

УДК 57.013:577.11

МЕЛАНИН ЛИШАЙНИКОВ *Cetraria islandica* И *Pseudevernia furfuracea*: ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

© 2020 А.Е. Рассабина¹, О.П. Гурьянов¹, Р.П. Бекетт², Ф.В. Минибаева^{1,3*}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук», 420111 Казань, Россия;
электронная почта: minibayeva@kibb.knc.ru

² School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, 3209 Scottsville, South Africa

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008 Казань, Россия

Поступила в редакцию 20.02.2020

После доработки 27.03.2020

Принята к публикации 30.03.2020

Лишайники, симбиотические фотосинтезирующие организмы, таллом которых образован грибом и водорослью/цианобактерией, обладают высокой стрессовой устойчивостью. Одним из компонентов эффективной защиты лишайников от действия неблагоприятных факторов среды является наличие уникальных метаболитов, в частности высокомолекулярных темных пигментов – меланинов. Химический состав и структурная организация меланинов лишайников остаются малоизученными. В настоящей работе проанализированы элементный состав, основные функциональные группы и физико-химические свойства меланина, экстрагированного из лишайников *Cetraria islandica* и *Pseudevernia furfuracea*. По соотношению C/N установлено, что данный пигмент относится к типу алломеланина. В структуре меланина выявлены функциональные группы, обеспечивающие его фотопротекторные и антиоксидантные свойства. Предполагается, что синтез меланина является одним из ключевых защитных механизмов, обеспечивающих выживание лишайников в условиях УФ-излучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: меланин, лишайник, ИК-спектроскопия, фотопротекторные свойства, антиоксидантная активность.

DOI: 10.31857/S0320972520050115

ВВЕДЕНИЕ

Лишайники являются своеобразной группой симбиотических фотосинтезирующих организмов, таллом которых образован двумя основными организмами – грибом (микобионт) и водорослью/цианобактерией (фотобионт). Взаимодействие фотобионта и микобионта в лишайниках обуславливает образование в них разнообразных вторичных метаболитов, таких как лишайниковые кислоты (в т.ч. усниновая и гирофоровая кислоты), катехины и полисахариды (в т.ч. лихенин) и другие. Синтез вторичных метаболитов в слоевищах лишайников является сложным процессом и зависит как от таксономической принадлежности лишайнизированного гриба, так и от факторов окружающей среды [1]. Такими факторами являются высота местности, колебания температуры, сезон года, а также гиперинсоляция – действие света высокой интен-

сивности и ультрафиолетового (УФ) облучения [2]. Пигментация верхней стороны слоевища лишайников действует как первая линия защиты для предотвращения УФ-индуцированного внутриклеточного повреждения. Особую роль в защите от светового стресса играют меланины.

Меланин представляет собой высокополимерный пигмент, содержащий фенольные и индольные группы. Меланин придает черную, коричневую, красную или рыжую окраску тканям различных живых организмов, включая человека. В зависимости от наличия тех или иных промежуточных метаболитов различают следующие основные типы меланинов: эумеланин, феомеланин, 1,8-дигидрокси-нафталин (DHN)-меланин, алломеланин, нейромеланин, пиомеланин и сепия меланин [3]. Такое многообразие обеспечивается различиями в химическом строении и элементном составе. Характерной особенностью алломеланина является то, что он практически не содержит азота и поэтому представляет собой полимер простых фенолов. Эумеланин содержит связанный азот и представляет собой полимер фенольных и индольных веществ [3].

Принятые сокращения: DHN – 1,8-дигидрокси-нафталин; DPPH – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил; УФ – ультрафиолет.

* Адресат для корреспонденции.

Известны два основных метаболических пути биосинтеза меланинов – шикиматный и ацетатно-малонатный [4]. Субстратом для синтеза эумеланина является аминокислота тирозин, которая с помощью тирозиназы превращается в L-3,4-диоксифенилаланин (L-DOPA), а затем в дофахинон (DOPA-quinone). Последующее окисление дофахинона приводит к получению различных мономеров: 5,6-дигидроксииндол-2-карбоновой кислоты (DHICA) и 5,6-дигидроксииндола (DHI). В результате полимеризации данных мономеров образуется эумеланин. Синтез алломеланина осуществляется преимущественно по ацетатно-малонатному пути, однако алломеланин содержит в своем составе мономер ацетат бензохинона, синтезированный по шикиматному пути [4, 5]. Сначала ацетил-КоА под воздействием фермента поликетидсинтазы превращается в 1,3,6,8-тетрагидроксиафталин, а затем в результате активности различных ферментов – в DHN. На данном этапе происходит полимеризация DHN-меланина и ацетат бензохинона с образованием алломеланина.

Ранее нами было проведено количественное определение меланинов *in vivo* путем измерения индекса меланизации (Browning reflectance index, BRI) таллома с использованием интегрирующей сферы и отражающего спектрометра. Было обнаружено, что лишайник *Cetraria islandica* характеризуется более высоким индексом меланизации (10,1) по сравнению с другими меланизируемыми лишайниками (4,4 – для *Lobaria pulmonaria* и 4,8 – для *Crocodia aurata*) [6]. До настоящего времени тип и физико-химические свойства меланина *C. islandica* не были изучены.

Протекторные свойства меланинов, особенно при действии на организмы света в диапазоне УФ и света высокой интенсивности, вызывают большой интерес исследователей к структуре этих полимеров [7, 8]. В настоящее время появляется информация о защитной роли меланинов в талломах лишайников при световом стрессе. Имеются сведения о том, что меланин, содержащийся в верхнем коровом слое лишайника, защищает фотобионт от разрушения при действии света высокой интенсивности [2]. Кроме того, меланины лишайников могут образовывать комплексы с различными металлами и полимерами, например хитином, который является компонентом клеточной стенки микобионта [9]. Показано, что в лишайнике *Trapelia involuta* присутствует эумеланин, который способен образовывать комплексы с ураном [10], а лишайник *Pseudephebe pubescens* способен накапливать целый ряд тяжелых металлов благодаря активным парамагнитным центрам меланина и

выживать в условиях интенсивной УФ радиации [9]. В отличие от меланинов человека [11, 12], грибов [13, 14], бактерий [15] и дрожжей [16], структура и физико-химические свойства меланинов лишайников изучены недостаточно. Морфологическая комплексность таллома лишайников, многообразие грибных и фотосинтезирующих симбионтов, переключение путей биосинтеза метаболитов в зависимости условий окружающей среды – все это обуславливает сложность изучения свойств меланинов лишайников. Настоящая работа посвящена анализу элементного состава, наличия функциональных групп, свето-поглощательной способности и антиоксидантной активности меланина лишайников *C. islandica* и *Pseudevernia furfuracea*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение меланина. В качестве объекта исследований использовали лишайники *C. islandica* и *P. furfuracea*, собранные в Айшинском лесничестве в окрестностях г. Казани и в окрестностях г. Ос, Норвегия. Таллом лишайников очищали от загрязнений и высушивали при температуре 40 °С в течение 10 мин. Навеску лишайника (4 г) измельчали в ступке до порошкообразного состояния с добавлением жидкого азота. Полученный порошок переносили в пробирку и добавляли 50 мл 2 М NaOH, pH 10,5. Растворимость в концентрированных растворах щелочей, а не в органических растворителях является одним из критериев отнесения пигментов к меланинам [17]. В предварительных экспериментах было установлено, что меланины не экстрагировались при добавлении воды, этилового спирта, ацетона и хлороформа. После 24-часовой инкубации смесь фильтровали, а затем центрифугировали («Hermle Z 36НК», Германия) при 15 000 g в течение 10 мин. Супернатант подкисляли добавлением 2 М HCl до pH 2,5, инкубировали 12 ч при комнатной температуре и затем повторно центрифугировали при 15 000 g в течение 10 мин. Полученный осадок промывали дистиллированной водой и последовательно очищали органическими растворителями (хлороформ, этилацетат и ацетон), а затем высушивали в сушильном шкафу при температуре 40 °С. Очищенный меланин представлял собой темно-коричневый порошок без посторонних включений. Выход продукта составлял ~10 % от теоретически возможного.

Качественные реакции на меланин. Для проведения качественных реакций был приготовлен 0,1%-ный раствор меланинов, выделенных из лишайников. К навеске меланина (0,001 г)

добавляли 1 мл дистиллированной воды и 50 мкл раствора NH_4OH . Проводили три качественные реакции с добавлением к раствору меланина 10% H_2O_2 , 0,5 М KMnO_4 и 1% FeCl_3 в соотношении 1 : 1 [18].

Элементный анализ меланина. Элементный состав меланинов (С, N, H, S) определяли с помощью анализатора EuroEA 3028-НТ-ОМ («Eurovector SpA», Италия) путем сжигания пробы в присутствии окислителя в токе инертного газа. Содержание металлов (металлы I, II и III групп) и неметаллов (P, S и Cl) оценено при помощи рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) [10] на энергодисперсионном флуоресцентном рентгеновском спектрометре EDX-800HS2 («Shimadzu», Япония). Для проведения количественных измерений и оценки полученных данных использовали программное обеспечение Callidus 4.1.

ИК-спектроскопия. Основные функциональные группы были проанализированы методом ИК-спектроскопии [10] с использованием спектрофотометра IR-Affinity1 («Shimadzu», Япония) в рабочем диапазоне 400–700 см^{-1} . Образец готовили методом прессования меланина с KBr. Анализ ИК-спектров меланинов осуществляли с помощью программного обеспечения OriginPro 8 и базы данных AIST:Spectral Database for Organic Compounds, SDBS.

УФ-спектроскопия. Спектры поглощения щелочного раствора меланина (25 мкг/мл в 0,1 М NaOH) регистрировали в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 2 мм на спектрофотометре UV-1900 («Shimadzu», Япония) в УФ и видимом диапазоне спектра (200–700 нм). На основании экспериментальных данных рассчитывали коэффициент цветности $E_{465/665}$ [12]. Для анализа полученных данных использовалось программное обеспечение UVProbe 2.70 [17].

Антиоксидантная активность. Антиоксидантная активность была измерена с использованием радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида («Sigma-Aldrich», Германия) (DPPH) [19, 20]. Меланин различной концентрации (0,5–3 мг/мл) растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO), затем 10 мкл полученного раствора добавляли к 1 мл 0,004% раствора DPPH в этаноле. Образцы

тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в темноте в течение 30 мин, после чего пурпурно-синяя окраска раствора менялась на малиновую. Поглощение раствора регистрировали спектрофотометрически («Shimadzu», Япония) при 517 нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 2 мм. В качестве стандартного соединения использовали галловую кислоту («Диаэм», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Качественные реакции показали, что щелочные растворы меланинов, экстрагированных из лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*, обесцвечивались в присутствии H_2O_2 , а в присутствии KMnO_4 изменяли окраску с коричневой на зеленую с последующим выпадением осадка (данные не представлены). Добавление FeCl_3 приводило к выпадению осадка, который растворялся в присутствии избытка FeCl_3 (данные не представлены). Такое поведение исследуемых пигментов характерно для меланинов и свидетельствует о присутствии в их структуре хиноидных и фенольных компонентов [4, 21, 22].

Анализ элементного состава показал, что меланины в лишайниках *C. islandica* и *P. furfuracea* содержат в среднем 42% С, 6% Н и <2% N (табл. 1). Низкое содержание N и соотношение С/N равное 34 и 35 для *C. islandica* и *P. furfuracea* соответственно указывает на то, что данные пигменты относятся к типу алломеланин.

Нами установлено, что исследуемые меланины лишайников содержат в небольшом количестве S, K и Fe. Такие элементы, как Na и Ca, отсутствуют в меланине *C. islandica*, Al и Cu отсутствуют в меланине *P. furfuracea*. Наличие металла Zn не было обнаружено в меланинах обоих лишайников (табл. 1). Ранее [9, 17] было показано, что меланины лишайников *Umbilicaria africana*, *P. Pubescens* и *Usnea sphacelata* также имеют в своем составе данные элементы.

Результаты ИК-спектроскопии свидетельствуют о наличии разнообразных структурных групп в составе алломеланина. Так, в алломеланине, выделенном из *C. islandica*, наблюдается

Таблица 1. Процентное содержание С, Н, N и прочих элементов в меланинах лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*

Вид лишайника	Элементный состав, масс. %				Элементы, обнаруженные методом РФА, %										
	С	Н	N	С/N	Na	Al	Si	S	Cl	K	Ca	Fe	Cu	Zn	
<i>C. islandica</i>	41,0	6,5	1,3	35,2	–	2,7	2,7	1,0	85,7	1,9	0,1	4,1	2,0	–	
<i>P. furfuracea</i>	42,1	6,3	1,2	34,4	18,1	–	0,3	3,0	76,5	0,7	0,8	0,6	–	–	

заметная интенсивность пика в области 1020 см^{-1} (рис. 1, а и б), который относится к валентным колебаниям (C–O–C)-групп [23, 24].

Напротив, в области $1500\text{--}1630\text{ см}^{-1}$ наблюдается небольшая интенсивность пиков, это может быть связано с низким содержанием ароматических групп (C=C, C=N, C=O) либо с отсутствием (N–H) деформационных колебаний в алломеланине. Поглощения при 1720 см^{-1} обнаружено не было, что может свидетельствовать об отсутствии свободных карбоксильных групп [23]. В области $2340\text{--}2360\text{ см}^{-1}$ наблюдались валентные колебания (C–C) тройных связей, а в области $2880\text{--}2940\text{ см}^{-1}$ – валентные колебания алифатических (C–H)-групп (рис. 1, а и б). В обоих образцах меланинов присутствует широкая полоса в области 3350 см^{-1} , которая является характеристикой меланина, связанная с валентными колебаниями OH-групп [23, 24].

Анализ электронных спектров меланинов лишайников с помощью УФ-спектроскопии выявил плавное снижение поглощения с увеличением длины волны в области $240\text{--}700\text{ нм}$ (рис. 2).

Одномерная характеристика УФ-видимого поглощения меланинов по параметру E_{465}/E_{650} ,

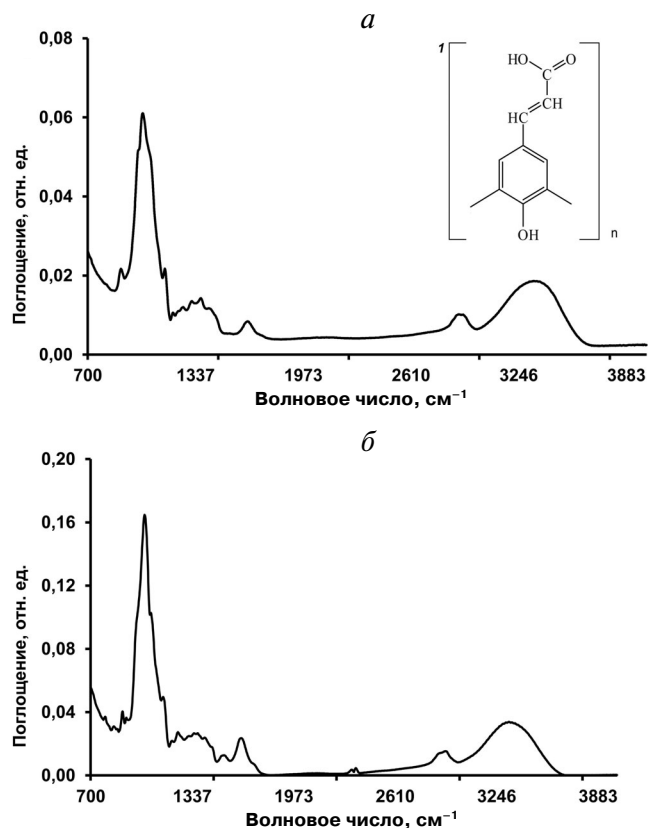


Рис. 1. ИК-спектры меланинов, выделенных из лишайников *C. islandica* (а) и *P. furfuracea* (б). Во вставке показана химическая структура мономера алломеланина (I)

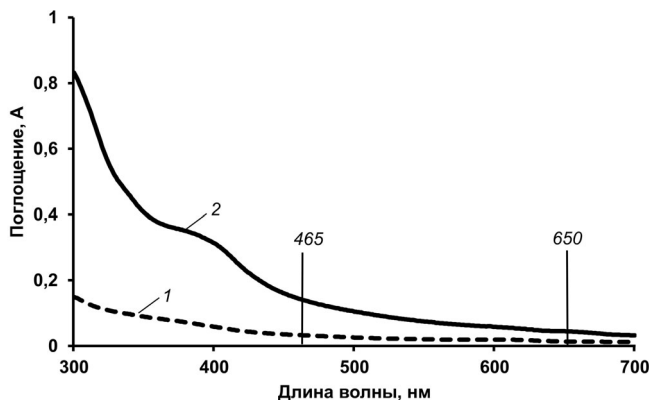


Рис. 2. УФ-спектры поглощения меланинов, выделенных из *C. islandica* (1) и *P. furfuracea* (2). Вертикальными линиями обозначены длины волн 465 и 650 нм

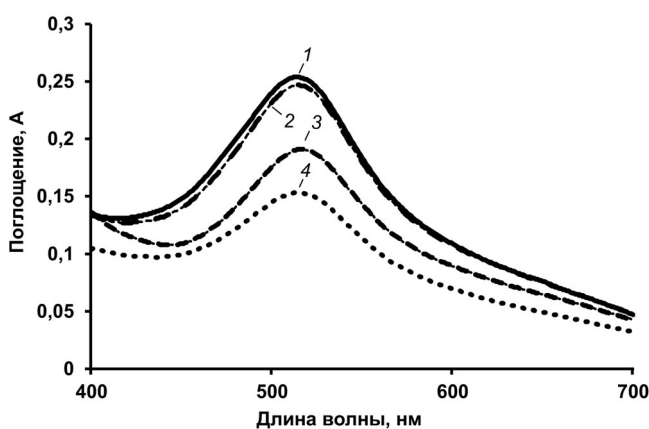


Рис. 3. Спектр поглощения спиртового раствора стабильного радикала DPPH (1) после 30-минутного инкубирования DPPH с меланинами, выделенными из *P. furfuracea* (2) и *C. islandica* (3), галловая кислота (4)

свидетельствующему о соотношении алифатических и ароматических структур [7, 21, 25], составила 3,42 – для меланина из *P. furfuracea* и 2,28 – для меланина из *C. islandica*.

Анализ антиоксидантной активности с использованием радикала DPPH показал, что коэффициент IC_{50} составил 405 и 456 мкг/мл для меланинов из *C. islandica* и *P. furfuracea* соответственно (рис 3). Для сравнения IC_{50} для аскорбиновой кислоты составил 34 мкг/мл, а для галловой кислоты 128 мкг/мл. Данные указывают на то, что меланины проявляют более низкую антиоксидантную активность по сравнению с кислотами органического происхождения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Среди разнообразных вторичных метаболитов лишайников традиционно большое внима-

ние уделяется изучению свойств и активности уникальных соединений, в частности лишайниковых веществ, например, париетина, атранорина, гирофоровой и усниновой кислот, полисахаридов, в т.ч. лишенина [26]. Достаточно подробно исследован химический состав многих метаболитов лишайника *C. islandica* [27]. Информация о структуре, физико-химических свойствах и особенностях меланинов лишайников крайне ограничена. Известно, что меланины имеют сложную гетероатомную структуру и способны проявлять антиоксидантные, сорбционные, фотопротекторные и другие свойства [17]. В настоящей работе проанализирован элементный состав, изучены структурные группы и физико-химические свойства меланинов, экстрагированных из лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*. Эти физико-химические свойства способствуют проявлению защитных свойств пигмента.

На начальном этапе исследования принадлежность экстрагированных пигментов к меланинам была подтверждена с помощью качественных реакций по обесцвечиванию в присутствии H_2O_2 , а также изменению окраски с коричневой на зеленую с последующим выпадением осадка в присутствии сильного окислителя $KMnO_4$ (данные не представлены). При добавлении $FeCl_3$ наблюдалось выпадение осадка, который растворялся в избытке $FeCl_3$, такие результаты предполагают наличие фенольных фрагментов в структуре полимера.

Элементный состав меланина является важным критерием, определяющим его тип, сорбционные свойства и наличие реакционных центров. Элементный состав меланина зависит от видовой принадлежности лишайника, его возраста, субстрата произрастания, условий обитания [28] и типа фотобионта. Лишайники *C. islandica* и *P. furfuracea* являются представителями напочвенных лишайников и обладают вы-

сокой сорбционной емкостью в отношении многих ионов металлов. Меланины могут легко связывать потенциально токсичные металлы в лишайниках, благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных функциональных групп [29]. Металлы проникают через коровый слой [30]. Данный слой, образующий внешний каркас лишайника, состоит из хитин-глюкан-меланинового комплекса. Жесткий каркас формируется благодаря взаимодействию хитин-меланинового комплекса микобионта с Ca и Si [31, 32]. Это объясняет наличие Ca и Si в составе меланинов (табл. 1). Накопление в меланине таких элементов, как Al, Fe, Cu и S (табл. 1), может быть связано со степенью загрязнения воздуха [9, 30]. Соотношение C/N определяет тип синтезируемого меланина. Так, в алломеланинах из *C. islandica* и *P. furfuracea* соотношение C/N составило 34 и 35 соответственно (табл. 1).

Синтез меланинов – сложный многостадийный процесс, проходящий по разнообразным путям (см. Введение). Алломеланин синтезируется по ацетатно-малонатному пути и образуется в результате полимеризации простых фенолов [7]. Анализ характеристических полос поглощения ИК-спектров меланинов, выделенных из лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*, подтвердил наличие ароматических групп в составе алломеланинов. С помощью базы данных AIST: Spectral Database for Organic Compounds (SDBS) было выявлено, что колебательные полосы определенных групп атомов меланинов обоих лишайников имеют приблизительно одинаковые частоты (табл. 2) и мало зависят от характера окружающих их групп. Данные указывают на незначительное содержание алифатических фрагментов и повышенное содержание ароматических групп. Значение пиков ИК-спектров меланинов, выделенных из лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*, близко к таковым для алломеланина гриба чаги *Inonotus obliquus* [17].

Таблица 2. Области поглощения колебаний некоторых связей ИК-спектров меланина

Волновые числа, cm^{-1}	Функциональные группы
900	внеплоскостные деформационные колебания (C–H)-групп
1020–1040	валентные колебания C–O-групп; симметричные валентные колебания (C–O–C)-групп
1150–1250	плоскостные деформационные колебания OH-(C=C, C=N, C=O)-групп
1300–1380	плоскостные деформационные колебания OH-групп
1525	валентные колебания C=C ароматического кольца
2340–2360	валентные колебания (C–C) тройных связей
2880–2940	валентное колебание алифатических CH_2 -, CH_3 -групп
3325	валентные колебания фенольных OH-групп

Меланины обладают фотопротекторными свойствами [7]. Значительное снижение поглощения в диапазоне 230–650 нм свидетельствует о том, что алломеланины лишайников поглощают световое излучение как в УФ, так и в видимой областях спектра (рис. 2). Поглощение света меланином обеспечивает защиту кортекса лишайника от УФ-индуцированного стресса и позволяет находиться под облучением продолжительное время. В частности показано, что пигментированные грибы *Cryomyces antarcticus* и *Cryomyces minteri* проявляют высокую устойчивость к УФ-облучению (280–360 нм), выдерживая его в течение нескольких часов, тогда как непигментированные дрожжевые клетки *Saccharomyces pastorianus* погибают через 30 мин облучения [7].

Меланины являются активными акцепторами и донорами электронов и обладают антиоксидантной активностью [33]. В настоящей работе была выявлена антиоксидантная активность меланинов, выделенных из лишайников *C. islandica* и *P. furfuracea*, по восстановлению радикала DPPH (рис. 3). Можно полагать, что антиоксидантная активность алломеланинов лишайников обусловлена их фенольной природой и наличием в структуре алифатических фрагментов. Фенольные соединения в ходе окислительных процессов образуют феноксильные радикалы, которые обладают меньшей реакционной активностью, чем другие кислородные радикалы, и способны прерывать цепной механизм окисления [32, 33]. Таким образом, меланины вносят вклад в защиту таллома лишайников от окислительного стресса, индуцированного в том числе воздействием светового стресса.

В настоящей работе впервые в лишайниках *C. islandica* и *P. furfuracea* идентифицирован тип меланина как алломеланин. Обнаруженные в структуре меланина функциональные группы, в том числе ОН-группы, обеспечивают его фотопротекторные и антиоксидантные свойства. Анализ физико-химических свойств исследованных меланинов позволяет полагать, что синтез меланина является одним из ключевых защитных механизмов, обеспечивающих выживание лишайников в условиях УФ-излучения.

Финансирование. Работа проводилась в рамках выполнения государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН (экстракция, элементный анализ, антиоксидантная активность), частично при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-14-00198, спектральный анализ) и частично Программы Повышения Конкурентоспособности КФУ (анализ химического стандарта).

Благодарности. Авторы благодарны профессору Кнут Солхаг (Университет Наук о Жизни, Ос, Норвегия) за помощь в сборе лишайников, а также В.М. Бабаеву и Д.А. Файзуллину (ФИЦ КазНЦ РАН) за методическую помощь в проведении экспериментов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бязров Л. Г. (2016) Вторичные метаболиты лишайников грибов как фармацевтический потенциал, *Успехи медицинской микологии*, **16**, 249–254.
2. Nybakken, L., Solhaug, K. A., Bilger, W., and Gauslaa, Y. (2004) The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats, *Oecologia*, **140**, 211–216, doi: 10.1007/s00442-004-1583-6.
3. Plonka, P. M., and Grabacka, M. (2006) Melanin synthesis in microorganisms – biotechnological and medical aspects, *Acta Biochim. Pol.*, **53**, 429–443, doi: 10.18388/abp.2006.3314.
4. Wong, H. J., Mohamad-Fauzi, N., Rizman-Idid, M., Convey, P., and Alias, S. A. (2018) Protective mechanisms and responses of micro-fungi towards ultraviolet-induced cellular damage, *Polar Science*, **20**, 19–34, doi: 10.1016/j.polar.2018.10.001.
5. Bell, A. A., and Wheeler, M. H. (1986) Biosynthesis and functions of fungal melanins, *Phytopathology*, **24**, 411–451, doi: 10.1146/annurev.py.24.090186.002211.
6. Beckett, R. P., Solhaug, K. A., Gauslaa, Y., and Minibayeva, F. V. (2019) Improved photoprotection in melanized lichens is a result of fungal solar radiation screening rather than photobiont acclimation, *Lichenologist*, **51**, 483–491, doi: 10.1017/S0024282919000276.
7. Гесслер Н. Н., Егорова А. С., Белозерская Т. А. (2014) Меланиновые пигменты грибов в экстремальных условиях существования, *Прикладная биохимия и микробиология*, **50**, 125–134.
8. Тюкавкина Н. А., Зурабян С. Э., Белобородов В. Л. (2008) *Органическая химия: учебник для вузов*, Дрофа, Москва.
9. Багманян И. А., Мямин В. Е., Гигиняк Ю. Г., Бородин О. И., Курченко В. П. (2004) Биохимическая фармакология грибовных меланинов, *Успехи медицинской микологии*, **3**, 156–158.
10. Purvis, O. W., Bailey, E. H., McLean, J., and Kasama, T. (2004) Uranium biosorption by the lichen *Trapelia involuta* at a uranium mine, *Geomicrobiol. J.*, **21**, 159–167, doi: 10.1080/01490450490275398.
11. Schroeder, R. L., Double, K. L., and Gerber, J. P. (2015) Using *Sepia melanin* as a PD model to describe the binding characteristics of neuromelanin, *J. Chem. Neuroanat.*, **64–65**, 20–32, doi: 10.1016/j.jchemneu.2015.02.001.
12. Wakamatsu, K., Fujikawa, K., Zucca, F. A., Zecca, L., and Ito, S. (2003) The structure of neuromelanin as studied by chemical degradative methods, *J. Neurochem.*, **86**, 1015–1023, doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01917.x.

13. Eisenman, H. C., and Casadevall, A. (2012) Synthesis and assembly of fungal melanin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **93**, 931-940, doi: 10.1007/s00253-011-3777-2.
14. Babitskaya, V. G., Scherba, V. V., Ikonnikova, N. V., Bisko, N. A., and Mitropolskaya, N. Y. (2002) Melanin complex from medicinal mushroom *Inonotus obliquus*, *Int. J. Med. Mushrooms*, **4**, 139-145.
15. Tarangini, K., and Mishra, S. (2013) Production, characterization and analysis of melanin from isolated marine *Pseudomonas* sp. using vegetable waste, *Res. J. Eng. Sci.*, **2**, 40-46.
16. Таширев А. Б., Романовская В. А., Рокитко П. В., Матвеева Н. А., Шилин С. О., Таширева А. А. (2012) Синтез меланиновых пигментов антарктическими чёрными дрожжами, *Микробиол. Журн.*, **74**, 2-8.
17. Сушинская Н. В., Курченко В. П. (2006) Меланины трутовых грибов, *Труды БГУ*, **1**, 147-158.
18. Агаджанян А. Е., Асагурян Р. А., Амбарцумян А., Саргисян Л. Б., Овсепян А. С., Варданян А. А., Сагриян А. С. (2011) Микробиологическое получение водорастворимого меланина и изучение его физико-химических свойств, *Прикладная биохимия и микробиология*, **47**, 551-557.
19. Manivasagan, P., Venkatesan, J., Senthilkumar, K., Sivakumar, K., and Kim, S. K. (2013) Isolation and characterization of biologically active melanin from *Actinobolus* sp. MA-32, *Int. J. Biol. Macromol.*, **58**, 263-274, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.041.
20. Wang, L. F., and Rhim, J. W. (2019) Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink, *LWT*, **99**, 17-23, doi: 10.1016/j.lwt.2018.09.033.
21. Chen, J., Wang, C., Shu, C., Zhu, M., and Zhou, E. (2015) Isolation and characterization of a melanin from *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rice sheath blight, *Eur. J. Plant. Pathol.*, **142**, 281-290, doi: 10.1007/s10658-015-0612-0.
22. Сильверштейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. (2012) *Спектрометрическая идентификация органических соединений*, Бином, Москва.
23. Harki, E., Talou, T., and Dargent, R. (1997) Purification, characterization and analysis of melanin extracted from *Tuber melanosporum* Vitt., *Food Chemistry*, **58**, 69-73, doi: 10.1016/S0308-8146(96)00215-4.
24. Mbonyirivuze, A., Mwakikunga, B., Dhlamini, S. M., and Maaza, M. (2015) Fourier transform infrared spectroscopy for *Sepia melanin*, *Phys. Mater. Chem.*, **3**, 25-29, doi: 10.12691/pmc-3-2-2.
25. Solhaug, K. A., and Gauslaa, Y. (2001) Fungal melanins as a sun screen for symbiotic green algae in the lichen *Lobaria pulmonaria*, *Oecologia*, **126**, 462-471, doi: 10.1007/s004420000541.
26. Подтероб А. П. (2008) Химический состав лишайников и их медицинское применение, *Хим. Фарм. Журн.*, **42**, 32-38.
27. Книга О. П., Тихонова Г. А., Хижан Е. И., Николаевский А. Н. (2011) Действие фенольных антиоксидантов при окислении веществ в модельных водно-липидных системах, *Буллеровские сообщения*, **27**, 57-62.
28. Блинова К. Ф., Борисова Н. А., Гортинский Г. Б. (1990) *Ботанико-фармакогностический словарь*, Высшая школа, Москва.
29. Mafole, T. C., Solhaug, K. A., Minibayeva, F. V., and Beckett, R. P. (2019) Occurrence and possible roles of melanic pigments in lichenized ascomycetes, *Fungal Biol. Rev.*, **33**, 159-165, doi: 10.1016/j.fbr.2018.10.002.
30. Курченко В. П., Багманян И. А., Мямин В. Е., Бородин О. И., Гигиняк Ю. Г. (2016) Тяжелые металлы в кустистых лишайниках как индикатор атмосферного переноса загрязняющих веществ в Антарктиде, *Труды БГУ*, **11**, 351-355.
31. Скрябин К. Г., Вихорева Г. А., Варламов В. П. (2002) *Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение*, Наука, Москва.
32. Красногорская Н. Н., Клеттер Е. А., Сулейманова Р. Р., Журавлева С. Е. (2012) Анализ содержания тяжелых металлов и соединений серы в лишайниках *Parmelia sulcata* в условиях городской среды, *Современные проблемы науки и образования*, **2**, 30-39.
33. Grossi, G. F., Durante, M., Gvalanella, G., Pugliese, M., and Mosse, I. (1998) Effects of melanin on high-LET radiation response of human epithelial cells, *Radiat. Environ. Biophys.*, **37**, 63-67, doi: 10.1007/s004110050094.

MELANIN OF LICHENS *Cetraria islandica* AND *Pseudevernia furfuracea*: STRUCTURAL FEATURES AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

A. E. Rassabina¹, O. P. Gurjanov¹, R. P. Beckett², and F. V. Minibayeva^{1,3*}

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 420111 Kazan, Russia; E-mail: minibayeva@kibb.knc.ru

² School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, 3209, Scottsville, South Africa

³ Kazan (Volga region) Federal University, 420008 Kazan, Russia

Received February 20, 2020

Revised March 27, 2020

Accepted March 30, 2020

Lichens are symbiotic photosynthesizing organisms with thalli formed by fungi and algae/cyanobacteria that possess high stress tolerance. One of the factors contributing to the lichen protection from harsh environmental conditions is the presence of unique metabolites, including high-molecular-weight dark pigments melanins. The chemical composition and structure of lichen melanins remain poorly studied. We analyzed the elemental composition, the main functional groups, and the physicochemical properties of melanin extracted from *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea* lichens. Based on the C/N ratio, this pigment is allomelanin. We also identified functional groups that provide photoprotective and antioxidant properties of melanin. Melanin synthesis might be an essential defense mechanism contributing to the survival of lichens under exposure to UV radiation.

Keywords: melanin, lichen, IR spectroscopy, photoprotection, antioxidant activity