

УДК 612.8.015

А. А. Галоян, Р. М. Срапшонян, Р. А. Алексанян

Некоторые данные об идентичности коронарорасширяющих соединений, отщепленных от белковых носителей с веществами «К» и «С».

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 13/V 1970)

В предыдущих работах (1,2) было показано наличие коронарорасширяющих белков в гипоталамусе ряда животных. Они водорастворимы и являются носителями низкомолекулярных коронароактивных гормонов.

В настоящей работе приводятся экспериментальные доказательства идентичности коронарорасширяющих соединений, отщепленных от вышеуказанных белков, с низкомолекулярными активными началами, условно обозначенными нами веществами К и С.

Гипоталамические белки, высаленные сернистым аммонием в пределах насыщения 0,3—0,4 (2) лиофилизировали и полученный порошок подвергли диализу против 1 и CH_3COOH в течение 48 часов. Содержимое мешочков и диализат вновь лиофилизировали.

Низкомолекулярные вещества диализата разделяли методом распределительной хроматографии на бумаге в системе растворителей бутанол—уксусная кислота—вода (5:1:4). Хроматограммы проявляли 0,5%-ным раствором йодидриина.

Биологическая активность элюатов изучалась в опытах с определением объемной скорости оттока крови из коронарного синуса (3) на кошках под уретановым наркозом.

Гелевую фильтрацию низкомолекулярных веществ диализата производили на колонке (1×50), заполненной сефадексом G—25. Навеску коронароактивного белкового препарата растворяли в дистиллированной воде до концентрации—3%; нерастворимую часть удаляли центрифугированием, а супернатант вносили в колонку. После впитывания его в гель подавали элюирующий раствор со скоростью 10 мл/час. Фракции собирали на коллекторе по 5 мл.

Активные элюаты с сефадекса G—25, сконцентрированные до 0,5 мл, подвергли электрофорезу на бумаге в цитратном буфере, pH 3,8 и нон-

ной силе—0,05 М в течение 5—6 часов, при напряжении 800 в и силе тока—25 ма.

Кислотный гидролиз полученных фракций проводили 6 н соляной кислотой в течение 24 часов. Щелочной гидролиз 1 н NaOH осуществляли в течение 5—6 часов при комнатной температуре или при 100° в течение одного часа.

Ферментативный гидролиз проводили трипсином и химотрипсином. К испытуемым образцам добавляли раствор Тироде, затем борно-боратым буфером доводили до рН 8,6, после чего добавляли фермент из расчета 40 мкг/мл и инкубировали при 37° в течение одного часа.

После диализа коронароактивных белков гипоталамуса против I и СН₃СООН, низкомолекулярные вещества выходили в диализат. Опыты показали, что диализат обладает коронарорасширяющей активностью, и то время как белки, оставшиеся в мешочках, лишены биологической активности.

Путем распределительной хроматографии на бумаге в вышеуказанной системе растворителей нам удалось в составе диализата обнаружить два активных начала, по R_f совпадающие с веществами K и C; (0,32 и 0,15 соответственно). Ниже приводим данные о биологической активности этих двух веществ.

Таблица 1

Влияние низкомолекулярных веществ, проэлюированных из бумаги, на коронарный отток

Название вещества	Увеличение объемной емкости крови
I	63 ± 3,3 %
II	163 ± 5,1 %

Как видно из таблицы, в которой представлены статически обработанные данные по влиянию внутривенного введения низкомолекулярных начал на объемную емкость крови, оттекающей из коронарного синуса, оба вещества вызывают явное увеличение скорости кровотока. При этом I фракция увеличивает коронарный отток сразу же после введения, хотя и действие его непродолжительное. Через час исходный уровень восстанавливается. Что касается II фракции, то она увеличивает объемную емкость крови спустя определенный промежуток времени, при этом увеличение происходит постепенно и достигает своего максимума через 2 часа после введения и также плавно возвращается к норме.

Гелевую фильтрацию на сефадексе G—25 применяли как для очистки активных начал, так и для дифференциации их друг от друга.

После выхода 100—110 мл элюирующего раствора выявляется активное начало, сходное по своему фармакологическому влиянию с низкомолекулярным соединением K, а по истечении 210—220 мл выходит другая коронарорасширяющая фракция, идентичная с C. Как видно из табл. 2, объемная емкость крови увеличивается в случае введения I фрак-

ини на 45%, а II—на 108% по сравнению с нормой; при этом кровяное давление почти не подвергается заметным изменениям.

При электрофоретическом разделении на бумаге водорастворимых белков нами было получено не более 4—5 фракций, причем коронароактивные фракции были анодными. При разделении низкомолекулярных пептидов при условиях, описанных выше, выявлены были только 3 ультрафиолетпоглощающих пятна, в то время как окрашивание нингидрином оказалось безрезультатным. Что касается заряда, то низкомолекулярные соединения также направляются в сторону анода.

Таблица 2
Влияние низкомолекулярных пептидов, проэлю-
нированных из колонки (сефадекс G—25), на ко-
ронарный отток

Название веществ	Увеличение объемной емкости крови
I	45 ± 2,8%
II	108 ± 4,2%

Для решения вопроса о химической идентичности этих, отщеплен-ных от белковых носителей, низкомолекулярных соединений с веществами K и C, пробы из сефадекса G—25, оконцентрированные до 0,5 мл, подвергли также различным химическим воздействиям.

После гидролиза 6 н соляной кислотой была проверена активность их в отношении коронарного оттока. При этом, введение I активной фракции не выявило заметных изменений, в то время как II фракция, идентичная по Rf с C, вызвала увеличение коронарного оттока на 100% по сравнению с нормой и воспроизводила типичную картину увеличения объемной емкости крови после введения вещества C.

Подобная картина обнаружена и после щелочной обработки I и NaOH. В этом случае после введения I фракции не замечены изменения, в то время как II фракция увеличивает коронарный отток на 73% по сравнению с нормой.

В результате воздействия протеолизических ферментов трипсина и химотрипсина на коронароактивные фракции было обнаружено следующее: фракция, идентичная K после гидролиза с вышеуказанными ферментами, не оказывает влияния на коронарный отток, а другая, идентичная по Rf с C, увеличивает объемную емкость крови на 100 и 103% соответственно.

Резюмируя вышесказанное, можно предположить, что низкомолекулярные активные вещества прочно связаны со своими специфическими носителями и их легко можно отщепить от последних. При идентификации оказалось, что по своим многим химическим свойствам эти вещества идентичны с низкомолекулярными соединениями, выделенными иными методами из гипоталамуса различных животных и условно обозначенными нами веществами K и C (*). Как те, так и другие (C подобные) не теряют своей активности после щелочной и кислой обработок, а также

после воздействия протеслитических ферментов, таких как трипсин и химотрипсин. В то же время К-подобные полностью теряют свою биологическую активность.

Непрочность связывания коронарорасширяющих веществ со своими белковыми носителями, их идентичность с гормонами К и С и возможность выхода последних из мозга в кровь при различных функциональных состояниях—все эти данные свидетельствуют о наличии стройной системы нейро-гуморальной регуляции сердечного кровообращения мозгом. Проведенные исследования выявили также немаловажную роль особых соединений поджелудочной железы, вырабатываемых эндокринными клетками этого органа, поддерживающими реактивное состояние гипоталамических холинреактивных систем и способствующих, главным образом, рефлексорным путем, отщеплению от белковых носителей К и С и их выходу из мозга в кровь.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ա. ՉԱԼՈՅԱՆ, Ռ. Մ. ՍՐԱԳԻՈՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ

Մի խմբի տվյալներ սպիտակուցային կրողներից անջատված սրտի պսակաձև անոթների լայնացնող միացությունների և «К» ու «С» նյութերի իդենտիկության մասին:

Մեր եախորդ հետազոտություններում ցույց է տրված, որ իպոթալամուսից անջատված սրտի պսակաձև անոթները լայնացնող սպիտակուցները հանդիսանում են կորոնարոակտիվ նյութերի կրողներ:

Սույն հետազոտությամբ մենք խնդիր ենք դրել անջատել կորոնարոակտիվ նյութերը իրենց կրողներից և ուսումնասիրել նրանց մի շարք ֆիզիկա-քիմիական հատկությունները:

Մեզ հաջողվել է դիալիզի միջոցով (CH_3COOH դիմաց) սպիտակուցներից պոկել ևրկու նյութեր, որոնք լայնացնում են սրտի պսակաձև անոթները:

Պարզվել է, որ եղված կորոնարոակտիվ նյութերը իրենց մի շարք ֆիզիկա-քիմիական և քիմիական հատկություններով եման են մեր կողմից իպոթալամուսից անջատված և պայմանականորեն К և С կոչված նյութներին:

