

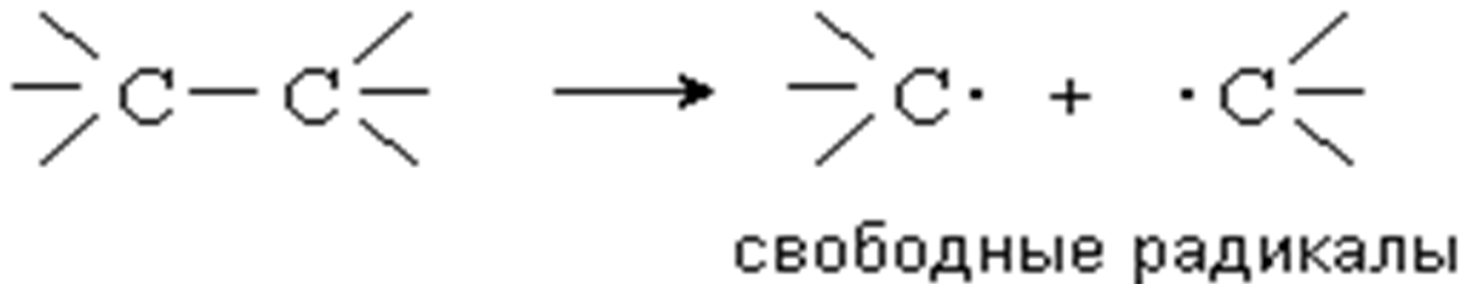
Лекция 4

Свободные радикалы, активные
формы кислорода.

Методы радиоспектроскопии:
ЭПР и ЯМР

Свободные радикалы— частицы (как правило, неустойчивые), содержащие один или несколько неспаренных электронов на внешней электронной оболочке.

- Радикал может образоваться в результате *потери* одного электрона нерадикальной молекулой: $\mathbf{D} \rightarrow \mathbf{e}^- + \mathbf{D}^{\cdot+}$
- или при *получении* одного электрона нерадикальной молекулой: $\mathbf{A} + \mathbf{e}^- \rightarrow \mathbf{A}^{\cdot-}$
- Радикалом может быть электронейтральная молекула:
НО·, Сl·
- органические радикалы:





hydroxide
ion



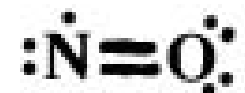
hydroxyl
radical



oxygen



superoxide
ion



nitric
oxide

$O_2^{\cdot -}$ супероксидный анион-радикал

HO_2^{\cdot} гидропероксидный радикал

HO^{\cdot} гидроксильным радикалом

1O_2 синглетный кислород

H_2O_2 перекись водорода

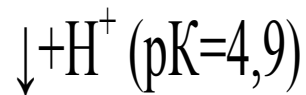
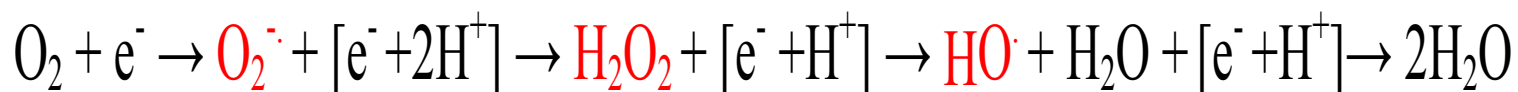
Активные

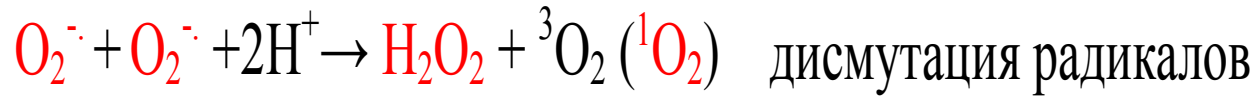
Формы

Кислорода

(АФК)

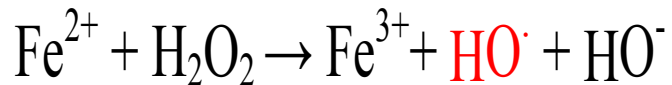
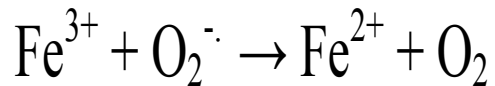
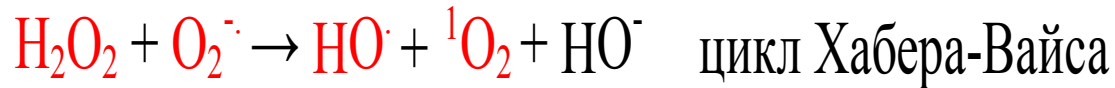
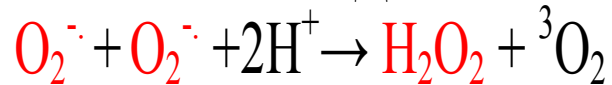
Образование АФК в процессе одноэлектронного восстановления O_2 до H_2O





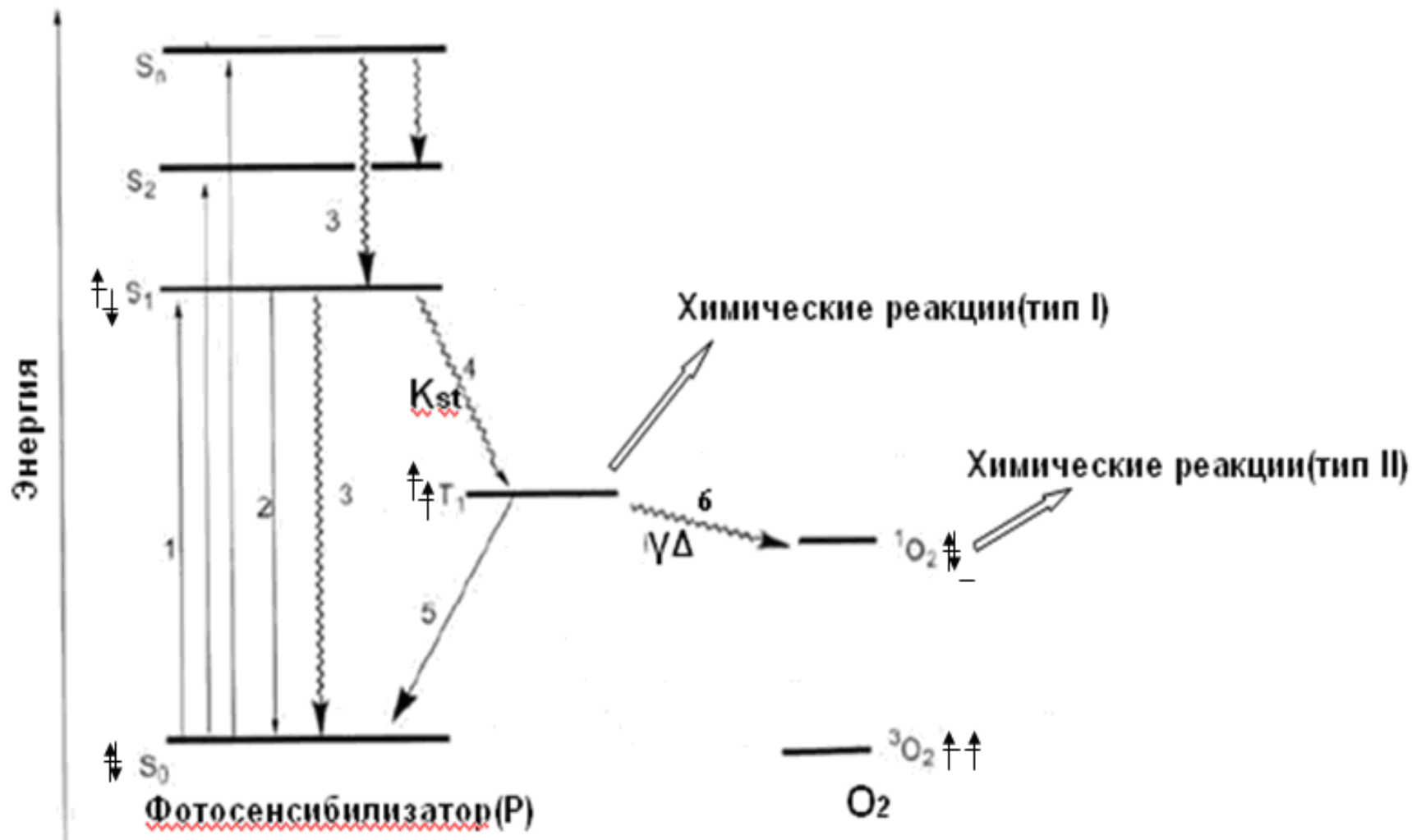
СОД

(супероксиддисмутаза)

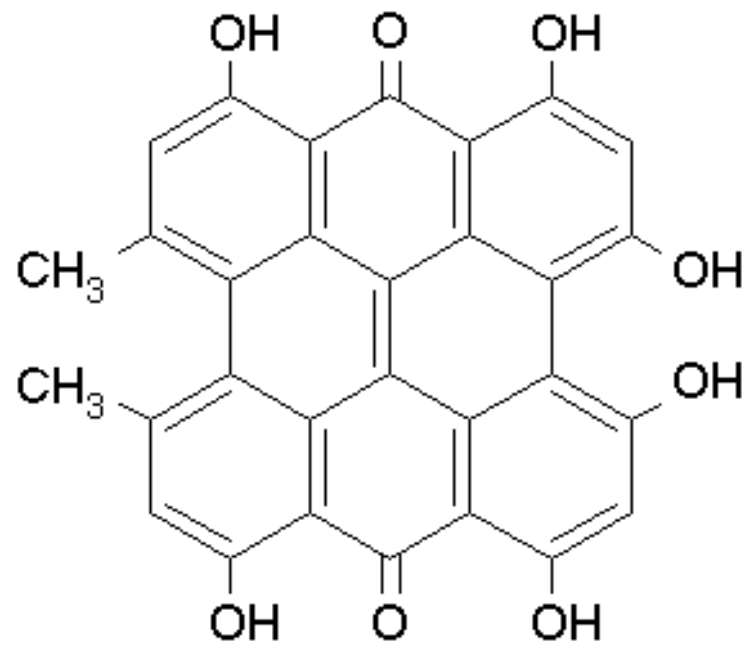


Ксантинооксидаза





- Гиперицин – один из природных красителей, обладающих фотодинамическим действием



Гиперицин

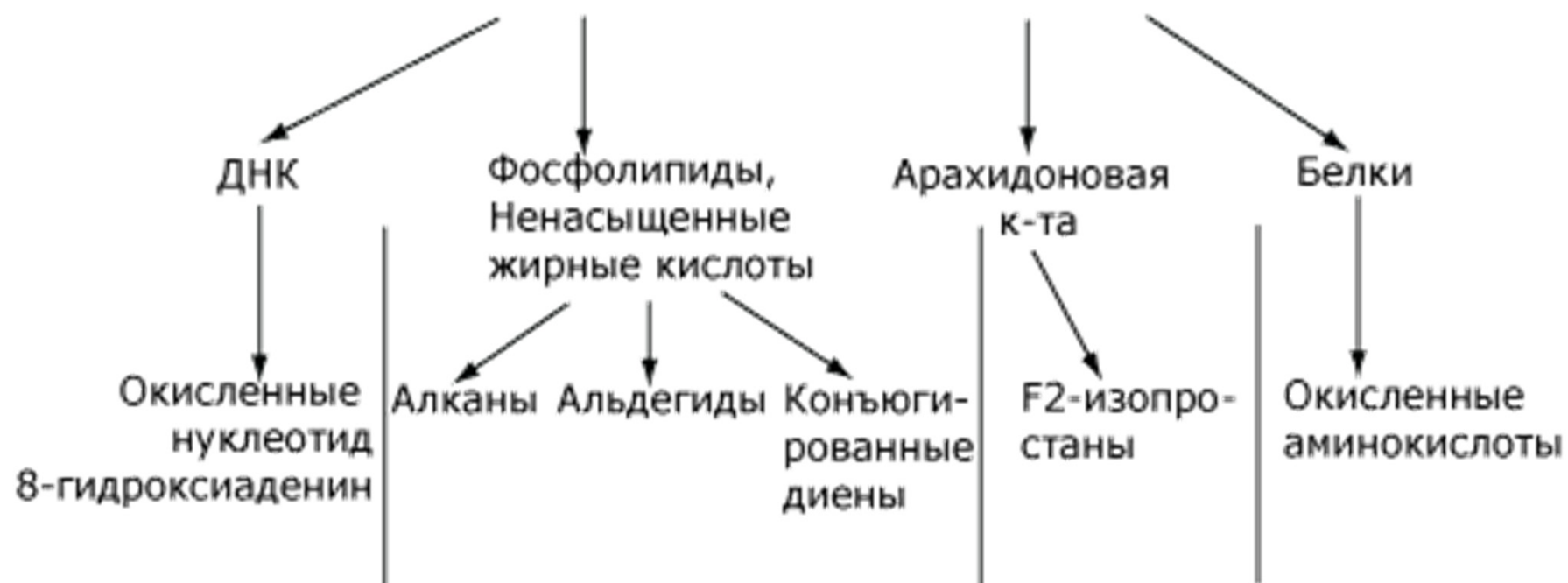


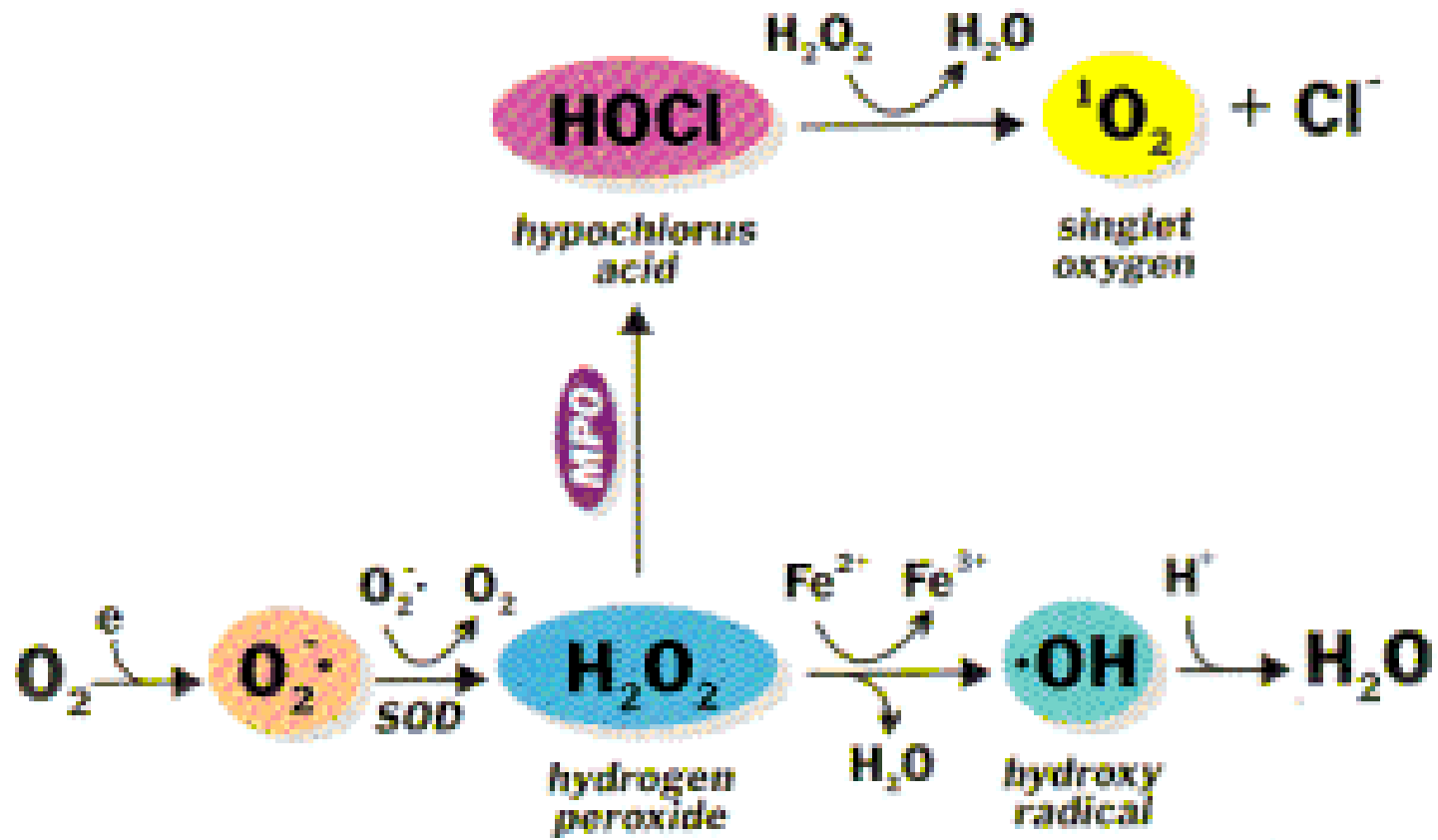
Hypericum perforatum (Зверобой)

Лекарственные средства, вызывающие фотосенсибилизацию

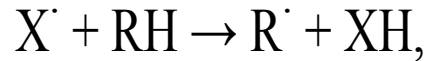
Группа лекарственных средств	Препараты
Антимикробные средства	Амоксициллин Гризеофульвин Доксициклин Миноциклин Окситетрациклин Сульфаниламиды Тетрациклин Триметоприм
Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС)	Диклофенак Ибупрофен Индометацин Пироксикам Фенбуфен Фенилбутазон
Антидепрессанты	Амитриптилин Флуоксетин
H ₁ - и H ₂ -блокаторы	Ранитидин Циметидин
Гипотензивные средства	Метилдопа Миноксид Нифедипин

Активные формы кислорода (АФК)

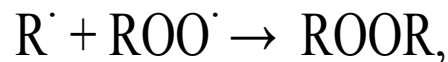
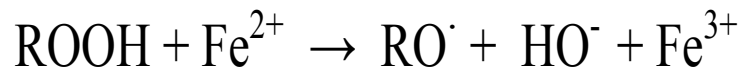
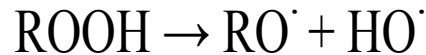
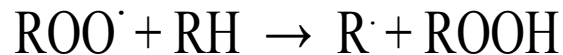




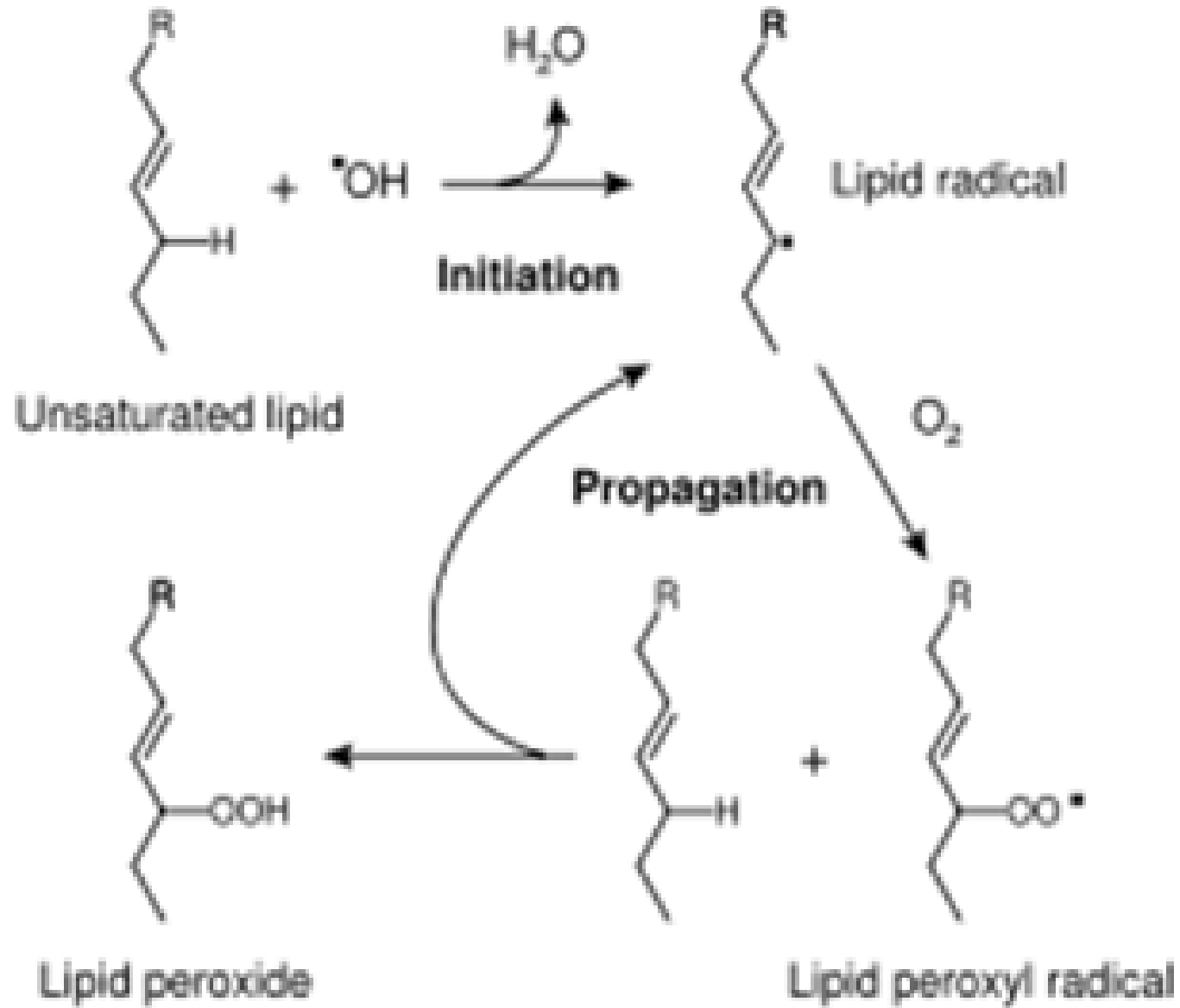
Перекисное окисление липидов



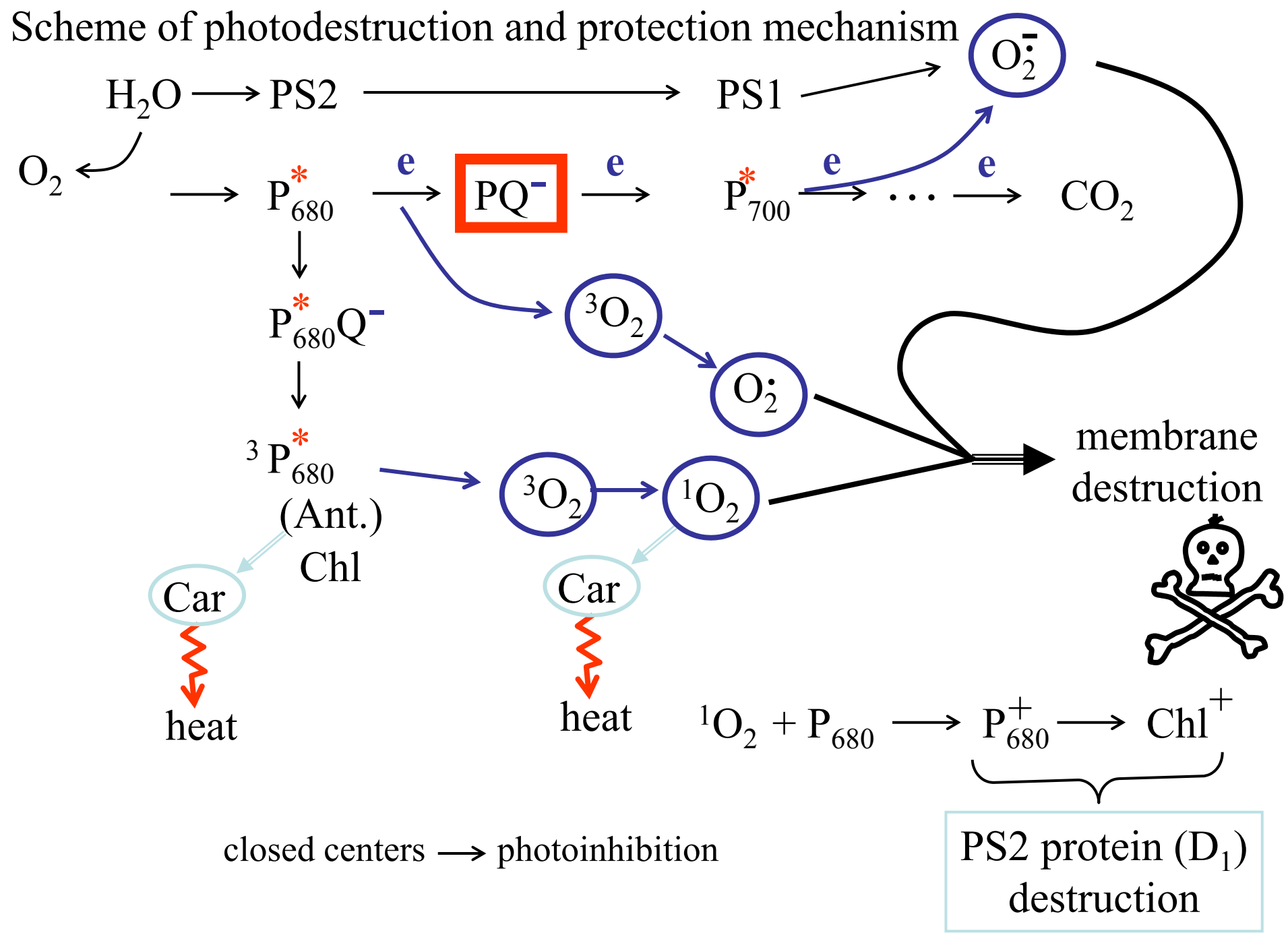
где X^{\cdot} - свободный радикал какого-либо соединения,
 RH – неокисленный липид, R^{\cdot} - алкильный радикал
липида, XH – неактивное соединение.



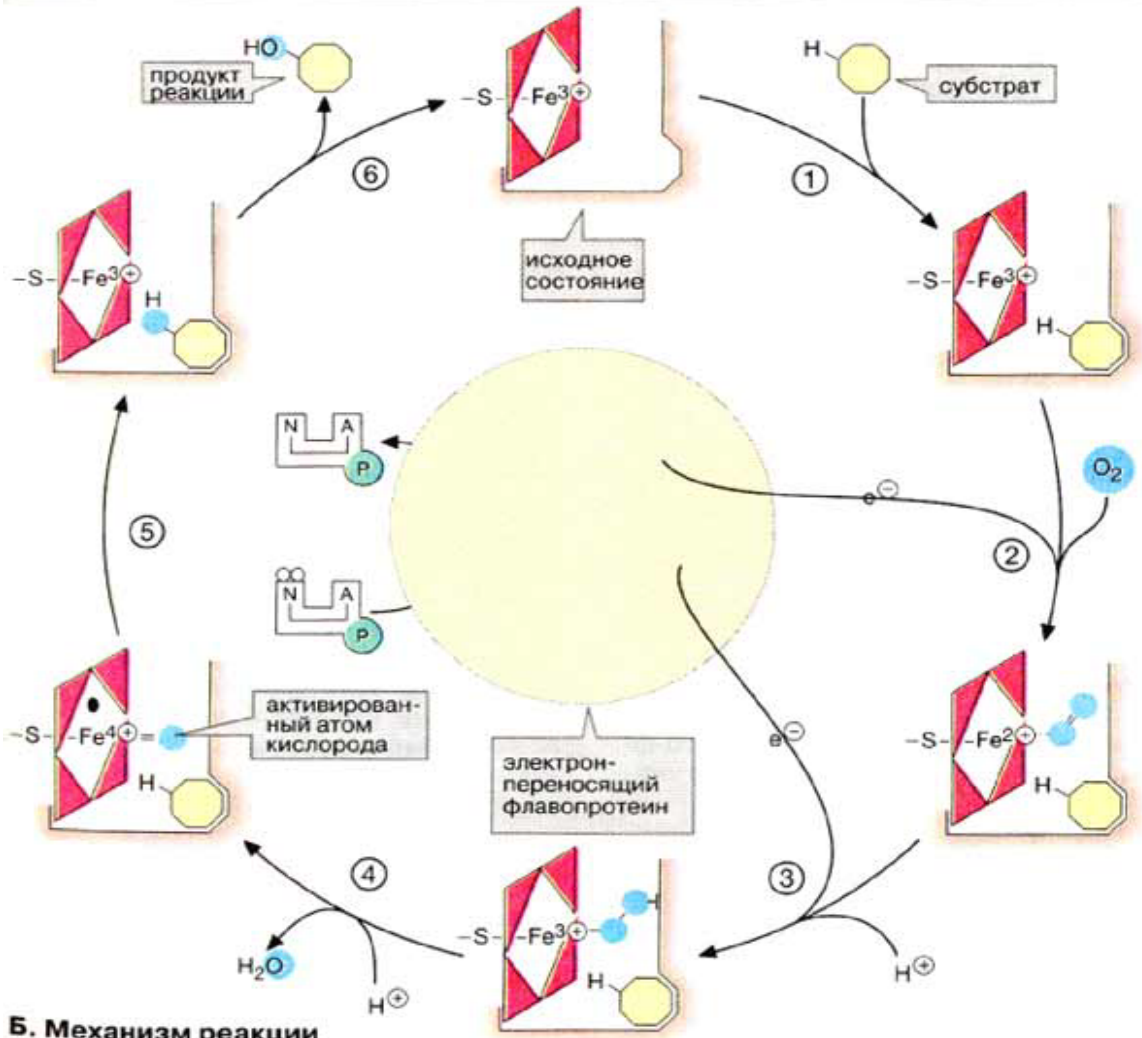
возбужденном состоянии \rightarrow хемилюминесценция)



Scheme of photodestruction and protection mechanism



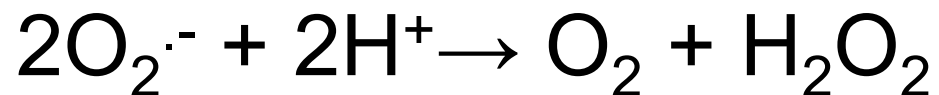
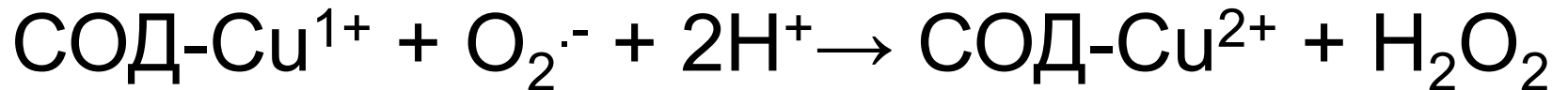
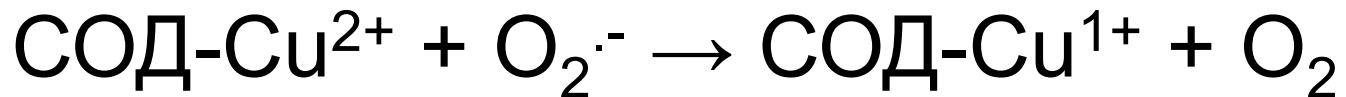
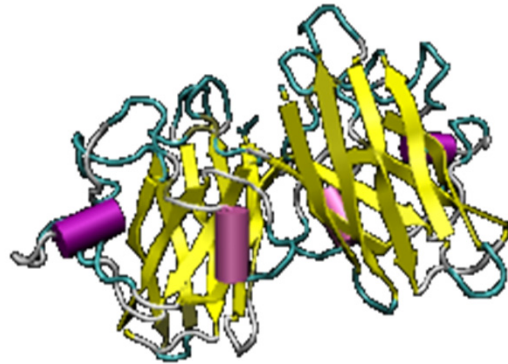




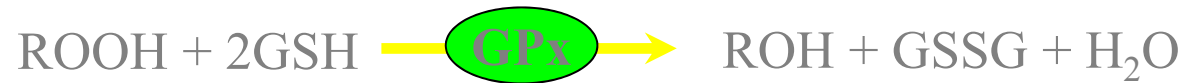
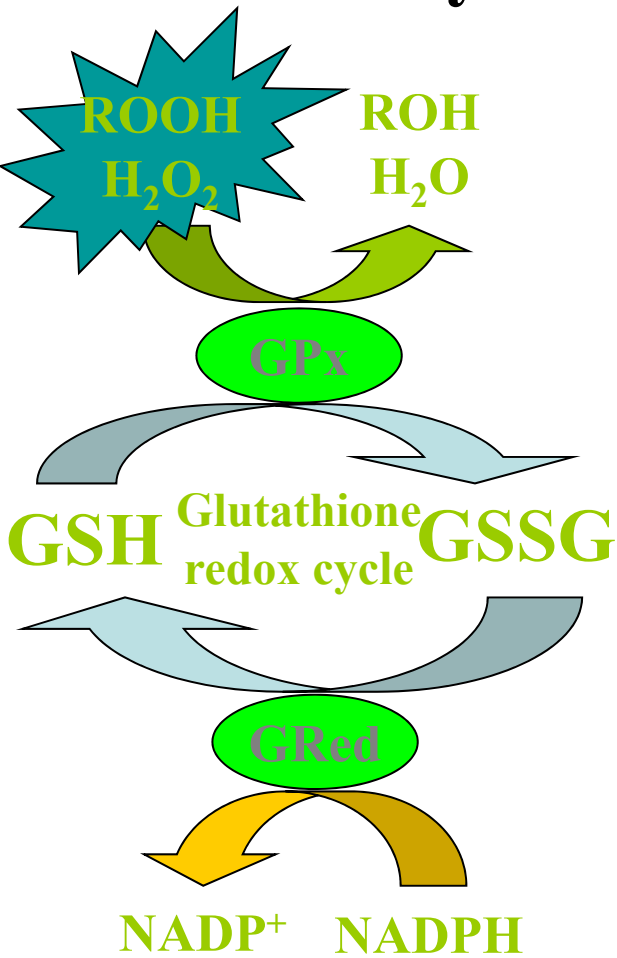
Б. Механизм реакции

СОД

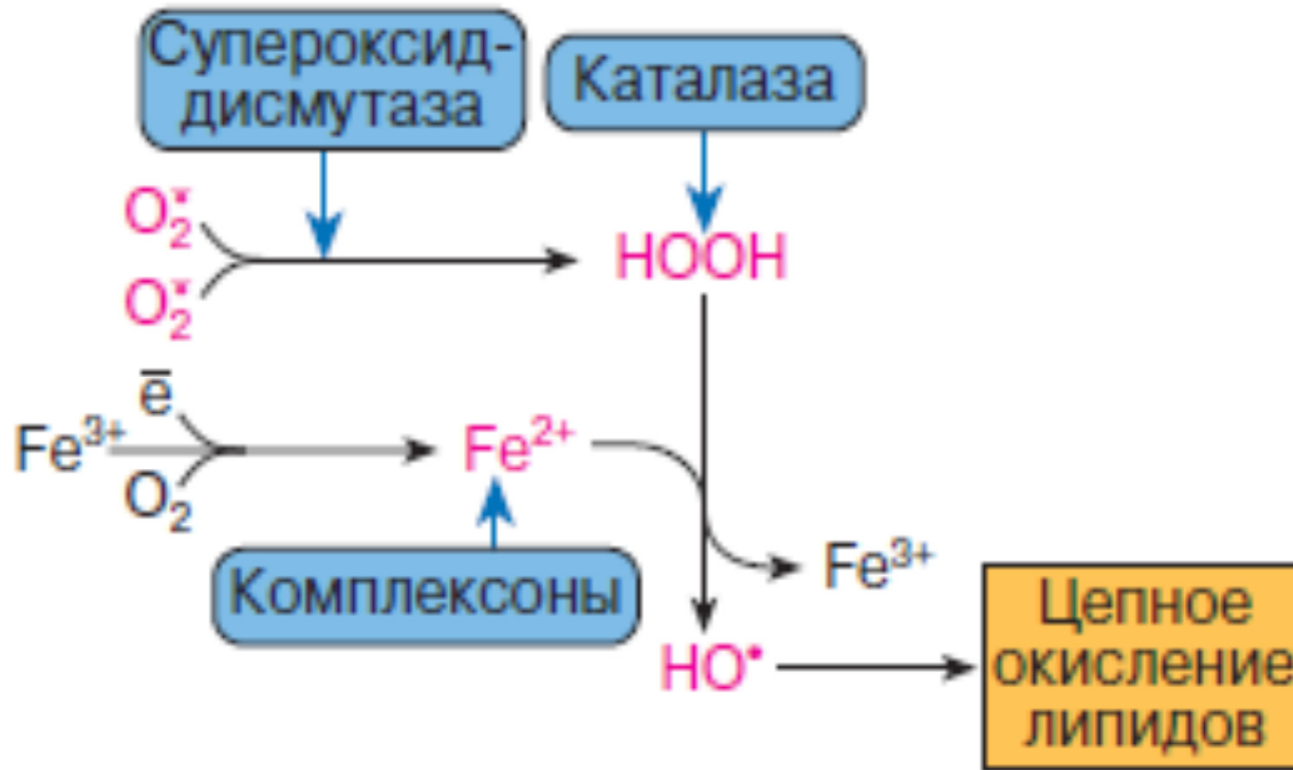
Первая линия ферментативной обороны клетки против АФК



Глутатионпероксидазная система

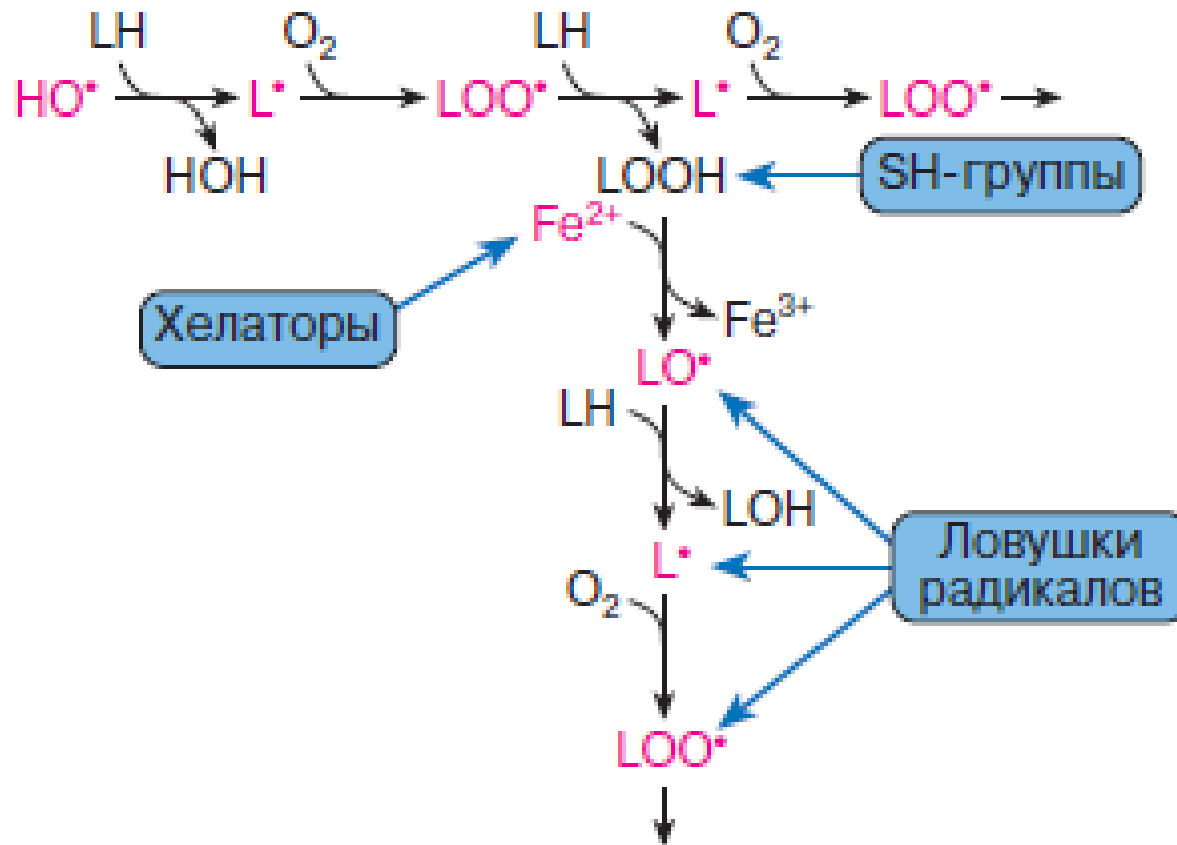


Антиоксиданты водной фазы



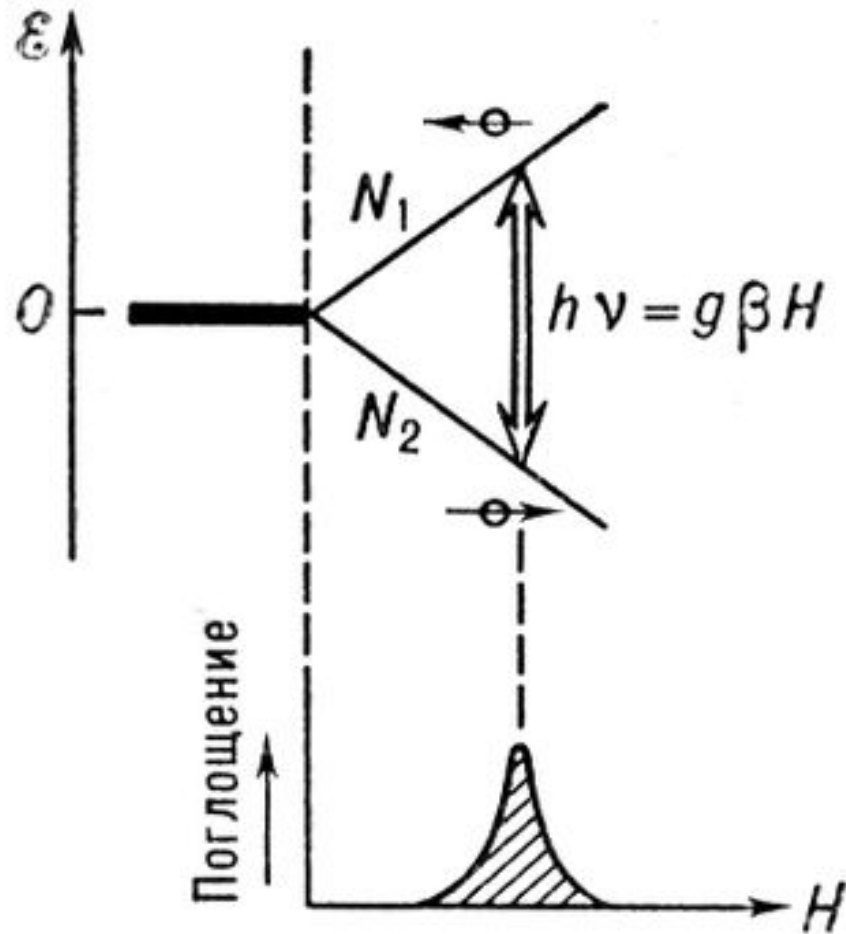
- Супероксиддесмутаза (SOD), Каталаза, комплексоны (ферритин, трансферрин, карнозин), глутатионпероксидаза (GPx), церулоплазмин, гем-оксигеназа

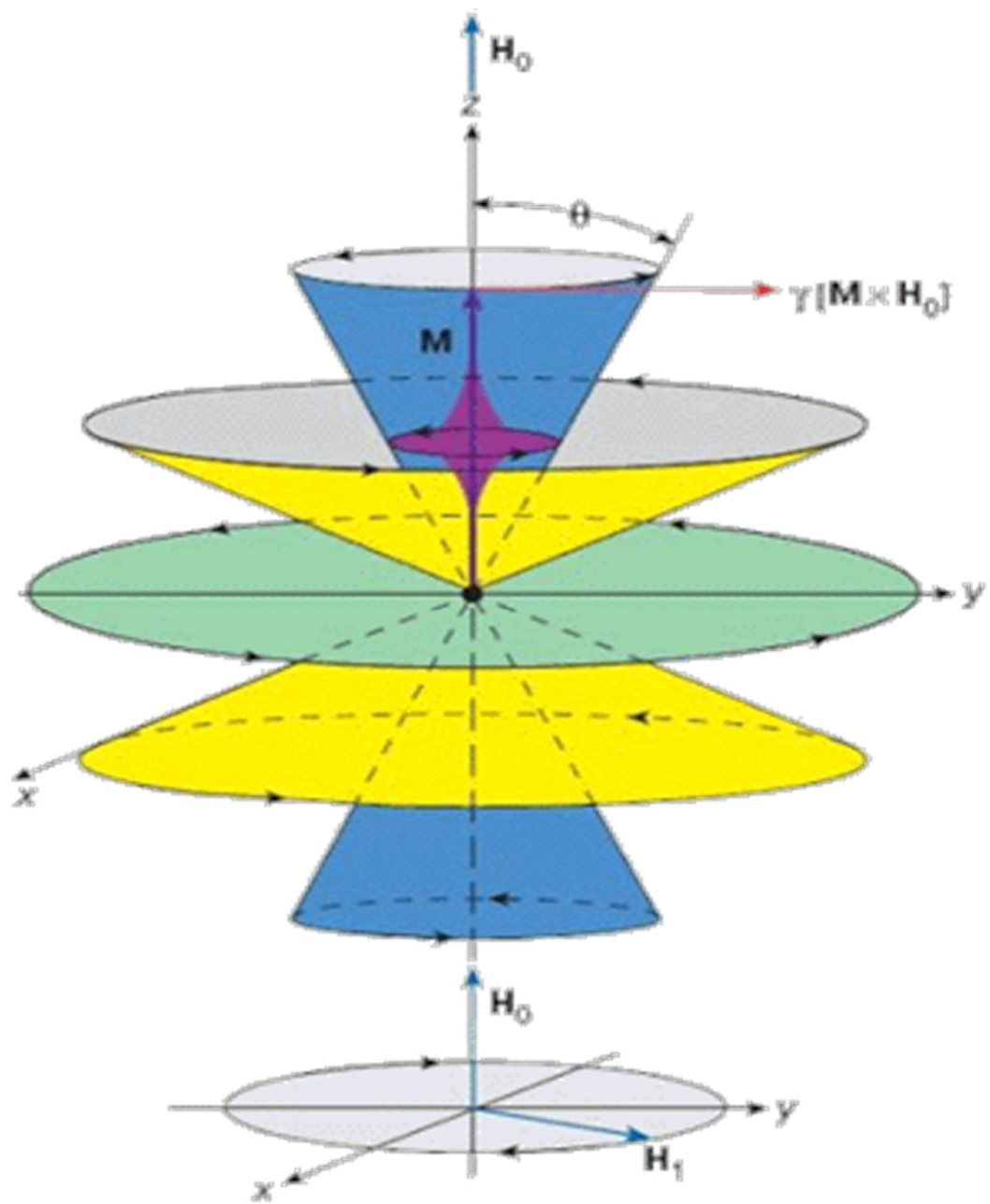
Антиоксиданты, тормозящие развитие цепных реакций в липидной фазе

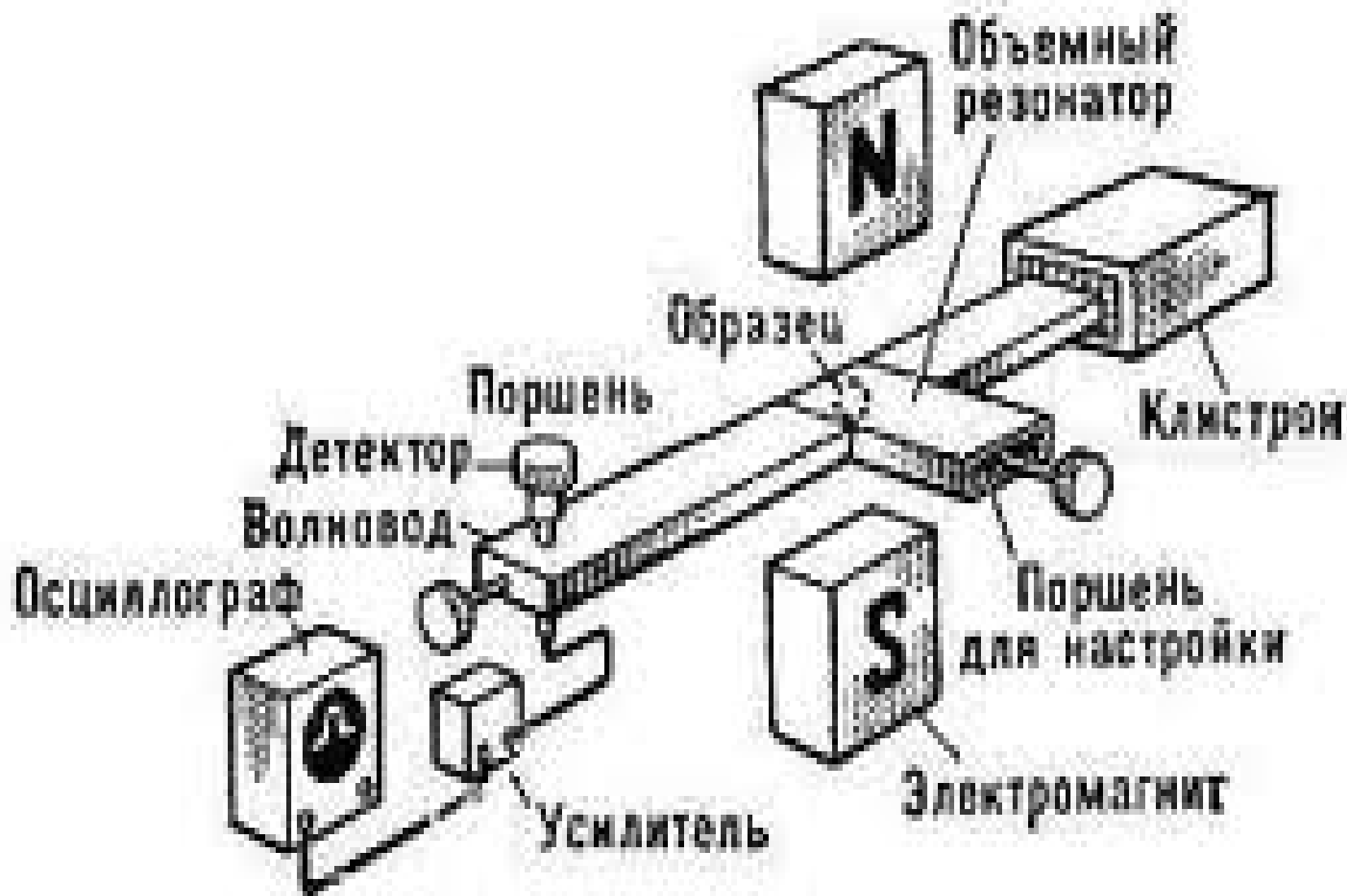


- Фосфолипазы, GPx, ловушки радикалов (α-токоферол (витамин E), убихинон (коэнзим Q), тироксин), карнозин, тушители синглетного кислорода (β-каротин)

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)



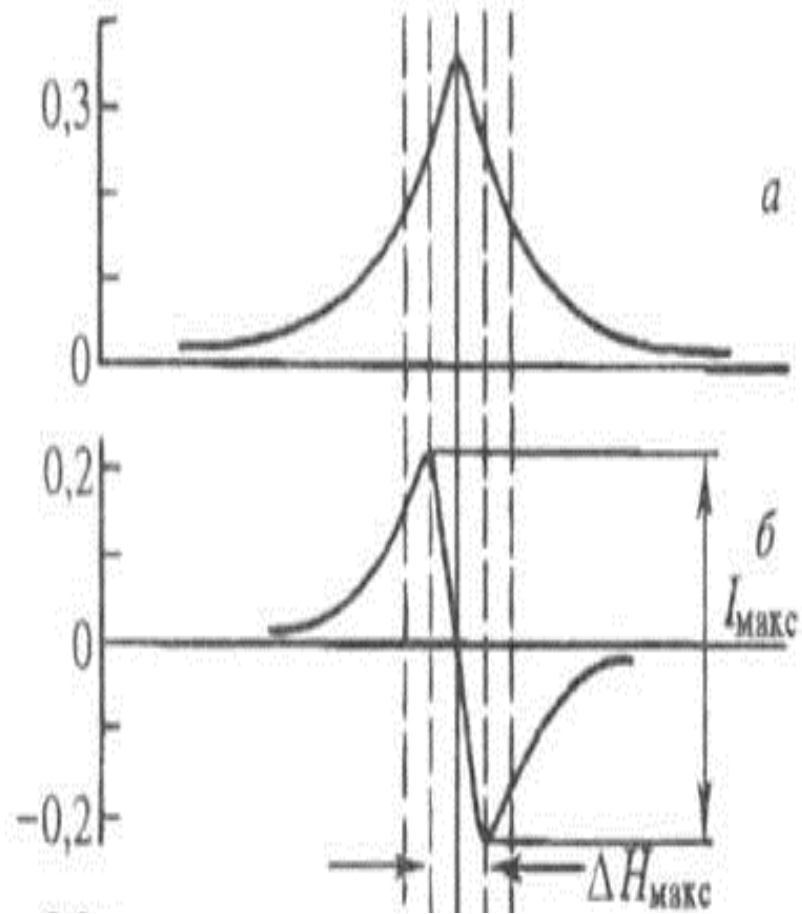


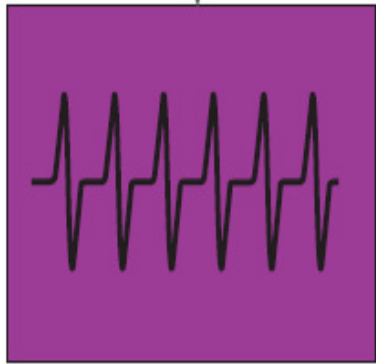
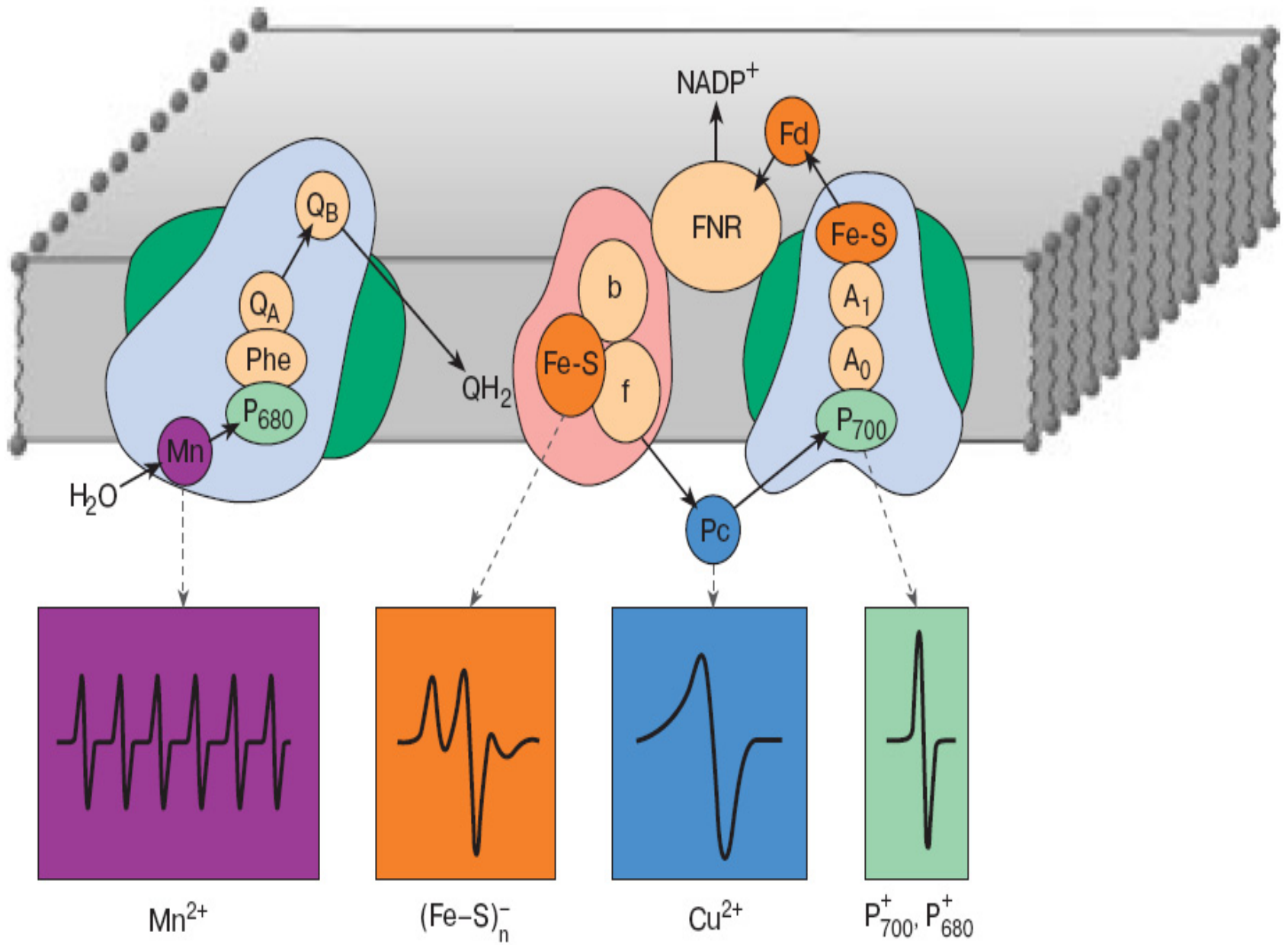


ЭПР-спектрометр



Спектр ЭПР

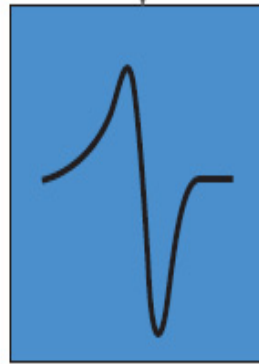




Mn^{2+}



$(Fe-S)_n^-$

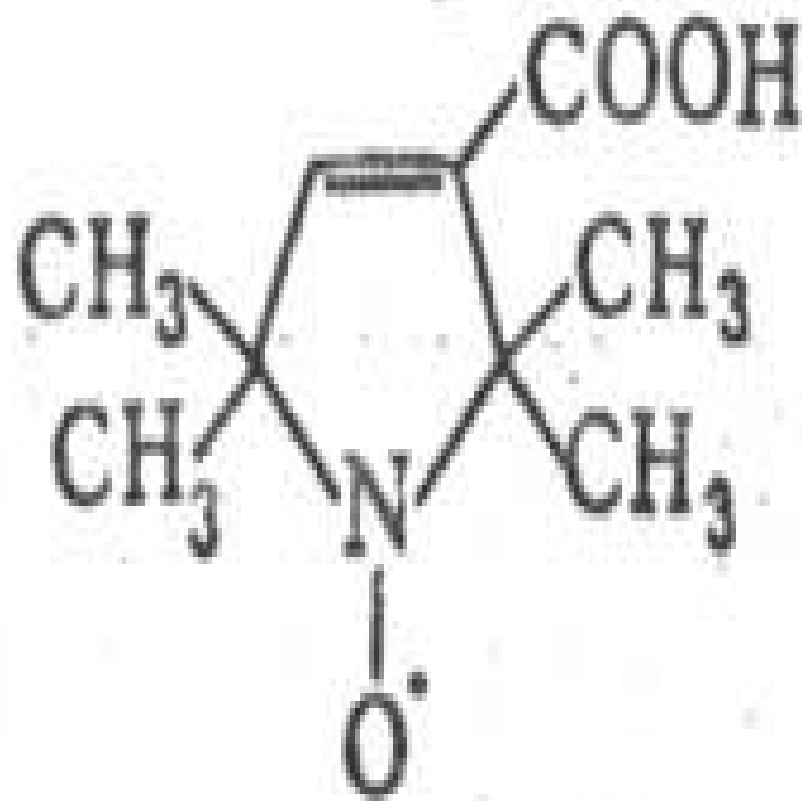
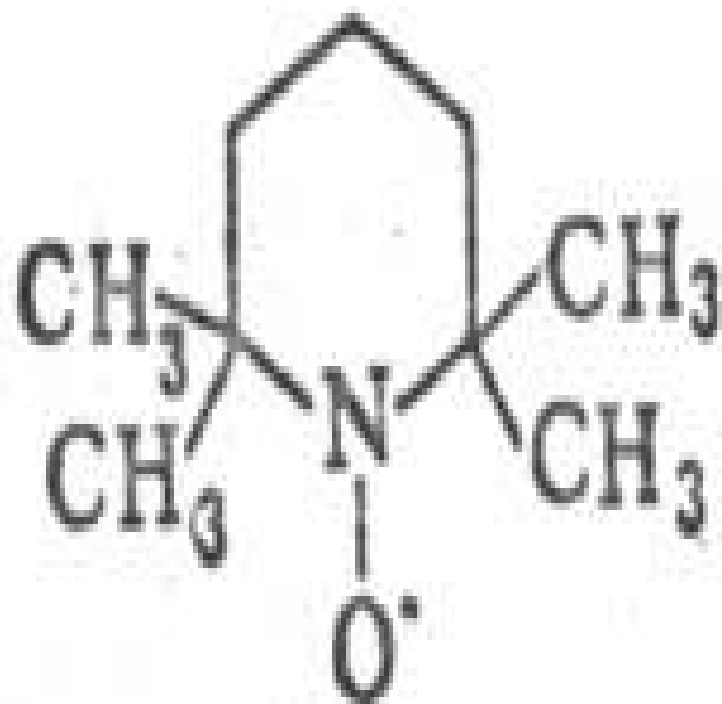


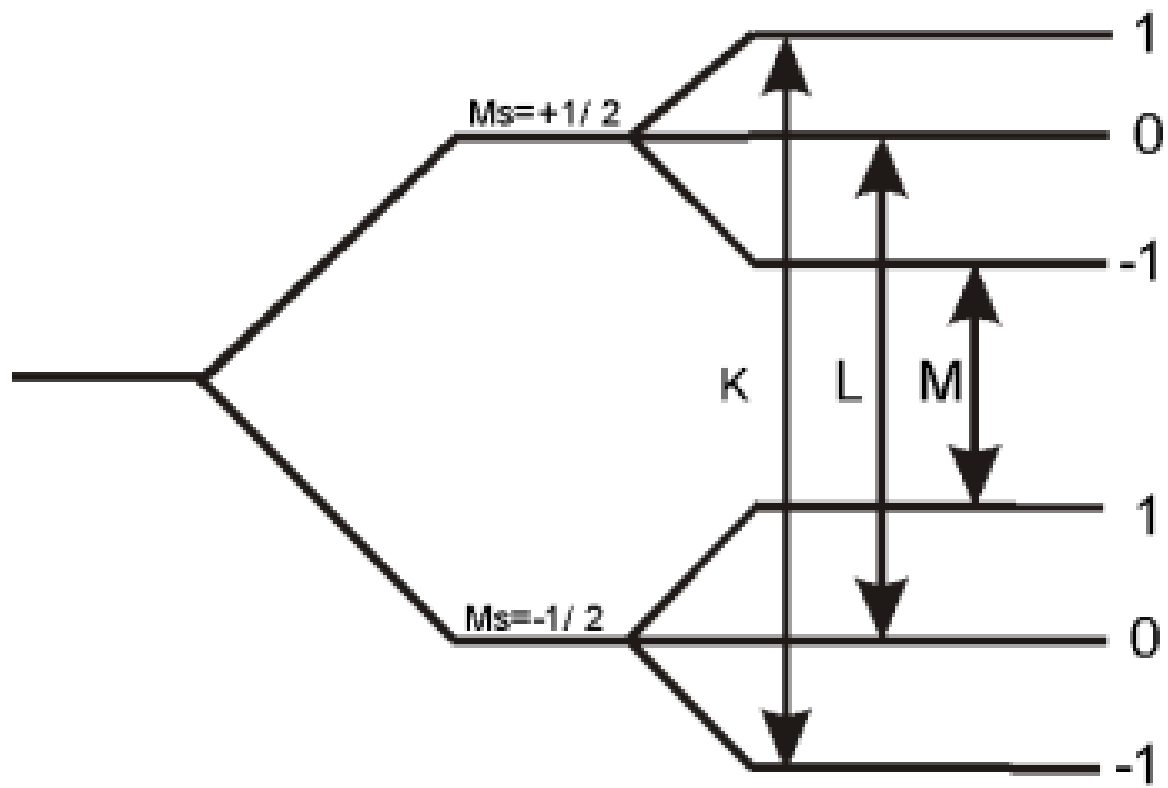
Cu^{2+}

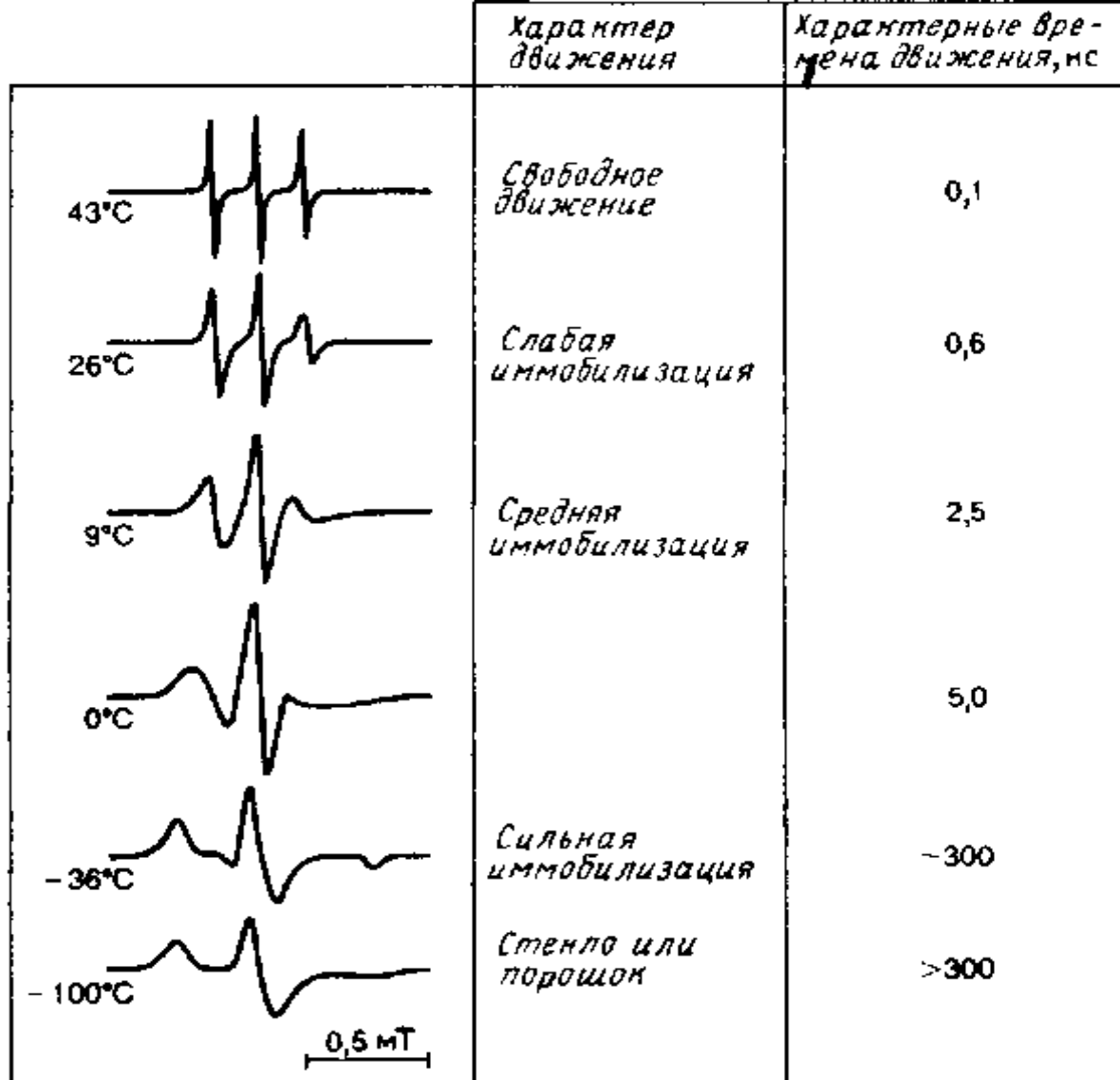


P_{700}^+, P_{680}^+

Иминооксильные радикалы







Зависимость ЭПР-спектров нитроксидной спиновой метки от скорости молекулярного вращения. Спектры, представляющие собой первую производную сигнала, получены при разных температурах и, следовательно, при разной вязкости среды [182].

Спектры ЭПР спиновой метки при взаимодействии с SH-группами белка

В основе метода спиновых меток лежит тот же принцип изменения спектра ЭПР нитроксильного радикала в зависимости от скорости и изотропности его вращения. Отличием же метода является тот факт, что спиновая метка ковалентно связывается с другой более или менее крупной молекулой или макромолекулой.

1. Водная фаза



2. Поверхностный слой



3. Глубинный участок



Белок



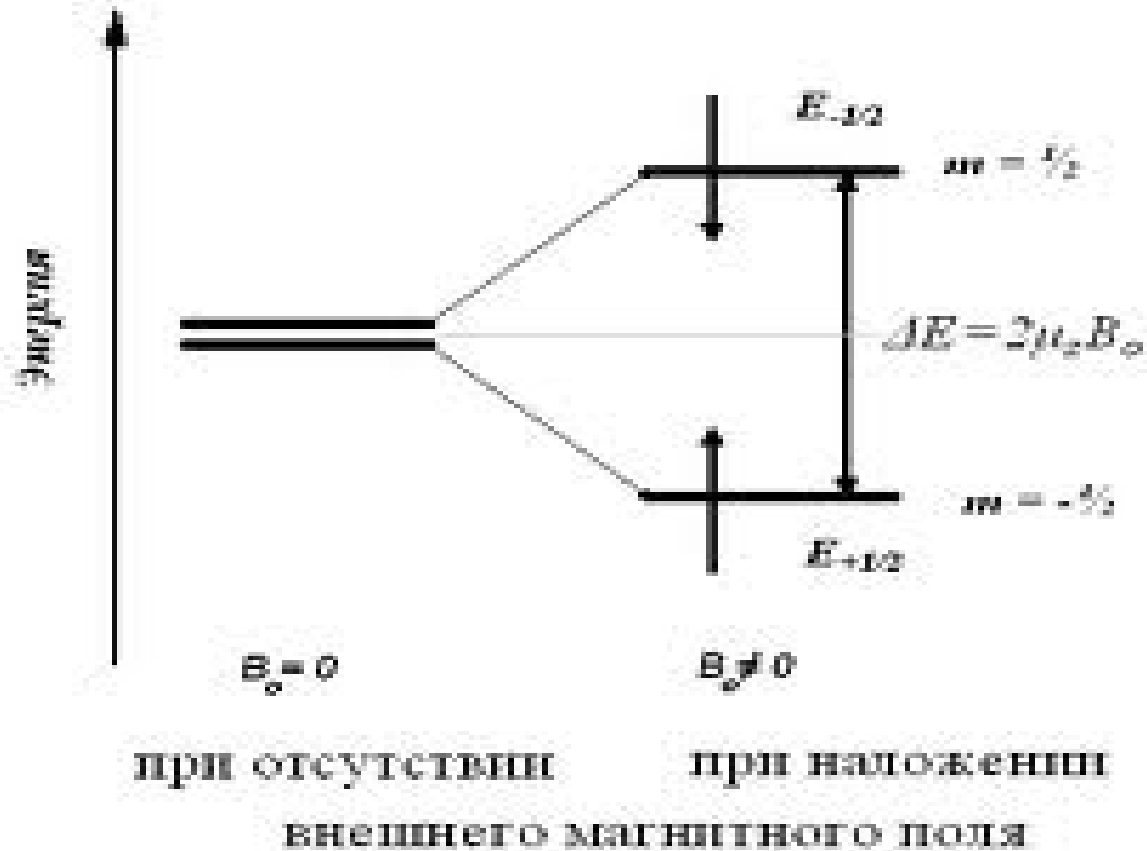
ОСНОВЫ МЕТОДА СПИНОВЫХ ЛОВУШЕК (spin trapping assay)

- Концентрация свободных радикалов в клетках и тканях не превышает **10** нМ.
- Минимальная концентрация свободных радикалов, которую можно обнаружить методом ЭПР **100** нМ



Предложен в 1965-67 независимо Копака Т. (Япония), R. Lagercranz (Швеция) и E. Janzen (Канада).

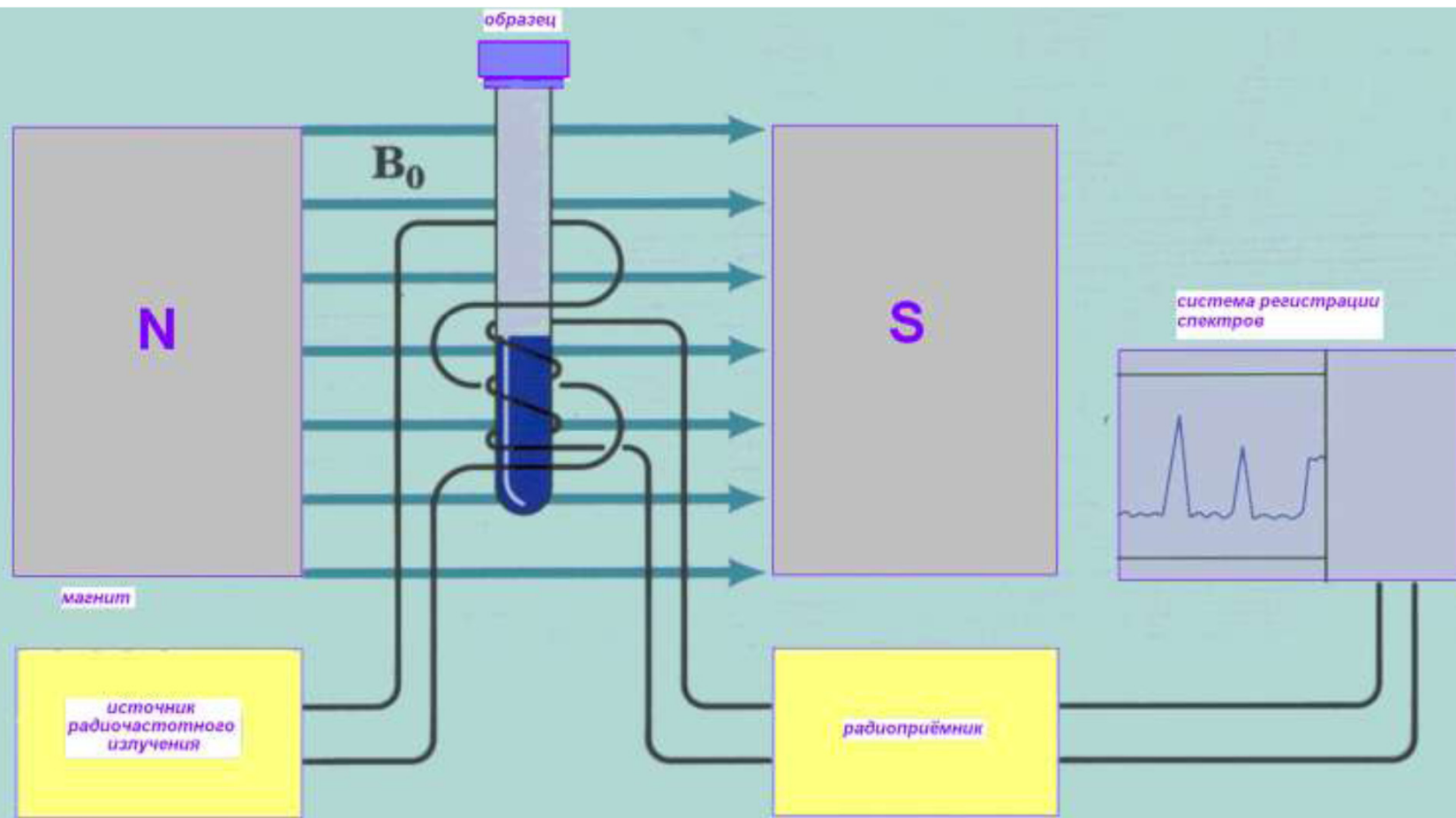
Ядерный магнитный резонанс (ЯМР)



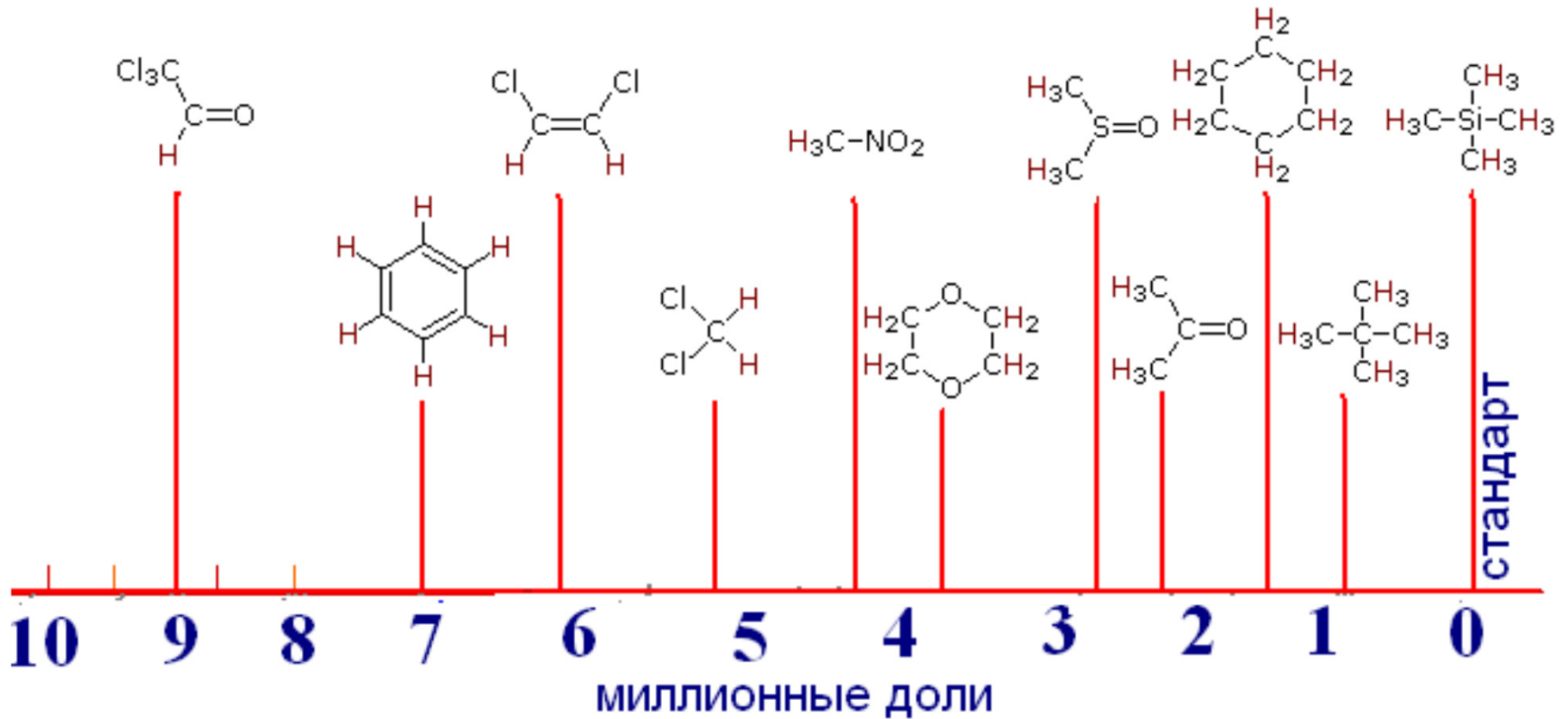
ЯМР

- **Ядра с четным числом протонов и нейтронов (четный заряд Z и четная масса M не имеют магнитных моментов**
- **(спин $I = 0$) 12**
- Все другие ядра имеют магнитные моменты и их можно изучать методом ЯМР (на конец 2000 года были измерены магнитные моменты 118 стабильных изотопов 104 химических элементов)
- **Спиновое квантовое число ядра I может принимать**
- **полуцелые и целые значения от $1/2$ до $9/2$.**
- **Спин определяет число возможных (разрешенных)**
- **ориентаций магнитного момента во внешнем**
- **магнитном поле: $N = 2I + 1$**
- •

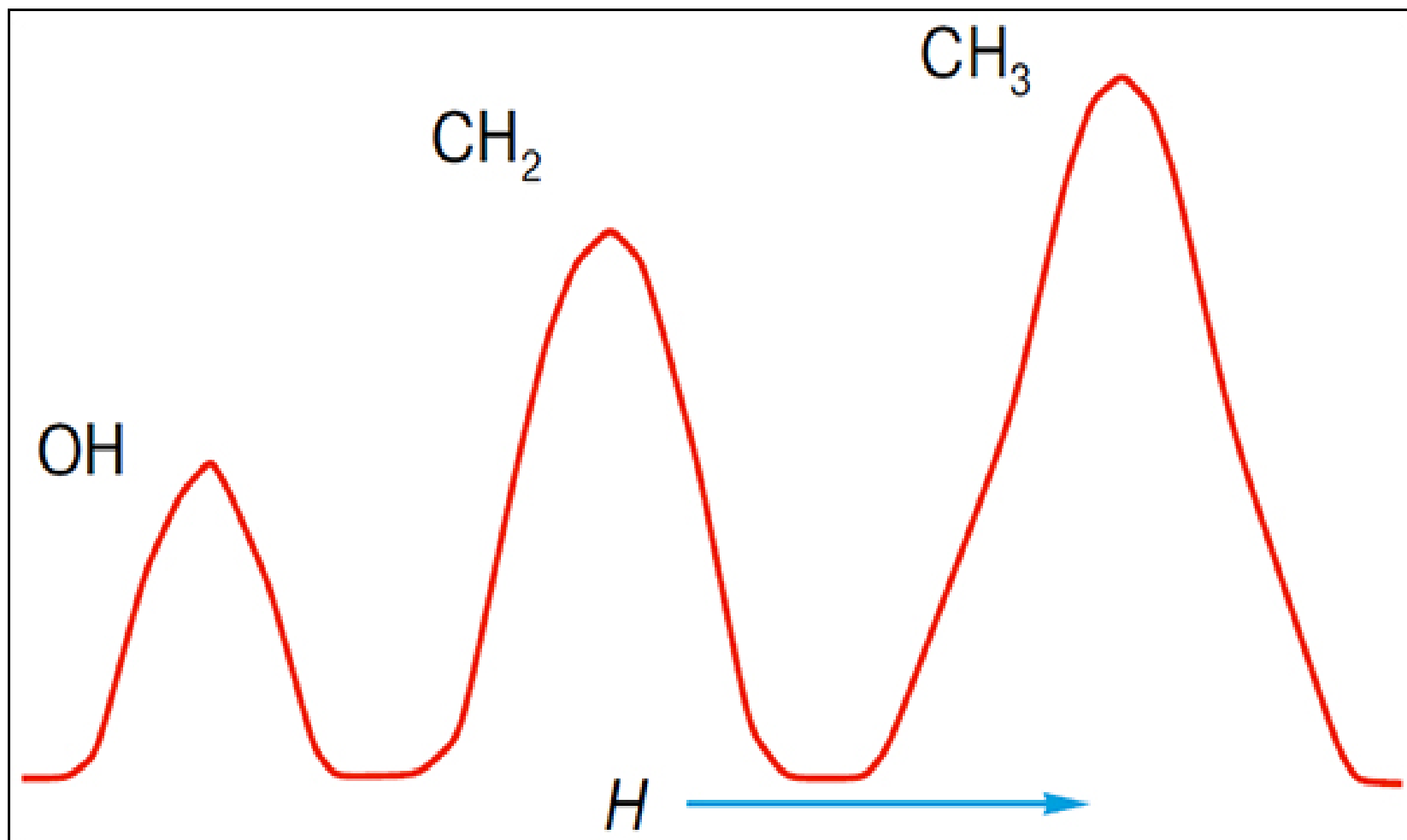
Схема простейшего ЯМР спектрометра



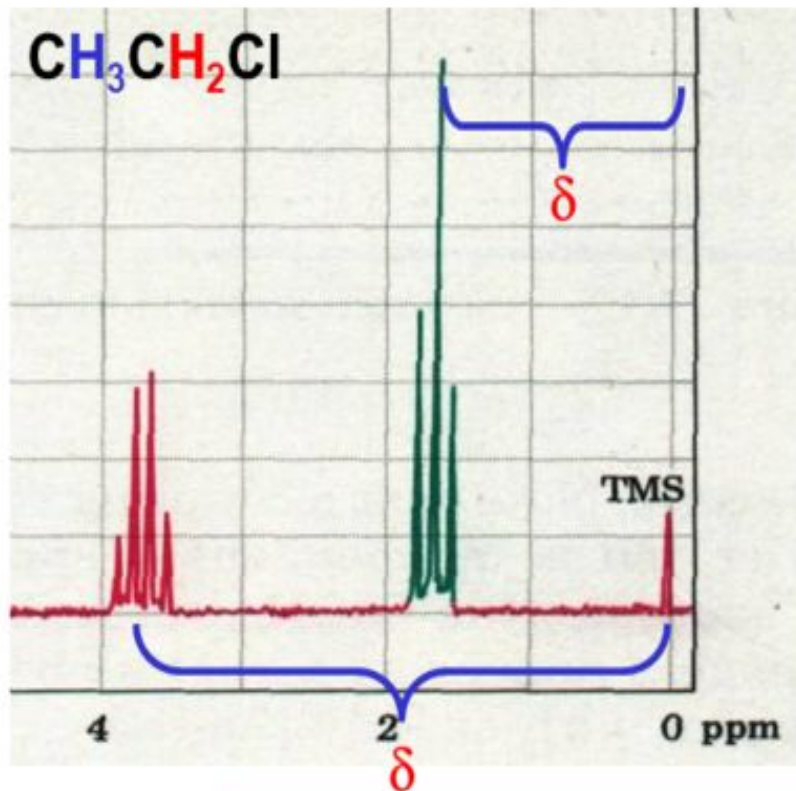
Химические сдвиги сигналов различных протонов в спектрах **протонного** магнитного резонанса.



Спектр ЯМР этилового спирта



Химический сдвиг



Электроны, прецессируя вокруг вектора внешнего магнитного поля, создают дополнительный магнитный момент:

$$H' = \sigma * H_0$$

H' – дополнительный магнитный момент,

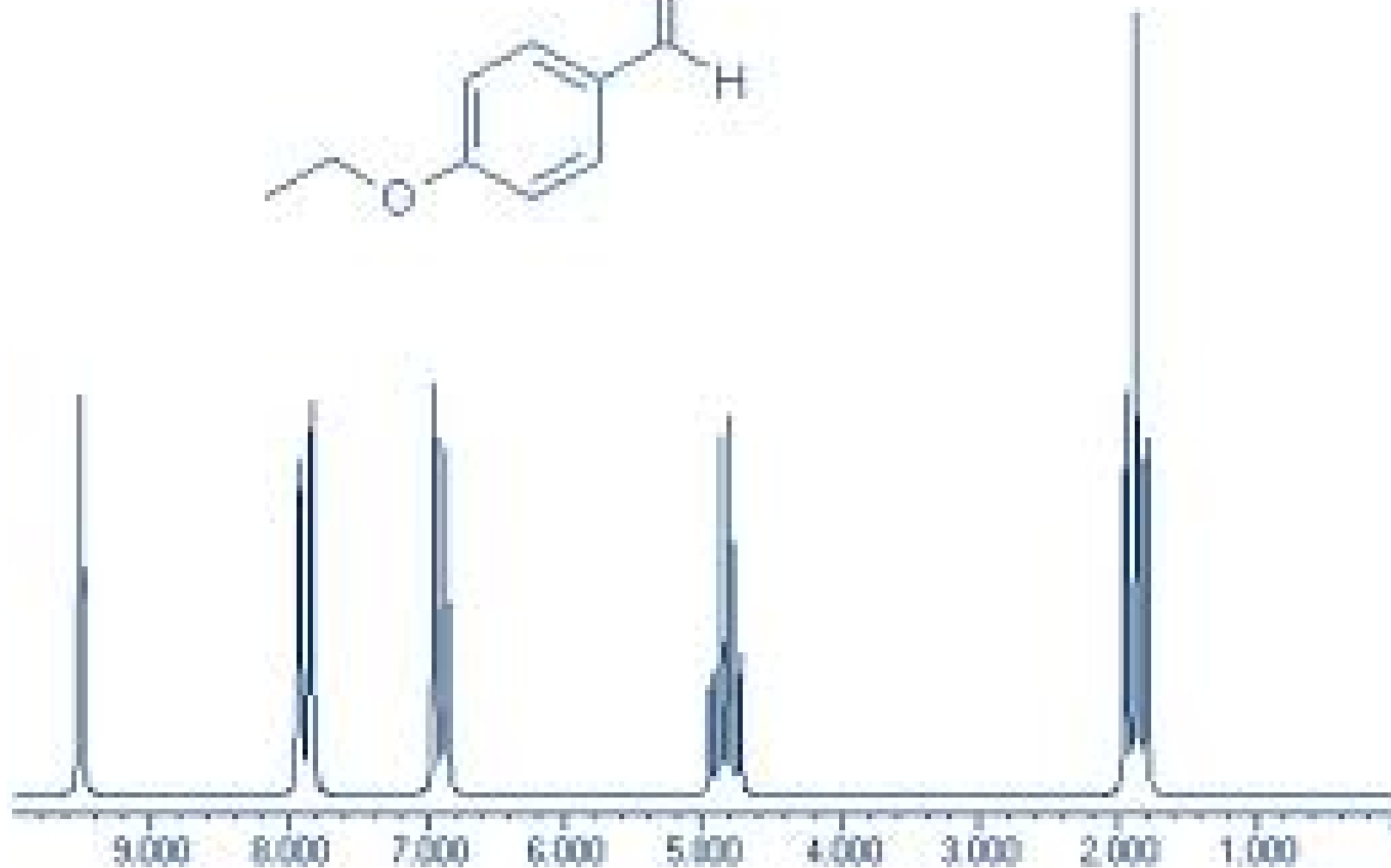
H_0 – вектор внешнего магнитного поля,

σ - константа экранирования

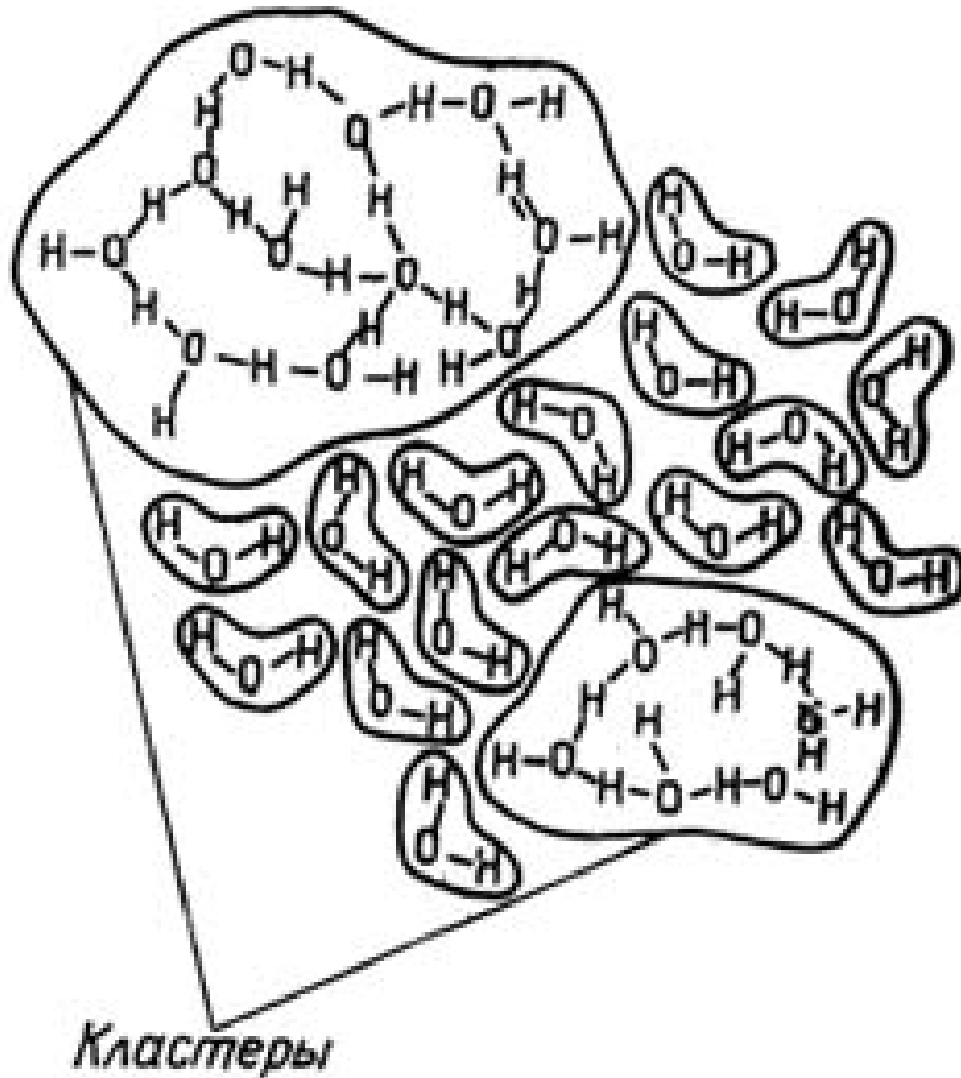
$$H_{\text{эфф}} = H_0 - H' = H_0 - \sigma H_0 = H_0(1 - \sigma)$$

Химический сдвиг измеряется в относительных единицах, называемых «миллионными долями» (“ppm”) и вычисляется как:

$$\delta = \Delta\nu/\nu_0 * 10^6 = \Delta H/H^0 * 10^6$$



Кластерная структура воды





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

