

ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)
УДК 577.34
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-1-70-86>

Поступила в редакцию 17.08.2020
Received 17.08.2020

С. А. Агейко¹, В. И. Степура², В. Ю. Смирнов³, И. И. Степура¹

¹Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси,
Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь

³Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТИАМИН И ДИСУЛЬФИДЫ ТИАМИНА

Аннотация. Под действием ультрафиолетового солнечного излучения (а также ультрафиолетового излучения ртутной лампы с $\lambda > 300$ нм) на тиамин дисульфид в нейтральной водной среде образуются молекулы тиамин с закрытым тиазоловым циклом и молекулы тиазолон тиамин. Асимметричный дисульфид тиамин, например тиаминпропил дисульфид, под действием ультрафиолетового излучения (UVA диапазон) образует тиамин и пропил-дисульфид соответственно. Тиамин и тиазолон тиамин устойчивы к действию излучения 320–400 нм (UVA диапазон). При воздействии ультрафиолетового излучения с λ от 200 до 300 нм происходит фотодеструкция тиамин и тиазолон тиамин и образуется 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидин в качестве основного продукта. Обсуждается возможность использования дисульфидных производных тиамин как перспективного класса антикатарактальных препаратов, а также препаратов для снижения токсического действия ультрафиолетового излучения на сетчатку глаза.

Ключевые слова: тиамин дисульфид, тиаминпропил дисульфид, ультрафиолетовое излучение UVA и UVB диапазонов, тиамин тиазолон, 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидин

Для цитирования. Действие ультрафиолетового излучения на тиамин и дисульфиды тиамин / С. А. Агейко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2021. – Т. 57, № 1. – С. 70–86. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-1-70-86>

S. A. Aheika¹, V. I. Stsiapura², V. Yu. Smirnov³, I. I. Stepuro¹

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

²Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

³Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

EFFECT OF ULTRAVIOLET ON THIAMINE AND THIAMINE DISULFIDES

Abstract. In a neutral medium, the exposure of thiamine disulfide to the ultraviolet of solar radiation (as well as to the ultraviolet radiation of mercury lamp with $\lambda > 300$ nm) results in the formation of a thiamine molecule with closed thiazole ring and a molecule of thiamine thiazolone. Asymmetric thiamine disulfides, e.g., thiamine propyl disulfide, on exposure to ultraviolet (UVA range) produced thiamine and propyl disulfides. Thiamine and thiazolone of thiamine are stable upon exposure to light of 320–400 nm (UVA range). UV irradiation within spectral range of 200–300 nm results in further photodestruction of thiamine and thiamine thiazolone and production of 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidine as the main photoproduct. The possibility to use thiamine disulfide derivatives as a promising class of anti-cataract drugs as well as drugs to decrease the toxic effect of ultraviolet radiation on human retina is discussed.

Keywords: thiamine disulfide, thiamine propyl disulfide, ultraviolet of UVA and UVB range, thiamine thiazolone, 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidine

For citation. Aheika S. A., Stsiapura V. I., Smirnov V. Yu., Stepuro I. I. Effect of ultraviolet on thiamine and thiamine disulfides. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2021, vol. 57, no. 1, pp. 70–86 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-1-70-86>

Введение. Тиамин (Т) (или витамин В₁) 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 α -кетоглутаратдегидрогеназа. ТДФ также является кофактором транскетолазы, ключевого фермента пентозофосфатного цикла.

При физиологических условиях Т главным образом существует в циклической форме с закрытым тиазоловым циклом. В равновесии с циклической формой тиамин в растворе находятся

минорные формы: трициклическая и тиольная, которые способны подвергаться окислительно-восстановительным превращениям [1, 2]. Было найдено, что Т и его фосфаты в слабощелочных условиях легко взаимодействуют с низкомолекулярными дисульфидами, такими как цистин, окисленный глутатион, образуя соответствующие дисульфидные производные тиамин [3, 4].

Дисульфидные формы тиамин впервые были обнаружены в луковичных растениях и затем выделены в чистом виде и подробно изучены [5–7]. Исследования показали, что дисульфидные производные тиамин легко усваиваются организмом животных, полностью восполняя дефицит Т [8]. Значительное увеличение дисульфида тиаминдифосфата наблюдалось в крови людей, пострадавших от радиоактивного облучения. Оказалось, что в крови этих людей доля TDP в форме TDP-SS- TDP значительно возрастает, и вместе с тем критически снижается содержание циклической (биологически активной) формы TDP. Последняя практически отсутствовала в крови людей с диагнозом острая лучевая болезнь, и эти изменения в статусе Т сопровождались существенными нарушениями в функции нервной системы [9].

Обнаружено образование смешанных тиамин дисульфидов в случае взаимодействия сывороточных альбуминов с тиоловыми группами витамина. Тиольная форма Т легко окисляется кислородом воздуха, полифенолами [10], а также активными формами кислорода с образованием TSST [11]. Асимметричные дисульфиды тиамин поступают в организм преимущественно с растительной пищей. Дисульфидная форма тиамин, а также его смешанные дисульфиды с белками наряду с тиамин постоянно присутствуют в крови. Окисленную дисульфидную форму тиамин, а также смешанные дисульфиды тиамин часто используют в качестве терапевтических агентов для повышения уровня тиамин в организме [12]. Легкость проникновения через клеточные мембраны, быстрая способность реактивироваться обратно в Т позволяют считать окисленную дисульфидную форму тиамин, а также его смешанные дисульфиды с белками важными компонентами транспортной системы организма, обеспечивающих непрерывную доставку Т в депонированной форме к органам и тканям [8].

Тиамин в водных растворах разрушается при облучении ультрафиолетовым светом ртутной лампы, но устойчив к действию видимого света [13]. Ранее показано, что при фотолизе тиамин ультрафиолетовым излучением с длиной волны 253,7 нм образуется целый ряд производных дигидрофурана, которые ответственны за специфический запах тиамин или поливитаминных препаратов, а также пищевых продуктов, содержащих тиамин [14]. Строение производных дигидрофурана было доказано методами масс- и ЯМР-спектроскопии, а также химического синтеза [15].

По степени воздействия на ткани живых организмов ультрафиолетовое излучение делится на три диапазона – ближний UVA (315–400 нм), средний UVB (280–315 нм) и дальний UVC (280–100 нм) ультрафиолет. Коротковолновое излучение UVC диапазона практически полностью поглощается озоновым слоем и верхними слоями атмосферы и не доходит до поверхности земли. Излучение UVB диапазона является более мягким и только на ~90 % поглощается земной атмосферой. Однако оно способно инициировать необратимые изменения в функционировании белков посредством фототрансформации таких ароматических аминокислот, как триптофан и тирозин. Ткани кожи и органов зрения обладают различным белковым составом, однако большая часть белков содержит аминокислоты триптофан и тирозин, которые являются основными хромофорами белковых молекул в UVB диапазоне [2, 16]. Высокое содержание белков в составе клеточных структур, а следовательно, тирозильных и триптофанильных остатков, почти полностью исключают прямое действие ультрафиолетового UVB диапазона на тиамин. Ароматические аминокислоты белковых макромолекул создают «экран» для ультрафиолетового UVB диапазона. Поэтому тиамин, вероятно, может окисляться главным образом вследствие взаимодействия с тирозильными и триптофанильными свободными радикалами белковых макромолекул, возникшими после поглощения излучения ароматическими аминокислотами [16]. Дисульфидные производные тиамин, в отличие от молекулы самого тиамин, обладают слабым поглощением в области длин волн больше 300 нм. Это поглощение вызвано наличием в структуре дисульфидов тиамин карбонильных групп и дисульфидных связей [4, 7]. Поглощение белков (кроме флуоресцентных, а также протеинов, содержащих простетические группы) практически отсутствует в области больше 300 нм. Поэтому можно предположить, что под действием ультра-

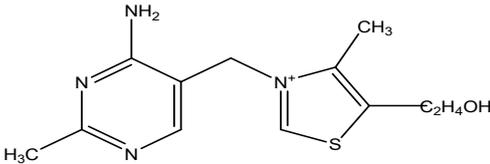
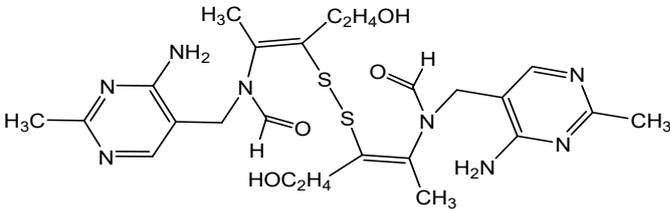
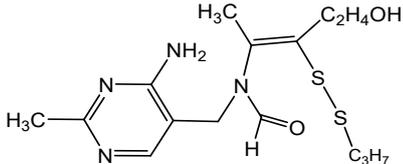
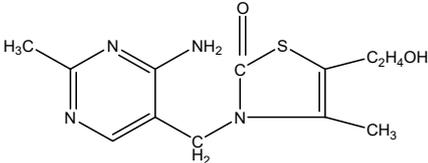
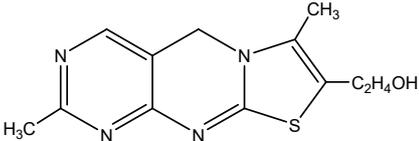
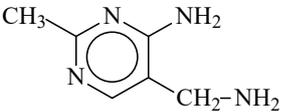
фиолетового UVA диапазона (315–400 нм) могут протекать фотохимические процессы, связанные с разрывом дисульфидных связей. Воздействие более коротковолнового излучения UVB диапазона, вероятно, будет сопровождаться разрушением аминопиримидинового и тиазолового компонентов молекул дисульфидов.

Цель работы – исследование продуктов фотолиза дисульфидов тиамин под действием ультрафиолетового света UVA и UVB диапазонов. Показано, что при воздействии ультрафиолетового света UVA области (диапазон длин волн от 315 до 400 нм) на водные растворы дисульфида тиамин образуется тиамин (Т) и тиазолон тиамин (ТТ), которые могут далее разрушаться под действием ультрафиолетового света UVB (диапазон длин волн от 280 до 320 нм) с образованием фрагментов аминопиримидинового и тиазолового компонентов.

Материалы и методы исследования. В работе использовали тиаминдисульфид (TSST), асимметричный дисульфид тиамин: тиаминпропил дисульфид, а также тиамин (Т) и тиохром (TChr) фирмы Sigma (США) (табл. 1).

Таблица 1. Структурные формулы тиаминдисульфида и продуктов его фотолиза, образованных под действием ультрафиолета

Table 1. Structural formulas of thiamine disulfide and products of its photolysis formed during the exposure to ultraviolet light

Структурная схема	Соединение
	Тиамин (Т) $R_t = 9,7$ мин
	Тиаминдисульфид (TSST) $R_t = 37,3$ мин
	Тиамин пропилдисульфид (TPSST) $R_t = 49,5$ мин
	Тиамин-тиазолон (ТТ) $R_t = 8,5$ мин
	Тиохром (TChr) $R_t = 24,5$ мин
	2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидин (AP), $R_t = 3,8$ мин

Растворы TSST и его производных облучали светом ртутных ламп (СВД-120А или ПРК-4), а также солнечным излучением. Растворы облучали полным светом ламп или использовали светофильтры УФС-1 для выделения спектральной области 280–400 нм, УФС-6 – для выделения линий при 365 нм, СЗС23 – для области 320–500 нм соответственно. Разделение и идентификацию продуктов фотолиза дисульфидов тиамин, образовавшихся после воздействия ультрафиолета на их водные растворы, проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent-1100, сорбент ZORBAX-Extend-C18 с использованием соединений стандартов. Препарат TSST содержал небольшие количества Т и ТТ в качестве примеси. Концентрации примесей мы вычитали из пиков сигналов образовавшихся продуктов облученного препарата. Регистрацию пиков выхода продуктов фотолиза Т и его производных проводили, измеряя поглощение при 280 и 320 нм. Концентрацию ТТ определяли методом ВЭЖХ [16].

Концентрацию Т также определяли флуоресцентным методом (длины волн возбуждения и флуоресценции при 365 и 450 нм) после его окисления в тиохром (TChr) щелочным феррицианидом [17]. В качестве стандарта использовали тиохром фирмы Sigma (США). Измерения флуоресценции TChr проводили на спектрофлуориметре SM 2203 (Солар, Беларусь). Измерения спектров поглощения проводили на спектрофотометре Cary-100 (США).

Результаты исследования и их обсуждение. Действие ультрафиолетового излучения на тиамин и дисульфиды тиамин. Хроматограммы растворов тиаминдисульфида (TSST) исходного и облученного ультрафиолетом лампы СВД-120А приведены на рис. 1. Пики в хроматограмме с временами удерживания R_t были идентифицированы как для $R_t = 3,8$ мин – 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидин (АР), $R_t = 8,5$ мин – тиамин-тиазолон (ТТ), $R_t = 9,7$ мин – Т, $R_t = 37,3$ мин – TSST. В результате фотохимической реакции происходит разрушение молекулы TSST ($R_t = 37,3$ мин) и образование молекул Т ($R_t = 9,7$ мин) и ТТ ($R_t = 8,4$ мин). Образование Т после воздействия ультрафиолетового излучения на дисульфидные производные Т доказано методом ВЭЖХ с использованием в качестве стандарта раствора Т.

Однако выход Т возрастал только для начальных промежутков времени воздействия ультрафиолетового излучения. Для начальных интервалов времени выходы ТТ и Т (в мкМ) примерно совпадали, т. е. были изомолярными (рис. 1, кривые 1–3). Структурные формулы TSST и продуктов его фотолиза приведены в табл. 1. При дальнейшем облучении рост концентрации Т замедлялся,

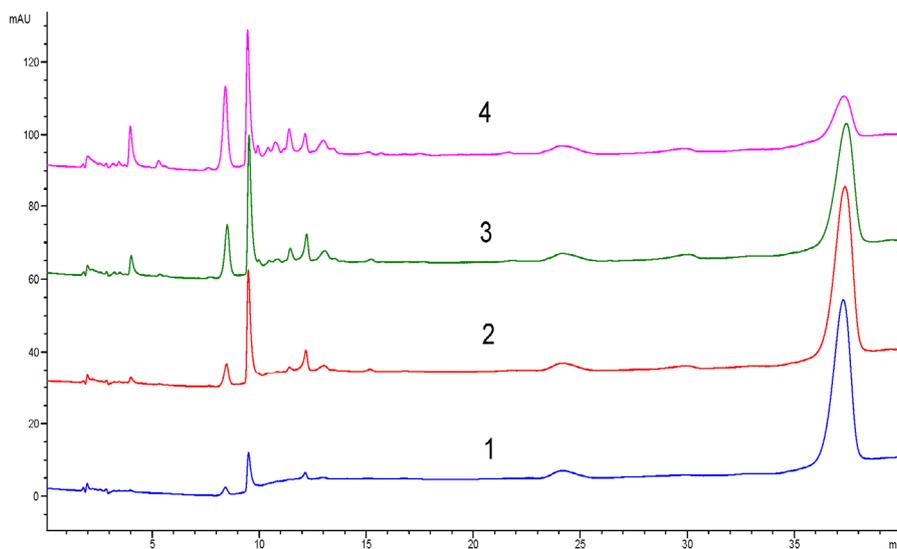


Рис. 1. Хроматограммы раствора тиаминдисульфида (TSST) исходного (1) и облученного ультрафиолетовым излучением лампы СВД-120А в течение 2 мин (2), 5 мин (3), 10 мин (4). Регистрацию пиков TSST и пиков продуктов фотолиза производилась по поглощению при 280 нм. Хроматограммы растворов 2–4 смещены по вертикали с шагом 30 а.е. для устранения их наложения друг на друга и удобства визуализации

Fig. 1. Chromatograms of initial thiamine disulfide (TSST) solution (1) and that exposed to UV light of an SVD-120A lamp during 2 min (2), 5 min (3), and 10 min (4). The peaks of TSST and products of its photolysis were recorded by absorption at 280 nm. Chromatograms 2–4 were shifted vertically with a step of 30 a.u. to avoid overlap and ensure good visibility

а затем его концентрация снижалась (рис. 1, кривые 3 и 4), а выход ТТ возрастал. В облучаемом растворе некоторое время наблюдалось практически стационарное значение концентрации Т, когда скорость его образования вследствие фотолиза TSST была равна скорости убыли Т за счет его дальнейшего окисления.

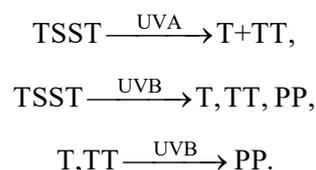
Мы предполагаем, что Т, образовавшийся вследствие фотолиза TSST, испытывает дальнейшую фотодеструкцию с образованием АР, характеризующимся $R_t = 3,8$ мин. Результаты суммированы в табл. 2. Как видно из рис. 1, препарат TSST содержит небольшие количества Т и ТТ в качестве примеси. Концентрацию примеси мы вычитали из пиков сигналов образовавшихся продуктов облученного препарата. Поэтому для исходного необлученного раствора TSST значения концентраций примесей не внесены в табл. 2.

Таблица 2. Концентрации тиамин-дисульфида (TSST), продуктов фотолиза TSST (мкМ). Начальная концентрация TSST–100 мкМ. Т–тиамин, ТТ–тиамин тиазолон, АР – 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидин

Table 2. Concentrations of thiamine disulfide (TSST) and products of TSST photolysis (in μM). Initial TSST concentration was 100 μM . T–thiamine; TT–thiamine thiazolone; AP – 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine

Время воздействия ультрафиолета на раствор TSST	TSST (мкМ) $R_t = 37,3$ мин	Т (мкМ) $R_t = 9,7$ мин	ТТ (мкМ) $R_t = 8,5$ мин	АР (мкМ) $R_t = 3,8$ мин	Другие продукты фотолиза (мкМ)
TSST + UVB (0 мин)	100	–	–	–	
TSST + UVB (2 мин)	81,0	11,2	7,2	–	>1,0
TSST + UVB (5 мин)	60,0	13,6	21,0	4	1,4
TSST + UVB (10 мин)	21,0	12,8	37,0	10	18-19

Можно заключить из результатов, приведенных на рис. 1 и в табл. 2, в растворе при воздействии света ртутной лампы протекают реакции фотолиза, которые описываются следующей последовательной схемой:



Продукты фотолиза (PP), представляющие собой смесь аминопиримидинового и фрагментов тиазолового компонентов, образуются после трансформации и распада молекулы TSST на молекулы Т и ТТ. На рис. 2 показана кинетика образования тиамин-пропил дисульфида. При воздействии ультрафиолетового излучения на водные растворы тиаминпропил дисульфида (рис. 3) или тиаминмонофосфата (рис. 4) наблюдается убыль тиамин-пропил дисульфида или фосфорного эфира тиамин-пропил дисульфида и образуется АР.

В нейтральной среде спектр поглощения монокациона Т характеризуется наличием двух полос с максимумами при 233 и 267 нм с коэффициентами молярной экстинкции $\epsilon_{233} = 12000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $\epsilon_{267} = 9600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ соответственно [2, 16]. Следует отметить, что спектр поглощения АР также имеет два характерных максимума при 233 и 270 нм, но меньшей интенсивности. Спектр поглощения Т удовлетворительно совпадает с суммой независимых поглощений спектров 3,4-диметил-5-оксиэтил-тиазолия и 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидина. Метиленовый мостик изолирует электронные структуры тиазолового и пиримидинового компонентов молекулы тиамин-пропил дисульфида и они ведут себя как практически независимые хромофоры.

TSST является производным Т, который состоит из двух молекул Т с раскрытым тиазоловым циклом, соединенных дисульфидной связью. Это пример строения симметричного дисульфида тиамин-пропил дисульфида [2]. TPSST, а также другие дисульфиды тиамин-пропил дисульфида, у которых молекула тиамин-пропил дисульфида с раскрытым тиазоловым циклом соединена дисульфидной связью с алифатическими тиолами, являются примерами асимметричных дисульфидов [4, 7].

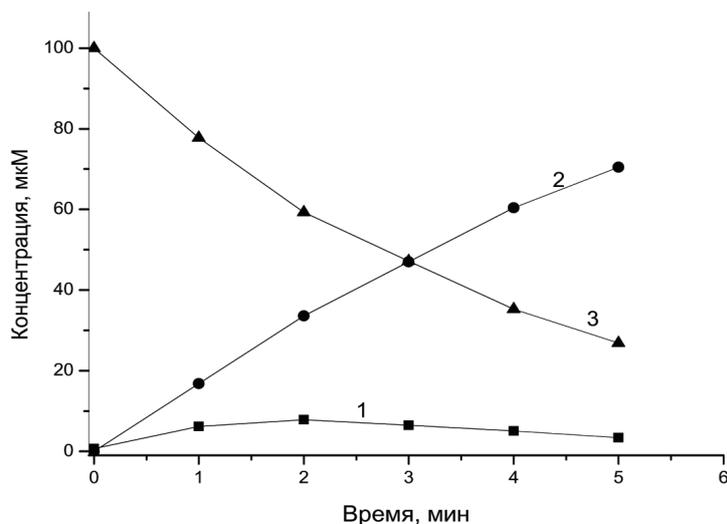


Рис. 2. Фотодеструкция тиамин пропил дисульфида (TPSST) и образование продуктов фотолиза. Образование тиамин после воздействия ультрафиолетового излучения на раствор TPSST (1); образование иных продуктов фотолиза TPSST (2); убыль концентрации TPSST в растворе в зависимости от времени воздействия ультрафиолетового излучения (3). Измерение концентрации TPSST и концентрации образовавшегося тиамин вследствие фотолиза проводили тиохромным методом. Начальная концентрация TPSST в растворе 0,1 мМ. Для измерения концентрации TPSST к его водным растворам предварительно добавляли 5-кратный молярный избыток GSH для полного его восстановления в Т и тиопропил вследствие протекания реакции тиол-дисульфидного обмена

Fig. 2. Photodestruction of thiamine propyl disulfide (TPSST) and formation of photolysis products. Production of thiamine on exposure of TPSST solution to ultraviolet (1); formation of other TPSST photolysis products (2); decrease in TPSST concentration with time of exposure to ultraviolet (3). Concentration of TPSST and the produced T were measured by fluorescent thiochrome method. Initial concentration of TPSST was 0.1 mM. To assess TPSST concentration, 5-times molar excess of GSH was added to the solution to ensure its complete reduction in T and thiopropyl due to thiol-disulfide exchange reaction

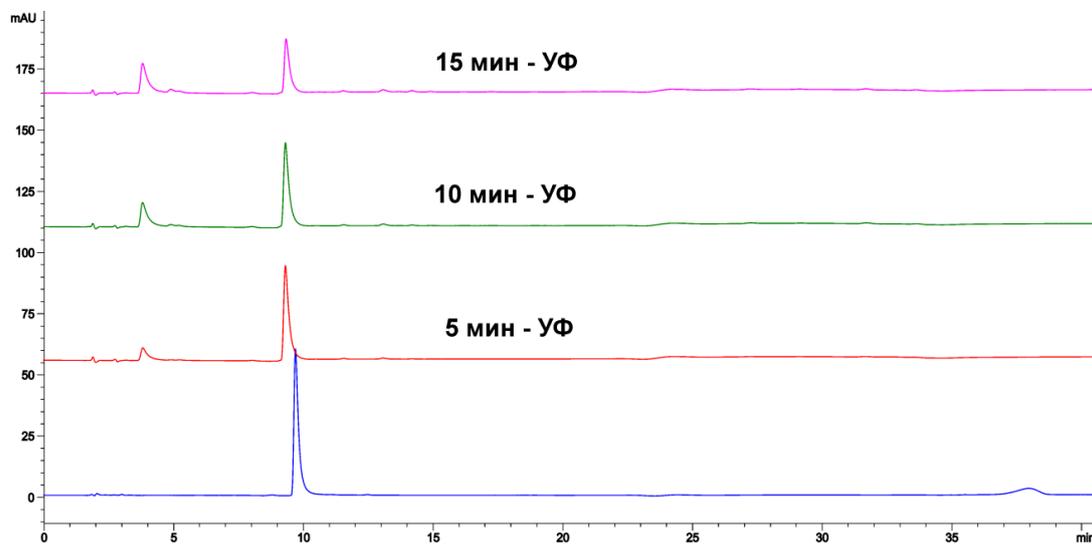


Рис. 3. Убыль Т и образование АР при воздействии ультрафиолетового излучения на водные растворы Т, регистрируемая методом ВЭЖХ. Пик с $R_t = 3,8$ мин принадлежит АР, $R_t = 9,7$ – Т. Длина волны регистрации поглощения равна 280 нм. Облучение растворов проводили светом лампы СВД 120А. Хроматограммы растворов Т при разных временах облучения смещены по вертикали для устранения наложения хроматограмм друг на друга. Базовый уровень сигналов для них один и тот же. Вертикальная ось показывает только величину сигнала

Fig. 3. Decrease in thiamine content and production of 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine on exposure of thiamine aqueous solutions to ultraviolet, detected by HPLC. The peak with $R_t = 3.8$ min is attributed to 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl pyrimidine, the peak at $R_t = 9.7$ min – to thiamine. The absorption was recorded at wavelength 280 nm. The solutions were exposed to UV light of an SVD 120A mercury lamp. Chromatograms were shifted vertically to avoid overlap and ensure good visibility. Levels of background signals were the same. Y-axis shows magnitude of signals

На рис. 5 приведены спектры поглощения Т и TPSST, имеющие в своем составе по одному аминопиримидиновому компоненту. В спектре поглощения TPSST возрастает относительный вклад аминопиримидинового компонента, который имеет два максимума поглощения при 233 и 270 нм, и снижен вклад (или отсутствует) поглощения тиазолового компонента с максимумом при 265 нм. Вклад полосы поглощения тиазолового компонента в спектре поглощения тиамин проявляет не только в возрастании интенсивности длинноволновой полосы, но и небольшом

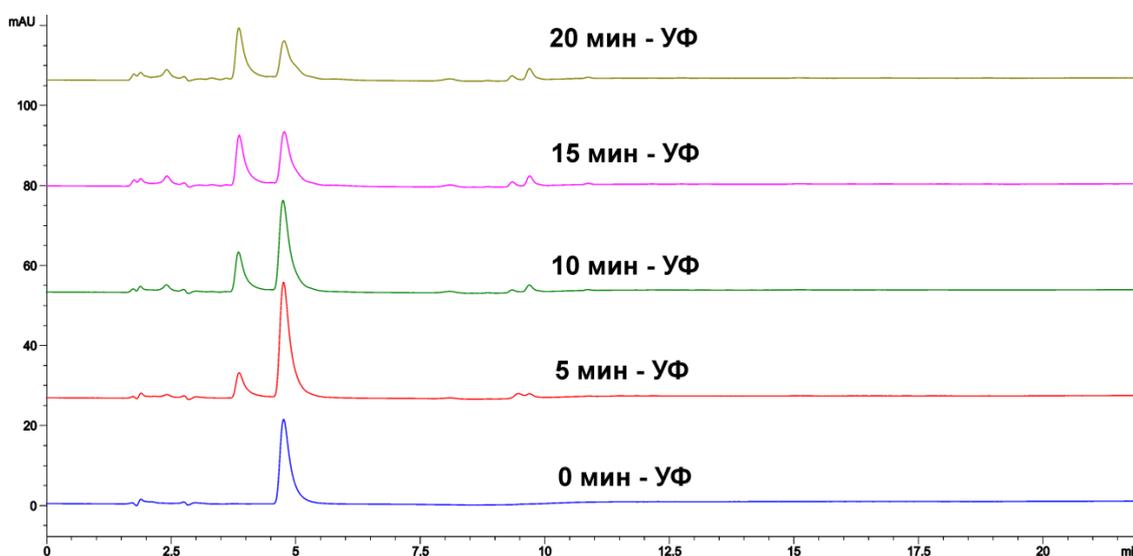


Рис. 4. Хроматограммы тиаминмонофосфата (ТМР), полученные после воздействия ультрафиолетового излучения через различные промежутки времени на его водные растворы, полученные методом ВЭЖХ. Пик с $R_t = 3,8$ принадлежит 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидину, пик $R_t = 4,8$ – тиаминмонофосфату. Длина волны регистрации поглощения тиаминмонофосфата и его продуктов фотолиза – 280 нм. Облучение растворов проводили светом лампы СВД 120А. Хроматограммы растворов ТМР при разных временах облучения смещены по вертикали. Эти сдвиги были сделаны для устранения наложения хроматограмм друг на друга

Fig. 4. HPLC chromatograms of thiamine monophosphate obtained at different durations of UV exposure. The peak at $R_t = 3.8$ min is assigned to AP, the peak at $R_t = 4.8$ min – to thiamine monophosphate. The absorption was recorded at wavelength 280 nm. The solutions were exposed to UV light of an SVD 120A mercury lamp. Chromatograms were shifted vertically to avoid overlap and ensure good visibility

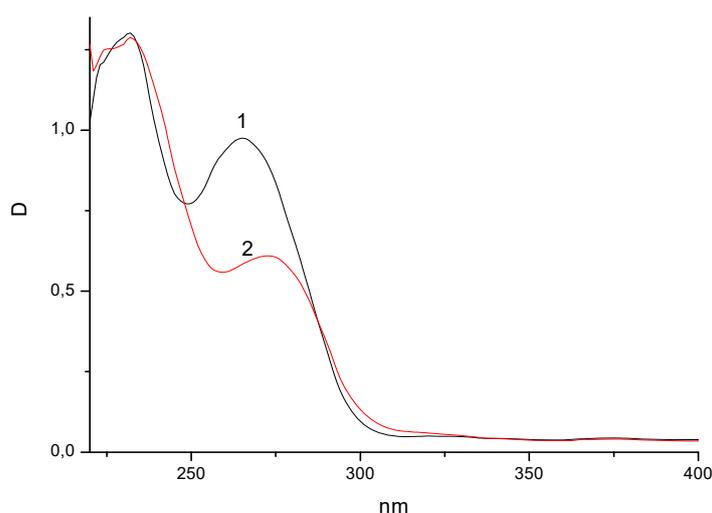


Рис. 5. Спектры поглощения водных растворов тиамин (1) и тиаминпропил-дисульфида (2). Концентрация Т и TPSST 0,1 мМ в фосфатном буфере, pH 7,0

Fig. 5. Absorption spectra of aqueous solutions of thiamine (1) and thiaminepropyl disulfide (2). The concentrations of T and TPSST was 0.1 mM, phosphate buffer pH 7.0

сдвиге ее максимума в коротковолновую область (рис. 5, кривая 1). Слабое длинноволновое поглощение в спектре тиаминпропил дисульфида в области 290–360 нм принадлежит карбонильной группе и отсутствует в спектре поглощения тиамин (рис. 5). Такое же слабое длинноволновое поглощение характерно и для спектров поглощения TSST и других производных тиамин дисульфида. Причем спектры поглощения изомолярных концентраций TSST и TPSST в области длин волн 200–400 нм практически совпадают.

Фотолиз TSST с образованием молекул Т был подтвержден флуоресцентным методом после окисления полученного тиамин в тиохром щелочным феррицианидом (рис. 6). Выход Т в зависимости от времени облучения водного раствора TSST ультрафиолетового UVB диапазона (в кварцевой кювете) или выход Т в зависимости от времени облучения водного раствора TSST ультрафиолетового UVA диапазона (в стеклянной кювете) различается (рис. 6, кривая В и С соответственно). Наблюдали высокий выход Т после облучения водных растворов TSST в кварцевой кювете полным спектром ртутной лампы, но только в течение начальных промежутков времени экспозиции. Например, в случае условий, указанных для рис. 6, это составило ~ 15 мин. Дальнейшее облучение в течение 60–70 мин приводило к практически полному разрушению TSST, а также к фотодеструкции первоначально образовавшегося вследствие фотолиза Т. В начальные промежутки времени количество образовавшегося Т в молях составляло 40–45 % от эквимолярного количества разрушенного TSST. При продолжительном воздействии ультрафиолетового излучения в течение 90 мин в растворе регистрировали менее 1 % Т от количества разрушенного TSST.

Данные ВЭЖХ, представленные на рис. 1, свидетельствуют о быстром разрушении молекул TSST и образовании молекул тиамин, тиазолон тиамин и продуктов, являющихся фрагментами пиримидинового и тиазолового компонентов молекул. Причем, как следует из анализа хроматограмм, в начальные промежутки времени образуются примерно одинаковые концентрации тиамин ($R_t = 9,7$ мин) и тиазолон тиамин ($R_t = 8,5$ мин) соответственно. Более низкая интенсивность пиков тиазолон тиамин по сравнению с интенсивностью пиков тиамин связана

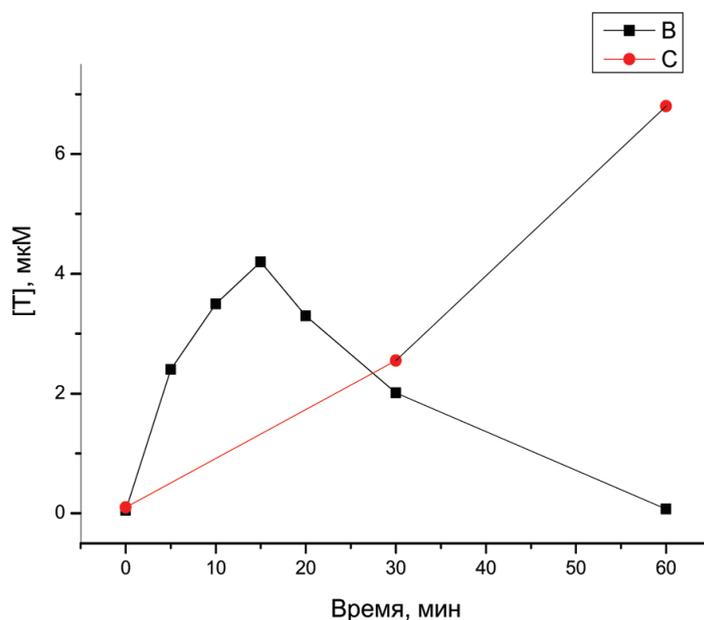


Рис. 6. Выход тиамин в зависимости от времени ультрафиолетового облучения тиаминдисульфида в кварцевой (В) или стеклянной кювете (С). Концентрация тиаминдисульфида 0,1 мМ, фосфатный буфер pH 7,0. Облучение растворов тиаминдисульфида проводили полным спектром ртутной лампы СВД-120А. Концентрацию Т определяли флуоресцентным методом (длина волны возбуждения 365 нм, длина волны флуоресценции 450 нм) после его окисления в TChr щелочным феррицианидом

Fig. 6. Thiamine yield at different times of thiamine disulfide irradiation by ultraviolet in a quartz cell (B) or in a glass cell (C). Concentration of thiamine disulfide was 0.1 mM, phosphate buffer pH 7.0. Thiamine disulfide solutions were irradiated by a full spectrum of an SVD-120A mercury lamp. T concentration was measured by fluorescent method (excitation 365 nm, emission 450 nm) after its oxidation to TChr by alkaline ferricyanide

с меньшим значением коэффициента молярной экстинкции при 280 нм, при которой проводилась регистрация для молекул тиазолона тиамин.

Как уже упоминалось ранее, молекулы тиамин под действием ультрафиолетового UVB диапазона испытывают дальнейшие превращения с образованием AP ($R_t = 3,8$ мин). На рис. 3 приведены ВЭЖХ-хроматограммы водных растворов тиамин для различных промежутков времени воздействия ультрафиолетового излучения. Фосфорные эфиры тиамин – тиаминмонофосфат и тиаминдифосфат так же как и собственно молекула тиамин разрушаются с образованием AP и фрагментов тиазолового компонента. Аналогично ТТ под действием ультрафиолетового UVB диапазона испытывает фотолиз, сопровождающийся фрагментацией тиазолового компонента.

На рис. 4 приведены хроматограммы водных растворов тиаминмонофосфата для различных промежутков времени воздействия ультрафиолетового излучения, свидетельствующие о разрушении тиазолового компонента тиаминмонофосфата и образовании AP (как и в случае тиамин). Сравнивая результаты, полученные методом ВЭЖХ (рис. 1) и флуоресцентным методом (рис. 6), можно заключить, что тиамин, образовавшийся в процессе фотолиза TSST под действием ультрафиолетового UVB диапазона, испытывает быстрое разрушение с образованием продуктов, молекулы которых не окисляются феррицианидом в тиохром.

На рис. 7 приведена предполагаемая схема образования молекул Т и ТТ вследствие фотолиза тиаминдисульфида (TSST) под действием ультрафиолетового UVA диапазона и схема образования фрагментов молекул Т и ТТ после последующего воздействия ультрафиолетового UVB диапазона на этот же раствор TSST. Мы предполагаем, что после поглощения кванта света $h\nu$ (диапазон ультрафиолетового UVA) происходит фотодиссоциация дисульфида тиамин (I) на тиольные радикалы (II) тиольной формы тиамин с последующей реакцией диспропорционирования (рис. 8).

В результате реакции диспропорционирования образуется окисленная тиольная форма тиамин (III), а также тиольная форма тиамин TSH (IV). Тиольная форма тиамин в нейтральной и кислой средах образует монокатионную форму тиамин с замкнутым тиазольным циклом (V). Окисленная тиольная форма тиамин трансформируется в молекулу тиазолона тиамин (VI). Таким образом, действие ультрафиолетового диапазона UVA (рис. 8, излучение $h\nu$) на молекулы тиаминдисульфида приводит к образованию Т и ТТ в качестве конечных продуктов. Тиамин и тиазолон-Т устойчивы к действию ультрафиолетового UVA диапазона. Этот вывод подтверждают экспериментальные данные, представленные на рис. 6, кривая С.

Выход тиамин возрастает в течение всего времени облучения водных растворов TSST (рис. 6, кривая С). Более продолжительное воздействие ультрафиолетового излучения (2 ч и более) приводило практически к полному разрушению дисульфида тиамин с образованием тиамин и тиазолона тиамин. Дальнейшее UVA облучение растворов не изменяло содержание тиамин и тиазолона тиамин в растворе. Воздействие на облученные растворы более коротковолнового UVB ультрафиолета (рис. 8, $h\nu_1$ -излучение) приводит к образованию продуктов, которые являются фрагментами молекул Т и ТТ соответственно (VII) и (VIII).

Как следует из анализа результатов, представленных на рис. 1, действие ультрафиолетового UVA и UVB диапазонов на тиаминдисульфид приводит к образованию молекул тиамин ($R_t = 9,7$ мин), тиазолона тиамин ($R_t = 8,5$ мин), аминопиримидинового компонента ($R_t = 3,8$ мин) и фрагментов тиазолового компонента. На рис. 3 показано уменьшение концентрации тиамин и образование 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидина в зависимости от времени воздействия ультрафиолетового UVB диапазона на водные растворы тиамин, регистрируемая методом ВЭЖХ.

Скорость образования тиамин при воздействии ультрафиолетового UVB+UVA диапазонов высока только в начальные промежутки времени. При более продолжительных временах облучения скорость деструкции тиамин превышает скорость его образования.

Для асимметричного дисульфида тиамин TPSST наблюдали образование таких же продуктов фотолиза, как и для дисульфида тиамин (рис. 8). Например, при воздействии ультрафиолетового излучения UVA на TPSST ($R_t = 49,5$ мин) наблюдали образование Т, ТТ с временами удерживания 9,7 и 8,5 мин соответственно. Как видно из результатов, представленных на рис. 8, образования AP не наблюдали.

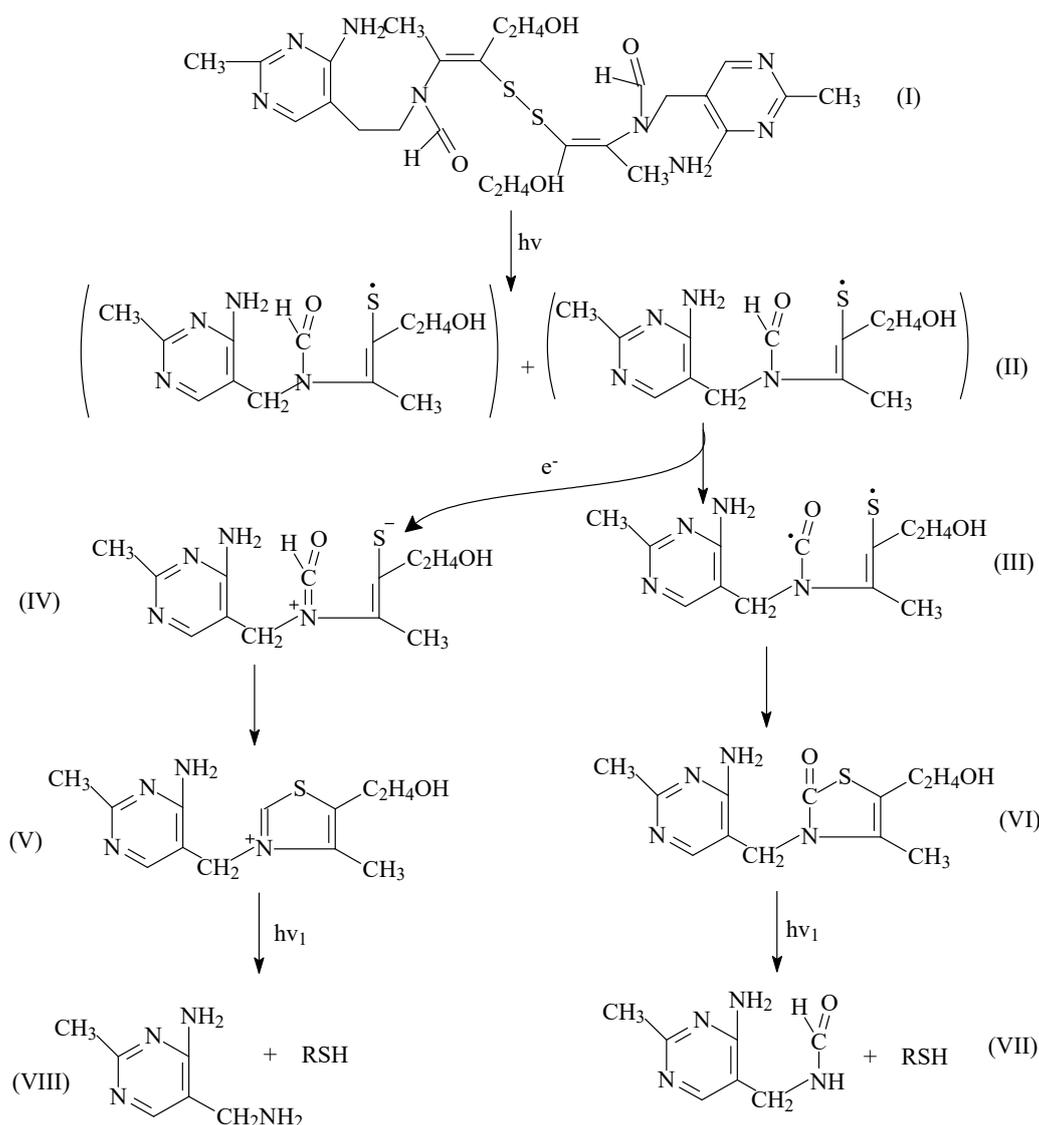


Рис. 7. Предполагаемая схема образования молекул тиамина и тиазолона тиамина вследствие фотолиза тиамин-дисульфида (TSST), где $h\nu$ – излучение ультрафиолетового UVA диапазона, (I) – TSST, (II) – тиильные радикалы TS, (III) – окисленная тиильная форма тиамина или бирадикал тиильной формы тиамина, (IV) – тиольная форма тиамина, (V) – монокатионная форма молекулы Т с замкнутым тиазольным циклом, (VI) – ТТ, тиаминтиазолон. Предполагаемая схема фрагментации молекул тиамина и тиазолона тиамина под действием ультрафиолетового UVB диапазона, где $h\nu_1$ – излучение ультрафиолетового UVB диапазона; (VII) – фрагменты фотолиза пиримидинового и тиазолового компонентов молекулы тиазолона тиамина, (VIII) – фрагменты фотолиза пиримидинового и тиазолового компонентов тиамина

Fig. 7. Proposed scheme of thiamine and thiamine thiazolone formation during photolysis of TSST, where $h\nu$ – photons of UVA range, (I) – TSST, (II) – thyl radicals TS, (III) – oxidized thiamine thyl form, (IV) – thiol form of thiamine, (V) – monocationic form of T with closed thiazole ring, (VI) – TT, thiamine thiazolone. Possible scheme of further fragmentation of T and TT under exposure to UVB irradiation, where $h\nu_1$ – photons of UVB range, (VII) – products of TT photolysis, (VIII) – products of T photolysis

Пик с $R_t = 49,3$ мин принадлежит TPSST, пик с $R_t = 9,6$ мин – Т, пик с $R_t = 7,8$ мин – ТТ. Регистрация пиков TPSST и пиков продуктов фотолиза производилась по поглощению при 280 нм. Облучение растворов TPSST проводили спектром ртутной лампы СВД-120А с использованием стеклянного светофильтра СЗС23, пропускающего излучение с $\lambda > 300$ нм.

Воздействие ультрафиолетового UVB диапазона в течение 60 мин сопровождалось практически полным превращением TSST в последовательных реакциях с образованием AP ($R_t = 3,85$ мин) в качестве одного из основных продуктов фотолиза, а также фрагментов тиазолового компонента.

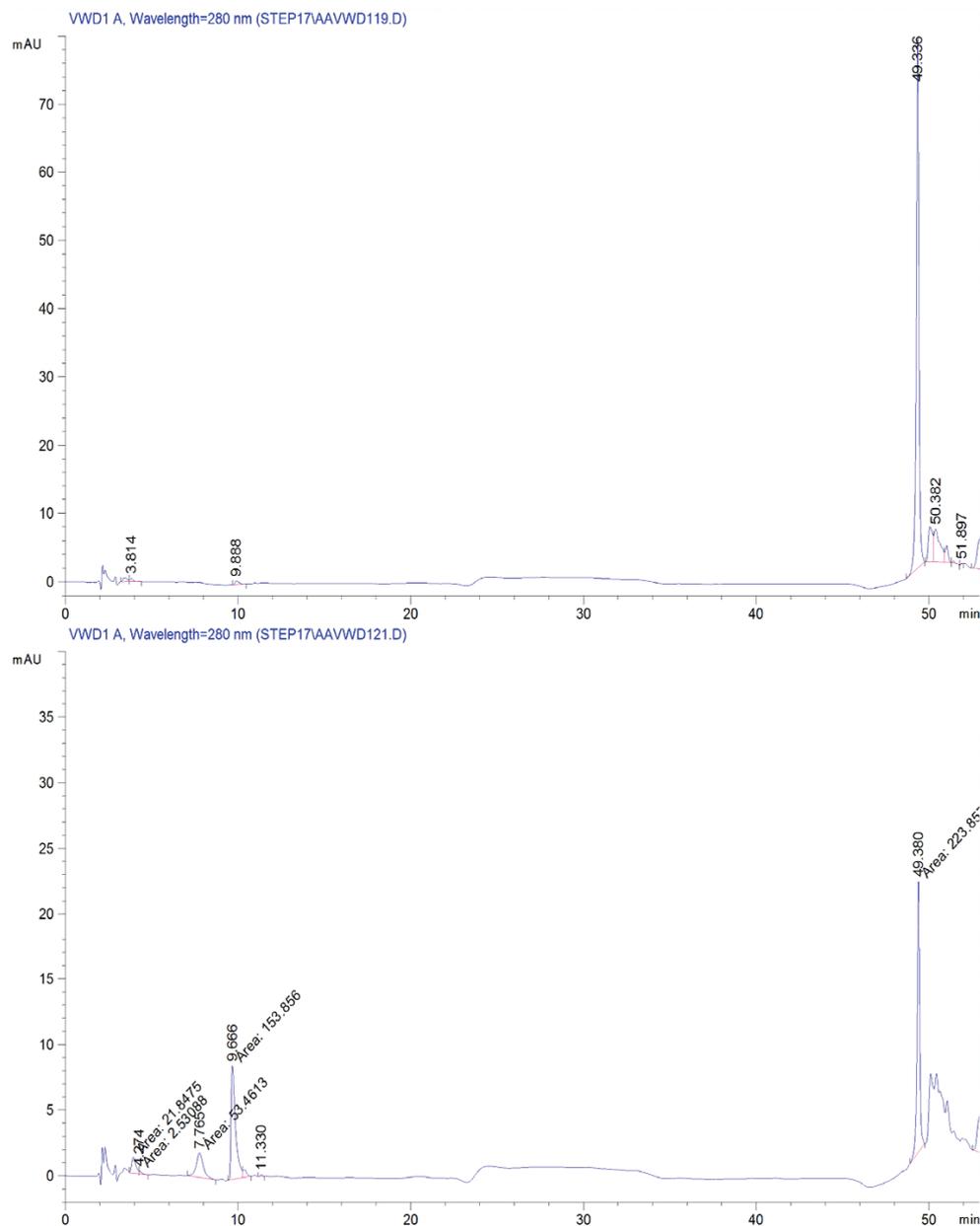


Рис. 8. Хроматограммы раствора тиаминпропилдисульфида (TPSST) исходного (1, *a*) и облученного ультрафиолетовым UVA диапазоном в течение 60 мин (2, *b*)

Fig. 8. Chromatograms of initial thiaminepropyl disulfide (TPSST) (1, *a*) and that exposed to UVA during 60 min (2, *b*)

На рис. 6 (кривая *B*) показано, что в растворе практически отсутствует тиамин после облучения в течение 60 мин, а содержание TSST после фотолиза также было незначительным, практически отсутствовало. На рис. 9 показана предполагаемая схема образования молекул тиамина и тиазолна тиамина вследствие фотолиза тиаминпропилдисульфида (TPSST). Следует подчеркнуть, что фотодиссоциация дисульфидной связи в составе молекул дисульфидов тиамина может происходить под действием ультрафиолетового как UVA, так и UVB диапазонов. Образовавшиеся вследствие фотолиза асимметричного дисульфида алифатические тиильные радикалы, вероятно, взаимодействуют между собой с образованием соответствующих алифатических дисульфидов.

Для ультрафиолетового UVA диапазона фотолиз TSST заканчивается на стадии образования тиамина и тиазолна тиамина в качестве конечных продуктов. Следовательно, можно заключить что под действием ультрафиолетового как UVA, так и UVB диапазона первые стадии реакций фотодиссоциации дисульфида тиамина (I), а также образования продуктов фотолиза (II)–(VI)

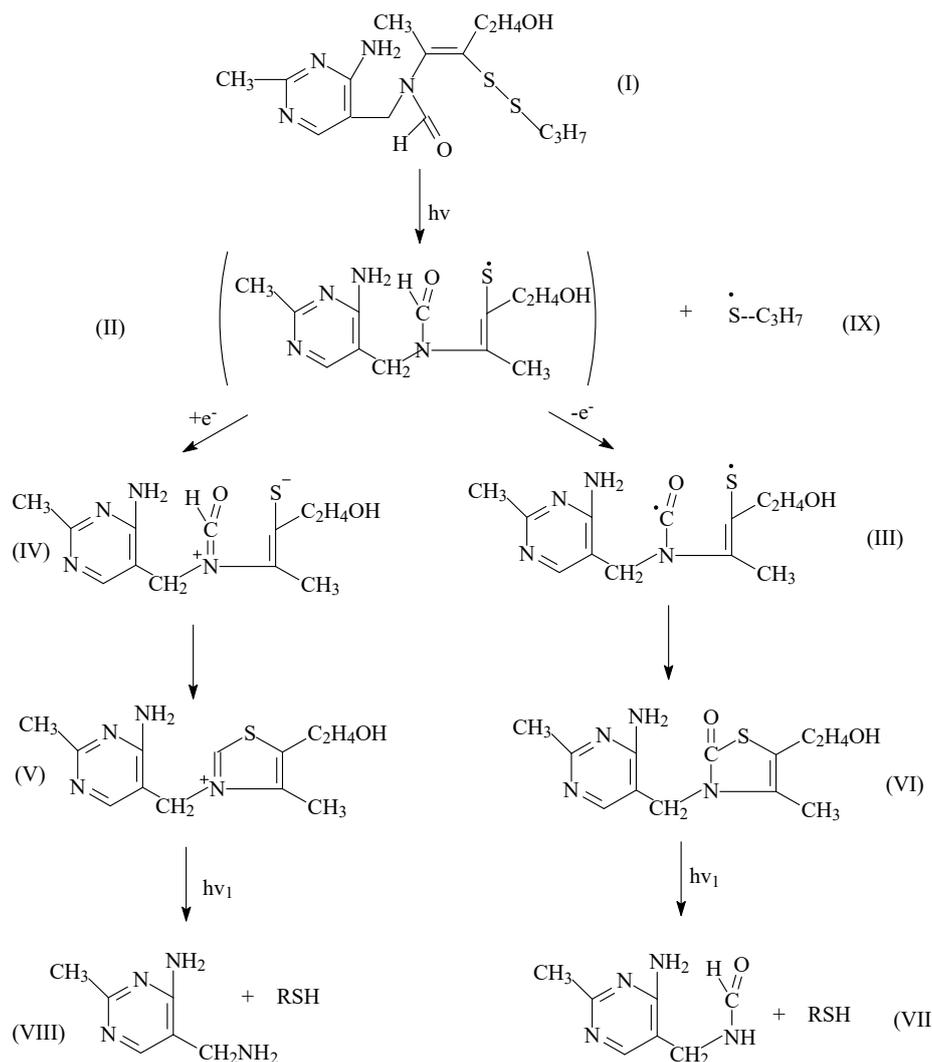


Рис. 9. Предполагаемая схема образования молекул тиамина и тиазолон тиамина вследствие фотолиза тиаминпропилдисульфида (TPSST), где $h\nu$ – ультрафиолетовое излучение UVA диапазона, (I) – TPSST, (II) – тиильный радикал TS, (III) – окисленная тиильная форма тиамина, (IV) – тиольная форма тиамина, (V) – молекула Т в монокатионной форме с закрытым тиазольным циклом, (VI) – тиаминтиазолон ТТ. Предполагаемая схема фрагментации молекул тиамина и тиазолон тиамина под действием UVB ($h\nu_1$ – ультрафиолетовое излучение UVB диапазона). (VII) – фрагменты фотолиза пиримидинового и тиазольного компонентов молекулы тиазолон тиамина, (VIII) – фрагменты фотолиза пиримидинового и тиазольного компонентов тиамина, (IX) – тиильный радикал тиопропила

Fig. 9. Proposed scheme of thiamine and thiamine thiazolone formation during photolysis of thiaminepropyl disulfide (TPSST), where $h\nu$ – photons of UVA range, (I) – TPSST, (II) – thyl radical TS, (III) – oxidized thiamine thyl form, (IV) – thiol form of thiamine, (V) – monocationic form of T with closed thiazole ring, (VI) – TT, thiamine thiazolone. Possible scheme of further fragmentation of T and TT under exposure to UVB irradiation, where $h\nu_1$ – photons of UVB range, (VII) – products of TT photolysis, (VIII) – products of T photolysis, (IX) – thyl radical of thiopropyl

одинаковы. Этот вывод хорошо иллюстрируют данные, приведенные на рис. 6, кривая B, свидетельствующие о быстром разрушении образовавшегося тиамина под действием ультрафиолетового UVB диапазона и об устойчивости тиамина к действию UVA диапазона, кривая C. При воздействии на водные растворы только ультрафиолетового UVB диапазона образуются те же продукты, что и при последовательном воздействии на водный раствор UVA и UVB диапазонов.

Обсуждение возможности протекания фотолиза тиамина и дисульфидов тиамина под действием ультрафиолетового излучения в клеточных структурах глаза. Ионизирующее и ультрафиолетовое излучение (UV) вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру ДНК и белков, так и в результате генерации активных форм кисло-

рода и активных карбонильных соединений, оказывающих повреждающее действие. Белки составляют до 70 % от сухой массы клеток и тканей, поэтому во многих случаях служат важной мишенью воздействия UV или ионизирующего излучения [2]. Индольное кольцо триптофана (Trp), а также тирозильные остатки обладают наиболее высоким поглощением в ближнем UV диапазоне среди хромофорных групп (исключая простетические), входящих в состав белков.

Прямое воздействие UV осуществляется путем поглощения излучения белками или связанных с ними хромофорными группами с образованием возбужденных состояний (синглетных или триплетных) либо свободных радикалов вследствие фотоионизации [18]. Другие важнейшие процессы, приводящие к окислению белков, связаны с генерацией синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) благодаря переносу энергии с возбужденных ароматических аминокислотных остатков белка в первую очередь с остатков тирозина (Tyr) и Trp на молекулы кислорода в основном триплетном состоянии. В результате этой реакции образуется $^1\text{O}_2$ [19, 20].

Следовательно, при воздействии UV на водные растворы Tyr, Trp или водные растворы белков генерируются $^1\text{O}_2$, а также феноксильные и триптофанильные свободные радикалы аминокислот или свободные радикалы соответствующих аминокислотных остатков белков, которые окисляют T и фосфорные эфиры T [18–20]. T не поглощает электромагнитное излучение с длинами волн больше 300 нм и устойчив к действию света в области UVA и видимого диапазонов. Однако в организме присутствует целый ряд хромофоров и простетических групп ферментов белков способных генерировать $^1\text{O}_2$ под действием видимого света. Рибофлавин (RF), витаминеры B₆, белки, содержащие ковалентно связанные фосфопиридоксиновые остатки с первичными аминогруппами (аминогруппами остатков лизина, α-аминогруппами N-конца полипептидной цепи белковой макромолекулы), поглощают электромагнитное излучение видимого диапазона [21, 22].

Кожа и органы зрения человека в наибольшей степени подвержены воздействию солнечного ультрафиолетового излучения [23]. Наиболее злокачественные заболевания этих органов, такие как рак и катаракта, развиваются примерно у половины населения земного шара, перешагнувшего рубеж 65 лет [24, 25].

Как известно, продолжительное воздействие ультрафиолетового излучения на глаза вызывает образование активных форм кислорода, которые, наиболее вероятно, ответственны за развитие различных дегенеративных процессов, в том числе катаракты [18, 26]. Защитные механизмы против повреждающего действия окислительного стресса, вызванного излучением, включают прямой перехват свободных радикалов, возрастание продукции НАД(Р)Н, поглощение ультрафиолетового излучения [18, 26, 27]. Внешняя поверхность роговицы покрыта многослойным эпителием и она играет роль барьера, отделяющего внутренние структуры глаза от внешней среды, препятствует всасыванию слезной жидкости, является фильтром ослабляющим повреждающее действие ультрафиолетового излучения [27, 28]. Тиамин, тиаминзависимые ферменты, вероятно, играют важную роль в защите роговицы и хрусталика глаза от повреждения активными формами кислорода и азота. Ранее показано, что T эффективно тушит синглетный $^1\text{O}_2$, который генерируется RF [29], инактивирует тирозильные и триптофанильные радикалы аминокислотных остатков макромолекул, образующиеся при воздействии ультрафиолета [16], а также при воздействии высокоокисленных форм гемопротеинов [11].

В метаболизме роговицы преобладает фосфоглюконатный окислительный путь, который использует более 50 % потребляемой глюкозы. Транскетолаза, тиаминзависимый ключевой фермент фосфоглюконатного окислительного пути, составляет 10–15 % от общего количества водорастворимых ферментов роговицы мышей. Фосфоглюконатный путь также наряду с гликолизом играет важную роль в обмене углеводов в хрусталике [27, 28]. Поэтому разрушение ультрафиолетом тиамина и особенно тиаминдифосфата, который является кофактором тиаминзависимых ферментов, вызывает их инактивацию и, вероятно, способствует развитию дегенеративных процессов в клеточных структурах глаза.

Данные ВЭЖХ, суммированные на рис. 1 и 2, свидетельствуют о разрушении молекул тиаминдисульфида и тиаминпропилдисульфида под действием ультрафиолетового UVB диапазона с образованием тиамина и тиазолон тиамина, а также о быстрой деструкции молекул тиамина, фосфорных эфиров тиамина с образованием 2-метил-4-амино-5-аминометил-пиримидина

(рис. 3 и 4). В то же время дисульфидные производные тиаминна в отличие от тиаминна обладают слабым поглощением в области длин волн больше 290–300 нм (рис. 5), которое, вероятно, связано с поглощением карбонильной группы молекулы тиаминдисульфида. В этом случае наблюдали постепенный рост выхода тиаминна в течение всего времени воздействия ультрафиолетового UVA диапазона (рис. 6, кривая С).

Схематически предполагаемый процесс фотолиза молекул тиаминдисульфида под действием ультрафиолетового UVA диапазона показан на рис. 7, схема фотолиза тиаминпропилдисульфида приведена на рис. 9. Мы предполагаем, что эти фотохимические реакции происходят в передней камере глаза, так как она прозрачна для видимого света и ультрафиолетового излучения UVA. Излучение диапазона длин волн 315–400 нм не поглощается роговицей, свободно проходя в ткани хрусталика человека, которые его и поглощают. Именно хрусталик защищает сетчатку глаза от повреждения UVA, поглощая опасное излучение [30].

Сразу за роговицей в передней капсуле глаза находится водянистая влага. Это светопреломляющая жидкость, которая омывает радужку и хрусталик. За счет водянистой влаги реализуется транспорт веществ к аваскулярным тканям глаза: именно эта жидкость осуществляет связь между цилиарным телом, пронизанным кровеносными сосудами, и стекловидным телом и хрусталиком. Обе эти ткани не имеют ни нервов, ни кровеносных и лимфатических сосудов, поскольку должны быть прозрачными для проведения света к сетчатке [31, 32]. В водянистой влаге содержатся те же вещества, что и в крови. Поэтому при возрастании содержания дисульфидов тиаминна в плазме крови следует ожидать, что в водянистой влаге также возрастает их концентрация и, следовательно, будет увеличиваться высвобождение витамина В₁ из состава дисульфидов тиаминна под действием ультрафиолетового UVA диапазона. Это очень важно для питания роговицы, которое происходит только через водянистую влагу. Транспорт метаболитов в глубь хрусталика имеет диффузионный характер и происходит по градиенту концентрации. Поэтому можно предположить, что ультрафиолетовое излучение UVA диапазона будет высвобождать тиамин из состава дисульфидов тиаминна, особенно если они адсорбированы поверхностными слоями хрусталика. Как известно, синтез белков хрусталика и основные метаболические процессы связаны с функционированием тиаминзависимых ферментов и происходят во внешнем периферическом эндотелиальном слое клеток хрусталика [28].

Вывод. Таким образом, полученные результаты в опытах *in vitro* показывают, что ультрафиолетовое излучение вызывает освобождение тиаминна из физиологического депо, состоящего из дисульфидов тиаминна и смешанных дисульфидов тиаминна с алифатическими тиолами. Эти фотохимические реакции, вероятно, важны для доставки молекул тиаминна и их замены вместо разрушенных в местах подвергнутых действию ультрафиолетового излучения. Важно отметить, что этот процесс протекает симбатно с интенсивностью действующего излучения. Кроме того, известно, что тиамин является эффективной ловушкой синглетного кислорода [29] и, возможно, оказывает защитное антиоксидантное действие в районе воздействия ультрафиолетового излучения. Обсуждается возможность использования тиаминна и дисульфидных производных тиаминна как перспективного класса антикатарактальных препаратов, а также в качестве препаратов для снижения токсического действия интенсивного ультрафиолетового излучения на оптическую и кровеносную системы глаза, а также на сетчатку глаза.

Список использованных источников

1. Островский, Ю. М. Тиамин / Ю. М. Островский. – Минск: Наука и техника, 1971. – 144 с.
2. Metzler, D. E. Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells / D. E. Metzler. – N. Y.: Academic Press, 1977. – Vol. 2. – 937 с.
3. Itada, N. Studies on the disulfide form of thiamine. I. Detection of the disulfide form of thiamine in animal organs / N. Itada // J. Vitaminol (Kyoto). – 1959. – Vol. 5, N 1. – P. 61–65. <https://doi.org/10.5925/jnsv1954.5.61>
4. Колтунова, В. И. Производные тиольной формы тиаминна. Витамины и витаминные препараты / В. И. Колтунова, В. М. Березовский, В. А. Яковлев. М.: Медицина, 1973. – P. 6–41.
5. Fujiwara, M. H. Allithiamine” a newly found derivative of vitamin b1: i. Discovery of allithiamine / M. H. Fujiwara, H. Watanabe, K. Matsui // Journal of Biochemistry. – 1954. – Vol. 41, N 1. – P. 29–39. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a126421>

6. Matsukawa, T. On the structure of allithiamine / T. Matsukawa, S. Yurugi // Proceedings of the Japan Academy. – 1952. – Vol. 28, N 3. – P. 146–149. <https://doi.org/10.2183/pjab1945.28.146>
7. Березовский, В. М. Химия витаминов / В. М. Березовский. – Москва: Пищевая промышленность, 1973. – 633 с.
8. Lonsdale, D. A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamin(e) and its derivatives / D. Lonsdale // Evid Based Complement Alternat Med. – 2006. – Vol. 3, N 1. – P. 49–59. <https://doi.org/10.1093/ecam/nek009>
9. Нарушение обмена тиамин в крови больных лучевой патологией и возможная связь этого нарушения с поражением нервной системы / Ю. М. Пархоменко [и др.] // Докл. Акад. наук Украины. – 1995. – № 2. – P. 112–114.
10. Beriberi caused by antithiamin factors in food and its prevention Annals / S. Vimokesant [et al.]. // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1982. – Vol. 378, N 1. – P. 123–136. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1982.tb31191.x>
11. Stepuro, I. I. Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions / I. I. Stepuro, V. I. Stepuro. – Lap Lambert Academic Publishing, 2014. – 280 p.
12. Benfotiamine, a synthetic S-acyl thiamine derivative, has different mechanisms of action and a different pharmacological profile than lipid-soluble thiamine disulfide derivatives / M. L. Volvert [et al.] // BMC pharmacology. – 2008. – Vol. 8, N 1. – P. 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-8-10>
13. Kawasaki, C. Decomposition of thiamine derivatives by ultraviolet irradiation / C. Kawasaki, I. Daire // J. Vitaminol. – 1963. – N 9. – P. 264–268. <https://doi.org/10.5925/jnsv1954.9.264>
14. Identification of a thiamin odor compound from photolysis of thiamin / R. M. Seifert [et al.] // J. Agric Food Chem. – 1978. – Vol. 26, N 5. – P. 1173–1176. <https://doi.org/10.1021/jf60219a054>
15. Van Dort, H. M. Identification and synthesis of new odor compounds from photolysis of thiamine / H. M. van Dort, L. M. van Linde, D. Rijke // J. Agric Food Chem. – 1984. – Vol. 32, N 3. – P. 454–457. <https://doi.org/10.1021/jf00123a007>
16. Ингибирование тиамином фотолиза тирозина, триптофана, тирозинильных и триптофанильных остатков белков под действием ультрафиолета / И. И. Степура [и др.] // Биохимия и молекулярная биология: сб. науч. ст. – Гродно, 2017. – Вып. 1: Посттрансляционная модификация белков. – С. 68–88.
17. Юденфренд, С. Ю. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине / С. Ю. Юденфренд. – М.: Мир, 1965. – 484 с.
18. Davies, M. J. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis / M. J. Davies, J. W. Truscott // J. of Photochemistry and Photobiology. – 2001. – Vol. 63, N 1-3. – P. 114–125. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00208-1](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00208-1)
19. Фут, Х. Фотосенсибилизированное окисление и синглетный кислород / Х. Фут // Свободные радикалы в биологии / под ред. У. Прайор. – М.: Мир, 1979. – Т. 2. – С. 96–150.
20. Красновский, А. А. Фотодинамическая регуляция биологических процессов: первичные механизмы / А. А. Красновский // Проблемы регуляции в биологических системах / под ред. А. Б. Рубина. – М. – Ижевск: Регуляция и хаотическая динамика, 2006. – С. 223–254.
21. Photosensitized formation of singlet oxygen by vitamins of the B group / B. M. Dzhagarov [et al.] // Journal of Applied Spectroscopy. – 1995. – N 2 (62). – P. 285–289. <https://doi.org/10.1007/bf02606482>
22. Edvards, A. Effect of visible light on selected enzymes, vitamins and amino acids / A. Edvards, E. Silva // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2001. – Vol. 63, N 1–3. – P. 126–131. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00209-3](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00209-3)
23. Галанин, Н. Ф. Лучистая энергия и ее гигиеническое значение / Н. Ф. Галанин. – Л.: Медицина, 1969. – 182 с.
24. Cancer trends progress report, Update 2007 [Electronic Resource] / National cancer institute's. – Mode of access: <https://progressreport.cancer.gov/sites/default/files/archive/report2007.pdf>. – Date of access: 15 April 2008.
25. Global initiative for the prevention of avoidable blindness / World Health Organization. – Geneva: World Health Organization, 2000. – № WHO/PBL/97.61 Rev. 2.
26. Островский, М. А. Молекулярные механизмы повреждающего действия света на структуры глаза и системы защиты от такого повреждения / М. А. Островский // Успехи биол. химии. – 2005. – Т. 45. – С. 173–204.
27. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress / N. Lassen [et al.] // Seminars in cell and developmental biology. – 2008. – Vol. 19, N 2. – P. 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.10.004>
28. Основы биохимии / А. Уайт [и др.]. – М.: Мир, 1981. – Т. 3. – 726 с.
29. Natera, J. Vitamin B₁ as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B₂ / J. Natera, W. A. Mas-sad, N. A. García // Photochemistry and photobiology. – 2011. – Vol. 87, N 2. – P. 317–323. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2010.00867.x>
30. Anderson, R. M. Visual perceptions and observations of an aphakic surgeon / R. M. Anderson // Percept. Mot. Skills. – 1983. – Vol. 57, N 3. – P. 1211–1218. <https://doi.org/10.2466/pms.1983.57.3f.1211>
31. Atchison, D. A. Optical models of the human eye / D. A. Atchison, L. N. Thibos // Clin. Exp. Optom. – 2016. – Vol. 99, N 2. – P. 99–106. <https://doi.org/10.1111/cxo.12352>
32. Light, Eyes, and Vision // Physics of the Human Body. – Berlin Heidelberg, Springer, 2007. – P. 629–711. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29604-1_11

References

1. Ostrovskii Yu. M. *Thiamine*. Minsk, Nauka i Tekhnika Publ., 1971. 144 p. (in Russian).
2. Metzler D. E. *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells. Vol. 2*. N. Y.: Academic Press, 1977. 937 p.
3. Itada N. Studies on the disulfide form of thiamine. I. Detection of the disulfide form of thiamine in animal organs. *Journal of Vitaminology*, 1959, vol. 5, no. 1, pp. 61–65. <https://doi.org/10.5925/jnsv1954.5.61>

4. Koltunova V. I., Berezovskiy V. M., Yakovlev V. A. *Derivatives of thiamine thiol form. Vitamins and vitamin preparations*. Moscow, Meditsina Publ., 1973, pp. 6–41 (in Russian).
5. Fujiwara, M. H. Watanabe and Matsui K. Allithiamine” a newly found derivative of vitamin b1: i. Discovery of allithiamine. *Journal of Biochemistry*, 1954, vol. 41, no. 1, pp. 29–39. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a126421>
6. Matsukawa T., Yurugi S. On the structure of allithiamine. *Proceedings of the Japan Academy*, 1952, vol.28, no. 3, pp. 146–149. <https://doi.org/10.2183/pjab1945.28.146>
7. Berezovskii V. M. *Chemistry of Vitamins*. Moscow, Pischevaya promyshlennost Publ., 1973. 633 p. (in Russian).
8. Lonsdale D. A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamin(e) and its derivatives. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2006, vol. 3, no. 1, pp. 49–59. <https://doi.org/10.1093/ecam/nek009>
9. Parkhomenko Yu. M. [et. al.] Disturbances in thiamine metabolism in the blood of patients with radiation pathology and possible connection of this disturbance with nervous system damage. *Doklady Akademii nauk Ukrainy = Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 1995, no 2, pp. 112–114 (шт Russian).
10. Vimokesant S., Kunjara S., Rungruangsak K., Nakornchai S., Panijpan B. Beriberi caused by antithiamin factors in food and its prevention. *Annals New York Academy of Sciences*, 1982, vol. 378, no. 1, pp. 123–136. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1982.tb31191.x>
11. Stepuro I. I., Stepuro V. I. *Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions*. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. 280 p.
12. Volvert M. L., Seyen S., Piette M., Evrard B., Gangolf M., Plumier J. C., Bettendorff L. Benfotiamine, a synthetic S-acyl thiamine derivative, has different mechanisms of action and a different pharmacological profile than lipid-soluble thiamine disulfide derivatives. *BMC pharmacology*, 2008, vol. 8, no. 1, pp. 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-8-10>
13. Kawasaki C., Daire I. Decomposition of thiamine derivatives by ultraviolet irradiation // *Journal of Vitaminology*, 1963, no. 9, pp. 264–268. <https://doi.org/10.5925/jnsv1954.9.264>
14. Seifert R. M., Buttery R. G., Lundin R. W., Haddon W. F., Benson M. Identification of a thiamin odor compound from photolysis of thiamin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1978, vol. 26, no 5, pp. 1173–1176. <https://doi.org/10.1021/jf60219a054>
15. Van Dort H. M., van Linde L. M., Rijke D. Identification and synthesis of new odor compounds from photolysis of thiamine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1981, vol. 29, pp. 183–185. <https://doi.org/10.1021/jf00123a007>
16. Stepuro I. I. et al. Thiamine inhibition of photolysis of tyrosine, tryptophan, tyrosinyl and tryptophanyl protein residues under the action of ultraviolet. *Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya: sbornik nauchnykh statei. Vyp. I: Posttranslatsionnaya modifikatsiya belkov* [Biochemistry and Molecular Biology – Collection of scientific articles. Issue 1. Post-Translational Protein Modification]. Grodno, 2017, pp. 68–88 (in Russian).
17. Udenfrend S. *Fluorescent Assay in Biology and Medicine*. Moscow, Mir Publ., 1965. 484 p. (in Russian).
18. Davies M. J., Truscott J. W. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2001, vol. 63, no. 1–3, pp. 114–125. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00208-1](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00208-1)
19. Foote C. S. Photosensitized oxidation and singlet oxygen: Consequences in biological systems. Pryor W. A. (ed.) *Free Radicals in Biology. Vol. II*. Elsevier, 1976, pp. 85–133. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-566502-5.50010-x>
20. Krasnovskii A. A. Photodynamic regulation of biological processes: primary mechanisms. Rubin A. B. (ed.) *Problems of Regulation in Biological Systems*. Moscow - Izhevsk: Research Center Regulation and Chaotic Dynamics, 2006, pp. 223–454 (in Russian).
21. Dzhagarov B. M. et al. Photosensitized formation of singlet oxygen by vitamins of the B group. *Journal of Applied Spectroscopy*, 1995, no. 2, pp. 285–289. <https://doi.org/10.1007/bf02606482>
22. Edwards A., Silva E. Effect of visible light on selected enzymes, vitamins and amino acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2001, vol. 63, no. 1–3, pp. 126–131. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00209-3](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00209-3)
23. Galanin N. F. *Radiant energy and its hygienic significance*. Leningrad, Meditsina Publ., 1969. 182 p. (in Russian).
24. National cancer institute’s. *Cancer trends progress report, Update 2007*. Available at: <https://progressreport.cancer.gov/sites/default/files/archive/report2007.pdf>. (accessed 15 April 2008).
25. World Health Organization. *Global initiative for the prevention of avoidable blindness*. Geneva: World Health Organization, 2000, №. WHO/PBL/97.61 Rev. 2.
26. Ostrovskii M. A. Molecular mechanisms of damaging effect of light on eye structures and systems of defense against this damage. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Advances in biological chemistry], 2005. vol. 45, pp. 173–204 (in Russian).
27. Lassen N., Black W. J., Estey T., Vasiliou V. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress. *Seminars in cell and developmental biology*, 2008, vol, 19, no. 2, pp. 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.10.004>
28. White A., Handler Ph., Smith E. L., Hill R. L., Lehman I. R. *Principles of Biochemistry*. N. Y., Mc-Craw-Hill, 1983. 883 p.
29. Natera J., Massad W. A., Garcia N. A. Vitamin B₁ as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B₂. *Photochemistry and photobiology*, 2011, vol. 87, no. 2, pp. 317–323. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2010.00867.x>
30. Anderson R. M. Visual perceptions and observations of an aphakic surgeon. *Perceptual and Motor Skills*, 1983, vol. 57, no. 3, pt. 2, pp. 1211–1218. <https://doi.org/10.2466/pms.1983.57.3f.1211>
31. Atchison D. A., Thibos L. N. Optical models of the human eye. *Clinical and Experimental Optometry*, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 99–106. <https://doi.org/10.1111/cxo.12352>
32. Light, Eyes, and Vision. *Physics of the Human Body*. Berlin Heidelberg, Springer, 2007, pp. 629–711. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29604-1_11

Информация об авторах

Агейко Светлана Алексеевна – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: swet.labor2010@yandex.by

Степура Виталий Иванович – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник, доцент. Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: stsiapura@gmail.com

Смирнов Виталий Юрьевич – ст. науч. сотрудник, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vit_sm@mail.ru

Степура Иван Иванович – канд. биол. наук, зав. лаб., доцент. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, Гродно, Республика Беларусь). E-mail: scepura@gmail.com

Information about the authors

Svetlana A. Aheika – Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK, 50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: swet.labor2010@yandex.by

Vitali I. Stsiapura – Ph. D. (Physics and Mathematics), Leading Researcher, Associate Professor. Yanka Kupala Grodno State University (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: stsiapura@gmail.com

Vitaly Yu. Smirnov – Senior Researcher, Associate Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). Email: vit_sm@mail.ru

Ivan I. Stepuro – Ph. D. (Biology), Leading Researcher, Assistant Professor. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK, 50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: scepura@gmail.com