

Radikali u živim organizmima

Brunislav Matasović

Insitut „Ruđer Bošković“, Zagreb, Bijenička cesta 54, tel: 01/4571 211

Pregledni rad
UDK 54.024:573.7
Prispjelo: lipanj 2010.

U ovom kratkom radu dan je pregled nekih novih istraživanja i spoznaja iz područja kemije radikala i funkcije radikala u organizmu. On treba poslužiti i kao kratki podsjetnik na važnost radikala u organizmu. Melanin je spomenut i kao primjer dugoživućega radikala i kao vrlo važan spoj (boja) u živih bića. Dan je sažeti pregled novih istraživanja vezanih za reduktivno-oksidativne procese kao i podsjetnik na načine stvaranja važnih radikala koji sudjeluju u tim procesima. Gdje je bilo moguće prikazane su nove znanstvene dvojbe i viđenja.

Ključne riječi: Radikali – kemija; Melanini; Oksidativni stres

Radikali

Radikali (1) su takve čestice koje karakterizira posjedovanje nesporenoga elektrona. Oni mogu biti nabijeni ili neutralni, ali su u svakom slučaju najčešće vrlo reaktivne te samim time kratkoživuće čestice. Uobičajeni reaktivni radikali mogu se stabilizirati smještanjem u inerten medij pri temperaturi tekućega dušika.

Za početak, spomenimo i da osim najčešćih slučajeva gdje su radikali kratkoživuće vrste, postoje i dugoživući radikali. Dugoživuće radikale dijelimo na stabilne i trajne radikale. Od organskih radikala, veću stabilnost pokazuju ciklički radikali.

Stabilni su radikali oni radikali koji se pojavljuju u π -elektronskim sustavima. Trajni su radikali oni radikali kod kojih su prostorne smetnje oko radikalnoga centra tolike da iznimno otežavaju radikalnu da reagira s drugom molekulom. Primjer stabilnoga radikala je radikal koji nastaje iz α -tokoferola (vitamina E) tijekom njegova antioksidativnog¹ djelovanja (2), dok su primjeri trajnih radikala trimetilfenilni radikal, nitroksidi i npr. melanin (3).

Molekule mogu imati i dva radikalska centra. Iako bi se, površno zaključujući, moglo pretpostaviti da će dva nesparena elektrona rado stvarati vezu u najnižem energetske stanju, to se ne događa uvijek čak ni u molekulama gdje je to moguće, npr. u kisiku (4), a pogotovo ne tamo gdje postoje određene prostorne prepreke. Spomenuto je, zapravo, dosta očekivano jer se elektroni vole “rasprostrijeti” na što je moguće više slobodnih podljusaka (orbitala) iste energije – ovo je poželjnije od stvaranja elektronskih parova međusobno suprotnoga spina (slika 1). Čak postoje dvije različite vrste takvih molekula! Jedne su diradikali (5) kojima je najniže energetske stanje

tripletno (imaju dva nesparena elektrona), ali posjeduju viša energetska stanja koja su singletna (upravo ta dva elektrona tvore vezu). Druge su biradikali (6) kod kojih stvarno postoji samo oblik s nesporenim elektronima.

Uobičajeni način nastanka radikala je homolitičkim pucanjem kovalentne veze između dvaju dotadašnjih dijelova molekule. Takav proces zahtijeva iznimno visoku energiju. Stabilnost nastalih radikala to je veća što je razbijena veza među radikalima bila slabija. Razlog tome leži u činjenici da veza zapravo predstavlja energetske jamu na plohi potencijalne energije. Ukoliko je veza jača, jama je dublja, odnosno komponente molekule koje nisu u vezi (radikali) nalaze se na položaju relativno više potencijalne energije nego što bi se nalazili da je veza slabija. Kako svaki sustav u prirodi teži što manjoj potencijalnoj energiji, posljedica je upravo takva da dugoživući radikali nastaju pucanjem slabijih veza.

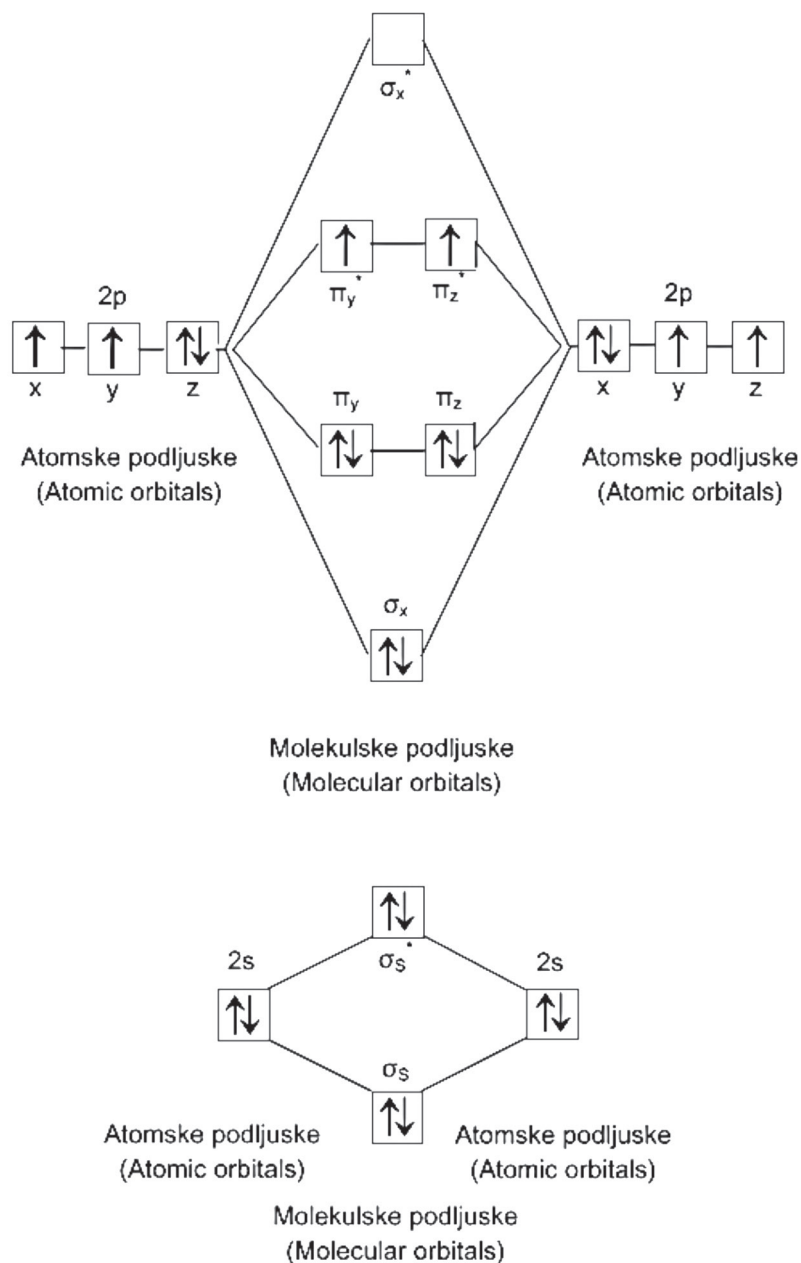
Ono što se danas uobičajeno naziva radikalom, prije se uobičajeno nazivalo slobodnim radikalom (7). Štoviše, postoje čak i časopisi koji u svom nazivu imaju ovaj stari naziv (dakako, počeli su izlaziti u vrijeme dok je stari naziv bio aktualan)². Danas je vrlo poželjno, radikale nazivati upravo radikalima, dok se za ono za što se do sad koristio pojam radikal, koristi naziv supstituent ili funkcionalna skupina.

Najmanja čestica koja zadovoljava definiciju radikala je sâm elektron (8). Elektron, kao radikal, otkriven je u solvatomiziranom obliku fotolizom bljeskom i pulsnom radiolizom (metodama kojima se inače određuje kinetika radikalskih reakcija) (1,9). Po svojoj prirodi, elektron je najjače radikalsko reduktivno sredstvo.

Kemiju radikala pokrenuo je Moses Gomberg (10) 1900. godine otkrićem trifenilmetilnoga radikala danas znanog i po

¹ Izraz „antioksidativno djelovanje“ često se primjenjuje kad se govori o npr. oksidativnom stresu i vrlo je čest u biološkoj i medicinskoj terminologiji. U principu, kemičari bi to prije nazvali reduktivnim djelovanjem.

² Npr. Free Radical Biology & Medicine.



SLIKA 1.

Raspored atomskih i molekulskih podljusaka u osnovnom energetskom stanju kisika. Spareni elektroni prikazani su s $\uparrow\downarrow$, a nespareni s \uparrow .

FIGURE 1.

Schematic presentation of the atomic and molecular orbitals in the ground energetic state of oxygen. Paired electrons are shown as $\uparrow\downarrow$; unpaired electrons are shown as \uparrow .

njegovom imenom – Gombergov radikal. Stotinjak godina poslije, kemija radikala toliko je raširena da bi gotovo mogla biti (pod)znanost sama za sebe.

Radikali u živih organizama

Čak i u samoj kemiji radikala postoje mnoga područja potencijalnoga istraživanja. Ukoliko se promatraju kemijske reakcije, izazovno je bilo pokušati izmjeriti brzinu kemijskih reakcija u kojima sudjeluje većina radikala. To se jako dugo nije moglo učiniti – većinu do sada protekloga vremena u

istraživanju radikala vjerovalo se da su reakcije s radikalima toliko brze da se niti ne mogu izmjeriti (11). Ipak, od 1967., zahvaljujući Eigenu, Norrishu i Porteru, postoje tehnike kojima je i to moguće učiniti (12).

S obzirom na narav molekule kisika (diradikal u osnovnom stanju), kemija gorenja je također jedna podgrana kemije radikala. Grana atmosferske kemije koja se bavi ozonskim slojem, također je kemija radikala.

Iznimno je mnogo radikalskih reakcija koje se odvijaju u živim organizmima. Tako je i biokemija prožeta kemijom radikala. Dodatno, kemija radikala u živim organizmima nije samo kemija kratkoživućih nego i dugoživućih radikala.

Melanin

Za početak, spomenimo se dugoživućih radikala. Neki dugoživući radikali imaju važno antioksidativno djelovanje. S druge strane za melanine, koji služe kao pigmenti u biljaka i životinja, pa i ljudi, zbog njihove ekstremne stabilnosti (3), donedavno se nije ni znalo da su radikali. Najočitiji primjeri pigmentacije u ljudi za koje je odgovoran melanin jesu boja kože³, kose i očiju. Najčešći melanini su smeđe-crni eumelanin i crveno-smeđi feomelanin, no valja spomenuti i neuromelanin koji je odgovoran za boju neurona. Povećana proizvodnja melanina u ljudskom organizmu stimulirana je oštećenjem DNA (primjerice, uslijed izloženosti ultraljubičastom zračenju) (13). Također, melanin je odgovoran i za pretvaranje do 99,9% apsorbiranoga ultraljubičastog zračenja u toplinu čime uvelike štiti organizam od daljnega oštećenja DNA (14).

Melanin je povezan i s različitim genetskim nedostacima i bolesnim stanjima. U slučaju kad u organizmu postoje manje količine melanina od normalne, pojavljuju se albinizam (genetski nedostatak) i Parkinsonova bolest (bolesno stanje), a kad je količina melanina viša dolazi do povećane pjegavosti i broja madeža, a najnovija istraživanja pokazuju i da se ovisnost o nikotinu⁴ povećava kod tamnoputijih osoba (15).

Istraživanja se provode i u cilju proizvodnje kozmetičkih preparata za izbjeljivanje kože. Isti se mogu primjenjivati i u liječenju hiperpigmentacijskih poremećaja. Posljedično, kao rezultat tih istraživanja, utvrđeno je da kardamonin ima utjecaja na pigmentaciju jer sprečava biološki put Wnt/ β -katenina (16). S druge strane, mnoge male molekule mogu pozitivno utjecati na povećanje pigmentacije što se opet može koristiti za liječenje albinizma (17).

Melanin je važan i u životinjskom svijetu. Najnovija istraživanja pokazuju da kod mužjaka nekih ptica selica boja perja ovisi o zemljopisnoj širini na kojoj se ptica u danom trenutku nalazi. Istraživanje pokazuje da perje boja privlačnih ženaka raste mužjacima uglavnom na zemljopisnom području na kojem se vrsta razmnožava, dok na drugim područjima raste perje koje ženaka nije toliko privlačno. Zanimljivo, obrat ne vrijedi, tj. ženke uvijek imaju perje boje koja je mužjacima jednako (ne) privlačna (18).

³ Čime je ova grupa spojeva, iz neznanja i ignorancije ljudi, postala uzrokom jednog od najvećih problema ljudske prošlosti i sadašnjosti – rasizma (usp. Međunarodnu konvenciju o eliminaciji svih oblika rasne diskriminacije, New York, 1966-03-07 [http://www.hri.org/docs/ICERD66.html (2009-11-09)]).

⁴ Nikotin je alkaloid i izaziva ovisnost. Obično se, kad se u široj javnosti govori o opasnosti od pušenja, nikotin smatra najvećom opasnošću po organizam, ali to je potpuno pogrešno barem što se tiče koncentracija koje se mogu unijeti u organizam pušenjem, kako aktivnim, tako još manje pasivnim. Nikotin ne izaziva karcinome, srednja letalna doza nikotina za ljude je oko 50 mg – nikotinom se preko cigareta čovjek ne može otrovati jer bi za postizanje srednje letalne doze morao popuštiti oko 3 kutije cigareta u sat vremena. Uistinu opasne tvari u cigaretnom dimu su npr. benzopiren i akrolein.

Dosta su popularna istraživanja na polju hormona koji povećavaju koncentraciju melanina (19-21). Kemijski gledano, radi se o peptidima čije se djelovanje uglavnom istražuje u središnjem živčanom sustavu. Primjerice, pretpostavlja se da spomenuti spojevi uglavnom izravnim moduliranjem utječu na pamćenje i kognitivne sposobnosti, ali i da mogu djelovati neizravno. Neka istraživanja pokazuju i da ovi hormoni mogu utjecati na nastanak pretilosti ili pak na anoreksiju. Također, mogu utjecati i na kvalitetu sna (22). Međutim, hormoni koji povećavaju koncentraciju melanina djeluju i izvan živčanoga sustava, pa mogu utjecati i na imunološki sustav (kao, uostalom, i ostali peptidi). Štoviše, oni bi mogli imati utjecaja na nekoliko imunoloških poremećaja u organizmu.

Melanom, karcinom melanocita, jedan je od karcinoma koji je najotporniji na radio- i kemoterapijsko liječenje pa se za njegovu sanaciju koriste biokemijske i imunoterapijske metode. Može se pretpostaviti da je takva otpornost melanoma na liječenje uzrokovana postojanjem grupe ABC prenositelja što onda omogućava stanicama da zaobilaze lijekove koji djeluju samo na pojedine prenositelje (23).

Za kraj spomenimo samo da je potvrđen i prvi slučaj melanoma kao primarnoga karcinoma gornjega dijela gastrointestinalnoga trakta (24).

Načini nastajanja radikala u vodenom okruženju

Radikali nastaju na mnogo različitih načina od kojih se mogu istaknuti oni koji uključuju ionizirajuće zračenje, ultrazvuk, termolizu, fotolizu i reakcije s prijelaznim metalima. Istraživati reakcije u (razrijeđenim) vodenim otopinama iznimno je značajno jer se i živi organizmi uglavnom sastoje od vode. Prilikom promatranja ovih reakcija uvijek valja imati na umu da je otapalo, dakle voda, ono kojeg ima u najvećim količinama. Stoga je logično da u ovim sustavima nastaje kudikamo najviše radikala iz vode koji onda posredno mogu dati i druge radikale.⁵ Srećom, reaktivni radikali s najizraženijim redukcijsko-oksidativnim svojstvima upravo su radikali vode.

Ionizirajuće zračenje

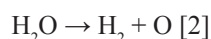
Prilikom međudjelovanja ionizirajućega zračenja s vodom dolazi do nastanka različitih stabilnih produkata i radikala. Za vrijeme ozračivanja dio se molekula vode pobudi, a nastaju i radikali H_2O^+ te tzv. "vrući elektron". Izbačeni elektron nakon kratkoga vremena predaje svoju energiju ionizirajući i pobuđujući daljnje molekule na svom putu te se hidratizira (cijeli proces traje oko pikosekunde). Nastaje hidratizirani elektron (e_{aq}^-). S druge strane, H_2O^+ brzo reagira s nepobuđenom molekulom vode dajući H_3O^+ i hidroksilni radikal ($\cdot OH$). Do sada nastali radikali mogu međusobno reagirati ili reagirati s H_3O^+ ionom i dalje dati H_2 , H_2O_2 i $\cdot H$, a dijelom se vraćaju u molekulu vode. Radiolizom vode konačno nastaju e_{aq}^- i $\cdot H$, kao i hidroksilni radikal u prinosima

⁵ Dakako, neki radikali u sustavima nastaju i izravno, posebno s neselektivnim ionizirajućim zračenjem, ali ih nastaje razmjerno malo zbog razmjerno male količine njima ishodne tvari u usporedbi s količinom vode.

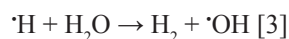
od redom 0,28, 0,06 i 0,28 $\mu\text{mol J}^{-1}$ (25,26). Stabilni produkti H_2 i H_2O_2 nastaju u prinosima od oko 0,05 i 0,07 $\mu\text{mol J}^{-1}$ (27). Važno je napomenuti da se sastavom otopine može pretvarati jedne radikale vode u druge, utjecati na prinose potonjih i nesmetano proučavati njihove reakcije. Tako će, na primjer, u kiselim otopinama hidratizirani elektroni reagirati s H_3O^+ ionima te dati $\cdot\text{H}$. Ukoliko se u otopini nalazi N_2O^6 , hidratizirani elektroni prijeći će u $\cdot\text{OH}$.

Ultrazvuk

Ultrazvukom se u razrijeđenim vodenim otopinama može izazvati sonoliza vode. Ultrazvuk izaziva stvaranje mjehurića pare i zraka u kojima onda, uslijed adijabatskih procesa, dolazi do naglih povećanja temperature (do nekoliko tisuća Celzijevih stupnjeva) (28), uslijed čega dolazi do raspada molekula vode na radikale i druge reaktivne međuprodukte (29). Konačni produkti sonolize vode u razrijeđenim vodenim otopinama su ili $\cdot\text{OH}$ i $\cdot\text{H}$ ili molekula vodika i atom kisika.

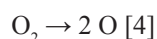


Atom (radikal) vodika brzo reagira s molekulom vode dajući molekulu vodika i hidroksilni radikal ($\cdot\text{OH}$) (30).

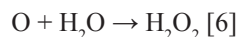
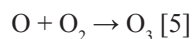


S obzirom na veliku količinu vode i potonju reakciju [3], u sustavu ostaje znatno više hidroksilnih radikala negoli atoma vodika.

Ukoliko u vodi postoji znatna količina otopljenog kisika, tada će se i on sonolizirati te će iz molekule kisika nastati dva kisikova atoma.

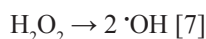


S obzirom na visoke temperature, moguće je postojanje atomâ kisika što u osnovnom (tripletnom), što u pobuđenom (singletnom) stanju. Tripletni kisik reagirat će s molekulama kisika i dati ozon [5], također nestabilan na visokoj temperaturi, dok će singletni kisik reagirati s molekulama vode dajući vodikov peroksid [6].

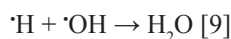
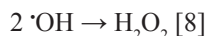


Ovaj će se, pak, uslijed visoke temperature raspasti na dva hidroksilna radikala u mjehuriću [7] ili će se ustabiliti u tekućem dijelu sustava.

⁶ Didušikov monoksid u medicini je poznat kao anestetik. U ljudi može izazvati euforiju, pa ga se naziva i „plinom za smijanje“. Poznati kemičar Humphry Davy, osim što je kao mentor sputavao, od sebe kasnije još poznatijeg Michaela Faradaya, bio je ovisnik o didušikovu monoksidu. U motorâ s unutrašnjim izgaranjem N_2O pomaže motoru da sagori više goriva dajući tako veću izlaznu snagu (bolje ubrzanje, veću brzinu).

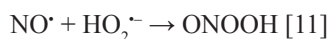
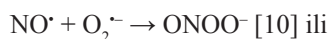


Hidroksilni radikali iz mjehurića difundirat će u otopinu gdje će se ili ponovno spojiti u vodikov peroksid ili reagirati s atomom vodika te dati vodu.



Termoliza i fotoliza peroksida

Veza između dvaju atoma kisika u peroksidima obično je razmjerno slaba (31). Peroksiduškasta kiselina⁷ (HNO_3 ; uobičajenije i ONOOH) jedna je od kiselina sa slabom peroksidnom vezom, koja se raspada već na sobnoj temperaturi, iznimno značajna u staničnim sustavima i kod oksidativnoga stresa (32,33). Radikal $\text{NO}\cdot$, koji nastaje enzimskim putem u organizmu (34), posebice je otrovan zbog svoje reakcije s $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikalom [10] upravo zato što proizvodi peroksinitritni anion.



Peroksinitritni anion može nastati i UV-fotolizom nitratnoga aniona (35). Peroksiduškasta kiselina je nestabilna i raspadom daje hidroksilni radikal (36). S druge strane, peroksinitritni anion sâm reagira s DNA.

S obzirom da peroksidi apsorbiraju ultraljubičasto zračenje, peroksidi se mogu lako fotolizirati tim zračenjem. Tako, primjerice, fotolizom vodikova peroksida nastaju dva hidroksilna radikala, ipak tek u 50 % prinosu (37).

Reakcije s prijelaznim metalima

Stanice sadrže prijelazne metale u niskim koncentracijama, ponajprije u metaloproteinima (željezo⁸ i bakar) (38)⁹. No kako slobodnoga bakra (39), za razliku od željeza (40) nema, nije sigurno utječe li i on na oštećenje DNA pomoću vodikova peroksida (41,42). Što se tiče drugih prijelaznih metala, npr. nikla i kobalta (43) i oni mogu uzrokovati oštećenje DNA, posredno pomoću vodikova peroksida.

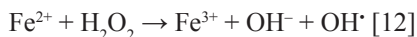
Što se željeza tiče, najpoznatija njegova reakcija koja ima izniman značaj u živim organizmima jest Fentonova¹⁰ reakcija [12].

⁷ Peroksiduškasta kiselina ima istu molekulsku formulu kao i dušična kiselina. No dok su u dušičnoj kiselini sva tri kisikova atoma vezana za atom dušika, u peroksiduškastoj kiselini dva su atoma kisika vezana na atom dušika, dok je preostali atom kisika svojevrsna spona između jednog od atoma kisika vezanog na dušik i atoma vodika – veza je, dakle, peroksidna.

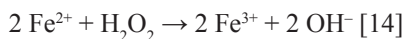
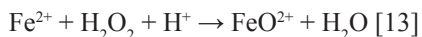
⁸ Željezo je i sastavni dio metaloproteina hemoglobina.

⁹ U nekim proteinima odgovornim za diobu stanice.

¹⁰ Fentonovu reakciju, kako to često biva (usp. npr. Bunsenov plamenik kojega je konstruirao Faraday, a usavršio Bunsenov asistent Desaga), nije otkrio Fenton 1899. nego Schönbein već 1857.



Nije dovoljno što je već vodikov peroksid oksidativno sredstvo, već ovom reakcijom nastaje i hidroksilni radikal – jedan od najjačih oksidansa u prirodi. Međutim, priroda se donekle pobrinula za ovu „nezgodnu“ reakciju pa kompleksirano željezo i pH utječu na odvijanje Fentonove reakcije. Alternativne moguće reakcije jesu reakcije [13] i [14].



Oksidativni stres

Oksidativni stres jedno je od najčešće istraživanih područja kad se govori o reduktivno-oksidativnim procesima u organizmu. Pod oksidativnim se stresom podrazumijeva nesrazmjer između oksidativnih i reduktivnih tvari u organizmu. Prirodno je stanje organizma u svih živih bića takvo da se u stanicama održava reduktivna okolina uz pomoć enzima. Poremećaj takvog stanja – oksidativni stres – dovodi do nastanka veće količine oksidativnih vrsta, mahom radikalnoga karaktera, koje onda, bivajući vrlo reaktivnima, reagiraju s raznim proteinima, lipidima i samom DNA stanicom.

Pretpostavlja se, među ostalim, da je oksidativni stres povezan s čitavim nizom bolesti kao što su ateroskleroza, Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest (44), infarkt miokarda ili kronični umor (45). S druge strane, nije sve ni tako loše u oksidativnom stresu jer postoje indicije da kratkotrajan oksidativni stres može usporiti starenje i produljiti život (46), a s obzirom na iznimno visoku reaktivnost i oksidativnu snagu ovih spojeva (posebno se to odnosi na $\cdot\text{OH}$ radikal) (26,47) te samim time i njihovu neselektivnost, oni mogu razarati i patogene, kad ih proizvode fagociti (48).

Primjeri radikalnih i neradikalnih vrsta koje sudjeluju u oksidativnom stresu jesu: $\text{O}_2^{\cdot-}$, HO_2^\cdot , H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$, ROOH, RO \cdot , ROO \cdot . Nasuprot njima, tvari koje sudjeluju u njihovu uklanjanju¹¹ jesu npr. α -tokoferol (tzv. vitamin E), askorbinska kiselina (tzv. vitamin C), flavonoidi, β -karoten (tzv. vitamin A), razni enzimi (npr. superoksid-dismutaza), itd. (49).

S obzirom na činjenice koje govore uglavnom protiv oksidativnoga stresa, postavlja se opravdano pitanje treba li ga na neki način spriječiti. Sa svih smo strana obasuti reklamama koje zagovaraju što je moguće veći unos vitamina u organizam. „Bombardiranje“ poluinformacijama je u najmanju ruku beskorisno, a vrlo često i štetno ne samo u prirodnim (50) nego i u društvenim (51-53) aspektima ljudskoga društva. Međutim, postoje dokazi da ni u unosu povećane količine vitamina ne treba pretjerivati, pogotovo ljudi s bolestima jetre, potencijalne trudnice ili oni koji uzimaju pojedine lijekove (50). Nadalje, pokazalo se da β -karoten može potaći nastanak karcinoma pluća u pušača (54). Istraživanja koja bi pokazala

¹¹ Zapravo, te tvari imaju veći afinitet za reakciju sa spomenutim oksidansima zbog čega će veći broj molekula oksidansâ reagirati s njima, a ne s nekom molekulom iz stanice.

da antioksidansi na neki način, pozitivno ili negativno, utječu na liječenje Alzheimerove bolesti, nisu dovela ni do kakvih zaključaka (55,56). Ipak, neke studije pokazuju očite prednosti korištenja antioksidativnih sredstava. α -tokoferol tako smanjuje rizik od srčanoga udara (57).

Već spomenuti pozitivan utjecaj laganog oksidativnog stresa na produljenje životnoga vijeka pokazan je na nižim organizmima (58,59). Kod sisavaca i kod ljudi iz rezultata se može nešto manje zaključiti, ali su oni i dalje poticajni za ozbiljnu diskusiju (60,61).

Najnovija istraživanja u području oksidativnoga stresa ponajviše su usmjerena ka pronalaženju novih antioksidativnih spojeva, posebno onih koji se mogu dobiti iz prirodnih ekstrakata. Posebnu pažnju pojedine grupe znanstvenika uglavnom usmjeruju ka biljkama iz svoga vlastitog okruženja. Tako su potvrđena antioksidativna svojstva ekstrakata iz lišća japanske biljke *Mallotus japonicus* (62) iz lišća zapadnoafričkih biljaka *Alchornea cordifolia*, *Baphia nitida*, *Cassia occidentalis* i *Bærhavia diffusa* (63) zatim iz korijena indijske biljke *Decalepis hamiltonii* (64) te iz korijena i u nas često korištenih začina (npr. gorušice [rod *Brassica*] i đumbira [*Zingiber officinale*]) (65).

Nova istraživanja na miševima pokazuju da su se ispitne životinje kod kojih su inducirani simptomi kroničnoga umora, koji su popraćeni pojačanim oksidativnim stresom, osjećale znatno bolje nakon terapije s epigalokatehin-galatom¹² što ukazuje da bi ga se svakako trebalo uzeti u obzir kod daljnjih istraživanja potencijalnoga liječenja kroničnoga umora (66). Isti spoj pokazao je dobra svojstva i u neurodegenerativnih bolesti, ali samo kod miševa (67), a ne i kod štakora (68), mada valja reći da autori potonjega rada ne isključuju mogućnost apliciranja premale količine spoja.

Za neke spojeve za koje su dosad već bila poznata antioksidativna svojstva, kao npr. za hidroksibenzilne alkohole (69) prišlo se i istraživanju mehanizma njihovih reakcija, kao i utvrđivanju koji od strukturnih izomera spoja daje najbolje rezultate (70). Poznavanje mehanizma reakcije uvijek je dobrodošlo jer osim što proširuje naše spoznaje, može usmjeriti i daljnja istraživanja. Ovim je radom ujedno pokazano da znatno bolja antioksidativna svojstva pokazuju 2-hidroksibenzilni i 4-hidroksibenzilni alkohol, dok nešto slabija svojstva pokazuje 3-hidroksibenzilni alkohol. Također je pokazano da su razlozi zbog kojih je 2-hidroksibenzilni alkohol bolji antioksidans od 3-hidroksibenzilnoga alkohola drugačiji od razloga zbog kojih je 4-hidroksibenzilni alkohol bolji antioksidans od 3-hidroksibenzilnoga alkohola.

Završna riječ

Kao što se i iz ovoga rada vidi, iako on samo okrzava površinu, postoji neraskidiva i važna veza između kemije radikala i kemije reakcija u živim organizmima. Radi se o vrlo velikom području koje već desetljećima, sasvim opravdano, pobuđuje

¹² Ekstrakt iz zelenoga čaja.

znanstveni interes koji ni danas ne jenjava. Najnovija otkrića, primjerice vezana za melanin, samo još dodatno pokazuju svu opravdanost ovih istraživanja. Neka i ovaj rad bude doprinos poticaju u tom smjeru.

LITERATURA

1. Bensasson RV, Land EJ, Truscott TG. Flash photolysis and pulse radiolysis. Oxford: Pergamon Press; 1983.
2. Okarter N, Liu CS, Sorrells ME, Liu RH. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chem.* 2010;119(1):249-57.
3. Haywood RM, Lee M, Linge C. Synthetic melanin is a model for soluble natural eumelanin in UVA-photosensitized superoxide production. *J Photochem Photobiol B-Biol.* 2006;82(3):224-35.
4. Saint John's University. Biochemistry on line (citirano 09.11.2009.). Dostupno na adresi: <http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/oxphos/oldoxygenchem.html>.
5. <http://old.iupac.org/goldbook/D01765.pdf>
6. <http://old.iupac.org/goldbook/B00671.pdf>.
7. <http://old.iupac.org/goldbook/R05066.pdf>.
8. Walker DC. The hydrated electron. *Quart Rev Chem Soc.* 1967;21(1):79-108.
9. Bonifačić M. Vremenski razlučene eksperimentalne tehnike, pulsna radioliza i laserska fotoliza. *Kem Ind.* 1987;36:435-46.
10. Schoeppele CS, Bachmann WE. Moses Gomberg 1866. – 1947. *J Amer Chem Soc.* 1947;69:2921-5.
11. Eucken A. Lehrbuch der chemischen Physik. Leipzig: Akad Verlagsges; 1930.
12. <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/1967>
13. Agar N, Young AR. Melanogenesis: A photoprotective response to DNA damage? *Mutat Res.* 2005;571:121-32.
14. Meredith P, Riesz J. Radiative relaxation quantum yields for synthetic eumelanin. *Photochem Photobiol.* 2004;79:211-6.
15. King G, Yerger VB, Whembolua GL, Bendel RB, Kittles R, Moolchan ET. Link between facultative melanin and tobacco use among african americans. *Pharmacol Biochem Behav.* 2009;92(4):589-96.
16. Cho M, Ryu M, Jeong Y, Chung YH, Kim DE, Cho HS, Kang S, Han JS, Chang MY, Lee CK, Jin M, Kim HJ, Oh S. Cardamonin suppresses melanogenesis by inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 390(3):500-5.
17. McNaughton BR, Gareiss PC, Jacobs SE, Fricke AF, Scott GA, Miller BL. A potent activator of melanogenesis identified from small-molecule screening. *Chem Med Chem.* 2009;4(10):1583-9.
18. Norris DR, Kleven O, Johnsen A, Kyser TK. Melanin-based feather colour and moulting latitude in a migratory songbird. *Ethology.* 2009;115(11):1009-14.
19. Guyon A, Conductier G, Rovere C, Enfissi A, Nahon JL. Melanin-concentrating hormone producing neurons: Activities and modulations. *Peptides.* 2009;30(11):2031-9.
20. Lakaye B, Coumans B, Harray S, Grisar T. Melanin-concentrating hormone and immune function. *Peptides.* 2009;30(11):2076-80.
21. Adamantidis A, de Lecea L. A Role of melanin-concentrating hormone in learning and memory. *Peptides.* 2009;30(11):2066-70.
22. Peyron C, Sapin E, Leger L, Luppi PH, Fort P. Role of the melanin-concentrating hormone neuropeptide in sleep regulation. *Peptides.* 2009;30(11):2052-9.
23. Chen KG, Valencia JC, Gillet JP, Hearing VJ, Gottesman MM. Involvement of ABC transporters in melanogenesis and the development of multidrug resistance of melanoma. *Pigm Cell Res.* 2009;22(6):740-9.
24. Houissa F, Bouzaidi S, Mouelhi L, Ben Rejeb M, Moussa A, Mekki H, Dabbeche R, Trabelsi S, Said Y, Salem M, Najjar T. Diffuse primary malignant melanoma of the upper gastrointestinal tract. *Gastroenterol Clin Biol.* 2009;34(1):85-7.
25. Getoff N. Factors influencing the efficiency of radiation-induced degradation of watter pollutants. *Radiat Phys Chem.* 2002;65:437-46.
26. Von Sonntag C. The chemical basis of radiation biology. New York: Taylor and Francis; 1987.
27. Cooper WJ, Curry RD, O'Shea KE. Environmental applications of ionizing radiation. New York: Wiley; 1998.
28. Flint EB, Suslick KS. The temperature of cavitation. *Science.* 1991;253:1397-9.
29. Henglein A. Contributions to various aspects of cavitation chemistry. *Adv Sonochem.* 1993;3:17-83.
30. Benson SW. Bond energies. *J Chem Educ.* 1965;42:502-18.
31. Brusa MA, Churio MS, Grela MA, Bertolotti SG, Previtali CM. Reaction volume and reaction enthalpy upon aqueous peroxodisulfate dissociation: $S_2O_8^{2-} \rightarrow 2 SO_4^{\cdot-}$. *Phys Chem Chem Phys.* 2000;2(10):2383-7.
32. Lögager T, Sehested K. Formation and decay of peroxyxynitric acid: A pulse radiolysis study. *J Phys Chem.* 1993;97:10047-52.
33. Goldstein S, Czapski G. The reaction of NO^{\cdot} with $O_2^{\cdot-}$ and HO_2^{\cdot} : A pulse radiolysis study. *Free Radic Biol Med.* 1995;19:505-10.
34. Nathan C. Nitric Oxide as a secretory product from mammalian cells. *FASEB J.* 1992;6:3051-64.
35. Barat F, Hickel B, Sutton J. Flash photolysis of aqueous solutions of azide and nitrate ions. *Chem Commun.* 1969;3:125-6.
36. Mark G, Korth HG, Schuchmann HP, von Sonntag C. The photochemistry of aqueous nitrate revisited. *J Photochem Photobiol.* 1996;101:89-103.
37. Yu XY, Baker JR. Hydrogen peroxide photolysis in acidic solutions containing chloride ions. II. Quantum yield of $HO^{\cdot}(aq)$ radicals. *J Phys Chem A.* 2003;107:1325-32.
38. Lewis CD, Laemmli UK. Higher order metaphase chromosome structure: Evidence for metalloprotein interactions. *Cell.* 1982;29:171-81.
39. Rae TD, Schmidt JP, Pufahl RA, Culotta VC, O'Halloran TV. Undetectable intercellular free copper: The requirement of copper chaperone for superoxide dismutase. *Science.* 1999;284:805-8.
40. Epsztejn S, Kakhlon O, Glickstein H, Breuer W, Cabantchik I. Fluorescence analysis of the labile iron pool of mammalian cells. *Anal Biochem.* 1997;248:31-40.
41. Barbouti A, Doulias TP, Zhu BZ, Frei B, Galaris D. Intercellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxyde-induced DNA damage. *Free Radical Biol Med.* 2001;31:490-8.
42. Bar-Or D, Winkler JV. Copper is involved in hydrogen peroxyde-induced DNA damage. *Free Radical Biol Med.* 2002;32:197-8.
43. Nackerdien Z, Kasprzak KS, Rao G, Halliwell B, Dizdaroglu M. Nickel(II)- and Cobalt(II)-dependent damage by hydrogen peroxyde to the DNA bases in isolated human chromatin. *Cancer Res.* 1991;51:5837-42.
44. Harrison FE, Hosseini AH, Dawes SM, Weaver S, May JM. Ascorbic acid attenuates scopolamine-induced spatial learning deficits in the water maze. *Behav Brain Res.* 2009;205(2):550-8.
45. Nijs J, Meeus M, de Meirleir K. Chronic musculoskeletal pain in chronic fatigue syndrome: Recent developments and therapeutic implications. *Man Ther.* 2006;11(3):187-91.
46. Gems D, Partridge L. Stress-response hormones and aging: „That which does not kill us makes us stronger“. *Cell Metab.* 2008;7(3): 200-3.
47. Getoff N. Factors influencing the efficiency of radiation-induced degradation of watter pollutants. *Radiat Phys Chem.* 2002;65: 437-46.
48. Nathan C, Shiloh MU. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(16):8841-8.
49. Sies H. Oxidative stress. London: Academic Press; 1985.
50. Meyers DG, Maloley PA, Weeks D. Safety of antioxidant vitamins. *Arch Intern Med.* 1996;156(9):925-35.
51. <http://sunsite.utk.edu/civil-war/reasons.html>

52. http://psychology.ucdavis.edu/rainbow/HTML/facts_mental_health.HTML
53. http://www.startelegram.com/news/columnists/mike_norman/story/1537391.html
54. Ruano-Ravina A, Figueiras A, Freire-Garabal M, Barros-Dios JM. Antioxidant vitamins and risk of lung cancer. *Curr Pharm Des.* 2006;12(5):599-613.
55. Boothby LA, Doering PL. Vitamin C and vitamin E for Alzheimer's disease. *Ann Pharmacother.* 2005;39(12):2073-80.
56. Kontush K, Schekatolina S. Vitamin E in neurodegenerative disorders: Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:249-62.
57. Pryor WA. Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(1):141-64.
58. Larsen PL. Aging and resistance to oxidative damage in *Cænorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90(19):8905-9.
59. Helfand SL, Rogina B. Genetics of aging in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *Annu Rev Genet.* 2003;37:329-48.
60. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. Mechanism of aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic Biol Med.* 2002;33(5):575-86.
61. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: Systematic review and meta-analysis. *J Amer Med Assn.* 2007;297(8):842-57.
62. Tabata H, Katsube T, Moriya K, Utsumi T, Yamasaki Y. Protective activity of components of an edible plant, *mallotus japonicus*, against oxidative modification of proteins and lipids. *Food Chem.* 2010;118(3):548-53.
63. Kouakou-Siransy G, Sahpaz S, Irié-Nguessan G, Datte YJ, Kablan J, Gressier B, Bailleul F. Oxygen species scavenger activities and phenolic contents of four west african plants. *Food Chem.* 2010;118(2):430-5.
64. Srivastava A, Shivanandappa T. Hepatoprotective effect of the root extract of *decalepis hamiltonii* against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Food Chem* 2010;118(2):411-7.
65. Manda KR, Adams C, Ercal N. Biologically important thiols in aqueous extracts of spices and evaluation of their in vitro antioxidant properties. *Food Chem.* 2010;118(3):589-93.
66. Sachdeva AK, Kuhad A, Tiwari V, Chopra K. Epigallocatechin gallate ameliorates chronic fatigue syndrome in mice: Behavioral and biochemical evidence. *Behav Brain Res.* 2009;205(2):414-20.
67. Levites Y, Weinreb O, Maor G, Youdim MB, Mandel S. Green tea Polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-Induced dopaminergic neurodegeneration. *J Neurochem.* 2001;78:1073-82.
68. Leaver KR, Allbutt HN, Creber NJ, Kassiou M, Henderson JM. Oral pre-treatment with epigallocatechin gallate in 6-OHDA lesioned rats produces subtle symptomatic relief but not neuroprotection. *Brain Res Bull.* 2009;80(6):397-402.
69. Lim EJ, Kang HJ, Jung HJ, Park EH. Anti-angiogenic, Anti-inflammatory and Anti-nociceptive activity of 4-hydroxybenzyl alcohol. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59:1235-40.
70. Dhiman SB, Kamat JP, Naik DB. Antioxidant activity and free radical scavenging reactions of hydroxybenzyl alcohols. Biochemical and pulse radiolysis studies. *Chem-Biol Inter.* 2009;182(2-3):119-27.

RADICALS IN THE LIVING ORGANISMS

Brunislav Matasović
Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Bijenička cesta 54, tel: 01/4571 211
Review

ABSTRACT

In this short article, a review of new research in chemistry of radicals as well as their function in organisms has been presented. Emphasis has been put on the new results in the research of reduction and oxidation processes. This also includes reminder of the reactions by which important radicals participating in these processes are formed. Special attention has been given to the role of radicals in the organisms with melanin presented as both an example of a long - lived radical and very important compound (colour) in living beings. Where possible, the new dilemmas and points of view have been discussed.

Key words: Radicals – chemistry; Melanins; Oxidative stress