

Биологията на свободните радикали е сравнително млада наука, основаваща се на свободно-радикалната органична химия. Дълго време радикалите са били разглеждани като части от молекулата без да се отчита разликата между понятията “свободни” и “свързани” радикали.

Интересът към свободно-радикалните реакции възниква през тридесетте години на XX век, когато е демонстрирано, че такива (радикални) реакции протичат в голям брой органични системи. Свободно-радикалната органична химия поставя важни теоретични проблеми и води до съществени за практиката индустриални резултати. Оформянето ѝ като наука е значително ускорено от развитието на стирол-бутадиеновия синтез на пластмаси и от последващото синтезиране на ценни пластмаси на основата на радикалната полимеризация на различни винилови мономери.

По дефиниция свободните радикали (CP) са структури, които съдържат нечетен брой електрони. Те могат да бъдат електронеутрални, или да притежават положителен или отрицателен електричен заряд.

Като пример за неутрален радикал може да се разглежда тиоловия радикал ($R-S\cdot$), който може да се получи или чрез откъсване на тиолите на водороден атом от някакъв органичен радикал :

$$Q\cdot + R-SH \rightarrow Q-H + R-S\cdot$$

или при едноелектронна редукция на дисулфидите :

$$RSSR + e^- \rightarrow [RSSR\cdot] \rightarrow 2 R-S\cdot$$

Горните две реакции отчасти са отговорни за протективното действие на тиолите и дисулфидите спрямо йонизиращата радиация (ИЛ). Радикалът, получен при откъсване на водороден атом от фенол, също е неутрален :

$$Ar-OH + Q\cdot \rightarrow Ar-O\cdot + Q-H$$

Витамин Е, α -токоферол и коензим Q претърпяват in vivo такова превръщане.

Радикали-катиони се получават в значителен брой случаи. Като пример за такъв (+) - зареден радикал може да се посочи 1,1'-диметил-4,4'-бипиридил. Някои пиридинилови радикали са толкова стабилни, че могат да бъдат изолирани и дори дестилирани (1-етил-4-карбометокси-пиридинил).

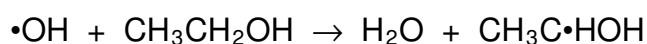
Радикалите-аниони са особено важни за биологията. Два примера, заслужаващи особен интерес, са супероксидния анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$) и хидратирания електрон (солватирания електрон - eaq).

Реактивоспособността на радикалите варира в широки граници и се влияе от температура (T°C) и концентрацията ([C]) на молекулите в тяхната околност.

При много ниски температури, дори радикали с много висока реактивоспособност могат да бъдат имобилизирани във високо-вискозни стъкла или кристали и могат да имат много продължителен живот. Именно на това се основава и изследването на различни системи за наличието и количеството в тях на свободни радикали чрез електронния спинов резонанс.

Но при T°C = 37 °C, радикалите се различават силно по реактивоспособността си. Някои от тях (например хлорният атом •Cl, или хидроксилният радикал •OH) са толкова енергични, че реагират почти със скоростта, с която се отблъскват от заобикалящите ги молекули. Тоест, почти 100 % от срещите им са ефективни.

Например, приведената по-долу реакция на •OH с етанола има бимолекулна скоростна константа от порядъка на 10^9 [mol⁻¹.s⁻¹] при 37 °C :



Много органични радикали, въпреки че са значително по-слабо реактивоспособни от •Cl или •OH, все пак реагират с бимолекулни скоростни константи от порядъка на 10

[mol

-1

.s

-1

]. Обикновено радикалите съществуват в много ниски концентрации - от порядъка на 10^{-4}

-4

до 10^{-9}

-9

мола. Срещат се, обаче, и радикали с необичайно висока стабилност. Ниската, но все пак измерима реактивоспособност дори на по-стабилните радикали може да има биологични последици. Например, радикалите, продуцирани при дишането, обикновено са свързани с локализирани ензими и коензими и възможността те да се "промъкнат" в околността и да причинят клетъчно увреждане е ограничена.

Един от първите поставени въпроси е : Продуцират ли се СР в клетките ? Известни са няколко типа процеси, при които се образуват радикали в живите системи :

1. Унивалентна редукция на кислорода.
2. Радиолиза.
3. Едноелектронен пренос от метални йони с променлива валентност към органични молекули.

В процеса на еволюцията, молекулният кислород (O_2) започва да играе роля сравнително късно - според някои автори едва преди около 1,5 млрд. години, след като се появяват синьо-зелените водорасли. Това са най-примитивните организми, способни на истинска фотосинтеза, при която светлинната енергия се използва за произвеждане на редуциращи еквиваленти от водата при едновременно отделяне на молекулен кислород. До този момент всички организми живеят в анаеробна среда. Насищането на атмосферата с кислород създава условия за появата на аеробен начин на живот, който успоредно с предимствата си носи и редица сериозни опасности.

Окислението на органичните съединения от молекулния кислород е основният източник на енергия за животните и човека

. За щастие, този окислителен процес не протича самопроизволно поради неговата висока активационна енергия. Например, за разкъсване на връзката $O-O$ в молекулата на O

2

са нужни 118 [kcal/mol]. Това обстоятелство, дължащо се на квантови ограничения, пречи на двувалентната редукция на кислорода и благоприятства

едновалентния път

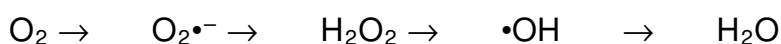
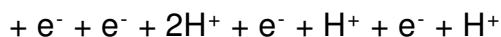
. Въпреки това, с помощта на окислителни ензими, в живите организми се създават условия за заобикаляне на тези квантови ограничения и за реализиране на

двувалентна

(и дори

тетравалентна

) редукция на кислорода до вода без да се образуват опасни междинни съединения. Успоредно с това предотвратяване на отровното действие на кислорода, протича и унивалентна редукция :



H₂O

Както се вижда от схемата, при унивалентната редукция на кислорода се образуват супероксиден анион

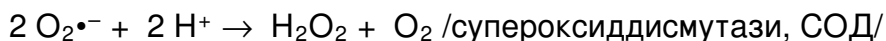
,
водороден прекис

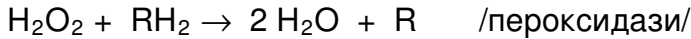
и

хидроксилен радикал

. Всички тези продукти са твърде реактивоспособни, за да бъдат съвместими с живите системи. При това, $\bullet OH$ има най-висока реактивоспособност

, осигуряваща реакция с органичните молекули още при първия сблъсък с тях. Въпреки това е доказано, че в живите системи се генерират посочените междинни продукти. Очевидно е, че те трябва да бъдат отстранени още преди да са нанесли поражение на биологичните структури. Подобна защита в живите системи се осигурява от няколко ензима :





Ясно е, че отстраняването на първите два продукта от унивалентната редукция на кислород (O₂•⁻ и H₂O₂) ще предотвратява образуването на третия продукт - •ОН. Този механизъм на защита е изграден в процеса на еволюция на организмите.

Днес е установено, че съществуват супероксиддисмутази (СОД), съдържащи Fe или Mn в активния си център, а освен това и други, които съдържат едновременно Cu и Zn. Има

каталази, които са хемопротеини, а също и други, които се съдържат в организми, неспособни да синтезират хеминово ядро (могат да бъдат флавопротеини). Има

пероксидази

с хеминово ядро, които могат да използват широк кръг от електронни донори за редукция на Н

²
О

²
, както и такива, които съдържат селен (Se) и специфично оползотворяват редуцирания глутатион като редуциращ субстрат.

Механизмът, по който действат СОД, е представен по-долу. От схемата се вижда, че именно металът с променлива валентност взема участие в показания каталитичен цикъл за пренос на е⁻ от единия към другия супероксиден радикал (O₂•⁻), като осцилира между окисленото и редуцираното си състояние. При съдържащите мед и цинк СОД, медта преминава от

про

- (Cu

+

) в

купри

- (Cu

²⁺

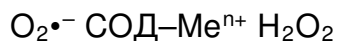
)-състояние и обратно, докато Zn вероятно играе структурна роля. В съдържащите желязо или манган СОД, в каталитичния цикъл участват

дву

- и

три-валентните

състояния на металите.



↓↑

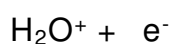


Йонизиращата радиация (ЙЛ), взаимодействайки с веществото, продуцира радикал-катиони и електронни

като първични видове, които чрез разпадане или реакции с различни органични молекули дават разнообразни неутрални или натоварени СР. Например, при облъчване на химически чиста вода протичат следните процеси :



↓



↓



Както се вижда, първичните продукти от взаимодействието на ЙЛ с веществото са свързани хвъзбудени водни молекули

,
катиони на водата
и

електрони

, избити от съответните водни молекули. В резултат на тяхното разпадане или взаимодействие с други молекули се получават

хидроксилен радикал

(•OH),

водороден радикал

(•H) и

хидратиран електрон

(e_{aq}). Ако в тяхната околност се намират други органични молекули, то взаимодействието с високореактивните радикали ще доведе до образуване на разнообразни органични радикали, които в крайна сметка дават стабилни продукти (обуславящи структурни и функционални изменения на нативните биологични структури).

Един от процесите, който най-често е считан за инициатор на деструктивни радикални реакции in vivo е разпадането на липидните хидроперекиси (ЛХП). Добре известно е, че полиненаситените мастни киселини

(ПНМК) в липидите продуцират ЛХП както чрез нормално автоокисление, така и в резултат на ензимни процеси. Това не е изненадващо, тъй като съединенията от алкиловия или бензиловия ред са лесно автоокисляеми до хид -

роперекиси и то при значителни добиви - до 90 %.

Н Н Н Н Н Н Н Н

| | | | | | | |

-CH₂-C=C-CH₂-C=C- → -CH₂-C=C-C=C-C-

|

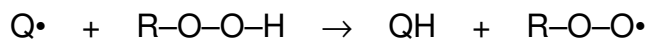
O-OH

Въпреки че липидите са защитени от автоокисление чрез защитна белтъчна обвивка и/или от присъствието на антиоксиданти във високи концентрации (витамин Е, глутатион и др.), все пак има доказателства, че в клетките известни количества ПНМК са подложени на автоокисление. Тъй като ЛХП очевидно са представени в клетките, то представлява интерес въпроса за тяхното разпадане. Дисоциирането на

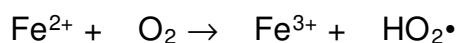
t-бутилхидроперекиса
, което е най-добре изследвано, изисква около 43 [kcal/mol] при 37°C за хомолитично разкъсване на връзката O-O : $t\text{-Bu-O-OH} \rightarrow t\text{-Bu-O}\cdot + \cdot\text{OH}$

Много хидроперекиси на ПНМК се разпадат със значително по-големи скорости. Така например, активационната енергия за хомолитично разпадане на хидроперекиса на етил-линолеата е по-малка от 20 [kcal/mol] и скоростта на разпада не е измерима дори при 25°C.

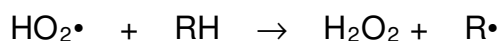
Разпадането на хидроперекисите се причинява и от вече възникнали в с-мата радикали :



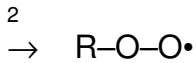
Един от пътищата, които водят до образуването на CP в дадена система, е окислението на метални йони (Me^{n+}) с променлива валентност от молекулния кислород :



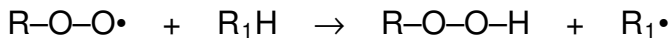
При взаимодействието на образувания радикал ($HO_2\cdot$) с молекула ПНМК, се образува липиден радикал :



Именно тези две реакции (последните две) са началото на верижното окисление на ПНМК и се наричат стадий на инициирането на веригата. Важно свойство на СР е това, че колкото и пъти да реагира радикалът с някакви молекули, броят на СР в системата не се изменя. Ако в системата присъства кислород (O_2), то с много висока вероятност протича взаимодействието : $R\cdot + O$



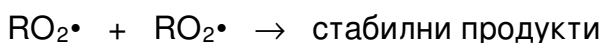
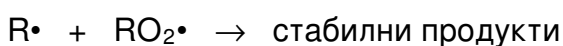
В резултат на това взаимодействие се образува пероксиден радикал, който може да реагира с нова молекула ПНМК :



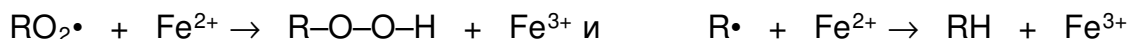
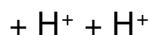
Заедно с хидроперексид се получава нов липиден радикал, който (в присъствие на кислород) може отново да реагира с образуване на пероксиден радикал и т.н. По този начин възникването на един-единствен радикал в дадена система, съдържаща ПНМК, би могло да доведе до пълното им превръщане в хидроперексиди (при условие, че в системата има достатъчно кислород).

В действителност, обаче, не се достига до пълно превръщане на ПНМК в хидроперексиди, тъй като радикалите $R\cdot$ и $RO_2\cdot$ могат да реагират (освен с ПНМК) още и с :

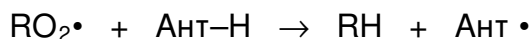
1. С други радикали :



1. С метални йони с променлива валентност :



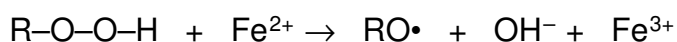
1. С молекули на т. нар. антиоксиданти (витамин Е, α -токоферол, GSH):



Антиоксидантите са вещества с добри редуциращи свойства. Получените от тях радикали са с ниска реактивоспособност и не могат да встъпят в реакция с нова молекула ПНМК. В резултат на това рано или късно изчезват (при среща с друг радикал $RO_2\cdot$ или антиоксидант, като дават молекулни продукти).

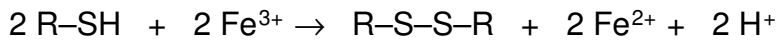
По такъв начин, от момента на възникване на СР в дадена система, до момента на неговото изчезване, се извършват няколко цикъла с участието на радикалите $R\cdot$ и $RO_2\cdot$, и на молекулен кислород, при което се образуват определен брой молекули хидроперексид. Именно този брой на циклите характеризира дължината на автоокислителната верига.

При достатъчно високи концентрации на метални йони (Me^{n+}) с променлива валентност е възможно и протичането на следната реакция :



При това възниква нов СР, който може да инициира нова верижна реакция. В такъв случай говорим за разклоняване на автоокислителната верига. Получените ферийони

(Fe³⁺) не са в състояние да иницират прекисно окисление. Те могат да взаимодействат със сулфхидрилни съединения и отново да се превърнат във феройони (Fe²⁺):



Този процес се нарича регенерация на феройоните.

Всички разгледани дотук реакции (иницииране, продължаване и разклоняване на веригата) формират прекисното окисление на липидите (ПОЛ). Основно изискване е наличието на достатъчни количества молекулен кислород (O

²
).