

ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА – МОДЕЛЬ ХИНОИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ

© 2020 г. Т.В. Сирота

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail: sirotatv@rambler.ru

Поступила в редакцию 18.11.2019 г.

После доработки 07.04.2020 г.

Принята к публикации 07.04.2020 г.

Обзор посвящен литературным данным и собственным исследованиям нетривиального хиноидного пути окисления адреналина. Подобным образом могут окисляться все катехоламины с образованием соответствующих аминокромонов. Этот процесс моделируется *in vitro* в щелочной среде и известен как цепная реакция автоокисления адреналина, продуктами которой являются адренохром и соединения радикальной природы – супероксид-анионы ($O_2^{\cdot -}$) и другие. Как супероксидгенерирующая модель эта реакция была ранее использована для определения активности супероксиддисмутазы. Нами были предложены различные новые методические подходы, которые позволяют определять активность фермента и выявлять анти/прооксидантные свойства различных соединений и материалов. Этот путь превращения одного из катехоламинов (дофамина) в настоящее время описан как «доклиническая модель болезни Паркинсона». В связи с этим реакция автоокисления адреналина предложена нами для поиска веществ, способных ингибировать процесс хиноидного окисления, т.е. выявлять потенциальные нейропротекторы. Экспериментальные и теоретические исследования этой реакции расширяют представления о механизмах свободно-радикальных процессов, происходящих в организме

Ключевые слова: катехоламины, аминокромоны, адреналин, адренохром, супероксид, хиноидное окисление.

DOI: 10.31857/S0006302920040031

ХИНОИДНЫЙ ПУТЬ ОКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Гормон-медиатор адреналин, участвующий в регуляции функционального состояния симпатoadреналовой системы, вырабатываемый в основном хромаффинной тканью мозгового слоя надпочечников, метаболизируется в организме, как и другие катехоламины, несколькими путями. Основные пути его превращения – оксиметилирование с образованием метанефрина (~70%) и окислительное дезаминирование с участием моноаминоксидазы (~20%). Кроме того, при определенных условиях может происходить и так называемое хиноидное окисление адреналина с образованием хинонов – до адренохрома и далее, возможно, до адренолютина и индола [1, 2]. Специфические ферменты этого пути окисления адреналина не выявлены, но образующиеся продукты существуют и известны ферменты, их утилизирующие [2–6]. Удаление продуктов хиноидного окисления адреналина и других аминокромонов

происходит с участием ферментов глутатион-S-трансферазы [2, 3] и хинонредуктазы [4]. Адренохром может быть также субстратом гидролазы, липазы, эстеразы [5] и ксантиноксидазы [6]. Подобным образом способны окисляться до соответствующих аминокромонов все известные природные катехоламины (биогенные амины) [7–10].

Процесс хиноидного окисления адреналина *in vitro* происходит при внесении его в щелочной карбонатный буфер. Этапы процесса превращения адреналина представлены на рис. 1. Кроме конечного продукта реакции адренохрома в процессе автоокисления происходит и образование $O_2^{\cdot -}$. При попадании адреналина в буфер происходит внутримолекулярная перестройка его молекулы, депротонизация с последующей циклизацией и образование промежуточных продуктов, таких как радикал семихинон (II), адреналинхинон и другие, до соединения хиноидной природы – адренохрома (VI) (рис. 1а). Этот процесс сопровождается высвобождением электронов и последующим одноэлектронным восста-

Сокращения: АФК – активные формы кислорода; БП – болезнь Паркинсона, СОД – супероксиддисмутаза.

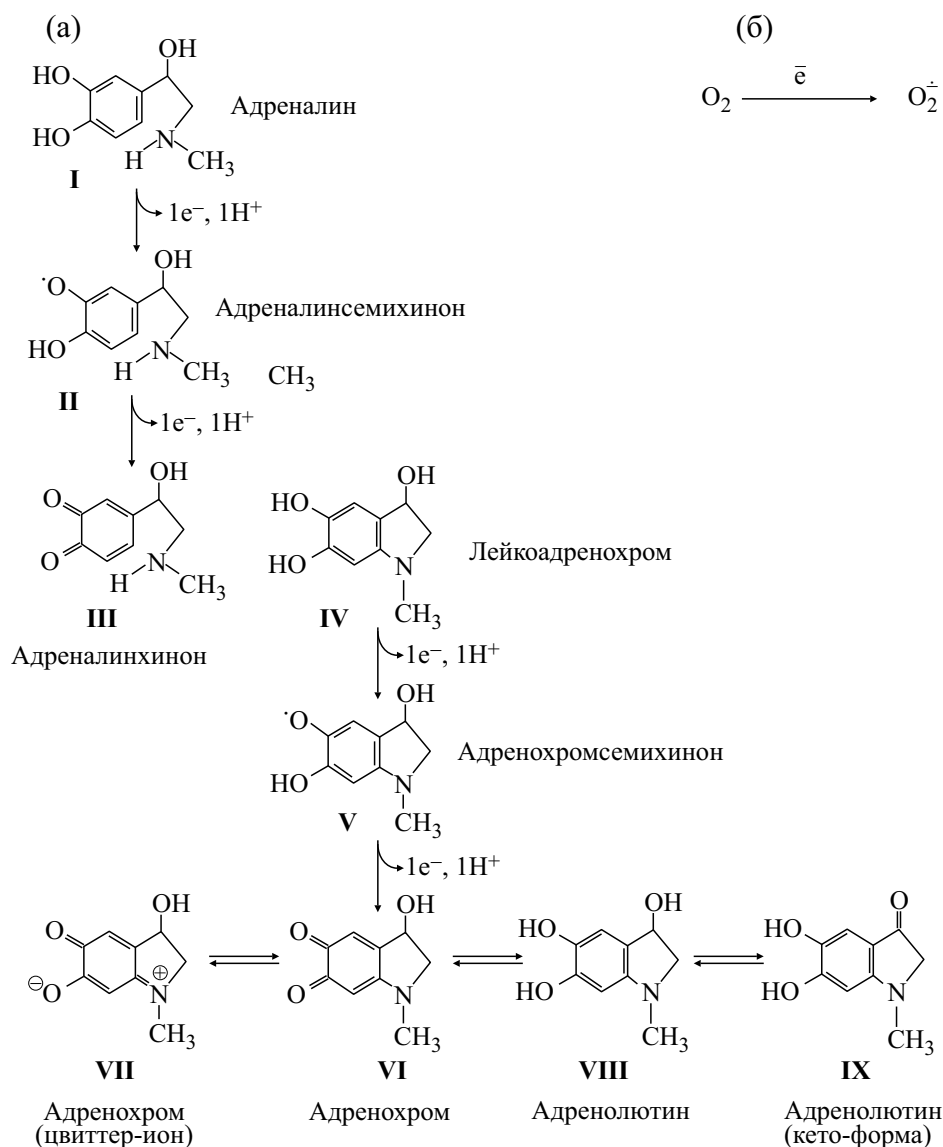


Рис. 1. (а) – Химические превращения адреналина в процессе его хиноидного окисления до адренохрома (VI). Промежуточные продукты реакции – II–V; возможные взаимные переходы конечных продуктов от адренохрома (VI) до VII, VIII и IX. (б) – схема сопряженного процесса образования супероксид-анионов. Составлено согласно работам [7, 8] с некоторыми изменениями и добавлениями [9, 11].

новлением растворенного в среде кислорода и таким образом происходит образование супероксидных радикалов (рис. 1б), т.е. химическое превращение адреналина сопряжено с образованием $O_2^{\cdot -}$. На рис. 2 представлена результирующая схема этого процесса. Эта модельная система известна как супероксидгенерирующая и супероксиддетектирующая цепная реакция автоокисления адреналина [7–11].

Нетривиальный путь окисления относят к аномальному метаболизму катехоламинов, с которым связывают его нейро- и кардиотоксичность [7, 9, 10, 12–23]. Причина токсичности, как

предполагается, обусловлена не только накоплением продуктов окисления катехоламинов аминохромов, но и образующимися в этом процессе активными формами кислорода (АФК), а именно $O_2^{\cdot -}$ [13–17]. При недостаточности антиоксидантной защиты АФК могут вызывать окислительный стресс и воспаление. Нейротоксическое действие адренохрома и последующего продукта окисления адренохрома – адренолютина – связывают с так называемой «адренохромной» гипотезой этиологии шизофрении [12, 14–17]. Они известны также как адреномиметики, обладающие галлюциногенными свойствами [12].

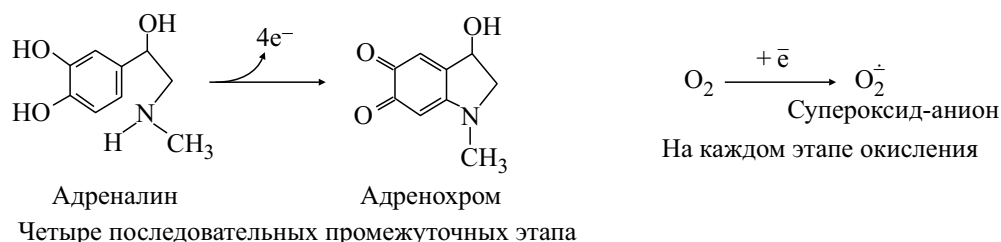


Рис. 2. Краткая схема-резюме хиноидного окисления адреналина.

Описанный много лет назад хиноидный путь окисления адреналина в настоящее время активно обсуждается в литературе в связи с его способностью генерировать АФК. Интерес к этой теме обусловлен также и тем, что продукты окисления адреналина, белки-хиноны, глутатионовые конъюгаты адреналина и адренохрома, влияют на редокс-состояние клеток и тканей [15–18]. Их действие обусловлено участием в митохондриальных процессах [19, 20], в регуляции NO-зависимой гуанилатциклазы [21] и функционировании тиреоидных гормонов [22]. Следует отметить, что АФК важны при выполнении нормальных физиологических функций как вторичные мессенджеры внутриклеточной сигнализации, однако избыточное их накопление, нарушение баланса между образованием и их утилизацией приводит к развитию патологического процесса [23].

Особо следует отметить участие аминокрома, производного от катехоламина дофамина, в этиологии болезни Паркинсона (БП) [16, 18] (см. ниже в отдельном разделе).

МЕТОДИЧЕСКИЕ АВТОРСКИЕ ПРИЕМЫ РЕГИСТРАЦИИ ПРОЦЕССА АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Как описано выше, в условиях *in vitro* хиноидное превращение адреналина с образованием адренохрома происходит в щелочной среде. Методически специально создается высокое значение рН среды, необходимое для более продолжительного существования супероксид-аниона, чтобы была возможность его детектировать. Известные супероксидгенерирующие модели, такие как ферментативная ксантин-ксантинооксидаза [24], химическая ФМС/НАДН [25], адреналиновая по Misra & Fridovich [26] и наши новые разработки «адреналинового» метода [27–29], функционируют при щелочных условиях, что позволяет регистрировать $O_2^{\cdot-}$. Процесс автоокисления происходит по механизму цепной реакции и начинается после внесения адреналина в щелочной раствор (рис. 1 и 2).

Впервые этот процесс окисления адреналина был описан в работе [30] и впоследствии исполь-

зован в работе [26] для определения активности фермента супероксиддисмутазы (СОД). СОД, перехватывая $O_2^{\cdot-}$, тормозит накопление адренохрома, регистрацию которого проводили спектрофотометрически при длине волны 480 нм [26]. Таким способом определяют активность фермента, а именно по его способности ингибировать скорость образования адренохрома. Нами было установлено, что образование адренохрома в реакции автоокисления адреналина можно регистрировать и в другой области спектра – в диапазоне 330–365 нм [27–29]; используемая длина волны – 347 нм (рис. 3а). Величина оптической плотности в выявленном диапазоне существенно выше (почти на порядок), чем при 480 нм [26]. Рис. 3б иллюстрирует преимущество использования длины волны 347 нм в сравнении с длиной волны 480 нм для регистрации адренохрома. СОД и анти/прооксидантные соединения ингибировали или активировали процесс автоокисления адреналина при регистрации кинетики реакции на этой длине волны [27–29, 31–37, 39].

Последующие исследования этой реакции, связанные с использованием полярографического метода [11] и применением красителя нитросинего тетразолия [38], напрямую показали генерацию $O_2^{\cdot-}$ в этом процессе и затем, в результате диспропорционирования, образование пероксида [11]. На основании этих исследований нами были разработаны новые методические приемы, позволяющие оценивать активность СОД и выявлять анти/прооксидантные свойства различных биологических материалов и химических веществ, используя полярографическую установку или применяя краситель нитросиний тетразолий [29, 31–37]. Обобщенные данные и выработанные критерии оценки антиоксидантной активности и активности СОД, включая стандартизацию условий, описаны в работе [39] и представлены на рис. 4.

УЧАСТИЕ КАРБОНАТ/БИКАРБОНАТНЫХ ИОНОВ В ПРОЦЕССЕ АВТООКСИЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Обнаружено, что скорость накопления адrenoхрома и скорость образования $O_2^{\cdot-}$ (опыты с нитросиним тетразолием) существенно зависят от концентрации карбонат/бикарбонатных ионов в используемом буфере и что эти ионы существенно ускоряют автоокисление адrenalина, проявляя прооксидантные свойства [40]. Кроме того, графики исследования зависимости степени ингибирования процесса образования адrenoхрома и $O_2^{\cdot-}$ от концентрации СОД показали, что в реакции автоокисления адrenalина образуются не только супероксид-анионы, но и другие радикальные соединения, т.е. происходит не только одноэлектронное восстановление кислорода, растворенного в буфере, с образованием $O_2^{\cdot-}$, но и одноэлектронное восстановление компонентов буфера с образованием продуктов радикальной природы [40]. Вероятными претендентами могут быть растворенный в буфере диоксид углерода (CO_2) и собственно карбонат/бикарбонатные ионы. В рабочем 0.2 М карбонат-бикарбонатном буфере, рН 10.5 диффузно растворены как атмосферный кислород, так и CO_2 , причем растворимость последнего, как известно, в 70 раз выше, чем растворимость O_2 [41–43]. Вероятно, CO_2 , подобно кислороду, может принимать электроны, высвобождающиеся в процессе автоокисления адrenalина, что приводит к образованию радикалов диоксида углерода. Анализ литературных данных позволил сделать такое предположение [44–49]. На представленной схеме (рис. 5), позиции (1), (2) и (3а) иллюстрируют это положение.

Образование карбонатных анион-радикалов в данной модели также возможно, поскольку все необходимые для этого компоненты присутствуют в среде: буфер $Na_2CO_3/NaHCO_3$, растворенные в буфере атмосферный O_2 и CO_2 и вносимый в систему адrenalин, в процессе окисления которого высвобождаются электроны. Эти электроны поступают на кислород, образуя супероксидные анион-радикалы. Супероксид-радикалы могут спонтанно диспропорционировать с образованием пероксида водорода, присутствие которого нами было установлено в полярографических экспериментах с использованием каталазы [11]. Таким образом, в реакционной среде, где происходит автоокисление адrenalина, присутствует и образовавшийся пероксид водорода. Согласно литературным данным, бикарбонатный ион HCO_3^- , взаимодействуя с пероксидом, образует промежуточный интермедиат пероксимон-

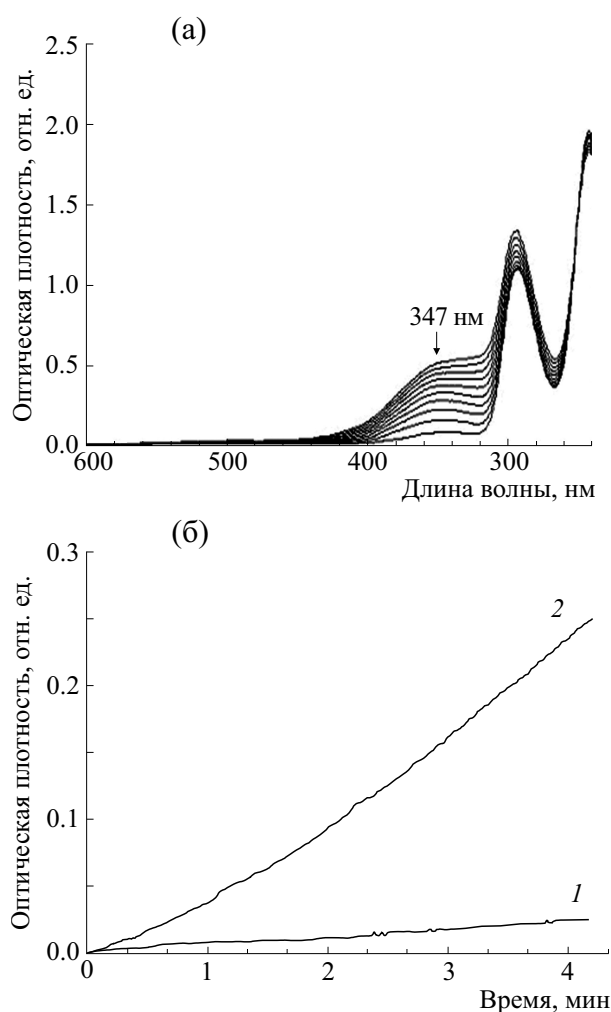


Рис. 3. (а) – Кинетика автоокисления адrenalина в 0.2 М карбонатном буфере, рН 10.5; (б) – измерение величины оптической плотности при длине волны 480 нм (кривая 1) и 347 нм (кривая 2). Пояснения в тексте.

карбонат ($HOOCO_2^{\cdot-}$) (рис. 5, позиция 3б), формирующий впоследствии карбонатный анион-радикал ($CO_3^{\cdot-}$) [44–49]. Такая логика событий позволяет предположить возможность образования карбонатных радикалов в реакции автоокисления адrenalина, что и было показано нами ранее [40]. В пользу этих представлений указывают и работа [50], где описаны интересные «взаимоотношения» в карбонат/бикарбонатных водных системах и цитируются работы относительно возможности одноэлектронного восстановления диоксида углерода с образованием анион радикала $CO_2^{\cdot-}$. Кроме того, в работе [50] также показано, что в обычных условиях в водных растворах карбонат/бикарбонатных ионов постоянно продуцируются супероксид-радикалы и другие АФК и особую роль играют именно эти ионы. Сигнал

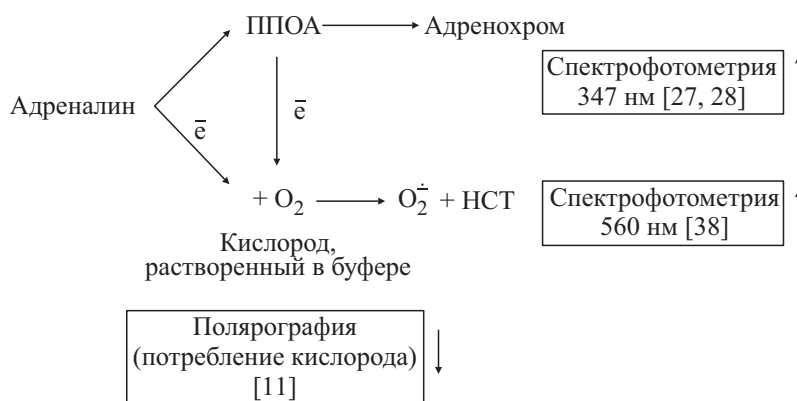


Рис. 4. Различные авторские методические приемы регистрации продуктов реакции автоокисления адреналина (схема). Обозначения: ППОА – промежуточные продукты окисления адреналина, НСТ – нитросиний тетразолий. Стрелками показано нарастание оптической плотности при соответствующей длине волны или убыль (потребление) кислорода из кюветы.

тайрона, специфического ЭПР-зонда супероксидных анион-радикалов, не обнаруживается, если в исследуемой системе рН доведен с помощью NaOH и отсутствуют бикарбонатные ионы. Показано также, что амплитуда сигнала ЭПР тайрона возрастает с ростом концентрации $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ (рис. 5, позиция 3в) [50].

В исследуемой нами реакции в результате преобразования адреналина происходит активная «доставка» в буфер электронов, которые, очевидно, «потребляются» как кислородом и CO_2 , так и другими компонентами буфера. Полученные результаты и анализ литературных данных впервые позволили предположить, что в данной модельной системе реакции автоокисления адреналина, а это возможно и в организме, образуются не только супероксид-анионы, но и карбонатные радикалы и радикалы диоксида углерода. Уникальная биологическая активность карбонат/бикарбонатных ионов, несомненно, связана и с этой их способностью.

Представленная на рис. 5 схема обобщает наши и литературные данные, показывая, как возможно образование АФК в процессе автоокисления адреналина.

Окисляющийся до адренохрома адреналин и его промежуточные продукты – доноры электронов (этап 1). Высвобождающиеся электроны могут поступать не только на растворенный в буфере кислород, образуя супероксидные анион-радикалы (этап 2), но и на другие компоненты используемого буфера, а именно – на растворенный в буфере атмосферный диоксид углерода, что приводит к образованию радикала диоксида углерода (этап 3а). При взаимодействии бикарбонатных ионов буфера и пероксида водорода, продукта спонтанного диспропорционирования супероксида, могут образовываться карбонатные

радикалы (этап 3б, согласно работе [48]). Карбонатные анион-радикалы также могут образовываться из бикарбонатных ионов при участии гидроксил-радикала (HO^*), продукта одноэлектронного окисления воды (этап 3в, согласно работе [50]).

Поскольку в организме карбонат/бикарбонатные ионы присутствуют повсеместно, нельзя исключить их участие как акцепторов, а затем доноров электронов. Эти буферы – не инертные системы, а биологически активные участники в окислительно-восстановительных реакциях и могут быть мощными прооксидантами. Необходимо это учитывать при использовании подобных буферов в ситуациях, где происходят свободно-радикальные реакции. А это, как известно, постоянно протекающие в организме нормальные окислительно-восстановительные процессы, определяющие редокс-статус и возникающие патологические случаи, связанные с окислительным стрессом.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА ДЛЯ ПОИСКА НЕЙРОПРОТЕКТОРОВ

Как было отмечено выше, один из механизмов этиопатогенеза болезни Паркинсона (БП) связывают с процессом хиноидного окисления катехоламина дофамина, прогрессирующего нейродегенеративного заболевания, приводящего к гибели (аутофагии) дофаминергических нейронов [15–19, 51–54]. Этот путь превращения катехоламинов описывается как «доклиническая модель БП для поиска нового фармакологического лечения, которое остановило бы развитие этого заболевания» [18, 52, 53]. Катехоламин дофамин – это нейротрансмиттер, который играет важную роль в осуществлении движений. При БП происходит

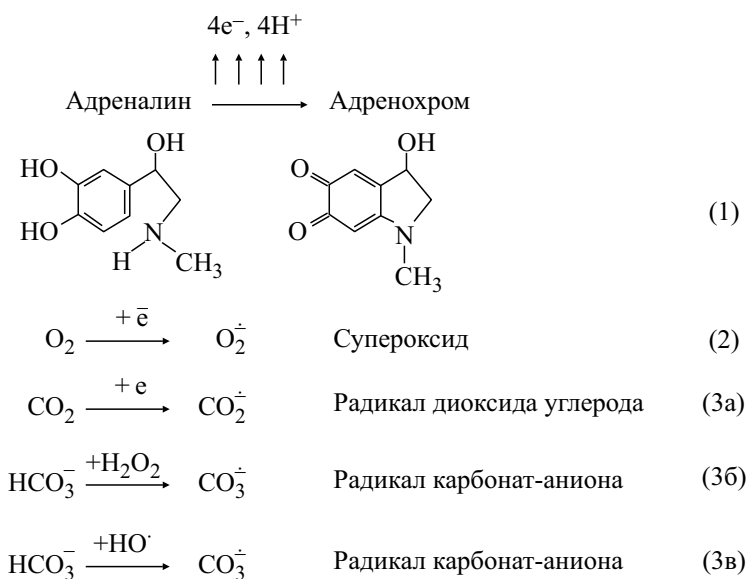


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая окисление адреналина в щелочной среде и связанные с ним процессы образования различных радикалов. Объяснения в тексте. Этап 3б – цитировано по работе [48], этап 3в – цитировано по работе [50].

неконтролируемое цитоплазматическое накопление продукта хиноидного окисления дофамина вещества меланина (он же нейромеланин) в катехоламиноергических нейронах, происходит отложение белка альфа-синуклеина, Parkin-белков, образование телец Леви, ингибирование протеасом, дисфункция митохондрий, а на ранних этапах заболевания – окислительный стресс и нейровоспаление. Нейромеланину приписывают роль нейротоксина, его избыточное образование и вызывает вышеназванные процессы. В работе [18] детально представлена биохимия БП и химизм процесса хиноидного окисления дофамина, объясняющий один из возможных молекулярных механизмов развития этой болезни. В биохимию БП вовлечены различные ферментативные системы – моноаминоксидаза, катехол-орто-метилтрансфераза, ДТ-диафараза и другие [18, 54–56]. И особое место принадлежит неферментативному хиноидному окислению дофамина, при нарушении метаболизма которого происходит избыточное образование нейротоксина нейромеланина [18, 51–56]. Из аминокрома дофамина в результате его последующих химических превращений возникает нейромеланин: аминокром → 5,6-дигидроксииндол → 5,6-индолхинон → последующая полимеризация с образованием нейромеланина [18]. Процесс происходит в дофаминергических нейронах, а также астроцитах и микроглии в конкретных структурах мозга: *s. nigra*, *locus ceruleus*, *nucleus dorsalis n. vagi*. В норме этот процесс происходит в этих структурах мозга, однако при БП характерно чрезмерное накопление нейромеланина.

В своей работе мы использовали модельную реакцию автоокисления катехоламина адреналина как модель хиноидного окисления катехоламина для поиска соединений, способных тормозить этот процесс [57]. В проведенном исследовании была сделана переоценка применения реакции автоокисления адреналина, и она использована не только как супероксидгенерирующая модель, но и как модель хиноидного окисления катехоламина с целью поиска веществ нейропротекторов.

Было показано, что вещества, содержащие сульфгидрильную и, что особенно интересно и важно и впервые показано в нашей работе, дисульфидную группу, могут быть ингибиторами хиноидного окисления. Установлено, что серосодержащие соединения цистеин и восстановленный глутатион, а также окисленный глутатион ингибируют этот процесс. Они рассматриваются, таким образом, как ингибиторы хиноидного окисления и оцениваются как антиоксиданты. IC_{50} цистеина и восстановленного глутатиона близки и составляют 7.5 мкМ. Ингибирование окисленным глутатионом слабее и составляет приблизительно 50–70% относительно цистеина и восстановленного глутатиона. Другие серосодержащие соединения, отличающиеся химическим строением, – аминокислоты таурин и метионин – были неэффективны. Сделано заключение, что биологически активные серосодержащие соединения цистеин, а также восстановленный и окисленный глутатион являются специфическими ингибиторами хиноидного окисления катехоламина и смогут, вероятно, выполнять роль нейропротекторов. Предлагается

использовать эти вещества в лечении и профилактике БП путем направленного воздействия на систему синтеза этих соединений в организме. Такой подход может быть одним из способов защиты клетки от токсического действия продуктов хиноидного окисления катехоламина и окислительного стресса [57].

ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ Ca^{2+} и Mg^{2+} НА РЕАКЦИЮ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Известно, что ионы металлов переменной валентности (Fe, Mn, Cu, Mo и др.) являются непосредственными участниками цепных и окислительно-восстановительных каталитических реакций. Информация об участии в таких процессах ионов металлов постоянной валентности, биологически активных ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , не найдена. В нашей работе [58] было изучено действие ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на свободно-радикальный процесс автоокисления адреналина. Показано, что Ca^{2+} и Mg^{2+} ускоряли реакцию, причем более эффективными были ионы кальция по сравнению с ионами магния. Активация процесса автоокисления адреналина, наблюдаемая при 25–100 мкМ Ca^{2+} или 100–200 мкМ Mg^{2+} , проявлялась в сокращении времени инициации цепной реакции (лаг-период реакции) и увеличении как скорости потребления кислорода, так и образования продукта реакции окисления адреналина адренохрома [58]. Хотя феномен действия ионов металлов был обнаружен значительно раньше [29], объяснить механизм их действия нам помогла работа [59]. Используя методы спектроскопии, полярографии и ЭПР, авторы установили механизм активирующего действия «редокс-инертного кальция и других металлов II группы с постоянной валентностью на процесс хиноидного окисления катехоламина дофамина и пирокатехина». Авторы заключили, что ионы Ca^{2+} активируют процесс автоокисления пирокатехина и дофамина за счет дополнительного депротонирования при образовании комплексов с Ca^{2+} , что и ускоряет перенос электронов на кислород, а также за счет образования комплексов Ca^{2+} с семихиноном, промежуточным продуктом автоокисления катехоламина, продолжая таким образом процесс окисления [59]. Следовательно, причина исследуемого феномена — комплексообразование с кальцием, приводящее к изменению кислотно-основных свойств с ускорением переноса электронов на кислород и ростом концентрации *орто*-семихиноната кальция в реакции окисления [59]. Адреналин авторы этой работы не исследовали. Очевидно, что такой механизм действия имеет место и в процессе автоокисления

катехоламина адреналина, который исследован в нашей работе [58]. Условия проведения экспериментов в каждом из этих исследований [58, 59] существенно различаются, и тем ценнее полученный результат: биологически важные ионы металлов постоянной валентности Ca^{2+} и Mg^{2+} активируют процесс хиноидного окисления исследованных катехоламинов — адреналина [58], дофамина и пирокатехина [59].

Обнаруженное действие вышеназванных катионов может указывать на их участие в свободно-радикальных процессах, связанных с окислительно-восстановительными реакциями в клетке.

Наше исследование на модельной реакции автоокисления адреналина [58] и работа [59] с использованием непосредственно дофамина показали, что ионы металлов с постоянной валентностью активируют процесс хиноидного окисления катехоламинов. Возвращаясь к теме БП: известно, что ионы металлов переменной валентности (марганец, железо) участвуют в патогенезе БП [18, 23, 51]. Вероятно, и ионы металлов постоянной валентности Ca^{2+} и Mg^{2+} , которые, как показано, активируют процесс хиноидного окисления катехоламинов, также могут принимать участие в этих событиях, и скорее, именно ионы кальция, поскольку они непосредственно задействованы в синаптической передаче. Свободно-радикальные процессы, происходящие при окислении катехоламинов и восстановлении аминоксенов и сопровождающиеся образованием АФК, имеют место при патогенезе многих заболеваний: как отмечено выше — в случае БП, при различных формах шизофрении, кардиологических и онкологических заболеваниях [7, 12, 16, 18, 23, 60, 61]. Биологически активные ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} могут, таким образом, модулировать действие катехоламина в организме.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ АВТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА КАК СУПЕРОКСИДГЕНЕРИРУЮЩЕЙ И СУПЕРОКСИДДЕТЕКТИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ И КАК МОДЕЛИ ХИНОИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ

Наши предыдущие работы и материал настоящего обзора, где описаны методические возможности данной модельной системы, подытоживают и определяют область практического ее применения. Можно определять активность фермента СОД и антиоксидантную активность биологических материалов — цитоплазматических фракций гомогенатов тканей и биологических жидкостей, в том числе гемолизата цельной крови и гемолизата отмытых эритроцитов; также антиоксидантную/прооксидантную активность фармацевтических форм (настойки, экстракты и

т. д.), растворов различных субстанций и веществ [27–29, 31–39, 62–64]. Особо необходимо отметить, что данная методика позволяет определять антиоксидантную/прооксидантную активность гидрофобных соединений [34, 35], а именно жидких масел. Обнаруженное прооксидантное свойство амарантового масла проявилось, по нашим данным, в его биологическом действии [34, 35].

Следует отметить, что данная модель, ранее обозначенная только как супероксидгенерирующая система, «раскрыла» и иные свои возможности: использована нами и как модель хиноидного окисления катехоламина, открывая большие перспективы ее применения для поиска нейропротекторов (см. выше соответствующую главу и работу [57]). Выявлена специфическая ингибирующая активность серосодержащих соединений (цистеина, восстановленного и окисленного глутатиона): эти вещества тормозили именно хиноидный процесс окисления катехоламина и не проявили своих антиоксидантных свойств в другой супероксидгенерирующей системе *in vitro* – ксантин–ксантиноксидазе [57]. Известны важность и значимость гомеостаза тиолов при болезни Паркинсона [51, 65–67], поэтому нами и были выбраны именно эти вещества для исследования в используемой модели. Лекарственные формы цистеина и глутатиона имеются на фармацевтическом рынке («Цистеин», «N-ацетил-L-цистеин» и «Цистин», а также «Глутатион» и «N-ацетил-глутатион»), однако применение их неоднозначно: существует проблема их биодоступности и дороговизна, а прием перорально этих препаратов – исключительно для микрофлоры желудочно-кишечного тракта [68–72]. Перспективно, на наш взгляд, активировать внутриклеточный синтез этих соединений, которые могут предотвращать хиноидное окисление, и вести поиск путей воздействия на систему антиоксидантной защиты в нейронах. Подобный подход (активации синтеза тиоловых соединений) был предложен ранее, но не был связан с БП [65]. Современные знания дают возможность пытаться это делать на уровне генетических и молекулярно-клеточных действий, а именно, через активацию пути Nrf2-ARE (ARE-редокс-чувствительная сигнальная система), что может быть эффективным средством предотвращения гибели нейронов [73–76].

Необходимо также отметить следующее: поскольку установлено, что ионы кальция активируют эту реакцию и механизм их действия выяснен [58, 59], следует учитывать возможность присутствия Ca^{2+} в тестируемых препаратах, особенно растительных и других биологических образцах, что может приводить к сокрытию антиоксидантного эффекта собственно субстанции.

Уникальность данной модели и в том, на наш взгляд, что многостадийность химических пре-

вращений катехоламинов в этой реакции, сопряженных также с образованием различных радикалов, позволяет устанавливать механизм действия тестируемых материалов, а не только выявлять феноменологию. Для уточнения механизма действия исследуемых субстанций также следует привлекать и другие модельные системы.

Список изучаемых нами веществ из биохимического/химического и фармацевтического арсенала как известных, так и новых, достаточно интересен. Антиоксидантные свойства некоторых веществ подтверждаются [37], а некоторых, например таурина [57], ставятся под сомнение. Следует отметить, что достаточно большое количество нами исследованных веществ были не эффективны. Те же соединения, которые имеют отношение к окислительно-восстановительным процессам, были сильнейшими анти- или прооксидантами, т.е. ингибировали или активировали автоокисление адреналина (данные не опубликованы). В настоящее время нами проводится скрининг различных биологически активных соединений. Подобные исследования *in vitro* не только выявляют наличие анти/прооксидантных свойств изучаемого препарата, но и определяют в дальнейшем стратегию исследований *in vivo*.

Таким образом, полученные экспериментальные данные и теоретические исследования этой реакции расширяют представления о механизмах свободно-радикальных процессов, происходящих в организме. Разработанные нами подходы имеют и важное практическое значение, поскольку дают возможность использовать реакцию автоокисления адреналина как супероксидгенерирующую и супероксиддетектирующую систему и также как модель хиноидного окисления катехоламинов, что позволяет выявлять потенциальные нейропротекторы.

Автор благодарит главного специалиста Н.Е. Лямину за техническую помощь в проведении экспериментов и в подготовке публикаций.

Работа в основном проводилась в рамках бюджетного финансирования ИТЭБ РАН по теме 04, направление 63.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. Меньшиков и Т. Д. Большакова, в сб. *Адреналин и норадреналин* (Наука, М., 1964), с. 284.
2. S. Baez, J. Segura-Aguilar, M. Widersten, et al., *J. Biochem.* **324**, 25 (1997).
3. M. P. Rigobello, G. Scutari, R. Boscolo, and A. Bindoli, *Nitric Oxide* **5**, 39 (2001).
4. Y. Fu, L. Buryanovskyy, and Z. Zhang, *J. Biol. Chem.* **283**, 23829 (2008).
5. V. S. Fluxá, D. Wahler, and J. L. Reymond, *Nat. Protoc.* **3**, 1270 (2008).

6. C. Foppoli, R. Coccia., C. Cini, and M. A. Rosei, *Biochim. Biophys. Acta* **1334**, 200 (1997).
7. A. Bindoli, M. P. Rigobello, and L. Galzigna, *Toxicol. Lett.* **48**, 3 (1989).
8. F. Marques, R. O. Duarte, J. J. Moura, and M. P. Bicho, *Biopl. Signals* **5** (5), 275 (1996).
9. A. Bindoli, M. P. Rigobello, and D. J. Deeble, *Free Radic. Biol. Med.* **13**, 391 (1992).
10. K. Polewski, *Biochim. Biophys. Acta* **1523**, 56 (2000).
11. Т. В. Сирота, *Биомед. химия* **58** (1), 77 (2012).
12. В. Г. Колпаков, *Журн. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова* **74**, 1254 (1974).
13. S. Baez, and J. Segura-Aguilar, *Biochem. Mol. Med.*, **56**, 37 (1995).
14. A. F. Rump, J. Schierholz, R. Rösen, et al., *Arzneimittelforschung* **51**, 964 (2001).
15. V. M. Costa, R. Silva, L. M. Ferreira, et al., *Chem. Res. Toxicol.* **20**, 1183 (2007).
16. J. Smythies, A. De Iuliis, L. Zanatta, and L. Galzigna, *Neurotox. Res.* **4** (1), 77 (2002).
17. J. Smythies, *Antioxid. Redox. Signal.* **2** (3), 575 (2000).
18. P. Muñoz, S. Huenchuguala, I. Paris, and J. Segura-Aguilar, *Parkinsons Dis.* **2012**, 920953 (2012). DOI: 10.1155/2012/920953.
19. M. L. Genova, N. M. Abd-El salam, S. M. el-Mahdy, et al., *Arch. Biochem. Biophys.* **447** (2), 167 (2006).
20. С. О. Тапбергенов, *Вопр. мед. химии* **28**, 52 (1982).
21. И. С. Северина, Н. В. Пятакова, А. Ю. Щеголев и Т. А. Сидорова, *Биомед. химия* **54**, 679 (2008).
22. А. М. Утевский и С. О. Тапбергенов, *Укр. биохим. журн.* **54**, 307 (1982)
23. K. Jomova and M. Valko, *Toxicology* **283** (2-3), 65 (2011).
24. C. Beauchamp and I. Fridovich, *Anal. Biochem.* **44** (1), 276 (1971).
25. M. Nishikimi, N. A. Rao, and K. Yagi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **46** (2), 849 (1972).
26. Н. Р. Misra and I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, **247**, 3170 (1972).
27. Т. В. Сирота, *Вопр. мед. химии* **45**, 263 (1999).
28. Т. В. Сирота, Патент РФ на изобретение № 2144674, Б.И. № 2 (2000).
29. T. V. Sirota, N. V. Lange, N. I. Kosjakova, et al., *Curr. Topics Biophys.* **24**, 185 (2000).
30. S. Green, A. Mazur, and E. Shorr, *J. Biol. Chem.*, **220**, 237 (1956).
31. Т. В. Сирота, А. И. Мирошников и К. Н. Новиков, *Биофизика* **55** (6), 990 (2010).
32. А. Б. Шербаков, В. К. Иванов, Т. В. Сирота и Ю. Д. Третьяков, *Докл. РАН* **437** (2), 197 (2011).
33. Т. В. Сирота, М. В. Захарченко и М. Н. Кондрашова, *Биомед. химия* **60** (1), 63 (2014).
34. K. O. Semen, G. J. M. den Hartog, D. V. Kaminsky, et al., *Nat. Products Chem. Res.* **2**, 122 (2013). DOI: 10.4172/2329-6836.1000122
35. O. P. Yelisyeyeva, K. O. Semen, G. V. Ostrovska, et al., *Food Chem.* **147**, 152 (2014).
36. Т. В. Сирота, *Бюлл. эксперим. биол. мед.* **149** (4), 396 (2010).
37. Т. В. Сирота, Н. Е. Лямина и Л. И. Вайсфельд, *Биофизика* **62** (5), 846 (2017).
38. Т. В. Сирота, *Биомед. химия* **59** (4), 254 (2013).
39. Т. В. Сирота, *Биомед. химия* **62** (6), 650 (2016).
40. Т. В. Сирота, *Биомед. химия* **61** (1), 115 (2015).
41. <http://www.dpva.info/Guide/GuidePhysics/Solvability/SolvabilityOfSomeGases>.
42. <http://www.o8ode.ru/article/learn/ugaz.htm>.
43. http://www.o8ode.ru/article/answer/voda_bez_vozduha_gazov.htm.
44. C. Karunakaran, H. Zhang, J. Joseph, et al., *Chem. Res. Toxicol.* **18** (3), 494 (2005).
45. D. C. Ramirez, S. E. Gomez Mejiba, and R. P. Mason, *Free Radic Biol Med.* **38**, 201 (2005).
46. S. P. Goss, R. J. Singh, and B. Kalyanaraman, *Biol. Chem.* **274**, 28233 (1999).
47. D. B. Medinas, G. Cerchiaro, D. F. Trindade, and O. Augusto, *IUBMB Life* **59**, 255 (2007).
48. M. G. Bonini, S. A. Gabel, K. Rangelova, et al., *J. Biol. Chem.* **284**, 14618 (2009).
49. D. B. Medinas, J. C. Toledo, Jr., G. Cerchiaro, et al., *Chem. Res. Toxicol.* **22** (4), 639 (2009).
50. В. Л. Воейков, Н. Д. Виленская, До Минь Ха и др., *Журн. физ. химии* **86**, 1 (2012).
51. Е. Е. Дубинина, в сб. *Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток* (Санкт-Петербург, 2006), с. 111.
52. C.C. Santos, F. M. Araújo, R. S. Ferreira, et al., *Toxicol. in Vitro* **42**, 54 (2017). DOI: 10.1016/j.tiv.2017.04.004
53. J. Segura-Aguilar and S. Huenchuguala, *Front Neurosci.* **12**, 106 (2018). DOI: 10.3389/fnins.2018.00106
54. J. Segura-Aguilar, I. Paris, Z. Muñoz, et al., *Neurochem.* **129** (6), 898 (2014). DOI: 10.1111/jnc.12686
55. A. Herrera-Soto, G. Díaz-Velaz, S. Mora, et al., *Neurotox. Res.* **32** (1), 134 (2017). DOI: 10.1007/s12640-017-9719-8
56. S. Huenchuguala, P. Muñoz, R. Graumann, et al., *Neurotoxicology* **55**, 10 (2016). DOI: 10.1016/j.neuro.2016.04.014
57. Т. В. Сирота, *Биомед. химия* **65** (4), 316 (2019).
58. Т. В. Сирота, *Биофизика* **61** (1), 22, (2016).
59. А. В. Лебедев, М. В. Иванова, А.А. Тимошин и Э. К. Руге, *Биомед. химия* **54** (6), 687 (2008).
60. J. Smythies, *Neurotox. Res.* **4** (2), 147 (2002).
61. G. S. Behonick, M. J. Novak, E. W. Nealley, and S. L. Baskin, *J. Appl. Toxicol.* **21** (1) 15 (2001).
62. T. V. Sirota, V. I. Novoselov, V. G. Safronova, et al., *IEEE Trans. Plasma Sci.* **34** (4), 1351 (2006).

63. А. И. Грицук, Т. В. Сирота, Л. В. Дравица и Е. А. Крэдок, Биомед. химия **52** (6), 601 (2006).
64. Т. В. Сирота, В. Г. Сафронова, А. Г. Амелина и др., Биофизика **53** (5), 886 (2008).
65. В. И. Кулинский и Л. С. Колесниченко, Успехи биол. химии **31**, 157 (1990).
66. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и Е. Б. Меньщикова, в сб. *Окислительный стресс* (Наука/Интерпериодика, М., 2001), с. 154.
67. Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др., в сб. *Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты* («Слово», М., 2006), с. 394.
68. G. F. Rushworth and I. L. Megson, *Pharmacol. Ther.* **141** (2), 150 (2014). DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.09.006
69. M. A. Martínez-Banaolocha, *Med. Hypotheses* **79** (1), 8 (2012).
70. D. S. Goldstein, Y. Jinsmaa, P. Sullivan, and Y. Sharabi, *Neurochem. Res.* **42** (11), 3289 (2017). DOI: 10.1007/s11064-017-2371-0
71. L. D. Coles, P. J. Tuite, G. Öz, and U. R. Mishra, *J. Clin. Pharmacol.* **58** (2), 158 (2018). DOI: 10.1002/jcph.1008
72. <https://natureweight.ru/glutation>.
73. Y. Izumi, *Yakugaku Zasshi* **133** (9), 983 (2013).
74. Н. К. Зенков, Е. Б. Меньщикова и В. О. Ткачев, *Биохимия* **78** (1), 27 (2013).
75. J. A. Lee, H. J. Son, J. W. Choi, et al., *Neurochem. Int.* **112**, 96 (2018). DOI: 10.1016/j.neuint.2017.11.006.
76. F. I. Tarazi, Z. T. Sahli, M. Wolny, and S. A. Mousa, *Pharmacol. Ther.* **144** (2), 123 (2014). DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.010.

A Chain Reaction of Adrenaline Autoxidation Is a Model of Quinoid Oxidation of Catecholamines

T.V. Sirota

*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The focus of this review is on published data and our own studies of the non-trivial quinoid pathway for the oxidation of adrenaline. Similarly, all catecholamines can be oxidized with the formation of the corresponding aminochromes. This process is simulated in vitro in alkaline medium and is known as a chain reaction of adrenaline autoxidation, the reaction products of which are adrenochrome and compounds in the radical form such as superoxide anions ($O_2^- \cdot$) and others. As a superoxide-generating model, this reaction was used to determine the activity of superoxide dismutase. In our studies, some new approaches have been proposed to determine the activity of the enzyme and reveal the anti/prooxidant properties of various compounds and materials. This pathway of the conversion of one of catecholamines (dopamine) currently is described as “a preclinical model of Parkinson's disease”. In this regard, we offered that the reaction of adrenaline autoxidation can be used for a search for substances that are able to inhibit the process of quinoid oxidation, in other words, to detect potential neuroprotectors. Experimental and theoretical studies of this reaction provide new insights into understanding the mechanisms of free radical processes that occur in the body.

Keywords: catecholamines, aminochromes, adrenaline, adrenochrome, superoxide, quinoid oxidation