

## ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА КАК ИНГИБИТОРЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Грачев Д.И.<sup>1,2</sup>, Медведева В.А.<sup>1,2</sup>, Шумаев К.Б.<sup>2,3</sup>, Ланкин В.З.<sup>2</sup>, Рууге Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ*

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова  
*ул. 3-я Черепковская, 15а, г. Москва, 121552, РФ*

<sup>3</sup> Институт биохимии имени А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН

*Ленинский просп., 33, стр. 2, г. Москва, 119071, РФ; e-mail: di.grachev@physics.msu.ru*

Поступила в редакцию 27.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbc.2022.0567

**Аннотация.** В работе рассматривается влияние динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) на процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов, вносящие существенный вклад в развитие многих патологических состояний. В этих процессах происходит повреждение липидов и других макромолекул, и, кроме того, конечные продукты перекисного окисления липидов являются мутагенами и канцерогенами. Поиск новых антиоксидантных соединений, способных подавлять перекисное окисление липидов, имеет достаточно продолжительную историю, однако по-прежнему остается немало вопросов, в том числе касающихся потенциального клинического применения. В рамках данной работы получены данные, которые позволяют расширить и дополнить представление о ДНКЖ как о значимых антиоксидантных агентах. С помощью методов спектроскопии ЭПР и спектрофотометрии показано, что динитрозильные комплексы железа способны ингибировать перекисное окисление липидов в модельных системах с гидропероксидом трет-бутила и цитохромом *c*, а также в экспериментах с липопротеинами низкой плотности при их окислении ионами меди. Предположительно, ДНКЖ могут быть использованы как терапевтическое средство, предотвращающее или снижающее повреждения липидов и накопление токсичных конечных продуктов их перекисного окисления.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, динитрозильные комплексы железа, антиоксиданты, спектроскопия ЭПР.

К настоящему времени известны антиоксидантные свойства различных соединений, однако существует немало неразрешенных вопросов, связанных с механизмами их действия, а также возможным терапевтическим применением. Среди различных мишеней антиоксидантов следует особенно отметить те, которые так или иначе участвуют в перекисном окислении липидов.

С перекисным окислением липидов (ПОЛ) связаны многие физиологические и патологические процессы, среди которых особенно выделяются различные пути клеточной гибели [1]. Также стоит отметить, что токсичность продуктов ПОЛ была показана во многих исследованиях [1,2]. К конечным продуктам ПОЛ следует отнести активные карбонильные соединения, например, такой дикарбонил, как малоновый диальдегид. По этим причинам, поиск соединений, предотвращающих или регулирующих окислительную модификацию липидов, представляется весьма перспективным направлением исследований. Одним из таких соединений могут являться динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ). Антиоксидантный эффект ДНКЖ, в том числе с лигандом глутатионом (GS-ДНКЖ), был показан ранее в различных работах [3,4].

В нашей работе с помощью методов спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновой ловушки DEPMPO (5-(диэтоксифосфорил)-5-метил-1-пирролин-N-оксид) оценивался уровень продукции свободных радикалов. Накопление диеновых конъюгатов (липогидропероксидов – первичных продуктов ПОЛ) оценивали спектрофотометрически по поглощению при  $\lambda = 233$  нм. С помощью этого метода было изучено влияние ДНКЖ на перекисное окисление липидов в липопротеинах низкой плотности (ЛНП), которое запускалось добавлением в среду с ЛНП сульфата меди ( $\text{CuSO}_4$ ). Среда инкубации ЛНП: концентрация ЛНП в растворе – 50 мкг/мл, концентрация  $\text{CuSO}_4$  – 30 мкМ, буферный раствор – PBS.

Предполагаемые нами антиоксидантные свойства GS-ДНКЖ нашли подтверждение в экспериментах с гемопротеинами (гемоглобином и цитохромом *c*) и гидропероксидом трет-бутила (t-BOOH). В этих экспериментах моделировалось образование органических свободнорадикальных интермедиатов, аналогичное тому, что происходит в ходе перекисного окисления липидов и других биомолекул. На рисунке 1 приведены спектры ЭПР спиновых аддуктов DEPMPO с этими свободными радикалами. Показано снижение сигналов аддуктов спиновой ловушки DEPMPO со свободнорадикальными интермедиатами (рис. 2).

Антиоксидантное действие ДНКЖ исследовали при окислении ЛНП ионами меди и в присутствии метилглиоксала (MGO), дикарбонильного соединения, существенно стимулирующего перекисное окисление в ЛНП (рис. 3). Ранее такой эффект был показан в статье В.З. Ланкина с соавторами [5]. В этой работе также установлено, что MGO усиливает свободнорадикальное окисление липосом из лецитина. Кроме того, известно, что при взаимодействии MGO с аминокислотами образуется супероксидный радикал [6]. Следует отметить, что MGO является одним из ключевых активных карбонильных соединений, определяющих развитие патологических процессов при диабете.

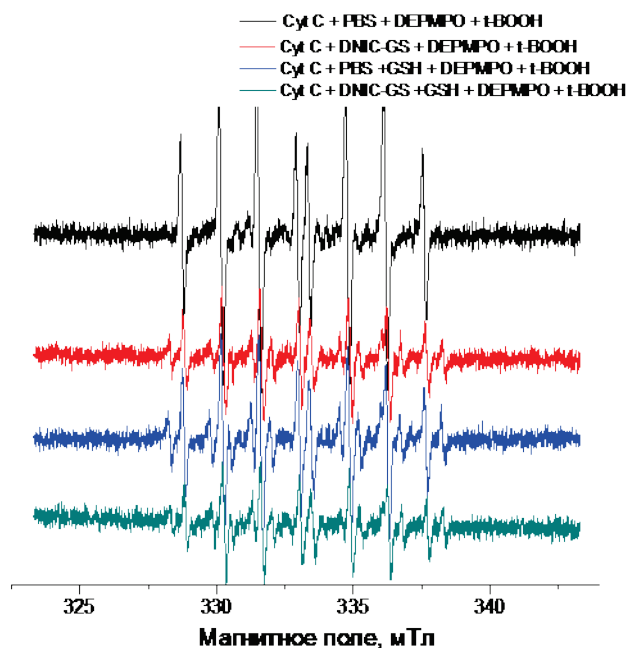


Рисунок 1. Спектры ЭПР спиновых аддуктов DEPMPO в различных реакционных системах

Антиоксидантное действие GS-ДНКЖ в ходе перекисного окисления липидов ЛНП сравнивалось с действием тиольного соединения – глутатиона, который является лигандом ДНКЖ (рис. 3). Было установлено, что в этой системе GS-ДНКЖ существенно подавляет накопление липогидропероксидов, причём эти комплексы были намного более эффективны, чем свободный глутатион (GSH). Как видно из рисунка 3, глутатион не показал существенного защитного действия в экспериментах с окислением ЛНП. В условиях наших экспериментов этот эффект GSH может быть связан с его участием в редокс-цикле меди, т.е. восстановлением  $\text{Cu}^{2+}$  до  $\text{Cu}^+$ , что стимулирует цепные реакции перекисного окисления липидов (реакция разветвления цепи ПОЛ).

Эти данные вполне согласуются с тем, что в сравнении с свободным GSH глутатион-содержащие ДНКЖ более эффективно ингибируют индуцированный хлорноватистой кислотой гемолиз эритроцитов [7]. Как было показано нами ранее [8], ДНКЖ с фосфатными лигандами сначала ингибировали окисление ЛНП, но позже их антиоксидантное действие снижалось. Более того, через 70 мин инкубации ЛНП с этим вариантом ДНКЖ наблюдалась инверсия антиоксидантного действия в прооксидантное. Данный эффект может быть обусловлен низкой стабильностью содержащих фосфат динитрозильных комплексов железа. Можно предположить, что ионы железа, высвобождающиеся при распаде ДНКЖ, так же, как и ионы меди могут катализировать процессы ПОЛ. Вероятно, аналогичный эффект может объяснить меньшее антиоксидантное действие 100 мкМ ДНКЖ в присутствии MGO (рис. 3), причём в этом случае именно дикарбонил разрушает комплексы, взаимодействуя с

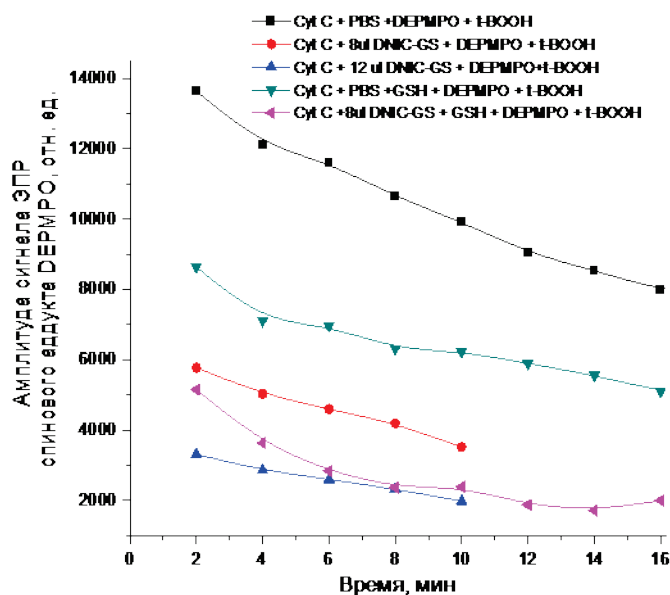
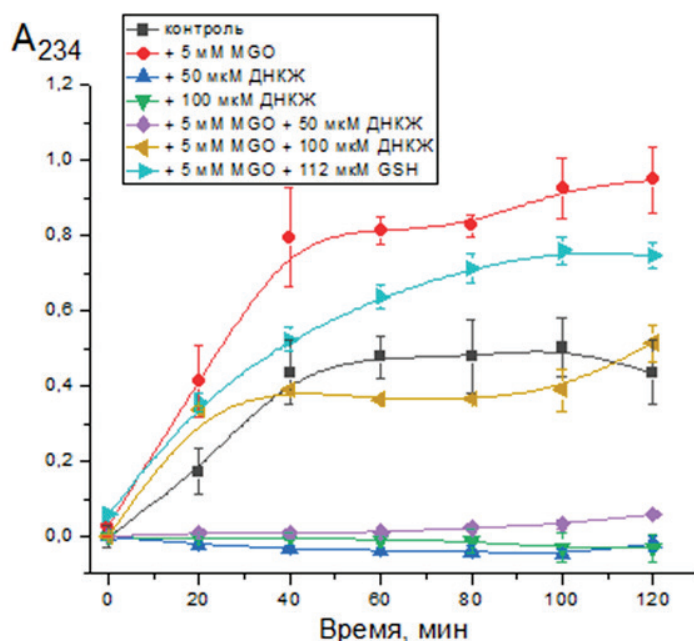


Рисунок 2. Кинетика снижения сигнала спинового аддукта DEPMPO в реакционных системах, содержащих Cyt C и t-BOOH в присутствии GS-ДНКЖ и/или глутатиона



**Рисунок 3.** Окисление липопротеинов низкой плотности в присутствии метилглиоксала (MGO) и GS-ДНКЖ, а также глутатиона (GSH) – концентрации указаны на рисунке

тиольными лигандами. С другой стороны, ингибирование катализируемых ионами железа реакций свободнорадикального окисления может происходить благодаря связыванию этих ионов в составе ДНКЖ [9]. Следует отметить, что в ходе разрушения ДНКЖ должен также выделяться свободный NO. Считается, что оксид азота благодаря взаимодействию с алкильными ( $L\cdot$ ), алкилперекисными ( $LOO\cdot$ ) и алкоксильными радикалами ( $LO\cdot$ ) липидов способен обрывать цепные реакции ПОЛ [10]. Вместе с тем, при взаимодействии NO с супероксидом образуется такой сильный окислитель, как пероксинитрит [8].

ДНКЖ с глутатионовыми лигандами ингибируют свободнорадикальное перекисное окисление липидов, а также перехватывают супероксидный радикал. Антиоксидантные свойства этих ДНКЖ, по всей видимости, определяются “кооперативным” действием входящих в них тиольных и NO-лигандов. Общим механизмом при взаимодействии ДНКЖ с супероксидом и алкилперекисными радикалами липидов может быть формирование нестабильных интермедиатов, при разрушении которых не образуются сильные окислители, продолжающие цепные реакции ПОЛ. Напротив, в аналогичных реакциях свободного NO продуцируется пероксинитрит и его органический аналог, при гомолизе которых вновь образуются свободные радикалы.

Таким образом, нами было установлено, что динитрозильные комплексы железа эффективно снижают уровень липогидропероксидов, а также свободнорадикальных интермедиатов ПОЛ. Вместе с тем, глутатион-содержащие ДНКЖ могут оказывать существенное антиоксидантное действие не только при окислительном, но и при карбонильном стрессе, который развивается в результате накопления активных дикарбонильных соединений в условиях диабетической гипергликемии.

Мы предполагаем, что исследование антиоксидантного действия ДНКЖ и препаратов на их основе (Оксаком и др.) является достаточно перспективным и позволит разработать новый класс протекторных соединений, ингибирующих ПОЛ и сопряженные с ним патологические процессы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-29-12052) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.*

#### Список литературы / References:

1. Gaschler M.M., Stockwell B.R. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2017, vol. 482, no. 3, pp. 419-425.
2. Radi R. et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1991, vol. 288, no. 2, pp. 481-487.
3. Pisarenko O. et al. Protective efficacy of dinitrosyl iron complexes with reduced glutathione in cardioplegia and reperfusion. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.*, 2019, vol. 471, no. 4, pp. 583-593.
4. Shumaev K.B. et al. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and methemoglobin-bound dinitrosyl-iron complexes. *Nitric Oxide*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 37-46.
5. Lankin V. et al. The initiation of free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injure in atherosclerosis and diabetes. *Mol. Cell. Biochem.*, 2014, vol. 395, no. 1, pp. 241-252.

6. Шумаев К.Б. и др. Механизм образования супероксидного радикала при взаимодействии L-лизина с дикарбонильными соединениями. *Биохимия*, 2009, vol. 74, № 4, pp. 568-574. [Shumaev K.B. et al. Superoxide formation as a result of interaction of L-lysine with dicarbonyl compounds and its possible mechanism. *Biochemistry (Moscow)*, 2009, vol. 74, no. 4, pp. 461-466. (In Russ.)]
7. Shumaev K.B. et al. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione in Red Blood Cell Lysis Induced by Hypochlorous Acid. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2019, vol. 2019, p. 2798154.
8. Шумаев К.Б. и др. Возможный механизм антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа. *Биомедицинская химия*, 2021, т. 67, № 2, с. 162-168. [Shumaev K.B. et al. A possible mechanism of the antioxidant action of dinitrosyl iron complexes. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2021, vol. 15, no. 4, pp. 313-319. (In Russ.)]
9. Li Q. et al. Nitrosothiol Formation and Protection against Fenton Chemistry by Nitric Oxide-induced Dinitrosyliron Complex Formation from Anoxia-initiated Cellular Chelatable Iron Increase\*. *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, no. 29, pp. 19917-19927.
10. Pryor W.A. et al. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. American Physiological Society*, 2006, vol. 291, no. 3, pp. R491-R511.

### DINITROSYL IRON COMPLEXES AS LIPID PEROXIDATION INHIBITORS

Grachev D.I.<sup>1,2</sup>, Medvedeva V.A.<sup>1,2</sup>, Shumaev K.B.<sup>2,3</sup>, Lankin V.Z.<sup>2</sup>, Ruuge E.K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University

*Leninskie Gory, 1/2, Moscow 119991, Russia*

<sup>2</sup> E.I. Chazov National Medical Research Centre of Cardiology

*st. 3rd Cherepkovskaya, 15a, Moscow, 121552, Russia*

<sup>3</sup> Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Centre of Biotechnology RAS

*Leninsky pr-t, 33/ 2, Moscow, 119071, Russia; e-mail: di.grachev@physics.msu.ru*

Received 27.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0567

**Abstract.** The paper considers the effect of dinitrosyl iron complexes (DNIC) on the processes of free radical lipid peroxidation, which make a significant contribution to the development of many pathological conditions. These processes damage lipids and other macromolecules, and, in addition, the end products of lipid peroxidation are mutagens and carcinogens. The search for new antioxidant compounds capable of inhibiting lipid peroxidation has a fairly long history, but there are still many questions, including those related to potential clinical applications. In the framework of this work, data were obtained that allow expanding and supplementing the idea of DNIC as significant antioxidant agents. With the use of EPR spectroscopy and spectrophotometry, it was shown that dinitrosyl iron complexes are able to inhibit lipid peroxidation in model systems with tert-butyl hydroperoxide and cytochrome C, as well as in experiments with low-density lipoproteins during their oxidation with copper ions. Presumably, DNIC can be used as a therapeutic agent that prevents or reduces lipid damage and the accumulation of toxic end products of lipid peroxidation.

**Key words:** lipid peroxidation, dinitrosyl iron complexes, antioxidants, EPR spectroscopy.