

УДК 577.151/152

О. А. Волков, студ., М. Г. Магла, асп., О. О. Прутянова, здобувач,
С. А. Петров, д-р біол. наук, проф.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65026, Україна, E-mail: sheephunter@rambler.ru

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ТІАМІНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ У ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

Розроблено спектрофотометричний експрес-метод визначення тіаміну і тіамініпрофосфату (ТПФ) та продуктів їх розпаду в ампульованих фармацевтичних препаратах. Встановлено розходження у спектрах поглинання продуктів гідролізу та окиснення тіаміну, що дає можливість використовувати цей метод для тестування медичних препаратів, що містять тіамін.

Ключові слова: спектрофотометрія, тіамін, ТПФ, 4-метил-5β-оксиетилтіазол, тіохром

Серед вітамінних медичних засобів особливе місце посідають тіаміновмісні препарати, які широко застосовуються в медичній практиці [1, 2]. В зв'язку з тим, що за останній час з'явилося багато нових неліцензованих фармацевтичних препаратів, якість яких викликає сумніви, виникає необхідність контролю якісного та кількісного складу цих сполук, а також визначення ступеня їх руйнування в процесі зберігання.

На даний момент у біохімічних дослідженнях використовують дві основних методи визначення тіаміну та його метаболітів. Перший метод — флуориметричний — ґрунтується на окисненні тіаміну до тіохрому і визначенні флуоресценції останнього. Вперше цей метод був запропонований ще у 1936 р. Янсенем [3] і потім багаторазово модифікувався. Найбільш вдалу модифікацію цього методу розробили Г. Д. Єлісєєва [4]. Ця модифікація дозволяє визначити вміст вільного тіаміну та його фосфорних ефірів у різних біологічних об'єктах.

Друга група методів — це хроматографічні методи, які використовуються в основному для дослідження метаболізму тіаміну в організмі після введення міченого вітаміну [5, 6]. Щодо визначення кatabолітів тіаміну, то в цьому напрямку є поодинокі праці, що стосуються в основному, дослідження мочі [7].

Обидві групи методів досить тривалі, вимагають наявності певного мінімуму лабораторного обладнання і, крім того, не дозволяють одночасно визначати вміст вільного тіаміну та його основних похідних. Тому ми поставили завдання розробити експрес-метод, за допомогою якого можна було б за короткий час визначати вміст вільного тіаміну його основних метаболітів та продуктів розпаду.

Матеріали і методи

В досліджах використовували водні розчини ампульованих фармацевтичних препаратів тіаміну і ТПФ, а також спиртові розчини 4-метил-5-*b*-оксиетилтіазолу і тіохрому концентрацією 0,03 мМ.

На спектрофотометрі СФ-4А вимірювали оптичну щільність цих розчинів в діапазоні довжин хвиль від 210 до 600 нм і визначали хвильові зони максимумів спектрів поглинання.

Результати дослідження

Як свідчать результати, наведені на рис. 1, тіамін і ТПФ характеризуються схожими спектрами поглинання, що обумовлено досить близькою структурою цих речовин. Обидві сполуки мають два плато максимумів спектрів поглинання, які знаходяться в діапазонах довжин хвиль 240—270 нм і 470—530 нм відповідно. Це явище можна пояснити наявністю у даних речовин двох основних складових компонентів — піримідинового та тіазолового кілець (рис. 2).

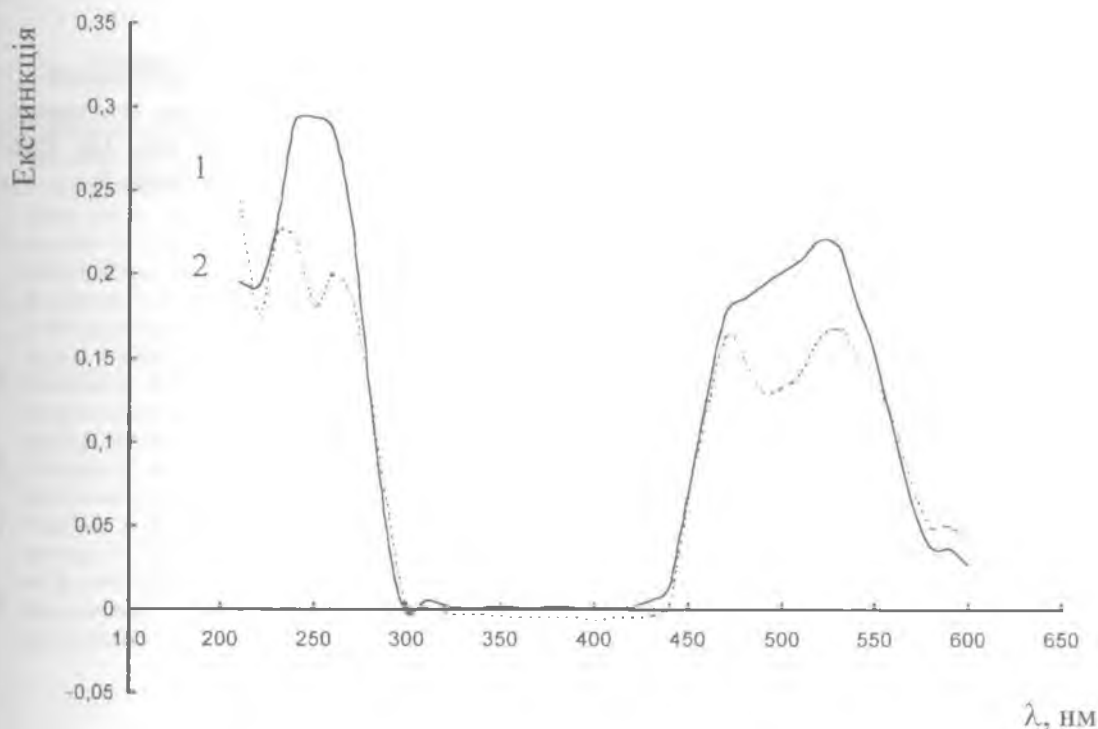


Рис. 1. Спектри поглинання тіаміну (1) та тіамінпірофосфату (2)

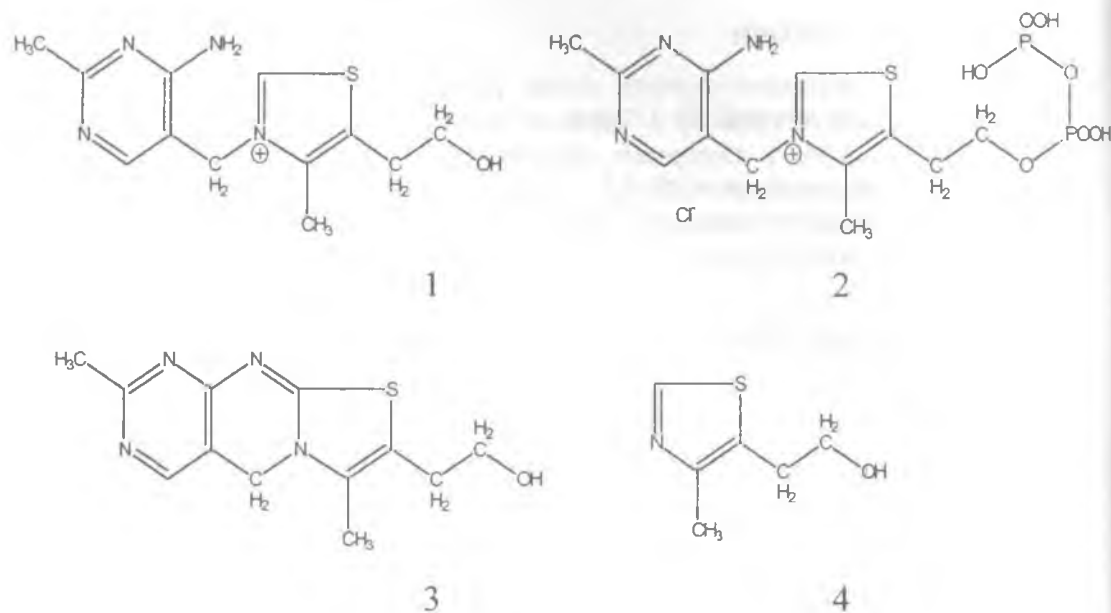


Рис. 2. Структурні формули:

- | | |
|----------------------|--------------------------------|
| 1. тіаміну | 3. тіохрому |
| 2. тіамінпірофосфату | 4. 4-метил-5-β-оксиетилтіазолу |

Очевидно, тіазолове кільце обумовлює максимум спектра поглинання при 240—270 нм, а піримідинове — при 470—530 нм [8]. Це припущення підтверджується даними, що наведені на рисунку 3.

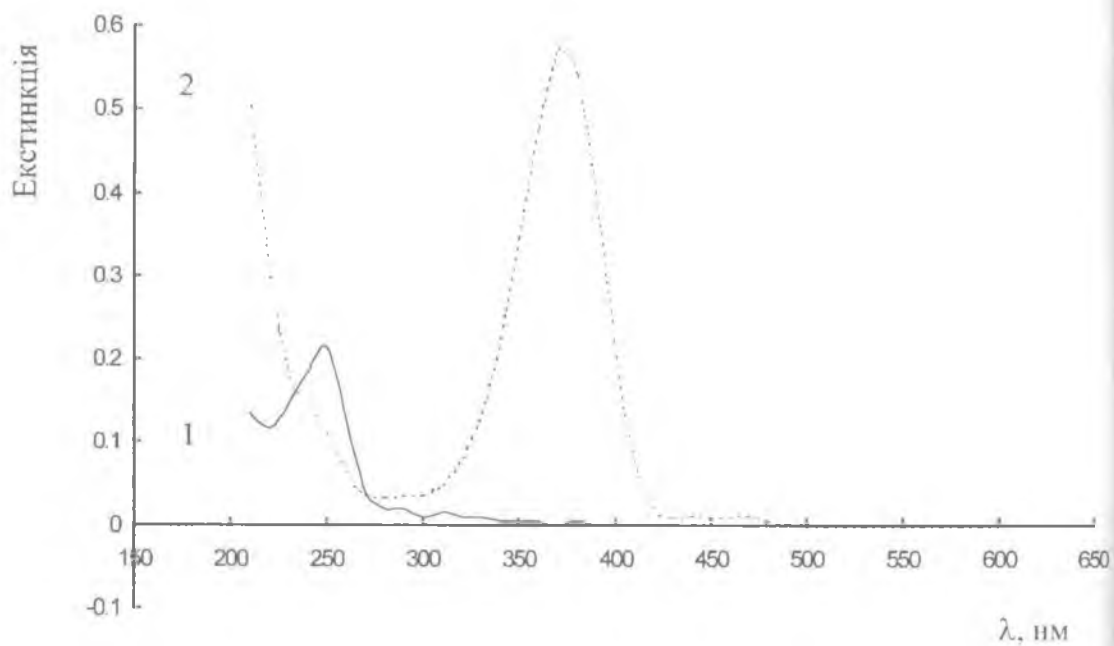


Рис. 3. Спектри поглинання тіазолу (1) та тіохрому (2)

З цього рисунка видно, що 4-метил-5- β -оксиетилтіазол має пік екстинкції при 250 нм. Щодо тіохрому, то тут спостерігається два піки у спектрі поглинання — при довжинах хвиль 210 нм і 370 нм. Максимальні значення екстинкції спостерігаються на рівні другого піку при 370 нм. Такий пік характерний тільки для цієї сполуки. Перший пік, напевно, обумовлений наявністю у структурі тіохрому тіазолового кільця, але із-за різниці в структурі молекул тіаміну, ТПФ і тіохрому останній порівняно з першими двома виявляє зсув максимуму поглинання в область більш коротких хвиль — від 250 до 210 нм.

Виходячи із отриманих результатів, можна зробити висновок, що тіамін і ТПФ мають два плато максимумів спектрів поглинання, тоді як похідні тіаміну, а саме продукт окиснення — тіохром і продукт гідролізу — 4-метил-5- β -оксиетилтіазол характеризуються одиночними піками екстинкцій при 370 і 250 нм відповідно. Отже, ці характеристики можна використовувати для якісного і кількісного аналізу фармацевтичних препаратів тіаміну. Зокрема, за місцезнаходженням піків і по співвідношенню їх величин можна отримати інформацію про ступінь і характер розпаду тіаміну і ТПФ у фармацевтичних препаратах.

Література

1. *Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты*. Под ред. Островского Ю. М. — Мн.: Наука и техника, 1974., 265 с.
2. *Островский Ю. М. Тиамин*. Избранные главы по биохимии витамина В₁. — Мн.: Беларусь, 1971. — 144 с.
3. *Jansen B. C. P.* A chemical determination of aneurine by thiochrome reaction // *Rec. Trav. Chem. Phys. Bas.* — 1936. — V. 55. — P. 1046—1058.
4. *Елисеева Г. Д.* Флуориметрическое определение тиамин, кокарбоксилазы и рибофлавина в биологических объектах // *Витамины*. Сб. 1. Методы исследования, естественные ресурсы и биохимия витаминов. — 1953. — С. 53—54.
5. *Розанов В. Я.* Динамика метаболизма тиамин, его биологическое значение и зависимость от функций пищеварительной системы // *Тиамин. Обмен, механизм действия*. — М.: Наука, 1978. — С. 27—34.
6. *Петров С. А.* Регуляция тиамин и его метаболитами процессов образования и обмена аминокислот и кетокислот в организме // *Автореф. докт. дисс.* — Мн., 1992. — 32 с.
7. *Розанов А. Я.* Распад меченного тиамин в организме и выделение радиоактивной серы с мочой // *Тезисы научной конф. по применению радиоактивных изотопов в эксперименте и клинике*. — Одесса, 1954. — С. 34—35
8. *Островский Ю. М.* Активные центры и группировки в молекуле тиамин. — Мн.: Наука и техника, 1975. — 144 с.

О. А. Волков, М. Г. Магла, Е. А. Прутянова, С. А. Петров

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра биохимии,

ул. Дворянская, 2, г. Одесса, 65026, Украина, E-mail: sheephunter@rambler.ru

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Резюме

Разработан спектрофотометрический экспресс-метод определения тиамина, тиаминпирофосфата (ТПФ) и продуктов их распада в ампулированных фармацевтических препаратах. Установлены различия в спектрах поглощения продуктов гидролиза и окисления тиамина, что позволяет использовать этот метод для тестирования тиаминсодержащих лечебных препаратов.

Ключевые слова: спектрофотометрия, тиамин, ТПФ, 4-метил-5 β -оксиэтилтиазол, тиохром.

O. A. Volkov, M. G. Magla, Ye. A. Prutyanova, S. A. Petrov

Odessa Mechnikov National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65026, Ukraine,

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF THIAMINE AND ITS DERIVATIVES IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

Summary

A spectrophotometric express method for determination of thiamine, thiamine pyrophosphate (TPP) and products of their decomposition in ampoulated pharmaceutical preparations has been developed. Certain differences in absorption spectra of products of thiamine hydrolysis and oxidation have been found. It allows using the method for testing of thiamine containing medical preparations.

Keywords: spectrophotometry, thiamine, TPP, 4-methyl-5 β -oxyethylthiazole, thiochrome.