

С. В. Молодочкина (ст.- исследователь) ¹, Д. В. Лошадкин (к.х.н., доц.) ²,
Е. М. Плисс (д.х.н., проф., дир.) ¹

ИНИЦИИРОВАННОЕ ОКИСЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА

¹ Ярославский государственный университет имени П. Г. Демидова,
институт фундаментальной и прикладной химии

150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14; e-mail: pliss@uniyar.ac.ru

² Ярославский государственный технический университет,
кафедра общей и физической химии

150023, г. Ярославль, Московский пр., 88; e-mail: loshadkindv@ystu.ru

S. V. Molodochkina ¹, D. V. Loshadkin ², E. M. Pliss ¹

INITIATED OXIDATION OF ADRENALINE

¹ P.G. Demidov Yaroslavl' State University

14, Sovetskaya Str., 150003, Yaroslavl', Russia; e-mail: pliss@uniyar.ac.ru

² Yaroslavl State Technical University

88, Moskovskiy prospect Str., 150023, Yaroslavl', Russia; e-mail: loshadkindv@ystu.ru

Методом микровольметрии исследовано инициированное окисление адреналина молекулярным кислородом в жидкой фазе при постоянных $[O_2]$ и 323 К. Кинетический анализ механизма (Программа «Кинетика 2012») показал, что радикально-цепное превращение субстрата может идти наряду с хиноидным процессом его автоокисления. На малых глубинах превращения цепной процесс реализуется аналогично окислению большинства органических соединений с квадратичным обрывом цепей. Увеличение глубины процесса приводит к формированию смешанных мицелл.

Ключевые слова: автоокисление; адреналин; кинетический анализ; обрыв цепей; радикально-цепное превращение; смешанные мицеллы; хиноидный процесс.

Работа выполнена в рамках Программы развития ЯрГУ на период 2023–2028 гг., поддержанной субсидией в рамках реализации государственной программы Ярославской области «Научно-техническое развитие Ярославской области» на 2023–2028 годы – грантовой поддержки научной исследовательской работы при финансовой поддержке гранта Ярославской области №4-нп/2023.

The initiated oxidation of adrenaline by molecular oxygen in the liquid phase at constant $[O_2]$ and 323 K was studied using the microvolumetry method. Kinetic analysis of the mechanism (Kinetics 2012 Program) showed that the radical chain transformation of the substrate can go along with the quinoid process of its autooxidation. At shallow transformation depths, the chain process is realized similarly to the oxidation of most organic compounds with quadratic chain termination. Increasing the depth of the process leads to the formation of mixed micelles.

Key words: adrenalin; autoxidation; chain termination; kinetic analysis; mixed micelles; quinoid process; radical chain transformation.

The work was carried out within the framework of the YarSU Development Program for the period 2023–2028, supported by a subsidy within the framework of the implementation of the state program of the Yaroslavl region «Scientific and technical development of the Yaroslavl region» for 2023–2028 – grant support for scientific research work with financial support from a grant from the Yaroslavl region no.4-np/2023.

Большая часть информации об окислении адреналина получена для значительных глубин превращения и относится к гипотетическому брутто-процессу превращения адреналина в адренохром¹⁻⁵. Детальный механизм хиноидного процесса до настоящего времени активно обсуждается в литературе и рассматривается только с позиций их возможного влияния на окислительный стресс⁶⁻¹⁰.

Можно полагать, что наряду с хиноидным превращением адреналин $\{p,m-(\text{HO})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{H})\text{CH}_3\}$ участвует и в различных стадиях классического радикально-цепного окисления субстрата молекулярным кислородом¹¹. Выяснение вероятности реализации этого направления процесса и стало целью настоящей работы.

Материалы и методы исследования

За кинетикой поглощения кислорода при его постоянном давлении (1 атм) окисляющимся адреналином следили при $T = 310 \pm 0.1$ К с помощью высокочувствительного капиллярного микролюбометра. Скорость иницирования (W_i) определяли методом ингибиторов в анаэробной среде (Аг). В качестве ингибитора использовали нитрокислительный радикал: 4-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил ($>\text{NO}^\bullet$). За изменением $[>\text{NO}^\bullet]$ следили методом ЭПР (спектрометр CMS 8400).

Детали эксперимента и конструкция установки описана ранее в наших работах¹¹⁻¹⁵.

Скорость изменения кислорода (W_0) рассчитывали из первичных экспериментальных данных по оптимизационной программе «Кинетика 2012»¹⁶.

Результаты и их обсуждение

Радикально-цепное окисление адреналина

Кинетика поглощения кислорода имеет линейный характер, причем с возрастанием pH начальная скорость поглощения O_2 (W_0) увеличивается (рис. 1).

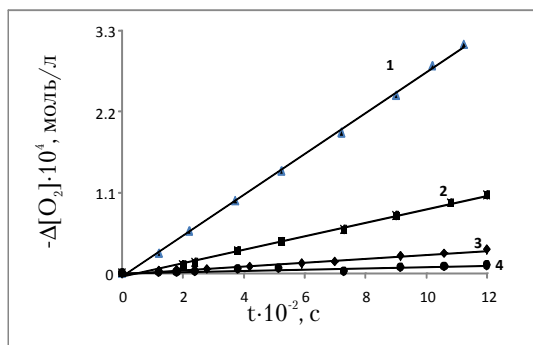


Рис. 1. Кинетика поглощения кислорода при окислении адреналина в фосфатном буфере: $[\text{AAPH}] = 4 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $[\text{Adr}]_0 = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л; pH = 9.0 (1), 8.2 (2), 7.4 (3), 6.0 (4); 310 K

Примечательно, что в начальный период времени скорость пропорциональна $W_i^{0.5}$, т.е. процесс протекает с квадратичным обрывом цепей^{11,16}.

Отметим, что на малых глубинах превращения W_0 линейно зависит от $[\text{Adr}]_0$. При увеличении глубины процесса W_0 возрастает, а в ряде случаев достигает максимального значения, после чего относительно уменьшается или выходит на предел (рис. 2).

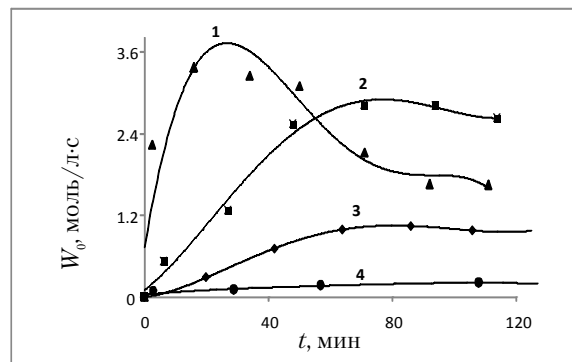


Рис. 2. Зависимость скорости поглощения кислорода от времени при окислении адреналина в фосфатном буфере: $[\text{AAPH}] = 4 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $[\text{Adr}]_0 = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, pH = 9.0 (1), 8.2 (2), 7.4 (3), 6.0 (4); 310 K

Одной из причин наблюдаемых эффектов является накопление гидропероксидов, которое с увеличением W_i и начальной концентрации субстратов происходит быстрее. Этот процесс приводит к формированию смешанных мицелл. Падение скорости окисления после достижения $W_{0(\text{max})}$ может быть связано с расходом субстрата.

В табл. 1 представлены оценки зависимости порядка скорости окисления (n_i) по скорости иницирования (W_i) для различных временных промежутков.

Таблица 1
Изменение порядка реакции (n_i) по W_i во времени при иницированном окислении адреналина в фосфатном буфере $[\text{Adr}]_0 = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, pH = 7.4, 1 атм, 310 K

$W_i \cdot 10^9$ моль/(л·с)	$W_{0(20)} \cdot 10^8$ моль/(л·с)	$W_{0(70)} \cdot 10^8$ моль/(л·с)	$W_{0(100)} \cdot 10^8$ моль/(л·с)	$W_{0(150)} \cdot 10^8$ моль/(л·с)
1.0	0.82	0.81	0.80	0.78
4.0	1.74	1.66	1.62	1.55
$n_i \pm 0.02$	0.54	0.52	0.51	0.50

Цифры в скобках показывают момент времени в минутах, для которого рассчитывалась скорость окисления адреналина.

Можно заключить, что полученные данные (в первом приближении) соответствуют кинетике

радикально-цепного окисления с квадратичным обрывом цепей ^{11–16}, т.е. $W_0 \sim [Adr]_0 \cdot W_i^{0.5}$. Автоокисление адреналина (при отсутствии радикального инициатора) протекает с высокой скоростью в щелочной среде ($pH > 9$ ^{9–11}). Аналогичная тенденция наблюдается и в режиме инициированного окисления (рис. 1, 2).

Таким образом, наличие квадратичного обрыва может быть связано с цепным окислением адреналина под действием ААРН и реакциями диспропорционирования $HO_2^\bullet$ и $RO_2^\bullet$ ^{9–16}. В та-

ком случае формально-кинетический механизм окисления можно приближенно рассматривать по аналогии с окислением других органических соединений ¹¹. При увеличении глубины превращения возрастает концентрация образующихся гидропероксидов, что в буферном растворе приводит к образованию смешанных мицелл.

Отметим, что в реальном процессе большинство рассматриваемых реакций катализируются ферментами, и это необходимо учитывать при планировании дальнейших исследований.

Литература

1. Казин В.Н., Макарьин В.В., Гузов Е.А., Мошарева В.А., Ковчий К.А. Изучение влияния магнитного поля на компоненты крови человека спектрофотометрическими методами // Журнал прикладной спектроскопии. – 2016. – Т.83, №3. – С.413–418.
2. Гузов Е.А., Казин В.Н., Мошарева В.А., Ковчий К.А., Макарьин В.В. Изучение действия постоянного магнитного поля на компоненты крови методом электрофореза в гелях // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2016. – №3. – С.31–35.
3. Казин В.Н., Гузов Е.А., Плисс Е.М., Мошарева В.А., Макарьин В.В., Левшин, Н.Ю., Баранов, А.А. Влияние постоянного магнитного поля на компоненты белковых структур крови человека // Биофизика. – 2017. – Т.62, №5. – С.998–1007.
4. Sirota T.V. Involvement of carbonate/bicarbonate ions in the superoxide-generating reaction of adrenaline autoxidation // Biomed. Chem. – 2015. – V.61. – Pp.115–124.
5. Sirota T.V. Standardization and regulation of the rate of the superoxide-generating adrenaline autoxidation reaction used for evaluation of pro/antioxidant properties of various materials // Biomed. Chem. – 2016. – V.62. – Pp.650–655.
6. Sirota T.V. Effect of the sulfur-containing compounds on the quinoid process of adrenaline autoxidation; potential neuroprotectors // Biomed. Chem. – 2019. – V.65. – Pp.316–322.
7. Сирота Т. В. Цепная реакция автоокисления адреналина – модель хиноидного окисления катехоламинов // Биофизика. – 2020. – Т.65, №4. – С.646–655.
8. Collin F. Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and Involvement in Neurodegenerative Diseases // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – V.20. – Pp.2407–2424.
9. Munoz P., Huenchuguala S., Paris I., Segura-Aguilar J. Dopamine Oxidation and Autophagy // Parkinson's Disease. – 2012. – Pp.1–13.
10. Bielski H., Cabelli D., Arudi R., Ross A.J. Reactivity of HO_2/O_2^- Radicals in Aqueous Solution // Phys. Chem. Ref. Data. – 1985. – V.14. – Pp.1041–1100.
11. Denisov E., Afanas'ev I. Oxidation and Antioxidants in Organic chemistry and Biology. – CRC Press, BocaRaton, 2005. – 992 p.
12. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. Magnetic field effect on the oxidation of hydrocarbons by molecular oxygen // Mendeleev Commun. – 2017. – V.27, №3. – Pp.246–247.

References

1. Kazin V.N., Makaryin V.V., Guзов E.A., Moshareva V.A., Kovchiiy K.A. [Spectrophotometric study of the effect of a magnetic field on human blood components]. *J. Appl. Spectr.*, 2016, vol.83, no.3, pp.406–411.
2. Guзов E.A., Kazin V.N., Moshareva V.A., Kovchiiy K.A., Makaryin V.V. *Izucheniye deystviya postoyannogo magnitnogo polya na komponenty krovi metodom elektroforeza v gelyakh* [The study of the influence of constant magnetic field on blood components by electrophoresis in gels]. *Biomeditsinskaya radioelektronika* [Biomedical radioelectronics], 2016, no.3, pp.31–35.
3. Kazin V.N., Guзов E.A., Pliss E.M., Moshareva V.A., Makaryin V.V., Levshin N.Y., Baranov A.A. [The Effect of a Constant Magnetic Field on Components of Protein Structures in Human Blood]. *Biophysics*, 2017, vol.62, no.5, pp.821–828.
4. Sirota T.V. [Involvement of carbonate/bicarbonate ions in the superoxide-generating reaction of adrenaline autoxidation]. *Biomed. Chem.*, 2015, vol.61, pp.115–124.
5. Sirota T.V. [Standardization and regulation of the rate of the superoxide-generating adrenaline autoxidation reaction used for evaluation of pro/antioxidant properties of various materials]. *Biomed. Chem.*, 2016, vol.62, pp.650–655.
6. Sirota T.V. [Effect of the sulfur-containing compounds on the quinoid process of adrenaline autoxidation; potential neuroprotectors]. *Biomed. Chem.*, 2019, vol.65, pp.316–322.
7. Sirota T.V. [Chain reaction of adrenaline autoxidation is a model of quinoid oxidation of catecholamines]. *Biophysics*, 2020, vol.65, pp.548–556.
8. Collin F. [Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and Involvement in Neurodegenerative Diseases]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol.20, pp.2407–2424.
9. Munoz P., Huenchuguala S., Paris I., Segura-Aguilar J. [Dopamine Oxidation and Autophagy]. *Parkinson's Disease*, 2012, pp. 1–13.
10. Bielski H., Cabelli D., Arudi R., Ross A.J. [Reactivity of HO_2/O_2^- Radicals in Aqueous Solution]. *Phys. Chem. Ref. Data*, 1985, vol.14, pp.1041–1100.
11. Denisov E., Afanas'ev I. [Oxidation and Antioxidants in Organic chemistry and Biology]. CRC Press, BocaRaton, 2005, 992 p.
12. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. [Magnetic field effect on the oxidation of hydrocarbons by molecular oxygen], *Mendeleev Commun.*, 2017, vol.27, no.3, pp. 246–247.

13. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. Magnetic field as a means to identify initiating reaction in oxidation of organic substances by molecular oxygen // *Mendeleev Commun.*– 2020.– V.30, №4.– Pp.433-435.
14. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. Magnetic field effects on the initiation of chain oxidation // *Mendeleev Commun.*– 2021.–V.31, №3.– Pp.341-342.
15. Pliss E., Soloviev M. Magnetic Field Effect on the Oxidation of Unsaturated Compounds by Molecular Oxygen // *Magnetochemistry.*– 2022.– V.8, №4.
16. Pliss E. M., Sokolov A. V., Loshadkin D. V., Popov S.V. Certificate of state registration of computer programs no. 2021665836 «Kinetics 2012 – a program for calculating the kinetic parameters of chemical and biological processes», version 2.0 // Official Bulletin of the Federal Service for Intellectual Property Computer Programs. Database. Topologies of integrated circuits.» 2021.» №10.
13. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. [Magnetic field as a means to identify initiating reaction in oxidation of organic substances by molecular oxygen]. *Mendeleev Commun.*, 2020, vol.30, no.4, pp.433-435.
14. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A.K., Buchachenko A.L. [Magnetic field effects on the initiation of chain oxidation]. *Mendeleev Commun.*, 2021, vol.31, no.3, pp.341-342.
15. Pliss E.M., Soloviev M.E. [Magnetic Field Effect on the Oxidation of Unsaturated Compounds by Molecular Oxygen]. *Magnetochemistry*, 2022, vol.8, no.4.
16. Pliss E. M., Sokolov A. V., Loshadkin D. V., Popov S.V. [Certificate of state registration of computer programs no.2021665836 «Kinetics 2012 – a program for calculating the kinetic parameters of chemical and biological processes», version 2.0]. Official Bulletin of the Federal Service for Intellectual Property Computer Programs. Database. Topologies of integrated circuits, no.10, 2021 .