

ВІЛЬНІ РАДИКАЛИ: ПОХОДЖЕННЯ, ОСНОВНІ ВИДИ ТА ВЛАСТИВОСТІ

Вступ

“Вільний радикал” – це атом чи група атомів, для яких характерна наявність неспарених електронів (неспарений електрон – електрон, який одноосібно займає атомну чи молекулярну орбіталь). Наявність неспарених електронів призводить до виникнення нових властивостей, таких, як парамагнетизм та збільшення реакційної здатності.

Утворення радикалів є наслідком втрати або приєднання електронів до нерадикала. Найлегшим способом отримання радикалів є розрив ковалентних зв'язків при гомолітичному розщепленні, коли до кожного атома відходить по одному електрону. Енергія, що використовується для розриву зв'язку, може мати різне походження (нагрівання, електромагнітне випромінювання, тощо). Наприклад, розрив ковалентних зв'язків С-С, С-О, С-Н відбувається при температурі 450-600°С. Найлегше простежити розрив ковалентних зв'язків у газах.

Схематично гомолітичне розщеплення можна представити наступним чином:



Якщо через А і В позначити ковалентно зв'язані атоми і “·” репрезентуватиме спільну електронну пару, то А· є радикалом А, а В· – радикалом В. В результаті гомолітичного розщеплення води утворюються водневий радикал Н· і гідроксильний радикал НО·.

Інший варіант розщеплення ковалентного зв'язку – гетеролітичне розщеплення, при якому обидва електрони відходять до одного атома:



Надлишок електронів надає А негативного заряду, а В, втративши його, стає зарядженим позитивно. При гетеролітичному розщепленні води утворюються водневий іон Н⁺ і гідроксильний іон НО⁻. При температурі 25°С чиста вода частково іонізована і містить 10⁻⁷ моль/літр водневих та гідроксильний іонів. Варто звернути увагу, що при такому типі розщеплення вільні радикали не утворюються.

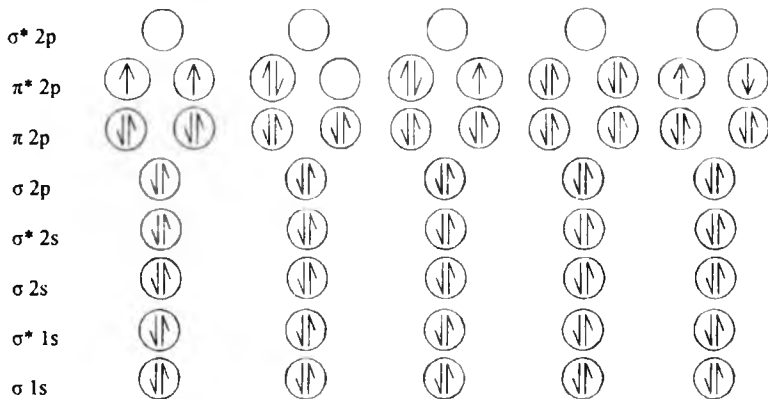
Проблема вільних радикалів у біології набула великого значення в останні роки у зв'язку з тим, що була доведена “причетність” вільних радикалів до виникнення патологій. Тому далі будуть розглянуті основні біологічно активні атоми і молекули та радикали на їх основі.

Кисень та його похідні

Два ковалентно зв'язані атоми кисню утворюють молекулу кисню, для якої характерна наявність двох неспарених електронів. Вони розміщені на розрихляючих орбіталях і мають однакове спінове квантове число (паралельні спіни). Це найстабільніший стан, або основний стан молекули кисню (рис. 1).

З рисунка 1 видно, що молекула кисню в стаціонарному стані є радикалом (містить два неспарених електрони). Більш реакційно здатні форми кисню, відомі як синглетний кисень, можна отримати надавши енергію ззовні. Синглетні форми характеризуються вищою внутрішньою енергією, ніж основний стан 22,4 ккал/моль, або 37,5 ккал/моль, і як наслідок є менш стійкими.

При приєднанні одного електрона до молекули кисню відбувається утворення супероксиданіону. Він негативно заряджений і містить один неспарений електрон. Пероксид-іон в результаті приєднання електрону до супероксиданіону (O_2^-) [1-3, 4, 5]. Він не є радикалом (рис. 1).



Основний стан O_2 Синглетний O_2 Супероксид Пероксид-іон Синглетний O_2

Рис. 1. Зв'язки у двохатомній молекулі кисню.

В процесі ступінчатого приєднання електронів до молекули кисню відбувається ослаблення зв'язку між двома атомами кисню. Послаблення є результатом розміщення електронів на антизв'язуючих (розрихляючих) орбіталях. В стаціонарному стані атоми зв'язані подвійним зв'язком, в O_2^+ – лише одним з половиною, а в O_2^2 лише одним. В іоні пероксиду зв'язок є досить слабким і при приєднанні ще двох електронів розривається з утворенням $2O^{2-}$. В біологічних системах в результаті двоелектронного відновлення молекули кисню утворюється пероксид водню (H_2O_2). Наступна схема підсумовує вищесказане:



Оскільки зв'язок O-O в H_2O_2 є слабким, пероксид водню легко розкладається з утворенням $\cdot OH$ (гомолітичне розщеплення):



Утворений гідроксильний радикал найтоксичніший серед кисневмісних радикалів [2, 6].

Як відомо, кисень був токсичним для організмів, що існували за умов його відсутності. З плином еволюції з'явилися організми, які використовують кисень як кінцевий акцептор електронів у процесах отримання енергії. Щоб протистояти токсичній дії кисню, у організмів виникли пристосування, що забезпечили захист від його шкідливих впливів. До складу системи захисту входять антиоксидантні ферменти (каталаза [7], супероксиддисмутаза [8] тощо) та низькомолекулярні антиоксиданти (аскорбінова кислота [9-13], глутатіон [14], цистеїн, ліпоєва кислота [15-18] і убіхінон [19-20]).

Озон і оксиди азоту

Озон (O_3) – це світло-голубий газ, який екранує ультрафіолетові промені у верхніх шарах атмосфери. Він утворюється в результаті фотодисоціації молекулярного кисню на атоми з подальшою взаємодією з молекулою кисню:



Зв'язки у молекулі озону мають однакову довжину, проте вони коротші, ніж одинарні, і довші, ніж подвійні. Він є сильнішим окисником, ніж звичайний кисень. Озон може утворюватись і в нижчих шарах атмосфери в результаті реакцій з деякими речовинами антропогенного походження (сполуки типу CF_2Cl_2 або $CFCl_3$). Молекула озону не є радикалом, а механізм пошкодження включає утворення вільних радикалів. Розщеплення молекули O_3 можуть викликати також і оксиди азоту NO і NO_2 .

Оксид азоту ($^{\bullet}NO$) – безбарвний газ зі слабо відновними властивостями, є радикалом і може реагувати з іншими вільними радикалами. Він може пригнічувати вільно-радикальні реакції окислення ліпідів мембран. Взаємодіючи з киснем, оксид азоту утворює пероксинітрит ($OONO^{\bullet}$), що характеризується надзвичайно високою цитотоксичністю [5]. Пероксинітрит може взаємодіяти зі всіма клітинними структурами, викликаючи їх модифікацію.

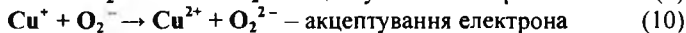
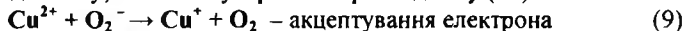
Елементи зі змінною валентністю

Перехідні елементи є металами, найбільш важливою властивістю яких є здатність перебувати в окисленому (втративши електрон) або відновленому (приєднавши електрони) станах, тобто для них характерна змінна валентність.

Всі елементи, які знаходяться в першій колонці d-блоків періодичної системи елементів (крім цинку), мають неспарені електрони, тому можуть називатись радикалами. Мідь не має неспарених електронів за умови двоелектронного заповнення 3d-орбіталі, проте при віддачі двох електронів одного з 4s – і одного з 3d-орбіталей перетворюється в іон міді Cu^{2+} . Більшість металів зі змінною валентністю відіграє важливу роль у біологічних системах. Іони цих металів входять до складу ферментів, які каталізують окисно-відновні реакції. Іони заліза входять до складу цитохромів, гемвісних ферментів

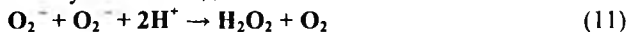
(каталаза [7]), ферментів з кластерами [4Fe-4S] (аконітаза). Іони марганцю і міді входять до складу супероксиддисмутази.

Мідь має два валентних стани – Cu^+ і Cu^{2+} . Саме взаємоперехід між цими станами шляхом втрати-приєднання електрона і визначає властивості міді в реакціях з утворенням радикалів (1). Іон міді (II) може акцептувати електрон з суперпероксид-аніону з утворенням молекули кисню (10), а іон міді (I) віддаючи електрон супероксид-аніону, викликає утворення пероксид-іону (11).

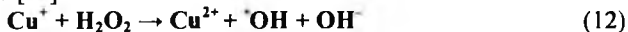


При нейтральних або кислих рН протікає реакція 4.

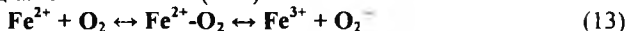
Сумарна реакція має наступний вигляд:



Отже, іони міді завдяки зміні валентності здатні окислювати супероксид-аніон до пероксиду водню і молекулярного кисню і виступати в ролі каталізатора. Іони міді (I) взаємодіють з пероксидом водню з утворенням гідроксильного радикала [21].



До групи d-елементів також належить залізо, при взаємодії якого з киснем утворюється супероксид-аніон і іон заліза (Fe^{3+}):



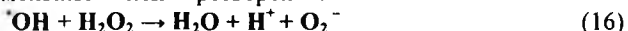
Суміш пероксиду водню і солі заліза(II) реагує з багатьма органічними молекулами [1]. Вперше цю реакцію описав Фентон у 1894 році. Реакція між двома компонентами призводить до утворення надзвичайно активного гідроксильного радикала [21].



Іони Fe^{2+} можуть далі взаємодіяти з H_2O_2 , хоча швидкість цієї реакції при фізіологічних значеннях рН невелика:



У названій системі можливі й інші перетворення:

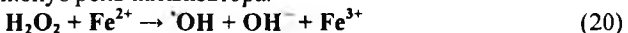


Дана суміш солі заліза і пероксиду водню може запускати певні вільно-радикальні реакції [21], зокрема може відбуватись реакція відновлення молекулою пероксиду водню іншої молекули пероксиду водню з утворенням кисню і води, а іони заліза виступають як каталізатор.



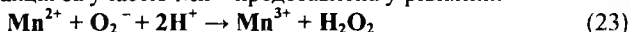
Інші наявні реагенти можуть взаємодіяти з різноманітними радикалами і змінювати механізм реакції.

Супероксид-аніон взаємодіє з пероксидом водню з утворенням молекули кисню, гідроксильного аніону і гідроксильного радикала – реакція Габера-Вайса. Залізо в даній реакції виконує роль каталізатора.





У водних розчинах марганець, як правило, перебуває у формі іонів Mn^{2+} , а більша окислені форми, такі як Mn(III) , Mn(IV) і Mn(VII) , містяться у незначних кількостях. Можлива реакція за участю Mn^{2+} представлена у рівнянні:



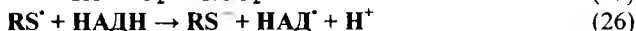
На відміну від марганцю для цинку характерна тільки одна валентність (Zn^{2+}), що і пояснює його відсутність у реакціях з вільними радикалами. Проте цинк може інгібувати деякі вільно-радикальні реакції шляхом заміни (наприклад, заліза) іонів з перехідною валентністю у відповідних реакціях.

Інші вільні радикали

Наявність неспарених електронів характерна і для інших елементів. Наприклад, тійльні групи у присутності іонів перехідних металів здатні утворювати тійловий радикал RS^\cdot [21].



Тійлові радикали містять атом сірки і мають високу реакційну здатність. Вони можуть взаємодіяти з молекулярним киснем, NADH чи аскорбіновою кислотою:



Зокрема, окислення тійлових груп у присутності іонів заліза чи міді призводять до утворення OH^\cdot , O_2^- і RS^\cdot .

Тійлові радикали також можуть утворюватись при гемолітичному розщепленні дисульфідних зв'язків у білках:



Висновки

При наданні певним молекулам енергії відбуваються розриви ковалентних зв'язків і утворення атомів з неспареними електронами. Саме наявність неспареного електрона визначає підвищену реактивність, тобто здатність легко реагувати з клітинними структурами, модифікуючи їх. У зв'язку з цим організми виробили певні пристосування для захисту від вільних радикалів як ендogenous, так екзогенного походження.

Подяки

Автор висловлює подяку Багнюковій Т.В. і Луцаку В.І. за критичні зауваження по рукопису статті і натхнення.

1. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1999. – № 893. – P. 13-18.
2. Betteridge D.J. What is oxidative stress? // Methabolism. – 2000 – № 49. – P. 3-8
3. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning) // Free Radic Res. – 1999 – N 31 – P. 261-272.

- 4 Fridovich I. Superoxide anion radical ($O_2^{\bullet -}$), superoxide dismutase, and related matters // J. Biol. Chem. – 1991. – № 272. – P. 18515-18517.
- 5 Beckman J.S., Koppenol W.H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly // Am. J. Physiol – 1996 – № 271. – P. 1424-1437.
- 6 Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts // FASEB J – 1987. – № 1. – P. 358-389.
- 7 Aebi H. Catalase. Methods of enzymatic analyses. – New York: Academic Press. – 1974. – P. 673-683.
- 8 McCord J.M., Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyperin (hemocuperin) // J. Biol. Chem. – 1969. – N 244. – P. 6049-6055.
- 9 May J. M. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? // FASEB J. – 1999. – № 9. – P. 995-1006.
- 10 Frei B., Stocker R., England L., Ames B. N. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma // Adv. Exp. Med. Biol – 1990. – № 264. – P. 155-163.
- 11 Buetner G.R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate // Arch. Biochem. Biophys – 1993. – № 300. – P. 535-543.
- 12 Sies H., Stahl W., Sundquist A.R. Antioxidant function of vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1992 – 3 669. – P. 7-20.
- 13 Chopra M., Thurnham D. I. Antioxidants and lipoprotein metabolism // Proc Nutr. Soc – 1999 – № 58. – P. 663-671.
- 14 Van Bladeren P.J. Glutathione conjugation as a bioactivation reaction // Chem. Biol. Interact – 2000. – № 129. – P. 61-76.
- 15 Scott B.C. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation // Free Radic. Res. – 1994. – № 20. – P. 119-133.
- 16 Kagan V.E. Dihydrolipoic acid – a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals // Biochem. Pharmacol. – 1992. – № 44 – P. 1637-1649.
- 17 Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. Alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant // Free. Radic. Biol. Med. – 1995. – N 19. – P. 227-250.
- 18 Handelman G.J., Han D., Tritschler H. J Packer L. Alpha-lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form, and release into the culture medium // Biochem. Pharmacol. – 1994. – № 47. – P. 1725-1730.
- 19 Xia L., Björnstedt M. Nordman T., Ericsson L. C., Olsson J. M. Reduction of ubiquinone by lipoamide dehydrogenase. An antioxidant regeneratin pathway // Eur. J. Biochem. – 2001. – № 268 – P. 1486-1490.
- 20 Bejer R.I. The participant of coenzyme Q in free radical production and antioxidant // Free. Radic. Biol. Med. – 1990 – N 8. – P. 545-565.
- 21 Halliwell B., Gutteridge J.M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. – Oxford: Clarendon Press. – 1989. – 543 p.

In review the main species of free radicals are summarized. Article contains description of generation of most famous oxygen, nitrogen and sulfur radical. The mechanisms of generation of radicals by reactions with metal ions are shown.