

УДК 591.105.56—13—42

БИОХИМИЯ

Г. В. Камалян, М. Г. Гаспарян, Н. Г. Варганян, Э. Я. Бабиня

К вопросу выявления ацетилпроизводных этаноламина в организме

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. А. Галояном 7 VI 1971)

Этаноламин широко распространен в растительном и животном организмах, и биологическое действие его многообразно. Он оказывает благотворное влияние на желудочно-кишечную секрецию, повышает многие процессы метаболизма, в частности белковый, углеводный обмены, усиливает ферментативную активность и др. (1-3). Показано, что одной из сторон механизма действия этаноламина является интенсификация окислительных процессов в организме (4).

Представляет несомненный интерес выявление и изучение биологического действия производных этаноламина, и в частности ацетилпроизводных, поскольку процессы ацетилирования в организме играют далеко не последнюю роль. Так, обнаружены в организме и изучены многие N-ацетиламиноокислоты, N-ацетилнейраминная кислота, ацетилглюкозамин, ацетилхолин и др.

Так как холин является исчерпывающе метилированным этаноламином, а ацетилхолин синтезируется в организме и значение его, прежде всего как медиатора, установлено, возможно предположить наличие в организме и ацетилпроизводных этаноламина. Поэтому мы поставили задачу попытаться выявить O- и N-ацетилэтанолламины в организме.

Из литературы известны синтезы как O-ацетилэтанолламина (аминоэфира, так и N-ацетилэтанолламина (оксиамида). Что касается констант O-ацетилэтанолламина, только в работе Крана и Ридона (5) упоминается температура кипения и коэффициент преломления этого вещества. В работах других авторов указывается температура плавления хлористоводородной соли (6-7) и пикрата (8).

С точки зрения изучения O-ацетилэтанолламина наибольший интерес представляет статья Портера, Ридона и Шефилда (9), в которой говорится о неустойчивости O-ацетилэтанолламина и превращении его в N-ацетилэтанолламин. Опыты с наполовину нейтрализованным раствором O-ацетилэтанолламин гидрохлорида показали снижение pH в 3 дня от 8,6 до 5,2, а бумажная хроматография в конечном растворе этого вещества обнаружила наличие и O- и N-ацетилэтанолламинов (O-ацетилэта-

ноламин нингидрин-положительный, N-ацетилэтаноламин нингидрин-отрицательный, хлор-положительный). Авторы делают вывод, что O-ацетилэтаноламин, полученный из хлористоводородной соли, синтезированной по Крану и Ридону (5) из этаноламина, уксусной кислоты и HCl, претерпевает изменения и является уже не O-ацетилэтаноламином, а N-ацетилэтаноламином, так как дает нингидрин-отрицательную реакцию и не дает пикрат.

Об этом превращении говорят и наши опыты. Попытки вывести Rf O-ацетилэтаноламина, синтезированного по Крану и Ридону (5), на адсорбенте окиси алюминия (метод тонкослойной хроматографии) не увенчались успехом.

Таким образом, O-ацетилэтаноламин — вещество не устойчивое.

В связи с вышесказанным наши усилия были направлены на определение оптимальных условий выявления N-ацетилэтаноламина.

Испытав многие методы обнаружения аминов (бумажная хроматография, электрофорез), мы остановились на методе хроматографии в тонких слоях.

Препарат N-ацетилэтаноламин был нами синтезирован по методу Фрэнкеля, Корнелюса (10) из этаноламина и хлористого ацетила. Так как вещество было получено в жидком виде, а имеющиеся в литературе данные (11-15), характеризующие его, противоречивы, мы уточнили константы N-ацетилэтаноламина. Т. к. 151° (1 мм),  $n_D^{20}$  1,4720,  $d_4^{20}$  1,1212. Найдена  $M_{RD}$  25,816. Вычислена  $M_{RD}$  25,807.

Метод тонкослойной хроматографии предполагает использование ряда адсорбентов. Из литературы (16) следует, что для оснований чаще всего в качестве адсорбента применяется окись алюминия и растворитель вода—бутанол—уксусная кислота в соотношении 5:4:1.

Мы применяли адсорбент «окись алюминия для хроматографии», III активности по Брокману, в виде незакрепленного слоя и растворитель вода—бутанол—уксусная кислота в соотношении 5:4:0,5, оказавшийся, как было нами установлено, наиболее удачным для разгона аминов. Однако, как явствует из литературы (17), растворитель из  $n$  компонентов образует, как правило,  $n$  различных зон, которые отделены друг от друга ( $n-1$ ) фронтами. Растворитель вода—бутанол—уксусная кислота образовывал на окиси алюминия 2 фронта, и пятно N-ацетилэтаноламина мы получили на границе внутреннего фронта. Проявление пятен на пластинке проводили парами воды. Многочисленные наши наблюдения с вариациями растворителей, вплоть до исключения одного из компонентов, привели к выявлению наиболее оптимального, которым оказался вода—бутанол в соотношении 5:4. Применением этого растворителя мы получили отчетливое пятно N-ацетилэтаноламина с Rf 0,73.

В литературе (18) известен метод определения этаноламина в бутаноловом экстракте животных тканей. Для проверки наличия N-ацетилэтаноламина в этом экстракте мы применили метод хроматографии в тонких слоях, сохранив те же условия, что и при выведении Rf N-ацетилэтаноламина. Готовили бутаноловые экстракты печени и мозга белых

крыс весом 180—200 г. Другими нашими исследованиями с применением метода хроматографии для фосфолипидов Маринетти и Стотца (19) показано, что указанный экстракт содержит два пятна, соответствующие фосфолипидам. Поэтому мы наряду с экстрактами тканей использовали этаноламин и лецитин. Этанолламин тщательно очищен, т. к. 165° (680 мм),  $n_D^{20}$  1,4539. Лецитин фирмы Sigma Chemical Company. Кефалин фирмы Sigma Chemical Company, в бутаноле не растворяется.

Таблица 1

Rf «свидетелей» и пятен экстракта печени\* на окиси алюминия в растворителе вода—бутанол (5:4). Проявление парами иода

Этанол-амин	N-ацетил-этанолламин	Лецитин		Экстракт печени		
		I пятно	II пятно	I пятно	II пятно	III пятно
0,09	0,73	0,22	0,32	0,10	0,22	0,31

\* Экстракт мозга дал пятна с такими же значениями Rf.

Как видно из табл. 1, экстракты печени и мозга дали аналогичную картину, а именно три пятна с соответствующими Rf: 0,10, 0,22, 0,31. Rf этаноламина равняется 0,09, лецитин дал два пятна с соответствующими Rf 0,22 и 0,32. Таким образом, Rf первого пятна тканевых экстрактов соответствует Rf этаноламина, а следующие два пятна экстрактов совпадают с пятнами лецитина.

Следовательно, в бутаноловом экстракте печени и мозга N-ацетилэтанолламин не обнаружен.

Ереванский зоо-техническо-ветеринарный институт

Գ. Ո. ՔԱՄԱՇԱՆ, Մ. Գ. ԴԱՍՊԱՐՅԱՆ, Ն. Գ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Է. Ե. ԲԱՔԻՆԱ

Օրգանիզմում կրանոլամինի ացետիլադանցյալների հայտնաբերման հարցի մասին

Ներկայացվող աշխատության մեջ մեր առաջ խնդիր է դրված պարզելու կա՞ն արդյոք կենդանու օրգանիզմում էթանոլամինի O- և N-ացետիլ ածանցյալները:

Գրականության տվյալներից և մեր փորձերից պարզվում է, որ O-ացետիլ-էթանոլամինը անկայուն է, ուստի մեր ջանքերը ուղղվեցին N-ացետիլ-էթանոլամինի հայտնաբերման գործին:

Մեր լաբորատորիայում սինթեզված N-ացետիլէթանոլամինը մանրակրկիտ կերպով մաքրելուց հետո որոշվեցին նրա հաստատունները՝ եռման կետ-151° ց. (1 մմ),  $n_D^{20}$ —1,4720,  $d_4^{20}$ —1,1212, դտնված է  $MR_D$ —25,816, հաշվարկված է  $MR_D$ —25,807,

Բարակաշերտ քրոմատոգրաֆիկ եղանակով որոշված է պրեպարատի Rf: Օգտագործված է քրոմատոգրաֆիայի համար ալյումինի օքսիդ աղսորբենտը՝ ըստ Բրոկմանի III-ակտիվությանը, ոչ ամրապնդվող շերտի ձևով: Որպես

լուծիչ օգտագործված է ջուր-բութանոլ 5:4 հարաբերությամբ: Նյութի հետքերի արտածումը կատարված է թիթեղի վրա յոդի գոլորշիների միջոցով: N-ացետիլէթանոլամինի  $R_f=0,73$ :

Մեր խնդիրն է պարզել կա՞րդյոք օրգանիզմում N-ացետիլէթանոլամինի սինթեզի շերտի վրա կաթնցված է լյարդի և ուղեղի բութանոլային էքստրակտից մաքուր էթանոլամին և լեցիտին:

Փորձի արդյունքը ցույց տվեց, որ հյուսվածքի էքստրակտը տալիս է ևրեր հետքեր, որոնցից առաջինը համապատասխանում է էթանոլամինին, իսկ մյուս երկուսը լեցիտինին:

#### ЛИТЕРАТУРА — ՉՐԱՎԱՆՈՒՄՆԵՐ

- 1 Г. В. Камалаян, Колламин и его биологическое значение, Ереван, 1960. 2 Г. В. Барсегян, «Известия АН Арм. ССР» (биол. науки), т. 17, № 9 (1964). 3 А. А. Мнацаканян, «Биологический журнал Арменин», т. 19, № 12 (1966). 4 М. Г. Гаспорян, Автореферат, Ереван, 1967. 5 С. W. Crane а. N. N. Rydon, J. Chem. Soc., 50 (1947). 6 Udo Hanke, Mühlenlab., 10, 33—46 (1940). 7 M. W. Kirkwood а. G. F. Wright, J. Org. chem. 18, 629—42 (1953). 8 Beilsteins, 1929. 9 G. R. Porter, H. N. Rydon et al., J. Chem. Soc., 2686—90 (1960). 10 Frankel, Cornelli, снр. Berichte, т. 51, 1657 (1918). 11 R. Lange а. H. Wahl, Bull. Soc. chim., 340—41 (1951). 12 F. Dullin а. J. Stewart, J. Chem. Soc., 2966—7 (1955). 13 S. C. Temin, J. Org. Chem., 21, 250—1 (1956). 14 P. de Benneville et al., Chemical Abstracts, т. 52 (1958). 15 Ю. М. Боярчук и др., Журнал структурной химии, 7, 620—2, 1966. 16 А. А. Ахрем, А. И. Кузнецова, Тонкослойная хроматография, М., 1965. 17 Э. Шталь, Хроматография в тонких слоях, М., 1965. 18 Г. В. Барсегян, «Лабораторное дело», № 1, 20—22, 1966. 19 G. W. Marletty а. E. Stolz, Biochem., Biophys. acta, 137, 571 (1960).