

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.1

ВЕЩЕСТВО Р КАК ПРЕДШЕСТВЕННИК ПЕПТИДОВ,
ОБЛАДАЮЩИХ КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮА. А. ГАЛОЯН, Т. Н. АКОПЯН, А. А. АРУТЮНЯН,
А. И. ОГАНИСЯН, Р. О. КАРАПЕТЯН

Вещество Р выделено в чистом виде из экстрактов гипоталамуса и идентифицировано как пептид, состоящий из одиннадцати аминокислотных остатков с амидированным С-концом [1, 2]. Известно, что этот пептид понижает системное кровяное давление и вызывает деполяризацию двигательных нейронов спинного мозга [3]. Присутствие его в симпатических участках мозга и физиологическое действие свидетельствуют о возможном участии в передаче нервных импульсов [4]. В литературе имеются сведения о том, что вещество Р подвергается расщеплению в основном эндопептидазами мозга. При этом скорость превращений его в гипоталамусе выше, чем у соматостатина (SRJF), люлиберина (LH-RF), меланостатина (MJF) и тиолиберина (TRH) [5].

Ранее нами была изучена кардиотропная активность ряда гипоталамических пептидов [6, 7]. В настоящей работе приводятся данные о ферментативном биогенезе коронарорасширяющей активности из вещества Р под действием нейтральной протеиназы, выделенной из гипоталамуса.

Материал и методика. В работе использовали дансилхлорид фирмы Sigma, полиамидные пластины Schleicher Schull, флуорескамин фирмы Roche. Измерение коронарного кровотока проводили по методу Кавериной [8]. Нейтральную протеиназу выделяли из гипоталамуса крупного рогатого скота, применяя следующие стадии очистки: хроматографирование супернатанта (100.000 g) на ДЕАЕ-сефадексе А-50, фракционирование на сефадексе Г-100 и рехроматографирование на ДЕАЕ-сефадексе А-50 (неопубликованные данные). Измерение коронарорасширяющей активности ферментативных гидролизатов вещества Р проводили следующим образом: 10 мкг вещества Р инкубировали с 10 мкг фермента в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7,6) в течение 2 час. при 37°. После завершения ферментативной реакции пятую часть инкубированной пробы вводили внутривенно подопытным кошкам. Контролем служили пробы, содержащие вещество Р или фермент, которые инкубировались как опытные. Все вводимые пробы предварительно разбавляли физиологическим раствором до 3 мл.

Результаты и обсуждение. Установлено, что вещество Р при внутривенном введении в дозах 0,1—10 мкг вызывает коронаросуживающий

эффект. Инкубация его с нейтральной протеиназой гипоталамуса приводит к появлению коронарорасширяющей активности, проявляющейся через 10 мин после введения и достигающей максимального уровня на 30—50-й мин. При этом количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, за единицу времени достигает 200—250% по сравнению с исходным фоном. Эффект продолжается 90—100 мин. Этот факт указывает на то, что один или несколько продуктов ферментативного гидролиза вещества Р обладают коронарорасширяющей активностью. Чтобы установить место действия фермента на вещество Р мы использовали метод определения N-концевой аминокислоты с помощью дансилхлорида. К инкубированной пробе после окончания ферментативной реакции добавляли 0,2 М Na₂CO₃ до pH 8,3, затем полученную смесь высушивали и подвергали дансилированию с последующим гидролизом (6,3 М HCl 105°, 18 час). Идентификацию дансил-аминокислот проводили хроматографией на полиамидных пластинах [9].

Инкубация вещества Р с нейтральной протеиназой гипоталамуса приводит к появлению новой N-концевой аминокислоты—фенилаланина. Тонкослойная хроматография гидролизата вещества Р выявила наличие 4-х пятен (окрашивание проводили флуорескамином). Эти данные указывают на то, что нейтральная протеиназа гипоталамуса расщепляет пептидные связи—ГЛН-ФЕН-, ФЕН-ФЕН-вещества Р (АРГ-ПРО-ЛИЗ-ПРО-ГЛН-ГЛН-ФЕН-ФЕН-ГЛИ-ЛЕЙ-МЕТ-NH₂), вследствие чего образуются пептиды со следующей структурой: АРГ-ПРО-ЛИЗ-ПРО-ГЛН-ГЛН; АРГ-ПРО-ЛИЗ-ПРО-ГЛН-ГЛН-ФЕН; ФЕН-ФЕН-ГЛИ-ЛЕЙ-МЕТ-NH₂; ФЕН-ГЛИ-ЛЕЙ-МЕТ-NH₂.

Один или несколько из вышеуказанных пептидов должны обладать коронарорасширяющей активностью, что покажет прямой синтез этих пептидов с последующим тестированием их на биологическую активность.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 13.VI 1977 г.

**Ր ԵՅՈՒԹԸ ՈՐՊԵՍ ՊՐՈԶՈՐՄՈՆ ՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ՀԱՄԱՐ,
ՈՐՈՆՔ ՕԺՏՎԱԾ ԵՆ ՊՍԱԿԱԶԵՎ ԱՆՈՔՆԵՐԸ ԼԱՅՆԱՑՆՈՂ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՄԲ**

Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ, Ք. Ն. ՀԱԿՈՅԱՆ, Ա. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ,
Ա. Ի. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ռ. Հ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

Ապացուցվել է, որ Р նյութը ճեղքվում է հիպոթալամուսից անջատված շեղոք պրոտեինազայի ազդեցությամբ: Առաջացած պեպտիդները օժտված են պահպանել անոթները լայնացնող ակտիվությամբ: Պարզված է ճեղքվող պեպտիդային կապերի տեղակայումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Chang M. M., Leeman S. E.* J. Biol. Chem., 245, 4784, 1970.
2. *Chang M. M., Leeman S. E., Niall H. D.* Nature New Biology, 232, 86, 1971.
3. *Henry I. L., Krnjevic K., Morts M. E.* Canad. J. Physiology Pharmacol., 53, 432-1975.
4. *Takahashi T., Otsuka M.* Brain Research, 87, 1, 1975.
5. *Marks N.* Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology, 129. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1976.
6. *Галоян А. А., Карапетян Р. О.* Биологический журнал Армении, 29, 12, 91, 1976.
7. *Галоян А. А.* Биологический журнал Армении, 28, 12, 61, 1975.
8. *Каверина Н. А.* Фармакол. и токсикол., 21, 39, 1958.
9. *Cross G., Laboness B.* Eur. J. Biochem., 7, 463, 1969.