

Пров. 1973

ПРОВ 98

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
ИМ. А.О. КОВАЛЕВСКОГО
ОДЕССКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ПРОВ 2010

БИОЛОГИЯ МОРЯ

Вып. 30

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ
СТРУКТУРЫ ЮЖНЫХ МОРЕЙ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ
СБОРНИК

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»
КИЕВ—1973

ИНСТИТУТ
БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
ОДЕССКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

Как видно из приведенных данных, основным стерином в исследованных рыбах является холестерин. Содержание 7-дегидрохолестерина было обнаружено только у трех видов акул. Отсутствие 7-дегидрохолестерина у других изучавшихся видов рыб связано, очевидно, со своеобразными условиями обитания. Отсутствие стеринов у большинства изучавшихся видов рыб можно объяснить тем, что 7-дегидрохолестерин и быстродействующие стерины являются предшественниками в биосинтезе холестерина. По-видимому, у этих рыб при усиленном биосинтезе холестерина количество предшественников невелико по сравнению с конечным продуктом (холестерином), поэтому их содержание не удалось определить применяемыми методами.

Литература

- І щ у к О.Є. Визначення кількісного співвідношення метастендлу, латостерину, 7-дегідрохолестерину й холестерину в деяких органах білих щурів. - Укр. біох. журн., 1, 1969.
 Kandutsch A., Murrin E., Dreisbach M.-
 Provitamin D in Certain Sebaceous Tissues of the Mouse and Guinea Pig. - Arch. Biochem. a. Biophys., 61, 1956.
 Moore P.R., Baumann C.A. Skin sterols i Colorimetric determination of cholesterol and other sterols in skin. - J. Biol. Chem., 195, 2, 1952.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛЕНИЯ 7-ДЕГИДРОХОЛЕСТЕРИНА В НЕОМЫЛЯЕМОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ НЕКОТОРЫХ РЫБ ЭКВАТОРИАЛЬНОЙ АТЛАНТИКИ

В.А.Виноградова, Р.П.Морозова

Исследование компонентов неомыляемых фракций тканей рыб представляет большой теоретический и практический интерес, так как в их состав входят биологически активные вещества, в основном стероидной природы.

Ранее В.П.Вендтом с сотрудниками (Вендт, Кузнецова 1950; Вендт, 1953), а также Виноградовой и Вендтом (1959) было показано, что неомыляемые остатки морских беспозвоночных (моллюсков) характеризуются большим количеством 7-дегидрохолестерина и содержат кроме того вещества, идентифицированные как продукты окисления этого стерина. Оксиды 7-дегидрохолестерина обнаружены и в числе компонентов неомыляемых фракций многих органов и тканей млекопитающих (Вендт, Полякова, 1955). Со временем была разработана специфическая реакция (Дрокова, Вендт, 1959) для обнаружения продуктов окисления 7-дегидрохолестерина, которые в хлорорганических раствори-

телях в присутствии следов концентрированной HNO_3 вызывали яркую желто-зеленую флуоресценцию. Эти вещества образуются при окислении синтетического 7-дегидрохолестерина под влиянием различных катализаторов окисления (Дрокова, Вендт, 1959; Вендт, 1961; Морозова, 1969). Кроме того, в этих условиях образуются оксиды 7-дегидрохолестерина, которые обладают фиолетовой флуоресценцией в хлорорганических растворителях без добавления HNO_3 .

Один из оксидов 7-дегидрохолестерина был выделен и идентифицирован одним из авторов (Морозова, 1969) из неомыляемых фракций морских моллюсков (черноморских мидий) и тканей млекопитающих. Показана его идентичность синтетическому оксиду, полученному из суммы продуктов окисленного синтетического 7-дегидрохолестерина. Изучены некоторые биологические свойства (Морозова, 1970). В настоящее время исследование этого вещества продолжается.

Из продуктов окисления 7-дегидрохолестерина наиболее изученным является 5,8-пероксид. Впервые это вещество было получено Шенком и сотрудниками (цит. по Fürst, 1967). Пероксид был обнаружен в препаратах печени рыб Блондином и Калкарни (Blondin, Kulkarni, 1964). Предположив о нефотохимическом пути превращения 7-дегидрохолестерина в витамин D_3 у рыб, авторы считают, что 5,8-пероксид может быть промежуточным веществом на пути образования витамина D . Другие авторы (Hamilton, Casterjon, 1966) предполагают, что пероксид является промежуточным веществом в образовании Δ^5 ,7-диеновой системы на пути биосинтеза холестерина. В связи с этим представляло интерес исследовать неомыляемые остатки печени рыб с целью обнаружения продуктов окисления 7-дегидрохолестерина.

Нами были исследованы неомыляемые фракции печени рыб, выловленных в экваториальной Атлантике судами АтлантНИРО (Калининград): полосатый тунец - *Katsuwonus pelamis* (L i n n é), меч-рыба - *Xiphias gladius* (L i n n é), серо-голубая акула - мако - *Isurus oxyrinchus* R a f i n e s q u e; акула синяя - *Prionasa glauca* (L i n n é), акула-лиса - *Alopias vulpinus* (B o n a t u r e); акула-белоперая - *Pterolamiops longimanus* (R o e y). Все исследованные виды рыб являются объектом советского рыбного промысла в экваториальной и южной Атлантике. Пользуемся случаем выразить благодарность сотруднику АтлантНИРО Э.З.Самышеву за любезное предоставление материалов.

Смыление навесок печени производили обычным методом. Неомыляе-

ные вещества экстрагировали свежеочищенным диэтиловым эфиром, который затем отгоняли в вакууме. Полученный остаток, вес которого составлял 1,5 - 2,0% взятой навески сырой ткани, подвергали дальнейшему анализу. Основным стеринном, входящим в состав исследуемых неомыляемых фракций печени рыб, был холестерин, наряду с которым в значительном количестве присутствовали быстродействующие стерины. Кроме того, в состав неомыляемых фракций входят в большом количестве витамин А и различные жирорастворимые пигменты. От холестерина и быстродействующих стериннов освобождались с помощью их вымораживания. Очистку от витамина А и пигментов производили с помощью бентонита. Фильтрат затем упаривали в вакууме, сухой остаток растворяли в хлороформе (50 мг неомыляемого остатка в 1 мл) и подвергали дальнейшему исследованию.

Разделение компонентов неомыляемых остатков производили с помощью метода тонкослойной хроматографии на окиси алюминия со связующим гипсом в системе растворителей бензол - ацетон (97:3). Хроматограммы просматривали в фильтрованном ультрафиолетовом свете. Контрольные пятна испытуемых проб проявляли смесью концентрированного H_2SO_4 и H_3PO_4 в присутствии $FeCl_3$.

В результате хроматографического разделения неомыляемого остатка печени полосатого тунца на хроматограммах обнаружены восемь четко выраженных пятен (рис. 1, а). Наше внимание было обращено на первые три из них. Вещество 1, локализованное в пятне с R_f 0,85, характеризовалось желтой флуоресценцией, вещество 2, локализованное в пятне с R_f 0,70 - фиолетовой, вещество 3 с R_f 0,53 - яркой желто-зеленой флуоресценцией. По величине R_f и флуоресценции эти вещества идентичны оксидам, которые получены нами из суммы продуктов окисления синтетического 7-дегидрохолестерина.

Спектрофотометрические измерения в ультрафиолетовой области спектра показали, что все три вещества не имеют характерных максимумов поглощения (рис. 2).

Аналогичные данные получены при исследовании неомыляемых остатков печени акул и меч-рыбы (рис. 1, б и в). Кроме того, в неомыляемой фракции печени меч-рыбы было обнаружено вещество, локализованное в пятне с R_f 0,18 (рис. 1, г), идентифицированное нами только по R_f как пероксид 7-дегидрохолестерина, синтетический препарат которого получен в отделе фотобиохимии Института биохимии АН УССР Р.И. Яхимович.

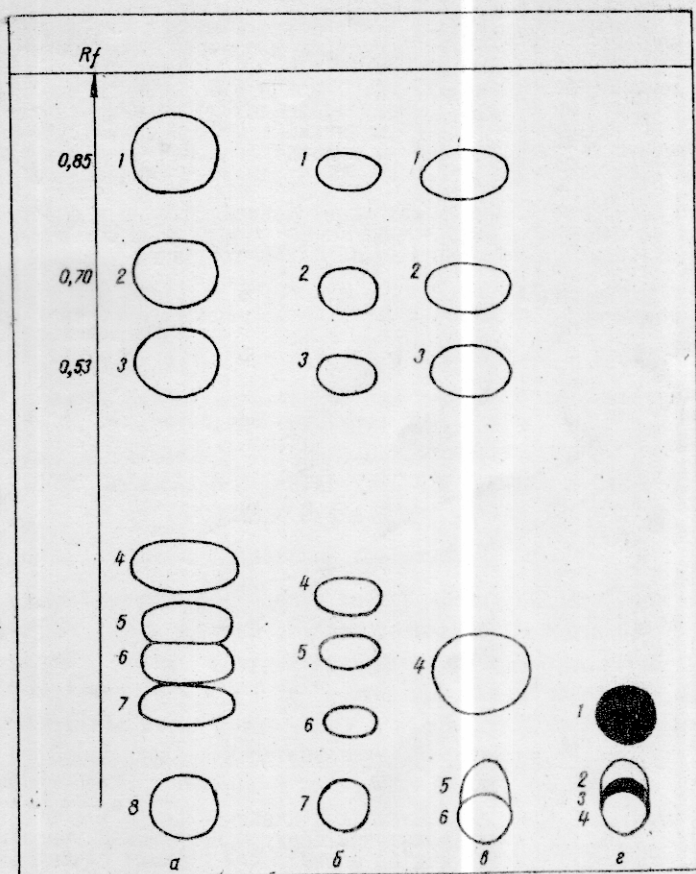


Рис. 1. Результаты хроматографического разделения неомыляемых фракций печени тунца (а), акулы (б), меч-рыбы (в) - на окиси алюминия в системе растворителей бензол - ацетон (97:3) и меч-рыбы (г) - на силикагеле КСК в системе растворителей хлороформ - ацетон (99:1).

Необходимо отметить, что проведенные исследования являются предварительными. Однако изучение химических и биологических свойств вышеприведенных веществ представляет несомненный интерес и является предметом дальнейших исследований.

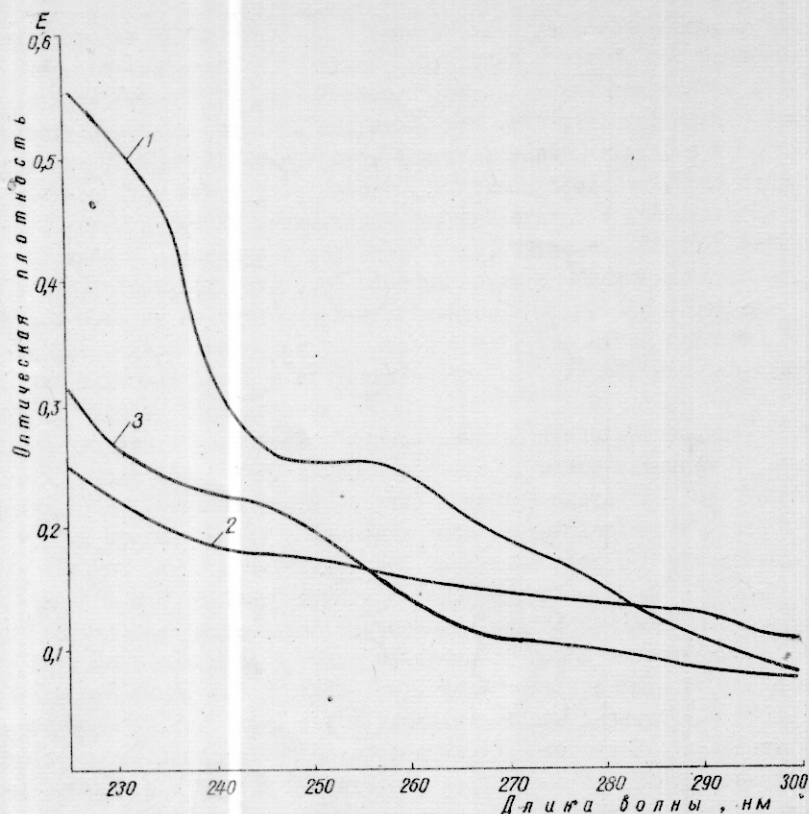


Рис. 2. Ультрафиолетовые спектры поглощения вещества 1,2,3, выделенных из неомыляемой фракции печени полосатого тунца.

Литература

Вендт В.П., Кузнецова Л.М. Досліджування неоміліваних речовин деяких безхребетних. - Укр. біох. журн., 22,2, 1950.

Вендт В.П. Беспозвоночные как источник витаминов группы Д. - В кн.: Витамины, I. К., 1953.

Вендт В.П., Полякова Н.М. Хроматографическое исследование неомыляемых веществ некоторых биологических объектов. - Тр. комиссии по аналитической химии, 6. М., 1955.

Вендт В.П. Провитамин и витамин Д₃. Автореф. докт. дисс. К., 1961.

Виноградова З.А., Вендт В.П. Провитамин Д и стерин некоторых беспозвоночных Черного моря. - В кн.: Витамины, 4. К., 1959.

Дрокова И.Г., Вендт В.П. Влияние токоферола на окисление эргостерина и 7-дегидрохолестерина кислородом, катализируемое гемоглобином. - В кн.: Витамины, 4. К., 1959.

Морозова Р.П. Дослідження одного з продуктів окислення 7-дегідрохолестерину - оксиду з Rf 0,53. - Укр. біох. журн., 4, 1969.

Морозова Р.П. Исследование химических и биологических свойств веществ с Rf 0,53, одного из продуктов окислительного превращения в организме 7-дегидрохолестерина. Автореф. канд. дисс. К., 1970.

Blondin G.A., Kulkarni B.D. Concerning the Nonphotochemical Biosynthesis of Vitamin D₃ in Fish. - J. Amer. Chem. Soc., 86, 12, 1964.

Hamilton J.G., Casterjoin R.M. - Feder. Proc., 25, 1966.

Furst W. Oxydationsprodukte des 7-Dehydrocholesterins. - Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. pharmaz. Ges., 300, 1967.

БИОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЪЕКТОВ СОВЕТСКОГО РЫБНОГО ПРОМЫСЛА В ПРИАНТАРКТИЧЕСКИХ ВОДАХ И В ЭКВА- ТОРИАЛЬНОЙ АТЛАНТИКЕ

З.А. Виноградова

По просьбе Главного управления рыбной промышленности Азово-Черноморского бассейна в нашем отделе биохимии были исследованы образцы консервов "печень натуральная" путассу - *Micromesistius (Gadus) Poutassou Risso* и "паштет из печени" нототении мраморной - *Notothenia rossii marmorata Fische*, изготовленных из рыб, выловленных в приантарктических водах.

Витамины

Витамины А определяли З.А. Виноградова и Р.П. Кандж, витамин В₁₂ - А.С. Федянин, витамин Д - Р.П. Кандж, провитамин Д, холестерин и общее содержание жира - В.А. Шевченко (табл. 1, 2, 3). В паштете из печени нототении обнаружено 216-250 и.е./г витамина А. В "печени натуральной" путассу содержание витамина А колебалось от 100 до 113 и.е./г. 20-25 г паштета из печени нототении и около 30 г печени натуральной путассу достаточно для удовлетворения суточной потребности взрослого человека в витамине А. В целом, содержание витамина А в исследованных образцах такое же, как и в печени трески.

Витамины В₁₂. Как печень путассу, так и паштет из печени нототении весьма богаты витамином В₁₂. Так, в печени путассу содержание витамина В₁₂ варьировало в пределах 0,693 - 0,721 мкг/г, а в паштете из печени нототении - от 0,598 до 0,619 мкг/г.