

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ 4-МЕТИЛ-5- $\beta$ -ОКСІЕТИЛТІАЗОЛУ В ТКАНИНАХ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ БІЛИХ ЩУРІВ

А. Захаров, С. Петров

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Інститут біохімії  
провул. Шампанський, 2, Одеса 65058, Україна  
e-mail: asternotus@gmail.com

У ході дослідження вивчено вміст метаболіту тіаміну – 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи білих щурів. Дослідження вмісту метаболіту в органах і тканинах травної системи допоможе найкраще зрозуміти метаболічні шляхи тіаміну, а також прояв його некоферментних властивостей. Для визначення концентрацій метаболіту використовували модифіковану методику фармакологічного визначення тіаміну з розділенням на фракції за допомогою ДЕАЕ-целюлози. Було встановлено, що 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол утворюється в органах травної системи з різною швидкістю. На першому місці – у печінці, на другому місці – у шлунку, на третьому місці – у тонкому кишківнику та на четвертому – у підшлунковій залозі. При дослідженні вмісту й утворення 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи білих щурів було встановлено, що кількість утвореного 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи білих щурів описується таким співвідношенням: шлунок : печінка : підшлункова залоза : тонкий кишківник, відповідно: 4:5:1:3. Отримані дані свідчать про наявність функціональної ролі 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу у травній системі.

*Ключові слова:* 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол, тіамін, метаболіти, ДЕАЕ-целюлоза.

4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол являє собою метаболіт тіаміну (вітаміну В<sub>1</sub>). До недавнього часу функції тіаміну досліджували в контексті його перетворення у тіамінфосфати та участі у функціонуванні відповідних ТПФ-залежних ферментів. Роль інших метаболітів тіаміну, до яких і належить 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол, вивчалася значно менше і потребує подальших досліджень [7].

Дослідження вмісту метаболіту в органах і тканинах травної системи допоможе найкраще зрозуміти метаболічні шляхи тіаміну, а також прояв його некоферментних властивостей.

4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол являє собою безбарвну рідину (рис. 1). Речовина розчиняється у воді та в органічних розчинниках.

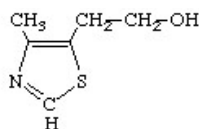


Рис. 1. 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазол.

Як і молекули інших азолів, молекула тіазолу має гетероароматичну  $\beta\pi$ -електронну систему. За своїми хімічними властивостями тіазол наближається до піридину і тіофенів.

Тіазол вступає в реакції електрофільного заміщення, але його реакційна здатність знижується внаслідок N-протонування або комплексоутворення з кислотами Льюїса.

Однак за відсутності кислот Льюїса реакції електрофільного заміщення, зокрема, нітрування в середовищі оцтового ангідриду і бромовання в бензолі, йдуть у положенні 5 за механізмом утворення  $\sigma$ -комплексу. При цьому реакційна здатність зменшується в ряду  $5 > 2 > 4$  положення [4]. Ці хімічні властивості 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу створюють передумови для створення методу визначення вмісту цього метаболіту в біологічному матеріалі.

Досліджено, що тіазолове кільце бере участь в утворенні змішаних дисульфідів. Тіазоловий компонент тіаміну бере участь у синтезі аскорбінової кислоти, зокрема, в перетворенні глюконової кислоти в аскорбінову. Цей метаболіт здатний захищати кислоту від окислення. Вищезазначена властивість пов'язана з тіазоловим кільцем. Досліджено, що тіазоловий компонент тіаміну, який утворюється в організмі за рахунок тіаміназної реакції, проявляє аналогічний захисний ефект. Важлива роль 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу також у регуляції активності низки ферментів нервової, а також і травної систем [7].

Метою роботи було визначити вміст 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу, що утворюється у травній системі під час метаболізму тіаміну, в органах і тканинах травної системи.

Мета і гіпотеза зумовили такі завдання дослідження:

1. Визначити концентрації 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу, які утворюються в органах травної системи білих щурів;
2. Визначити співвідношення концентрацій метаболіту в різних тканинах травної системи білих щурів;
3. Визначити інтенсивність утворення 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи.

#### Матеріали та методи

Експерименти проводили на кафедрі біохімії ОНУ. Виділяли органи білих щурів масою 280-350 г. Для досліду були використані такі органи: печінка, шлунок, підшлункова залоза та тонка кишка. Змішували гомогенат із розчином тіаміну у співвідношенні 1 мг тіаміну на 1 г тканини. У пробі створювалися необхідні умови для роботи тіамінази:  $37^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 6,8$  [3]. Після витримання проби (30 хвилин термостатування при температурі  $37^\circ\text{C}$ ) здійснювали центрифугування (3000 г 10 хвилин). Після осадження білків проби знову центрифугували (3000 г 10 хвилин) та наносили надосадову рідину на хроматографічну колонку з ДЕАЕ-целюлозою (висота колонки = 28,3 см, висота целюлозного шару = 23,6 см, діаметр = 1,4 см) [1].

Для встановлення вмісту 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах ми модифікували метод фармакологічного визначення метаболітів тіаміну. Метод заснований на утворенні солі в результаті кислотно-основної реакції між тіаміном і бромтимоловим синім. 10 мл хлороформу перемішували з 10 мл розчину бромтимолового синього. Додавали 1 мл досліджуваної проби. Розчин сильно струшували протягом 1 хвилини, після чого переносили хлороформний шар у чисту пробірку. Розчин випарюють при  $60^\circ\text{C}$ , потім центрифугують (2500 г 5 хвилин). Для вимірювання елюції пофарбованого розчину використовували фотоелектрокалориметр. Вимірювання проводили при довжині хвилі 420 нм [9].

#### Результати і їхнє обговорення

У першу чергу нам необхідно було з'ясувати, в яких хроматографічних фракціях містяться окремі метаболіти тіаміну після проходження крізь ДЕАЕ-целюлозу.

Ми встановили фракції, в яких містяться окремо метаболіти тіаміну, після хроматографічного поділу.

Результати визначення положення тіаміну і його метаболітів представлені на рис. 2. Показники свідчать, що тіаміндисульфід міститься у 1 фракції, тіохром у 3 фракції, ТПФ у 4 фракції, тіамін у 5 фракції, 4-метил-5-β-оксіетилтіазол у 10 фракції. Оскільки фракція, що містить 4-метил-5-β-оксіетилтіазол, перебуває достатньо далеко від фракції тіаміну, тіаміндисульфід та ТПФ, є можливість кількісно визначити цю сполуку.

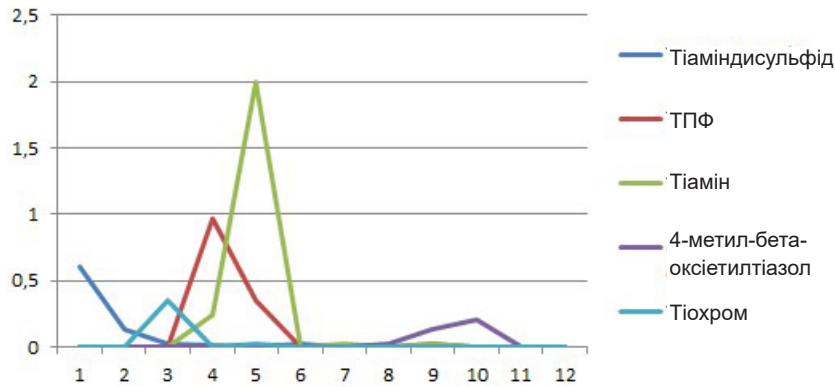


Рис. 2. Розподіл метаболітів тіаміну за фракціями

Вміст цього метаболіту для шлунка становить 0,019 мкг г<sup>-1</sup> тканини. Норма для печінки значно вища – 0,03 мкг г<sup>-1</sup> тканини [10]. Норма для підшлункової залози – 0,017 мкг г<sup>-1</sup> тканини. У тонкому кишківнику – 0,023 мкг г<sup>-1</sup> тканини [10]. Отримані нами дані відповідають нормам концентрацій метаболітів в органах травної системи білих щурів.

За допомогою розробленої нами методики нам вдалося встановити вміст 4-метил-5-β-оксіетилтіазолу в органах і тканинах білих щурів. Результати представлені на рис. 3.

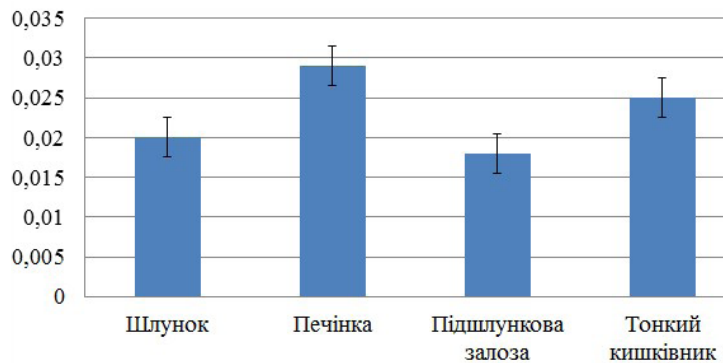


Рис. 3. Вміст 4-метил-5-β-оксіетилтіазолу в органах і тканинах білих щурів (мкг/г тканини)

Після отримання результатів ми провели експеримент із додаванням до гомогенату тіаміну, щоб дослідити кількість 4-метил-5-β-оксіетилтіазолу, яка утворюється з фіксованої кількості тіаміну. Результати представлені на рис. 4.

Відомо, що 4-метил-5-β-оксіетилтіазол утворюється в органах травної системи.

У експерименті з додаванням до гомогенатів тіаміну було встановлено, що утворення 4-метил-5-β-оксіетилтіазолу відбувається з різною інтенсивністю в кожному з органів травної системи. Найбільша кількість метаболіту утворюється в печінці, на другому місці – шлунок, на третьому – тонкий кишківник і на четвертому – підшлункова залоза, що, в цілому, відповідає літературним даним [10].

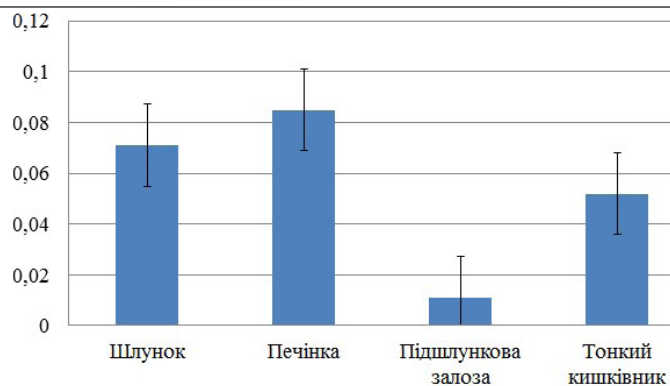


Рис. 4. Утворення 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах і тканинах білих щурів

**Висновки.** При дослідженні вмісту й утворення 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи білих щурів було встановлено, що кількість утвореного 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу в органах травної системи білих щурів можна розставити в такий ряд: шлунок : печінка : підшлункова залоза : тонкий кишківник, відповідно: 4:5:1:3.

Найбільше утворення цього метаболіту спостерігається у печінці. В інших органах травної системи швидкість утворення 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу трохи менша. Отримані дані свідчать про наявність можливої функціональної ролі 4-метил-5- $\beta$ -оксіетилтіазолу у травній системі.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

4. *Быков В. А., Манаков М. Н., Панфилов В. И.* и др. Производство белковых веществ. М.: Высш. школа. 1987. 142 с.
5. *Девятин В. А.* Методы химического анализа в производстве витаминов. М.: Медицина, 1964. С. 94-100.
6. *Донченко Л. В., Надыкта В. Д.* Безопасность пищевой продукции. М.: ДеЛи-принт, 2007. 539 с.
7. *Зефиоров Н. С., Кулов Н. Н.* Химическая энциклопедия. Т. 4. М. : Большая Российская Энциклопедия, 1995. 641 с.
8. *Лазарян А. Ю., Айрапетова Л. Б.* Спектрофотометрические методы в анализе биологически активных веществ растительного и синтетического происхождения. Пятигорск: ПМФИ – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ, 2015. 132 с.
9. *Мецлер Д.* Биохимия. Химические реакции в живой клетке. Т. 3. М. : Мир, 1980. 488 с.
10. *Петров С. А.* Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов // Биомед. химия. 2006. Т. 52. С. 335-345.
11. *Шульман М. С.* Физико-химические основы производства ферментных препаратов. М.: Пищевая пром-сть, 1967. 95 с.
12. *Gupta V. D., Cadwallader D. E.* Acid dye method for the analysis of thiamine // Pharm. Sci. 1968. Vol. 57. P. 112-116.
13. *Matsuo T., Suzuoki Z.* The occurrence of 4-methylthiazole-5-acetic acid as a thiamine metabolite in rabbit, dog, man and rat // J. Biochem. 1969. P. 953-60.

Стаття: надійшла до редакції 23.06.16  
доопрацьована 6.09.16  
прийнята до друку 7.09.16

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 4-МЕТИЛ-5-β-ОКСИЭТИЛТИАЗОЛА В ТКАНЯХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ БЕЛЫХ КРЫС

А. Захаров, С. Петров

*Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова  
Институт биохимии  
переул. Шампанский, 2, Одесса 65058, Украина  
e-mail: asternotus@gmail.com*

В ходе исследования изучено содержание метаболита тиамин – 4-метил-5-β-оксиэтилтиазола в органах пищеварительной системы белых крыс. Исследование содержания метаболита в органах и тканях пищеварительной системы поможет лучше понять метаболические пути тиамин, а также проявление его некоферментных свойств. Для определения концентраций метаболита использовали модифицированную методику фармакологического определения тиамин с разделением на фракции с помощью ДЭАЭ-целлюлозы. Было установлено, что максимальная скорость образования 4-метил-5-β-оксиэтилтиазола наблюдалась в печени, на втором месте – в желудке, на третьем месте – в тонком кишечнике и наименьшая скорость образования этого метаболита – в поджелудочной железе. При исследовании содержания и образования 4-метил-5-β-оксиэтилтиазола в органах пищеварительной системы белых крыс было установлено, что количество образовавшегося 4-метил-5-β-оксиэтилтиазола в органах пищеварительной системы белых крыс можно расставить в следующий ряд: желудок: печень: поджелудочная железа: тонкий кишечник, соответственно: 4:5:1:3. Полученные данные свидетельствуют о существовании возможной функциональной роли 4-метил-5-β-оксиэтилтиазола в пищеварительной системе.

*Ключевые слова:* 4-метил-5-β-оксиэтилтиазол, тиамин, метаболиты, ДЭАЭ-целлюлоза.

## STUDY OF 4-METHYL-5-β-OXYETHYL THIAZOLE IN THE DIGESTIVE SYSTEM TISSUE OF WHITE RATS

A. Zaharow, S. Petrov

*Odessa National University of I. I. Mechnikov, Institute of Biochemistry  
2, Shampanskiy Lane, Odessa 65058, Ukraine  
e-mail: asternotus@gmail.com*

During the study we examined the content of the thiamine metabolite – 4-methyl-5-β-oxyethylthiazole in the digestive system of white rats organs. This research can help to understand the metabolic pathways of thiamine, and study its non-coenzyme properties. To determine metabolite concentrations we used a modified method of pharmacological thiamine determining with fractionation separating on DEAE-cellulose. It was found that the maximum rate of 4-methyl-5-β-oxyethylthiazole formation observed in the liver, followed – in the stomach, the third – in the small intestine and the lowest rate of formation was in the pancreas. During the study of content 4-methyl-5-β-oxyethylthiazole in the organs of the white rats digestive system, it was found that the organs can be arranged in the following order by results: stomach: liver: pancreas: small intestine – 4: 5: 1: 3. The finding results show the possible functional role of 4-methyl-5-β-oxyethylthiazole in the digestive system.

*Keywords:* 4-methyl-5-β-oxyethylthiazole, thiamine, metabolites, DEAE-cellulose.