

В. Г. Мхитарян и В. Б. Егиян

### Влияние холина и коламина на окисление адреналина

(Представлено Г. Х. Бунятяном 15 VI 1949)

Исследованиями Бунятяна было установлено<sup>(1)</sup>, что холин сам по себе не влияет на окисление жиров, витамина А и каротиноидов, а при сочетании его с малыми количествами железа и, в особенности, меди процесс окисления ускоряется значительно сильнее, чем при наличии одной меди.

Подобные же результаты были получены и при действии холина на окисление аскорбиновой кислоты при наличии меди<sup>(2)</sup>.

Интересные результаты были получены Бунятяном и Камаляном с коламином, который сам по себе сильно тормозит окисление жиров, витамина А и каротиноидов, но в комбинации с медью, наоборот, сильно ускоряет процесс окисления вышеупомянутых веществ<sup>(3,4,5,6)</sup>.

Подобные результаты этими авторами были получены и с некоторыми другими аминами<sup>(7)</sup>.

В опытах Камаляна<sup>(8)</sup> коламин с медью также значительно сильнее ускоряет процесс окисления аскорбиновой кислоты, чем одна медь.

Исходя из вышеизложенного, интересно было выяснить действие холина и коламина на окисление адреналина при наличии меди и фенолазы. Последняя, как известно, относится к группе медьсодержащих ферментов и значительно сильнее окисляет адреналин, чем одна медь.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.** В наших опытах мы пользовались аморфным адреналином. Опыты ставились на фосфатном буфере при различных рН, а также на растворе Рингера. Процесс окисления адреналина учитывался манометрически по количеству поглощенного кислорода в респирометрах Варбурга при 40°. Средние данные величины поглощенного кислорода выводились через каждые 15 минут в течение одного часа. В виду плохой растворимости адреналина как в фосфатном буфере, так и в растворе Рингера, нам приходилось готовить раствор адреналина следующим образом: 25 мг адреналина растворялись в 1,4 мл 0,1 N HCl, раствор нейтрализовался 0,1 N NaOH до рН=7,0, после чего добавлялся фосфатный буфер или раствор Рингера до объема 3,5 мл.

Из этого раствора в наших опытах всегда бралось по 0,5 мл, содержащих 3,6 мг адреналина ( $2 \cdot 10^{-5} M$ ) и, как правило, помещалось в отросток сосудика.

Холин и коламин добавлялись в эквимольных количествах по сравнению с адреналином ( $2 \cdot 10^{-5} M$ ) в виде водных растворов, после их нейтрализации.

Раствор холина, как и коламина вносился в сосудик, после чего, учитывая объем раствора адреналина (0,5 мл), общий объем жидкости в сосудике доводился до 3,1 мл или фосфатным буфером или раствором Рингера. Во внутреннее отделение сосудика вносилось 0,2 мл 30% раствора едкого калия. В опытах с ионами меди мы применяли обычно  $CuSO_4$ , при чем на 3,1 мл опытной смеси прибавлялось 0,02 мл водного раствора  $CuSO_4$  в количестве 0,47  $\mu M$ .

Фенолазу мы получали по прописи Сент-Дьердьи ввиду доступности исходных веществ, а также и потому, что по данному способу Энгельгардт и Букин<sup>(9)</sup> получали весьма активную фенолазу.

Активность полученной нами фенолазы мы определяли в аппарате Варбурга по количеству поглощенного кислорода, пользуясь в качестве окисляемого субстрата перекристаллизированным пирокатехином.

В опытах с фенолазой мы, в виде исключения, раствор адреналина помещали в сосудик, а в отросток вливали 0,5 мл раствора фенолазы.

Перед погружением сосудиков в термостат в них пропускали кислород в течение трех минут.

После регуляции давления в сосудиках через каждые 15 минут производился отсчет поглощенного кислорода. Опыты ставились с каждым веществом одновременно в трех сосудиках и, как правило, каждая серия повторялась два-три раза, после чего выводились средние данные.

Первые опыты с адреналином были поставлены на фосфатном буфере  $pH = 6,5$ . Рассматривая результаты этих опытов, приведенных в таблице 1, мы видим, что адреналин в присутствии меди поглощает значительно больше кислорода, чем без нее.

Таблица 1

Фосфатный буфер  $pH = 6,5$

Вещества	Время в минутах			
	15	30	45	60
Количество поглощен. кислорода в $\mu l$				
1. Адреналин	24	42	75	105
2. Адреналин + холин	5	13	22	32
3. Адреналин + коламин	24	38	52	62
4. Адреналин + $Cu$	77	163	222	284
5. Адреналин + $Cu$ + холин	34	78	129	168
6. Адреналин + $Cu$ + коламин	34	97	122	172

Что же касается действия холина и коламина, то они оба оказывают тормозящий эффект на окисление как одного адреналина, так и комбинации адреналин + медь, причем, как это ясно видно из таблицы, холин значительно сильнее тормозит окисление адреналина (примерно в три раза), чем адреналина в комбинации с медью. Сравнивая антиоксидантное действие холина и коламина на окисление одного адреналина и адреналин в присутствии меди, можем отметить, что холин оказывает более сильное тормозящее действие на окисление одного адреналина, чем коламин, между тем как их антиоксидантные действия при наличии меди почти одинаковы. Следующие опыты были поставлены на фосфатном буфере  $pH = 7,6$ . Результаты, приведенные в таблице 2, ясно показывают, что холин и коламин при слабо щелочной среде оказывают также тормозящее действие на окисление адреналина, причем холин значительно сильнее тормозит процесс окисления, чем коламин. Подобную картину мы имеем и при комбинации адреналина с медью.

Таблица 2

Фосфатный буфер  $pH = 7,6$

Вещества	Время в минутах			
	15	30	45	60
	Количество поглощен. кислорода в $\mu$ л			
1. Адреналин	80	177	282	361
2. Адреналин + холин	12	34	77	130
3. Адреналин + коламин	22	72	136	219
4. Адреналин + Cu	186	375	520	668
5. Адреналин + Cu + холин	42	110	203	278
6. Адреналин + Cu + коламин	64	161	248	329
7. Адреналин + фенолаза	294	474	587	712
8. Адреналин + фенолаза + холин	183	268	358	393
9. Адреналин + фенолаза + коламин	200	303	412	470

Убедившись в тормозящем действии холина и коламина на окисление адреналина в присутствии меди, мы задались целью проследить действие холина и коламина на процесс окисления адреналина в присутствии фенолазы.

Результаты опытов с фенолазой, приведенные в таблице 2, показывают, что действительно фенолаза энергично окисляет адреналин и, что холин и коламин оказывают подавляющее действие на процесс окисления адреналина при помощи фенолазы.

Было поставлено несколько опытов также с ацетилхолином. Предварительные данные показывают, что ацетилхолин тоже тормозит процесс окисления адреналина.

Сравнивая наши результаты с результатами, полученными Бунятяном и Камалюном в опытах с коламином и холином на окисление жиров, витамина „А“ и каротиноидов, о которых мы говорили в нача-

ле этой статьи, мы видим, что в зависимости от условий коламин и холин могут выявлять не только различный, но и противоположный эффект в окислительных процессах. Так, например, в исследованиях Бунятына и Камалаяна коламин почти во всех жирах оказывал антиоксидантное действие, подавляя также окисление витамина А и каротиноидов, но в сочетании с медью холин и, в особенности, коламин давали сильную прооксидантную систему.

В наших опытах холин и коламин задерживают окисление адреналина как сами по себе, так и в присутствии меди. В недавних исследованиях вышеупомянутых авторов коламин способствовал окислению одних ненасыщенных жирных кислот; это говорит о том, что вышеназванные амины могут и сами по себе и при наличии меди либо замедлять, либо ускорять окислительный процесс.

Прооксидантное действие комбинации коламин- и холин + медь Бунятын и Камалаян объясняют образованием их медно-комплексной соли, в которой окислительный потенциал меди повышается. Полученная ими медно-комплексная соль коламина действительно быстрее окисляла жиры по сравнению с коламином и медью, добавленными на жир в соответствующих количествах.

В наших опытах мы также предполагаем связывание меди с холином и коламином, но тут в образовавшемся комплексе, повидимому, окислительный потенциал меди, наоборот, понижается в отношении адреналина.

Что же касается действия этих веществ на окисление адреналина в присутствии фенолазы, то тут подавление действия фенолазы можно объяснить связыванием меди с вышеупомянутыми аминами.

*Выводы.* 1. Холин на фосфатном буфере ( $pH = 6,5$  и  $7,6$ ) тормозит окисление адреналина, причем антиоксидантное действие холина особенно сильно выражено при  $pH = 6,5$ .

2. На окисление адреналина при наличии меди холин также проявляет антиоксидантное действие. Это свойство холина значительно лучше выражено на фосфатном буфере  $pH = 7,6$ , чем  $pH = 6,5$ .

3. Коламин как сам по себе, так и в присутствии меди на фосфатном буфере  $pH = 6,5$  и  $7,6$  также тормозит окисление адреналина.

4. Холин оказывает более сильное антиоксидантное действие, чем коламин.

5. Холин и коламин оказывают тормозящее действие на процесс окисления адреналина в присутствии фенолазы.

Кафедра биохимии  
Ереванского Медицинского института  
Ереван, 1949, май.

**ԽՈՒԻՆԻ ԵՎ ԿՕԼՈՄԻՆԻ ԱՂԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ ԱՊՐԵՆՆԱԼԻՆԻ ՕԲՍԻՏԱԿԱՆ ՎՐԱ**

Ինչպես ցույց են տվել Հ. Ս. Բուենիաթյանի հետազոտությունները (1), խուինն ինքնին չի ազդում ճարպերի, վիտամին A-ի և կարոտինոիդների օքսիդացման վրա, սակայն, երբ այն համակցում ենք երկաթի և, մանավանդ, պղնձի փոքր քանակների հետ, ապա օքսիդացման պրոցեսը շատ ավելի արագ է ընթանում, քան միայն պղնձի առկայությամբ:

Նույնպիսի ազդեցություն է ցուցաբերում խուինը նաև ասկորբինաթթվի օքսիդացման վրա՝ պղնձի ներկայությամբ (2):

Հ. Ս. Բուենիաթյանը և Գ. Վ. Քամալյանն իրենց մի շարք փորձերում հետաքրքիր տվյալներ են ստացել կոլամինի հետ: Կոլամինը, որը ինքնին ճնշում է ճարպերի, վիտամին A-ի և կարոտինոիդների օքսիդացումը, ընդհակառակը, խիստ արագացնում է վերոհիշյալ նյութերի օքսիդացումը, և երբ համակցվում է պղնձի հետ (3, 4, 5, 6): Վերը հիշված հեղինակները նույնպիսի եզրակացություն են հանդել նաև որոշ այլ ամինների նկատմամբ կատարած իրենց մի շարք փորձերում (7):

Գ. Վ. Քամալյանի փորձերում (8) կոլամինը պղնձի առկայությամբ նույնպես զգալիորեն արագացնում էր ասկորբինաթթվի օքսիդացման պրոցեսը, քան այդ ինքնուրույն միայն պղնձի ներկայությամբ:

Նշելով վերոհիշյալից, հետաքրքրական էր պարզել խուինի ու կոլամինի ազդեցությունը ադրենալինի օքսիդացման վրա պղնձի և ֆենոլազայի առկայությամբ, մանավանդ որ վերջինս, ինչպես հայտնի է, դասվում է պղնձ պարունակող ֆերմենտների խմբին և պղնձ-իոնի համեմատությամբ խիստ արագացնում է ադրենալինի օքսիդացման պրոցեսը:

Դրված փորձերը ցույց են տալիս, որ ֆոսֆատային բուֆերում (рН 6,56 և 7,6) խուինը ճնշում է ադրենալինի օքսիդացումը, ընդ որում նրա այդ հակաօքսիդանտային հատկությունն ավելի լավ արտահայտվում է թույլ թթվային միջավայրում (рН 6,56): Այդպիսի ազդեցություն նա ցուցաբերում է նաև պղնձի ներկայությամբ, այն տարբերությամբ, որ նրա հակաօքսիդանտային հատկությունն ավելի լավ արտահայտվում է թույլ հիմքային միջավայրում (рН 7,6):

Կոլամինի հետ դրված փորձերը ցույց տվին, որ կոլամինը, ինչպես ինքնին, այնպես էլ պղնձի ներկայությամբ, ֆոսֆատային բուֆերում рН 6,56 և 7,6 նույնպես ճնշում է ադրենալինի օքսիդացումը, սակայն ավելի թույլ, քան խուինը:

Ֆենոլազայի հետ դրված փորձերը ցույց տվին, որ ինչպես խուինը, այնպես էլ կոլամինը ճնշում են ադրենալինի օքսիդացման պրոցեսը ֆենոլազայի առկայությամբ:

**ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ**

1. Г. Х. Бунятян. Сборн. Хим. ин-та Арм. ФАН СССР, вып. 1, 62, 1938.
2. Г. Х. Бунятян. Тезисы VIII Кавказского съезда физиологов, биохимиков и фармакологов, 1939.
3. Г. В. Камалян. Диссертация, 1940.
4. Г. Х. Бунятян и Г. В. Камалян. ДАН Армянской ССР, 7, 121, 1947.
5. Г. Х. Бунятян и Г. В. Камалян. Биохимия, 13, 109, 1948.
6. Г. В. Камалян. Научн. тр. Ин-та Физиологии АН Арм. ССР, 1, 181, 1948.
7. Г. Х. Бунятян и Г. В. Камалян. Тезисы докладов I Закавказского съезда физиологов, биохимиков и фармакологов, 83, 1948.
8. Г. В. Камалян. Тр. Ереванского Ветеринарно-зоотехнич. ин-та, вып. 5, 57, 1941.
9. В. А. Энгельгардт и В. Н. Букин. Биохимия, 2, 274, 1937.