251. P. 7045–7052.
 121. Carraway R.E., Kitabgi P., Leeman S.E. // J. Biol. Chem. 1978. V. 254. P. 7996–7998.
 122. Fernstrom M.H., Carraway R.E., Leeman S.E. // Frontiers in Neuroendocrinology. V. 6 / Eds L. Martini, W.F. Ganong. N.Y.: Raven Press, 1980. P. 103–127.
 123. Carraway R.E., Reinecke M. // Evolution and Tumor Pathology of the Neuroendocrine System / Eds S. Falkmer, R. Hakason, F. Sundler. Amsterdam: Elsevier, 1984. P. 245–283.
 124. Carraway R.E., Ferris C.F. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. P. 2475–2479.
 125. Carraway R.E., Mitra S.P. // Endocrinology. 1987. V. 120. P. 2101–2107.
 126. Carraway R.E. // J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 10328–10334.
 127. Carraway R.E., Cochrane D.E., Ruane S.E. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 15886–15889.
 128. Carraway R.E., Singer E.A., Ferris C.F., Mitra S.P. // Kinins IV. Part B / Eds L.M. Grenbaum, H.S. Margoliuss. N.Y.: Plenum Publishing Corporation, 1986. P. 169–179.
 129. Brantl V., Gramsch Ch., Lottspeich F., Mertz R., Jaeger K.-H., Herz A. // Eur. J. Pharmacol. 1986. V. 125. P. 309–310.
 130. Brantl V., Gramsch Ch., Lottspeich F., Mertz R., Jaeger K.-H., Herz A. // Eur. J. Pharmacol. 1985. V. 111. P. 293.
 131. Singer E.A., Mitra S.P., Carraway R.E. // Endocrinology. 1986. V. 119. P. 1527–1533.
 132. Shen F.-S., Linberg I. // Endocrinology. 1988. V. 122. P. 2905–2910.
 133. Dagouassat N., Garreau I., Sannier F., Zhao Q., Pitot J.M. // FEBS Lett. 1996. V. 382. P. 37–42.
 134. Erchevji J., Kastin A.J., Zadina J.E., Qiu X.-D. // Int. J. Pept. Protein Res. 1992. V. 39. P. 477–484.
 135. Karelin A.A., Philippova M.M., Karelina E.V., Ivanov V.T. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. V. 202. P. 410–415.
 136. Glamsta E.-L., Morkrid L., Lantz I., Nyberg F. // Regul. Pept. 1993. V. 49. P. 9–18.
 137. Karelin A.A., Karelina E.V., Nazimov I.V., Ul'yashin V.V., Ivanov V.T. // Chemistry of Peptides and Proteins. V. 5–6 / Eds D. Brandenburg, V. Ivanov, W. Voelter. Aachen: Verlag Mainz, 1993. P. 277–286.
 138. Ivanov V.T., Karelin A.A., Karelina E.V., Ul'yashin V.V., Vaskovsky B.V., Mikhaleva I.I., Nazimov I.V., Grishina G.A., Khavinson V.Kh., Morozov V.G., Mikhaltsov A.N. // Peptides. Chemistry and Biology / Eds J.A. Smith, J.E. Rivier. Leiden: ESCOM, 1992. P. 939–941.
 139. Karelin A.A., Philippova M.M., Ivanov V.T. // Peptides. 1995. V. 16. P. 693–697.
 140. Pivnik A.V., Rasstrigin N.F., Philippova M.M., Karelin A.A., Ivanov V.T. // Leukemia, Lymphoma. 1996. V. 22. P. 345–349.
 141. Slemmon J.R., Hughes C.M., Cambell G.A., Flood D.G. // J. Neurosci. 1994. V. 14. P. 2225–2235.
 142. Slemmon J.R., Flood D.G. // Neurobiol. Aging. 1992. V. 13. P. 649–660.
 143. Galoyan A.A., Gurvitis B.Ya., Shuvalova L.A., Davis M.T., Shively J.E., Lee T.D. // Neurochem. Res. 1992. V. 17. P. 773–777.
 144. Whitaker J.N., Gupta M., Smith O.F. // Ann. Neurol. 1986. V. 20. P. 329–336.
 145. Whitaker J.N., Moscarello M.A., Herman P.K., Epand R.M., Surewicz W.K. // J. Neurochem. 1990. V. 55. P. 568–576.
 146. Gibson B.W., Gilliom R.D., Whitaker J.N., Biemann K. // J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 5028–5031.
 147. Schultz-Knappe G., Bensch K.W., Schpsky A.G., Hess R., Standker L., Heine G., Sillard R., Raida M., Forssman W.-G. // Peptides 1994 / Ed. H.L.S. Maia. Leiden: ESCOM, 1995. P. 433–434.
 148. Takamatsu K., Tatamoto K. // Peptides. 1991. V. 12. P. 393–395.
 149. Nishimura K., Hasato T. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993. V. 194. P. 713–719.
 150. Higashimoto Y., Shinomura Y., Nagao K., Yasunaga Y., Tamura T., Tarui S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990. V. 172. P. 1392–1399.
 151. Abiko T., Kumikawa M., Higuchi H., Sekino H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1978. V. 84. P. 184–194.
 152. Kohama Y., Oka H., Yamamoto K., Teramoto T., Okabe M., Mimura T., Nagase Y., Chiba Y., Fujita T. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989. V. 161. P. 456–460.
 153. Karelin A.A., Karelina E.V., Severin S.E. (Jr.), Gubin A.N., Ivanov V.T. // Chemistry of Peptides and Proteins. V. 5–6 / Eds D. Brandenburg, V. Ivanov, W. Voelter. Aachen: Verlag Mainz, 1993. P. 647–655.
 154. Ivanov V.T., Ul'yashin V.V., Karelin A.A., Karelina E.V., Tsetlin V.I., Sudakov K.V., Sherstnev V.V., Dolgov O.N., Klusha V.E., Severin S.E. (Jr.), Mikeladze D.G. // Peptides. Chemistry, Structure and Biology / Eds E. Rivier, G. Marshall. Leiden: ESCOM, 1990. P. 462–463.
 155. Orts R.J., Liao T.-H., Sartin J.L., Bruot B. // Physiologist. 1978. V. 21. P. 87.
 156. Takagi H., Shiomi H., Ueda H., Amono H. // Nature. 1979. V. 5737. P. 410–412.
 157. Takagi H., Shiomi H., Fukui K., Hayashi K., Kiso Y., Kitagawa K. // Life Sci. 1982. V. 31. P. 1733–1736.
 158. Barkhudaryan N.A., Kellermann J., Galoyan A.A., Lottspeich F. // FEBS Lett. 1993. V. 329. P. 215–218.

159. Fonina L.A., Gur'yanov S.A., Nazimov I.V., Yanovsky O.G., Zakharova L.A., Mikhaylova A.A., Petrov R.V. // Dokl. AN SSSR. 1991. V. 319. P. 755–757 (Rus.).
160. Schally A.V., Huang W.Y., Redding T.W., Coy D.H., Chihara K., Chang R.C.C., Raymond V., Labrie F. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1978. V. 82. P. 582–588.
161. Zhu Y.X., Hsi K.L., Chen Z.G., Zhang H.L., Wu S.X., Zhang S.Y., Fang P.F., Guo S.Y., Kao Y.S., Tsou K. // FEBS Lett. 1986. V. 208. P. 253–257.
162. Schally A.V., Baba Y., Nair R.M.G. // J. Biol. Chem. 1971. V. 246. P. 6647–6650.
163. Bakalkin G.Y., Demuth H.-U., Nyberg F. // FEBS Lett. 1992. V. 310. P. 13–16.
164. Maekinen K.K., Sewon L., Maekinen P.L. // J. Periodont. Res. 1996. V. 31. P. 43–46.
165. Mikhailova A., Fonina L., Kirilina E., Shanurin S., Gur'yanov S., Malakhov A., Nesmeyanov V., Petrov R. // Regul. Pept. 1994. V. 53. P. 203–209.
166. Ziganshin R.H., Mikhaleva I.I., Ivanov V.T., Kokoz Yu.M., Alekseev A.E., Korystova A.F., Mavlyutova D.A., Emelyanova T.G., Akhrimenko A.K. // Peptides. Chemistry, Structure and Biology / Eds P.T.P. Kaumaya, R.S. Hodges. Mayflower Scientific Ltd., 1996. P. 244–245.
167. Vaskovsky B.V., Ivanov V.T., Mikhaleva I.I., Kolaeva S.G., Kokoz Yu.M., Svieryaev V.I., Ziganshin R.H., Sukhova G.S., Ignatiev D.A. // Peptides. Chemistry, Structure and Biology / Eds J.E. Rivier, G.R. Marshall. Leiden: ESCOM, 1990. P. 302–304.
168. Glamsta E.-L. // Acta Univ. Ups. 1993. V. 108. P. 1–62.

Biologically Active Peptides, Products of *in vitro* Proteolysis of Functional Proteins

M. M. Filippova, A. A. Karelin, and V. T. Ivanov

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia

Received August 27, 1996

Abstract—Over 100 various peptides were identified as a result of numerous studies of *in vitro* proteolytic digestion of some proteins and tissue preparations. Many of them exhibit wide spectra of biological effects, which are similar to those described for some groups of endogenous peptide bioregulators. The possibility of *in vitro* modeling of endogenous processes of proteolytic digestion of proteins that provides biologically active peptides is discussed.

Key words: functional proteins, proteolysis, peptide fragments, biological activity.