

4/Р  
12209

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра біохімії

**Дипломна робота  
на здобуття ОКР «Спеціаліст»**

на тему: **«ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ТІАМІНАЗИ В КРОВІ  
БІЛИХ ЩУРІВ»**

«Features of thiaminase functioning in blood of white rats»

Виконала: студентка денної форми навчання

напряму підготовки 7.04010201 Біологія

**Жмуд Тетяна Петрівна**

Керівник д. б. н., професор Петров С.А.

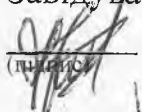


Рецензент к. т. н., доцент Ямборко Г.В.

Рекомендовано до захисту:  
Протокол засідання кафедри  
№ 19 від «23» 05.2016 р.

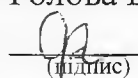
Захищено на засіданні ЕК № 1  
Протокол № 89 від «24» 06.16 р.  
Оцінка Вірн./ А / 91  
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри



(прізвище та ініціали)

Голова ЕК



(підпис)



(прізвище та ініціали)

Одеса – 2016

779386

## АНОТАЦІЯ

Проведено дослідження на визначення особливостей функціонування тіамінази в крові білих щурів.

Тіаміндисульфід, як метаболіт, який має найбільшу молекулярний вагу, залишається в 1 і 2 фракціях. Тіамінпірофосфат виявляється в 5 фракції. Тіамін залишається в 6 фракції. Метаболіт з найменшою молекулярною масою – 4-метіл-5-бета-оксіетілтіазол на 10 та 11 фракції.

Активність ферменту супроводжується значним утворенням тіазолу в крові білих щурів. Мета активної роботи ферменту у крові потребує подальшого вивчення.

Роботу викладено на 42 сторінці, вона містить 11 рисунки. Наведено посилання на 53 джерел літератури.

**Ключові слова:** *тіаміназа, тіамін, тіаміндисульфід, тіамінпірофосфат, тіазол.*

A study on the determination of the functioning tiaminazy in the blood of white rats. Tiamindisulfid as metabolite, which has the highest molecular weight remains 1 and 2 fractions. Tiaminpirofosfat found in 5 fractions. Thiamine is in 6 fractions. Metabolite with the lowest molecular weight - 4-methyl-5-beta oksietiltiazol 10 and 11 fractions.

The enzyme activity is accompanied by significant thiazole formation in the blood of white rats. The purpose of active enzyme in the blood needs further study.

Diploma thesis is expounded on 42 pages, it contains 11 figures. It provides links to 53 references.

**Key words:** *tiaminaza, thiamine, tiamindysulfid, tiaminpirofosfat, thiazole.*

## ЗМІСТ

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Будова і біологічні функції тіаміну .....	6
1.2. Метаболізм тіаміну.....	8
1.3. Хімічні та фізичні властивості тіаміну.....	12
1.4. Будова та хімічні особливості тіамінази .....	14
1.5. Метаболіти тіаміну у крові білих щурів .....	15
1.5.1. Тіамінпірофосфат .....	15
1.5.2. Тіаміндісульфід .....	17
1.5.3. Тіазол .....	18
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	20
2.1. Постановка дослідження .....	20
2.2. Методика хроматографічного розділення метаболітів тіаміну .....	20
2.3. Визначення метаболітів тіаміну.....	21
2.4. Статистична обробка результатів .....	22
3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ .....	23
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	35
ВИСНОВКИ .....	37
СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	38

## ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

ТПФ – тіамінпірофосфат

ТДС – тіаміндісульфід

ФЕК – фотоелектроколориметр

ДЕАЕ – діетіламіноетілцеллюлоза

## ВСТУП

Тіаміназа (синоніми: аневріназа, тіамінгідролаза) – фермент класу гідролаз (ЕС 3.5.99.2), що каталізує гідроліз тіаміну. Підтверджено існування тіамінази у папоротів, марсилії та інших рослин, деяких риб (карпи, золоті рибки та інші). Крім того, тіаміназа активна у клітинах наступних бактерій: *Bacillus thiaminolyticus*, *Bacillus aneurinolyticus*, *Bacillus subtilis* та інші [Алиев, 1971].

Існує два загальних типів тіаміназ:

1. Тіаміназа I у US National Library of Medicine Medical Subject Headings (ЕС 2.5.1.2)
2. Тіаміназа II у US National Library of Medicine Medical Subject Headings (ЕС 3.5.99.2)

Обидва типи тіаміназ забезпечують метаболізм вітаміну В<sub>1</sub> до складових частин (тіазоловий та піримідиновий залишки). Було встановлено, що в крові білих щурів утворюється ряд метаболітів тіаміну, які відіграють важливі функції у тканинах. Дослідження ролі тіамінази у тканинах та крові може дати важливу інформацію о ролі метаболітів тіаміну, і було метою нашої роботи.

Нами вирішувались наступні завдання:

1. Визначити наявність тіамінази у крові білих щурів;
2. Визначити метаболіти, які утворюються під дією тіамінази у крові білих щурів;
3. Визначити концентрацію та співвідношення метаболітів тіаміну у крові білих щурів.

Об'єкт досліджень: особливості функціонування тіамінази.

Предмет досліджень: дія тіамінази на тіамін у крові білих щурів.

## УЗАГАЛЬНЕННЯ

У результаті проведення експериментів були отримані концентрації середнього вмісту тіаміну та його метаболітів у крові білих щурів. У нормі, концентрація тіаміну повинна складати 0,092 мкг на 1 грам тканини. При додатковому введенні 100 мг тіаміну, ми спостерігали значний перехід тіаміну до коферментної форми с ТПФ. Крім того, збільшення концентрації ТПФ – до 0,370 мкг на 1 грам тканини, може свідчити о його високої функціональної ролі в крові, взаємодії з ферментами та іншими вітамінами.

Функції тіаміндісульфіду та тіазолу у крові потребують подальшого вивчення. На даний момент є дані про некоферментних ефектах даних метаболітів, які пов'язані, в основному, з зниженням активності ферментів, завдяки хімічним властивостям тіазолового кільця та (у випадку тіаміндісульфіду) – амінопіримидинового залишку [Петров, 2006]. Збільшення концентрацій даних форм вітаміну свідчить про стійки метаболічні шляхи, які закріпилися в ході еволюційних процесів.

Зниження рівня вітаміну В<sub>1</sub> (саме тіаміну) в крові на ранніх стадіях клінічно не виявляється або супроводжується неспецифічними симптомами. Серед симптомів гіповітамінозу В<sub>1</sub> найчастіше реєструються дерматити, слабкість і швидка стомлюваність, глосит (запалення язика). При важкому нестачі тіаміну розвиваються хвороба бері-бері і синдром Верніке-Корсакова. Як правило, ці два захворювання ніколи не розвиваються одночасно [Макарчиков, 2009].

Як показують дослідження останніх трьох десятиліть, продукти окиснення і розпаду тіаміну в організмі здатні впливати на активність багатьох протеолітичних ферментів [Петров, 2006]. Відома ініціаторна роль катепсинів в загальній системі протеолізу клітини і активність катепсинів значною мірою лімітує загальний процес протеолізу клітини. Крім того, катепсини є тіоловими протеїназами, нуклеофілом активного центру якого є сульфгідрильна група залишку цистеїну. Тіамін та його метаболіти, містять у

своєму складі тiazолове кільце, яке в певних умовах в клітинах здатне розкриватися з утворенням тіамінтіолу та його похідних [Тоцкий, 1980].

## ВИСНОВКИ

1. У контрольній групі, без додавання додаткового тіаміну, в крові у найбільшій кількості містився саме тіамін. На другому місці – ТПФ, на третьому – тіаміндісульфід. Тіазол також утворився у найменшій кількості

2. При додаванні 100 мг тіаміну у найбільшій кількості утворювався тіамінпірофосфат. На другому місці – тіамін, на третьому – тіаміндісульфід. Кількість тіазолу була найменшою.

3. Підсумкове співвідношення метаболітів – тіамінпірофосфат: тіамін: тіаміндісульфід : тіазол, відповідно – 3:2:1:1.

4. Тіаміназа активна у крові білих щурів, про що свідчить утворення тіазолу у кількості 0,098 мг на 10 мг тканини.

## СПИСОК ЦИТОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алиев М.М.* Витамины группы В // *Аз.Гос.Мед.Ин-т Баку*, 1971. - С. 46-48.
2. *Антонов А.Р., Ефремов А.В.* Микроэлементы в жизни человека. / *Природные минералы на службе человека. (Сб.ст.) Новосибирск. 1999.* - С. 28-39.
3. *Аршава В.П.* О дозировке витамина В<sub>1</sub> при сердечно-сосудистых заболеваниях/*В.П.Аршава., И.И.Крыжановская//Сб.науч.работ Днепропетр. мед. ин-та.-Днепропетровск, 1976 - Т.1. – С. 105-107.*
4. *Астахова А.В., Лепяхин В.К.* Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности лекарственных средств—М., «Когито-Центр», 2004. - 200 с.
5. *Балткайс Я.Я., Фатеев В.А.* Взаимодействие лекарственных веществ (фармакотерапевтические аспекты). М.: Медицина, 1991. - С. 22-39
6. *Барлоу Р.* Введение в химическую фармакологию / М.: 1954. - 327с.
7. *Бегг Э.* «Клиническая фармакология», М., «БИНОМ. Лаборатория базовых знаний», 2004. - 104с.
8. *Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г.* Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств.// М. Литтера. 2005. - 288 с.
9. *Березов Т.Т., Б.Ф. Коровкин.* Биологическая химия: Учебник/Под ред. акад. АМН СССР С.С. Дебова.-2-е изд., М.:Медицина, 1990, 528 с.
10. *Бойко С.С., Бобков Ю.Г.* Роль фармакокинетики в реализации эффекта антигипоксантов // *Экспериментальная и клиническая фармакокинетика.-М.: Медицина, 1988. - С. 60-68.*
11. *Большев В.Н.* Индукторы и ингибиторы ферментов метаболизма лекарств // *Фармакология и токсикология. - 1980. - №3. - С. 375-380.*
12. *Бондарев В.И., Мартинчик К.В.* Коррелятивная взаимосвязь фактического потребления витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub> с биохимическими показателями обеспеченности ими организма//*Вопросы питания. -*

1986. - №2. - С. 34-37.
13. *Бондарева И.Б., Джеллифф Р., Сёргиенко В.И.* Прикладная фармакокинетика: Основные положения и клиническое применение. // М,- Издательство РАМН. 2004. - 208 с.
  14. *Бушма М.И., Легонькова Л.Ф., Лукиенко П.И.* // *Вопр.мед.химии.* - 1987. -т, 33. №4. - С. 93-95.
  15. *Бушма М.И., Легонькова Л.Ф., Лукиенко П.И.* Влияние фолиевой кислоты на активность монооксигеназной системы, УДФ-глюкуронил- и глутатион-8-трансфераз нормальной и регенерирующей печени крыс // *Вопр.мед.химии.* - 1987. - т.33. - №4. - С. 93-95.
  16. *Веселовский В.П.* Практическая вертеброневрология и мануальная терапия. Рига, 1991; - С. 30-145.
  17. *Винити М. М.* Биологическая химия. - М.: Наука, 1989. - 148 с.
  18. *Вознесенская Т.Г.* Боли в спине и конечностях. Болевые синдромы в неврологической практике. Под ред. А.М.Вейна. М.: Медпресс, 1999; 217-83.
  19. *Гальвао П.Е.* Витамин В и окислительные процессы/П. Е. Гальвао // *Клиническая фармакология.* 1987. №3, - С. 32-33.
  20. *Герасимов П. Н.* К биохимии витамина В<sub>1</sub> // *Витамины.* – 1980. – № 11. – С. 77–79.
  21. *Герасимов П. Н.* К биохимии витамина В<sub>1</sub> // *Витамины.* – 1980. – № 11. – С. 77–79.
  22. *Глицкий Э. А.* Тиамин. – Гродно: Редакционно-издательский Совет АН БССР, 1972. – С. 18 – 19.
  23. *Голиков С.Н., Гурьянов Г. А.* Пути и способы пролонгирования действия ЛС// *Фармакология и токсикология.* 1989. №2. - С. 5-15.
  24. *Головенко Н.Я.* Биотрансформация и физиология активных веществ и лекарственных препаратов // *Экспериментальная и клиническая фармакокинетика.* 1988.-№8. - С. 86-92.

25. Голубкина Н.А., Соколов Я.А. // Микроэлементы в медицине. 2001. №2. - С. 17-22.
26. Горшков В. К. Влияние производных тиамин и рибофлавина на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков и фармакологический эффект анальгетиков / Вопр. мед. химии. 1995, Т.41. №5. - С. 42-45.
27. Горяченкова Е.В. Участие витамина В6 и В2 в действии диаминооксидазы / Е.В.Горяченкова//Витамины. М., 1972. - С. 15-21.
28. Граник В.Г. Лекарства: Фармакологический, биохимический и химический аспекты витаминотерапии / В.Г. Граник-М.: Вузовская книга, 2001. - 407с.
29. Громова О.А., Гупало Е.М. Клиническая фармакология тиамин и бенфотиамин: «старые» показания — новые механизмы молекулярного действия // Трудный пациент. Архив. № 2 – 3 - 2008.
30. Данилов А.Б. Применение витаминов группы В при болях в спине: новые анальгетики? // РМЖ, 2008, спец. выпуск. С. 35-39.
31. Деримедведь Л.В. и др. Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии. Хоменко; под ред. И.М. Перцева.- Х.: Изд-во «Мегаполис», 2001. - 784 с.
32. Журавлева М.В. Фармакокинетика, фармакодинамика и клиническая эффективность ортофена// Автореф. 1989, - С. 26 с.
33. Зборовский А.Б., Тюренков И.Н., Белоусов Ю.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. // М.: МИА. - 2008. - С. 656 с.
34. Змушко Е.И., Белозеров Е.И. Медикаментозные осложнения. — СПб., Питер, 2001.
35. Зырянов С.К., Нельга О.Н. Опыт применения залдиара в терапии острой и хронической неонкологической боли// Consilium-medicum, Т 8, №7, 2006 г.

36. *Каркищенко Н.Н.* Фармакологические основы терапии. М.: ИМП-Медицина. 1996, - С. 150-151; 172 - 177.36
37. *Карпов Л. М.* Онтогенетические особенности обмена и распределения тиамин и его фосфорных эфиров в тканях белых крыс: дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.04. «Биохимия» / Одеск. гос. унив. им. И. И. Мечникова. – Одесса, 1971. – 297 с.
38. *Островский Ю. М.* Активные центры и группировки в молекуле тиамин. – Минск: Наука и техника, 1975. – 424 с.
39. *Островский Ю. М.* Основы экспериментальной витаминологии. – Минск: Наука и техника, 1979. – 550 с.
40. *Петров С.А.*, Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов, Биомедицинская химия, 2006, том: 52(4), 335-345.
41. *Розанов А. Я.* Метаболизм тиамин, его фосфорных эфиров и дисульфидов в животном организме: автореф. дисс. на соискание степени док. биол. наук: 03.00.04. «Биохимия». – 1960, Одесса. – С. 42;
42. *Тумаев А. А.* Тиамин. Обмен, механизм действия. – М.: Высшая школа, 1978. – С. 78–87.
43. *Arjunan P, Nemeria N, Brunskill A, Chandrasekhar K, Sax M, et al.* 2002. Structure of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex E1 component from *Escherichia coli* at 1.85 Å resolution. ° *Biochemistry*
44. *Bartley W.* Metabolism of thiamine phosphates in washed suspensions of kidney particles // *Biochem. J.* – 1994. – Vol. 56, № 3 – P. 379–387.
45. *Freidrich W.* 1988. Thiamin, vitamin B1, aneurin. *Vitamins*, pp. 341–42. Berlin, Ger.: de Gruyter
46. *Gassman B.* The role of entero-hepatic recirculation of vitamins in its transport and metabolism // *Biochem. J.* – 1991. – Vol. 236, № 5 – P. 541–543.
47. *Godert AM, Jin M, McLafferty FW, Begley TP.* 2007. Biosynthesis of the thioquinolobactin siderophore: an interesting variation on sulfur transfer. *J. Bacteriol.* 189 : 2941–44

48. *Lake MW, Wuebbens MM, Rajagopalan KV, Schindelin H.* 2001. 19
49. *Lange BM, Rujan T, Martin W, Croteau R.* 2000. Isoprenoid biosynthesis: the evolution of two ancient and distinct pathways across genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13172–77
50. *Lehmann C, Begley TP, Ealick SE.* 2006. Structure of the *Escherichia coli* ThiS-ThiF complex, a key component of the sulfur transfer system in thiamin biosynthesis. *Biochemistry* 45:11–19
51. *Serganov A, Polonskaia A, Phan AT, Breaker RR, Patel DJ.* 2006. Structural basis for gene regulation by a thiamine pyrophosphate-sensing riboswitch. *Nature* 441 : 1167 – 71
52. *Thore S, Leibundgut M, Ban N.* 2006. Structure of the eukaryotic thiamine pyrophosphate riboswitch with its regulatory ligand. *Science* 312 : 1208–11
53. *Xiang S, Usunow G, Lange G, Busch M, Tong L.* 2007. Crystal structure of 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase, a crucial enzyme for isoprenoids biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 282 : P. 2676 – 2682

## ВІДГУК КОНСУЛЬТАНТА З ОХОРОНИ ПРАЦІ

на розділ «Охорона праці та безпека у надзвичайних ситуаціях»

кваліфікаційної роботи ОКР «Спеціаліст»

студентки Жмуд Тетяни Петрівни

Прізвище ім'я по-батькові

5 курсу біологічного факультету, спеціальність «Біологія»

Тема кваліфікаційної роботи «Особливості функціонування тіамінази в крові білих щурів»

Характеристика змісту розділу: робота виконана на кафедрі біохімії ОНУ імені І. І. Мечникова, в якій дотримані усі вимоги охорони праці, опрацьовані та проаналізовані методи дослідження, наведена характеристика обладнання, що відповідає чинним нормативно-правовим документам з охорони праці України.

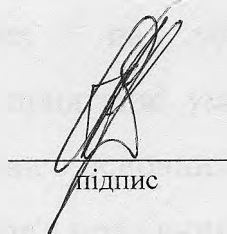
Обсяг та оформлення розділу «Охорона праці та безпека у надзвичайних ситуаціях» загальним вимогам оформлення кваліфікаційних робіт відповідає.

Консультант охорони праці  
к.біол.н., доцент кафедри  
Вчене звання, науковий ступень

  
підпис

Чеманська О.В.  
Прізвище та ініціали

Завідувач кафедри медичних  
знань та безпеки життєдіяльності  
к.пед.н., доцент

  
підпис

Коваленко С.П.  
Прізвище та ініціали