

Лабор С.<sup>1</sup>, Стенуро И.И.<sup>1</sup>, Стенуро В.И.<sup>2</sup>, Травкина М.<sup>3</sup>, Янцевич А.В.<sup>3</sup>

## Влияние мелатонина на окисление тиамина и его фосфорных эфиров оксоферрильными формами миоглобина

<sup>1</sup>ГП «Институт биохимии биологически активных соединений  
НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>УО «Гродненский государственный университет  
имени Янки Купалы», г. Гродно, Беларусь

<sup>3</sup>ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», г. Минск,  
Беларусь

Мелатонин, основной гормон эпифиза (шишковидного тела мозга, пинеальной железы) участвует в регуляции соматической и автономной нервных систем человека, эндокринных органов и иммунной системы. Кроме того мелатонин выступает в качестве эндогенного антиоксиданта, является эффективной ловушкой активных форм азота и кислорода, препятствует повреждению ДНК канцерогенами, ингибирует действие механизмов приводящих к образованию раковых опухолей. Тиамин (или витамин В<sub>1</sub>) является важнейшим незаменимым фактором питания и используется в организме в качестве структурного компонента молекулы тиаминдифосфата (ТДФ). ТДФ является кофактором таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа. ТДФ также является кофактором транскетолазы, ключевого фермента пентозофосфатного цикла. Целью работы является установление механизма защитного действия тиамина (Т), связанного с инактивацией свободных радикалов эффективного эндогенного антиоксиданта мелатонина.

**Материалы и методы.** Масс-спектры Т и его производных зарегистрированы с использованием квадрупольно-времяпролетного тандемного масс-спектрометрического детектора Q-TOF 6550 в режиме ионизации электрораспылением (ESI<sup>+</sup>). Концентрацию кислорода, образующегося при взаимодействии пероксида водорода с метмиоглобином, измеряли полярографическим методом, используя электрод Кларка (Hansatech Instruments Ltd). Измерения концентрации тиохрома и оксодигидротиохрома проводили также на спектрофлуориметре SM2203 (Солар, Беларусь). Флуоресцентные свойства оксодигидро-

тиохрома и тиазолона тиамина изучали методами стационарной и разрешенной во времени флуоресценции.

**Результаты и обсуждение.** Показано, что молекулы Т ( $m/z = 265.111[M]^+$ ) в двуэлектронной реакции с оксоферрильной формой миоглобина  $^{+}Mb(IV=O)$  (соединение I) окисляются с образованием тиохрома ( $m/z = 262.088[M]^+$ ), а соединение I восстанавливается до метмиоглобина Mb(III). Образовавшаяся молекула тиохрома взаимодействует с другой молекулой оксоферрильной формы миоглобина  $^{+}Mb(IV=O)$ . В результате реакции тиохром окисляется с образованием оксодигидротиохрома ( $m/z = 278.812 [M]^+$ ), а соединение I восстанавливается до метмиоглобина. Молекулы мелатонина вследствие взаимодействия с оксоферрильной формой миоглобина  $^{+}Mb(IV=O)$  образуют свободные радикалы с локализацией неспаренного электрона на атоме углерода 2 или 3 индольного кольца, а соединение I восстанавливается молекулами мелатонина в последовательных одноэлектронных реакциях до метмиоглобина Mb(III).

В присутствии Т выход 2-гидроксимелатонина ( $m/z=248.128[M]^+$ ) и 2,3-гидроксимелатонина ( $m/z =265.128[M]^+$ ) уменьшается. При высоких концентрациях Т наблюдали практически полное ингибирование образования 2-гидроксимелатонина в псевдопероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином. В анаэробных условиях, а также в присутствии сульфита, в растворах, содержащих мелатонин, метгемоглобин и пероксид водорода, выход тиохрома возрастает. Образование производных мелатонинкинурамина, напротив, снижается в присутствии тиамин или в присутствии сульфита, а также в анаэробных условиях. В присутствии кислорода свободные радикалы мелатонина образуют пероксидные радикалы, которые трансформируются в производные мелатонинкинурамина. Между молекулами кислорода и молекулами Т наблюдаются конкурентные взаимодействия в реакциях со свободными радикалами мелатонина, локализованными на атоме С3. Мы показали, что пероксидные радикалы мелатонина взаимодействуют со вторым углеродом тиазолового кольца молекулы Т с образованием тиамин тиазолона ( $m/z =280,0992 [M]^+$ ).

**Заключение.** Показано, что окисление Т и его фосфорных эфиров, катализируемое метMb в присутствии пероксида водорода, сопряжено с окислением мелатонина. В присутствии мелатонина происходит резкое возрастание выхода тиохрома и других продуктов окисления Т после инкубации растворов, содержащих Т, метмиоглобин и пероксид водорода. Т восстанавливает катион-радикал мелатонина до молекулы мелатонина и, оказывает стабилизирующий эффект на уровень мелатонина в организме при окислительном стрессе.