

3. Lau D., Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacology Therapeutics*, 2006, vol. 111, no. 1, pp. 16-26.
4. Huang J., Milton A., Arnold R.D., Huang H., Smith F., Panizzi J.R., Panizzi P. Methods for measuring myeloperoxidase activity toward assessing inhibitor efficacy in living systems. *Journal of leukocyte biology*, 2016, vol. 99, no. 4, pp. 541-548.
5. Соколов А.В., Костевич В.А., Васильев В.Б., Панасенко О.М. Кинетический метод определения галогенирующей активности миелопероксидазы. *Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Тез. докл. Междунар. науч. конф., сб. ст.: в 2 ч. Ч. 2*, Минск, 2012, с. 272-274. [Sokolov A.V., Kostevich V.A., Vasilyev V.B., Panasenکو O.M. Kinetic method for determining the halogenating activity of myeloperoxidase *Molekulyarnyye, membrannyye i kletochnyye osnovy funktsionirovaniya biosistem: Tез. dokl. Mezhdunar. nauch. konf., sb. st.: v 2 ch. Part 2*, Minsk, 2012, pp. 272-274. (In Russ.)]
6. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Kozlov S.O., Donskyi I.S., Vlasova I.I., Rudenko A.O., Zakharova E.T., Vasilyev V.B., Panasenکو O.M. Kinetic method for assaying the halogenating activity of myeloperoxidase based on reaction of celestine blue B with taurine halogenamines. *Free Radical Research*, 2015, vol. 49, no. 6, pp. 777-789.
7. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *Journal of leukocyte biology*, 2005, vol. 78, no. 5, pp. 1025-1042.
8. Nagaji J. The role of protein kinase C and  $[Ca^{2+}]_i$  in superoxide anion synthesis and myeloperoxidase degranulation of human neutrophils. *The Kurume medical journal*, 1999, vol. 46, no. 3-4, pp. 157-162.
9. Abdel-Latif D., Steward M., Macdonald D.L., Francis G.A., Dinauer M.C., Lacy P. Rac2 is critical for neutrophil primary granule exocytosis. *Blood*, 2004, vol. 104, no 3, pp. 832-839.
10. Тимошенко А.В. Применение эндогенных лектинов в клинической диагностике. *Медицинские новости*, 1997, № 4, с. 16-20. [Timoshenko A.V. The use of endogenous lectins in clinical diagnostics. *Meditinskiye novosti*, 1997, no. 4, pp. 16-20. (In Russ.)]
11. Gorudko I.V., Mukhortava A.V., Caraher B., Ren M., Cherenkevich S.N., Kelly G.M., Timoshenko A.V. Lectin-induced activation of plasma membrane NADPH oxidase in cholesterol-depleted human neutrophils. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2011, vol. 516, no. 2, pp. 173-181.
12. Pereira-da-Silva G., Caroline Carvalho F., Cristina Roque-Barreira M. Neutrophil activation induced by plant lectines: modulation of inflammatory processes. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*, 2012, vol. 11, no. 6, pp. 433-441.
13. Timoshenko A.V., Kayser K., Gabius H.J. Lectin-triggered superoxide/ $H_2O_2$  and granule enzyme release from cells. *Methods in Molecular Medicine*, 1998, no. 9, pp. 441-445.

### КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА С РАСТИТЕЛЬНЫМИ МЕЛАНИНАМИ

<sup>1</sup>Багиров Р.М., <sup>1</sup>Багирова О.Ш., <sup>1</sup>Турабова Г.А., <sup>2</sup>Аббасов И.И.

<sup>1</sup>Бакинский Государственный Университет  
ул. З.Халилова, 23, г.Баку, AZ1148, Азербайджан

<sup>2</sup>Азербайджанский Государственный Нефтяной и Индустриальный Университет  
пр. Азадлыг, 20, г.Баку, AZ1010, Азербайджан  
e-mail: rafiqbagirov@list.ru

**Аннотация.** Методом гамма-резонансной спектроскопии (ГРС) исследовано комплексообразование ионов железа с синтетическим L-ДОФА-меланином и меланинами, выделенными из кожуры бобов *Vicia faba*, черного винограда и семян гречихи. Установлено, что меланины эффективно хелатируют ионы железа как в его двух, так и в трехвалентном состоянии. Основная часть координированных ионов  $Fe^{3+}$  входит в состав полиядерных ( $n \geq 2$ ) кластеров и благодаря быстрой релаксации вследствие спин-спинового взаимодействия дает парамагнитные дублетные ГР-спектры. Наличие магнитных релаксационных спектров показывает, что часть координационных центров в меланине обособлено. Величины параметров ГР-спектров изученных образцов характерны для высокоспиновых (ВС) комплексов ионов  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  с октаэдрическим лигандным окружением. Предполагается, что способность растительных меланинов эффективно связывать прооксидантные ионы  $Fe^{2+}$  может являться одним из возможных механизмов их антиоксидантных и протекторных свойств.

**Ключевые слова:** меланин, гамма-резонансная спектроскопия, комплексообразование, ионы железа.

## COMPLEXATION OF IRON IONS WITH VEGETABLE MELANINS

<sup>1</sup>Baqirov R.M., <sup>1</sup>Baqirova O.Sh, <sup>1</sup>Turabova Q.A., <sup>2</sup>Abbasov I.I.<sup>1</sup>Baku State University*Z. Khalilov st., 23, Baku, AZ1148, Azerbaijan*<sup>2</sup>Oils and Industry Azerbaijan State University*Azadliq st., 20, Baku, AZ1010, Azerbaijan**e-mail: rafiqbagirov@list.ru*

**Abstract.** Chelation of iron ions with synthetic melanin and melanins isolated from peel of *Vicia-faba* beans, black grapes and buckwheat seeds was studied by gamma-resonance spectroscopy (GRS) It is established that melanins effectively gelate iron ions in both its two and trivalent states. The main part of the coordinated ions  $Fe^{3+}$  ions forms part of the polynuclear ( $n \geq 2$ ) clusters and gives paramagnetic doublet GR-spectra due to the fast relaxation of the spin-spin interaction. The presence of magnetic relaxation spectra indicates that part of the coordination centers in melanin is isolated. The values of the parameters of the GR-spectra of the samples studied are characteristic of high-spin complex  $Fe^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  ions with octahedral ligand environment. It is assumed that the ability of vegetable melanins to effectively bind prooxidant  $Fe^{2+}$  ions is one of the possible mechanisms of their oxidative and protective properties.

**Key words:** melanin, gamma-resonance spectroscopy, chelation, iron ions.

Одной из задач молекулярной биофизики является изучение поведения ионов металлов в организме, в частности, изучение строения их координационных соединений с биологически активными лигандами. Одним из элементов жизни является железо, входящее в структуру многих ферментных систем. В связи с этим с клеточной и межклеточной жидкости должно содержаться в той или иной химической форме железо, используемое для синтеза таких систем. С другой стороны, железо является клеточным «ядом»: оно является эффективным катализатором перекисного окисления липидов. Таким образом, в организме должны быть системы, регулирующие содержание железа. Одним из таких систем могут являться меланины.

Меланины – темноокрашенные пигменты полимерной природы, широко распространенные в животном, растительном и микробном мире. Растительные меланины – черные полимерные пигменты высших растений. Пигменты меланинового ряда играют важную роль в животном, растительном мире и в грибах, где их функции связаны, главным образом, с защитой клеток от различных повреждающих факторов внешней среды. В случае меланинов животного происхождения защитные действия связаны как с пассивным экранированием от солнечной радиации, так и с активным подавлением индуцированного перекисного окисления липидов [1]. Высказано предположение, что в случае меланинов животного происхождения, подавление ими процесса перекисного окисления липидов связано, в первую очередь, со связыванием ионов  $Fe^{2+}$ , являющихся катализаторами перекисного окисления липидов [2]. Можно полагать, что этот механизм является существенным и в случае пигментов растительного происхождения.

В настоящей работе приводятся и обсуждаются результаты экспериментальных исследований комплексообразования ионов железа с растительными меланинами, выделенными из кожуры бобов *Vicia faba* (PM1), черного винограда (PM2) и семян гречихи (PM3).

Растительные меланины выделены по ранее описанной методике с небольшой модификацией [3]. Комплексные соединения ионов железа с растительными меланинами получали путем инкубирования их в растворе  $^{57}FeSO_4$ . Раствор  $^{57}FeSO_4$  получали растворением металлического  $\alpha$ - $^{57}Fe$  («Изотоп», Россия) в разбавленной (0,1-0,2)M  $H_2SO_4$ (XЧ) в инертной среде. Полученный раствор хранили под слоем гептана, добавив избыток нерастворенного металлического  $\alpha$ - $^{57}Fe$ . Гамма-резонансные (ГР) спектры изученных образцов регистрировали на установке MS-2001, работающей в режиме постоянных ускорений. Источником резонансных  $\gamma$ -квантов служил изотоп  $^{57}Co$  в матрице Cr.

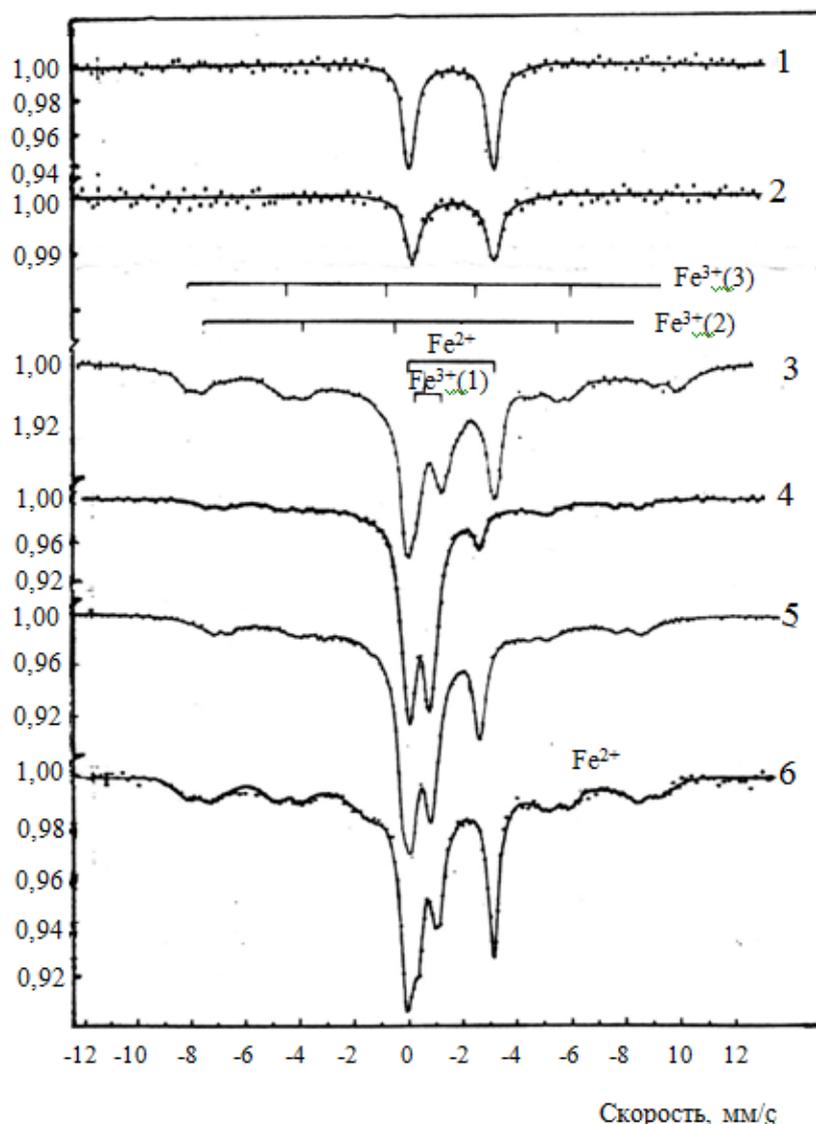


Рисунок 1 – ГР-спектры замороженных растворов изученных образцов при 80 К  
 1 – Исходный раствор ( $^{57}\text{FeSO}_4$ ), 2 – Супернатант после осаждения, 3 – комплекс  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{L-ДОФА-меланин}$ ,  
 4 –  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM1}$ , 5 –  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM2}$ , 6 –  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM3}$

ГР-спектры изученных образцов представлены на см. рис.1, а параметры их ГР-спектров приведены в таблице 1. Исходный раствор  $^{57}\text{FeSO}_4$  и супернатанты после осаждения имеют идентичный дублетный ГР-спектр при температуре 80К с параметрами, характерными для аквакомплексов  $\text{Fe}^{2+}$ . Осадки имеют сложный ГР-спектр, состоящий, по крайней мере, из четырех парциальных спектров: двух дублетов и двух секстетов с уширенными линиями. Центральный, более интенсивный дублет характерен для высокоспиновых (ВС) комплексов  $\text{Fe}^{2+}$ . Менее интенсивный центральный узкий дублет характерен для парамагнитных ВС комплексов ионов  $\text{Fe}^{3+}$ . Параметры секстетных парциальных спектров также характерны для ВС комплексов ионов  $\text{Fe}^{3+}$ . Сравнивая параметры ГР-спектров изученных нами осадков со значениями параметров ГР-спектров исходного раствора и известных из литературы параметров окислов и гидроокислов железа, установлено, что они существенно отличаются [4]. С другой стороны, в наших экспериментах, во избежание гидролиза, для контроля проводили опыты и с добавлением в реакционную среду гидроксиламина ( $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ ), сильно препятствующего агента образования окислов или гидроокислов железа. При этом анализ ГР-спектров осадков, полученных с добавлением в реакционную среду гидроксиламина и без него, показал, что формы и параметры парциальных ГР-спектров осадков исключительно идентичны. Для дополнительного исключения возможного образования высокодисперсных окислов или гидроокислов  $\text{Fe}^{3+}$ , которые также могли бы дать размытый секстетный спектр, была проведена отмывка осадков (комплексов)  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{меланины}$  и полученных в идентичных условиях окислов и гидроокислов  $\text{Fe}^{3+}$  в растворе  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Результаты показали, что окислы и гидроокислы  $\text{Fe}^{3+}$  хорошо растворяются в  $\text{H}_2\text{SO}_4$  при pH 2,5 в то время, как ионы  $\text{Fe}^{3+}$  в осадке не отмываются даже при значении pH 1,8. Это свидетельствует о том, что исследованные нами осадки не являются механической смесью меланинов с исходным раствором или окислами и гидроокислами ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , а являются координационными соединениями ионов железа с исследованными меланинами.

Таблица 1 – Параметры ГР-спектров замороженных растворов изученных образцов при 80 К (А-исходный раствор:  $^{57}\text{FeSO}_4$ , В – супернатант после осаждения, С – комплекс (осадок))

	Образцы	$\text{Fe}^{2+}$		$\text{Fe}^{3+}(1)$		$\text{Fe}^{3+}(2)$			$\text{Fe}^{3+}(3)$		
		ИС, мм/с	КР, мм/с	ИС, мм/с	КР, мм/с	ИС, мм/с	КР, мм/с	$V_{\text{эф}}$ , Тл	ИС, мм/с	КР, мм/с	$V_{\text{эф}}$ , Тл
$^{57}\text{FeSO}_4 + \text{L-ДОФА-меланин}$ , pH 5,4											
1	А	1,37	3,33	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,40	3,34	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,32	3,14	0,54	0,98	0,58	0,09	50,7	0,59	0,17	55,2
$^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM1}$ ; pH 5,4											
1	А	1,37	3,33	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,36	3,35	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,34	3,21	0,56	0,83	0,58	0,16	50,2	0,51	0,14	55,5
$^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM2}$ ; pH 5,6											
1	А	1,37	3,33	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,30	3,31	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,33	3,24	0,46	0,75	0,40	0,13	50,2	0,33	0,18	55,1
$^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM3}$ ; pH 5,4											
1	А	1,37	3,33	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,31	3,32	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,29	3,26	0,46	0,74	0,40	0,12	50,5	0,38	0,21	55,1

Величины параметров парциальных ГР-спектров в изученных образцах характерны для высокоспиновых (ВС) комплексов ионов  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  с октаэдрическим лигандным окружением. Это дает основание полагать, что как синтетические, так и растительные меланины по отношению к ионам железа, вступают как лиганды слабого поля.

Величина внутреннего магнитного поля на ядрах является одним из электронных параметров ГР-спектров и зависит от степени ковалентности связей железо-лиганд. Синтетические и природные меланины являются сложным полимерным образованием состоящим из мономерных единиц различной структуры. Он содержит орто-гидрохиноидные, орто-хиноидные группы, amino- и имино-группы и карбоксильные группы, каждая из которых может участвовать в связывании ионов железа полимером. С обратимым переходом хинон-гидрохинон, через стадию семихинона, по-видимому, связаны окислительно-восстановительные свойства меланинов.

Таким образом, растительные меланины способны образовывать комплексы с ионами железа как в его двух, так и в трехвалентном состоянии, причем при взаимодействии с ионами  $\text{Fe}^{2+}$  меланины их частично окисляют до  $\text{Fe}^{3+}$  с последующим комплексообразованием. Одновременное присутствие магнитной и дублетной компонент в ГР-спектрах, по-видимому, связано с неоднородным распределением железосвязывающих центров в полимере меланина. Для двух или более близко расположенных ионов  $\text{Fe}^{3+}$  (например, они могут входить в состав полиядерных ( $n \geq 2$ ) кластеров), благодаря быстрой релаксации, обусловленной эффективным спин-спиновым взаимодействием, будут наблюдаться дублетные парциальные ГР-спектра. В случае достаточно разделенных в пространстве ионов  $\text{Fe}^{3+}$  спин-спиновое взаимодействие сильно ослабится, и для таких структур будут наблюдаться релаксационные парциальные ГР-спектры с размытой сверхтонкой структурой [4]. Секстет с полем  $\sim 55$ Тл ( $\text{Fe}^{3+}(3)$ ) соответствуют ионам  $\text{Fe}^{3+}$  связанным с карбоксильными группами, секстет с меньшим полем ( $\sim 50$  Тл) соответствует структурам, где в координации  $\text{Fe}^{3+}$  наряду с  $\text{COO}^-$  группами участвуют также amino- или имино-группы меланина. Молекулы воды, входящие в состав полимеров, также могут участвовать в координации с ионами железа. Ионы  $\text{Fe}^{2+}$  образуют с меланинами моноядерные комплексы, при этом центры связывания достаточно удалены друг от друга.

Сравнительный анализ параметров ГР-спектров комплексов ионов желез с различными меланинами показал, что значения ИС для форм  $\text{Fe}^{2+}$  в изученных комплексах в зависимости от типа меланинов заметно не отличаются. Аналогичное имеет место и для форм  $\text{Fe}^{3+}(1)$ . Однако наблюдалась некоторая тенденция к увеличению значений КР для форм  $\text{Fe}^{2+}$  от комплекса  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM1}$  к  $^{57}\text{FeSO}_4 + \text{PM3}$ .

По своей окисляющей способности  $\text{Fe}^{2+}$  до  $\text{Fe}^{3+}$ , а также по способности к связыванию ионов железа PM1 превосходит PM2 и PM3.

Исходя из полученных данных можно полагать, что все эти меланины содержат в своем составе аналогичные функциональные группы по отношению к связыванию ионов железа.

Авторы выражают глубокую признательность руководителю лаборатории «ГР-спектроскопия» отдела «Строение вещества» ИХФ РАН проф. Стукану Р.А. за любезную помощь при выполнении этой работы.

#### Список литературы / References:

1. Донцов А.Е., Островский М.А. Антиоксидантная роль экранирующих пигментов глаза-меланинов и оммохромов и физико-химические механизмы их действия. *Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты*,

Москва, 2005, т. 2, с. 155-174. [Dontsov A.E, Ostrovsky M.A. Antioxidant role of the screening pigments of the eye-melanins and ommochromes and the physicochemical mechanisms of their action. *Chemical and biological kinetics. Newest Horizons*, Moscow, 2005, vol. 2, p. 155-174. (In Russ.)]

2. Багиров Р.М., Насиров Э.Ф., Багирова О.Ш., Турабова Г.А. Исследование взаимодействия ионов железа с меланосомами. *Труды V Международной научно-технической конференции «Актуальные проблемы физики»*, Баку, 2008, с. 174-176. [Bagirov R.M., Nasirov E.F., Bagirova O.Sh., Turbavova G.A. Investigation of the interaction of iron ions with melanosomes. *Proceedings of the V International Scientific and Technical Conference "Actual Problems of Physics"*, Baku, 2008, p. 174-176. (In Russ.)]

3. Бидзилия Н.И., Зезина Н.В. Выделения растительных меланинов и изучение их радиозащитных свойств. *Физиол. и биохим. культурных растений*, 1971, т. 3, № 1, с. 55. [Bidziliya N.I., Zezina N.V. Isolation of plant melanins and study of their radioprotective properties. *Physiol. And biochem. Cultivated plants*, 1971, vol. 3, no. 1, p. 55. (In Russ.)]

4. Фабричный П.Б., Похолок К.В. *Мессбауэровская спектроскопия и её применение для химической диагностики неорганических материалов*. М.: МГУ, 2012, 142 с. [Fabrichniy P.B., Pokholok K.V. *Mossbauer spectroscopy and its application for the chemical diagnosis of inorganic materials*, Moscow: MSU, 2012, 142 p. (In Russ.)]

### ВЛИЯНИЕ НЕЙРОЛЕПТИКОВ НА ТРАНСПОРТ $\text{Na}^+$ В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

Мельницкая А.В., Крутецкая З.И., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет

Университетская наб., 7/9, г. Санкт-Петербург, 199034, РФ

e-mail: avmelnitskaya@yandex.ru

**Аннотация:** С использованием метода фиксации потенциала исследовано влияние двух структурно различных нейролептиков галоперидола и хлорпромазина на транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки. Впервые показано, что галоперидол и хлорпромазин модулируют трансэпителиальный транспорт  $\text{Na}^+$ . Полученные результаты свидетельствуют также о том, что регуляторное влияние данных антипсихотических агентов на транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки осуществляется при участии различных сигнальных механизмов.

**Ключевые слова:** кожа лягушки, трансэпителиальный транспорт  $\text{Na}^+$ , галоперидол, хлорпромазин.

### THE EFFECT OF NEUROLEPTICS ON $\text{Na}^+$ TRANSPORT IN FROG SKIN

Melnitskaya A.V., Krutetskaya Z.I., Butov S.N., Krutetskaya N.I., Antonov V.G.

Saint-Petersburg State University,

Universitetskaya emb., 7/9, Saint-Petersburg, Russia

e-mail: avmelnitskaya@yandex.ru

**Abstract:** Using voltage-clamp technique, the influence of two structurally different neuroleptics haloperidol and chlorpromazine on  $\text{Na}^+$  transport in frog skin was investigated. It was shown for the first time that haloperidol and chlorpromazine modulate the transepithelial  $\text{Na}^+$  transport. The results obtained also suggest that the regulatory effect of these antipsychotic agents on  $\text{Na}^+$  transport in frog skin is mediated by distinct signaling mechanisms.

**Key words:** frog skin, transepithelial  $\text{Na}^+$  transport, haloperidol, chlorpromazine.

Кожа амфибий и другие изолированные эпителиальные системы являются классическими модельными объектами для исследования механизмов транспорта ионов через биологические мембраны. По способности к транспорту электролитов и реакции на некоторые гормоны кожа и мочевой пузырь амфибий сходны с дистальными отделами почечных канальцев, что позволяет использовать данные, получаемые на этих объектах, для выяснения механизмов транспорта воды и ионов в клетках почки [1]. Транспорт  $\text{Na}^+$  в эпителиальных тканях представляет собой сложную, многокомпонентную систему, в работе которой принимают участие  $\text{Na}^+$ -транспортирующие белки и сигнальные каскады, локализованные в различных мембранах клетки. Белковые компоненты этой системы являются мишенью для действия широкого спектра гормонов и фармакологических агентов.

Нейролептики – лекарственные средства различной химической природы, подавляющие специфические проявления психозов, способные оказывать транквилизирующее и седативное действие. Эти лекарственные средства нашли широкое применение в качестве антипсихотических, миорелаксирующих, седативных средств, а также для лечения шизофрении и других психических заболеваний [2]. Нейролептики принято разделять на две группы: типичные (классические) нейролептики (производные фенотиазина, тиоксантена, бутирофенона и дифенилбутилпиперидина) и атипичные нейролептики (производные дибензодиазепина, g-карболина и бензамиды) [2]. Известно, что все антипсихотические агенты обладают высокой нейротоксичностью и большим числом побочных эффектов, таких как гипотония, снижение тепловой чувствительности и значительное увеличение веса [2, 3]. Однако механизмы действия нейролептиков изучены недостаточно полно. Влияние же нейролептиков на трансэпителиальный транспорт  $\text{Na}^+$  практически не исследовалось. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать влияние различных антипсихотических агентов на трансэпителиальный транспорт  $\text{Na}^+$  в коже лягушки. В экспериментах использовали типичные антипсихотические средства – нейролептик фенотиазинового ряда хлорпромазин (аминазин) и один из наиболее сильных нейролептиков, производное бутирофенона – галоперидол.