

УДК 591.105

БИОХИМИЯ

А. А. Галоян

**Некоторые физико-химические свойства двух коронарорасширяющих веществ, выделенных из гипоталамуса различных животных**

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятяном 28/II 1969)

О выделении двух коронарорасширяющих веществ из гипоталамуса крыс и крупного рогатого скота было сообщено в наших ранних публикациях (1-4). Оказалось, что эти вещества снимают или предупреждают коронарораспазм, вызванный питуитрином (5). О гормональном характере выделенных веществ свидетельствуют данные, полученные нами за последние годы (3).

В настоящей работе приводятся некоторые данные о физико-химических свойствах двух коронарорасширяющих веществ, выделенных из гипоталамуса крыс и крупного рогатого скота.

Для выделения, очистки и изучения физико-химических свойств коронарорасширяющих веществ были применены методы бумажной, тонкослойной (на силикагеле) и ионообменной хроматографии, гелевой фильтрации на сефадексах, высоковольтного бумажного электрофореза и т. д. Изучались спектры поглощения выделенных фракций. Для определения микроколичеств различных элементов (С, Р, S) в хроматографических пятнах применяли разработанные нами совместно с Н. В. Королевым метод эмиссионного микроспектрального анализа, позволяющий выявить  $10^{-7}$  г исследуемого элемента. В гидролизатах различных фракций количество аминокислот определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе Бекман—120 В. В 1966 г. были проведены более широкие исследования по выделению и очистке двух коронарорасширяющих веществ из гипоталамуса крупного рогатого скота.

У крыс две коронарорасширяющие фракции ранее нами были названы фракциями 3 и 4 (1). Эти фракции по своим физическим свойствам отличаются друг от друга. Так, одна из этих фракций (четвертая) абсорбируется на активированном угле, элюируется спиртовым раствором аммиака и на бумажной хроматограмме поглощает ультрафиолетовые лучи (обнаруживается ультрахимископом). При очистке этой фракции высоковольтным электрофорезом коронарорасширяющее вещество дви-

гается к аноду, а после его гидролиза обнаруживаются 3—4 аминокислоты и вещество неизвестной природы, поглощающее ультрафиолетовые лучи. Активное вещество в другой фракции (третья), наоборот, не поглощается активированным углем и на бумажной хроматограмме не удается выявить ультрахимископом. При очистке высоковольтным электрофорезом (рН—1,9, 4000 L) оно также двигается к аноду, но менее подвижно. Таким образом, эти вещества обладают кислыми свойствами, но по химическому составу заметно отличаются друг от друга.

Из гипоталамуса крупного рогатого скота также удалось выделить два четко отличающиеся по своим физико-химическим и биологическим свойствами коронарорасширяющие вещества, условно обозначенные нами К и С. Были определены электрофоретическая подвижность, спектры поглощения.

Кривая спектра поглощения вещества К в ультрафиолетовом районе напоминает кривую спектра поглощения нуклеозидов—аденозина, гуанозина. Однако, показатели максимума, минимума, отношение показателей при  $\frac{250}{260}$ ,  $\frac{280}{260}$  мкм этого вещества заметно отличаются от таковых аденозина, гуанозина, адениловой, уридиловых кислот. Еще одним доказательством отличия вещества К от соединений типа АДР и др. является то, что последний через колонку, заполненную сефадексом g-10 элюируется намного раньше вещества К. Следует отметить, что при гидролизе вещества К обнаружены четыре аминокислоты—глицин, серин, глютаминовая и аспарагиновая кислоты.

Таблица 1

Физико-химические свойства фракции 3 и 4 веществ К и С

Физико-химические свойства веществ	Вещество К	Вещество С	Фракция 3	Фракция 4	Примечание
Растворимость в дистиллированной воде . . . . .	+	+	+	+	
Термостабильность (90°) . . . . .	+	+	+	+	
Анализируемость . . . . .	+	+	+	+	
Адсорбация на активированном угле . . . . .	+	—	—	+	
Поглощение в ультрафиолетовом спектре (260, 280 мкм) . . . . .	+	+	—	+	
Растворимость в растворителе Бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5) . . . . .	0,35	0,15	0,15	0,35	
Подвижность в электрофоретическом поле (3000 V, цитратный буфер, рН 3,8 ионная сила 0,1) . . . . .	К аноду	К аноду	К аноду	К аноду	Вещество К и фракция 4 являются более кислыми
Количество аминокислот . . . . .	4	—	—	4	
Устойчивость к уксусной кислоте . . . . .	+	+	+	+	
Устойчивость к NaOH . . . . .	—	+	+	—	
Устойчивость к трипсину . . . . .	+	++	++	+	
Устойчивость к химострипсину . . . . .	+	++	++	+	

Можно думать о том, что это вещество относится к нуклеотидо-пептидам, однако оно не обладает нингидриноположительным свойством.

Нами получены предварительные данные, свидетельствующие о наличии в составе вещества *K* двух колец (по спектру поглощения). В процессе хроматографирования вещества *K* в растворителе изопропанол—аммиак—вода (1:2:1) расщепляется на два отдельных соединения, поглощающие ультрафиолетовые лучи. При этом каждое из них лишено биологической активности.

Как упоминалось, коронарорасширяющее вещество *K* имеет выраженное кислое свойство при электрофорезе, например, оно занимает такое же место как и пикриновая кислота. Какая группа ответственна за кислые свойства этого соединения трудно ответить. Возможно, что это обуславливается наличием остатка фосфорной кислоты. В пользу этого свидетельствует обнаруженное нами эмиссионно-микроспектральным методом наличие фосфора во фракции 3 у крыс, напоминающей по своим свойствам вещество *K*.

Спектральный анализ вещества *C* в ультрафиолетовом районе показал, что оно ничего общего не имеет с веществом *K*.

Вещество *C* также адсорбируется сефадексом и элюируется за веществом *K*. Бумажной хроматографией вещества *K* и *C* (растворитель бутанол—уксусная кислота—вода) четко разделяются, их  $R_f$  0,35 и 0,15 соответственно. Все эти данные свидетельствуют о том, что вещества *K* и *C* заметно отличаются друг от друга. В табл. 1 подытожены физико-химические свойства веществ *K* и *C* и фракций 3 и 4.

Сравнивая физико-химические и биологические свойства веществ *K* и *C* с двумя коронарорасширяющими началами, выделенными из гипоталамуса крыс (фракции 3 и 4) можно полагать, что фракция 3 соответствует веществу *C*, а фракция 4—веществу *K*. Мы не считаем, что в химическом отношении эти вещества полностью идентичны. Одни и те же гормоны у различных животных могут несколько отличаться по химическому составу и строению.

Нами выявлены коронарорасширяющие вещества также в гипоталамусе свиней. Можно полагать, что эти вещества имеются в гипоталамусе всех животных и человека.

Следует отметить, что вещества *K* и *C* по своим физико-химическим особенностям заметно отличаются от известных в мозгу химических веществ и соединений.

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Տարբեր կենդանիների հիպոթալամուսից անջատված պսակաձև անոթները լայնացնող երկու նյութերի ֆիզիկա-քիմիական մի քանի հատկությունները

Սույն աշխատանքում ցույց է տրվում, որ տարբեր կենդանիների (առնետ և խոշոր եղջերավոր անասուն) հիպոթալամուսից անջատված պսակաձև անոթները լայնացնող նյութերն իրենց ֆիզիկա-քիմիական հատկությամբ նման են:

Հաջողվել է խոշոր եղջերավոր անասունների հիպոթալամուսից մաքուր վիճակում անջատել նյութ, որոնց պայմանականորեն տրվել է K և C անվանակոչումը:

Նշված նյութերը իրենց քիմիական կազմով և կառուցվածքով լրիվ տարբերվում են միմյանից: K-ն իր մեջ պարունակում է 4-ամինոթթուներ և ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներ կլանող անհայտ միացություն, որը նման չէ հայտնի նուկլեոտիդներին (դա ապացուցվել է սպեկտրալ անալիզի միջոցով տարբեր pH-ի պայմաններում ստացած տվյալների բաղադրամասերի նուկլեոտիդների հետ):

C-ն չունի ուլտրամանուշակագույն զոնայում առանձնահատուկ կլանման կորագիծ, չի հայտնաբերվում նինհիդրինի և Ռայնդլի ռեակցիաներով և ի հակառակ K նյութի, որը հիդրոլիզից հետո կորցնում է իր բիոլոգիական ակտիվությունը, C-նյութը մնում է կայուն: Թղթային քրոմատոգրաֆիայի ժամանակ այս նյութերը ունեն տարբեր Rf-0.35 և 0,15:

## Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Յ Ի Թ Յ ՈՒ Ն

1 А. А. Галоян, ДАН АрмССР, т. 34, № 3, 109 (1962). 2 А. А. Галоян, «Известия АН АрмССР», 16, 1, 1963. 3 А. А. Галоян, Вопросы биохимии мозга, т. III, ст. 291, 1967. 4 А. А. Галоян, Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, изд. «Айастан», 1965. 5 А. А. Галоян и Р. А. Алексанян, ДАН АрмССР, т. 37, № 3, 157, 1963.