

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С АЛЬДЕГИДАМИ 2-МЕТИЛ-4-АМИНО-5-АМИНОМЕТИЛ-ПИРИМИДИНА, ОБРАЗОВАННОГО ПРИ ФОТОЛИЗЕ ТИАМИНА И ЕГО ДИСУЛЬФИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

¹Лабор С.А., ²Степура В.И., ³Кондаков В.И., ¹Степура И.И.

¹*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, 230017, Гродно, бул. Ленинского комсомола, 50, Беларусь; факс: +375 (152) 43-41-21, biophys@bioch.basnet.by*

²*Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, 230023, Гродно, ул. Ожешко, 22, Беларусь*

³*Гродненский государственный аграрный университет 230008, Гродно, ул.Терешковой, 28, Беларусь*

Как известно, дисульфидные производные тиамин поступают в организм человека с пищей и легко восстанавливаются тиолами, главным образом глутатионом, с образованием тиамин. Исследования показали, что дисульфидные производные тиамин легко усваиваются организмом животных, полностью восполняя дефицит тиамин. Производные тиамин тиольного типа с раскрытым тиазоловым циклом имеют значительное преимущество перед тиамином: они обладают пролонгированным действием, не разрушаются тиаминазой. Легкость проникновения через клеточные мембраны, высокое сродство к тканям, быстрая рециклизация в тиамин определяет высокую физиологическую активность и лечебный эффект многих дисульфидных производных тиамин. Дисульфидные формы тиамин впервые были обнаружены в луковичных растениях и затем выделены в чистом виде и подробно изучены. Описано их образование в организме животного из тиамин под влиянием аллицина чеснока.

Некоторое количество дисульфидных производных тиамин находятся в клетках, депонируется в виде смешанных дисульфидов с белками. После введения животным тиамин часть его экскретируется с мочой в неизменном виде, а другая часть экскретируется в виде различных метаболитов, среди которых значительную долю составляет пиримин (2-метил-4-амино-5-оксиметилпиримидин). Последний образуется из тиамин в результате действия фермента – тиаминазы.

Аллитиамин, легко гидролизуется разбавленной соляной кислотой с образованием муравьиной кислоты, 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин и ацетоксипропилаллилдисульфида. Другие дисульфиды тиамин также легко образуют под действием разбавленной соляной кислоты 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин. Поэтому следует ожидать образования 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин при попадании дисульфидов тиамин в кислую среду желудка.

Относительно высокое количество дисульфидных производных тиамин содержится в коже человека, которая может подвергаться воздействию солнечного излучения. Ранее нами было показано, что тиамин ингибирует образование дитирозина в фотохимических реакциях и, следовательно, ингибирует образование дитрозиновых сшивок между полипептидными цепями белков. С другой стороны известно, что воздействие ультрафиолета на тирозин запускает целую цепь фотохимических реакций приводящих к образованию дофамина и затем меланина. Ингибирование тиамином образования тирозильных радикалов позволяет предположить, что тиамин или его дисульфидные производные играют определенную регуляторную роль в меланиногенезе, подавляя образование диоксифенилаланина. Тиамин разрушается по действием ультрафиолета. Среди продуктов фотолиза тиамин выделен хроматографическим методом пиримидиновый компонент, который более устойчив к действию ультрафиолетового излучения в сравнении с тиазольевым циклом.

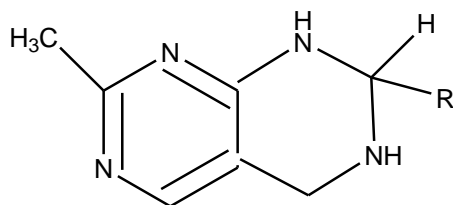
В данной работе мы показали, что 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин, который образуется при фотолизе тиамин, эффективно взаимодействует с алифатическими альдегидами с образованием стабильных продуктов. Мы предполагаем, что 2-метил-4-

амино-5-аминометилпиримидин, который фактически является метаболитом тиамин, может выступать при высоких концентрациях фармакологически активным соединением, снижать токсическое действие на биологические структуры формальдегида, ацетальдегида, а также карбонильных продуктов неэнзиматического гликозилирования.

Результаты.

Нами показано, что в кислой среде тиамин, тиаминмонофосфат, тиаминдифосфат быстро разрушается с образованием 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина, который не изменяется при дальнейшем облучении. В ЯМР спектре данного продукта в D_2O наблюдали следующие сигналы: 8,17 м.д. протон пиримидинового кольца 4,22 м.д. CH_2 группа; 2,62 м.д. CH_3 группа пиримидинового кольца. Запись спектров ЯМР проводилась при $pH(D)=3,0$. В УФ спектре поглощения наблюдали в нейтральной среде два максимума $\lambda=237$ нм и $\lambda=275$ нм; при pH 4,0 один, $\lambda=247$ нм. Молекулярную массу фотопродукта определяли с помощью масс-спектрометра Varian MAT-311. Масс-спектр соединения совпал с масс-спектром коммерческого 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (М. в 138).

Мы показали, что 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин взаимодействует с алифатическими альдегидами, пировиноградной кислотой с образованием циклических аддуктов.



Реакция протекает через промежуточный этап образования основания Шиффа с алифатической аминогруппой, затем альдиминная связь взаимодействует с аминогруппой пиримидинового кольца с образованием циклического стабильного аддукта. Строение полученного циклического продукта было доказано методами ЯМР, ИК-спектроскопии, а также подтверждено спектрами кругового дихроизма (содержит асимметричный атом углерода) и абсорбционными спектрами. Молекулярный вес циклического аддукта аминопиримидина с ацетальдегидом по данным масс-спектропии составляет 163 ед дальтона. В ЯМР спектре наблюдается небольшой сдвиг сигнала, принадлежащего протону пиримидинового кольца аддукта в сравнении с этим же протоном исходного 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин. В ИК спектре 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин имеет широкую и очень интенсивную полосу (1670 см^{-1}) деформационных колебаний аминогруппы в 4-ом положении пиримидинового кольца. Принадлежность полосы к колебаниям NH_2 группы следует из результатов быстрого дейтериеобмена в пленках D_2O . Относительно слабые полосы 1680 см^{-1} и 1650 см^{-1} в ИК спектре продукта, записанного в KBr , принадлежат деформационным колебаниям двух различных NH -групп, одна из которых, вероятно, включена во внутримолекулярную водородную связь. В области валентных колебаний NH -групп также наблюдается две широкие полосы валентных колебаний с максимумами при 3220 см^{-1} и 3400 см^{-1} . Так как в растворе CCl_4 продукт взаимодействия ацетальдегида с 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидином имеет полосы 3425 см^{-1} и 3240 см^{-1} , то можно предположить, что больший длинноволновой сдвиг частоты колебаний одной из NH -групп и большее уширение этой полосы вызваны образованием внутримолекулярной H -связи. Циклические продукты образует также 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин с пировиноградной кислотой, масляным и валериановым альдегидами. Скорость реакции циклизации снижается с возрастанием длины углеродной цепи алифатического альдегида. Короткоцепочечные алифатические альдегиды, очень эффективно образуют циклические соединения с 2-метил-4-аминопиримидином. Поэтому 2-метил-4-аминопиримидин можно рассматривать как эффективную "ловушку" для формальдегида и ацетальдегида. Источником 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина может явиться, например, реакция фотохимической деструкции дисульфидов тиамин, находящихся в коже

человека.сосудистой оболочке сетчатки глаза.Другим важным источником 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина является кислотный гидролиз дисульфидов тиамин.

Хотя, антиоксидантная способность тиамин пока еще полностью не охарактеризована с помощью физико-химических методов, ряд фактов свидетельствует, что тиамин может выступать в качестве антиоксиданта при окислительном стрессе. Тиамин (особенно бенфотиамин) предотвращает повреждение сосудов при сахарном диабете, предупреждает развитие нефропатий, снижает уровень токсичных продуктов неэнзиматического гликозилирования белков. С другой стороны известно, что создание высоких концентраций тиамин в крови вызывает резкое увеличение концентрации продуктов метаболизма, среди которых значительную долю составляют производные аминопиримидина, образованные вследствие гидролитического распада молекул тиамин, катализируемого тиаминазой, кислотного гидролиза дисульфида тиамин и дисульфидных производных тиамин. Мы предполагаем, что 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин, который фактически является метаболитом тиамин, может выступать при высоких концентрациях фармакологически активным соединением, снижая повреждение сосудистой оболочки сетчатки при интоксикации вызванной формальдегидом, ацетальдегидом, карбонильными продуктами неэнзиматического гликозилирования, ингибировать образование межбелковых сшивок.с участием альдегидов и карбонильных соединений. Работа выполнена при поддержке фонда БРФФИ, грант№М14-091.

Interaction with aldehydes 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine formed during photolysis of thiamine and its disulfide derivatives

S.A. Labor¹, V.I. Stsiapura², V.I.,Kondakov³ I.I. Stepuro¹

¹*Institute of Biochemistry NASB, BLK-50, Grodno, 230017, Belarus; biophys@bioch.basnet.by*

²*Y. Kupala State University of Grodno, ul. Ozheshko, 22, Grodno, 230023, Belarus*

³*Agrarian State University of Grodno, 28 Tereshkova str., Grodno 230008, Belarus*

We showed that 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine interacts with aliphatic aldehydes and pyruvic acid to form cyclic adducts. The reaction proceeds via an intermediate step of Schiff base formation with aliphatic amino group formation. Then the aldimine bond interacts with the pyrimidine ring amino group to give a cyclic stable product. The structure of the cyclic products formed was proved by the methods of MNR and IR-spectroscopy as well as confirmed by the spectra of circular dichroism (the molecule contains asymmetric carbon) and the absorption spectra.