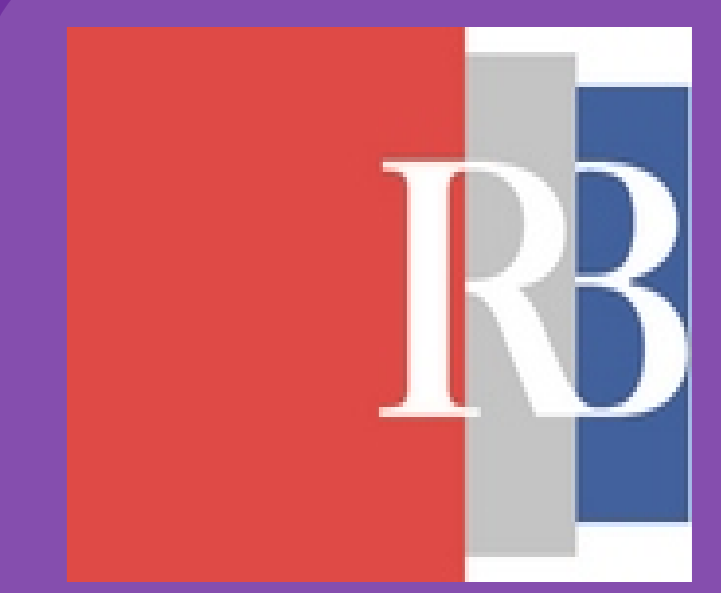


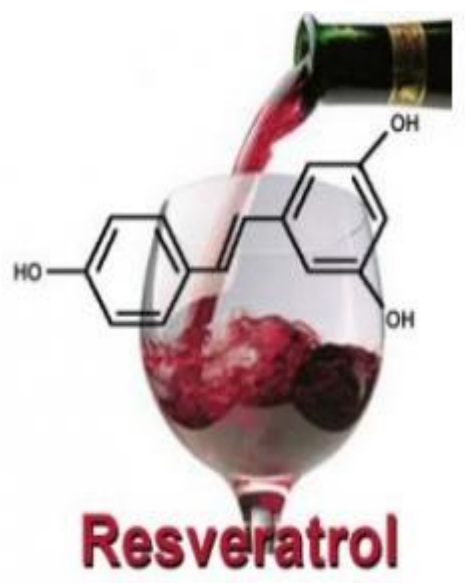
# KINETIKA I REAKCIJSKI MEHANIZMI ANTIOKSIDANSA RESVERATROLA SA SLOBODNIM RADIKALIMA



## MOLEKULSKA ARHITEKTURA

Iva Džeba

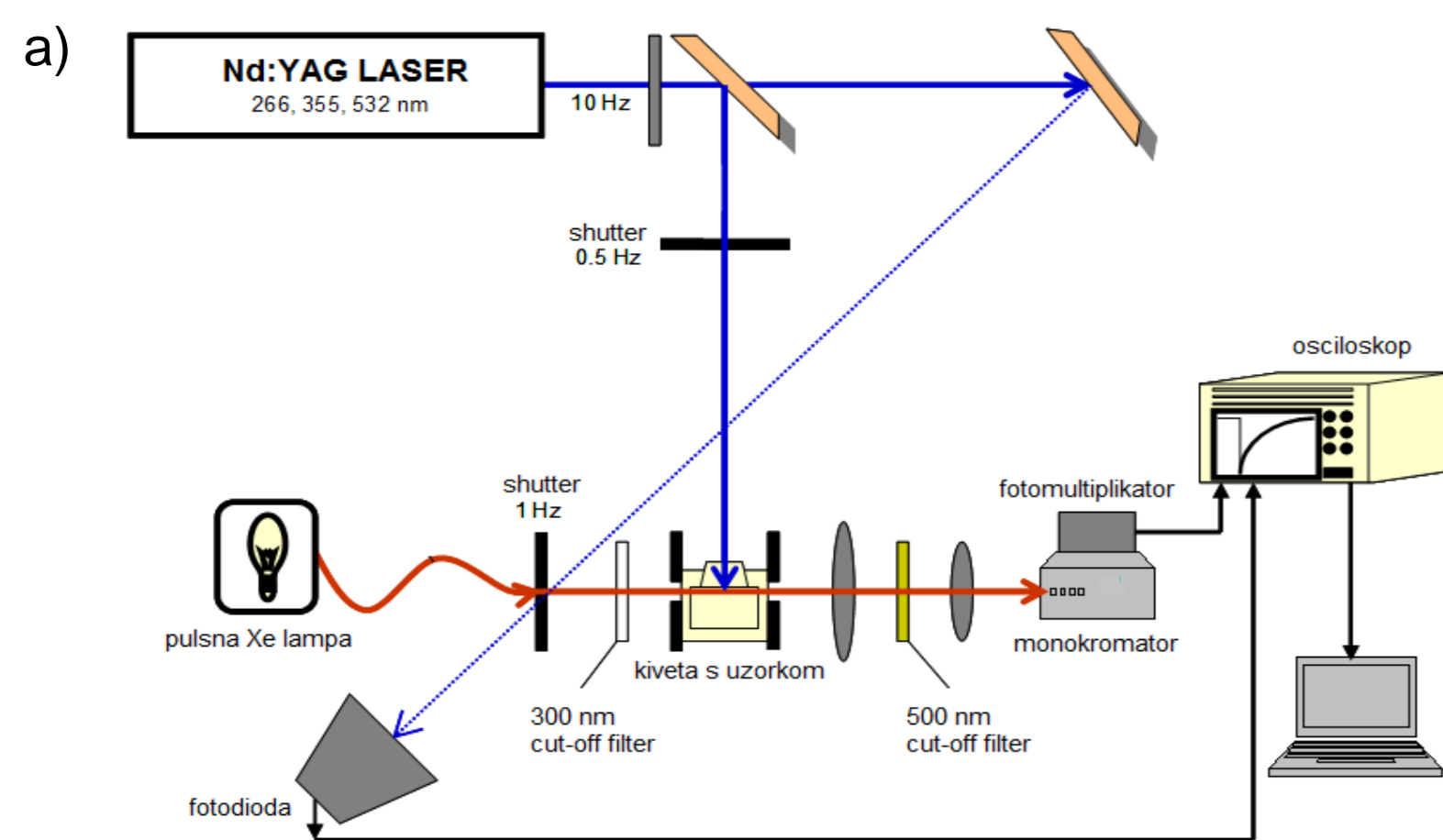
Zavod za kemiju materijala/Laboratorij za radijacijsku kemiju i dozimetriju



Slobodni radikali koji nastaju uslijed oksidacijskog stresa iniciraju i propagiraju lančane reakcije koje mogu oštetiti sve makromolekule među kojima su i lipidi. Resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihidroksistilben) je polifenol iz skupine stilbena koji je prisutan ponajviše u grožđu pa time i u crnom vinu. Poznato je da je resveratrol dobar hvatač slobodnih radikala te je stoga djelotvoran antioksidans u stanjima oksidacijskog stresa u organizmima. Za resveratrol se veže tzv. "Francuski paradoks" koji unatoč tradicionalnoj masnoj ishrani objašnjava smanjen rizik oboljevanja od kardiovaskularnih bolesti redovitim dnevnim konzumiranjem čaše crnog vina. Zadnjih su godina intenzivno istraživana antioksidativna svojstva resveratrola u modelnim i biološkim sustavima, međutim u literaturi pronalazimo vrlo malo kinetičkih podataka za reakcije resveratrola s biološki značajnim organskim radikalima, osobito s alkoksilnim i radikalima centriranim na atomu sumpora, tiilnim radikalima.

Cilj istraživanja je izmjeriti brzine reakcija resveratrola s alkoksilnim, odnosno tiilnim radikalima u svrhu približavanja reakcijskim mehanizmima antioksidativnog djelovanja resveratrola.

### Instrumentacija za nanosekundnu lasersku pulsnu fotolizu:

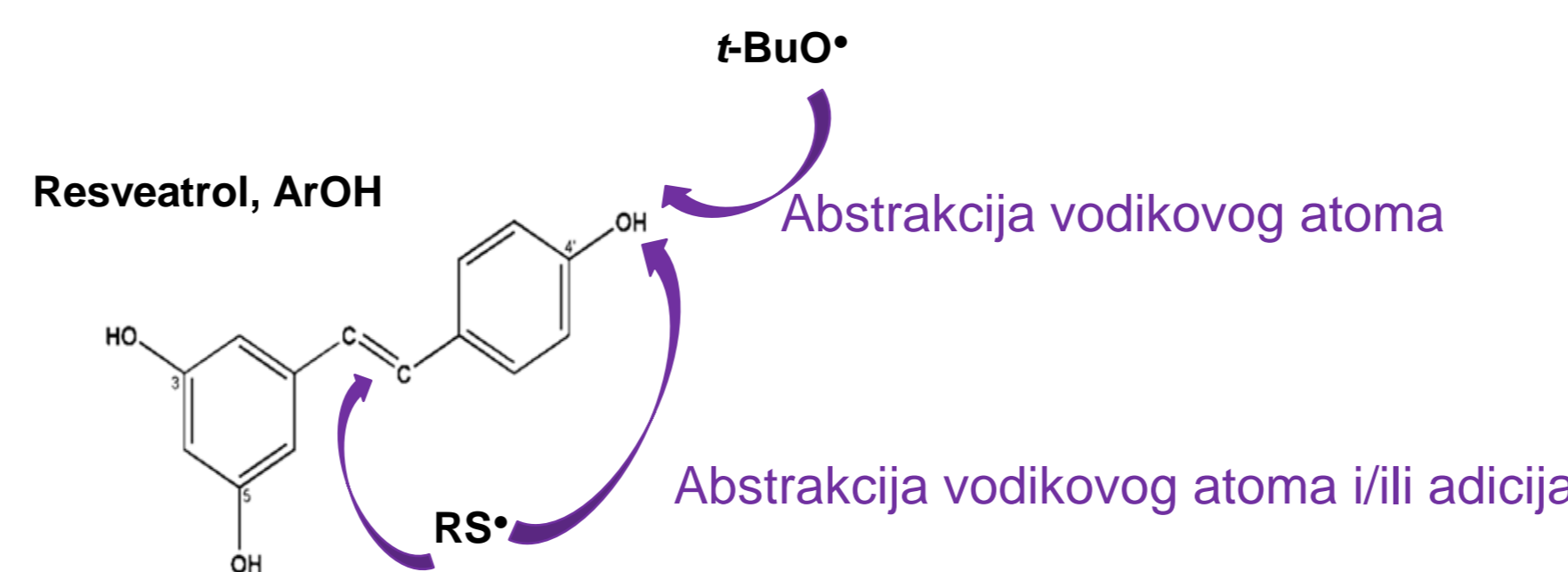


a) Nd:YAG LASER<sup>1</sup>; b) rubinski LASER



### Mogući reakcijski mehanizmi resveratrola i tiilnih te alkoksilnih radikala

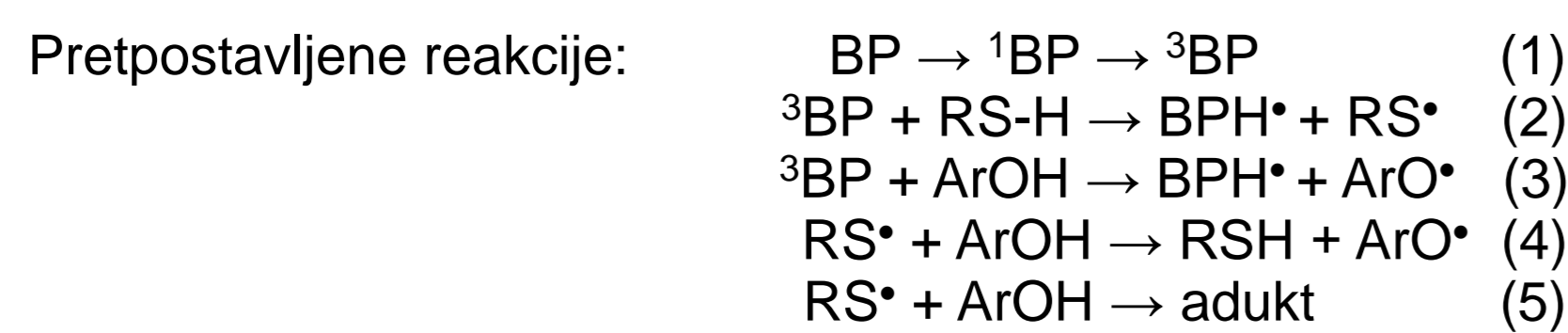
Alkoksilni radikali su propagatori lančanih reakcija u lipidnoj peroksidaciji koja dovodi do strukturalnih promjena u lipidima i konačno do štetnih promjena u staničnim membranama.



Tiilni radikali, uz sudjelovanje u procesima lipidne peroksidacije mogu inicirati i *trans* izomerizacije dvostrukih veza u nezasićenim masnim kiselinama.

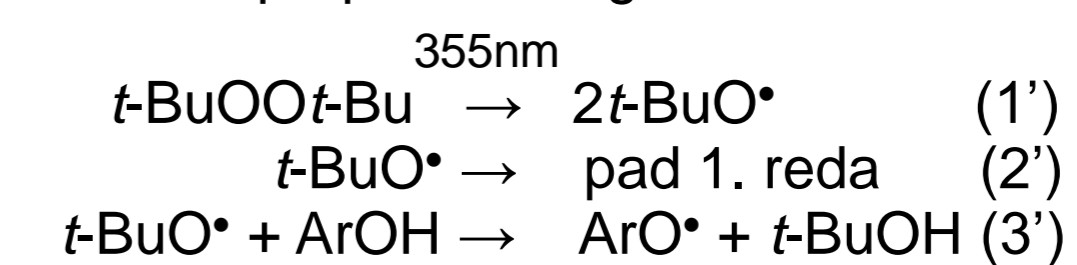
### Reakcijska kinetika resveratrola s tiilnim radikalima

(otopina acetonitrila propuhana s N<sub>2</sub>: 1 mM benzofenon, BP; 2.5 mM 1-oktadekantiol, RSH i 0.1 mM ArOH)



### Reakcijska kinetika resveratrola s alkoksilnim radikalima<sup>3</sup>

(otopina acetonitrila propuhana argonom: *t*-BuOO*t*-Bu : ArOH = 1 : 2, 0.1 mM ArOH)



Da bi se odredio reakcijski mehanizam resveratrola s tiilnim radikalima, tj. utvrdilo dolazi li do abstrakcije H-atoma tiilnim radikalima (4) i/ili adicije tiilnih radikala na dvostruku vezu resveratrola (5) potrebno je identificirati sve nastale reaktivne kratkoživuće čestice nakon ekscitacije laserskim pulsom:

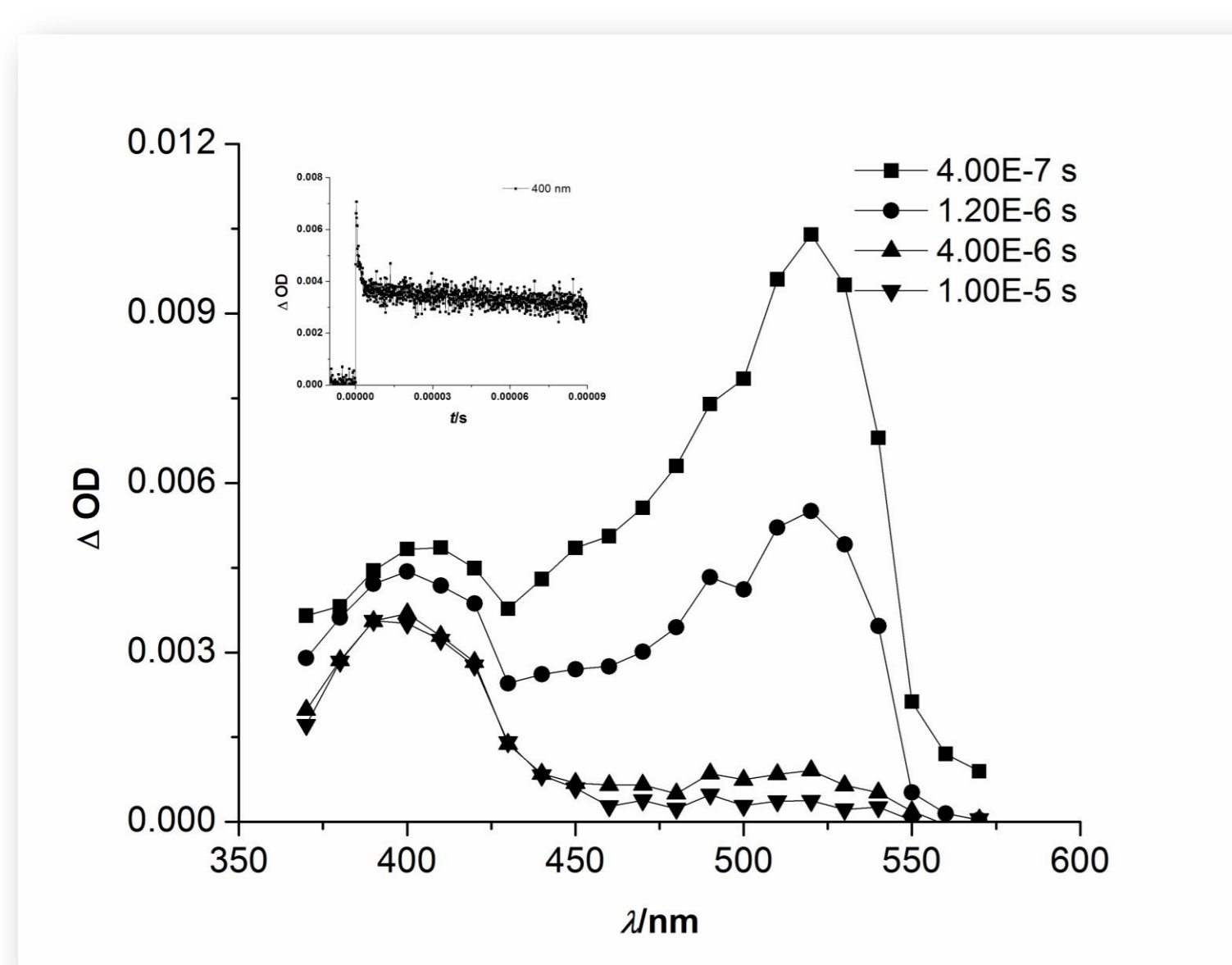
<sup>3</sup>BP, BPH\*, RS\*, ArO\*, te snimiti njihove pojedinačne spektre.

Dobiveni spektri se koriste kao referentni spektri u postupku spektralne dekonvolucije. Spektar otopine koja sadrži BP, RSH i ArOH dobiven eksperimentom predstavlja sumu spektara svih pojedinih kratkoživućih čestica. Procesom spektralne dekonvolucije dobivaju se vremensko-koncentracijski profili svih nastalih čestica.

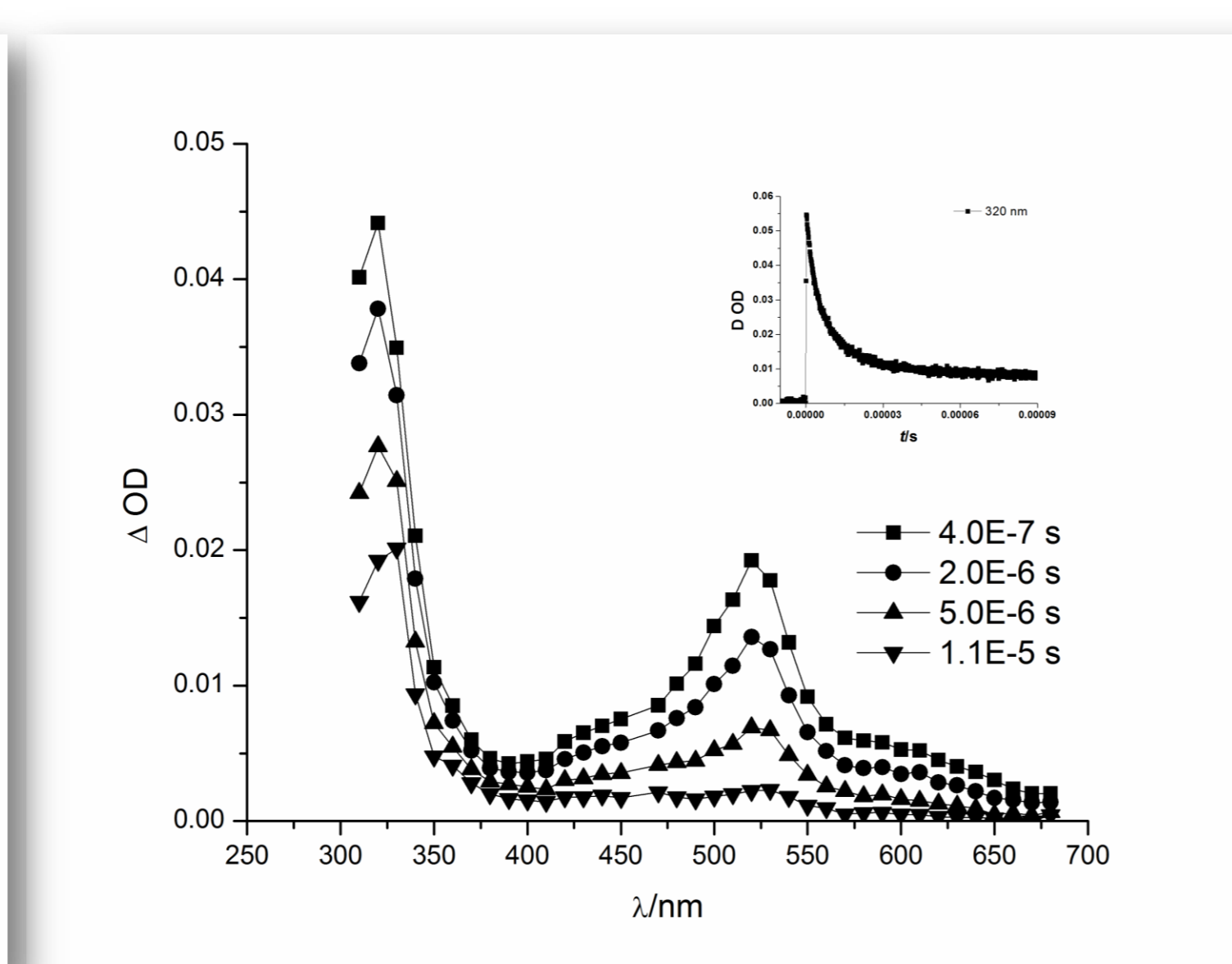
U svrhu određivanja svih prisutnih čestica pristupilo se pojedinačnim reakcijama:

Hidroksilna skupina na položaju 4' resveratrola je najreaktivnija u reakciji sa slobodnim radikalima zbog stabilizacije nastalog fenoksilnog radikala, ArO\* uslijed delokalizacije elektrona kroz fenilne skupine i dvostruku vezu resveratrola.<sup>2</sup>

### Reakcija <sup>3</sup>BP + ArOH



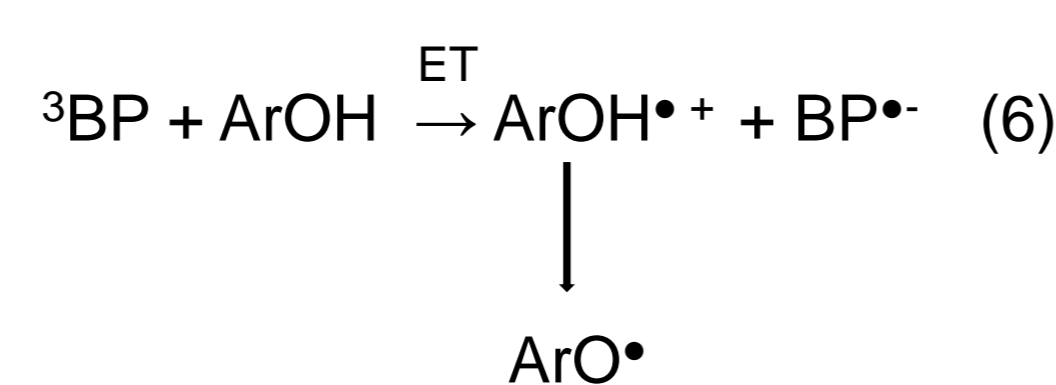
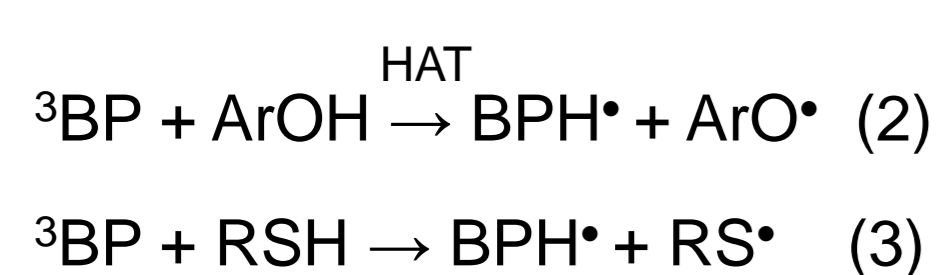
### Reakcija <sup>3</sup>BP + RSH



Promjena spektara s padom tripleta <sup>3</sup>BP koji apsorbira tipično na 520 nm, ukazuje na:

- a) nastajanje fenoksil radikala, ArO\*, na 400 nm te b) nastajanje tiilnog radikala, RS\*, na 320 nm.

Radikal BPH\* koji ima apsorpcijski maksimum na 550 nm, nije vidljiv iz dobivenih spektara. Rezultati nastajanja kratkoživućih intermedijarnih čestica potvrđuju i kinetički profili.



Budući da ni u spektrima ni u kinetičkim profilima nije detektiran BPH\* na 550 nm, reakcijama (2) i (3) ne može se pridijeliti mehanizam prijenosa protona, (engl. *hydrogen atom transfer*, HAT)

Dobiveni rezultati ukazuju da bi se navedene reakcije trebale odvijati mehanizmom prijenosa elektrona, (engl. *electron transfer*, ET) pri čemu nastaje radikal-kation, ArOH\*<sup>+</sup>. Deprotonacijom radikal-kationa nastaje ArO\*.

Zaključci:

*Terc*-butoksilni radikali reagiraju s resveratrolom pri čemu poznatim mehanizmom apstrakcije H-atoma iz hidroksilnih skupina resveratrola nastaje fenoksil radikali, ArO\*. Određena je konstanta brzine drugog reda reakcije *terc*-butoksilnih radikala i resveratrola,  $6.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Dobiveni spektar fenoksil radikala upotrebljen je kao referentni spektar u postupku dekonvolucije svih nastalih čestica u reakciji benzofenona, 1-oktadekantiola i resveratrola.

Generiranje tiilnih radikala reakcijom BP i 1-oktadekantiola potvrđeno je posredno iz apsorpcijskog spektra <sup>3</sup>BP i RSH i kinetičkog prikaza na 320 nm tj. valnoj duljini maksimuma 1-oktadekantiolnog radikala.

Pokazano je da u reakciji tripleta benzofenona s resveratrolom nastaje fenoksil radikal. Predmet budućeg rada bit će dokazivanje predloženog mehanizma prijenosa elektrona reakcije <sup>3</sup>BP i resveratrola (6). Pritom je nužno pronaći reakcijske uvjete u kojima bi nastajanje tiilnih radikala bilo dominantno kako bi se mogla odrediti konstanta brzine reakcije tiilnih radikala s resveratrolom te približiti reakcijskom mehanizmu: abstrakcija vs adicija tiilnih radikala u reakciji s resveratrolom.

Reference:

- T. Pedzinski, A. Markiewicz, B. Marciniak, *Res Chem Intermed* **35** (2009) 497-506.
- S. Stojanović, O. Brede, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4** (2002) 757-764
- S. Petralia, C. Spatafora, C. Tringali, M.C. Foti, S. Sortino, *New J. Chem.* **28** (2004) 1484-1487

Zahvala:

Zahvaljujem se svojoj mentorici dr.sc. Branki Mihaljević na uloženoj trudu i pomoći.