

В. А. Мошарева (асп.), В. Н. Казин (д.х.н., проф.)

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Ярославский государственный университет имени П. Г. Демидова,
институт фундаментальной и прикладной химии
150003, г. Ярославль, ул. Советская, 14; e-mail: kaz@uniyar.ac.ru

V. A. Moshareva, V. N. Kazin

INFLUENCE OF A CONSTANT MAGNETIC FIELD ON OXIDATIVE TRANSFORMATIONS OF ADRENALINE

P.G. Demidov Yaroslavl' State University
14, Sovetskaya Str., 150003, Yaroslavl', Russia; e-mail: kaz@uniyar.ac.ru

Представлены экспериментальные данные и кинетический анализ влияния постоянного магнитного поля на окисление адреналина. Анализ обнаруженных закономерностей свидетельствует о ведущей роли супероксидного радикала. Магнитное поле увеличивает константу скорости диспропорционирования супероксидных радикалов, уменьшая их концентрацию, и понижает скорость окисления. Установлено, что введение супероксиддисмутазы и увеличение ее количества уменьшает скорость распада адреналина при его окислении. Воздействие магнитного поля в присутствии супероксиддисмутазы приводит к еще большему падению скорости.

Ключевые слова: адреналин; кинетика авто- и инициированного окисления; супероксиддисмутаза; эффект магнитного поля.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Ярославской области №4-нп/2023.

Образовавшись в организме, свободные радикалы вступают во взаимодействие со структурами клетки, приводя к поражению мембран клеток и содействуя развитию патологического процесса при многих заболеваниях¹⁻⁵. Защита клеток от активных форм кислорода осуществляется сбалансированной работой ферментов-антиоксидантов, в частности, супероксиддисмутазы (СОД). Магнитное поле (МП) может вызывать изменения в работе антиоксидантной системы и, как следствие, приводить к росту интенсивности окислительных процессов⁶⁻⁸.

Реакция автоокисления адреналина рассматривается как модельный процесс для выявления

Experimental data and kinetic analysis of the effect of a constant magnetic field on the oxidation of adrenaline are presented. Analysis of the discovered patterns indicates the leading role of the superoxide radical. The magnetic field increases the rate constant of disproportionation of superoxide radicals, reducing their concentration, and reduces the oxidation rate. It has been established that the introduction of superoxide dismutase and an increase in its amount reduces the rate of consumption of adrenaline during its oxidation. Exposure to a magnetic field in the presence of superoxide dismutase results in an even greater reduction in rate.

Key words: adrenaline; auto- and initiated oxidation kinetics; magnetic field effect; superoxide dismutase.

The work was completed with financial supported by a grant from the Yaroslavl region No.4-np/2023.

антиоксидантных свойств различных ферментов (например, СОД), ингибирующих накопление активных форм кислорода⁹⁻¹⁴.

Цель настоящей работы – установить роль магнитного эффекта в ключевых стадиях окислительных превращений адреналина как без ингибитора (СОД), так и в его присутствии.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служил эпинефрин гидрохлорид (адреналин, Sigma E4642), растворы которого готовили непосредственно перед проведением эксперимента.

Кинетика процесса окисления адреналина изучалась при T=310 К в карбонатном буфере

Дата поступления 26.12.23

(рН = 10.40–10.80). Конструкция установки подробно описана в ¹⁵. Реакцию проводили в атмосфере воздуха или с продувкой газом (кислород) при атмосферном давлении.

В ходе эксперимента из реактора отбирали пробы, добавляли в них раствор соляной кислоты до достижения величины рН=4.65 и записывали спектры поглощения на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 (USA) в диапазоне длин волн 190–400 нм.

Реактор на протяжении всего кинетического эксперимента помещался между полюсами магнитной установки. Индукция постоянного магнитного поля изменялась в диапазоне В = 75–125 мТл.

При проведении ингибированного окисления адреналина расчетный объем раствора супероксиддисмутазы (СОД) вносили в реактор одновременно с добавлением буферного раствора. Навеска супероксиддисмутазы из бычьих эритроцитов (активность – 3000 ед. активности/мг) растворялась в дистиллированной воде для установления необходимой активности в диапазоне 30–90 ед. активности/мг.

Результаты и их обсуждение

Известно, что автоокисление адреналина протекает с высокой скоростью только в щелочной среде ^{9, 13, 16–18}. С увеличением рН в интервале 10.4–10.8 скорость расходования адреналина возрастает в 2–3–раза (табл. 1).

Таблица 1

Скорости окисления (W) адреналина при различных значениях рН в отсутствие и присутствии МП

(310 К, карбонатный буфер, [Adr]0 = 68 мкМ, воздух)

Значение рН	10.40	10.50	10.60	10.70	10.80
$W \cdot 10^3$, моль/л·с (В = 0 мТл)	3.8	5.4	7.2	9.9	11.3
$W \cdot 10^3$, моль/л·с (В = 90 мТл)	2.8	3.8	4.7	6.1	7.2

* W определяли по расходу адреналина за период 300 с

В ходе реакции происходит генерация активных форм кислорода, инициирующих автоокисление. Донорами электронов являются анионы, образующиеся в результате процессов депротонизации адреналина и продуктов его превращения на разных стадиях. Растворенный кислород, принимая электрон, восстанавливается в супероксид-радикал ($O_2^{\cdot-}$), а анионы окисляются в соответствующие радикалы. При увеличении значения рН раствора растут концентрация анионов и скорость образования супероксидного радикала, инициирующего дальнейшее автоокисление. В посто-

янном магнитном поле (табл. 1, индукция МП: В = 90 мТл) скорость расходования адреналина падает в среднем на 25–30 %.

Показано (табл. 2), что с увеличением индукции МП скорость автоокисления адреналина уменьшается.

Таблица 2

Влияние индукции МП на скорость расходования адреналина (310 К, карбонатный буфер, рН=10.60, [Adr]0 = 68 мкМ, воздух)

В, мТл	0	50	75	90	125
$W \cdot 10^3$, моль/л·с	6.5	5.4	4.9	4.7	3.2

Анализ обнаруженных закономерностей свидетельствует о ведущей роли концентрации супероксидного радикала $O_2^{\cdot-}$ при окислении адреналина. Магнитное поле увеличивает константу скорости диспропорционирования супероксидных радикалов, уменьшая их концентрацию.

СОД, перехватывая $O_2^{\cdot-}$, катализирует превращение высокореакционного супероксида в относительно менее активный пероксид водорода и молекулярный кислород, что также снижает скорость окисления. Введение фермента при постоянном значении рН и увеличение его количества уменьшает скорость расходования адреналина при его окислении (табл. 3).

Таблица 3

Влияние активности СОД на скорость окисления адреналина в отсутствие и при воздействии МП (310 К, карбонатный буфер, рН = 10.60, [Adr]0 = 68 мкМ, воздух)

[СОД], ед. акт/мг	0	30	60	90
$W \cdot 10^3$, моль/л·с (В = 0 мТл)	6.5	5.0	2.8	1.5
$W \cdot 10^3$, моль/л·с (В = 90 мТл)	4.7	3.9	2.3	1.2

Воздействие МП в присутствии СОД (табл. 3) приводит к еще большему падению скорости (синергизм). Оценивая полученные результаты можно констатировать, что вклад супероксиддисмутазы в торможение реакции окисления адреналина превышает влияние постоянного магнитного поля.

Отмечено, что при проведении реакции в токе кислорода при постоянном рН скорость окисления возрастает примерно в 2 раза. Полученный результат связан с изменением концентрации образующегося супероксидрадикала $O_2^{\cdot-}$. С увеличением коцентрации молекулярного кислорода растет вероятность образования активной формы кислорода. Вовлечение дополнительного кислорода и его активных форм положительно сказывается на начальной стадии процесса окисления, приводя к увеличению скорости иници-

рования хиноидного процесса. Этому соответствует рост скорости реакции автоокисления адреналина (табл. 4).

Таблица 4
**Значения скоростей расходования
адреналина в токе кислорода и в воздухе
в присутствии СОД и воздействии
магнитного поля**
(310 К, карбонатный буфер, pH = 10.60, [Adr] = 68 мкМ)

Газовая среда	Кислород	Воздух
$W \cdot 10^3$, моль/л·с ($B = 0$ мТл)	11.7	6.5
$W \cdot 10^3$, моль/л·с ($B = 90$ мТл)	10.3	4.7
$W \cdot 10^3$, моль/л·с ($B = 0$ мТл; [СОД] = 60 ед. акт/мг)	8.1	2.8

Воздействие магнитного поля увеличивает константу скорости диспропорционирования супероксидных радикалов, уменьшает их концентрацию, что приводит к падению скорости окисления адреналина как в воздухе (на 27%), так и токе кислорода (на 12%).

Полученные данные подтверждают, что реакция идет именно по хиноидному пути и адреналин является донором электронов. При окислении по данному пути растворенный в среде инкубации кислород поглощает электроны, высвобождающиеся в процессе внутримолекулярных перестроек, с образованием супероксидных радикалов.

Литература

1. Buchachenko A.L. *Magneto-Biology and Medicine*. – New York: Nova Science Publishers, 2014. – 144 pp.
2. Zhang B., Tian L. Reactive oxygen species: potential regulatory molecules in response to hypomagnetic field exposure // *Bioelectromagnetics*. – 2020. – Т.41, №8. – С.573-580.
3. Murphy M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species // *Biochem J.* – 2009. – V.1. – Pp.1-13.
4. Ghirri A., Candini A., Affronte M. Molecular spins in the context of quantum technologies // *Magnetochemistry*. – 2017. – V.3, №1. – Pp.1-12.
5. Казин В.Н., Гузов Е.А., Плисс Е.М., Мошарева В.А., Макарыин 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.
6. Сергеева Е.Ю., Азанова А.В., Фефелова Ю.А., Сергеев Н.В., Титова Н.М., Цугленок Н.В. Экологический фактор, изменяющий активность ферментов антиоксидантной системы – магнитное поле с частотой 66 кГц // *Вестник КрасГАУ*. – 2013. – №10. – С.119-122.
7. Дроздов А.В., Нагорская Т.П., Масюкевич С.В., Горшков Э.С. Квантово-механические аспекты эффектов слабых магнитных полей на биологические объекты // *Биофизика*. – 2010. – Т.55, №4. – С.740-749.
8. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A., Buchachenko A.L. Magnetic field effect on the oxidation of organic substances by molecular oxygen // *Journal of Physical Organic Chemistry*. – 2019. – V.32, №4. – Pp.1-6.
9. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов // *Биомедицинская химия*. – 2012. – Т.58, №1. – С.77-87.
10. Сирота Т.В. Стандартизация и регуляция скорости супероксидгенерирующей реакции автоокисления адреналина, используемой для определения про/антиоксидантных свойств различных материалов // *Биомедицинская химия*. – 2016. – Т.62, №6. – С.650-655.
11. Грицук А.И., Сирота Т.В., Дравица Л.В., Крэдок Е.А. Оценка состояния антиоксидантной активности слезной жидкости // *Биомедицинская химия*. – 2006. – Т.52, №6. – С.601-607.

References

1. Buchachenko A.L. [Magneto-Biology and Medicine]. New York, Nova Science Publishers, 2014, 144 pp.
2. Zhang B., Tian L. [Reactive oxygen species: potential regulatory molecules in response to hypomagnetic field exposure]. *Bioelectromagnetics*, 2020, vol.41, no.8, pp.573-580.
3. Murphy M. P. [How mitochondria produce reactive oxygen species]. *Biochem J.*, 2009, vol.1, pp.1-13.
4. Ghirri A., Candini A., Affronte M. [Molecular spins in the context of quantum technologies]. *Magnetochemistry*, 2017, vol.3, no.1, pp.1-12.
5. 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.
6. Sergeeva E.Yu., Azanova A.V., Fefelova Yu.A., Sergeev N.V., Titova N.M., Cuglenok N.V. *Ekologicheskiiy faktor, izmenyayushhiy aktivnost' fermentov antioksidantnoy sistemy – magnitnoe pole s chastotoy 66 kGts* [Environmental factor that changes the activity of enzymes of the antioxidant system - a magnetic field with a frequency of 66 kHz]. *Vestnik KrasGAU* [Bulletin of KrasGAU], 2013, no.10, pp.119-122.
7. Drozdov A.V., Nagorskaya T.P., Masyukevich S.V., Gorshkov E.S. [Quantum mechanical aspects of the effects of weak magnetic fields on biological objects]. *Biophysics*, 2010, vol.55, no.4, pp.652-660.
8. Pliss E.M., Grobov A.M., Kuzaev A., Buchachenko A.L. [Magnetic field effect on the oxidation of organic substances by molecular oxygen]. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 2019, vol.32, no.4, pp.1-6.
9. Sirota T.V. [A novel approach to study the reaction of adrenaline autooxidation: a possibility for polarographic determination of superoxide dismutase activity and antioxidant properties of various preparations]. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2011, vol.5, no.3, pp.253-259.
10. Sirota T.V. [Standardization and regulation of the rate of the superoxide-generating reaction of adrenaline autooxidation used for evaluation of pro/antioxidant properties of various materials]. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2017, vol.11, no.2, pp.128-133.
11. Gritsuk A.I., Sirota T.B., Dravitsa L.V., Craddock E.A. *Otsenka sostoyaniya antioksidantnoy aktivnosti sleznoy*

12. Сирота Т.В. Цепная реакция автоокисления адреналина-модель хиноидного окисления катехоламинов // Биофизика.– 2020.– Т.65, №4.– С.646-655.
13. Сирота Т.В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы // Биомедицинская химия.– 2013.– Т.59, №4.– С.399-410.
14. Рябинина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина // Химия растительного сырья.– 2011.– №3.– С.117-121.
15. Гузов Е.А., Казин В.Н., Мошарева В.А., Жукова А.А. Применение электронной спектроскопии и квантово-химического моделирования для анализа продуктов автоокисления адреналина // Журнал прикладной спектроскопии.– 2018.– Т.85, №6.– С.985-991.
16. Kazin V.N., Guзов E.A., Moshareva V.A., Pliss E.M. Influence of a Constant Magnetic Field on the Mechanism of Adrenaline Oxidation // Magnetochemistry.– 2022.– V.8, №7.– P.70.
17. Сирота Т.В. Участие карбонат/бикарбонатных ионов в супероксидгенерирующей реакции автоокисления адреналина // Биомедицинская химия.– 2015.– Т.61, №1.– С.115-124.
18. Alhasan R., Njus D. The epinephrine assay for superoxide: Why dopamine does not work // Analytical Biochemistry.– 2008.– V.381, №1.– Pp.142-147.
12. Sirota T.V. [A chain reaction of adrenaline autooxidation is a model of quinoid oxidation of catecholamines]. *Biophysics*, 2020, vol.65, no.4, pp.548-556.
13. Sirota T.V. [Use of nitro blue tetrazolium in the reaction of adrenaline autooxidation for the determination of superoxide dismutase activity]. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2012, vol.6, no.3, pp.254-260.
14. Rjabina E.I., Zotova E.E., Vetrova E.N., Ponomareva N.I., Ilyushina T.N. *Novyi podkhod v otsenke antioksidantnoy aktivnosti rastitel'nogo syr'ya pri issledovanii protsessa autookisleniya adrenalina* [A new approach to assessing the antioxidant activity of plant raw materials when studying the process of adrenaline autooxidation]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2011, no.3, pp.117-121.
15. Guзов E.A., Kazin V.N., Moshareva V.A., Zhukova A.A. [Application of Electronic Spectroscopy and Quantum-Chemical Modeling for Analysis of Products of Autooxidation of Adrenaline]. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2019, vol.85, I. 6, pp.1107-1113.
16. Kazin V.N., Guзов E.A., Moshareva V.A., Pliss E.M. [Influence of a Constant Magnetic Field on the Mechanism of Adrenaline Oxidation]. *Magnetochemistry*, 2022, vol.8, no.7, p.70.
17. Sirota T.V. [Involvement of carbonate/bicarbonate ions in the superoxide generating reaction of adrenaline autooxidation]. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2014, vol.8, no.4, pp.323-330.
18. Alhasan R., Njus D. [The epinephrine assay for superoxide: Why dopamine does not work]. *Analytical Biochemistry*, 2008, vol.381, no.1, pp.142-147.