

UDC 535.333; 539.2

ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ГАММА-РЕЗОНАНСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ (ГРС) СВЯЗЫВАНИЯ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА С РАСТИТЕЛЬНЫМИ МЕЛАНИНАМИ

М.А. Рамазанов, Р.М. Багиров, О.Ш. Багирова, Г.А. Турабова

Бакинский Государственный Университет
rafiqbagirov@list.ru

Резюме: Исследовано методом гамма-резонансной спектроскопии (ГРС) комплексообразование ионов железа с синтетическим L-ДОФА-меланином и растительными меланинами, выделенными из кожуры плодов черного винограда, бузины черной и плюща обыкновенного. Установлено, что растительные 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 указывает, что часть координационных центров в меланине обособлена. 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 радиопротекторных свойств.

Ключевые слова: меланин, гамма-резонансная спектроскопия, комплексообразование с ионом железа.

Меланины – широко распространенные в животном, растительном и микробном мире темноокрашенные пигменты полимерной природы. Они образуются в результате окислительной полимеризации тирозина, диоксифенилаланина или катехоламинов на белковой матрице. К настоящему времени получен ряд важных данных о физико-химических свойствах и биологической активности (радиопротекторные, антиоксидантные, противоопухлевые, электретные, полупроводниковые, электронно- и ионно-обменные, каталитические и т.д.) благодаря которому они стали объектом пристального внимания широких кругов исследователей [1].

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 частности, от радиации. Наблюдения в зоне катастрофы Чернобыльской АЭС и Семипалатинского ядерного полигона показали, что темнопигментированные насекомые и микроорганизмы проявляют большую устойчивость к поражающему воздействию ионизирующего излучения. На четвертом энергоблоке Чернобыльской АЭС были обнаружены темнопигментированные грибы, которые меланин не просто защищает от радиации, но даже помогает им перерабатывать её в энергию. Семена, имеющие меланизированные покровные ткани, в значительно меньшей степени подвергались поражающим воздействиям радиоизлучений. Механизм защитного действия меланинов до конца неясен. Понятно, что одним экранированием трудно или невозможно объяснить его. Высказано предположение, что в случае меланинов животного происхождения их антиоксидантная и радиопротекторная активность связана, в первую очередь, с хелатированием 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 хелатообразования ионов железа с меланинами, выделенными из кожуры плодов черного винограда (PM1), бузины черной (PM2) и плюща обыкновенного (PM3).

Растительные меланины выделены методом щелочной экстракции по ранее описанной методике с небольшой модификацией [3]. Комплексные соединения ионов железа с растительными меланинами получали путем инкубирования их в растворе $^{57}\text{FeCl}_3$ и $^{57}\text{FeCl}_2$. Раствор $^{57}\text{FeCl}_3$ получали растворением металлического $\alpha\text{-}^{57}\text{Fe}$ («Изотоп», Россия) в концентрированной HCl, с последующим осаждением аммиаком гидроокиси и растворением последней в HCl с доведением pH до 2,1. $^{57}\text{FeCl}_2$ получали восстановлением растворов $^{57}\text{FeCl}_3$ (pH 2,1) избытком аскорбиновой кислоты с последующим подщелачиванием раствором NaOH до pH 5,4. Концентрацию ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли спектрофотометрически, используя в качестве индикатора 0-фенотролин и роданид, соответственно. Доля ионов Fe^{3+} в растворе $^{57}\text{FeCl}_2$ не превышала 1% от общего количества ионов железа.

Изучение комплексообразования ионов Fe^{3+} с меланинами вызвало определенные трудности, поскольку меланины устойчивы только в области слабокислой среды (pH>5,0), а соли Fe^{3+} устойчивы по отношению к гидролизу в сильнокислых растворах (pH ≤ 2,5). В связи с этим взаимодействие ионов Fe^{3+} изучалось только с синтетическим L-ДОФА-меланином, устойчивым и в области низких pH. Взаимодействие ионов Fe^{2+} изучалось со всеми видами меланинов при слабокислых средах (pH<5). Гамма-резонансные (ГР) спектры изученных образцов регистрировали на установке MS-2001, работающей в режиме постоянных ускорений. Источником резонансных гамма-квантов служил изотоп ^{57}Co в матрице Cr.

Таблица 1

Параметры ГР-спектров замороженных растворов изученных образцов при 80 К (А-исходный раствор, В – супернатант после осаждения, С – комплекс (осадок))

	Образцы	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	$V_{\text{эф.}}$, Гл	ИС, мм/с	КР, мм/с	$V_{\text{эф.}}$, Гл
$^{57}\text{FeCl}_3 + \text{L-ДОФА-меланин}$, pH 2,1											
1	А	-	-	0,31	0,84	-	-	-	-	-	-
2	В	0,40	3,17	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	-	-	0,55	0,98	0,62	0,15	50,8	0,58	0,32	55,3
$^{57}\text{FeCl}_2 + \text{L-ДОФА-меланин}$, pH 5,4											
1	А	1,35	3,24	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,40	2,96	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,32	3,14	0,54	0,97	0,58	0,09	50,8	0,59	0,19	55,2
$^{57}\text{FeCl}_2 + \text{PM1}$, pH 5,6											
1	А	1,37	3,35	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В	1,36	3,31	-	-	-	-	-	-	-	-
3	С	1,34	3,21	0,56	0,83	0,58	0,14	50,2	0,51	0,14	55,5

$^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM2}$, pH 5,6											
1	A	1,37	1,35	-	-	-	-	-	-	-	-
2	B	1,32	3,31	-	-	-	-	-	-	-	-
3	C	1,33	3,24	0,46	0,75	0,40	0,13	50,2	0,33	0,18	55,1
$^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM3}$, pH 5,6											
1	A	1,37	3,35	-	-	-	-	-	-	-	-
2	B	1,31	3,32	-	-	-	-	-	-	-	-
3	C	1,30	3,20	0,46	0,73	0,40	0,12	50,5	0,35	0,21	55,1

Параметры ГР-спектров замороженных растворов изученных образцов при температуре 80К представлены в табл.1. На рис.1 приведены ГР-спектры системы $^{57}\text{FeCl}_3+\text{L-ДОФА-меланин}$. Исходный раствор $^{57}\text{FeCl}_3$ имеет сильно уширенный релаксационный спектр, характерный для ионов Fe^{3+} во льду [4]. Спектр супернатанта резко отличается от исходного, это четкий дублетный ГР-спектр с параметрами, характерными для ионов Fe^{2+} , что указывает на восстановление ионов железа, оставшегося в растворе, до Fe^{2+} . Осадок (комплекс Fe с L-ДОФА-меланин) имеет весьма сложный ГР-спектр, состоящий, по крайней мере, из трех парциальных спектров: центрального парамагнитного дублета ($\text{Fe}^{3+}(1)$) с параметрами для высокоспиновых (ВС) соединений Fe^{3+} и двух размытых секстетных спектров ($\text{Fe}^{3+}(2)$ и $\text{Fe}^{3+}(3)$), также характерных для соединений Fe^{3+} .

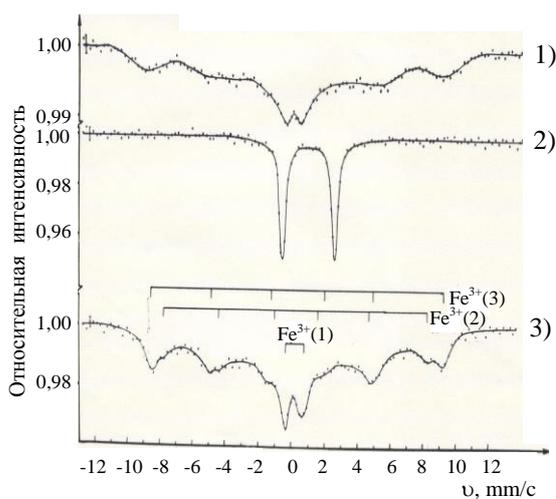


Рис.1 ГР-спектры изученных образцов $^{57}\text{FeCl}_3+\text{L-ДОФА-меланин}$ при 80 К.
 1) Исходный раствор $^{57}\text{FeCl}_3$;
 2) Супернатант после осаждения;
 3) Комплекс $^{57}\text{FeCl}_3+\text{L-ДОФА-меланин}$

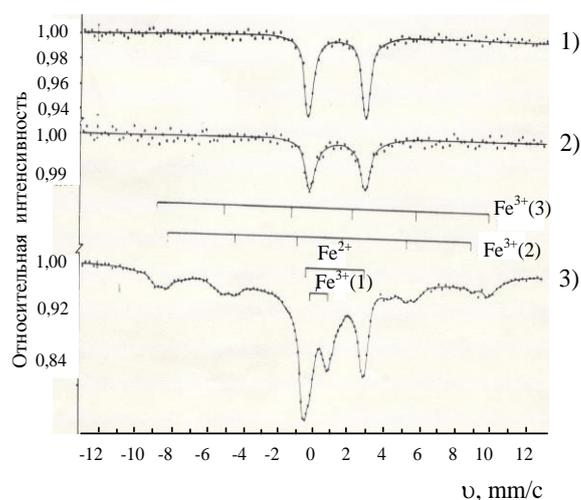


Рис.2 ГР-спектры изученных образцов $^{57}\text{FeCl}_2+\text{L-ДОФА-меланин}$ при 80 К.
 1) Исходный раствор $^{57}\text{FeCl}_2$;
 2) Супернатант после осаждения;
 3) Комплекс $^{57}\text{FeCl}_2+\text{L-ДОФА-меланин}$

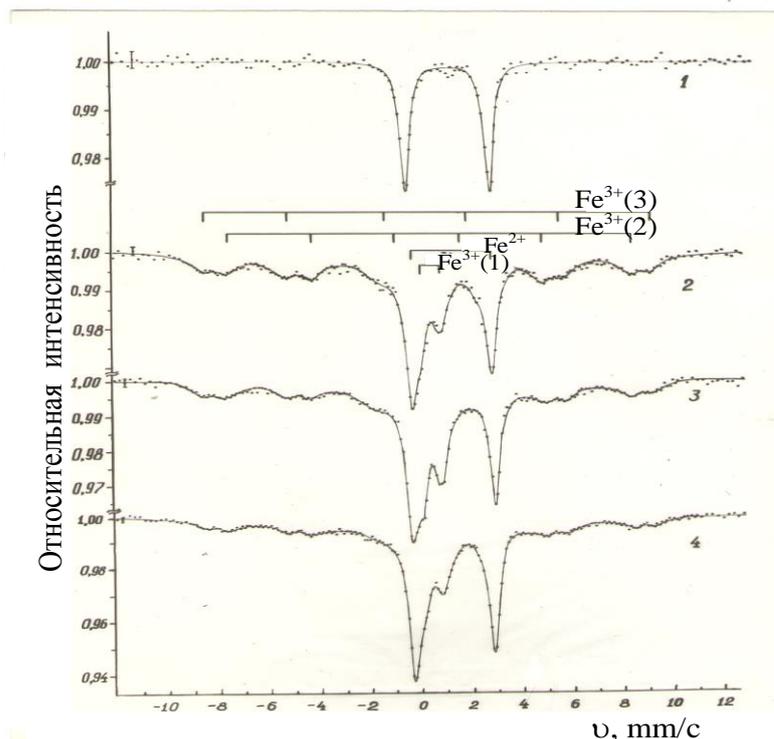


Рис.3. ГР-спектры изученных образцов $^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM}$ при 80 К. 1) Исходный раствор $^{57}\text{FeCl}_2$; 2) $^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM}(1)$; 3) $^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM}(2)$; 4) $^{57}\text{FeCl}_2+\text{PM}(3)$.

ГР-спектры при 80 К системы $^{57}\text{FeCl}_2+\text{L-ДОФА-меланин}$, полученные при pH 5,6 представлены на рис.2. Как видно из рис.2 и табл.1, ГР-спектры исходного раствора и супернатанта идентичны, по форме – это четкий дублет с параметрами, характерными для аквакомплексов Fe^{2+} . Осадок имеет сложный ГР-спектр, состоящий, по крайней мере, из четырех парциальных спектров: двух дублетов и двух секстетов с уширенными линиями. Его можно представить как комбинацию суммарного спектра осадка, полученного при взаимодействии Fe^{3+} с L-ДОФА-меланином при pH 2,1, и дублетного спектра ВС соединений Fe^{2+} . Другими словами, в случае системы $^{57}\text{FeCl}_2+\text{L-ДОФА-меланин}$ ионы железа в комплексе находятся как в форме Fe^{3+} , так и Fe^{2+} . Таким образом, L-ДОФА-меланин может проявлять по отношению к ионам железа либо окислительные, либо восстановительные свойства в зависимости от состава подсистемы ионов железа и pH среды. Аналогичные картины наблюдались в ГР-спектрах систем $^{57}\text{FeCl}_2+\text{растительные меланины}$ (рис.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]. Это свидетельствует о том, что исследованные нами осадки не являются механической смесью меланинов с исходным раствором или окислами и гидроокислами ионов железа, а являются комплексными соединениями ионов железа с изученными меланинами.

Таким образом, меланины растительного происхождения способны образовывать комплексы с ионами железа как в его двух, так и в трехвалентном состоянии, причем, при взаимодействии с ионами Fe^{2+} меланины их частично окисляют до Fe^{3+} неактивного в прооксидантном отношении и помимо ионов Fe^{2+} связывают последние. Значения параметров всех парциальных ГР-спектров указывают на октаэдрическое лигандное

окружение ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} в комплексах. Следовательно, по отношению к ионам железа меланины выступают как лиганды слабого поля.

Одновременное присутствие магнитной и дублетной парамагнитных компонент в ГР-спектрах, по видимому, связано с неоднородным распределением железосвязывающих центров в полимере меланина.

Основная часть координированных ионов Fe^{3+} расположена достаточно близко друг к другу (например они входят в состав полиядерных ($n \geq 2$) кластеров) и, благодаря быстрой релаксации, обусловленной эффективным спин-спиновым взаимодействием, наблюдаются дублетные парциальные ГР-спектры. Наличие магнитных релаксационных спектров указывает на то, что часть координирующих центров в меланине обособлена. Другими словами, в случае достаточно разделенных в пространстве ионов Fe^{3+} спин-спиновое взаимодействие сильно ослабится. При низких температурах также будут подавлены спин-решеточные релаксации и для таких структур будут наблюдаться релаксационные парциальные ГР-спектры с размытой сверхтонкой структурой (СТС).

Меланины являются сложным полимерным образованием, состоящим из мономерных единиц различной структуры. Они содержат орто-гидрохиноидные, орто-хиноидные, amino-, имино- и карбоксильные группы каждая из которых может участвовать в связывании металлом полимером. Секстет с полем 55 Тл соответствует ионам Fe^{3+} , связанным с карбоксильными группами, секстет с меньшим полем (~50 Тл) соответствует структурам, где в координации с Fe^{3+} наряду с COO^- - группами участвуют также amino- или имино группы меланина. Молекулы воды, входящие в состав полимеров, также могут участвовать в координации с ионами железа. Ионы Fe^{2+} образуют с меланинами моноядерные комплексы, при этом центры связывания достаточно удалены друг от друга.

Исходя из полученных данных можно полагать, что способность растительных меланинов эффективно связывать прооксидантные ионы Fe^{2+} может являться одним из возможных механизмов их антиоксидантных и протекторных свойств.

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

Литература

1. Борщевская М.И., Васильева С.М. Развитие представления о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов. Вопросы медицинской химии – 1999, №1, с.5-16.
2. Донцов А.Е., Островский М.А. Антиоксидантная роль экранирующих пигментов глаза-меланинов и оммохромов и физико-химические механизмы их действия. – В кн. «Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты», М.: 2005, т.2, с.155-174.
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.
4. Фабричный П.Б., Похолок К.В.// Мессбауэровская спектроскопия и её применение для химической диагностики неорганических материалов. М.:МГУ, 2012, 142 с.

GAMMA-REZONANCE SPEKTROSCOPIC (GRS) STADY OF IRON IONS BINDING BY VEGETABLE MELANINS

M.A. Ramazanov, R.M. Bagirov, O.Sh. Bagirova, Q.A. Turabova

Baku State University
rafiqbagirov@list.ru

Abstract: Investigated by gamma-resonance spectroscopy (GRS) chelation of iron ions with synthetic L-DOPA-melanin and melanin isolated from the beans black grapes, heder helix and sambucus nigra. It is found that melanin effectively chelate iron ions in both its two and in the tri valent state. The main part of the coordinated ions Fe^{3+} ions are part of polynuclear ($n \geq 2$) clusters and with fast relaxation spin-spin interaction gives paramagnetic doublet GR-spectra. The presence of magnetic relaxation spectra indicates that part of the lokal points in melanin separated. The value of the parameters GR-spectra of the samples are characteristic of high-spin complex ions Fe^{2+} and Fe^{3+} with octahedral ligand environment. It is expected that the ability of vegetable melanins effectively bind prooxidant Fe^{2+} ions may be one of the possible mechanisms of their antioksidant and radioprotective properties.

Keywords: melanin, gamma-resonance spectroscopy, chelating with iron ions.

QAMMA-REZONANS SPEKTROSKOPİYASI (QRS) METODU DƏMİR İONLARININ BİTKİ MƏNŞƏLİ MELANİNLƏRLƏ BİRLƏŞMƏ ƏMƏLƏ GƏTİRMƏSİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ

M.Ə. Ramazanov, R.M. Bağırov, H.Ş. Bağırova, G.Ə. Turabova

Bakı Dövlət Universiteti
rafiqbagirov@list.ru

Xülasə: Qamma-rezonans spektroskopiyası (QRS) metodu ilə dəmir ionlarının sintetik L-DOFA-melanin, qara üzüm, qara kəndəlaş və daş sarmaşığı bitkilərinin meyvələrinin qabığından ayrılmış melaninlərlə kompleks birləşmə əmələ gətirməsi tədqiq edilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, bitki mənşəli melaninlər dəmir ionlarının həm iki, həm də üç valentli halı ilə effektiv surətdə helat əmələ gətirir. Koordinasiya rabitəsinə girən Fe^{3+} ionlarının əksər hissəsi çoxmərkəzli ($n \geq 2$) klasterlərin tərkibinə daxildir və güclü spin-spin qarşılıqlı təsiri hesabına yaranan relaksasiya nəticəsində belə strukturlar üçün paramagnet birləşmələrə xas olan dublet formalı QR-spektr müşahidə olunur. Relaksasiya təbiətli maqnit parçalanma formalı QR-spektrlərin müşahidə olunması onu göstərir ki, dəmir ionları ilə koordinasiyaya girən mərkəzlərin bir hissəsi bir-birindən təcrid olunmuş vəziyyətdə olur. Öyrənilən birləşmələrin QR-spektrlərinin parametrlərinin qiymətləri Fe^{2+} və Fe^{3+} ionlarının oktaedrik liqand əhatəli birləşmələri üçün xarakterikdirlər. Güman olunur ki, bitki mənşəli melaninlərin prooksidant Fe^{2+} ionları ilə effektiv surətdə birləşmə əmələ gətirməsi onların antioksidant və radioprotektor xassələrinin mexanizmlərindən biri ola bilər.

Açar sözlər: melanin, qamma-rezonans spektroskopiya, dəmir ionları ilə kompleksəmələ gətirmə.