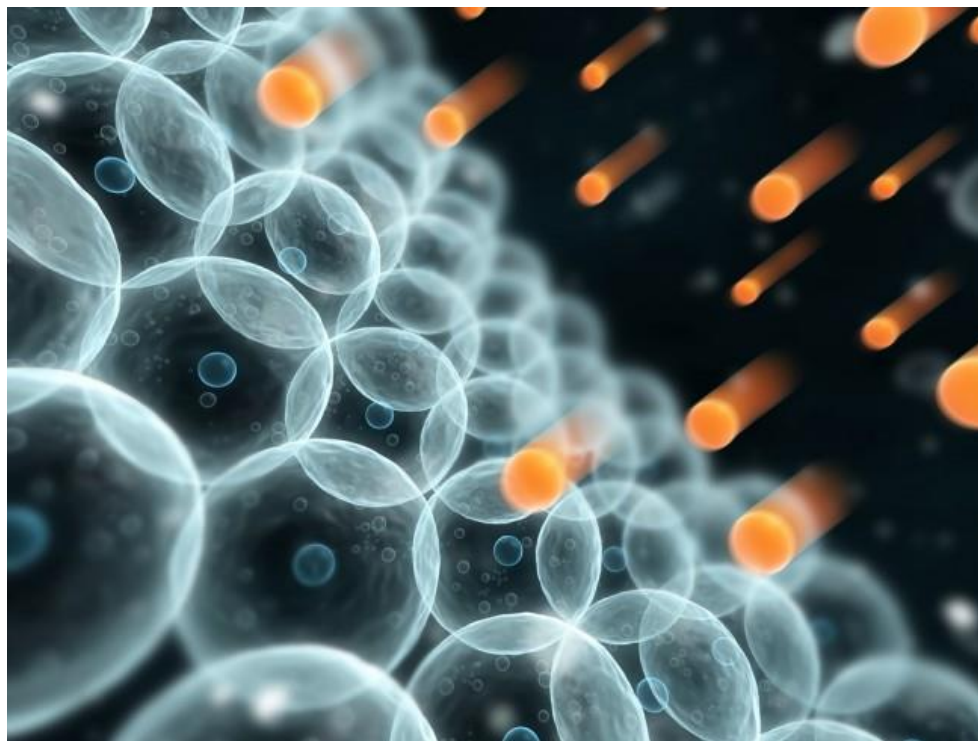


# Антиоксиданти и механизъм на антиоксидантно действие

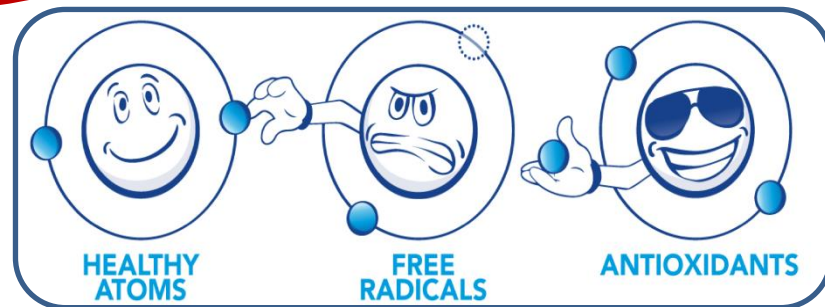
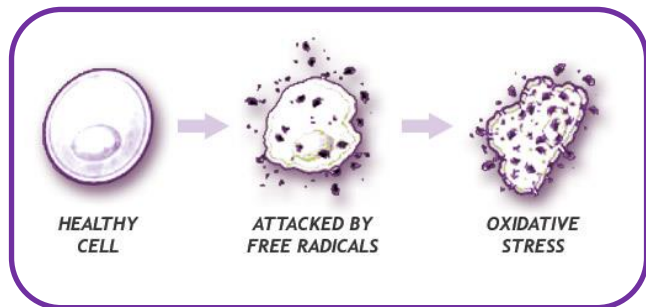
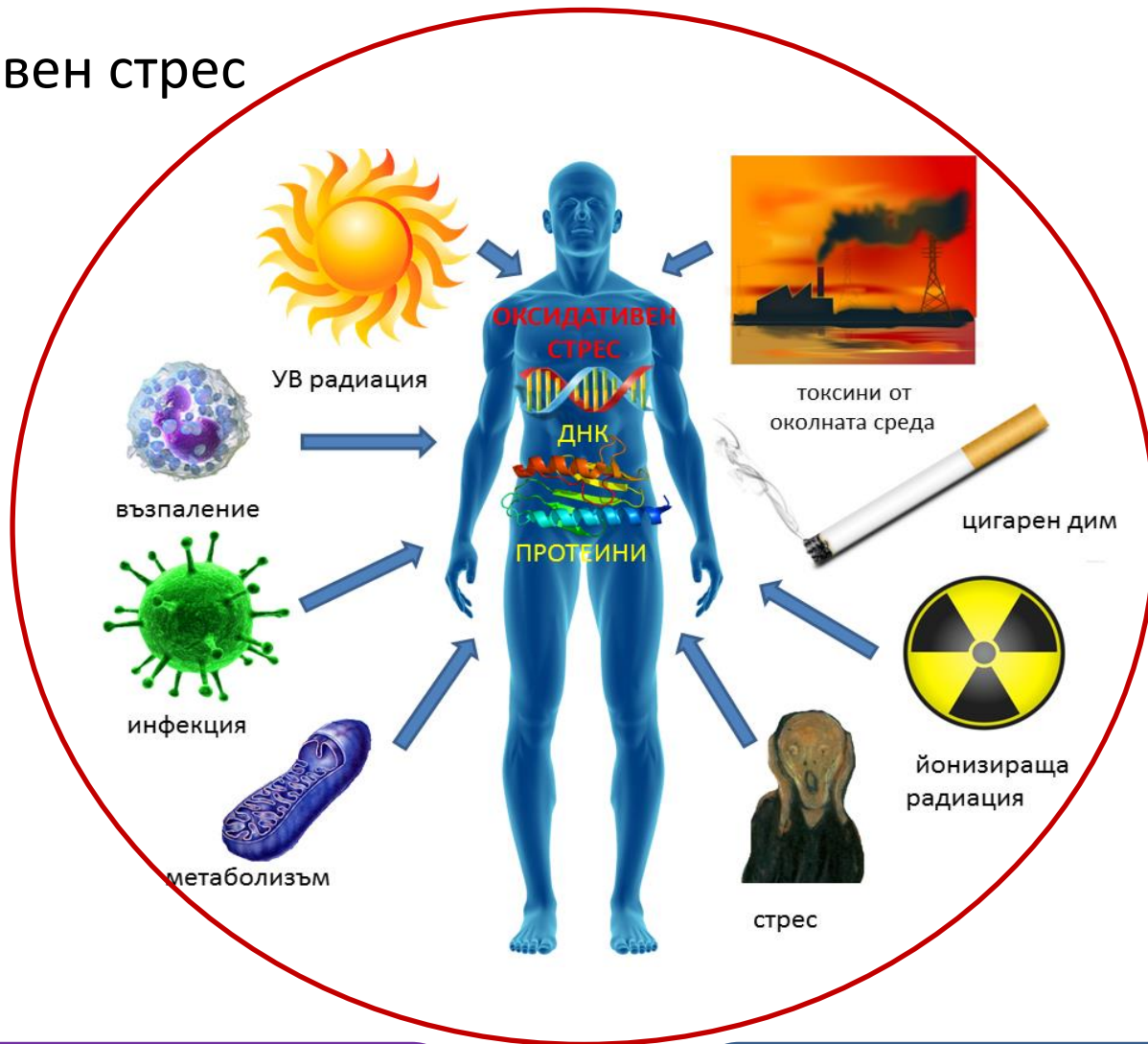
Ензимни антиоксиданти. Неензимни антиоксиданти. Механизми на антиоксидантно действие. Методи за изследване на антиоксидантната активност.



ас. д-р Неда Анастасова

София, 2018 г.

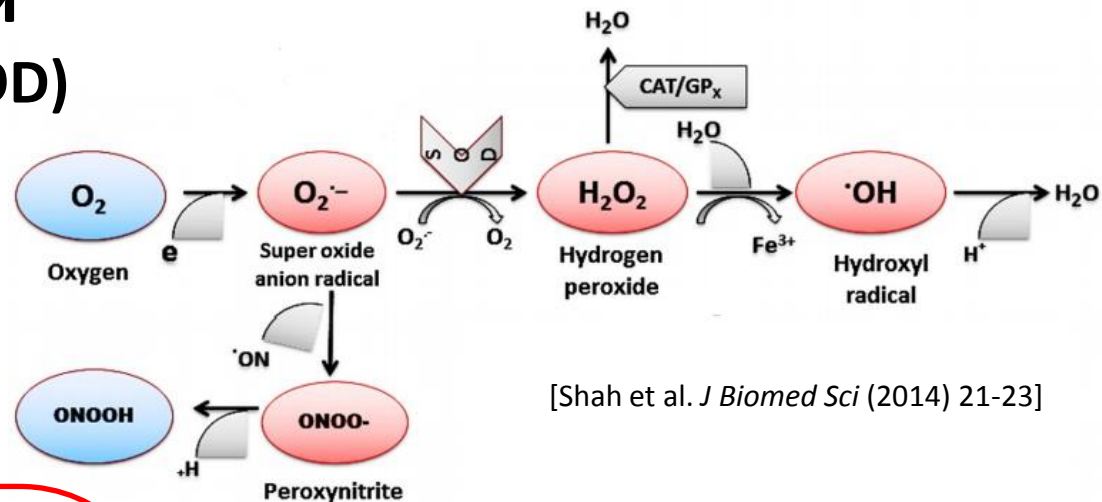
# Оксидативен стрес



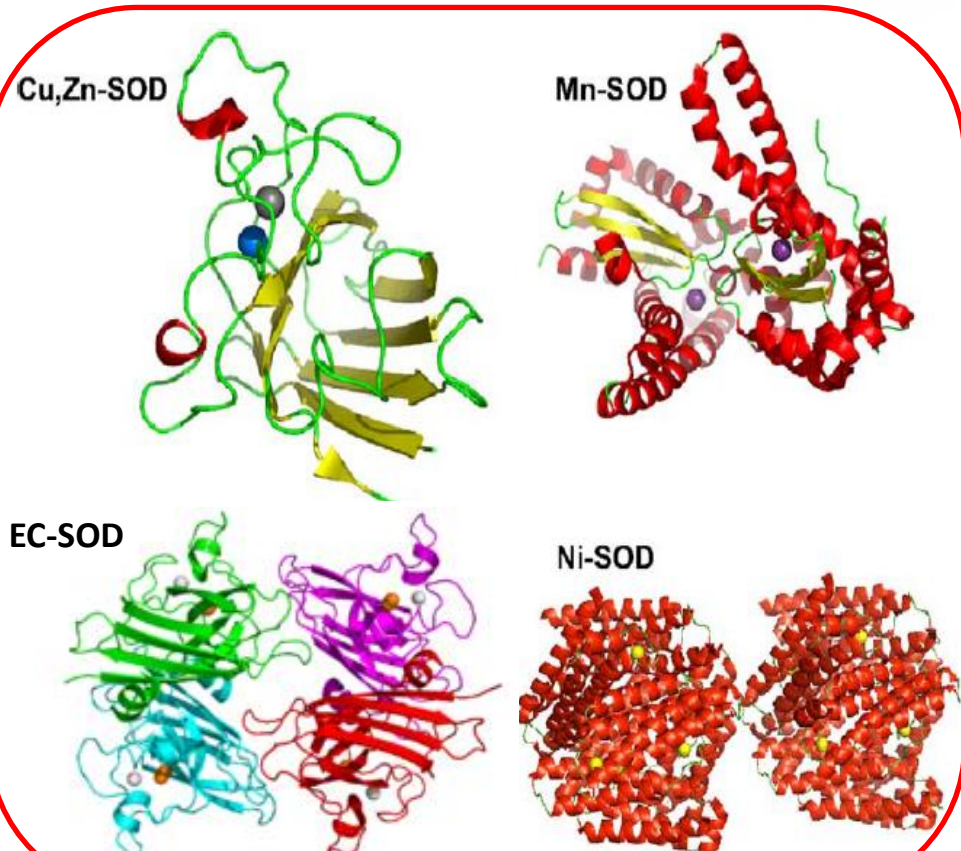


# Ензимни антиоксиданти

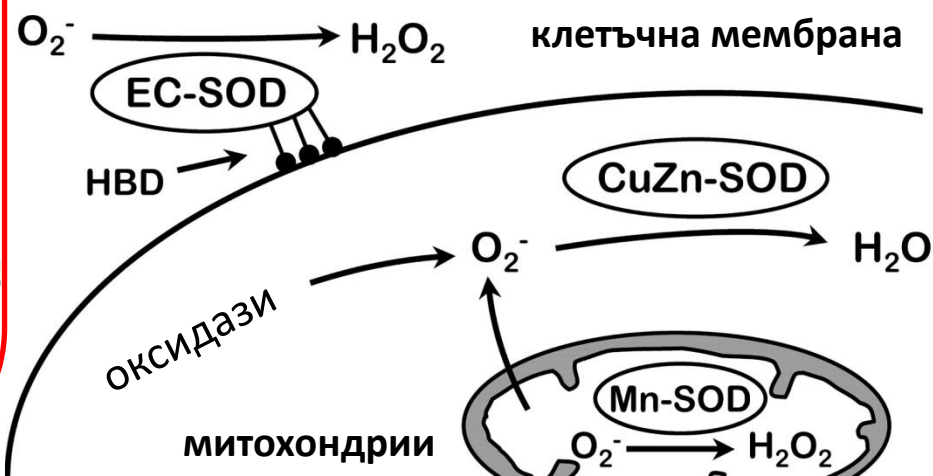
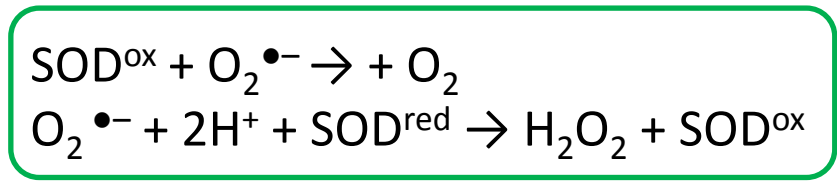
## Супероксид дисмутаза (SOD)



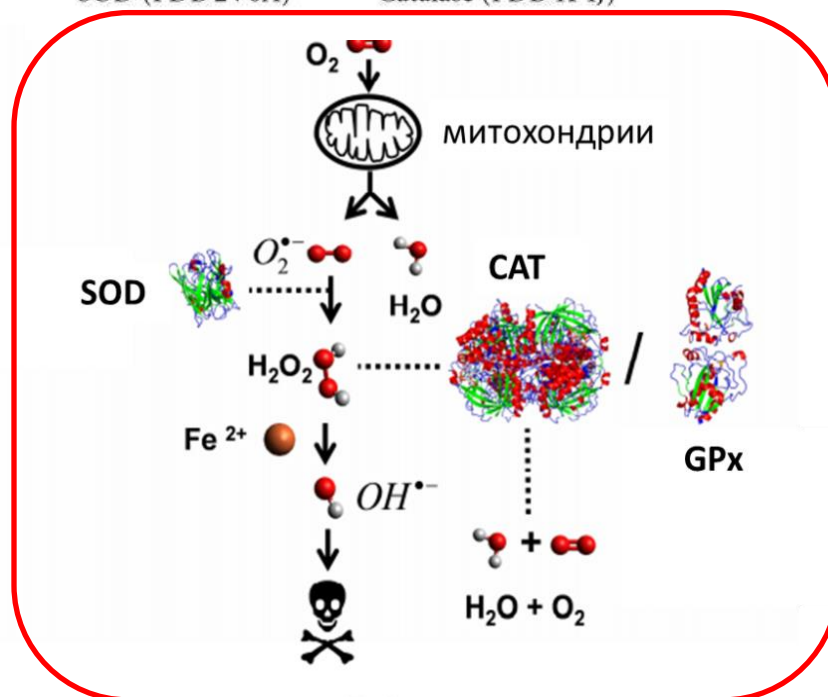
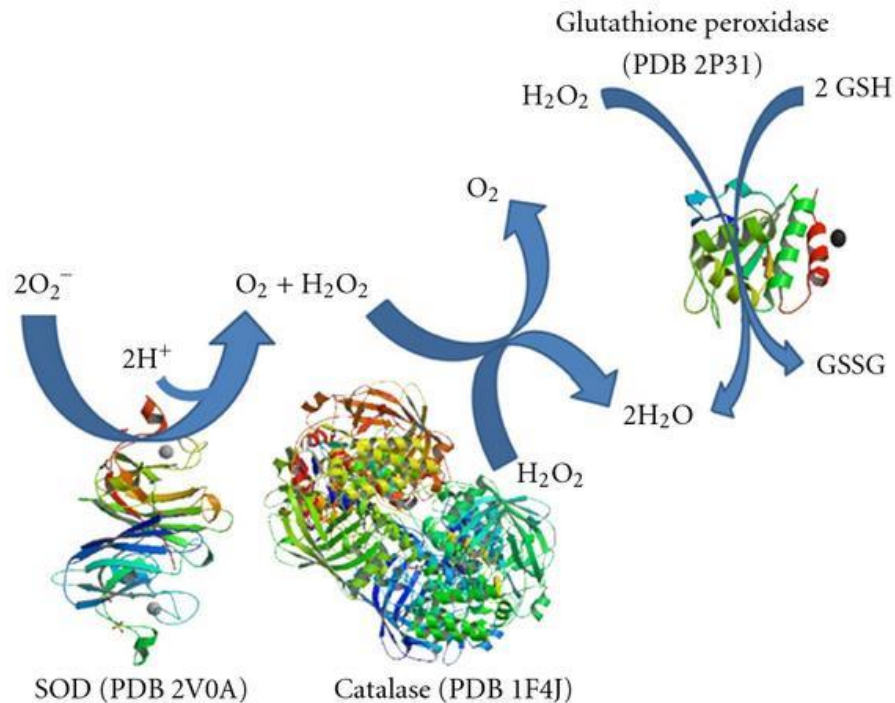
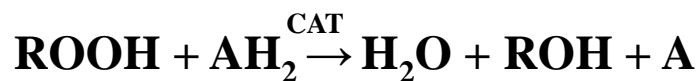
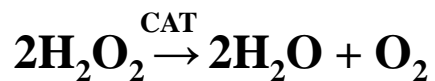
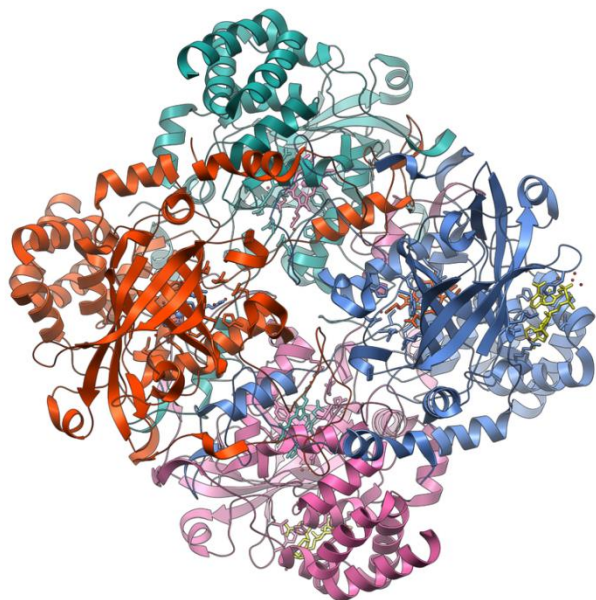
[Shah et al. *J Biomed Sci* (2014) 21-23]



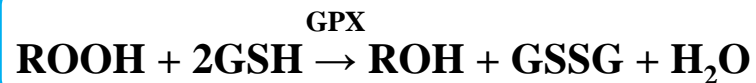
Johnson et al. *Mol. Asp. Med.* 26 (2005) 340-352



# Каталаза (CAT)



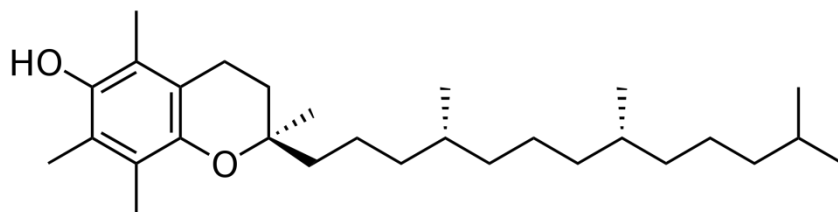
# Глутатион пероксидаза (GPX)



Вид ензим	GPX-1 (цитозолна)	GPX-2 (гастро-ентестинална)	GPX-3 (плазмена/извънклетъчна)	GPX-4 (фосфолипидна хидропероксидна GPX - PHGPX)
Структура на ензима	Хомотетрамер с един селеноцистеинов остатък, намиращ се при аминок-на 47 във всяка субединица (от 201 аминок-ни)	Хомотетрамер (190 АК); селеноцистеин в активния център на 40 от АК последователност	Гликолизиран хомотетрамер (226 АК), който може да използва тиоредуксин и глутаредоксин вместо GSH като редуцира тиол; активен център със селеноцистеин е при 73 АК	мономер (197 АК); селеноцистеин при активния център на 73 АК от последователността
Разпространение	В големи количества в тъкани с високо образуване на пероксид – еритроцити, бъбрек, черен дроб	редуцира H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> в епитела на гастро-ентестиналния тракт	Единствената извънклетъчна форма на GPX; секретира се в кръвната плазма, също се среща и в бъбреците, белите дробове, сърцето, плацентата и в по-малко количества в черния дроб, скелетната мускулатура, панкреаса, мозъка, окото.	В повечето тъкани
Роля на ензима	Детоксикация на H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> и др. органични хидропероксиди чрез окисление на редуциран глутатион; предотвратява цитотоксичното окислително увреждане, липидна пероксидация и увреждането; инхибира индуцирана от хидропероксиди апоптоза	предпазва ГИТ от поети липидни пероксиди и има защитна роля срещу рак на дебелото черво	Действа като бариера за всякакъв трансфер на хидропероксиди; редуция на H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> и липидни пероксиди на по-сложни липиди като фосфатидилхолин; основен уловител на ROS	катализира редуktivното дезактивиране на алипидните хидропероксиди в мембраните и липопторейните и така предпазва клетъчните мембрани от оксидативен стрес

# Неензимни антиоксиданти

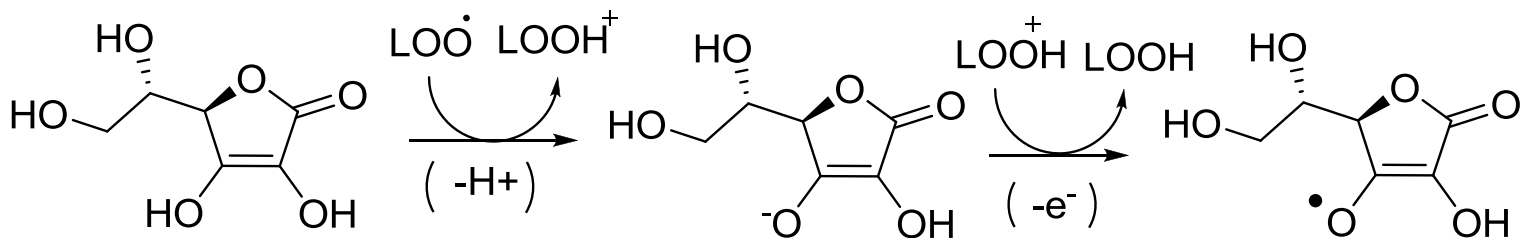
## Витамин Е



$\alpha$ -токоферол



## Витамин С



аскорбинова к-на  
(AscH<sub>2</sub>)

аскорбат  
(AscH)

аскорбатен радикал  
(•AscH)

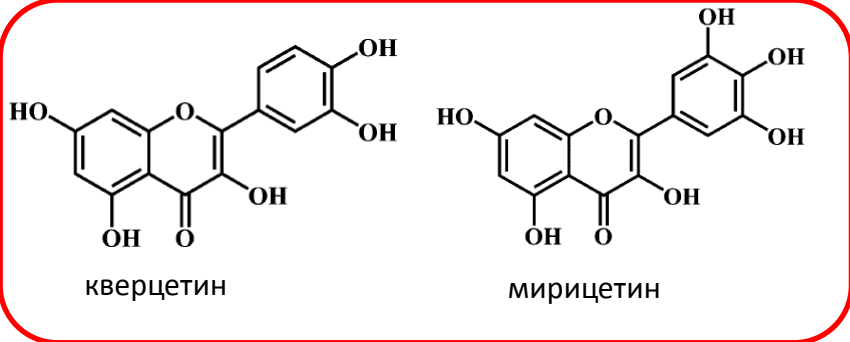
Радикал-улавящ механизъм на аскорбинова киселина



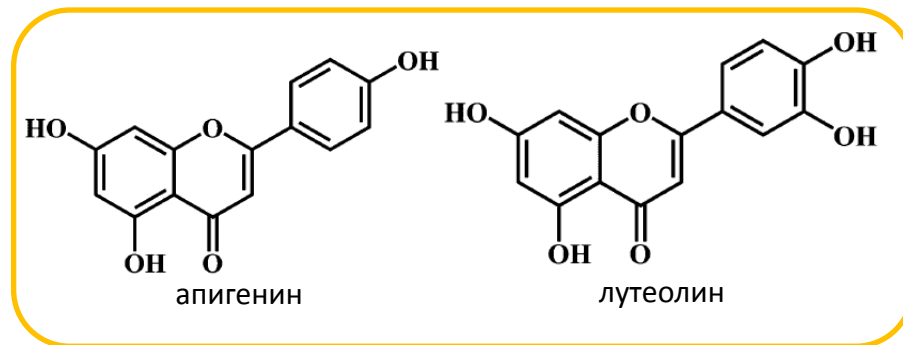


# Биофлавоноиди

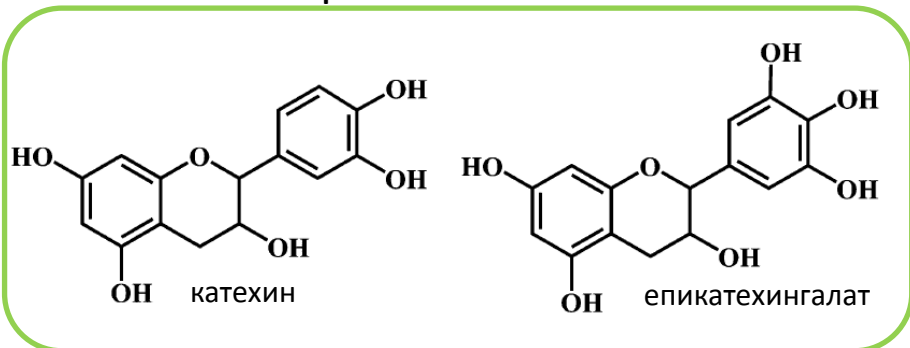
## флавоноли



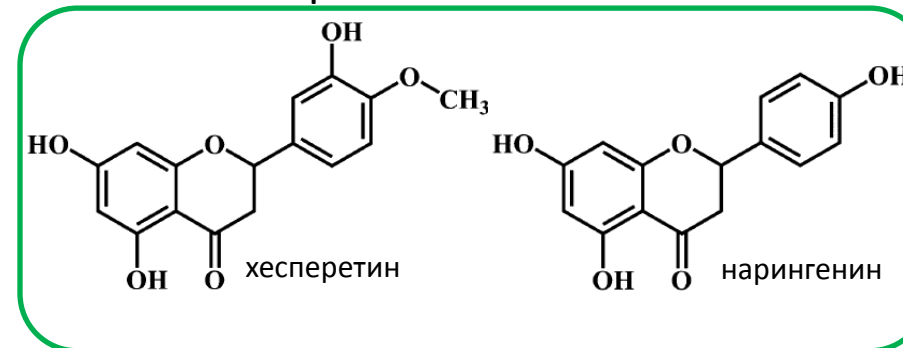
## флаволи



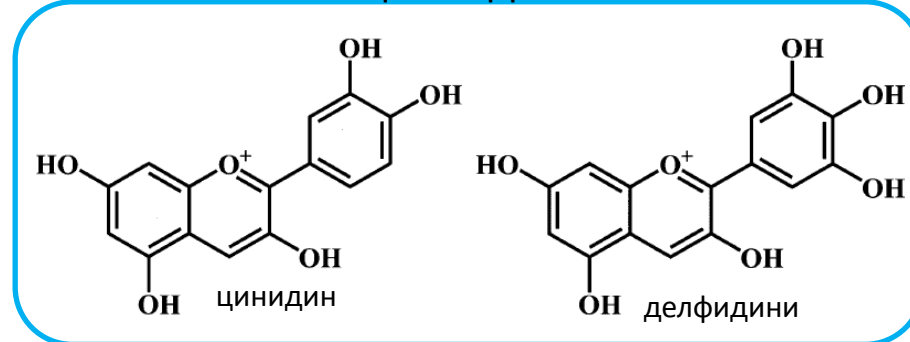
## флаваноли



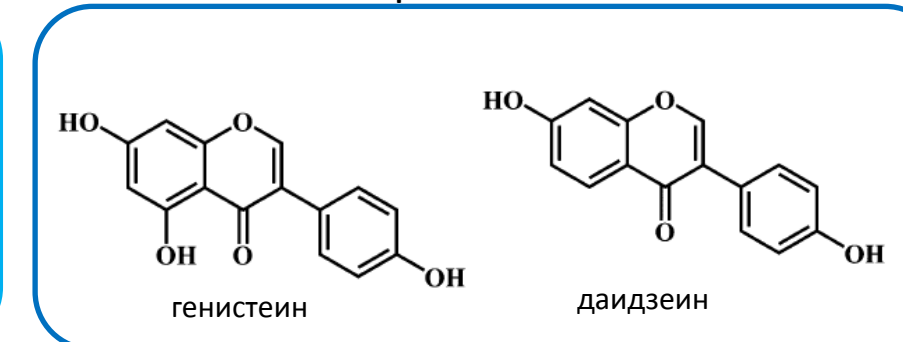
## флаванони



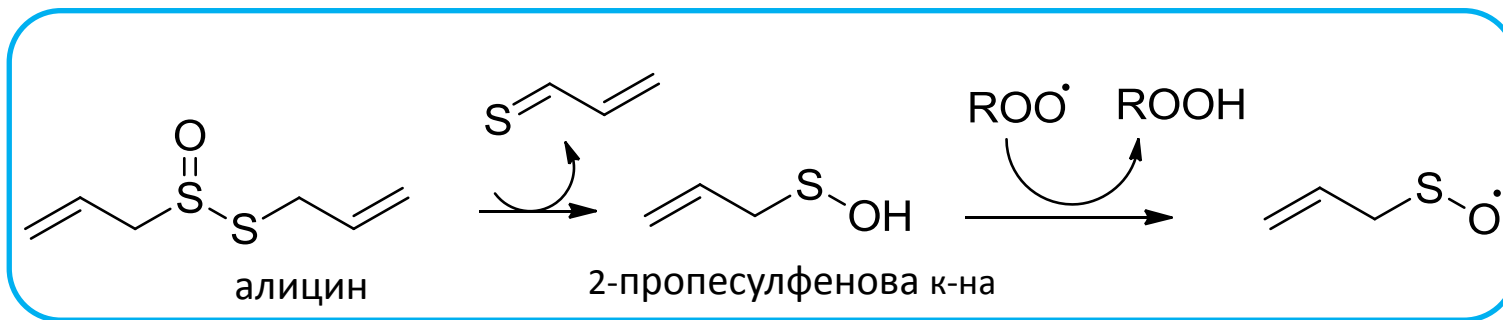
## антоцианидини



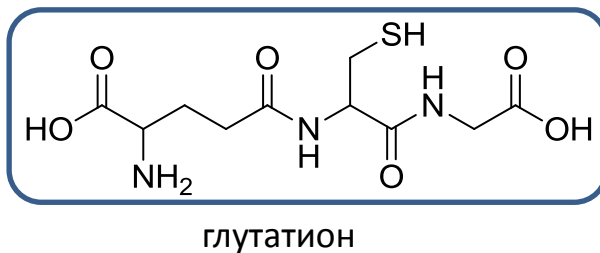
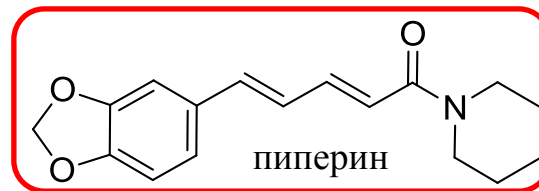
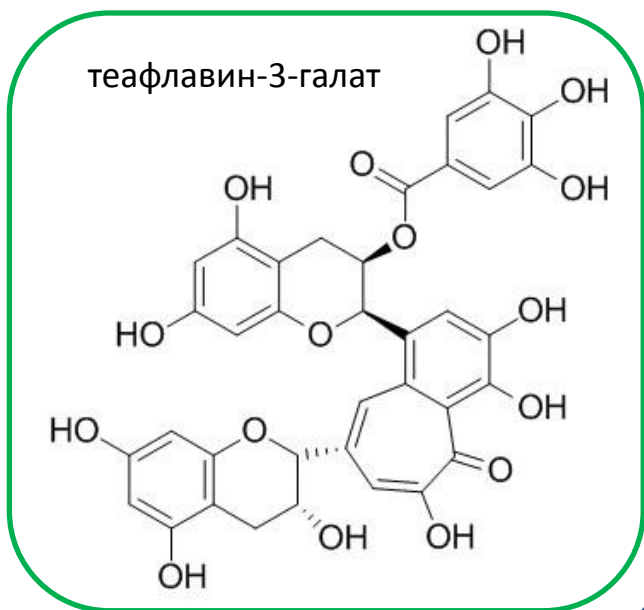
## изофлаволи



# Други природни антиоксидантни



V. Vaidya and K. Ingold, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 157 –160



# Механизми на антиоксидантно действие

HAT



$$\text{BDE} = \Delta\text{H}(\text{A}^\bullet) + \Delta\text{H}(\text{H}^\bullet) - \Delta\text{H}(\text{A})$$

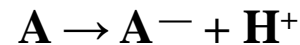
SET



$$\text{IP} = \Delta\text{H}(\text{A}^{\bullet+}) + \Delta\text{H}(\text{e}^-) - \Delta\text{H}(\text{A})$$

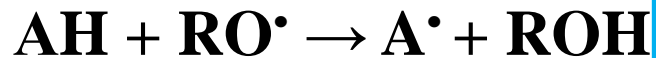
$$\text{PDE} = \Delta\text{H}(\text{A}^\bullet) + \Delta\text{H}(\text{H}^+) - \Delta\text{H}(\text{A}^{\bullet+})$$

SPLET

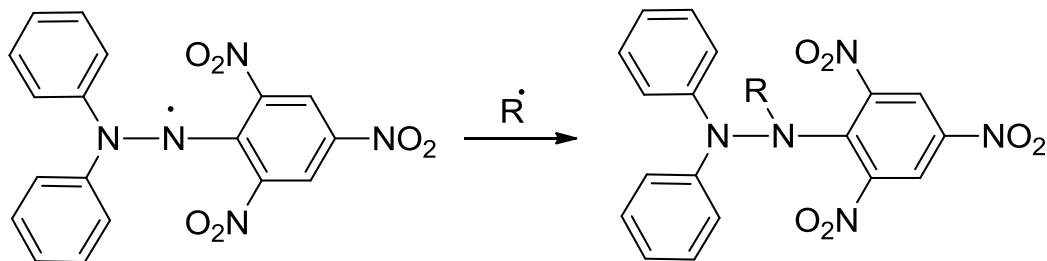


$$\text{PA} = \Delta\text{H}(\text{A}^-) + \Delta\text{H}(\text{H}^+) - \Delta\text{H}(\text{A})$$

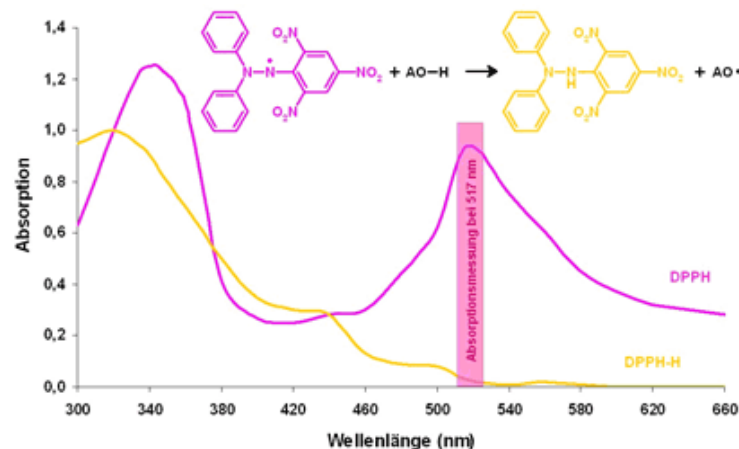
$$\text{ETE} = \Delta\text{H}(\text{A}^\bullet) + \Delta\text{H}(\text{e}^-) - \Delta\text{H}(\text{A}^-)$$



# Изследване на антиоксидантната активност с DPPH

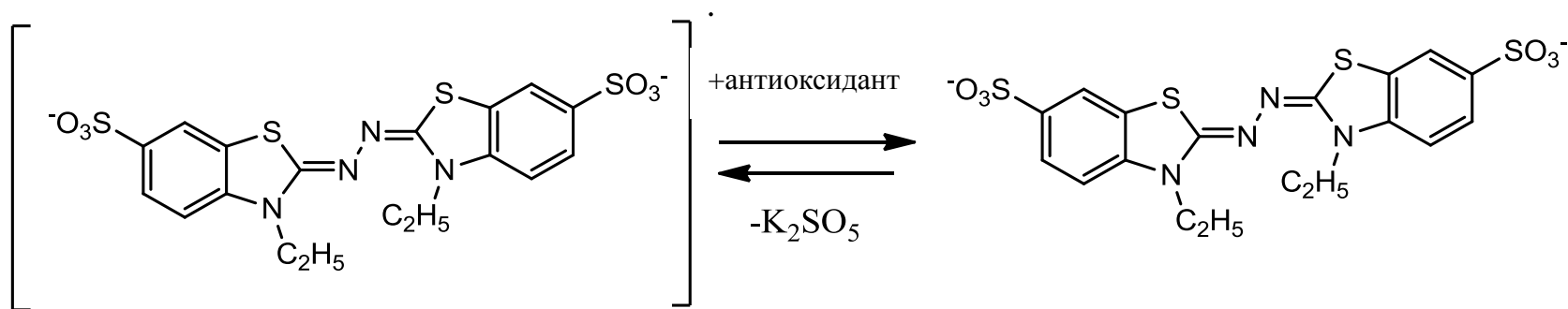


Реакция на DPPH с радикали



$$\lambda_{\max} = 517 \text{ nm}$$

# Изследване на антиоксидантната активност с ABTS

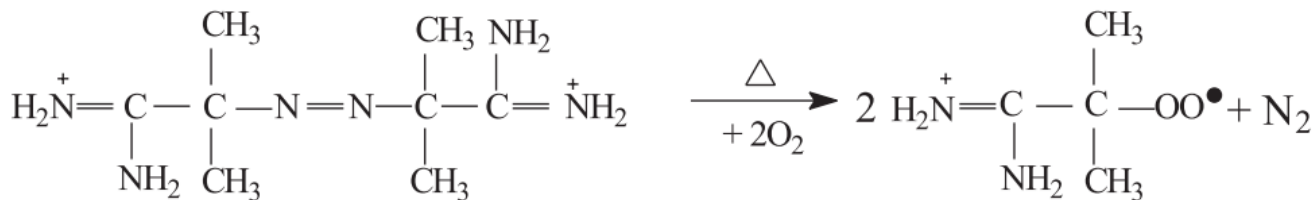


$$\lambda_{\max} = 734 \text{ nm}$$

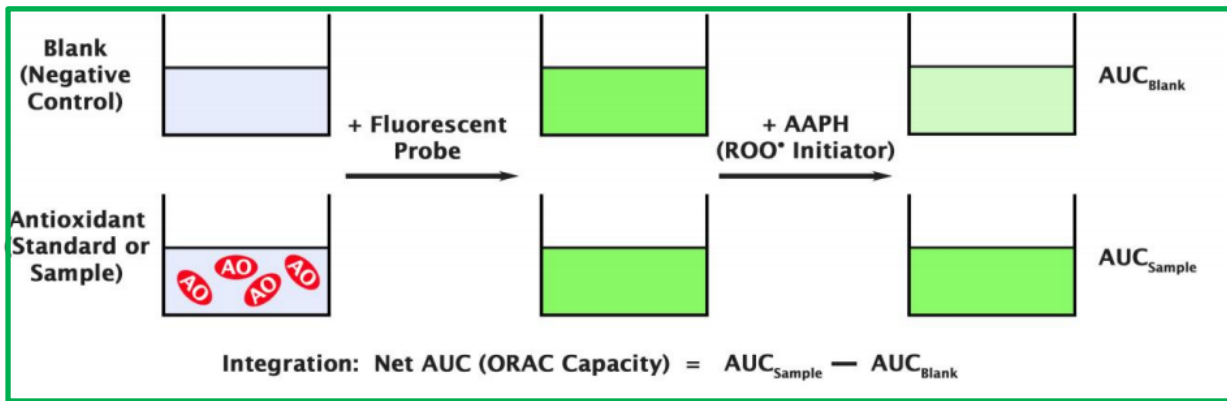
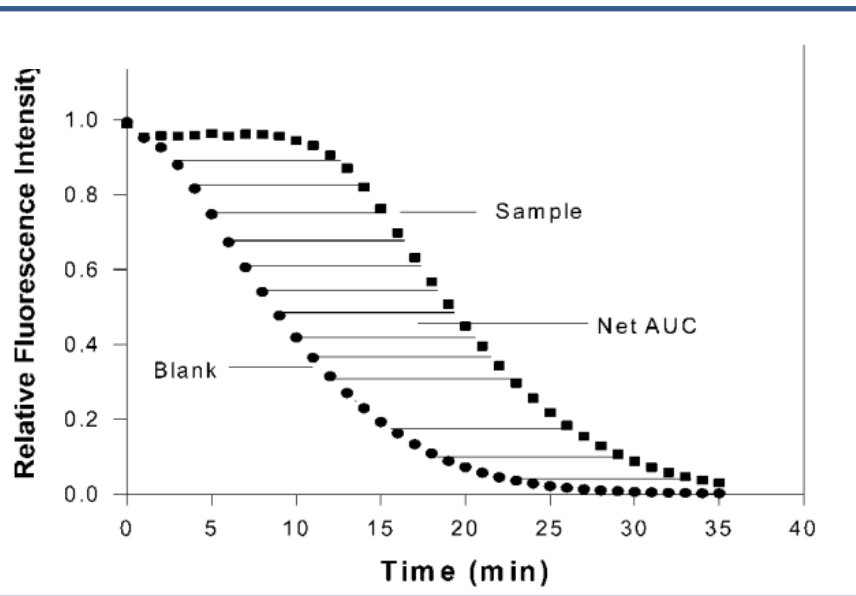
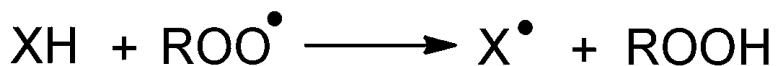
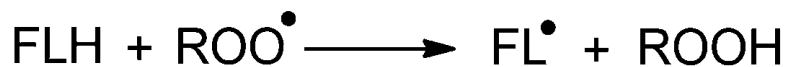
Генериране радикал на ABTS и неговата редукция в присъствие на антиоксиданти

# Изследване на антиоксидантната активност по метода ORAC

инициатор

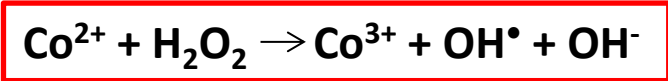


AAPH

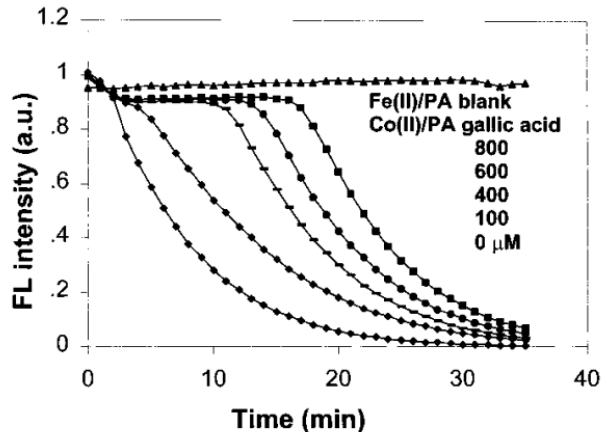
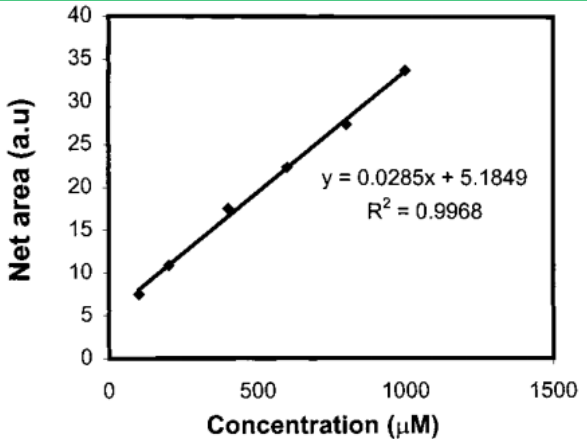
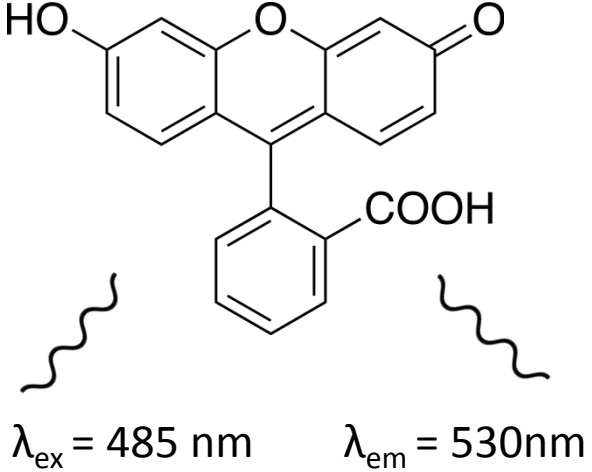
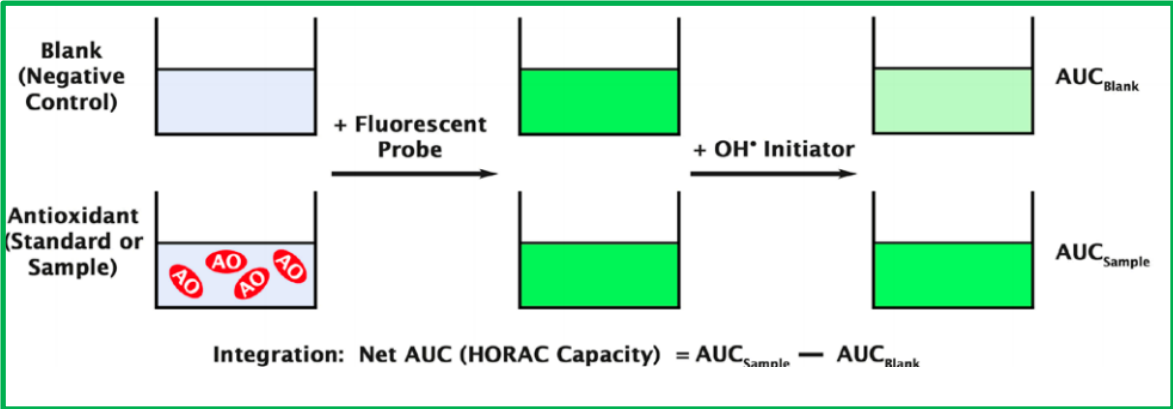
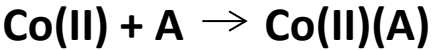


# Изследване на антиоксидантната активност по метода HORAC

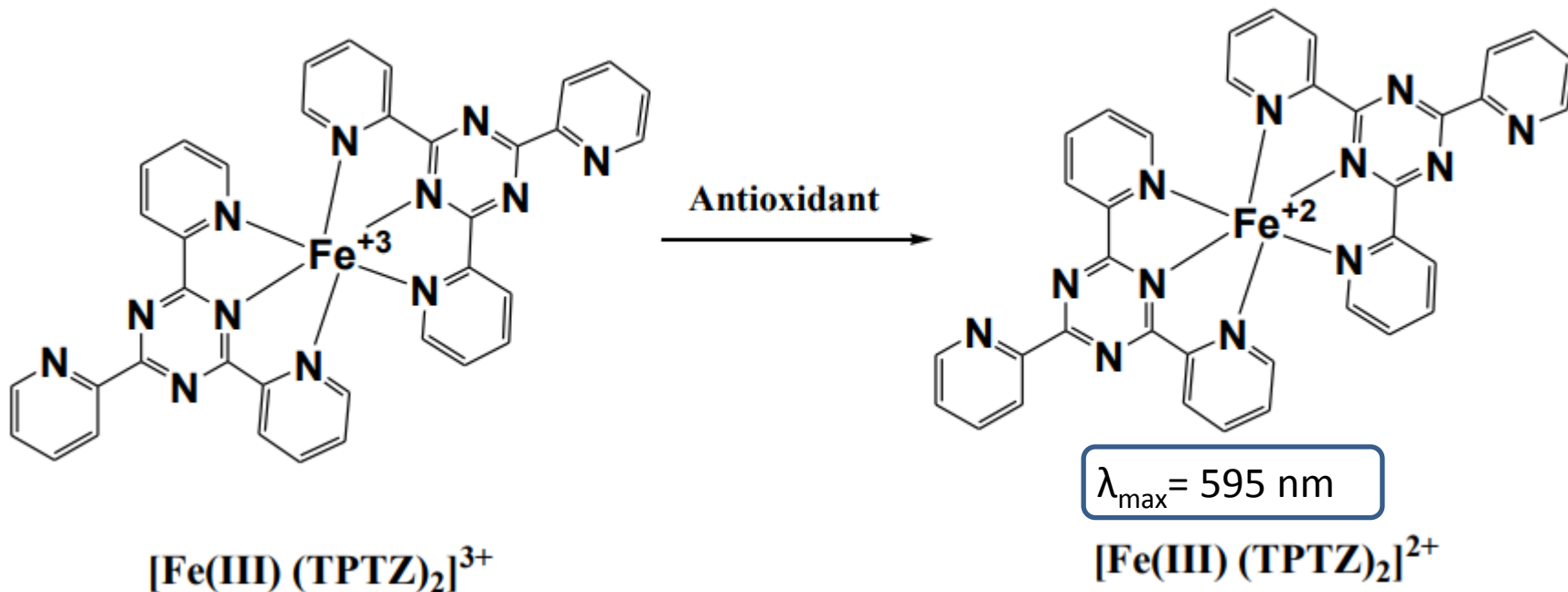
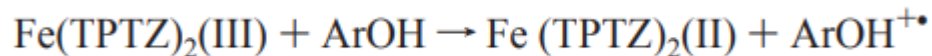
инициатор Co(II)



FL + Co(II) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → окислен FL → загуба на флуоресценция

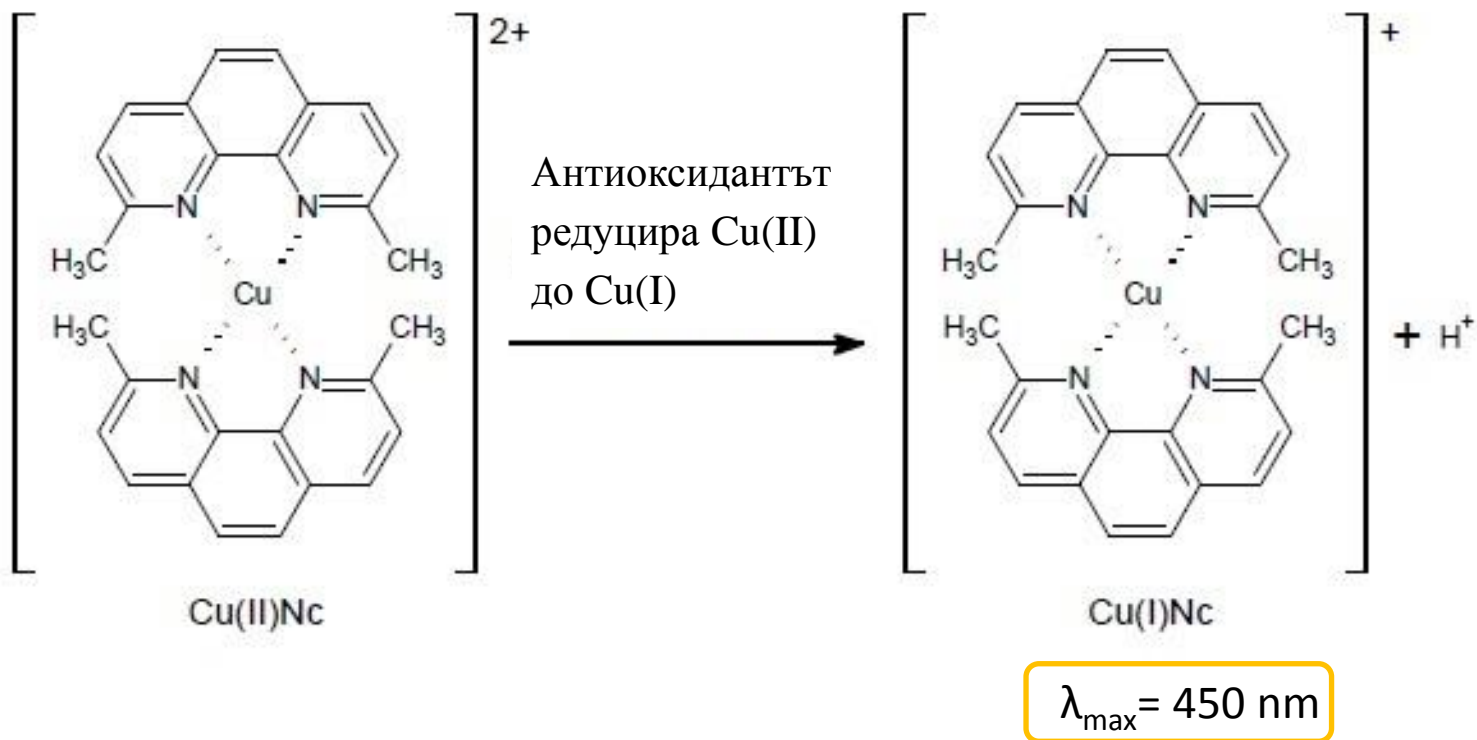


# Изследване на антиоксидантната активност по метода FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)



2,4,6-три-(2-пиридил)-1,3,5-триазин

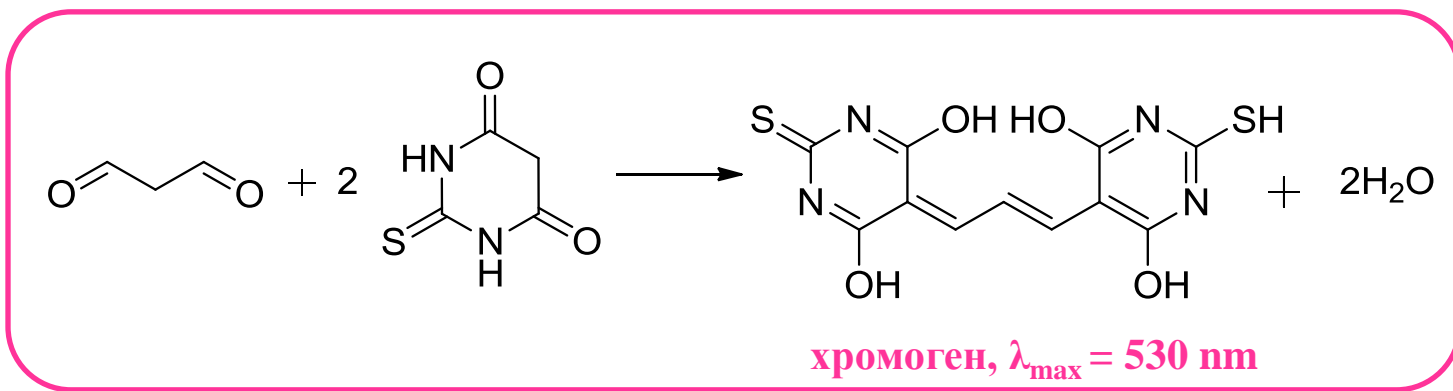
# Изследване на антиоксидантната активност по метода CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity)



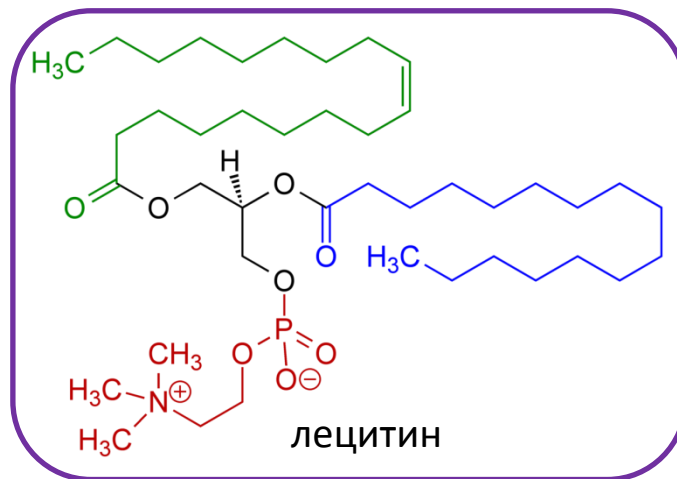
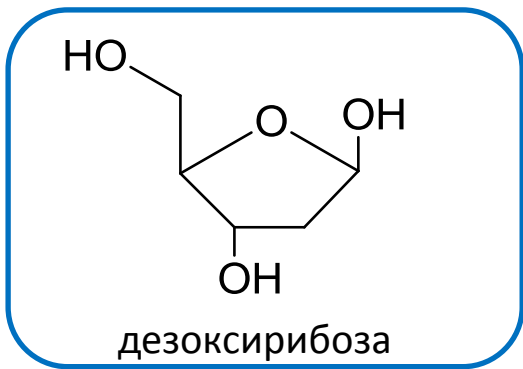
Формиране на хромофора Cu(I)-неокупроин хелат при взаимодействие с антиоксидант



# Изследване на антиоксидантната активност чрез формиране на TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances)

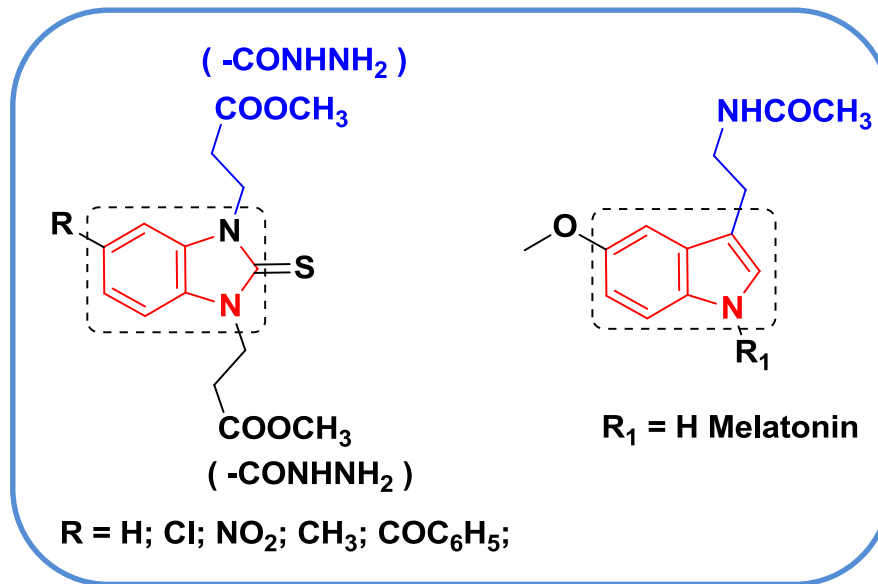


$$\text{Инх. активност (\%)} = 100 \cdot (A_{\text{контрола}} - A_{\text{изсл. проба}}) / (A_{\text{контрола}} - A_{\text{празна проба}})$$



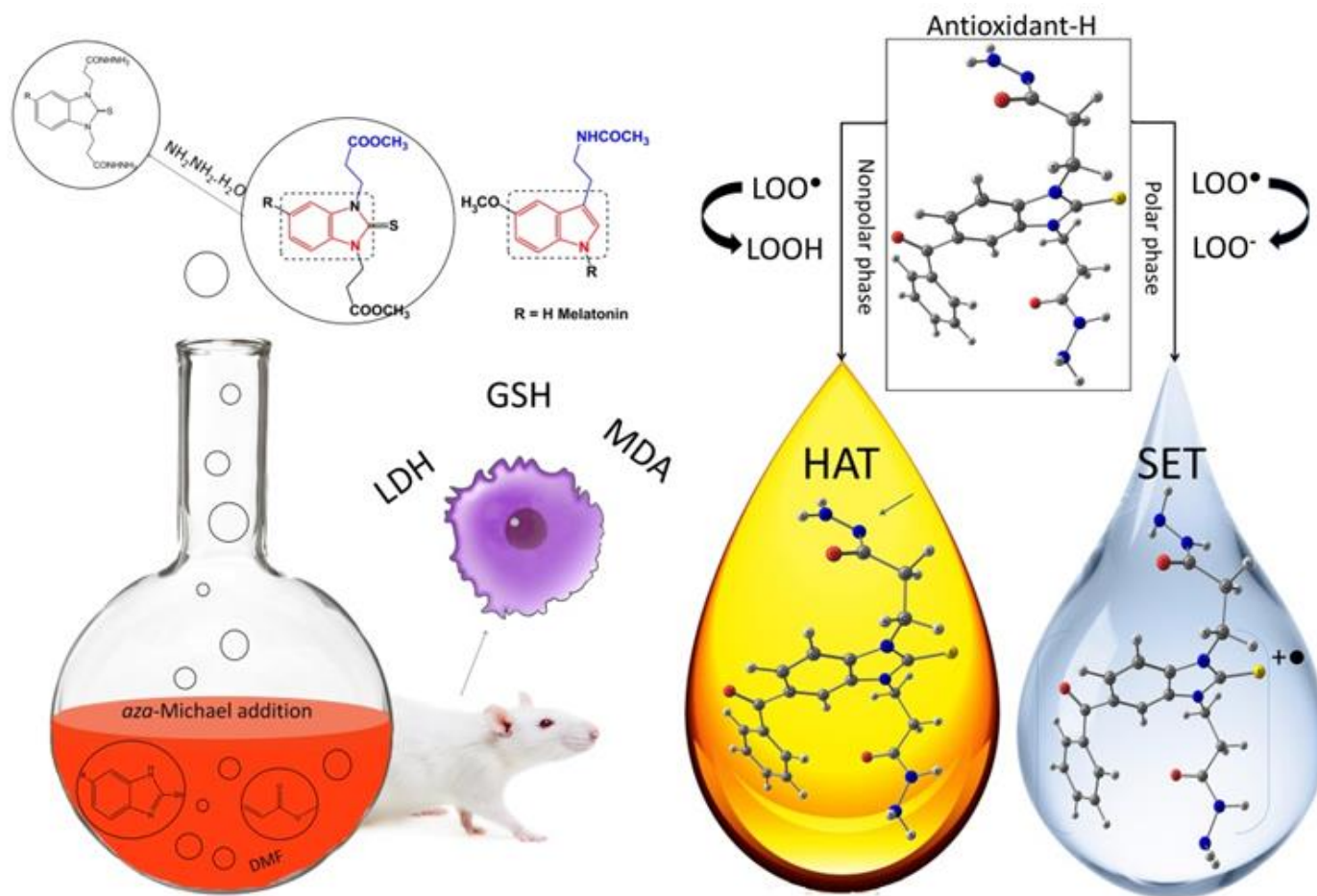
# Перспективи за бъдещи изследвания

Силният интерес към бензимидазоловите производни се поражда от широкия набор фармакологични активности, проявяван от този клас съединения - антибактериална, антивирусна, противоракова, антихелминтна, сърдечно-съдова и др. активности, разнообразните възможности за модифициране на структурата им и не на последно място – структурното им подобие с физиологичния антиоксидант мелатонин, което предлага добри перспективи за получаване на нови бензимидазолови съединения с антиоксидантно действие.

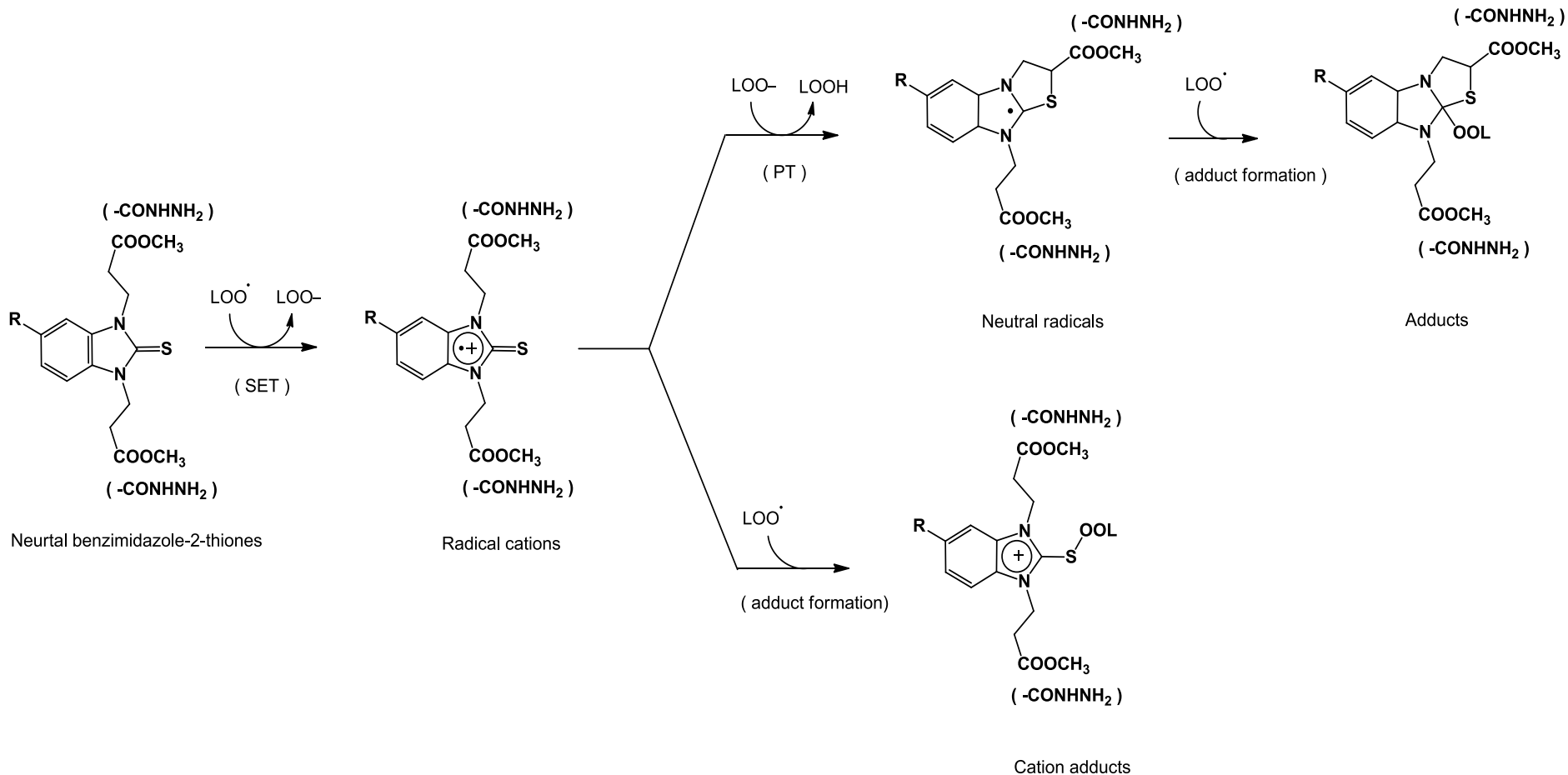


Структура на мелатонин и бензимидазол-2-тион и неговите N-заместени производни

Установената биологична активност очертава бензоилните и незаместените в 5-та позиция на ароматното ядро производни на N,N'-дизаместените бензимидазол-2-тиони като перспективни водещи структури за лекарствен дизайн на съединения с хепатопротективен ефект по механизмите на антиоксидантно действие и инхибиране на липидната пероксидация.

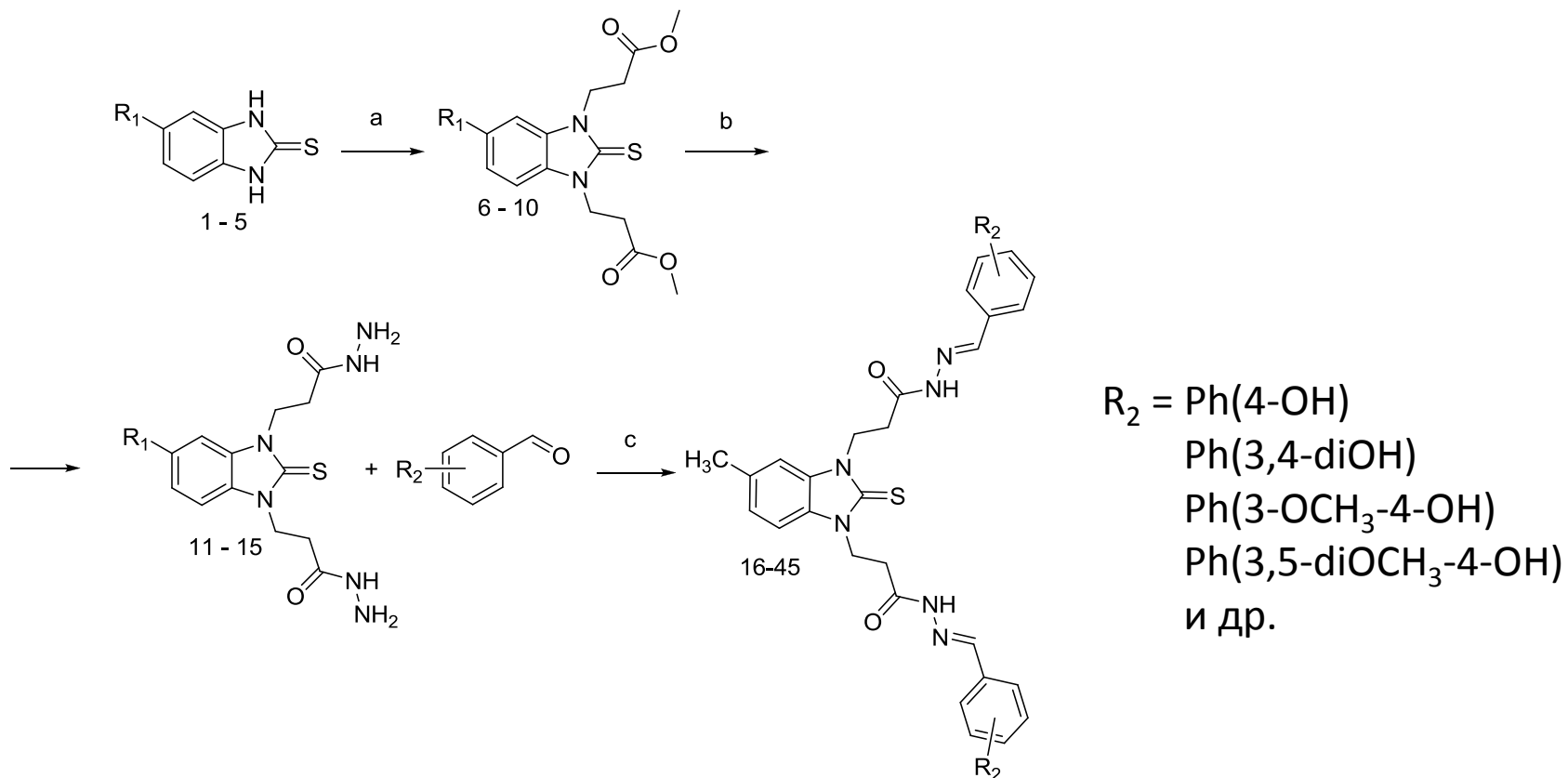


Подобно на мелатонин, за  $N,N'$ -дизаместените бензимидазол-2-тиони се предполага, че могат да претърпяват молекулни прегрупировки и да образуват метаболити, способни също да улавят свободни радикали:



- Синтез на нови бензимидазоли с радикал-улавящи свойства за превенция и лечение на чернодробни заболявания

За наподобяване на мелатониновата структура и подобряване на хепатопротективните свойства, новите производни ще бъдат получени от бензимидазол-2-тион, 5-метоксибензимидазол-2-тион и 5-метилбензимидазол-2-тион чрез въвеждане на хидразонови странични вериги с ароматни фрагменти, съдържащи разнообразни комбинации от хидроксилни и алколсилни групи.



- Изследване на антиоксидантната активност в биологично релевантни системи - определяне на нивото на желязо индуцирана липидна пероксидация и пероксидация на дезоксирибоза;
- Изследване на хепатотоксичност и възможните хепатототективни свойства в модел на индуцирана липидна пероксидация в изолирани хепатоцити на плъх: определяне клетъчната жизненост на хепатоцити, изолирани от плъх; определяне активността на ензима лактат дехидрогеназа (LDH), нивото на редуциран глутатион (GSH) и количеството на малондиалдехид (MDA)
- Изследване на невропротекция върху синаптозоми на инхибиране на MAO-B
- Изследване на индиректни механизми на антиоксидантно действие (инхибиране на ензима ксантинооксидаза);
- Изследване на вероятните механизми на антиоксидантно действие чрез DFT квантово-химични методи;

Благодаря за вниманието!

