

Meccanismi di azione degli antiossidanti

Materiali Organici

- Sistemi biologici
 - Lipidi, Proteine, Acidi Nucleici
- Alimenti
- Polimeri
 - Materiali plastici, Gomme
- Lubrificanti
- Idrocarburi
 - Carburanti

Degradazione

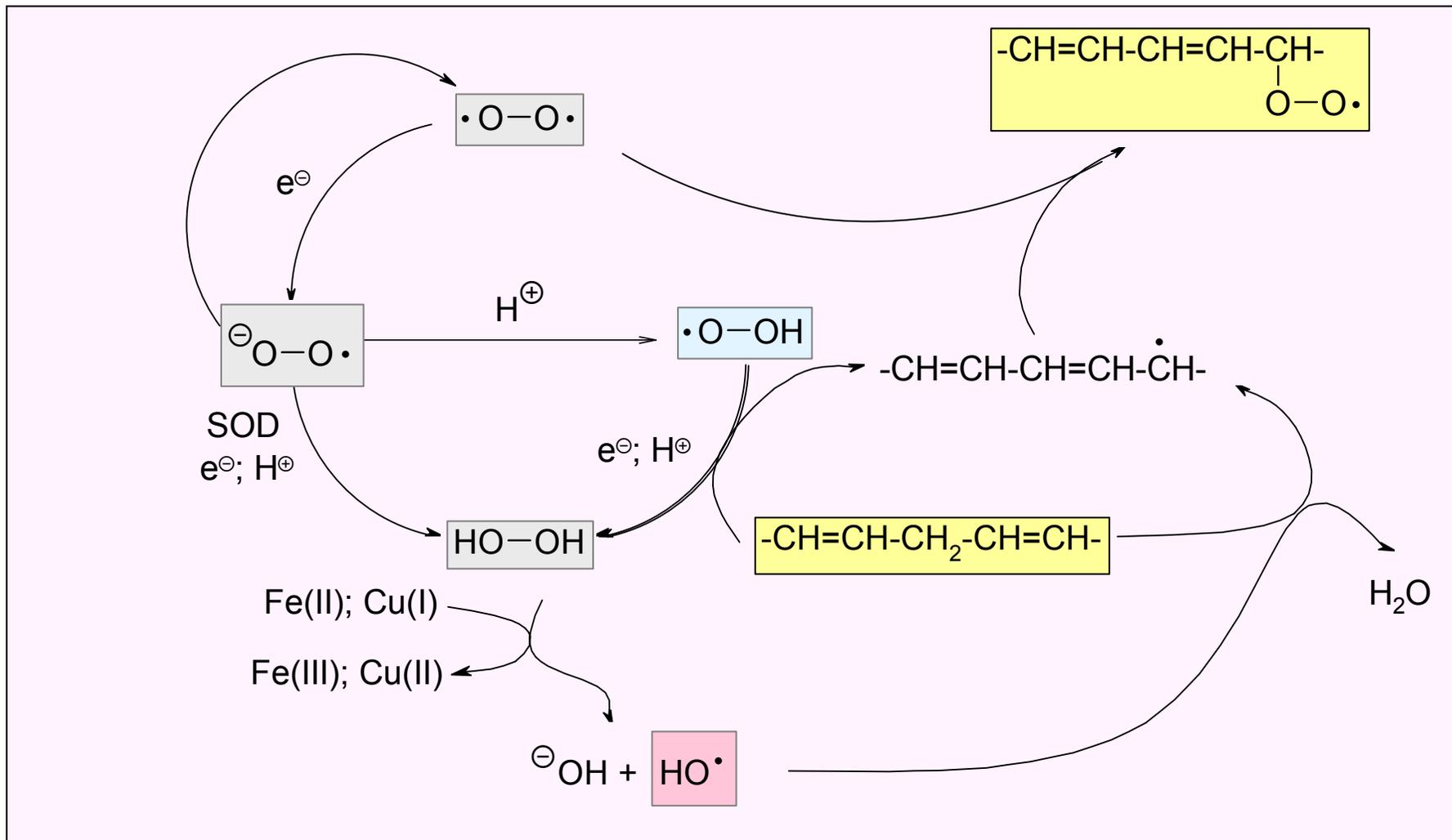


Autossidazione
Ossidazione termica
Fotossidazione

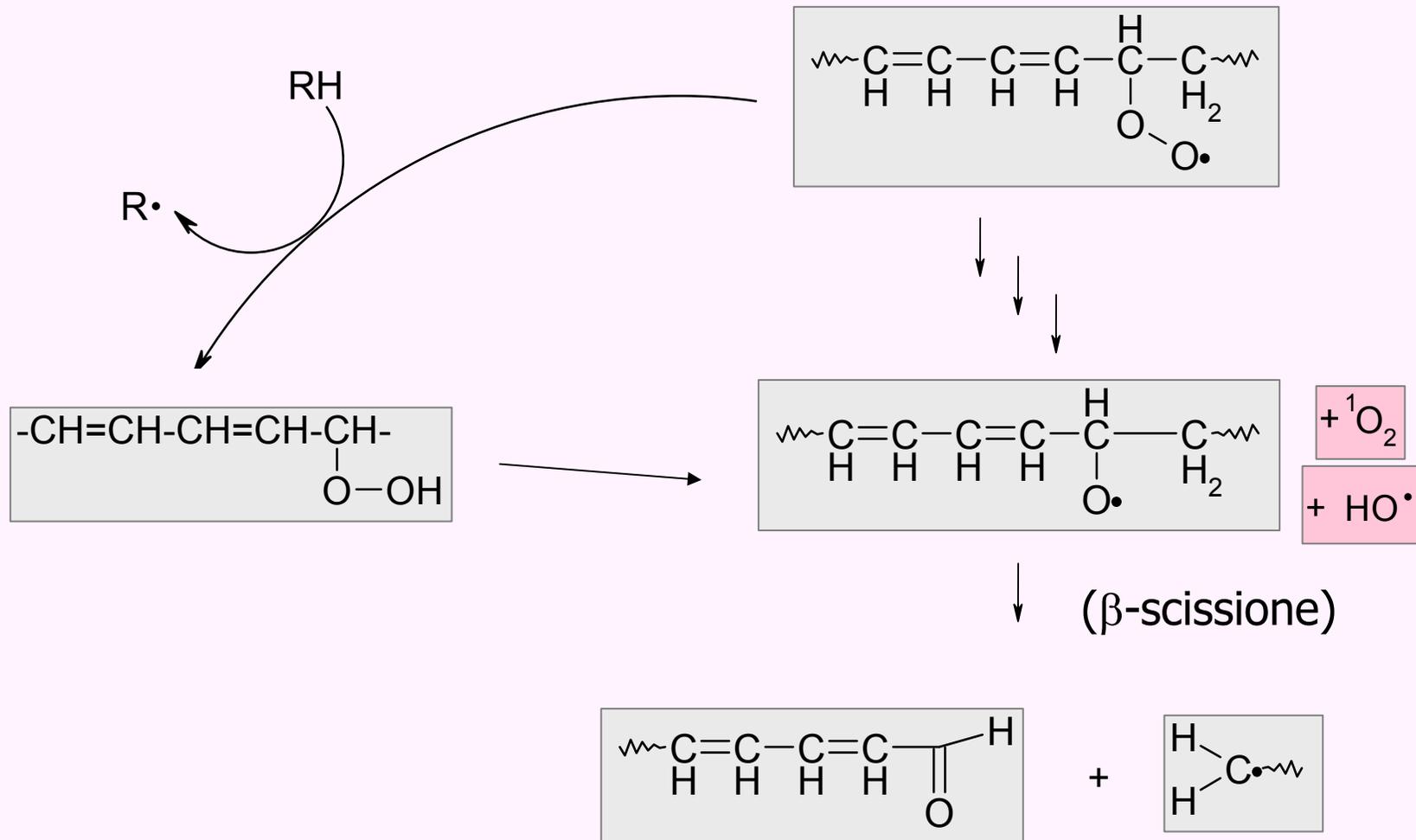
Antiossidanti

- Gli antiossidanti sono molecole che presenti in piccola quantità sono in grado di proteggere substrati organici naturali (fosfolipidi, proteine, DNA) e sintetici (plastiche, oli) dall'attacco dei radicali liberi.

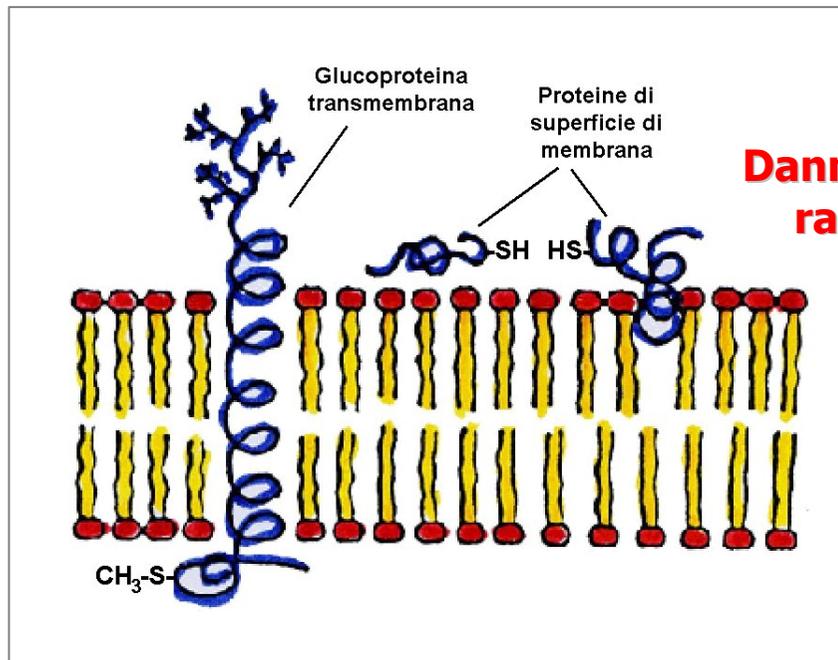
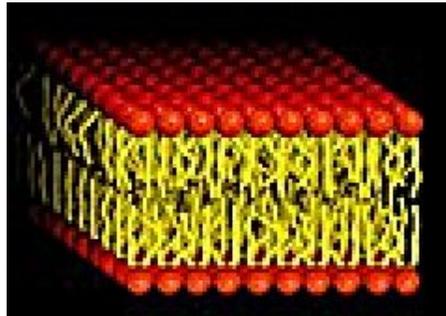
I radicali nei sistemi biologici



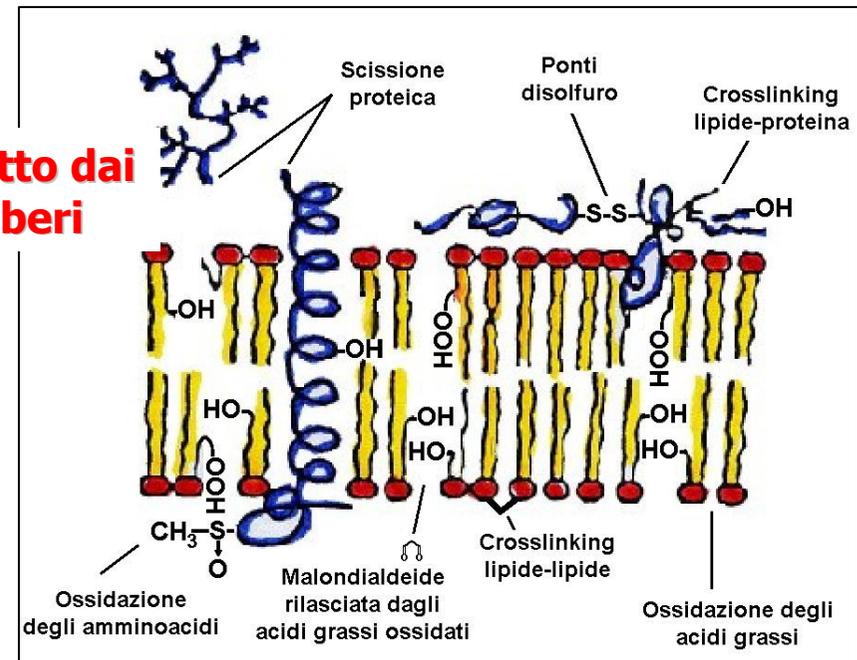
I radicali nei sistemi biologici



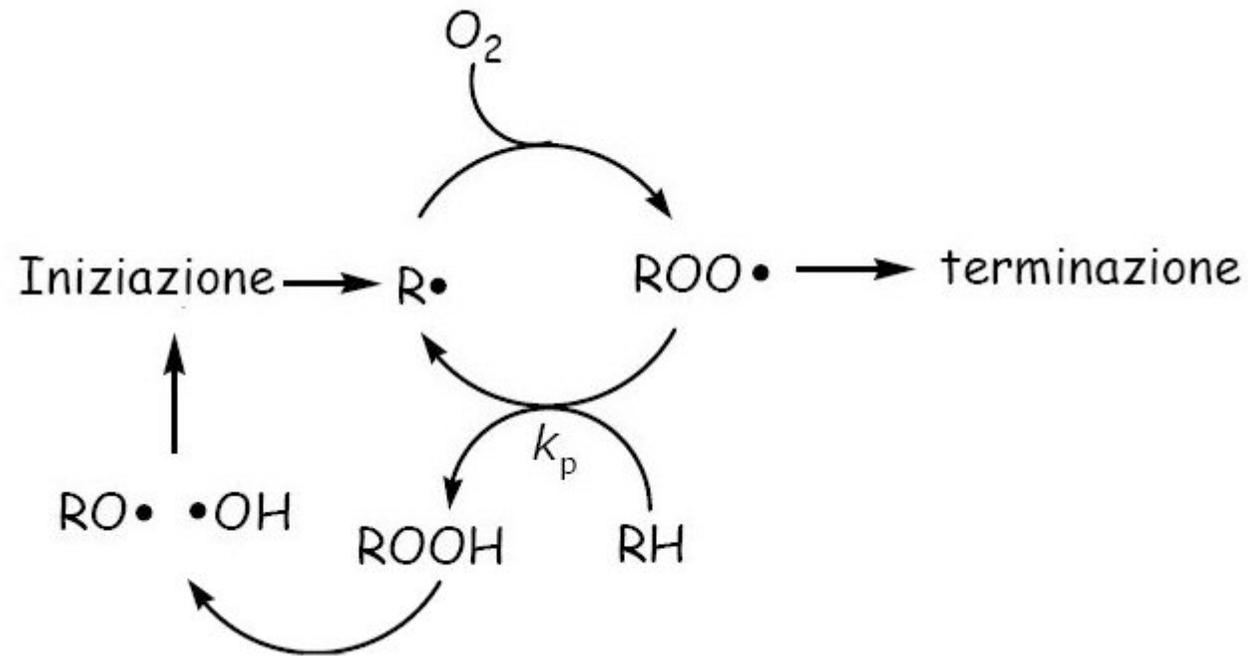
I radicali nei sistemi biologici



Danno indotto dai radicali liberi

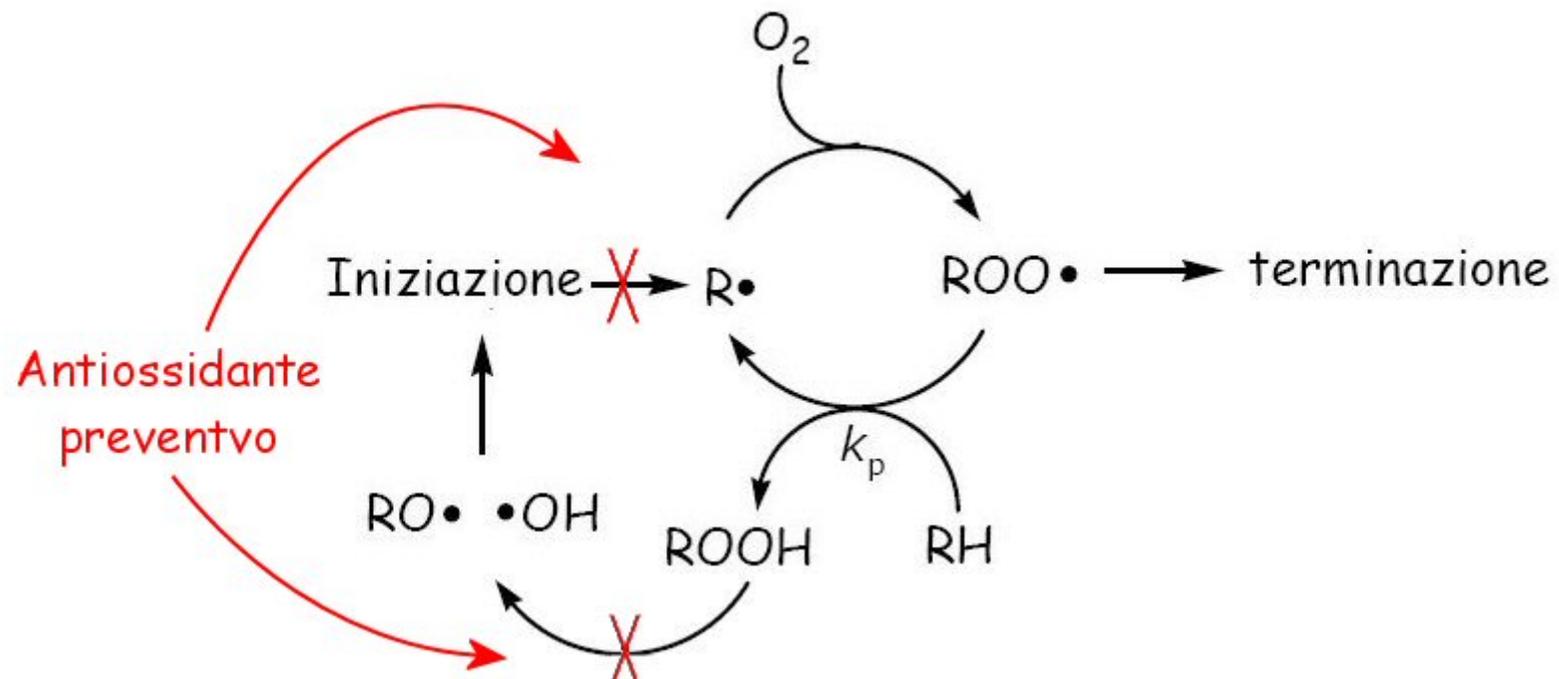


PROCESSO PEROSSIDATIVO



ANTIOSSIDANTI PREVENTIVI

- Gli antiossidanti che impediscono la formazione dei radicali sono detti preventivi. Essi agiscono prevenendo la formazione dei radicali iniziatori.

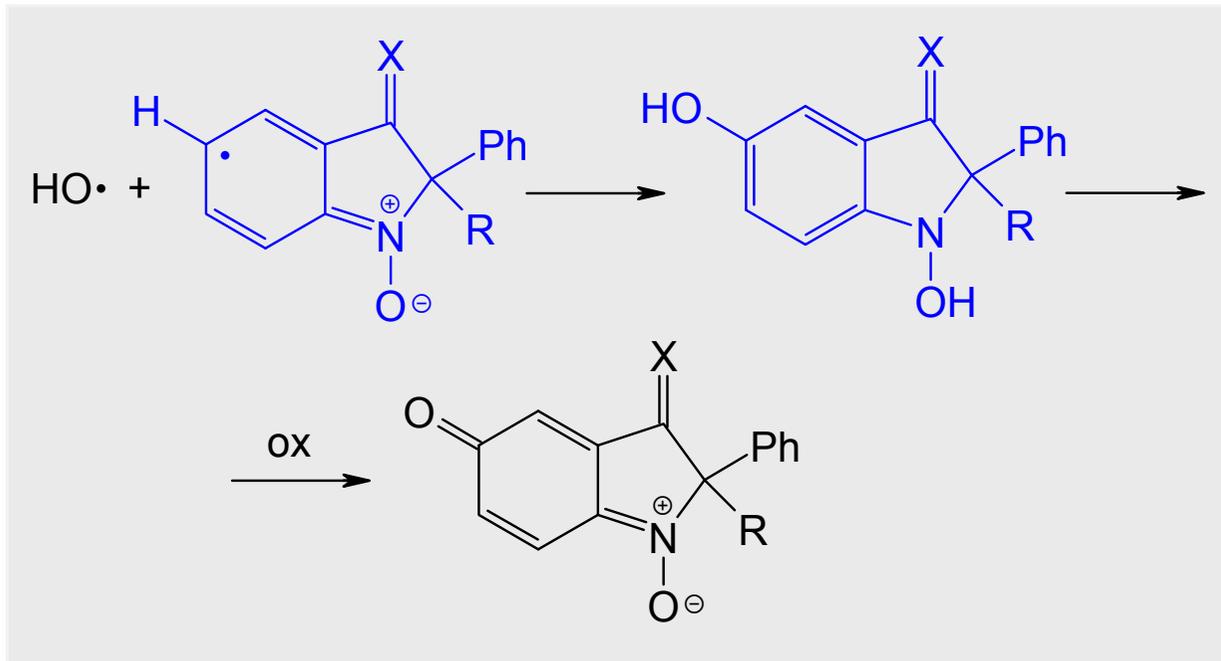


Antiossidanti preventivi

- Chelanti dei metalli di transizione (EDTA, Polifenoli)
 - Ostacolano la reazione di Fenton
 - $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}\cdot$
- Solfuri (R-S-R)
 - Decompongono gli idroperossidi in maniera non radicalica:
 - $\text{ROOH} + \text{RSR} \rightarrow \text{ROH} + \text{RSOR}$
- Enzimi (SOD, CAT):
 - Decompongono il superossido e l'acqua ossigenata:
 - $2 \text{O}_2^{\cdot-} + 2 \text{H}^+ \xrightarrow{\text{SOD}} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$
 - $2 \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{CAT}} \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$

Antiossidanti preventivi

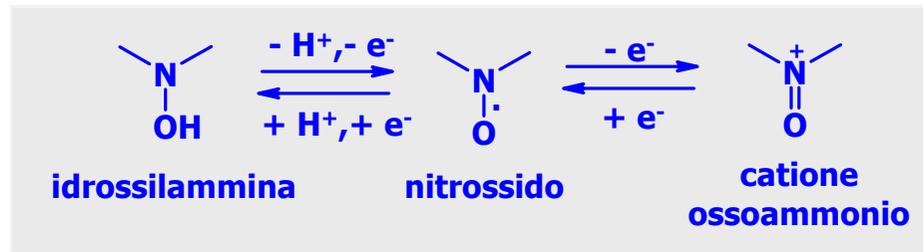
- Alcuni radicali persistenti sono in grado di intrappolare i radicali ossidrilici o gli alcossili, funzionando così da antiossidante preventivo.



- Un esempio ci viene dato dai nitrossidi radicali aromatici

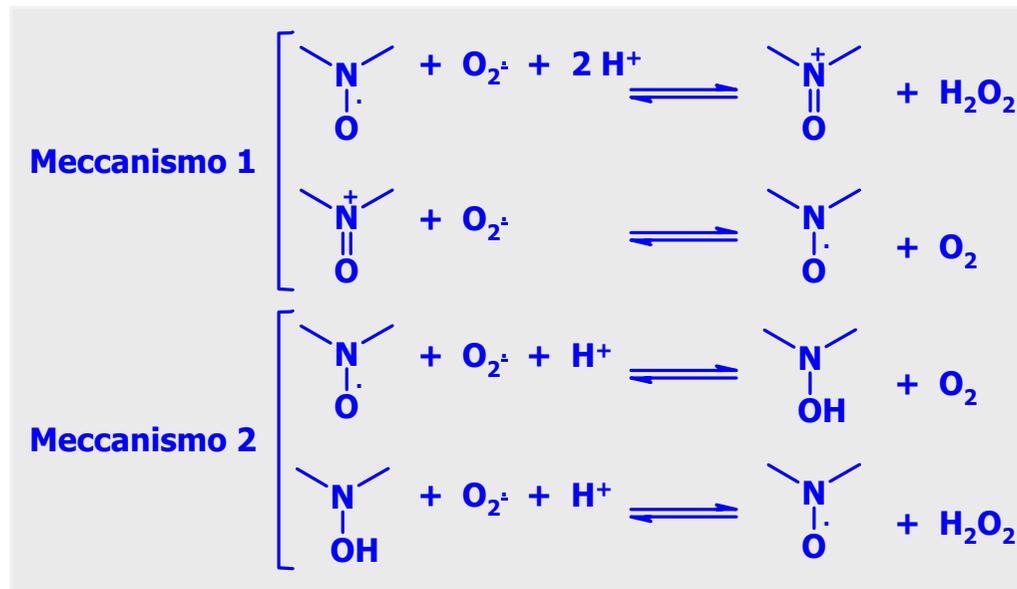
Antiossidanti preventivi

- I nitrossidi radicali in genere inoltre possono agire come antiossidanti preventivi anche attraverso un meccanismo di trasferimento elettronico.
- Essi possono essere infatti ridotti ad idrossilammine o ossidati a sali di ossoammonio da specie che promuovono il processo perossidativo, distruggendole.



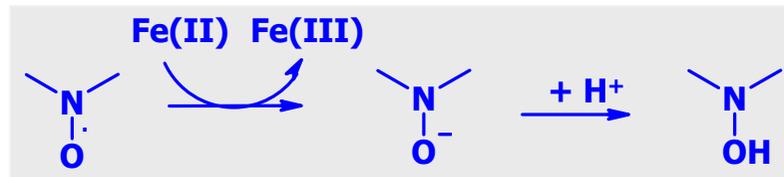
Antiossidanti preventivi

- Per esempio diversi nitrossidi radicali possono essere ossidati a cationi ossoammonio o ridotti ad idrossilammine dall'anione superossido ed in questo modo essi promuovono la sua decomposizione ad ossigeno ed acqua ossigenata (azione SOD mimica)



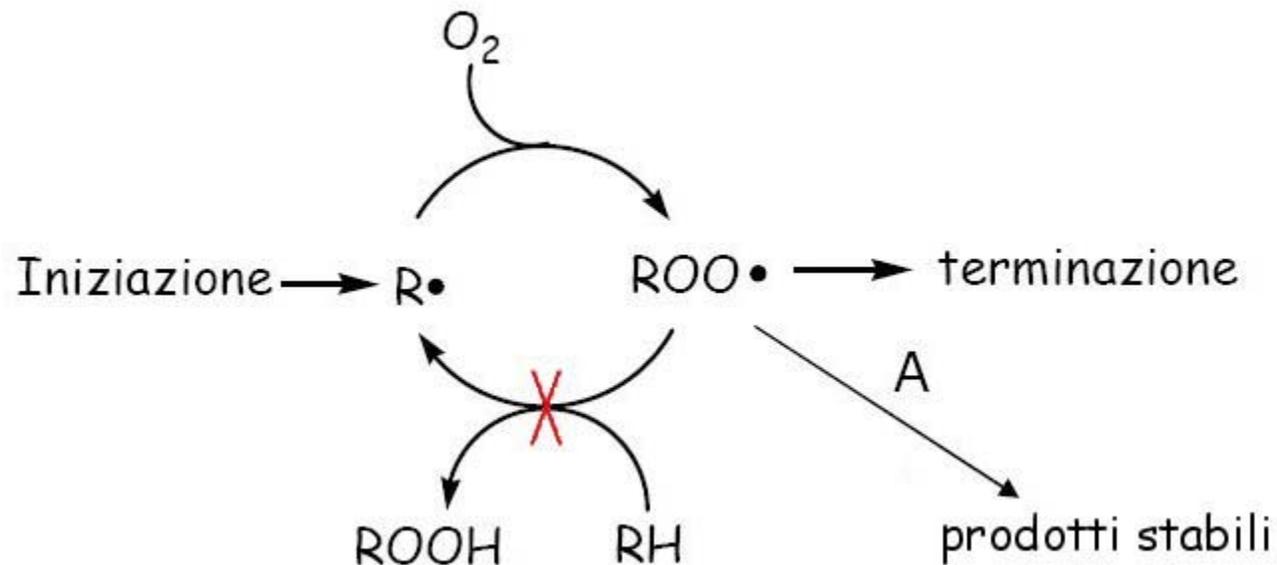
Antiossidanti preventivi

- Inoltre i nitrossidi possono ossidare i metalli di transizione nella loro forma ridotta, riducendosi ad idrossilammine.



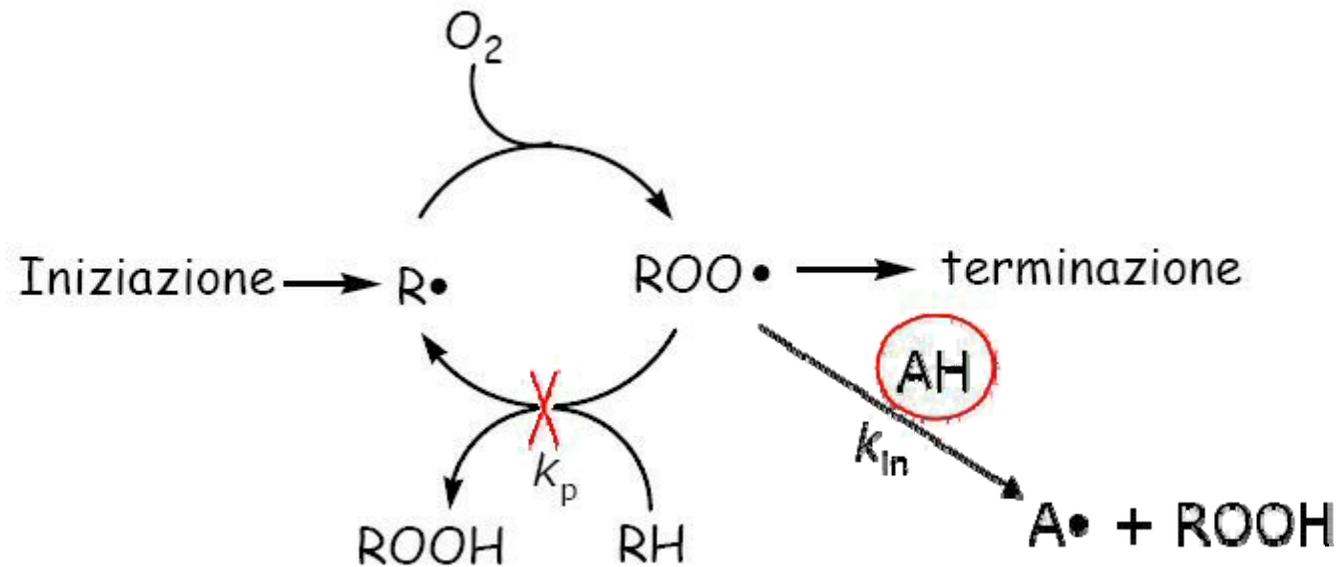
ANTIOSSIDANTI INTERRUTTORI DI CATENA

- I radicali che possono essere bloccati dagli antiossidanti sono generalmente i perossili. I radicali alchili infatti reagiscono generalmente prima con l'ossigeno molecolare, che è presente nelle situazioni concrete.

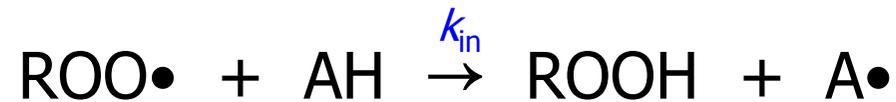


IDROGENO DONAZIONE

- Gli antiossidanti idrogeno donatori interrompono la catena donando un atomo di idrogeno ai radicali perossili

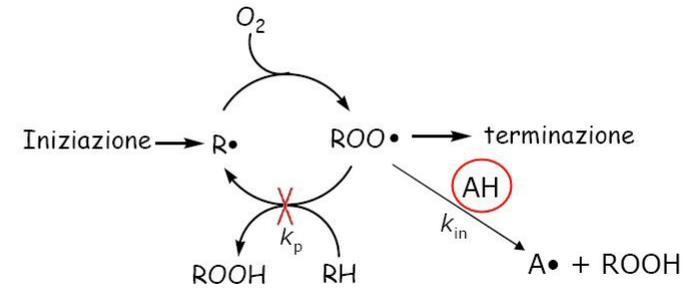


Antiossidanti per IDROGENO DONAZIONE



- La reazione di idrogeno estrazione da parte di perossiradicale su un antiossidante può avvenire solamente se:
- $\text{BDE (A-H)} < \text{BDE (ROO-H)}$.
- La BDE (A-H) mi dà quindi una misura della bontà di un antiossidante in quanto anche la k_{in} dipende dalla BDE del legame che si deve rompere.

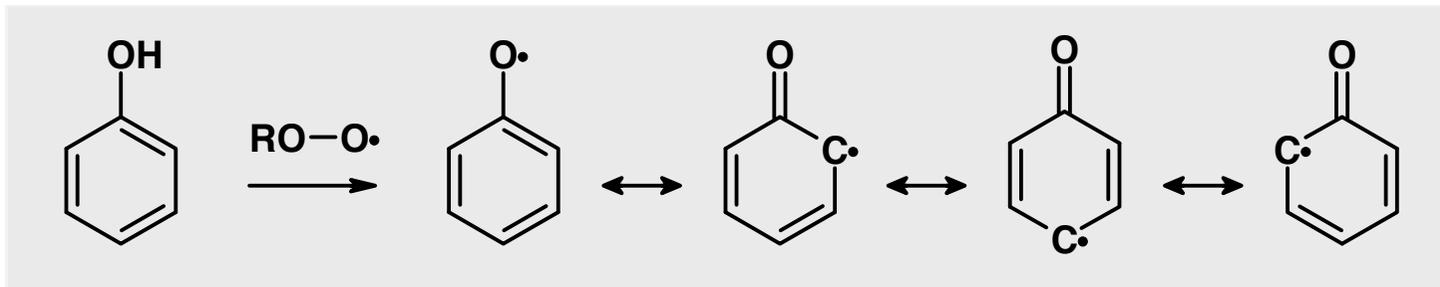
Proprietà



- L'antiossidante deve:
 - essere stabile all'aria $AH + O_2 \not\rightarrow A\bullet + HOO\bullet$
 - avere $k_{in} \gg k_p$
 - non essere tossico
- Il radicale $A\bullet$ che si forma non deve:
 - reagire con RH $A\bullet + RH \not\rightarrow AH + R\bullet$
 - reagire con l'ossigeno $A\bullet + O_2 \not\rightarrow AOOR\bullet$

Fenoli

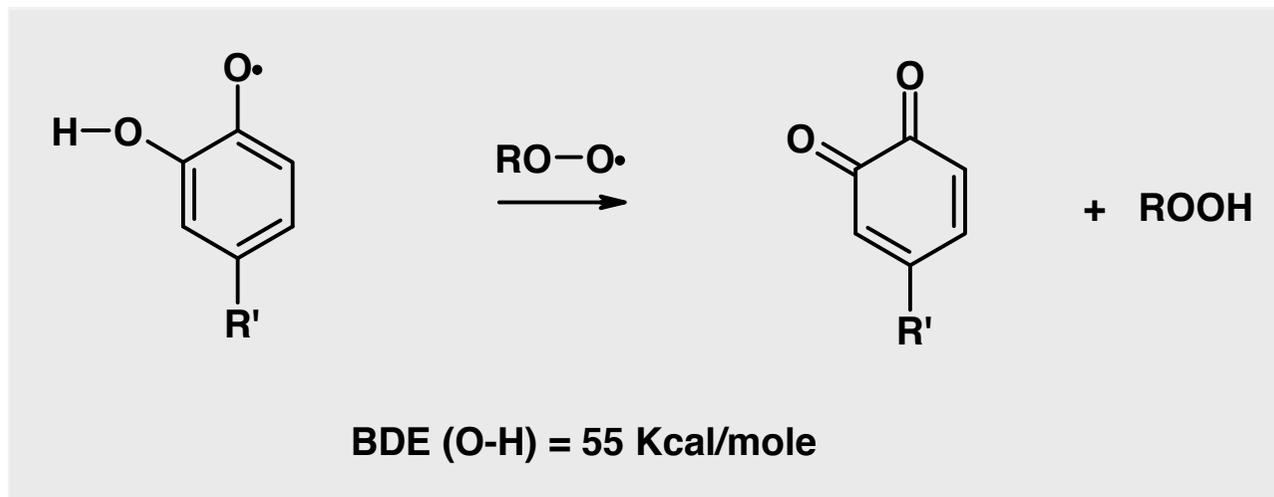
- I più comuni antiossidanti idrogeno donatori sono quelli a struttura fenolica



- La stabilità del radicale che si forma è dovuta alla sua delocalizzazione

Idrossifenoli (Polifenoli)

- Gli idrossifenoli, erroneamente chiamati polifenoli possiedono due gruppi -OH e possono quindi reagire due volte con i perossiradicali per idrogeno estrazione portando a strutture chinoidi coniugate molto stabili.



Antiossidanti per IDROGENO DONAZIONE

- L'attività antiossidante dipende dalla costante cinetica di velocità per la reazione con i radicali perossili k_{in}
- La k_{in} tiene conto sia di fattori energetico che di fattori sterici

Fattore energetico

- Come già accennato la reazione tra AH e ROO• è tanto più veloce quanto più è esotermica.
- Quindi dei buoni antiossidanti fenolici devono possedere $BDE(A-H) \ll BDE(ROO-H)$.
- La BDE di A-H dipende sia dalla stabilità dell'antiossidante (A-H) che da quella del radicale che si forma (A•)

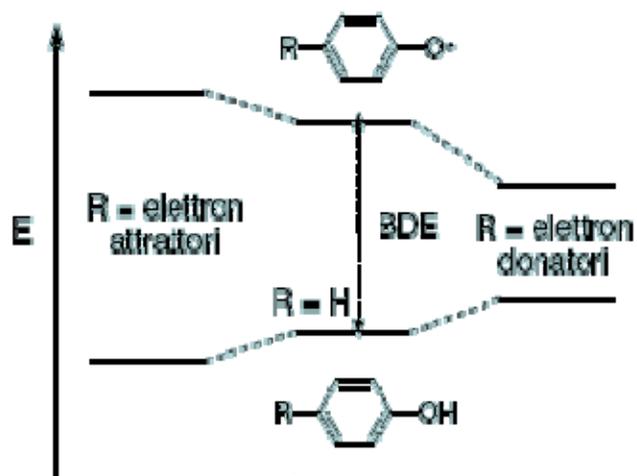


$$BDE(A-H) = \Delta H_f(A\bullet) + \Delta H_f(H\bullet) - \Delta H_f(A-H)$$

Fattore energetico

- La BDE dei fenoli dipende dai sostituenti presenti sull'anello aromatico, soprattutto nelle posizioni *orto* e *para*, cioè quelle che coniugano con l'OH fenolico o con l'O• nel fenossile.
- Il gruppo -OH è un elettrone-donatore mentre il gruppo -O• è un elettrone accettore.
- I sostituenti presenti sull'anello avranno quindi un effetto opposto sulla stabilità del fenolo e su quella del fenossiradicale.

Gli elettrone-attrattori stabilizzano il fenolo di partenza e destabilizzano il fenossile, quindi fanno aumentare la BDE(OH).



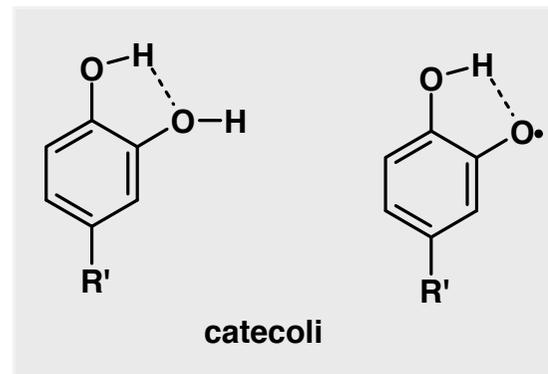
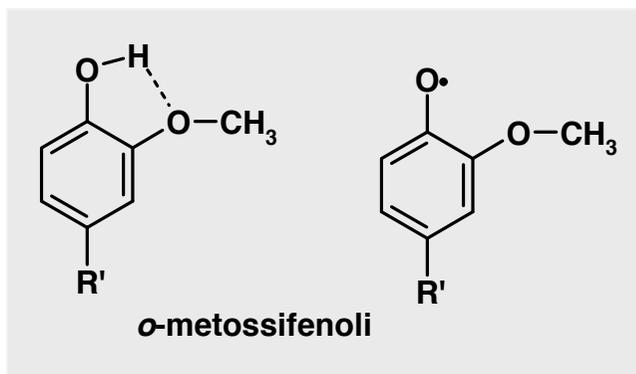
Gli elettrone-donatori stabilizzano il fenossile e destabilizzano il fenolo di partenza, quindi fanno diminuire la BDE(OH).

BDE di fenoli sostituiti

p-sostituente	BDE (kcal/mol)
-NH ₂	78.4
-OCH ₃	82.1
-SR	82.9
-C(CH ₃)	84.6
-CH ₃	84.8
-Ph	84.9
-Cl	86.1
-H	86.5
-COOCH ₃	87.8
-CHO	87.9
-CN	87.9
-NO ₂	88.6

Effetto dei Ponti a Idrogeno Intramolecolari

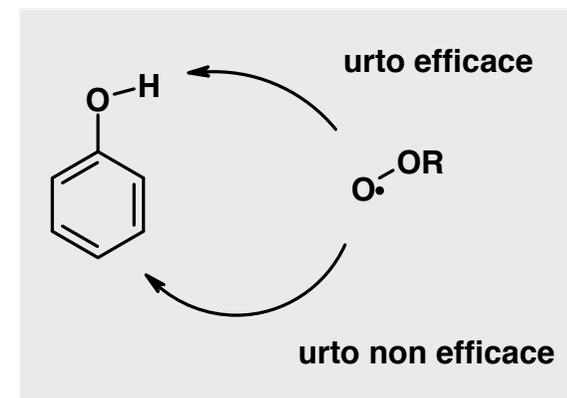
- I ponti ad idrogeno all'interno della molecola ricoprono un ruolo molto importante in quanto concorrono alla stabilizzazione del fenolo o del fenossile. Il caso più interessante è quello dei catecoli e degli orto-metossi fenoli, abbondantemente presenti in natura.



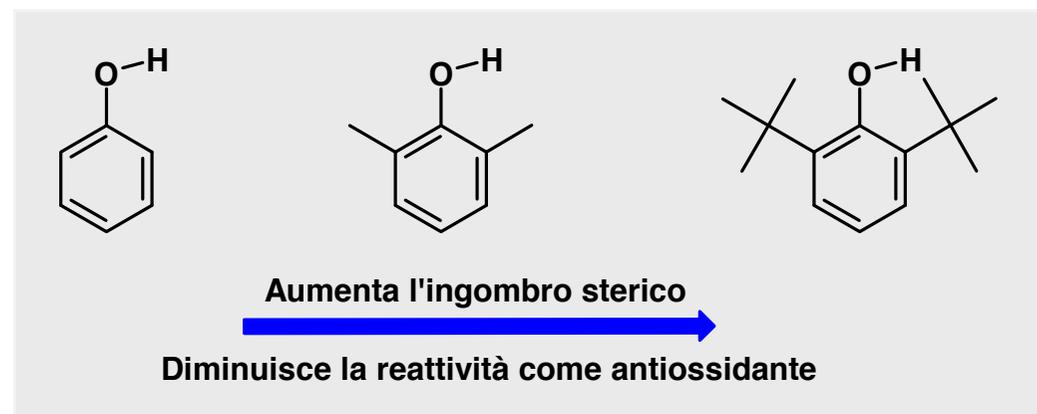
- Negli orto-metossi fenoli il ponte ad idrogeno è presente solo nel fenolo di partenza: la BDE(OH) è più alta del previsto (antiossidante peggiore).
- Nei catecoli è presente un ponte ad idrogeno sia nel fenolo di partenza sia nel radicale fenossile, entrambi sono stabilizzati e quindi la BDE(OH) rimane bassa (buon antiossidante).

Ingombro sterico

- Affinche avvenga la reazione tra AH e $\text{ROO}\bullet$ deve prima avvenire l'urto tra due molecole: ovviamente gli urti efficaci sono quello che avvengono in prossimità del gruppo OH.

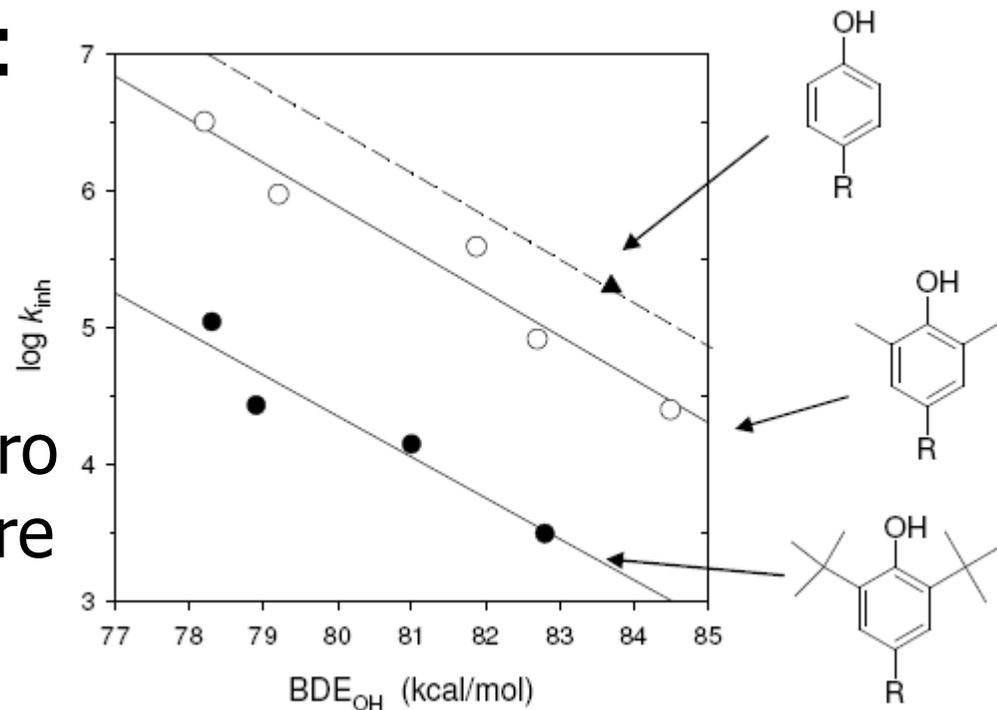


- Se nelle posizioni orto all'OH fenolico ad esempio ci sono sostituenti ingombranti, la percentuale di urti efficaci diminuisce.



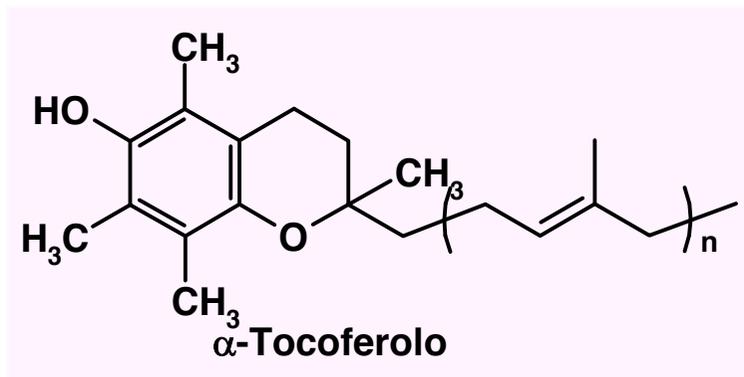
Relazione struttura-reattività

- Dal grafico si può vedere come sia il fattore energetico che quello sterico influenzino la k_{in} :
 - Esiste una relazione logaritmica tra la BDE(OH) e la k_{in} .
 - Maggiore è l'ingombro sterico in *orto*, minore la k_{in} .



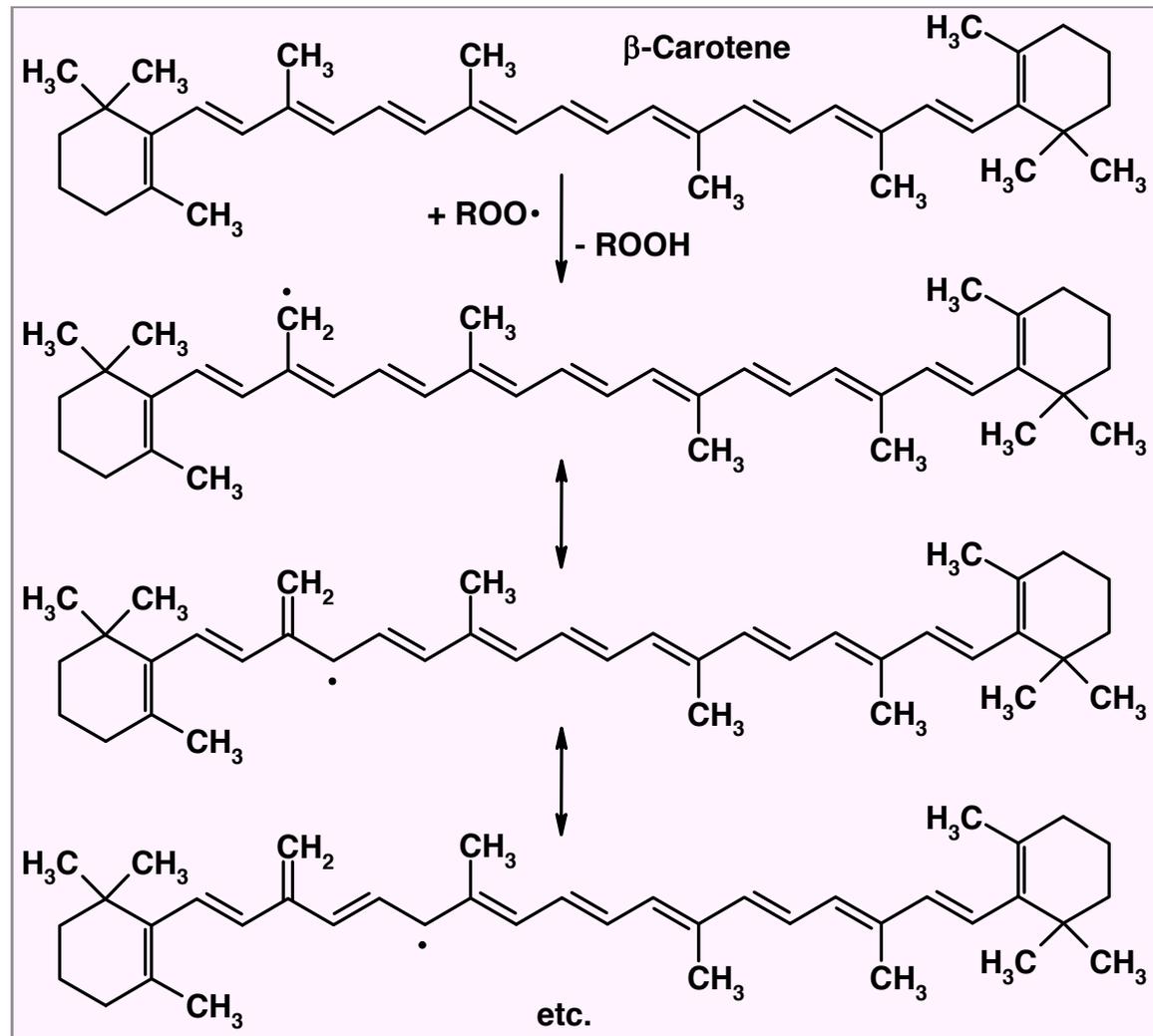
Esempio

- La Vitamina E riassume tutti i fattori che caratterizzano un buon antiossidante:
 - C'è un ridotto ingombro sterico in posizione *orto*
 - Ci sono sostituenti elettron-donatori in posizione *orto* e *para*
 - Ha una lipofilia e un peso molecolare adeguati al materiale da stabilizzare.



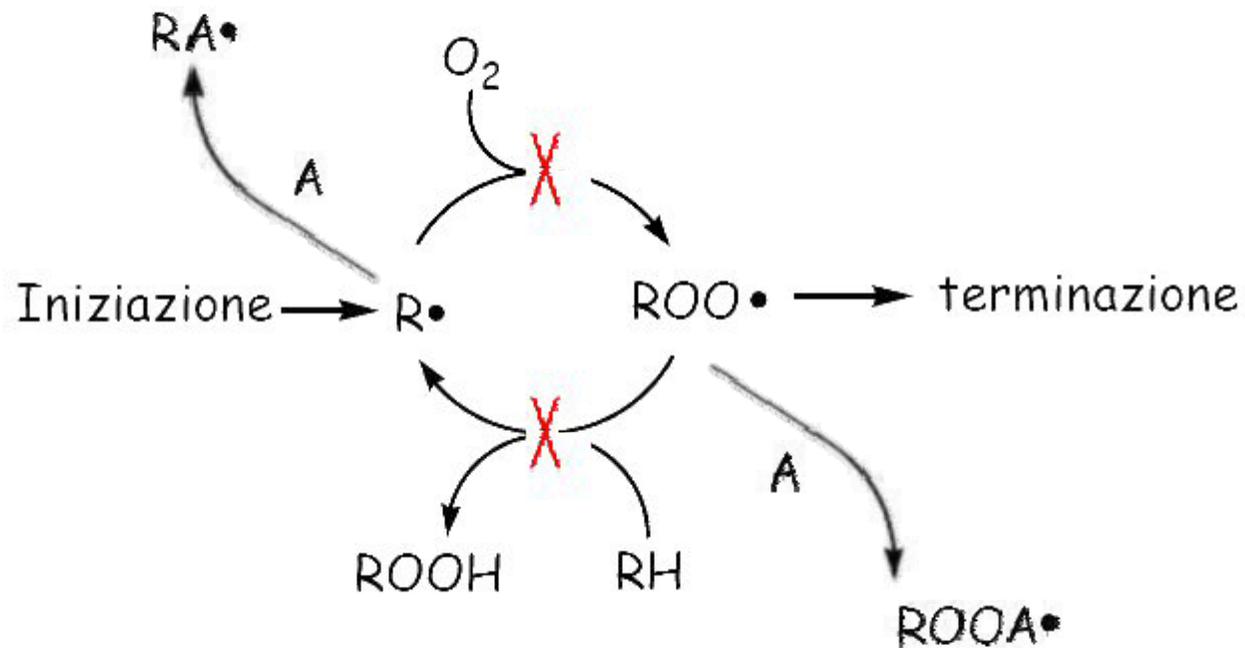
Esempio

- Anche molecole poliinsature come i caroteni possono deattivare i perossi radicali ($\text{ROO}\cdot$) attraverso la donazione di un idrogeno allilico formando un radicale carotenoide neutro, fortemente stabilizzato dalla risonanza ($\text{Car}\cdot$).



ADDIZIONE

- I radicali che si formano durante il processo perossidativo possono addizionarsi a specie contenenti dei doppi legami (A) dando radicali fortemente stabilizzati per risonanza.



Antiossidanti per ADDIZIONE

- In questo caso l'inibizione di un processo perossidativo avviene ad opera di un antiossidante che possiede dei doppi legami coniugati, che intrappola il radicale attraverso una reazione di addizione: ad esempio l'addizione di un radicale ad un carotenoide porta alla formazione di un addotto stabilizzato per risonanza che può poi accoppiare con un altro radicale per dare un prodotto di addizione.



Antiossidanti per ADDIZIONE

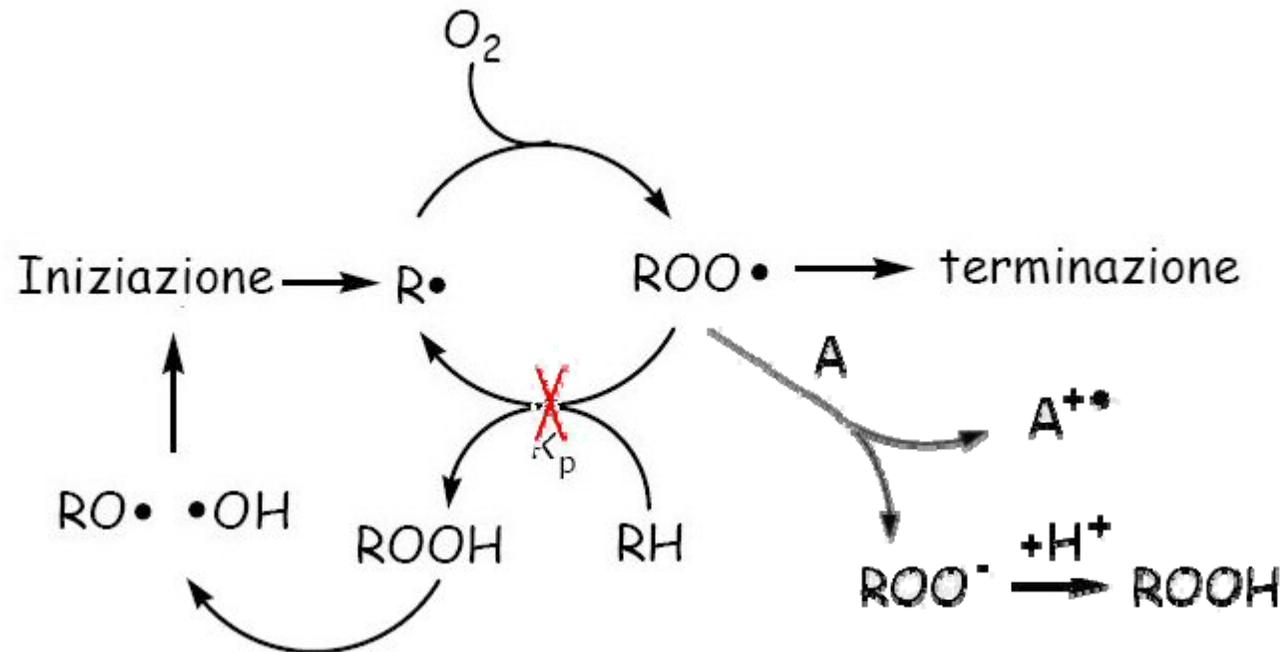
- Il β -carotene può addizionare sia radicali al carbonio che perossiradicali ma l'addizione di un perossi-radicale evolve nella formazione di un epossido e di un nuovo alcossi radicale.



- Un tale risultato ci suggerisce però che l'intrappolamento di perossi-radicali è di per se un processo inefficiente; una tale reazione cattura infatti un perossi radicale ma rilascia un alcossi radicale: l'antiossidante viene consumato ma non si ha una diminuzione delle catene radicaliche attive.

TRASFERIMENTO DI ELETTRONI

- Gli antiossidanti possono anche inibire il processo perossidativo trasferendo un elettrone al radicale perossile e questo avviene in accordo con il potenziale redox delle specie coinvolte.



Antiossidanti per TRASFERIMENTO DI ELETTRONI

- Ad esempio i caroteni (CarH) hanno bassi potenziali di ossidazione (E_{ox} da 0.55 a 0.80 V vs. SCE) e possono essere quindi ossidati da radicali centrati all'ossigeno, (perossili, alcossili e idrossili) che abbiano potenziali di riduzione sufficientemente positivi. Il processo di trasferimento elettronico porta alla formazione del radicale catione del carotene ($CarH^{+\bullet}$).

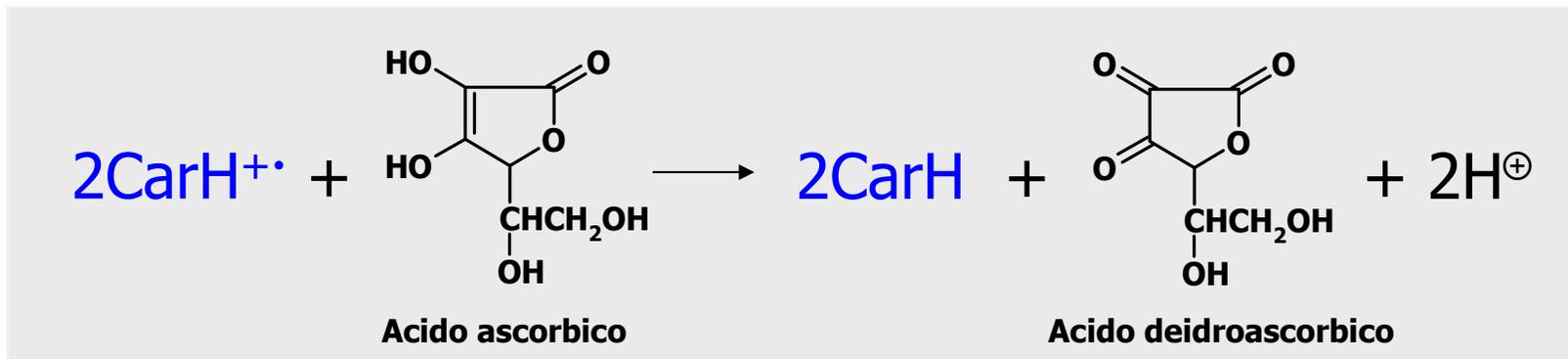


Antiossidanti per TRASFERIMENTO DI ELETTRONI

- Le proprietà antiossidanti dei caroteni non dipende però solamente dalla loro reattività verso i radicali, ma anche dalla stabilità del radicale catione che si forma ($\text{CarH}^{+\bullet}$). Infatti è stato osservato che il β -carotene può avere anche un effetto proossidante: per esempio è stato trovato che la supplementazione nella dieta con β -carotene può portare ad effetti deleteri in alcuni soggetti come i fumatori.
- In generale, in soluzione acquosa e in assenza di specie particolarmente ossidabili, $\text{CarH}^{+\bullet}$ sembra essere abbastanza stabile e quindi non deleterio, anche se in particolari condizioni esso ha un potenziale di riduzione tale da poter ossidare alcune proteine come la tirosina e quindi di provocare un danno ossidativo.

Antiossidanti per TRASFERIMENTO DI ELETTRONI

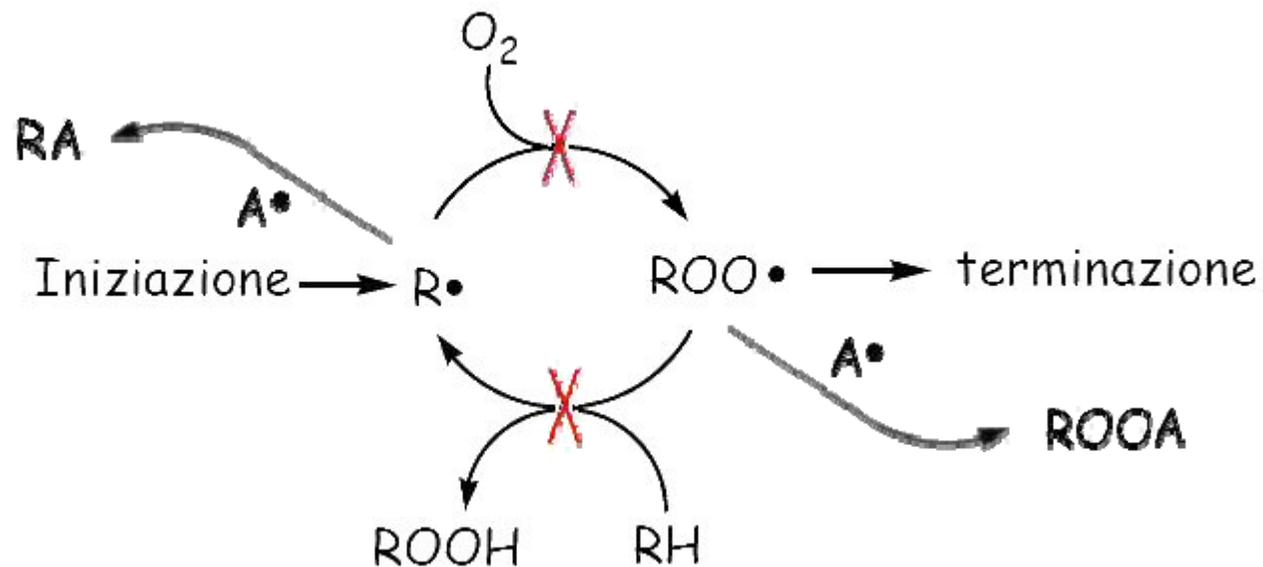
- D'altronde è stato trovato che CarH^{\bullet} viene efficientemente riconvertito a carotene da diverse specie come la Vit C e la Vit E.



- Tale osservazione ha suggerito che l'effetto deleterio della supplementazione con β -carotene su forti fumatori può essere messo in relazione alla formazione di radicale catione CarH^{\bullet} da parte del diossido di azoto NO_2^{\bullet} ; visto i bassi livelli di Vit C presenti nel sangue dei forti fumatori tale radicale catione non verrebbe riconvertito in carotene ed avrebbe un'azione distruttiva nei confronti delle proteine.

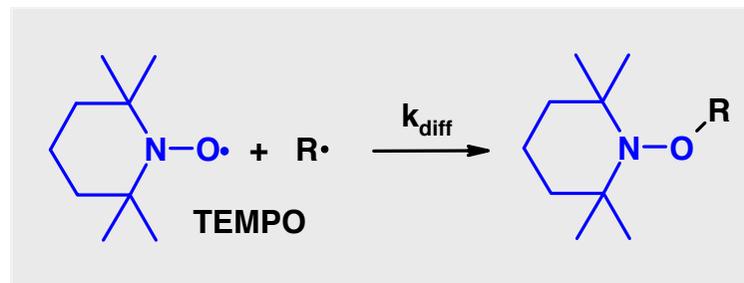
ACCOPPIAMENTO

- Infine, i radicali che si formano durante il processo perossidativo possono essere bloccate reagendo con antiossidanti che sono dei radicali ($A\bullet$) persistenti per dare specie neutre.



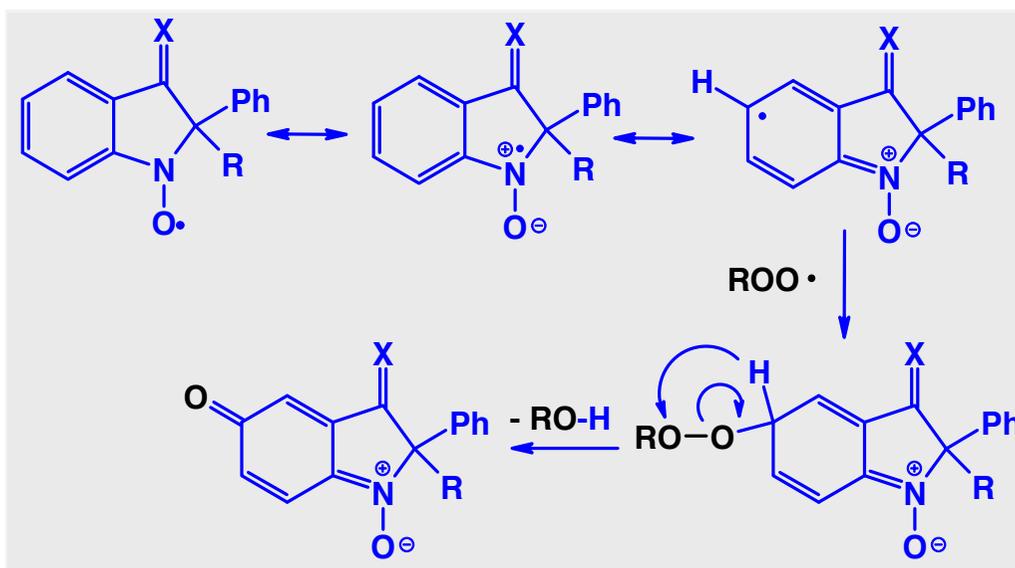
Antiossidanti per ACCOPPIAMENTO RADICALICO

- Tutti i radicali che prendono parte in un processo perossidativo possono essere inattivati attraverso una reazione di accoppiamento con altre specie radicaliche. Una tale reazione ha una energia di attivazione molto bassa e quindi una velocità controllata dalla diffusione.
- I nitrossidi radicali, già visti come antiossidanti preventivi possono quindi reagire anche come antiossidanti interruttori di catena.
- Questi composti, come d'altronde i fenossi radicali sono radicali persistenti e quindi non reattivi verso le molecole non-radicaliche; essi possono però reagire molto velocemente con i radicali centrati al carbonio portando alla formazione di alcossiammine.



Antiossidanti per ACCOPPIAMENTO RADICALICO

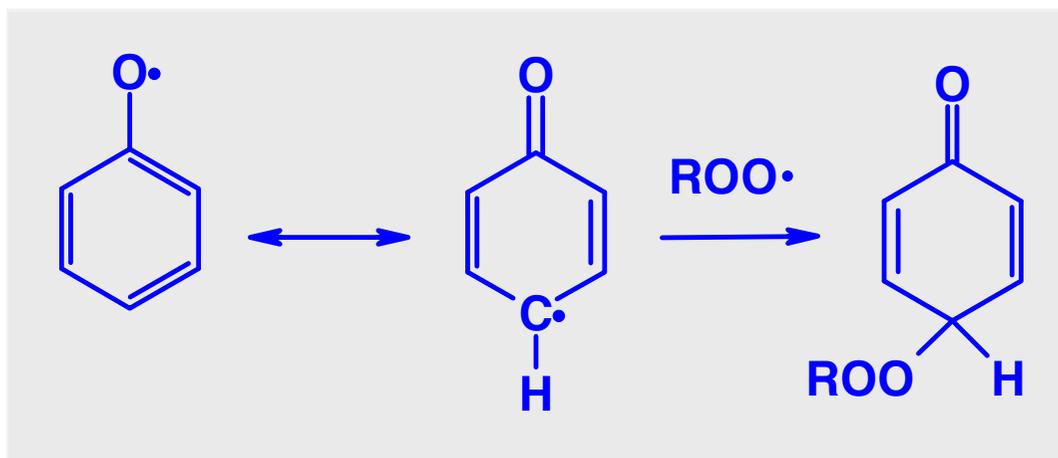
- I nitrossidi con una struttura aromatica, come i nitrossidi indolinonici, possono inoltre intrappolare (in modo simile ai agli idrossi e agli alcossi) anche i perossi radicali, per formare composti non paramagnetici.



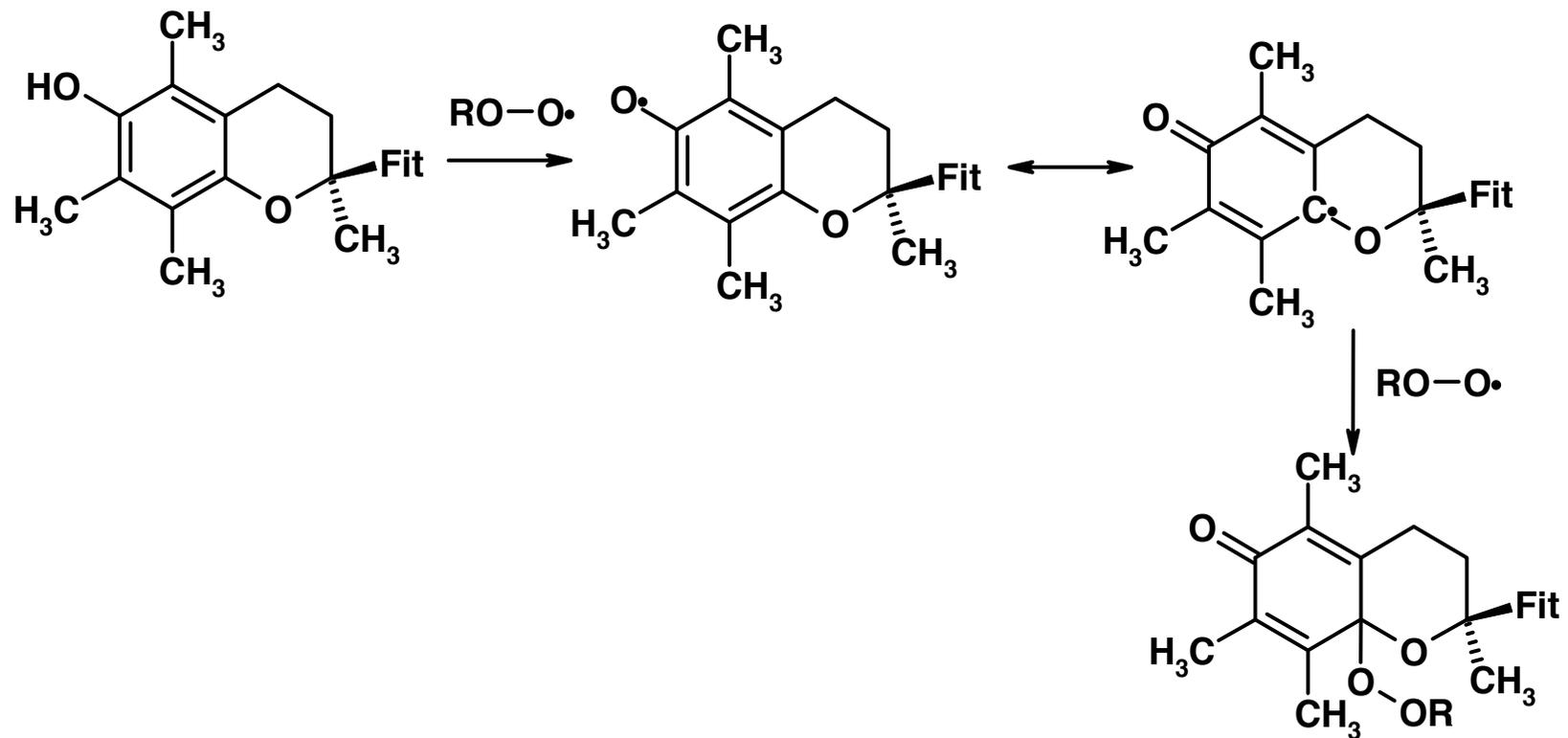
- Sulla base di tale reattività, i nitrossidi indolinonici sono stati testati come antiossidanti nei confronti di diversi importanti target biologici sottoposti a stress ossidativo.

Antiossidanti per ACCOPPIAMENTO RADICALICO

- L'efficienza della Vitamina E e dei fenoli, come antiossidanti è anche dovuta al fatto che il radicale fenossile, che si forma durante il processo di inibizione, intrappola un secondo perossiradicale in una veloce reazione di accoppiamento.



Vitamina E



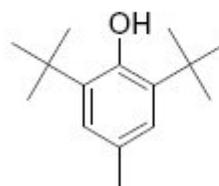
CONCLUSIONI

- I processi perossidativi possono essere inibiti per interruzione della catena essenzialmente attraverso tre meccanismi: l'idrogeno donazione, il trasferimento elettronico e l'intrappolamento. L'attività antiossidante di tutti i composti descritti, indipendentemente dal meccanismo attraverso il quale lavorano, viene spiegato attraverso la disattivazione o l'intrappolamento di specie reattive all'ossigeno (ROS).
- D'altra parte la loro attività antiossidante è quasi sempre accompagnata da una certa attività pro-ossidante che diventa significativa solo in particolari condizioni. Infatti in studi recenti è stato visto che la supplementazione eccessiva con β -carotene, Vit A e Vit E per la prevenzione di diverse malattie, sembra non sia positiva come ci si potrebbe aspettare.

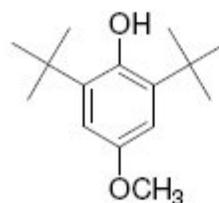
Antiossidanti fenolici sintetici

I fenoli sono comunemente impiegati per ostacolare la degradazione ossidativa di alimenti, cosmetici e farmaci. Gli esempi riportati permettono di notare che esistono tre categorie di fenoli: i fenoli semplici, i catecoli (*orto*-diidrossibenzene) e gli idrochinoni (*para*-diidrossibenzene).

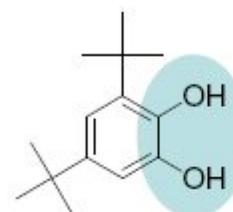
2,5-di-terz-butil-idrossitoluene (BHT)



2,5-di-terz-butil-idrossianisolo (BHA)

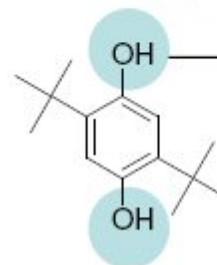


3,5-di-terz-butil-catecolo (DTBC)



catecolo

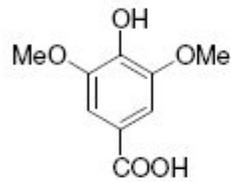
3,6-di-terz-butil-idrochinone (DTHQ)



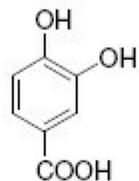
idrochinone

Antiossidanti fenolici naturali

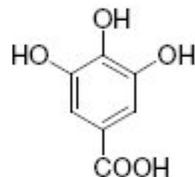
Sono abbondantemente presenti nelle piante, dove svolgono svariate funzioni, come ad esempio: colorazione dei petali, difesa dai patogeni, antiossidanti, mattoni per la biosintesi della lignina.



acido
siringico

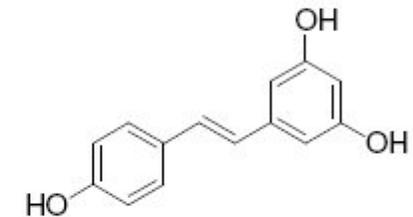


acido
protocatechico

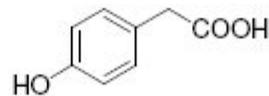


acido
gallico

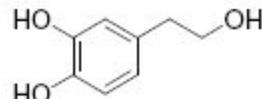
TANNINI



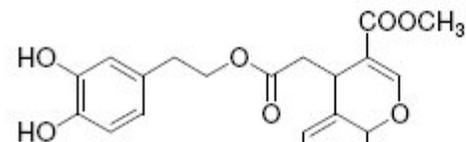
resveratrolo



acido
4-idrossifenilacetico



idrossitirosolo

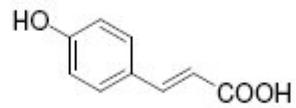


oleuropeina

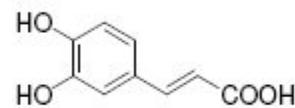
OGlu

Antiossidanti fenolici naturali

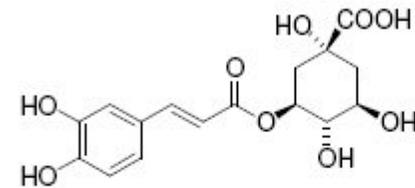
ACIDI CINNAMICI



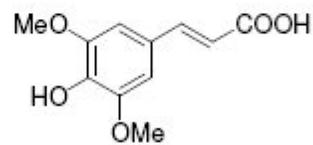
acido
para-cumarico



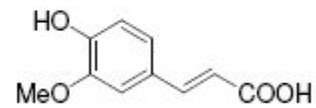
acido
caffeico



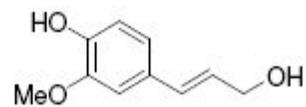
acido clorogenico



acido
sinapico

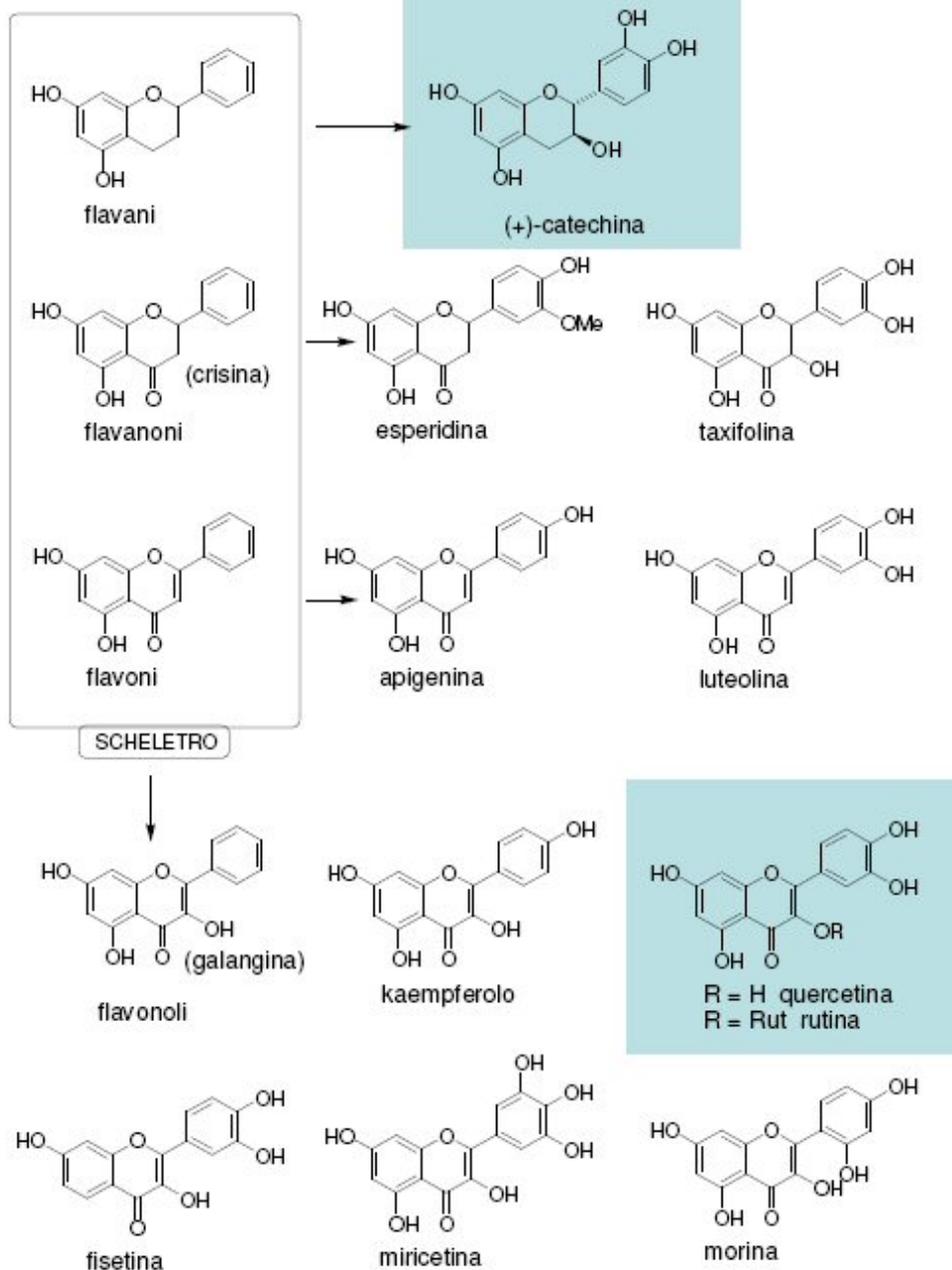


acido
ferulico



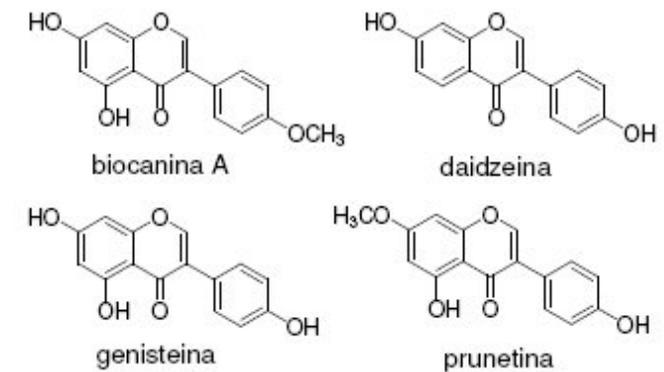
alcool coniferilico

Antiossidanti fenolici naturali



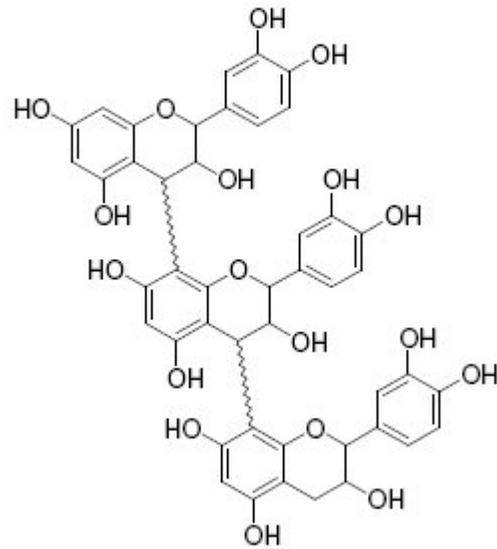
FLAVONOIDI

ISOFLAVONOIDI

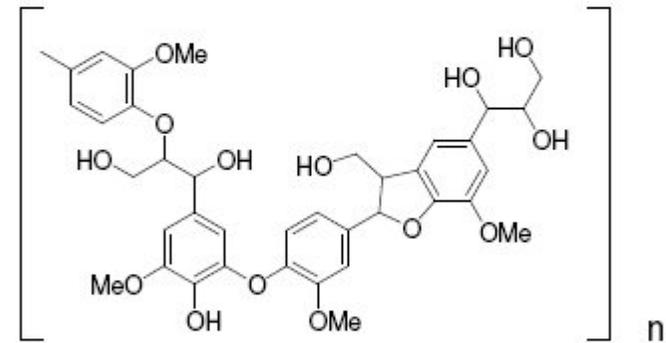


Antiossidanti fenolici naturali

POLIMERI



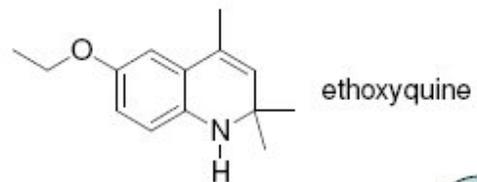
proantocianidine



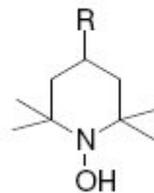
lignina

Altri antiossidanti

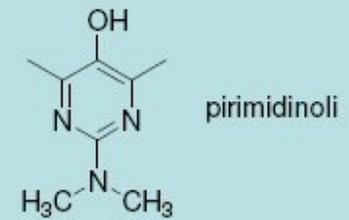
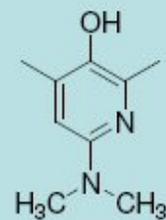
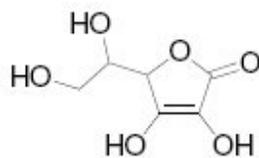
Ammine aromatiche



Ossidrilammine



Vitamina C



Radicale superossido

- Dismutazione con SOD



- La sua reattività è piuttosto bassa, tanto che non rappresenta una sostanza eccessivamente tossica per l'organismo.
- Interagisce con l'acqua ossigenata producendo idrossi-radicali



- Lo ione superossido inoltre può ridurre il $\text{Fe}^{3\oplus}$ a $\text{Fe}^{2\oplus}$



Acqua ossigenata

- Nelle cellule l' H_2O_2 si forma come prodotto primario della riduzione dell'ossigeno da parte di numerose ossidasi.
- L'acqua ossigenata è una specie dannosa in quanto è capace di ossidare composti sulfidrici come i residui di metionina nelle proteine e, a concentrazioni basse, può portare alla lisi degli eritrociti umani.

Acqua ossigenata

- La pericolosità dell'acqua ossigenata è dovuta soprattutto all'interazione con le forme ridotte di alcuni metallo-ioni come $\text{Fe}^{2\oplus}$ o il Cu^{\oplus}



- o con l'anione superossido



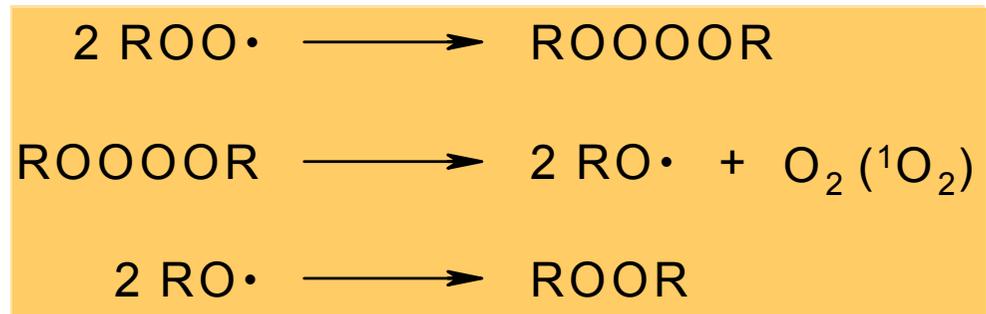
- che porta alla formazione dell'idrossi radicale e dello ione ossidrilico

Idrossi-radicale

- L'idrossi-radicale è un radicale estremamente ossidante e risulta notevolmente dannoso a livello dei sistemi biologici in quanto reagisce con moltissime molecole di interesse biologico (come ad esempio carboidrati, lipidi, proteine, DNA] a velocità vicine al limite teorico della diffusione.

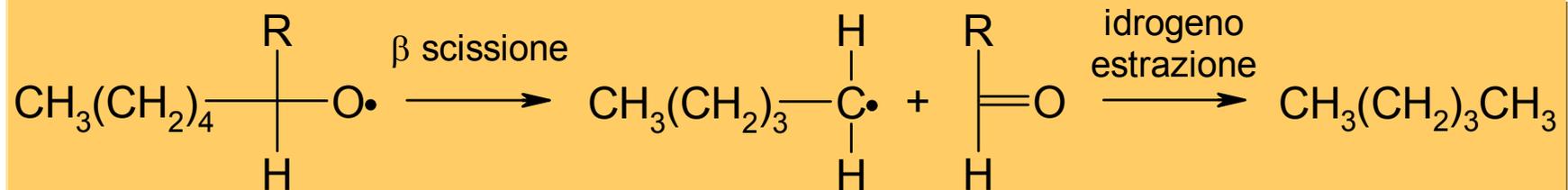
Perossi-radicali

- L'accoppiamento di perossidi radicali porta alla formazione di un **tetrossido** che decompone per formare ossigeno che può essere **ossigeno singoletto** ($^1\text{O}_2$) e due **radicali alcossilici** ($\text{RO}\cdot$) che possono accoppiare nella gabbia del solvente per formare il **dialchilperossido** o reagire come tali.



Alcossi-radicali

- Gli alcossi radicali hanno un buon potere idrogeno estrattore, ed una notevole capacità di addizionarsi ad un doppio legame, originando un radicale centrato al carbonio che, come è stato detto precedentemente, può essere l'origine di un nuovo perossi-radicalo quando reagisce con l'ossigeno.
- Gli alcossi radicali che si formano per esempio durante la perossidazione lipidica, possono inoltre andare incontro a una reazione di β -scissione che porta alla formazione di composti contenenti gruppi carbonilici (soprattutto aldeidi e chetoni) ed idrocarburi.



Ossigeno singoletto

- L'ossigeno singoletto è un'altra forma reattiva dell'ossigeno che però non è un radicale
- Nei sistemi biologici, l'ossigeno singoletto può formarsi per dismutazione spontanea del superossido radicale oppure per interazione di quest'ultimo con il radicale idrossile o con l'acqua ossigenata.
- Esso si può anche formare durante il processo di perossidazione lipidica in cui sono presenti dei radicali perossilici intermedi che reagendo fra di loro formano un tetrossido che, decomponendosi produce ossigeno singoletto.
- L'ossigeno singoletto viene considerato un forte ossidante e ciò comporta che esso è in grado di reagire con parecchie classi di composti, molte delle quali sono di interesse biologico.
- Ad esempio, può attaccare i doppi legami dei caroteni, delle clorofille e degli acidi grassi insaturi mediante reazioni di addizione.