

УДК 544.16 + 577.15

DOI: 10.31651/2076-5835-2018-1-2024-1-131-140

Борис Пилипович МінаєвЧеркаський національний університет імені Богдана Хмельницького, Україна
Факультет фізики та астрономії університету Уппсали, Уппсала, Швеціяbfmin43@ukr.netORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9165-9649>**Олександр Олександрович Панченко**Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького
panchenko9b@gmail.comORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7669-1424>**Олександр Володимирович Решетняк**

Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна

oleksandr.reshetnyak@lnu.edu.uaORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9669-9431>

СПНОВІ МАГНІТНІ ВЛАСТИВОСТІ КИСНЮ ТА ЙОГО АКТИВНИХ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ФОРМ

Аеробне життя ґрунтується на диханні киснем повітря. На відміну від переважної більшості хімічно стабільних речовин, молекула O_2 має два неспарених електрони з паралельними спінами, тобто є триплетним бірадикалом. Ці два неспарених електрони молекули O_2 означають, що кисень є парамагнітним газом, тоді як багато інших хімічних речовин є діамагнетиками, включаючи майже всі органічні стабільні компоненти живої клітини, які складаються з біополімерів та молекул (ДНК, РНК, білків, ліпідів, вуглеводів, ферментів, ФАД, НАД, тощо). Всі вони мають парну кількість електронів, які в свою чергу спарені з антипаралельними спінами згідно з принципом Паулі і дають сумарний spin рівний нулю. За рахунок окисно-відновних реакцій в клітинах аеробного організму постійно відбувається утворення активних форм кисню (АФК), тобто супероксиду $O_2^{\bullet-}$, гідроксильного OH^{\bullet} і пероксидних радикалів $\bullet RO_2$, $\bullet OH_2$, синглетного кисню $O_2(^1\Delta_g)$, пероксинітриду $ONNO_2^-$, пероксиду водню O_2H_2 та інших, які відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних процесах. Таких як транспортування електронів у дихальному ланцюзі, синтез простагландинів, передача сигналів на регуляторні системи, які контролюють тонус судин, реакцію на мікроби, експресію генів, та інші. Цей огляд описує залежні від обертання спіну істотні особливості участі кисню та АФК в аеробному житті.

Ключові слова: триплетний кисень; синглетний кисень; іон супероксиду; парамагнетизм; міоглобін; гемоглобін; активні форми кисню; ефекти зовнішнього магнітного поля.

Постановка питання. Багато атомів мають неспарені електрони, але, потрапляючи в молекулу, їх спіни стають спареними і цей процес супроводжує утворення ковалентних хімічних зв'язків. Молекула $O=O$ має подвійний хімічний зв'язок, але через особливу симетрію валентної оболонки O_2 , її основний стан (найстабільніший з найменшою внутрішньою енергією) утримує два неспарених електрони з паралельними спінами ($\uparrow\uparrow$). Такий стан має повний електронний spin $S = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$ з трьома можливими проєкціями кутового моменту на молекулярну вісь $M_S = 0, \pm 1$ (в одиницях сталої Планка $h/2\pi$) [1]; таким чином, цей стан називається спіновим триплетом [2]. Звичайні молекули з антипаралельними спінами ($\uparrow\downarrow$) мають загальний електронний spin $S=0$ (вони не мають власного магнітного моменту), що відповідає синглетному діамагнітному стану. Як і O_2 , іон $Fe(II)$ у гемоглобіні також є парамагнітним, і його сполучення з киснем є складним процесом, що залежить від квантового електронного обміну та спин-орбітальної взаємодії [3–5]. Але загальні численні реакції окиснення їжі та різних метаболітів в живому організмі включають реакції триплетного O_2 з органікою і мають бути забороненими за спіном, тому як продукти такого окиснення теж являються діамагнітними стабільними речовинами: при повному окисненні

органічних молекул одержуємо воду, вуглекислий газ і молекулярний азот [6]. Якщо окиснення їжі в циклі Кребса проходить за допомогою парамагнітних метало-комплексів (міді і заліза) в цитохром-с-оксидазі та формально воно не заборонено за спіном, то в багатьох інших окиснювальних ензимах, коферменти яких не мають іонів металу з неспареним спіном, проблема біохімічного проникнення триплетного кисню в органічні речовини до сих пір не зрозуміла для широкого загалу наукової спільноти [6].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Активація O_2 при диханні і багатьох інших окисно-відновних процесах супроводжується спін-обміном з парамагнітними іонами металів і обертанням спінів [4]. В усіх аеробних організмах постійно продукуються активні форми кисню (АФК) у відповідь на ендогенні та екзогенні фактори [7, 8]. Такі важливі біологічні процеси, як транспорт електронів у дихальному ланцюзі, проліферація і диференціація клітин, фагоцитоз супроводжуються синтезом АФК [8]. Теж саме відбувається при синтезі простагландинів і лейкотрієнів, окисненні ліпідів, метаболізмі і синтезі катехоламінів та ін. реакціях. Ішемічні зміни в тканинах також пов'язані з надмірною активністю АФК [6, 8]. У реакціях вільних радикалів, котрі сприяють утворенню АФК відбуваються зміни спінового стану молекул [5]. При цьому у фізіологічних концентраціях вільні радикали АФК та їх діамангнітні частинки (ONO_2^- , O_2H_2) беруть участь у таких процесах, як передача сигналу в клітині, захист від мікробів та інших екзогенних організмів. Таким чином, як надмірне утворення вільних радикалів АФК так і їх недостатня інактивація призводять до порушення структури клітин та процесів метаболізму [5–8]. Джерелами АФК в організмі є мітохондріальний, мікосомальний і фагоцитарний електронно-транспортні ланцюги окиснення, моно- і діоксигенази, моноамінооксидаза, ксантиноксидаза, глюкозоксидаза та багато інших ензимів, а також взаємодія іонів металів змінної валентності з киснем та відновниками у координаційній сфері металу [2–9]. Розглянемо послідовність подій, які передували виявленню ролі АФК і спіну в біології [8–9].

Оскар Рааб помітив ще на початку ХХ століття, що забарвлені клітини гинуть при освітленні [10]. Це явище було названо «фотодинамічною дією», щоб відрізнити його від фотосенсибілізації у фотографії [10]. Незабаром було показано, що для спостереження фотодинамічної дії на клітини еритроцитів необхідна присутність кисню, а активні барвники, що знищували еритроцити, мають інтенсивну флуоресценцію; при цьому довжини хвиль світла для збудження фотодинамічної дії збігалися зі спектром поглинання барвника. Стало очевидним залучення молекулярного кисню через фотосенсибілізацію барвника і було запропоновано, що первинна стадія фотодинамічної дії подібна до фотоокиснення, яке спостерігають в біологічних розчинниках [10]. Гіпотези первинного фотодегідрування, засновані на ідеї «молоксиду» та «активного кисню» стали популярними та обговорювалися протягом тривалого часу [10, 11]. Г. Шенк і співроб. [11] пропонували розділити усі такі фотореакції на два типи. Тип I охоплює ті реакції, первинна стадія яких включає фотодегідрування субстрату окиснення; II тип – реакції переносу кисню з первинною стадією комплексоутворення гіпотетичного асоціату між O_2 і збудженим барвником («молоксидом»). Пізніше К. Фут [11] модифікував цю класифікацію: тип I включає всі реакції, де первинною стадією є утворення вільних радикалів із збудженого фотосенсибілізатора; тип II відноситься до тих процесів, які включають взаємодію збудженого фотосенсибілізатора з киснем як первинний акт, що породжує синглетний кисень. Ця класифікація Фути зараз є загальноприйнятною, і інтерес до реакцій типу II постійно зростає [10, 11]. Але головне відкриття в галузі біохімії АФК зробили МакКорд і Фрідович у 1969 році і воно було пов'язане з супероксид дисмутазою [9].

Мета статті. У фізіологічних умовах АФК продукуються в невеликій кількості у дихальній системі мітохондрій внаслідок "витоку" малої частки (5–10%) електронів, що транспортуються по ланцюгу в циклі Кребса [8]. Супероксид утворюється при роботі окисних ферментів, які беруть участь у процесі сполучення дихання з окисним

фосфорилуванням. Супероксид аніон радикал $O_2^{\bullet -}$ лежить в основі багатьох окисних процесів у мітохондріях як проміжний продукт, але може стати вільним радикалом як результат "витоку" з нормального ходу ферментативних реакцій [7]. В статті показано, що причини "витоку" супероксид іону пов'язані з дією внутрішніх магнітних сил притаманних молекулярному кисню та аналогічним структурам АФК ($O_2^{\bullet -}$, $OH\bullet$, $O_2H\bullet$, $\bullet NO$, $O_2R\bullet$).

Швидкість утворення супероксиду у мітохондріях прямо залежить від ступеня спряженості дихальної системи і різко підвищується при її блокаді. Цей процес веде до відновлення переносників на ділянках, що передують блокаді, і посиленню "витоку" електронів. Супероксид іон є родоначальником появи інших АФК в організмі, які формують сигнальну систему регуляції багатьох фізіологічних функцій і також пов'язані з захворюваннями і старінням. Нами встановлено, що "витік" електронів і супероксиду в мітохондріях, як і механізм дії ряду оксидаз і оксигеназ корінним чином залежать від спін-орбітальної взаємодії в супероксид іоні [12].

Не так багато лікарів і навіть біологів [6] знають про найважливіші перешкоди проблем аеробного життя, дихання, численних патологій та респіраторної допомоги, які безпосередньо визначаються парамагнетизмом, та електронною структурою молекулярного кисню [3], а також особливостями магнітних властивостей O_2 і АФК пов'язаних з спіном електрону та можливістю його обертання. Метою огляду є – показати як спін-орбітальна взаємодія в АФК впливає на перебіг важливих ферментативних процесів в оксидазах і оксигеназах, які складаються суто із білків, що навіть не мають ні металічного, ні власне органічного кофактора. Якщо металовмісні ферменти, такі як цитохром с-оксидаза, або мідь-амінооксидаза, активують триплетний кисень за рахунок спін-обміну з координаційною сферою іонів заліза та міді, що цілком зрозуміло з фізичної точки зору [4], то суто білкові оксигенази залишаються таємницею сучасної біохімії [6]. Відкриття магнітних властивостей ряду АФК, таких як супероксид аніон, пероксинітрит аніон, оксид азоту пояснює цілий ряд загадок сучасної ензимології і медицини [5, 7].

Виклад основного матеріалу дослідження. Давно відомо, що кисень повітря може бути або хімічно інертним, або надзвичайно активним залежно від обмінного впливу на його спін і присутності радикалів у близькому оточенні [1]. У різних процесах від горіння до дихання цей простий двохатомний прозорий газ міг проявляти шалену активність, незважаючи на мільярди років пасивного перебування в атмосфері Землі без видимих змін у великому газовому океані [1]. Парамагнітний триплетний кисень утворюється завдяки фотосинтетичним системам рослин і бактерій із діамагнітних речовин H_2O та CO_2 , що саме по собі є порушенням правила збереження спіна Вігнера-Вітмера, добре відомого в сучасній хімії [4, 7]. Процес фотосинтезу з заповненням нашої планети киснем розпочався приблизно 2,4 мільярда років тому. Спочатку кисень був витрачений на окиснення металів, а потім O_2 використовувався під час тривалої аеробної еволюції життя на планеті, допоки не було досягнуто високого рівня в 21% кисню в атмосфері по масі та не сформувалося сучасне різноманіття життя. В даний час кисень захищає життя на Землі від сонячного дальнього ультрафіолетового (УФ) випромінювання через його поглинання в діапазоні смуги Шумана-Рунге (175–205 нм), а також створюючи стратосферний озоновий шар, який захищає нас від більш м'якого УФ випромінювання [1]. Розуміння енергетичних механізмів циклу Кребса та фотосистеми II досягнуто лише нещодавно за допомогою сучасних методів квантової хімії [4], хоча проблеми збереження електронного спіну при цьому не акцентуються.

На наш погляд проблеми біоактивації кисню треба починати вивчати з аналізу спектральних даних про взаємодію O_2 та АФК зі світлом. Короткий огляд люмінесцентних властивостей кисню є корисним, враховуючи велике значення фотохімії синглетного кисню в біологічних розчинниках для сучасної медичної діагностики та терапії. Але аналіз спектрів O_2 і АФК дає змогу розкрити важливу роль внутрішніх магнітних взаємодій в подоланні спін-заборони [10]. Проста схема утворення синглетного кисню та діаграма Яблонського

представлені на рис. 1. Аналіз інтенсивності відповідних смуг випромінювання та поглинання торкається найбільш фундаментальних принципів фізичної хімії: ролі спіну та спін-орбітальної взаємодії при контактах квантів світла з молекулами в реакційноздатному середовищі, взаємодії перенесення заряду та спін-обміну, теорії розчинників тощо [1, 4]. Таким чином, описаний вище аналіз краще робити крок за кроком, починаючи з розрідженого газу кисню. Синглет-триплетні (С–Т) переходи у вільній молекулі O_2 суворо заборонені в електро-дипольному наближенні та є дозволеними лише як магнітне випромінювання, якщо врахувати спін-орбітальну взаємодію [1, 5].

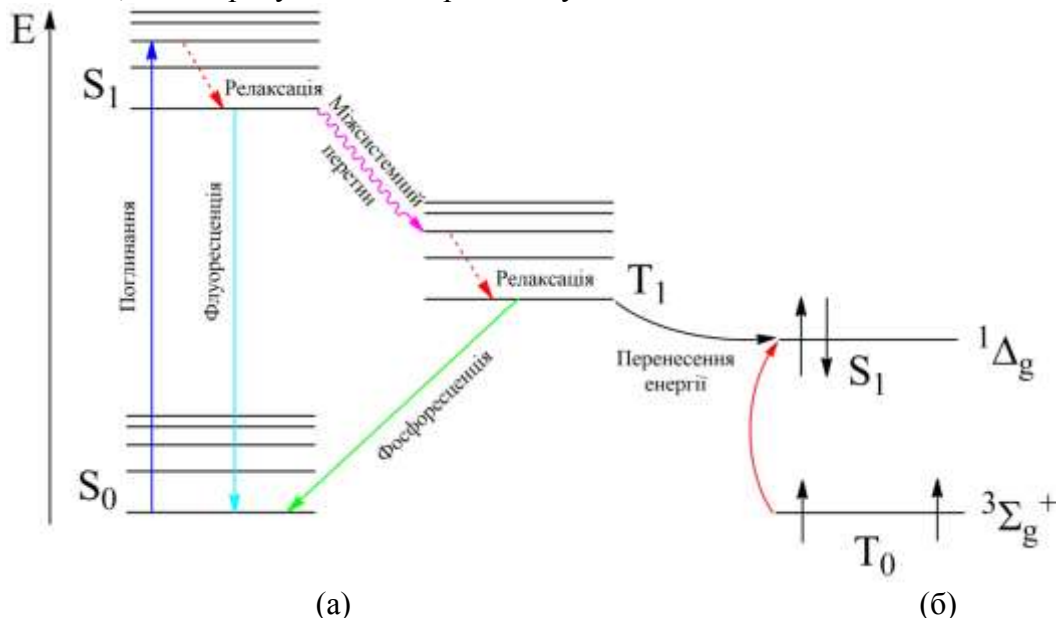


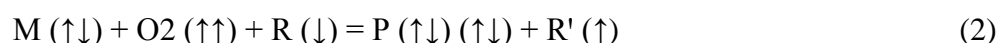
Рис. 1. Діаграма Яблонського (а) та схема утворення синглетного кисню (б)
 С-Т переходи в газофазному кисні, як і його атмосферні смуги $a^1\Delta_g \rightarrow X^3\Sigma_g^-$ (1270 нм)
 та $b^1\Sigma_g^+ \rightarrow X^3\Sigma_{g,1}^-$ (760 нм) заборонені правилами відбору для електро-дипольного
 випромінювання. Вони відбуваються як слабкі магнітні (або електро-квадрупольні) переходи
 за рахунок СОВ, яке змішує відповідні Т і С стани [4].

Хімія, спектроскопія і біохімія кисню визначаються значною мірою магнітними властивостями цієї молекули. Нагадаємо, що більшість органічних речовин є діаманетиками, тому що для насичення їх молекул (М) ковалентним зв'язком необхідне спарення спінів і гасіння повного спіну до синглетного основного стану [3]. Тому їх реакції з молекулою триплетного кисню із повітря є реакціями забороненими за спіном, оскільки відомо, що продукти (Р) такого окиснення також є молекулами у синглетному стані тому, що всі органічні речовини окиснюються до води, вуглекислого газу і азоту; H_2O , CO_2 і N_2 , які є діаманетиками [4]:

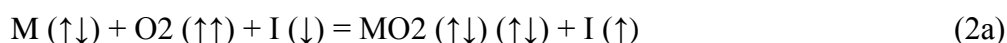


Щоб завершити таку реакцію, необхідно щоб відбувся переворот спіну, як бачимо з рівн. (1). Переворот спінового магнітного моменту в реакції (1) може бути викликаний лише взаємодією з зовнішнім магнітним полем, але за рахунок внутрішніх магнітних взаємодій в реагентах реакції [3]. Добре відомо, що реакції окиснення органічних речовин протікають і без впливу зовнішніх магнітних полів [4]. Усі хімічні процеси визначаються в основному суто електричними силами (взаємодіями між зарядженими мікрочастинками, тобто електронами та атомними ядрами) [1]. Чисті, суто магнітні, взаємодії є надзвичайно слабкими в органічних молекулах, до складу яких входять легкі атоми; таким чином, вони обгрунтовано нехтуються в традиційній квантовій хімії [1]; для їх додаткового аналізу

зазвичай використовують теорію збурень (ТЗ). Ця теорія враховує слабкі взаємодії, якими можливо нехтувати при розв'язанні рівняння Шредінгера, де враховані всі електричні сили у молекулярному потенціалі, що визначає загальну енергетику молекули, її основного і збуджених станів та їх хвильові функції [4]. ТЗ дозволяє врахувати поправки до енергій та до хвильових функцій через матричні елементи оператора енергії збурення. Останні дуже малі для магнітних збурень в органічних молекулах [1]. Тому реакція в рівн. (1) є забороненою за правилом відбору Вігнера-Вітмера для збереження спіну. Яким чином реакції горіння органіки і дихання можливо підтримувати молекулярним киснем з повітря? Реальний механізм процесу горіння, позначений рівнянням (1), як відомо, включає численні проміжні ланцюгові реакції, ініційовані короткоживучими органічними радикалами (R), які мають хоча б один неспарений електрон (R – це активні форми уламків органічних молекул):



Важливо звернути увагу на спін радикалів R і R' в рівн. (2). Новоутворений радикал R' здатний знову реагувати з киснем без заборони за спіном, оскільки загальний спін ($S = 1/2$) разом із його проекцією ($M_S = +1/2$) буде таким самим, як у правій, так і лівій частинах рівн. (2). Хитрість полягає в тому, що конкретна орієнтація спінів, вказана в рівн. (2), можлива лише при такому особливому зіткненні частинок $O_2(\uparrow\uparrow)$ і $R(\downarrow)$ тому що всі орієнтації спінів в реальних умовах є випадковими [5]. Нова органічна молекула M може реагувати з киснем, створюючи той самий діаманітний продукт $P(\uparrow\downarrow)$ через участь проміжного радикала R'. Новоутворений радикал R' в реакції (2) згораючи в полум'ї і стикаючись з новою молекулою O_2 знову може мати будь-яку орієнтацію спінів [7]. Таким чином, горіння протікає як ланцюгова радикальна реакція (частіше як розгалужена ланцюгова радикальна реакція) [4]. Спінова пам'ять парамагнітних частинок при горінні втрачається за рахунок випадкових зіткнень в об'ємі полум'я, куди потрапляють новоутворені радикали R' реакції (2) з будь-якою новою взаємною орієнтацією спінів до молекули кисню. Але біо-окиснення протікає всередині активних центрів спірально-скручених білкових ензимів, де парамагнітний іон металу (якщо він є у кофакторі) міцно зв'язаний всередині амінокислотних залишків пептидних полімерів [4]. Якщо іон металу позначити як I (\downarrow), то ензиматичне окиснення визначається рівнянням (2a) і воно протікає всередині активного центру ензиму без повторних зіткнень в один кінетичний акт



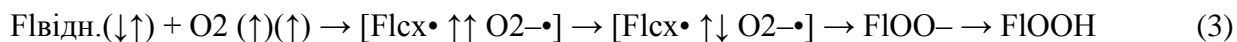
Тут формально відбувся обмін поміченими спінами між киснем та іоном металу. В квантовій механіці йому відповідає так звана обмінна взаємодія, обумовлена перекриванням електронних оболонок кисню і парамагнітного іону в координаційній сфері металу [4]. По фізичному змісту обмінна взаємодія зводиться до кулонівського відштовхування двох електронів, які обмінюються орбіталами; вона не включає магнітних сил [7].

Відомо, що процеси горіння і дихання ідентичні за екзотермічним ефектом цих реакцій і за їх продуктами H_2O , N_2 і CO_2 . Виникає питання: «Коли біоактиватор забезпечує «відповідні спіни» для ініціювання появи парамагнітних радикалів при диханні киснем у клітині»? Однак, зрозуміло, що дихання не може відбуватися за механізмом радикально-ланцюгової реакції, бо кількість радикалів в ланцюзі зростає та призведе до згорання клітини. За дихання відповідає цикл Кребса – цикл трикарбонової кислоти – багатоступінчастий процес, де кисень активується ферментом цитохром-с-оксидазою в присутності парамагнітних іонів металів (заліза і міді) [5]. Іон забезпечує неспарений спін, який взаємодіє з триплетним киснем шляхом спін-обмінної взаємодії (2a), що призводить до ефективного процесу, дозволеного за спіном [3]. Іон Fe(II) у гемоглобіні також є парамагнітним, і його сполучення з O_2 є складним процесом, що залежить від спін-обміну та ще і спін-орбітальної взаємодії.

Два основних процеси аеробної життєдіяльності, фотосинтез і дихання, представляють собою заборонені за спіном реакції, які активуються присутністю парамагнітних іонів Mg (II) та Fe (II)–Cu (II), відповідно [4]. Молекула O₂ (↑↑) з повітря проникає через легенеvu альвеолу і, зв'язуючись з іонами Fe(II) гемоглобіну, переноситься до клітини. Крім дихання, кисень забезпечує багато інших корисних реакцій окиснення, активуючи їх різними оксидазами, пероксидазами, моно- та ді-оксигеназами [6]. Багато з них також містять кофактори з парамагнітними іонами металів, але багато інших включають флавіни та птерини як органічні кофактори без будь-яких парамагнітних частинок [6–9]. Їхній механізм активації кисню для подолання заборони обертання спіну залишається досі невідомим [6]. Крім того, зараз відомо кілька нових білкових ферментів, які взагалі не мають жодного кофактора, але можуть активувати кисень O₂(↑↑) для окиснення органічного субстрату [5–7]. Фізично обґрунтована концепція сильного внутрішнього збурення за рахунок магнітної спін-орбітальної взаємодії (COB) всередині проміжного аніон-радикала O₂⁻ [3] може пояснити всі особливості оксидаз та оксигеназ, які діють без участі металів [3] і навіть без участі кофактору [5–12]. Хоча деякі біохіміки у своїх експериментальних працях вже прийняли ідею сильного магнітного обертального моменту (magnetic torque) в супероксидному аніон-радикалі [4], але в більшості публікацій [6] теорію COB у сполучі O₂⁻, як основного ініціюючого фактору аеробного обміну речовин в окисно-відновній системі гомеостазу [12] не цитують (тобто не знають, або не визнають).

Флавін- і птерин-залежні ферменти зустрічаються всюди в аеробному житті (від бактерій до людини) [6]. Їх ізоалоксазиновий і птериновий цикли можуть зазнавати багатоступінчастих окисно-відновних процесів шляхом перенесення електронів залучаючи субстрати і кисень. Різні окисно-відновні стани флавінів і птерину відіграють важливу роль у процесах перенесення електронів, які є вирішальними для важливих біологічних функцій, таких як апоптоз, згортання білка, відновлення ДНК, динаміка цитоскелету, детоксикація, метилювання РНК, розвиток нервової системи, біосинтез, виробництво енергії окиснення, циркадний ритм і біодеградація. Різні форми тимчасових проміжних продуктів радикальних пар (РП) можуть утворюватися під час реакцій, що каталізуються флавін- і птерин-залежними ферментами, включаючи таку відому окисно-відновну РП як FADH[•](↑)...O₂⁻(↓) [12].

Окиснення за участю флаво-ферментів біохіміки ретельно вивчали багато десятиліть протягом минулого сторіччя [6]. Відновлений флавін (F1^{відн.}) може бути окиснений до семіхінонового радикала (F1^{сх*}) з подальшим утворенням флавіно-пероксиду F1OOH [2]. У 1994 році Вінсент Мессі постулював перенесення електрона від відновленого флавіну (F1^{відн.}) до кисню та утворення проміжної радикальної пари між супероксид-іоном O₂⁻ і семіхіноном F1^{сх*} (типу FADH[•]) у такому вигляді [2]:

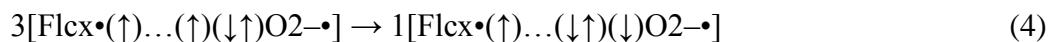


Триплетна РП → Синглетна РП

Наприклад, відновлений депротонований флавін у формі аніону FADH⁻ на початку окисних напівреакцій глюкозооксидази (ГО) може віддати електрон триплетній молекулі O₂ і утворити триплетну радикальну пару (РП) між семіхіноном F1^{сх*} (↑) (у формі FADH[•]) і супероксидом O₂⁻ (↑), рівн. (3). Вінсент Мессі ніяк не прокоментував [2] походження магнітної сили, що відповідає за перевертання спіну в рівнянні (3). Він, навіть, не казав, що треба якийсь магнітне втручання щоб відбувся триплет-синглетний перехід в реакції (3). Але можна підозрювати, що він мав на увазі теорію радикальних пар (ТРП), яка була досить популярною у вісімдесятих роках минулого століття для пояснення ефектів зовнішнього магнітного поля в хімії, а потім (значно пізніше) – і в біохімії, хоча ніхто досі не звернувся до обговорення ідеї Вінсента Мессі з боку магнітохімії [6]. ТРП розглядає триплет-синглетний (Т–С) перехід у рівн. (3) як індукований надтонкою взаємодією (НТВ) між ядрними та

електронними спінами в розділених радикалах всередині незв'язаної але корельованої радикальної пари. Тобто РП, породжена при перенесенні електрона, зберігає триплетний спін при дисоціації на радикали в розчині, поки йде їх дифузія до повторної зустрічі в клітині розчинника. При цьому, триплетний і синглетний стани мають однакову енергію (вони вироджені) в ТРП, тому що вони розділені великою відстанню (до 10-30 нм в клітині розчинника); таким чином, навіть дуже слабка надтонка взаємодія може індукувати Т–С перехід в такій дифузній РП. Після Т–С переходу радикальна пара може рекомбінувати при повторному зіткненні і такий перехід залежить також від зовнішнього магнітного поля, яке розщеплює триплетні спін-підрівні. Теорія радикальних пар може бути застосована до окиснення вільного флавіну в розчинниках, але не застосовується до справжніх ферментів, де FADH^{\bullet} і $\text{O}_2^{\bullet-}$ міцно зв'язані в активному центрі фермента ГО [3]. Розкриття походження рушійної сили перевертання спіна в рівн. (3) є основною проблемою активації O_2 численними ферментами; знання такого механізму має вирішальне значення для багатьох практичних біохімічних і медичних застосувань [6, 12].

Пояснення Т-С переходу у рівн. (3) були запропоновані в роботі [3] двадцять два роки тому з урахуванням двох можливих електронних конфігурацій супероксид-іона у виродженій $(\pi_g)^3$ відкритій оболонці $(\uparrow)(\downarrow\uparrow)$ і $(\downarrow\uparrow)(\downarrow)$, де дужки стосуються $\pi_{g,x}$ та $\pi_{g,y}$ молекулярних орбіталей (МО) іону $\text{O}_2^{\bullet-}$; таким чином, Т-С перехід у радикальній парі рівняння (3) можна подати у вигляді



Триплетний і синглетний стани в рівн. (4) відрізняються електронними конфігураціями всередині супероксид-іона, які є дійсно виродженими в основному стані $X^2\Pi$ іону $\text{O}_2^{\bullet-}$. Такий Т–С перехід включає орбітальне обертання $\pi_{g,x} \rightarrow \pi_{g,y}$ навколо z -осі для позначеного червоним електрона з одночасним перевертанням спіна. Таке орбітальне обертання створює магнітний момент Т–С переходу, який відповідає за інверсію спіну [7]. Внутрішнє магнітне поле цього обертання виродженої молекулярної орбіталі π_g впливає на магнітний момент спіна і змушує його перевернутися. Оскільки це суто квантовий Т–С перехід, то наглядна інтерпретація страждає умовністю; обертання молекулярної орбіталі навколо z -осі молекули при переході треба розуміти як обертання «електронної густини переходу».

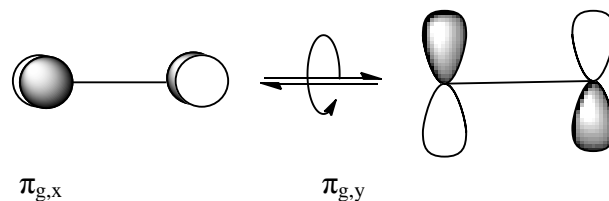


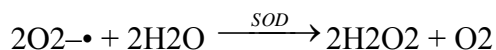
Схема 1. Обертання орбіталі навколо осі іону $\text{O}_2^{\bullet-}$ при Т–С переході (4)

Тому, Т і С стани в рівн. (4) пов'язані сильною спін-орбітальною взаємодією; вона дорівнює величині $\frac{1}{2}A_{SO}$, де A_{SO} є константою СОВ основного стану $X^2\Pi$ двохатомної молекули $\text{O}_2^{\bullet-}$ [5]. У простому наближенні константа $A_{SO}(X^2\Pi, \text{O}_2^{\bullet-})$ дорівнює константі СОВ (ζ_O) основного $O(^3P)$ стану атома кисню $A_{SO} = \zeta_O$, яка близька до 160 cm^{-1} (0.02 eV) [1, 5]. Цей простий аналіз повністю підтверджується експериментальними вимірюваннями тонкої структури $\text{O}_2^{\bullet-}$ іону яку спостерігали як розщеплення в спектрі іонного пучка. Ця енергія (1.9 кДж/моль) в мільйони разів перевищує надтонку взаємодію між ядерним і електронним спінами в теорії РП [7].

Важливо підкреслити, що спін флавінового семіхінон-радикала в формулі (4) відіграє пасивну роль. Він не дає жодного внеску в інтеграл СОВ (матричний елемент $\langle \Psi_T | H_{SOC} | \Psi_S \rangle$)

[1, 5]. Флавіновий семіхінон-радикал лише додає свій спін в триплетну РП. Його може замінити будь-який органічний субстрат, здатний віддавати електрони на кисень, що і реалізується в оксидазах, вільних від кофактора [5, 7]. Наведена вище проста теорія активації O_2 була вперше обґрунтована при аналізі механізму гасіння синглетного кисню при зіткненні з амінами [1]. Теорія COB в супероксиді має бути включена в усі підручники з біохімії та медицини. (Адже теорія COB в атомах розглядається в загальному курсі фізики на всіх природничих факультетах у вищих навчальних закладах України).

АФК не накопичуються у клітинах за нормальних фізіологічних умов. При збільшенні їх концентрації відбувається спонтанна або ензиматична дисмутація супероксидного радикалу і утворюється пероксид водню.



де SOD це супероксид дисмутаза – первісний ензим аеробного життя [8, 9].

Тобто у випадку супероксидного радикалу синглетний кисень утворюється при спонтанній дисмутації (при відриві електрона з однократно зайнятою МО, рівн. 4), а молекулярний триплетний кисень – при ензиматичній дисмутації за рахунок SOD [9]. Молекула пероксиду водню є невеликою та електронейтральною частинкою, завдяки чому вона може проходити крізь мембрани клітин і перетворюватися у гідроксил-радикали ($H_2O_2 + e^- \rightarrow OH\cdot + OH^-$), де катіон феруму (II) є донором електронів в цій реакції Фентона. Будь-який стрес завжди супроводжується тимчасовим зростанням концентрації АФК. АФК передають сигнали до генів, що кодують ферменти антиоксидантів і таким чином організм при звичається до надзвичайних умов.

Висновки. Таким чином, біохімічна реакційна здатність кисню сильно залежить від спінових властивостей електронів. Незважаючи на дивовижні відкриття в молекулярній електроніці та спінтроніці, сучасна теоретична хімія досі зберігає в мовчанні багато таємниць біоактивації кисню [7]. Фундаментальні основи медичної допомоги, нові терапевтичні та діагностичні методи будуть сильно залежати від прогресу теоретичної фізики та квантової хімії у дослідженнях спінових взаємодій в ферментах.

У результаті окисно-відновних реакцій в організмі людини постійно проходить генерація активних форм кисню: радикалів $O_2\cdot^-$, $\bullet OH$, $\bullet RO_2$, $\bullet NO_2$, $\bullet NO$, а також пероксиду водню (H_2O_2), синглетного кисню $O_2(^1\Delta_g)$, озону, гіпохлориту, пероксинітриду, та інших частинок АФК, що не мають спіну, які відіграють важливу роль у багатьох біохімічних і фізіологічних процесах: клітинній проліферації, регуляції тону судин, синтезі простагландинів, передачі міжклітинних сигналів від АФК до сигнальних молекул і рецепторів. Ці сигнали АФК впливають на регуляторні системи, які контролюють мікробіцидну дію фагоцитів, експресію генів та відгук на ендогенні зовнішні впливи – вони теж залишають від спінових і магнітних взаємодій.

Навіть сьогодні хімія кисню продовжує кидати виклик сучасним галузям досліджень у фізиці, біології та медицині, незважаючи на величезну увагу, привернуту протягом приблизно 200 років тим проблемам, які були підняті після відкриттів Фарадея та Лавуазьє, які встановили парамагнетизм O_2 та його здатність підтримувати дихання та горіння [4]. Квантова хімія пояснила кисневий парамагнетизм спіновими властивостями, але головоломки багатьох ферментів із забороненою за спіном активацією кисню та утворенням АФК досі не повністю зрозумілі [6–8]. В першу чергу це стосується тих оксидаз і оксигеназ, які не мають іонів парамагнітних металів, а також і суто органічних ферментів вільних від будь-якого кофактору.

Триплетний кисень проявляє повільну хімічну реакційну здатність, коли в найближчому оточенні відсутні органічні радикали або парамагнітні іони металів. За їх відсутності два паралельних спіна молекули O_2 значно перешкоджають реакційноздатності

кисню, незважаючи на його очевидну схильність спалювати й окиснювати все навколо. Будь-яке парамагнітне послаблення заборони обертання спіну може бути використане киснем для проникнення в органічну речовину та її окиснення. Багато ферментів розроблено природою для створення різних магнітних рельєфів, використовуючи особливі магнітні властивості молекули O₂ і активних форм кисню. В статті нами відмічена роль внутрішніх магнітних взаємодій, а саме – спін-орбітальної взаємодії, яка спостерігається в синглетному кисні [1, 4], супероксид радикалі [3, 12], оксиді азоту і в пероксинітрит аніоні, як найважливіших активних формах кисню та азоту.

Подяки. Робота виконана за підтримки Міністерства освіти і науки України (проект 0118U100401) та шведської фундації Веннера-Грена (проект GFU 2022-0036).

Список використаної літератури

1. Minaev B.F., Murugan N.A., Ågren, H. Dioxygen spectra and bioactivation. *International Journal of Quantum Chemistry*. 2013. Vol. 113(14). P. 1847–1867. <https://doi.org/10.1002/qua.24390>
2. Massey V. Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins. *Journal of Biological Chemistry*. 1994. Vol. 269(36). P. 22459–22462. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)31664-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)31664-2)
3. Minaev B.F. Spin effects in reductive activation of O₂ by oxidase enzymes. *RIKEN Review, Tokyo*. 2002. Vol. 44. P. 147–149.
4. Siegbahn P.E.M. Structures and Energetics for O₂ Formation in Photosystem II. *Accounts of Chemical Research*. 2009. Vol. 42(10). P. 1871–1880. <https://doi.org/10.1021/ar900117k>
5. Minaev B.F. How cofactor-free oxygenases can overcome spin prohibition in substrates oxygenation by dioxygen. *Chemical Physics*. 2019. Vol. 251(1). P. 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2019.01.021>.
6. Romero E., Castellanos J.R.Z., Gadda G., Fraaije M.W., Mattevi. A. Same Substrate, Many Reactions: Oxygen Activation in Flavoenzymes. *Chemical Reviews*. 2018. Vol. 118(4). P. 1742–1769. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00650>
7. Minaev B.F. *Magnetic torque inside the superoxide radical is the driving force for oxygen activation by dioxygenases*. Advances in Chemistry Research. Volume 75. Nova Science Publishers, Incorporated. 2022.
8. Mittler R. ROS are good. *Trends in Plant Science*. 2017. Vol. 22(1). P. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>.
9. McCord J.M., Fridovich, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*. 1969. Vol. 244. P. 6049–6055. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)
10. Minaev B. Photochemistry and spectroscopy of singlet oxygen in solvents. Recent advances which support the old theory. *Chemistry & Chemical Technology*. 2016. Vol. 10(4). P. 519–530.
11. Foot C. Mechanisms of Photosensitized Oxidation: There are several different types of photosensitized oxidation which may be important in biological systems. *Science*. 1968. Vol. 162. P. 963–970. <https://doi.org/10.1126/science.162.3857.963>
12. Minaev B.F., Panchenko A.A. Spin-catalysis of Unsaturated Substrates Oxidation by Cofactor-free Mono- and Di-oxygenases. How Triplet Oxygen Can Overcome Spin Prohibition. *Ukraine Journal of Medicine, Biology, and Sport*. 2019. Vol. 4(6). P. 329–343. <https://doi.org/10.26693/jmbs04.06.329>

References

1. Minaev, B.F., Murugan, N.A. & Ågren, H. (2013). Dioxygen spectra and bioactivation. *International Journal of Quantum Chemistry*, 113(14), 1847–1867. <https://doi.org/10.1002/qua.24390>
2. Massey, V. (1994). Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins. *Journal of Biological Chemistry*, 269(36), 22459–22462. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)31664-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)31664-2)
3. Minaev, B.F. (2002). Spin effects in reductive activation of O₂ by oxidase enzymes. *RIKEN Review, Tokyo*, 44, 147–149.
4. Siegbahn, P.E.M. (2009). Structures and Energetics for O₂ Formation in Photosystem II. *Accounts of Chemical Research*, 42(10), 1871–1880. <https://doi.org/10.1021/ar900117k>
5. Minaev, B.F. (2019). How cofactor-free oxygenases can overcome spin prohibition in substrates oxygenation by dioxygen. *Chemical Physics*, 251(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2019.01.021>.
6. Romero, E., Castellanos, J.R.Z., Gadda, G., Fraaije, M.W. & Mattevi. A. (2018). Same Substrate, Many Reactions: Oxygen Activation in Flavoenzymes. *Chemical Reviews*, 118(4), 1742–1769. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00650>

7. Minaev, B.F. (2022). *Magnetic torque inside the superoxide radical is the driving force for oxygen activation by dioxygenases*. Advances in Chemistry Research. Volume 75. Nova Science Publishers, Incorporated.
8. Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>.
9. McCord, J.M. & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049–6055. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)
10. Minaev B. (2016) Photochemistry and spectroscopy of singlet oxygen in solvents. Recent advances which support the old theory. *Chemistry & Chemical Technology*, 10(4), 519–530.
11. Foot, C. (1968). Mechanisms of Photosensitized Oxidation: There are several different types of photosensitized oxidation which may be important in biological systems. *Science*, 162, 963–970. <https://doi.org/10.1126/science.162.3857.963>
12. Minaev, B.F. & Panchenko, A.A. (2019). Spin-catalysis of Unsaturated Substrates Oxidation by Cofactor-free Mono- and Di-oxygenases. How Triplet Oxygen Can Overcome Spin Prohibition. *Ukraine Journal of Medicine, Biology, and Sport*. 4(6), 329–343. <https://doi.org/10.26693/jmbs04.06.329>

Minaev B. F., Panchenko O. O., Reshetnyak O. V. SPIN MAGNETIC PROPERTIES OF OXYGEN AND ITS ACTIVE FREE RADICAL FORMS

Introduction and purpose of the study. Aerobic life is based on breathing oxygen from air. Unlike the vast majority of chemically stable substances, the O_2 molecule has two unpaired electrons with parallel spins. This means that it is a triplet biradical. These two unpaired electrons of the O_2 molecule mean that oxygen is a paramagnetic gas, while many other chemicals are diamagnetic, including almost all the organic stable components of a living cell, which consist of biopolymers and molecules (proteins, DNA, RNA, lipids, sugars, enzymes, FAD, NAD, etc.). This review describes spin-dependent essential features of the participation of oxygen and ROS in aerobic life.

Materials and methods: We investigated the complex processes of O_2 activation during respiration and many other redox processes, which depends on electron exchange and spin-orbit coupling.

Results of the study: Superoxide anion radical $O_2^{\bullet -}$ is the basis of many oxidative processes in mitochondria as an intermediate product, but can become a free radical as a result of "leakage" from the normal course of enzymatic reactions. The article shows that the causes of superoxide ion "leakage" are related to the action of internal magnetic forces inherent in molecular oxygen and similar structures of ROS ($O_2^{\bullet -}$, OH^{\bullet} , O_2H^{\bullet} , $\bullet NO$). We established that the "leakage" of electrons and superoxide in mitochondria, as well as the action mechanism of a number of oxidases and oxygenases, fundamentally depend on the spin-orbital coupling in the superoxide ion. We have shown how the spin-orbital coupling in ROS affects the course of important enzymatic processes in oxidases and oxygenases, which consist purely of proteins that do not even have a metal or organic cofactor. The discovery of the magnetic properties of a number of ROS, such as superoxide anion, peroxyxynitrite anion, nitric oxide explains a number of mysteries of modern enzymology and medicine

Conclusions: Triplet oxygen exhibits slow chemical reactivity when there are no organic radicals or paramagnetic metal ions in the immediate environment. In their absence, the two parallel spin molecules of O_2 significantly hinder the reactivity of oxygen, despite its obvious predisposition to burn and oxidize everything around it. Any paramagnetic relaxation of the spin prohibition can be used by oxygen to penetrate and oxidize organic matter. In the article, we noted the role of internal magnetic interactions, namely, spin-orbit coupling which is observed in singlet oxygen, superoxide radical, nitric oxide, and peroxyxynitrite anion, as the most important active forms of oxygen and nitrogen.

Keywords: triplet oxygen, singlet oxygen, superoxide ion, paramagnetism, myoglobin, hemoglobin, reactive oxygen species, effects of external magnetic field.

Одержано редакцією: 29.04.2024

Прийнято до публікації: 27.05.2024