

УДК 547.91

БИОХИМИЯ

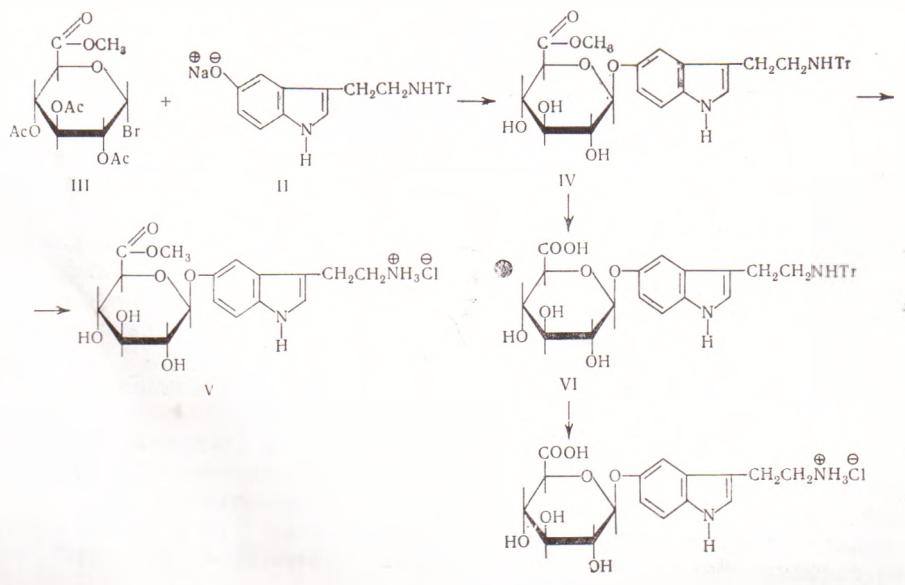
Н. Н. СУВОРОВ, Л. С. КРАСАВИНА, Л. М. МОРОЗОВСКАЯ,  
Н. П. КОСТЮЧЕНКО, М. И. ВЕРХОВЦЕВА, С. С. ЛИБЕРМАН,  
Л. Н. ГЕРЧИКОВ

**СИНТЕЗ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ  
О-ГЛЮКУРОНИДА СЕРОТОНИНА**

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 20 II 1973)

Одним из важных метаболитов биогенного амина серотонина является его глюкуронид. Образование последнего в организме, как полагают, наряду с окислительным дезаминированием служит целям инактивации амина<sup>(1)</sup>. Поскольку глюкуронид серотонина не был выделен из природных объектов в чистом виде и не был получен синтетически, его строение как О-глюкуронида и биологическая роль были постулированы на основании косвенных соображений. С целью восполнения этого пробела в биохимии серотонина нами был осуществлен синтез этого метаболита, доказано его строение как О-β-D-глюкуронида 5-окситриптамина (I), проведена биохимическая идентификация и изучена его фармакологическая активность.

Взаимодействием натриевой соли N-тритилсеротонина (II) с метиловым эфиром 1-бром-1-дезокси-2,3,4-три-O-ацетил-α-D-глюкопирануроновой кислоты (III) в сухом хлористом метилене при комнатной температуре была получена смесь веществ, из которой после хроматографирования на силикагеле выделен метиловый эфир О-(β-D-глюкопирануронозил)-N-тритил-5-окситриптамина (IV). Помимо IV были выделены исходный N-тритилсеротонин и ацетокси-N-тритилсеротонин, образование которого указывало на происходившее во время реакции переацетилирование. Строение продукта переацетилирования доказано сравнением с зарекомендовавшим образцом ацетокси-N-тритилсеротонина (2).



В спектре п.м.р. IV (растворитель  $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$ ) наблюдались два триплета метиленовых протонов боковой цепи при 2,31 и 2,87 м.д., мультиплет от углеводных протонов с центром при 3,6 м.д., дублет аномерного протона при 4,82 м.д. с  $J = 7,6$  Гц, синглет от метильных протонов сложно-эфирной группы при 3,71 м.д. и мультиплеты от протонов тритильной группы и индольного цикла в интервале 6,8–7,4 м.д.

Удалением тритильной защиты у IV путем кипячения его гидрохлорида в спирте (<sup>4</sup>) был получен гидрохлорид метилового эфира O-( $\beta$ -D-глюкопирануронозил)-серотонина (V).

В спектре п.м.р. V (растворитель D-ДМФА) наблюдались синглет от протонов сложноэфирной группы при 3,68 м.д., дублет аномерного протона при 5,05 м.д. с  $J = 7,5$  Гц и мультиплеты от протонов индольного цикла в интервале 6,85–7,45 м.д. Сигналы метиленовых протонов боковой цепи и протонов углеводного остатка маскируются сигналами растворителя и протонов гидроксильных групп. При последующем омылении сложноэфирной группы V в различных условиях (спиртовая щелочь, аммиак и др.) не удалось получить I в индивидуальном виде.

I был получен (в виде гидрохлорида) следующим образом: при обработке IV метанольным раствором едкого кали (рН 9) в течение 24 час. при комнатной температуре была омылена сложноэфирная группа и метанольный раствор пропущен через ионообменную смолу КУ-2 (в Н<sup>+</sup>-форме). После упаривания метанольного раствора в вакууме досуха остаток O-( $\beta$ -D-глюкопирануронозил)-N-тритил-5-окситриптамина (VI) был растворен в абсолютном этаноле и добавлением спиртового раствора хлористого водорода и абсолютного эфира был выделен его гидрохлорид. При кипячении гидрохлорида VI в 96% спирте в течение 1 часа была удалена тритильная защита и разбавлением раствора абсолютным эфиром был выделен гидрохлорид I в чистом виде.

В спектре п.м.р. I (растворитель  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) наблюдались сигналы: мультиплеты от протонов метиленовых групп и протонов углеводного остатка при 3,1–4,2 м.д., дублет аномерного протона при 4,97 м.д. с  $J = 6,3$  Гц. В ароматической области в интервале 7,0–7,5 м.д. присутствуют сигналы от протонов индольного цикла. К.с.с.в. аномерного протона позволяет говорить о  $\beta$ -конфигурации O-глюкуронозида I.

Характеристика синтезированных соединений приведена в табл. 1.

I был использован в качестве свидетеля в серии биологических опытов. Продукты обмена серотонина определяли в моче кроликов, которую собирали в течение суток. Серотонин вводили в дозе 10 мг/кг внутривенно и параллельно вели соответствующие определения с контрольными животными. Собранный мочу лиофилизировали и проводили хроматографическое разделение содержащихся в ней веществ. Хроматографическая подвижность определяемых продуктов обмена серотонина в различных системах оказалась одинаковой с хроматографической подвижностью аналитически чистых 5-оксииндолилуксусной кислоты (5-ОИУК) и синтезированного I (табл. 2). Идентичность соединений была также подтверждена у.-ф. спектрами. Количественное содержание I и 5-ОИУК в моче определяли спектрофотометрически при 275 нм и рассчитывали концентрацию по калибровочным кривым. Для построения кривых были взяты аналитически чистые 5-ОИУК и I.

Известно, что метаболизм серотонина протекает, в основном, по пути его окислительного дезаминирования до 5-ОИУК. Введение серотонина кроликам приводит к увеличению содержания серотонина и его двух метаболитов в моче. Однако концентрация I в моче возрастает всего на 40%, а содержание 5-ОИУК почти в три раза (табл. 3). По-видимому, в присутствии серотонина активность моноаминооксидазы значительно выше, чем активность фермента, осуществляющего перенос глюкуроновой кислоты с УДФ-глюкуроновой кислоты на серотонин с образованием I.

При фармакологическом исследовании O- $\beta$ -D-глюкуронозида серотони-

Таблица 1

Вещество	Температура пл., °C	Растворитель	$[\alpha]_D^{20}$	$R_f$		$E^{**}$		И. к. спектр, см <sup>-1</sup>	Найдено, %					Формула	Вычислено, %				
				A *	B *	1	2		C	H	N	H <sub>2</sub> O	Cl'		C	H	N	H <sub>2</sub> O	Cl'
I	145, разл.	Метанол-эфир	—87,9, $C = 0,6$ метанол	0,67	—	0,83	0,87	3250—3400 (—H, —OH) 1730 (—COOH)	46,24	5,90	6,88	—	8,30	$C_{16}H_{21}N_2O_7Cl \cdot 1,5H_2O$	46,23	5,82	6,74	6,73	8,54
IV	184—186	Спирт	—38,5, $C = 1,0$ , ацетон	—	0,45	—	—	3400 (—H, —OH) 1740 (—COOCH <sub>3</sub> )	69,85	6,10	4,30	1,31	—	$C_{36}H_{36}N_2O_7 \cdot 0,5H_2O$	69,98	6,04	4,53	1,40	—
V	156, разл.	Спирт-эфир	—96,2, $C = 1,2$ , метанол	0,65	—	—	—	3400 (—H, —OH) 1740 (—COOCH <sub>3</sub> )	—	—	—	—	8,04	$C_{17}H_{23}N_2O_7Cl \cdot 1,5H_2O$	—	—	—	6,28	8,26
VI	153, разл.	Спирт-эфир	—	0	0	0,69	0,68	—	—	—	—	—	5,31	$C_{35}H_{34}N_2O_7 \cdot 1,5H_2O$	—	—	—	4,54	5,39

\* А — ленинградская бумага, 20% водный раствор KCl; Б — т-с.х. — силуфол, этилацетат — хлороформ (5 : 1), проявляли реактивом Эрлиха при 100—120°;

\*\* E — подвижность при электрофорезе: 1 — карбонат-бикарбонатный буфер pH 10,7,2 — боратный буфер pH 9,2. За единицу принята подвижность триптофана.

Таблица 2

Серотонин и продукты его обмена в разных системах растворителей

Вещество	Серотонин	5-ОИУК	I
Бутанол-уксусная кислота-вода (12 : 3 : 5)	0,5	0,8	0,16
20% раствор KCl	0,37	0,45	0,65
Метанол-бутанол-бензол-вода (2 : 1 : 1 : 1)	0,6	0,55	0,17
Пропанол-аммиак-вода (20 : 1 : 2)	0,54	0,18	0,02

Таблица 3

Содержание серотонина и продуктов его обмена в суточном объеме мочи кроликов (мг)

Условия опыта	Серотонин	5-ОИУК	I
При введении серотонина в дозе 10 мг/кг	0,64±0,05	5,8±0,08	0,84±0,07
Контроль	0,11±0,05	2,1±0,06	0,53±0,02

на было установлено, что он примерно в 1000 раз менее активен, чем серотонин, по способности сокращать изолированный рог матки крысы и вызывать бронхоспазм у морских свинок при внутривенном введении (показатели, характерные для действия серотонина). Таким образом, можно считать доказанным, что образование О-глюкуронозида серотонина является одним из путей его инактивации в организме.

Спектры п.м.р. сняты на спектрометре JNM4H-100, стандарт ТМС. Измеряли поглощение растворов в у.-ф. свете при 275 нм на спектрофотометре СФ-4. И.-к. спектры сняты в вазелиновом масле на приборе Перкин — Эльмер 457. Определение  $[\alpha]_D$  проводили с помощью автоматического поляриметра А-1-ЕПЛ-ВНИЭКИ.

Химико-технологический институт  
им. Д. И. Менделеева

Поступило  
12 II 1973

Всесоюзный научно-исследовательский  
химико-фармацевтический институт  
им. С. Орджоникидзе  
Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> H. Blaschko, W. Levine, Handb. Exp. Pharmacol., 19, N. Y., 1966, p. 235.
- <sup>2</sup> Л. М. Морозовская, Г. И. Ильина, Н. Н. Суровов, Хим.-фарм. журн. № 3, 11 (1968). <sup>3</sup> G. N. Bollenback, J. W. Long et al., J. Am. Chem. Soc., 77, 3310 (1955). <sup>4</sup> Л. С. Красавина, Н. П. Костюченко и др., ДАН, 193, 3 (1971).