

Н. М. ПОЛЯКОВА

**ИЗУЧЕНИЕ СТЕРИНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА  
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

(Представлено академиком А. В. Палладиным 28 IX 1953)

Функционально различные отделы головного мозга могут характеризоваться не только отличиями в протекающих в них процессах обмена веществ, но и отличиями в химическом составе, наличием в отдельных частях специфических составных веществ, отсутствующих в других отделах головного мозга. Поэтому, ставя перед собой задачу изучения функциональной биохимии головного мозга, нельзя забывать о необходимости углубленного изучения отдельных химических веществ, являющихся структурными составными частями различных отделов головного мозга.

Несмотря на то, что в ткани головного мозга содержится большое количество липоидов и они, несомненно, играют определенную роль в обмене веществ нервной ткани, особенно образуя соединения с белковыми веществами (липопротеины), до последнего времени липоиды и, в частности, стерины головного мозга были изучены недостаточно. Это и побудило нас заняться в Институте биохимии Академии наук Украинской ССР изучением стеринов головного мозга, входящих в состав неомыляемой фракции мозговой ткани.

Имеющиеся в литературе данные о стеринах мозга в основном относятся к холестерину и говорят лишь об общем его содержании в мозгу. Они показывают, что функционально более сложные и филогенетически более молодые отделы мозга содержат стеринов меньше, чем функционально более простые и филогенетически более старые отделы нервной системы (1).

Д. П. Горизонтов (2), пользуясь для выделения стеринов чрезвычайно громоздким методом, основанным на экстрагировании мозга различными органическими растворителями, и последующим спектрофотометрическим анализом, обнаружил качественные отличия в стеринах мозга здоровых собак и больных менингоэнцефалитом; при этом отдельные стерины не были им идентифицированы.

Мы поставили перед собой задачу попытаться разделить и идентифицировать отдельные стерины головного мозга, применив для разделения компонентов неомыляемой фракции мозга метод хроматографической адсорбции М. С. Цвета. Метод Цвета уже применялся у нас в институте для разделения компонентов неомыляемой фракции некоторых беспозвоночных (3).

Работая с головным мозгом человека, мы исследовали отдельно серое и белое вещество больших полушарий мозга.

Для получения неомыляемой фракции навески белого и серого вещества (100—200 г) омылялись спиртовым раствором едкого калия. После охлаждения жидкость разбавляли водой и неомыляемую фракцию повторно извлекали в делительной воронке эфиром. Эфирную вытяжку промывали водой, сушили над безводным серноокислым натрием, фильтровали во взвешенную колбу и отгоняли эфир на водяной бане в токе углекислоты.

Для разделения компонентов полученных таким образом неомыляемых фракций белого и серого вещества больших полушарий мозга при помощи хроматографического метода эти фракции растворялись в дихлорэтано (2% раствор) и фильтровались в атмосфере  $\text{CO}_2$  через колонку Цвета, заполненную окисью алюминия (в качестве адсорбента); затем колонка промывалась сухим дихлорэтаном и элюат собирался отдельными порциями по 100 мл во взвешенные колбы. После пропускания через колонку 1200—1300 мл дихлорэтана адсорбент выталкивался из колонки и разрезался на отдельные зоны, из которых адсорбированное вещество извлекалось горячим метиловым спиртом.

Зоны обнаруживались по флуоресценции под ультрафиолетовой лампой и при помощи дихлорэтанового раствора  $\text{SbCl}_5$ .

После отгонки растворителя (на водяной бане в токе  $\text{CO}_2$ ) и сушки в эксикаторе до постоянного веса полученные вещества отдельных зон (элюаты) подвергались дальнейшему исследованию. При этом определялись температуры плавления, углы вращения хлороформных растворов и спектрофотометрические кривые окрашенных продуктов, образовавшихся после прибавления к дихлорэтановым растворам выделенных веществ реактива Либермана — Бурхардта, раствора  $\text{SbCl}_5$ , реактива Чугаева и реактива Лифшица. Кроме того, проводилась флуоресцентная реакция с азотной кислотой.

Эти исследования дали нам возможность идентифицировать отдельные компоненты неомыляемой фракции. Они прежде всего показали, что в белом и сером веществе больших полушарий головного мозга содержатся различные количества неомыляемой фракции: в белом веществе в среднем 4,2% (при расчете на влажное вещество), а в сером 1,26%, что при пересчете на сухое вещество составляет для белого вещества 14,0%, а для серого 8,0%.

Далее исследования показали, что в неомыляемой фракции белого вещества больших полушарий мозга человека на долю стеринов приходится 90%, а в сером веществе 85%, причем и в том и в другом случае главную массу стеринов составляют холестерин и его изомеры.

В составе неомыляемой фракции белого и серого вещества содержатся (в незначительном количестве) продукты окисления стеринов с двойными связями в кольце Б. Кроме стеринов и продуктов их окисления, мы обнаружили в составе неомыляемой фракции по крайней мере три пока еще нами не идентифицированных вещества с низкой точкой плавления и отрицательной реакцией на стерин (см. табл. 1 и 2).

Таблица 1

Хроматографическое разделение неомыляемой фракции серого вещества больших полушарий мозга

Элюаты из колонки Цвета	Колич. вещества в %	Характеристика основного компонента
1	2,13	Неидентифицированные углеводороды и пигменты
2	около 0,02	Продукты окисления стерина с двойными связями в кольце Б
3	47,95	Изомеры холестерина
4	4,38	Неидентифицированное вещество нестериновой природы
5	36,80	Холестерин
6	0,15	7-гидроксихолестерин
7	8,59	Углеводороды, неидентифицированные вещества нестериновой природы и пигменты

Таблица 2

Хроматографическое разделение неомыляемой фракции белого вещества больших полушарий мозга

Элюаты из отдельных зон	Колич. вещества в %	Характеристика основного компонента
1	2,76	Неидентифицированные углеводороды и пигменты
2	около 0,02	Продукты окисления стерина с двойной связью в кольце В
3	47,30	Изомеры холестерина
4	4,00	Неидентифицированное вещество нестериновой природы
5	45,50	Холестерин
6	0,10	Холестерин
7	3,44	Углеводороды и неидентифицированные вещества нестериновой природы

Исследование стеринов белого и серого вещества головного мозга показало, что в сером веществе содержится 7-гидроксихолестерин, которого мы не обнаружили в составе белого вещества головного мозга человека (см. табл. 1 и 2 и рис. 1).

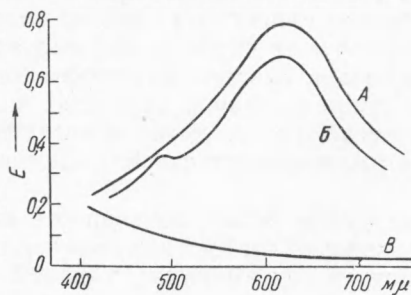


Рис. 1. Спектрофотометрические кривые продуктов реакции синтетического 7-гидроксихолестерина (А) и элюатов № 6 из серого (Б) и белого вещества мозга (В) с реактивом Лифшица

На рисунке приведены спектрофотометрические кривые синтетического 7-гидроксихолестерина и элюатов № 6 из белого и серого вещества, обработанных реактивом Лифшица. Эти кривые показывают, что элюат из серого вещества дает кривую, тождественную с кривой 7-гидроксихолестерина, т. е. что последний содержится в сером веществе больших полушарий; элюат из белого вещества, как видно из рисунка, кривой 7-гидроксихолестерина не дает.

Следует отметить, что 7-гидроксихолестерин привлекал к себе внимание исследователей как возможный промежуточный продукт стеринового обмена; он, например, образуется в качестве промежуточного продукта при синтезе провитамина D из холестерина.

Вопрос о наличии 7-гидроксихолестерина в тканях животного организма до последнего времени оставался спорным (<sup>4</sup>, <sup>2</sup>). Наши данные, полученные при помощи хроматографического метода, твердо установили наличие 7-гидроксихолестерина в сером веществе больших полушарий головного мозга человека.

Таким образом, применение хроматографического метода Цвета позволило нам идентифицировать различные стерины, содержащиеся в се-

ром и белом веществе больших полушарий головного мозга человека, и показать, что функционально различные отделы головного мозга (серое и белое вещество) отличаются по содержанию в них стерина, в частности, что в сером веществе общее содержание стерина меньше, чем в белом веществе, и что в сером веществе содержится 7-гидроксихолестерин, которого нет в белом. Вместе с тем и общее количество неомыляемой фракции в сером веществе меньше, чем в белом.

Институт биохимии  
Академии наук Укр.ССР

Поступило  
10 IV 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. В. Палладин, Е. Я. Рашба, Р. Я. Гельман, Укр. биохим. журн., 8, 5 (1935). <sup>2</sup> Д. П. Горизонтов, Биохимия, 5, 102 (1940). <sup>3</sup> В. П. Вендт, Витамины, Сборн. АН Укр. ССР, 1, 106 (1953). <sup>4</sup> J. Lifschütz, Arch. Pharmak., 265, 450 (1927).