

тиамином повреждений кристаллинов хрусталика, вероятно, вызвано конкурентной реакцией протекающей с высокой скоростью между синглетным кислородом и тиазоловым компонентом тиамин. Обсуждается роль тиамин и производных тиамин как перспективного класса антикатарактальных препаратов.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда БРФФИ, грант № M14-091.

Литература

1. Степура И.И., Степура В.И. // Окисленные производные тиамин. Механизмы образования под действием активных форм азота, кислорода и в реакциях, катализируемых гемопротеинами. 2014. – LAP LAMBERT Academic Publishing, – p. 280.
2. Dzhagarov B. M. et al. Quantum yield of photosensitized formation of singlet oxygen by vitamins of the B6 group and their adducts with amino acids and proteins // J Appl Spectrosc. – 1994. – V. 61, – №. 1. – P. 505–508.

ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА, КАТАЛИЗИРУЕМОЕ МЕТМИОГЛОБИНОМ И ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА, В ПРИСУТСТВИИ ПАРАЦЕТАМОЛА

Лабор С.А.¹, Степура В.И.², Смирнов В.Ю.³, Степура И.И.¹,
Янцевич А.В.⁴

¹Институт биохимии НАН Беларуси, Гродно, Беларусь

²Гродненский госуниверситет им Я. Купалы, Гродно, Беларусь

³Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

⁴Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Многочисленными исследованиями показано, что при взаимодействии пероксида водорода с гемопротеинами, в том числе с миоглобинами и гемоглобинами, формируются высокореакционные оксоферрильные формы гемопротеинов, которые окисляют биомолекулы и инициируют перекисное окисление липидов. Обе оксоферрильные формы гемоглобина – соединение I [1] и соединение II были обнаружены в крови при физиологических условиях.

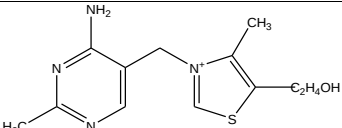
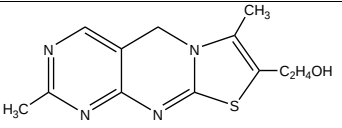
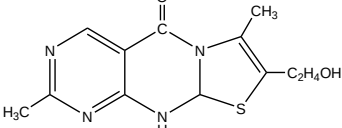
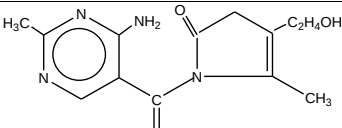
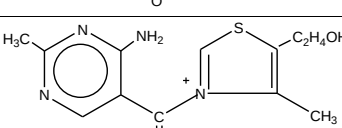
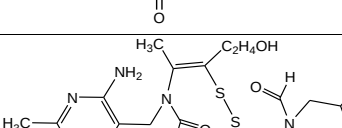
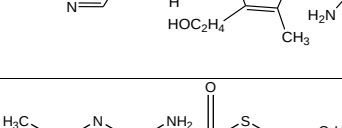
Мы показали, что в присутствии тиамин наблюдается возрастание скорости трансформации оксоферрильных форм гемопротеинов в ферри-

формы. Процесс восстановления оксоферрильных форм миоглобина или гемоглобина сопровождался окислением тиаминна с образованием тиохрома, оксодигидротиохрома и тиаминдисульфида. Тиохром, оксодигидротиохром и тиаминдисульфид тиаминна были идентифицированы методом ВЭЖХ. Время удерживания стандартов – тиохрома, оксодигидротиохрома, тиаминдисульфида хорошо совпадало с временем удерживания соединений полученных после инкубации тиаминна в растворах и разделенных методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent-1100, оснащенного диодно-матричным детектором.

Концентрацию продуктов окисления тиаминна, образованных после инкубации тиаминна с метмиоглобином и пероксидом водорода, определяли спектрально-флуоресцентными методами. Максимум в электронном спектре поглощения тиохрома находится при 365 нм, а максимум поглощения оксодигидротиохрома - при 342 нм. Первоначально в растворе, содержащем метмиоглобин, пероксид водорода и тиамин, преимущественно образуется тиохром и небольшие количества оксодигидротиохрома. По данным ВЭЖХ после длительной инкубации в растворе (например, 0,5-3 часа) наблюдается увеличение содержания оксодигидротиохрома. Максимум поглощения суммарного пика продуктов окисления тиаминна смещается в коротковолновую область (менее 350 нм), что также свидетельствует о высоком содержании в растворе оксодигидротиохрома. После инкубации смеси в течение 24 часов основным продуктом в растворе также является оксодигидротиохром, но также регистрируются продукты дальнейшего окисления оксодигидротиохрома.

Тиамин-монофосфат и тиаминдифосфат в отличие от тиаминна стабильны и не испытывают окислительных превращений с образованием фосфатов оксодигидротиохрома даже после длительной инкубации в смеси с метмиоглобином и пероксидом водорода. В смеси, содержащей ТДФ, пероксид водорода и метмиоглобин образуются небольшие количества тиохром-дифосфата в сравнении с количеством тиохрома образовавшегося в растворах, содержащих тиамин. Эти результаты позволяют предположить, что вход в гемовый карман для молекул фосфорных эфиров тиаминна затруднен по сравнению с молекулами тиаминна.

Табл.1. Структурные формулы тиамин и продуктов окислительной трансформации тиамин

Структурная схема	Название соединения
 $m/z=265.11$	Тиамин
 $m/z=263.09$	Тиохром (Tx)
 $m/z=279.09$	Оксодигидротиохром
 $m/z=305.11$	Оксотиаминтиазолон
 $m/z=280.11$	Оксотиамин
 $m/z=563.22$	Тиаминдисульфид (TS-ST)
 $m/z=280.11$	Тиамин-тиазолон

Методом масс-спектрометрии показано, что растворы тиамин-тиазолон (m/z=265,11) после инкубации с метмиоглобином и пероксидом водорода кроме тиохрома (m/z = 263,09), оксидигидротиохрома (m/z = 279,09), тиамин-дисульфида (m/z = 563,22) содержат тиамин-тиазолон (m/z = 280,11), оксотиамин (m/z = 280,11), оксотиамин тиазолон (m/z = 305,11). Тиамин-тиазолон и оксотиамин имеют одинаковую молекулярную массу, но различаются по временам удерживания на хроматограмме. Кроме того, метод масс-спектроскопии позволяет обнаружить в следовых количествах продукты окисления тиольной формы тиамин-тиазолон, предположительно, тиамин-сульфеновую кислоту (m/z = 297), тиамин-сульфоновую кислоту (m/z = 313), тиамин-цистеиновую кислоту (m/z = 329). В присутствии высоких концентраций парацетамола тиамин превращается только в тиохром, а выход оксидигидротиохрома, тиамин-тиазолон и других продуктов окисления тиамин-тиазолон полностью ингибируется. В этих условиях ингибируются двухэлектронные реакции окисления тиамин-тиазолон с участием оксоферрильного комплекса гема и в растворе протекают только одноэлектронные реакции окисления тиамин-тиазолон феноксильными радикалами. Полученные результаты позволяют предположить, что окисление тиохрома в оксидигидротиохром в двухэлектронных реакциях, а также псевдопероксидазное окисление тиамин-тиазолон, сопряженное с окислением парацетамола, тирозина в одноэлектронных реакциях может выступать в качестве факторов, препятствующих накоплению токсичной оксоферрильной формы миоглобина при окислительном стрессе. Антиоксидантный эффект тиамин-тиазолон в присутствии парацетамола усиливается вследствие образования тиохрома, который эффективно восстанавливает оксоферрильные формы миоглобина в ферри-формы.

Литература

1. Svistunenko D.A., et al., The globin-based free radical of ferryl hemo-globin is detected in normal human blood // J Biol Chem, – 1997. – V. 272. – P. 7114–7121.