



ANTIOXIDANTES NATURALES Y SALUD



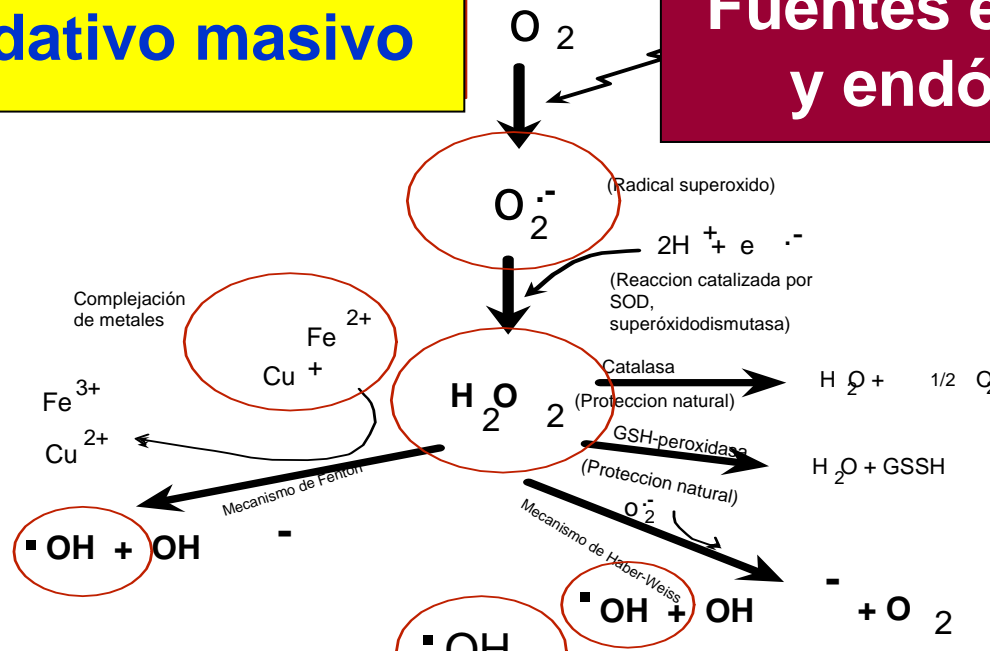
MECANISMOS Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD



Cadena oxidativa en un sistema biológico

Estrés oxidativo masivo

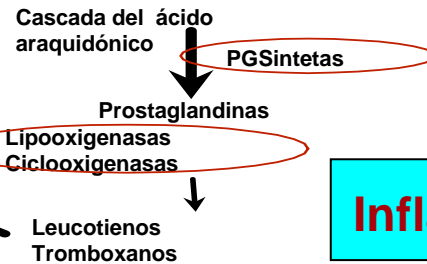
Fuentes exógenas y endógenas



Toxicidad general

Genotoxicidad

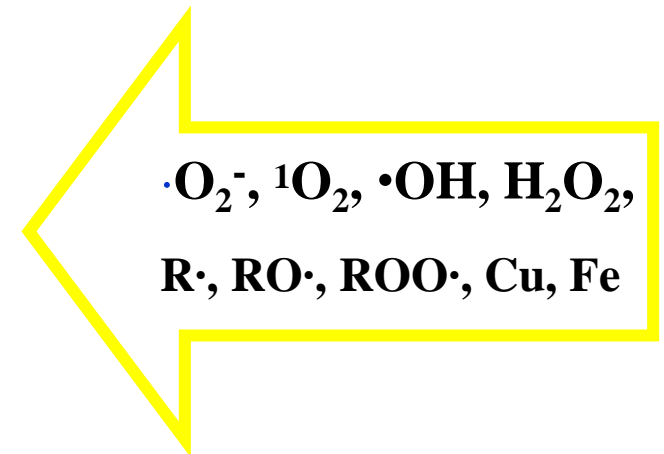
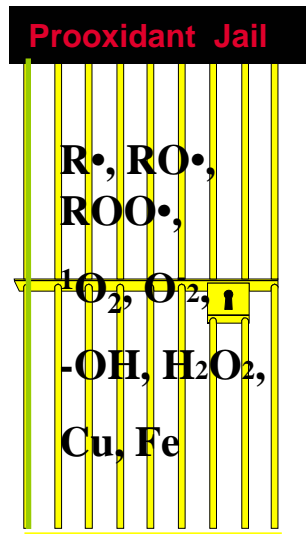
- Especies genotóxicas
Modificación oxidativa del ADN
- R
 - RO
 - ROO
 - RR
 - ROOR



Inflamación

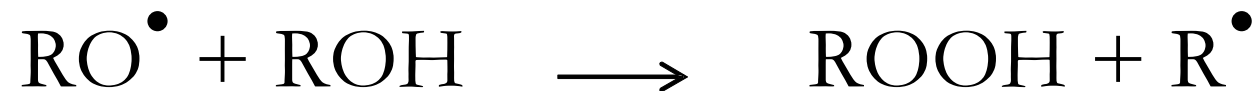
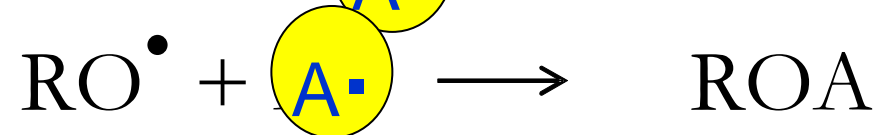
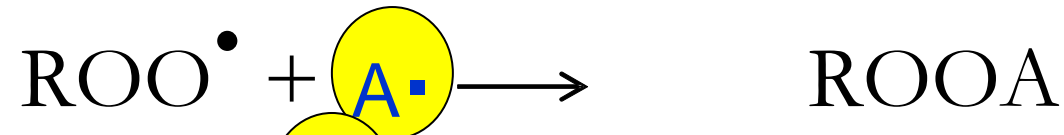
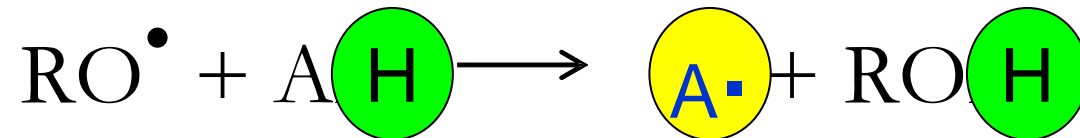
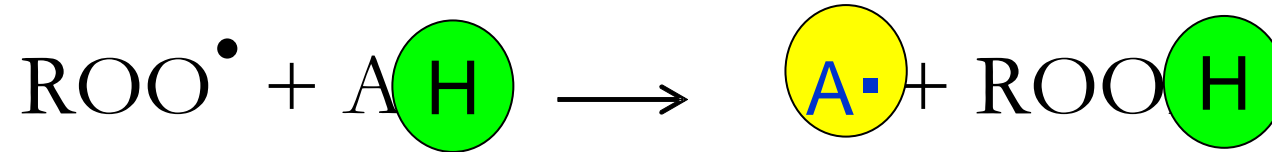


¿Como evitar la oxidación celular en cada etapa del proceso oxidativo?





¿Cómo actúa, en general, un antioxidante? captación de radicales libres



- El antioxidante debe ser capaz de “donar” un hidrógeno a las especies radicales responsables de la generación y continuación de la cadena radical en un sistema biológico.
- El radical formado en la especie antioxidante, debe ser lo más estable posible, para conseguir “detener” la cadena radical.



Tiempo de vida media de algunas especies reactivas

Radical libre

Vida media

HO·

10^{-9} s

RO·

10^{-6} s

$^1\text{O}_2$

10^{-5} s

ONOO-

0.05-1 s

NO·

1-10 s

ROO·

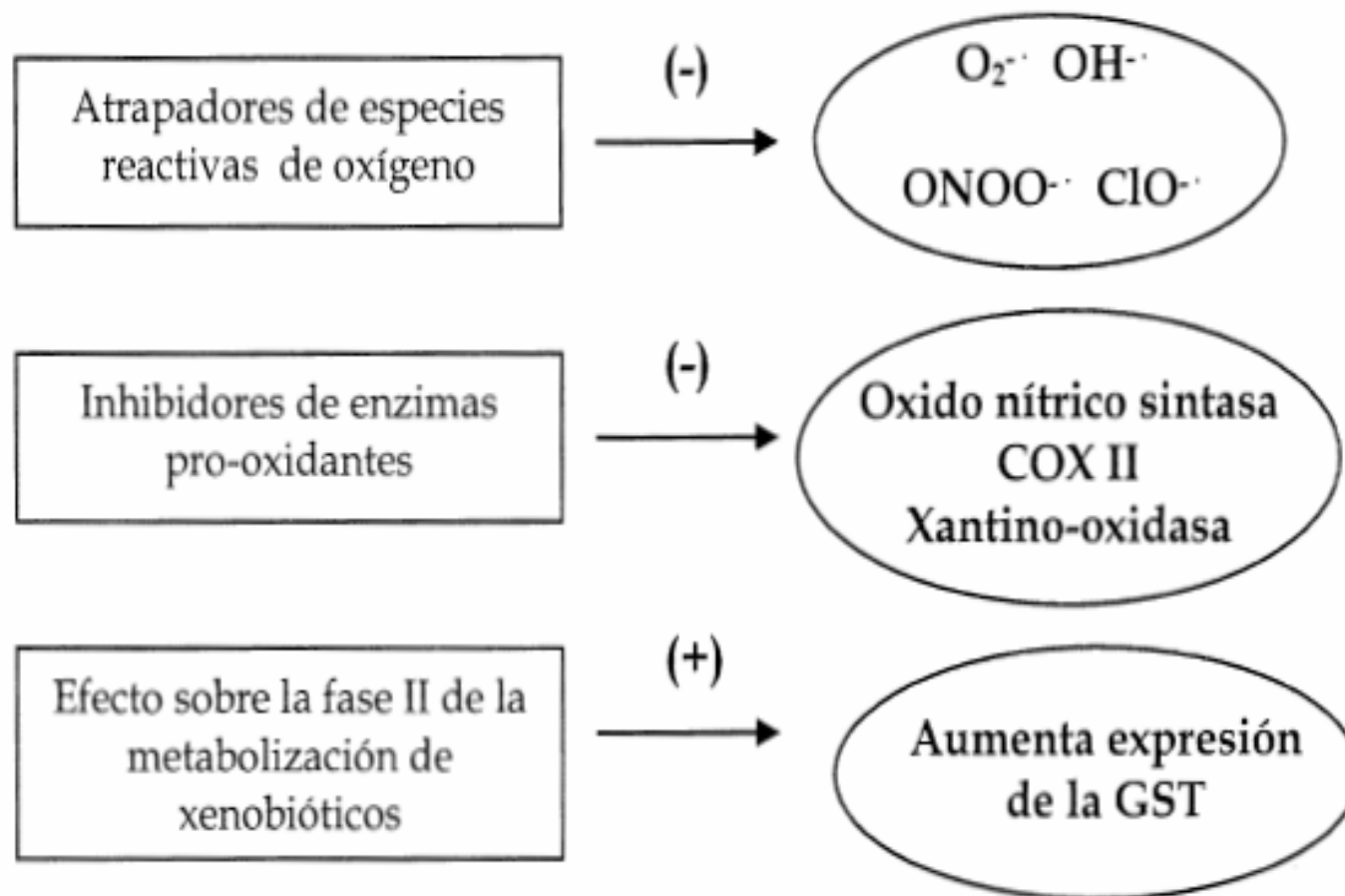
7 s

Q·(tar)

días



¡pero, un antioxidante no es solo un captador de radicales libres!

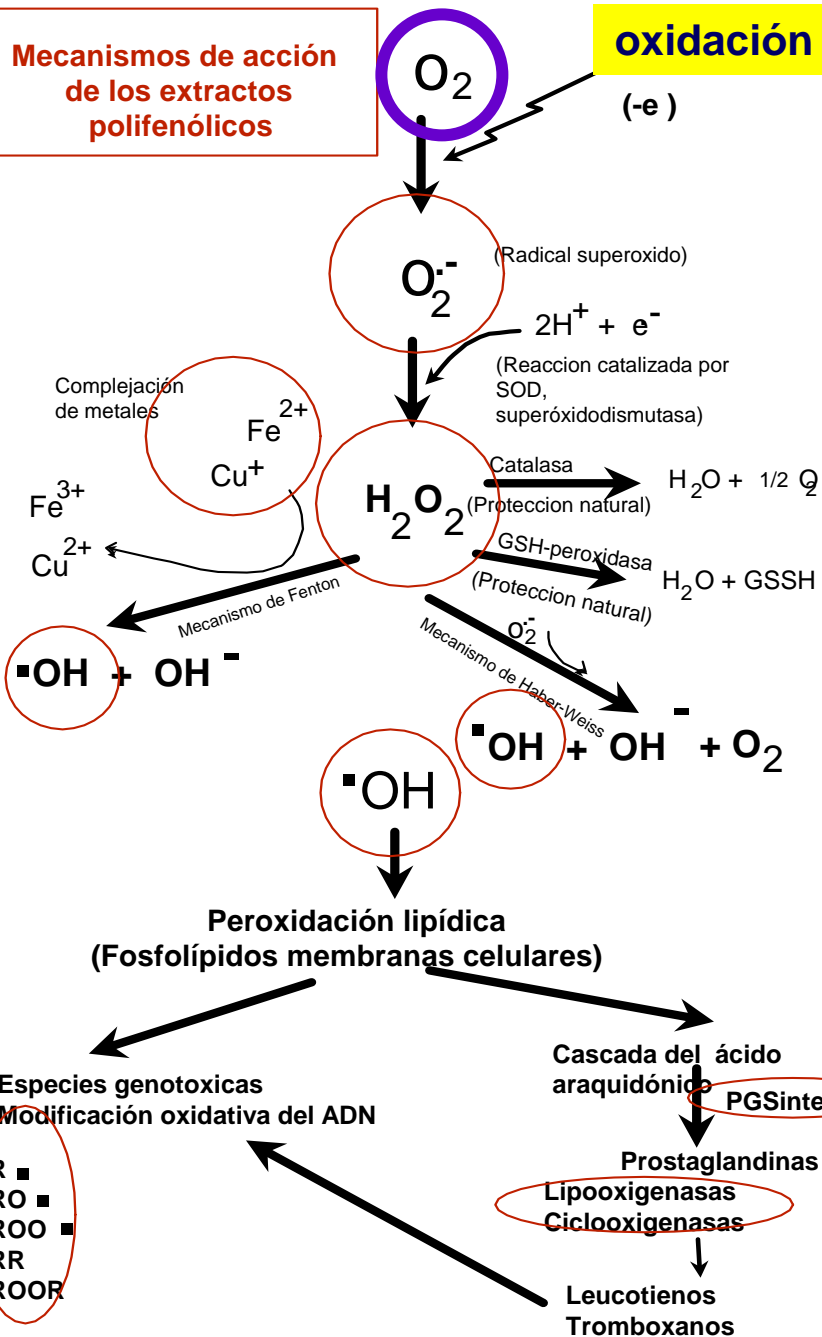


Además de ser capaces de regular la expresión de los mecanismos endógenos antioxidantes

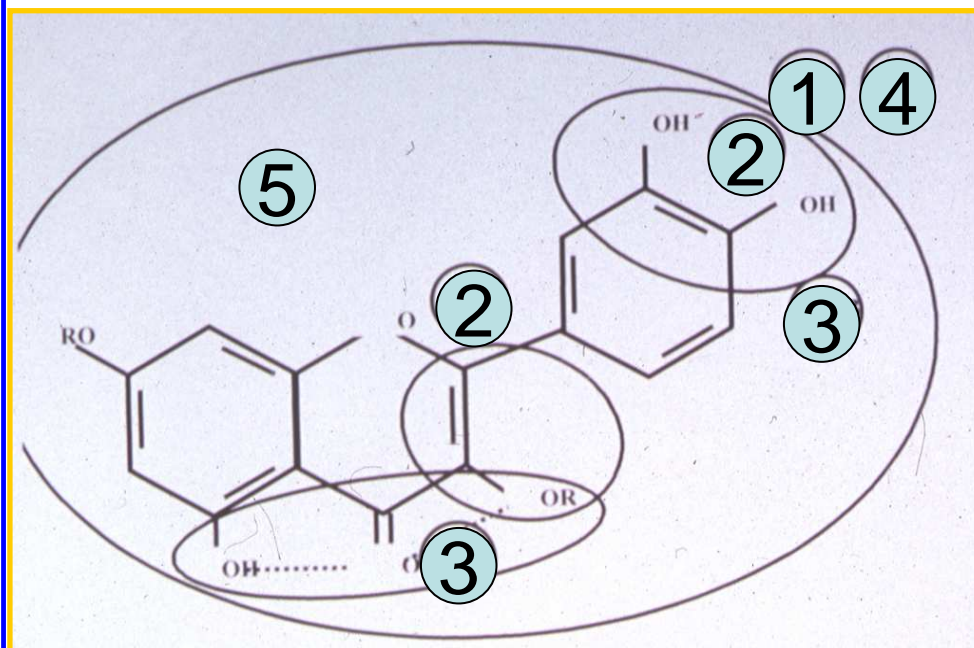
Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos

oxidación

(-e)



Fundamento estructural de protección



- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2 \cdot$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



“Quenching” del $^1\text{O}_2$

“quenching” químico es un término aplicado a aquel proceso en el que se genera un Hidroperóxido



“quenching” físico es el proceso en el que se elimina la **energía de excitación** del $^1\text{O}_2$ sin cambios químicos.





Complejantes del singlete Oxígeno

Compuesto	Velocidad reacción ($M^{-1}sec^{-1}$)
<u>β-Caroteno</u>	4.60×10^9
Ácido Ascórbico	1.08×10^8
α -Tocoferol	2.70×10^7



Complejantes del singlete Oxígeno

Carotenoides	Dobles enlaces	velocidad ($10^9 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$)
β -Apo-8'-carotenal	10	2.86
β -Caroteno	11	4.60
Cantaxantina	13	11.2

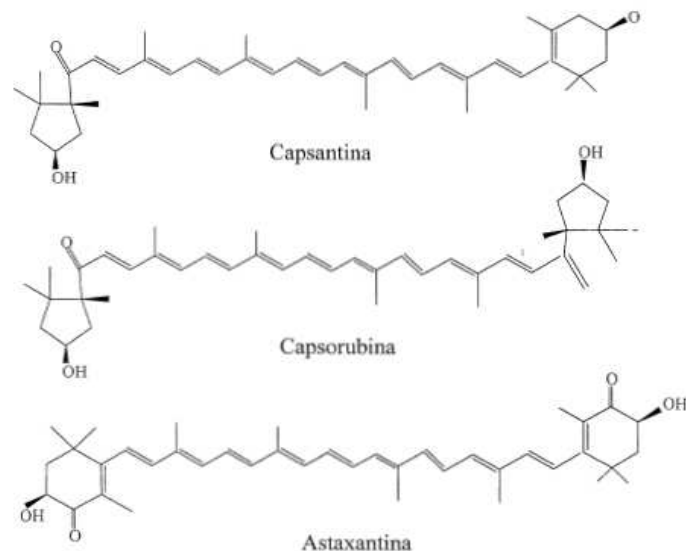
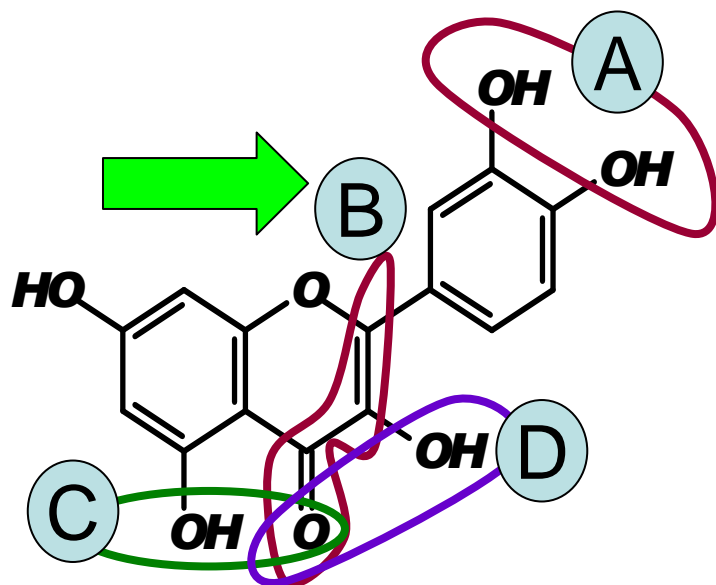


Figura 4.29. Estructuras de los principales carotenoides que forman parte de los frutos maduros del pimiento "*Capsicum annuum*".



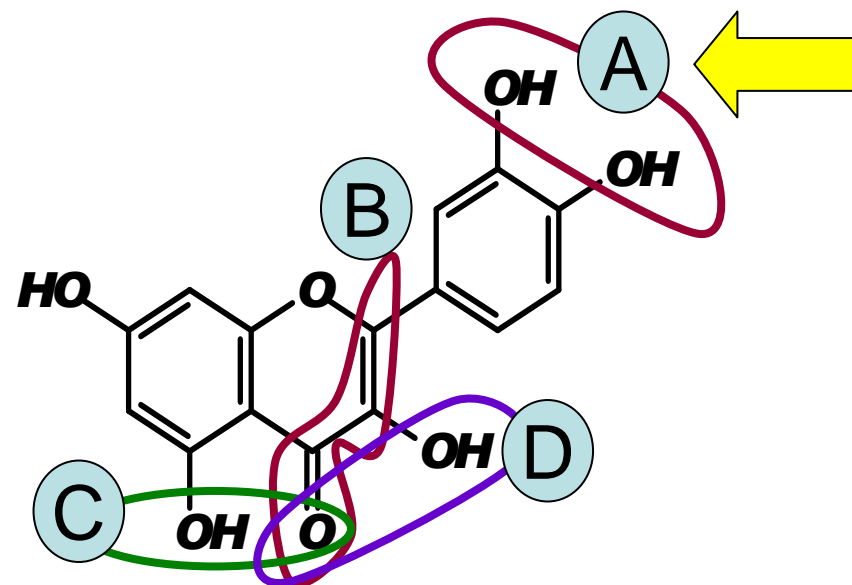
Flavonoides vs singlete oxígeno

“quenching” químico



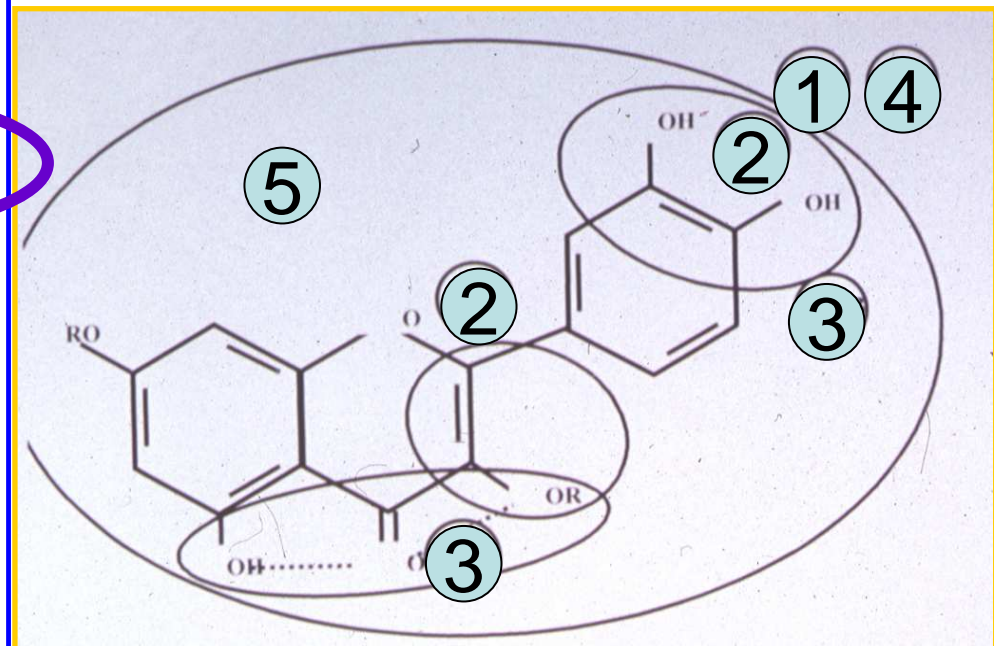
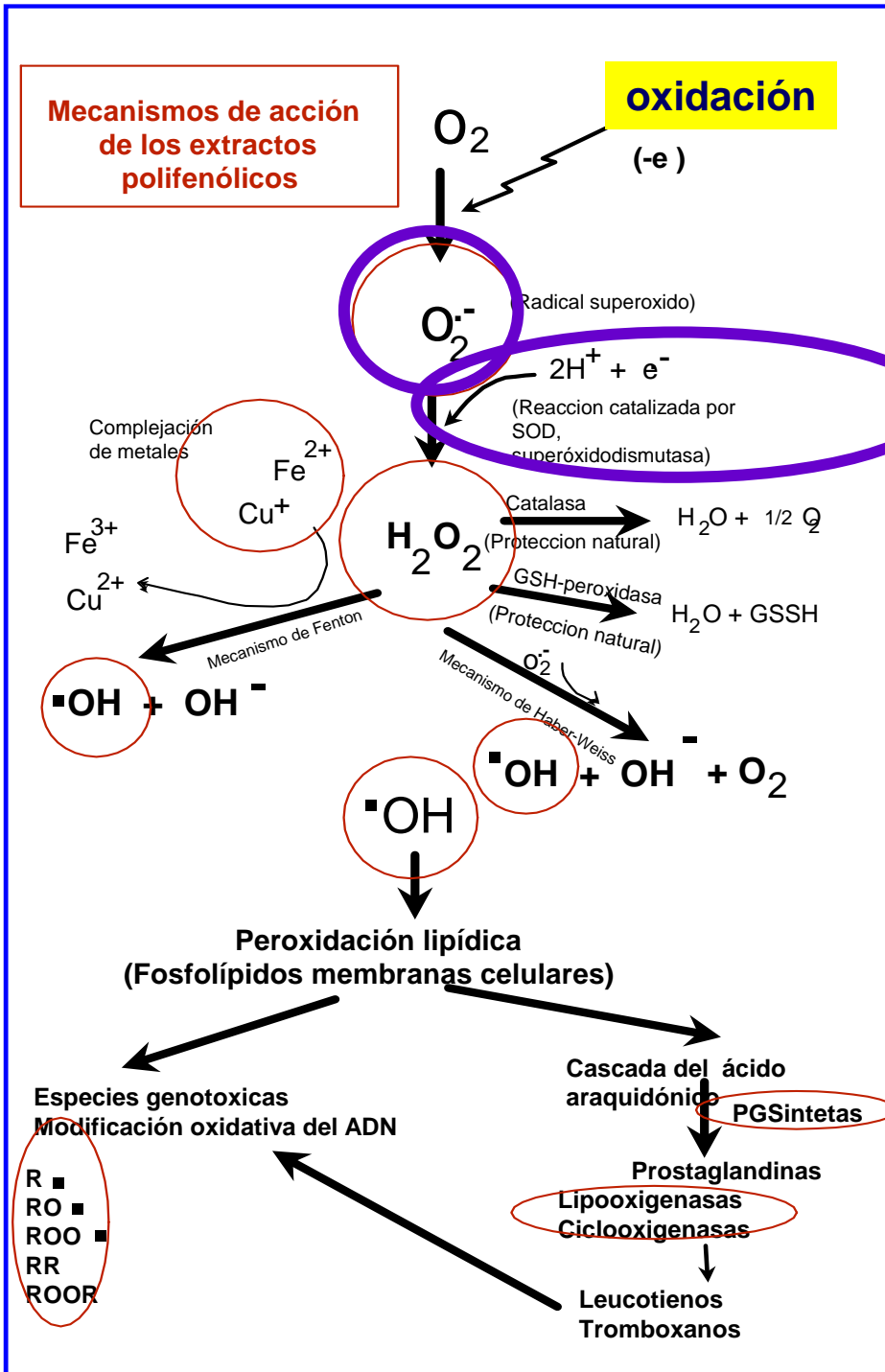
$B > D > C > A$

“quenching” físico



$A \gg B > D > C$

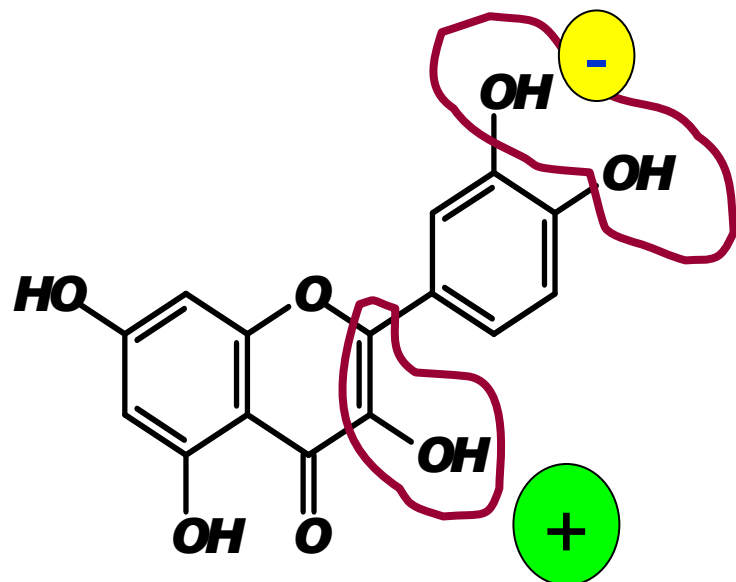
Fundamento estructural de protección



- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2^{\cdot-}$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).

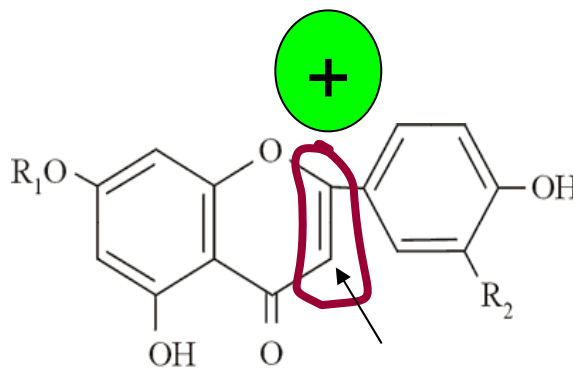


Flavonoides vs superóxido



Flavonol

Influencia negativa del grupo catecol:



Flavona



¡Si no puedes con él, busca ayuda!

Retirada del anión superóxido

- *Dismutación espontánea no enzimática*



- *Dismutación catalizada enzimáticamente*



Superóxido
dismutasa
(SOD)

Cu,Zn-SOD

Mn-SOD

Cu,Zn-SOD

citosol

mitocondria

extracelular

Cu,Zn-SOD

($\mu\text{g}/\text{mg}$ proteína)

Hígado 4.7

Cerebro 3.7

Testículos 2.2

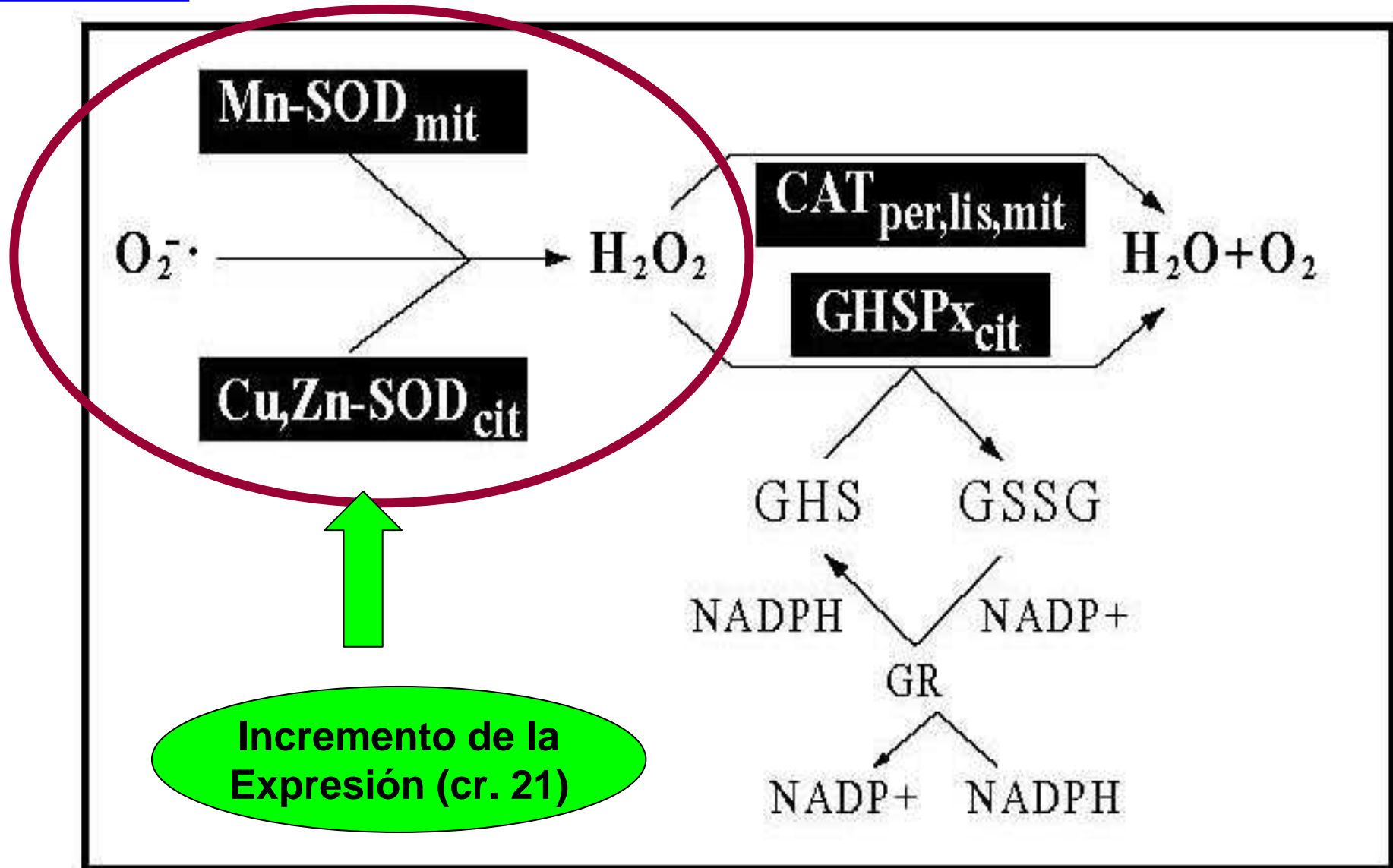
Cortex renal 1.9

Músculo cardíaco 1.8

Pulmón 0.5



globalmente



Estrés oxidativo

Especies reactivas,
Radicales libres

XO

ERO

DAÑO

PAPEL EN LA SEÑALIZACIÓN CELULAR

P
P

MAP-Kinasas

ERK1/2

p38

NF-κB

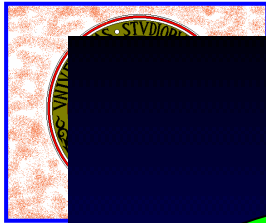
DNA

eNOS

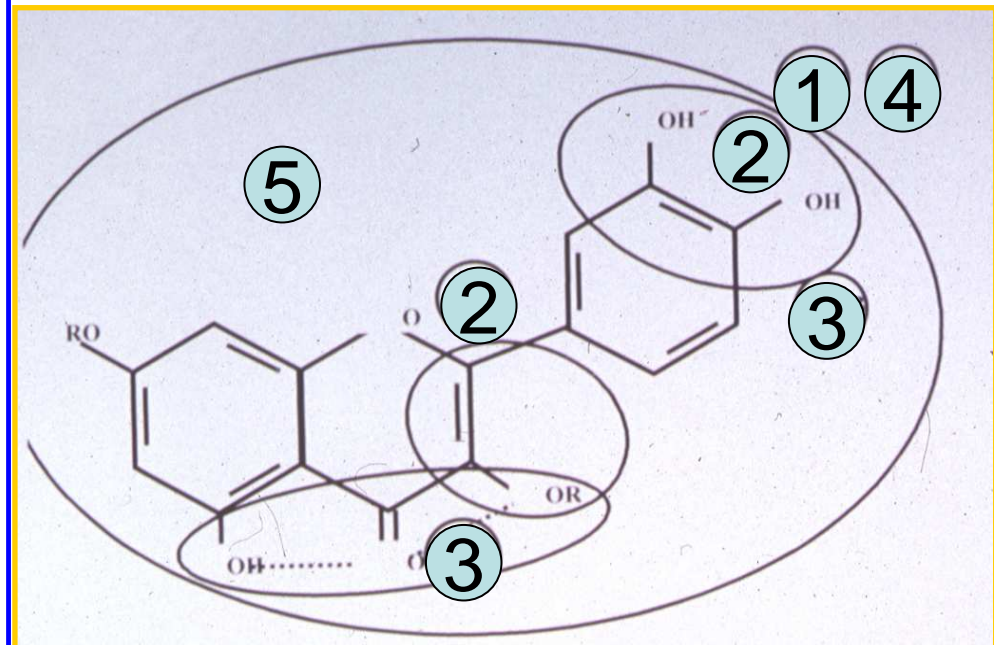
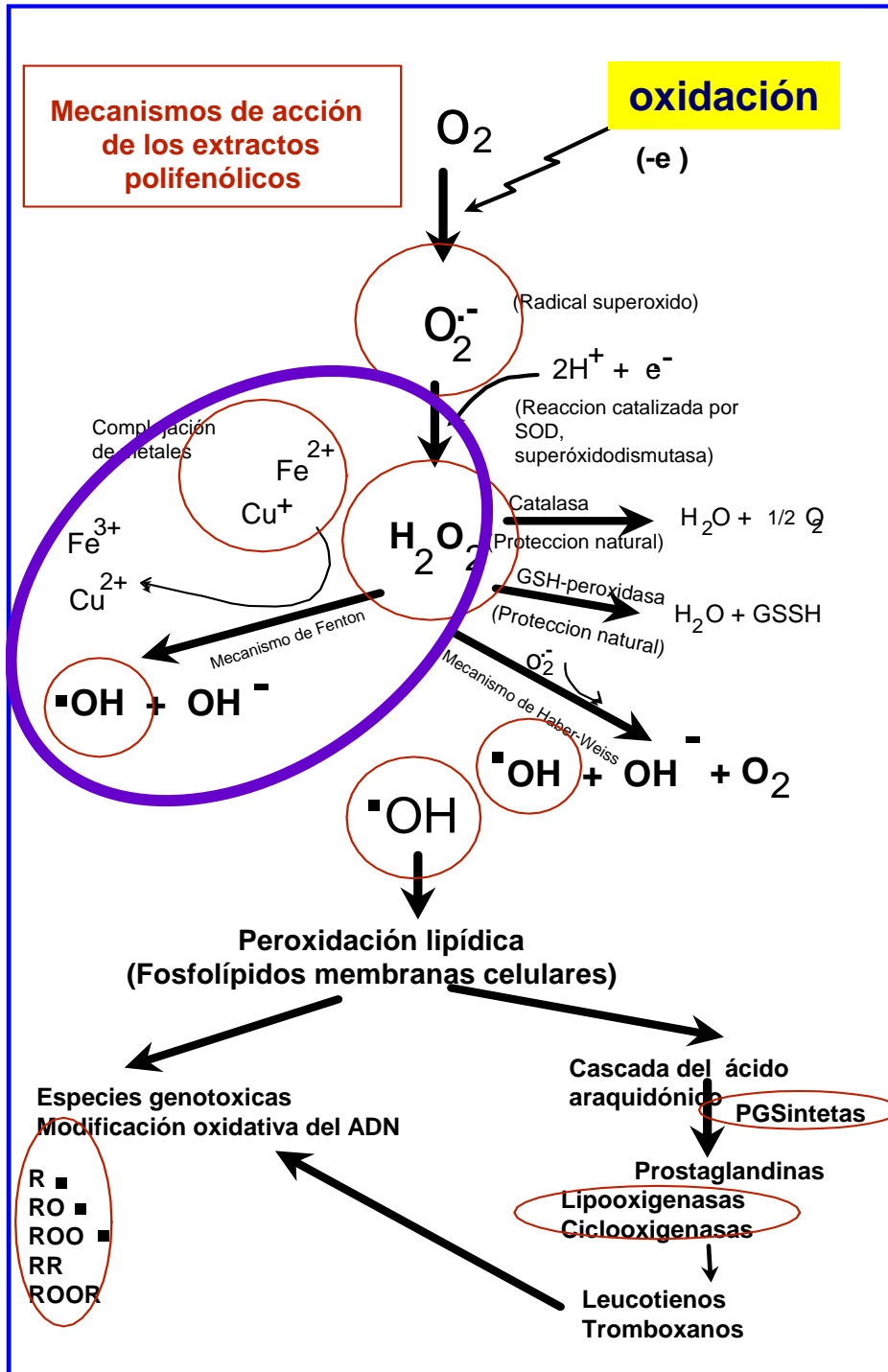
iNOS

MnSOD

ADAPTACIONES



Fundamento estructural de protección



- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2^{\cdot-}$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



Antioxidantes preventivos: complejación de metales

**Fe y Cu son los principales metales
considerados como objetivos, ¿porqué?**

Porque promueven reacciones de oxidación.





El radical hidroxilo y la reacción de Fenton

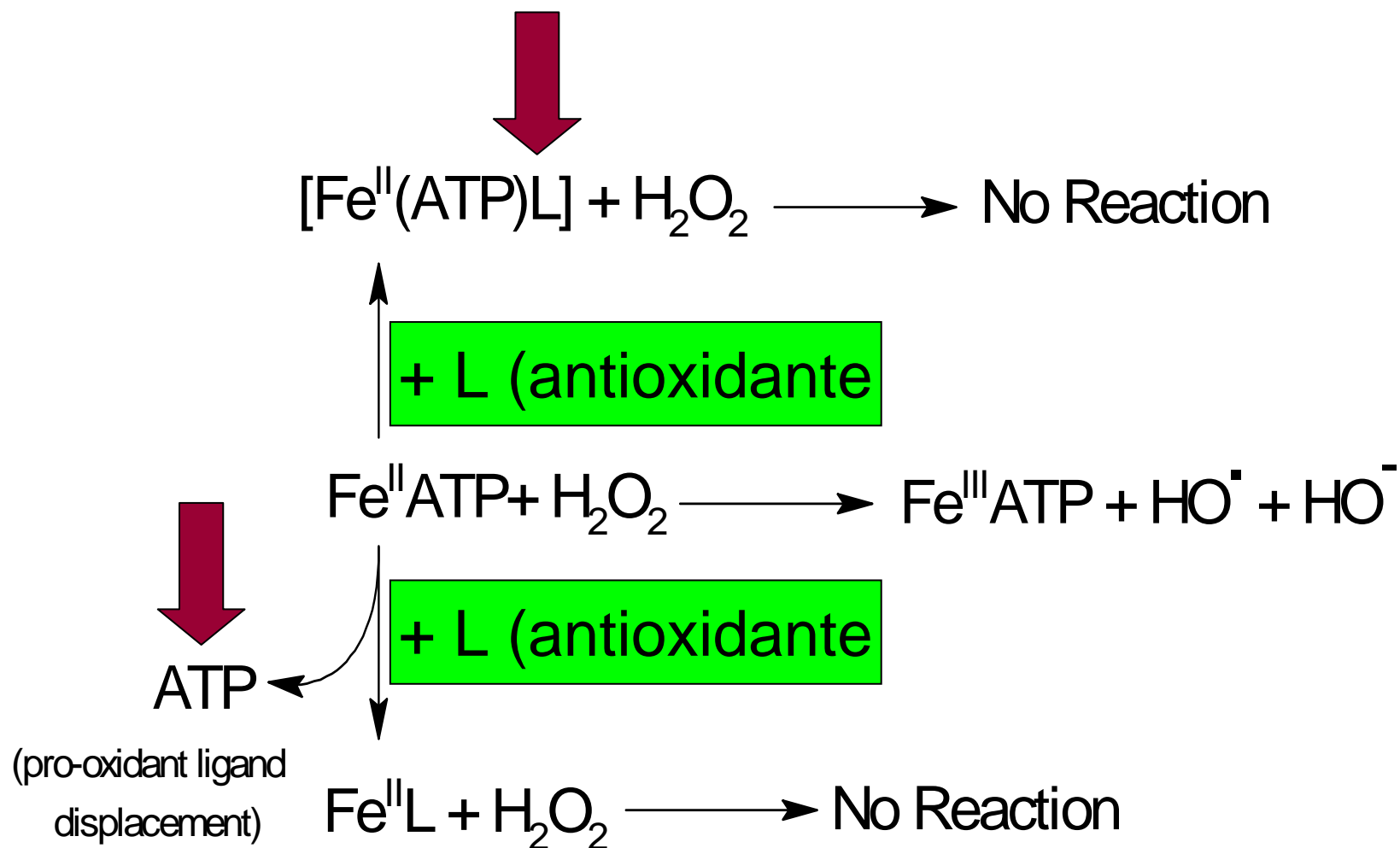
- $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{e}^- \xrightarrow{\text{pH } 7.0} \text{HO}^\bullet + \text{HO}^-$ $E^\circ = 0.30 \text{ V, S.H.E.,}$
 - $\text{Fe (II)} \rightarrow \text{Fe (III)} + \text{e}^-$ $E^\circ = \text{depende del complejo}$
-
- $\text{Fe (II)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe (III)} + \text{HO}^\bullet + \text{HO}^-$
 - El intervención de las sales de hierro en la reducción de H_2O_2 fue sugerido hace unos 100 años.⁵
 - La reacción de Fenton, tal y como aparece descrita, incluyendo el radical hidroxilo, fue sugerida hace unos 75 años.⁶

5. H.J.H. Fenton. *J. Chem. Soc.* **1894**, 65, 889.

6. F. Haber and J.J. Weiss. *Proc. Roy. Soc. London, Ser. A.* **1934**, 147, 332.

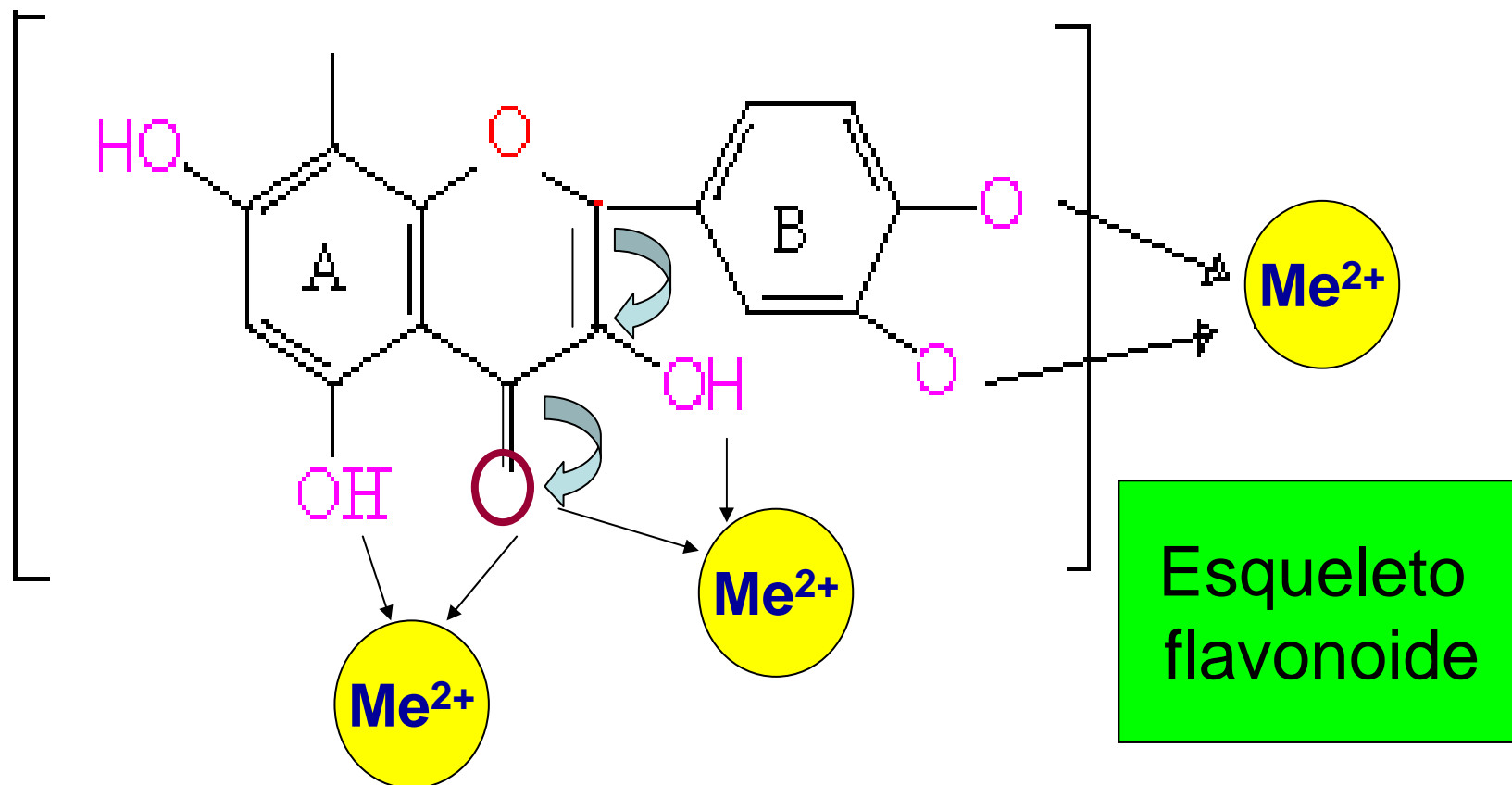


Desactivación de la reacción de Fenton



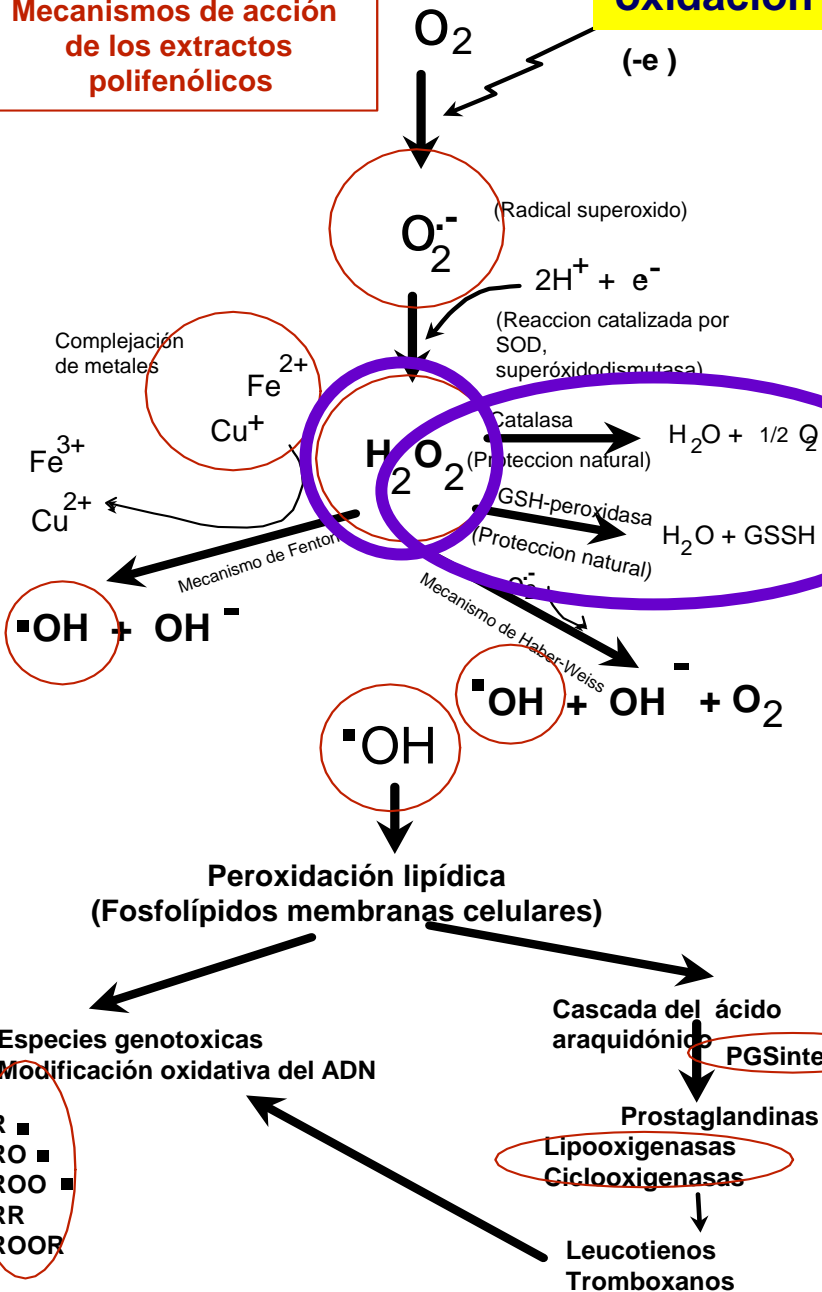


Complejación por flavonoides y polifenoles

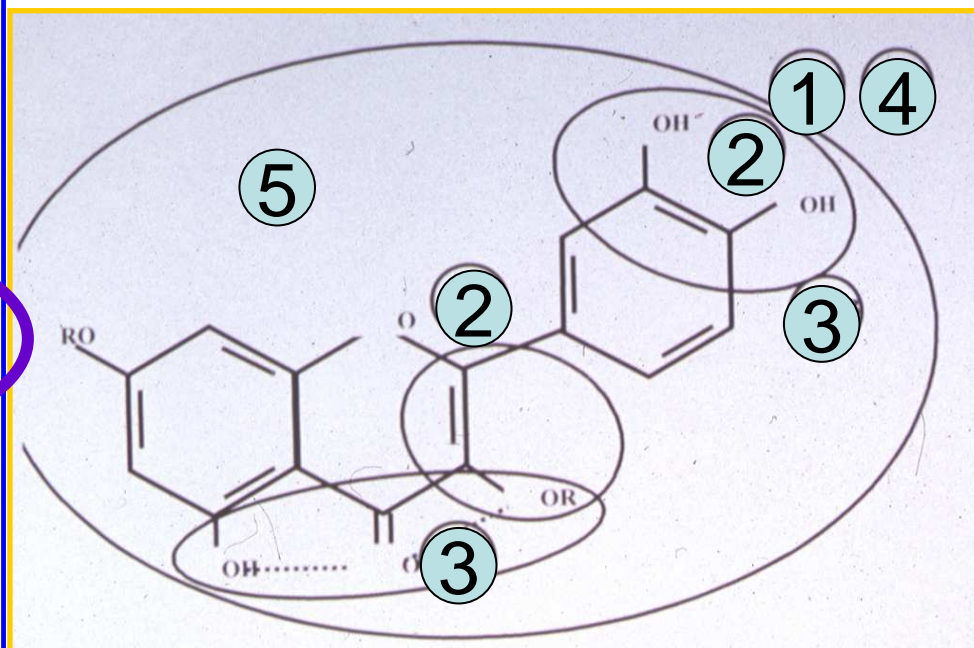


Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos

oxidación



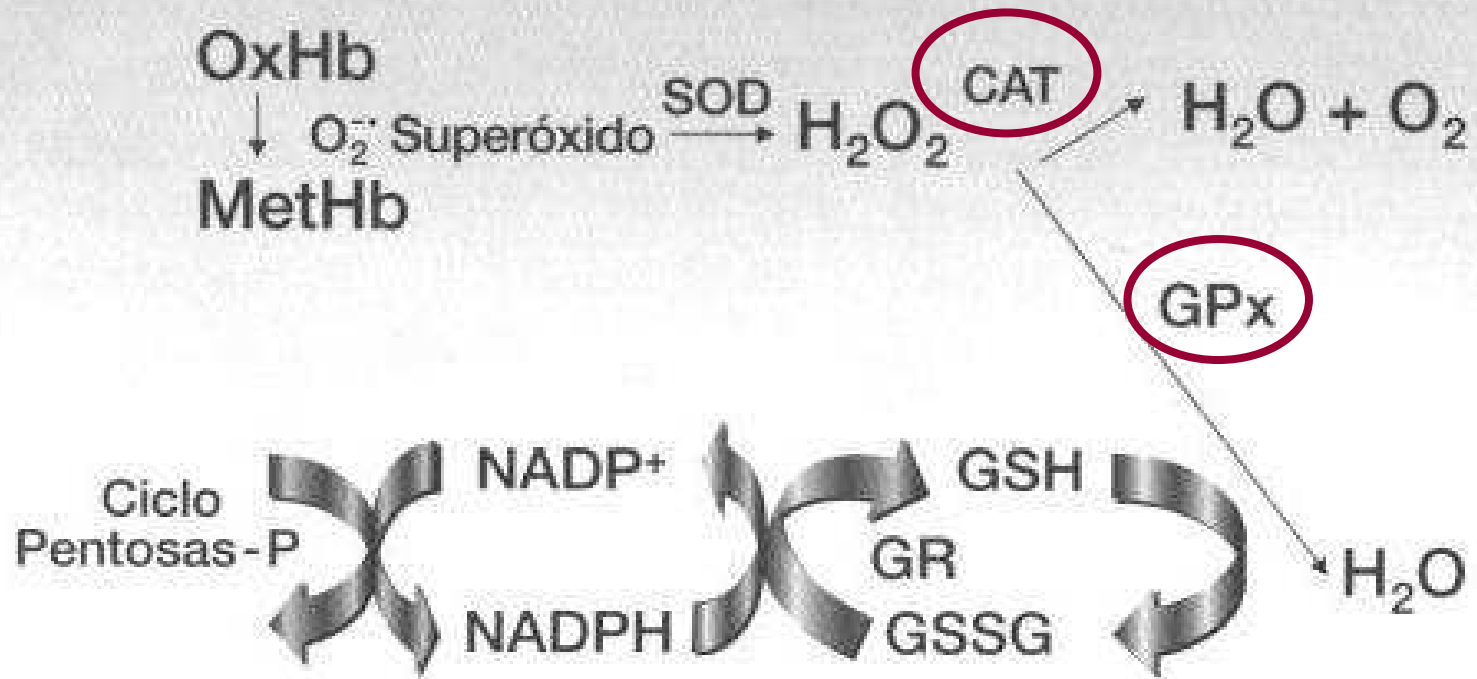
Fundamento estructural de protección



- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2^{\cdot-}$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



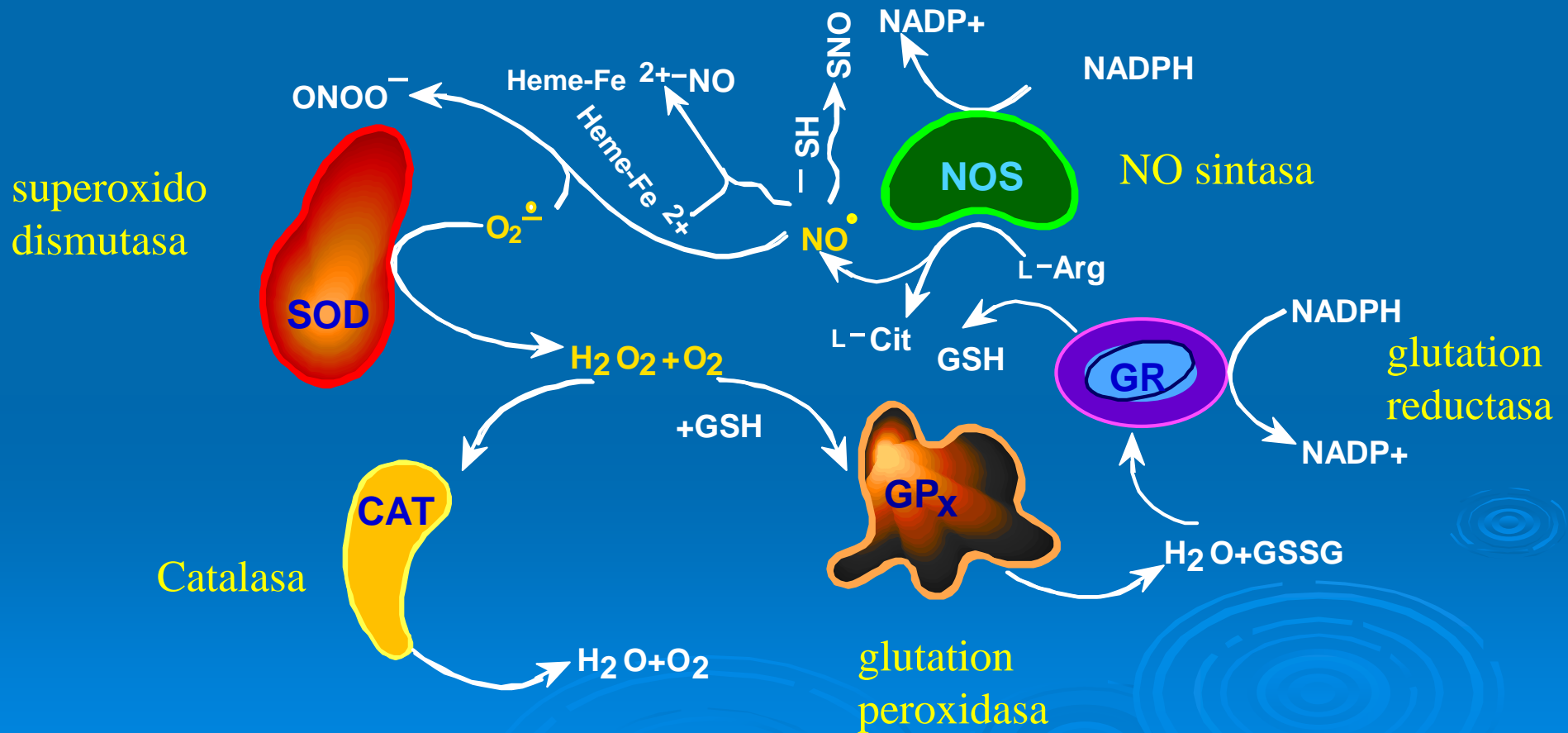
ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS



Compuestos capaces de regular la expresión de los mecanismos endógenos antioxidantes

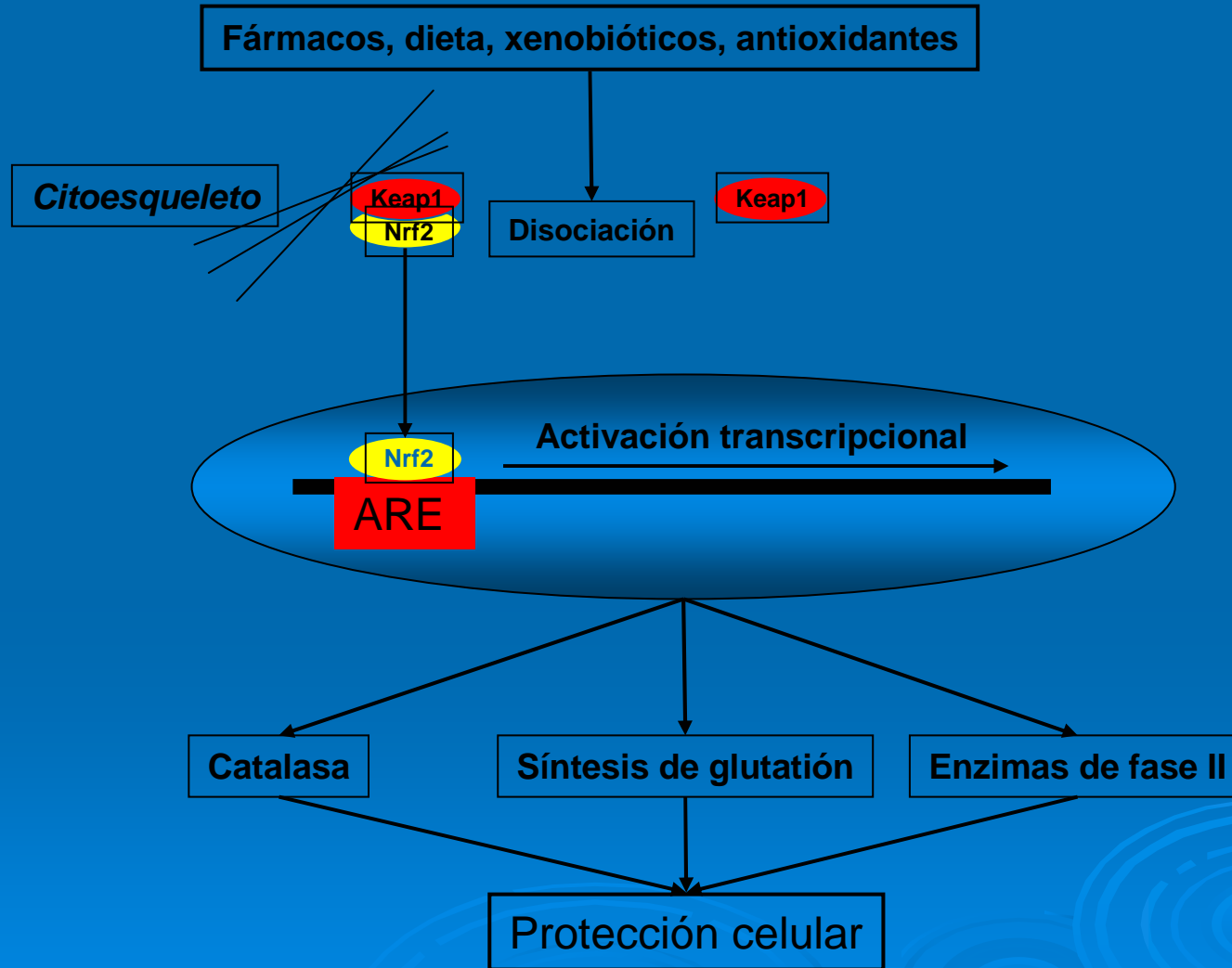


Mecanismo enzimático globalizado e interrelacionado



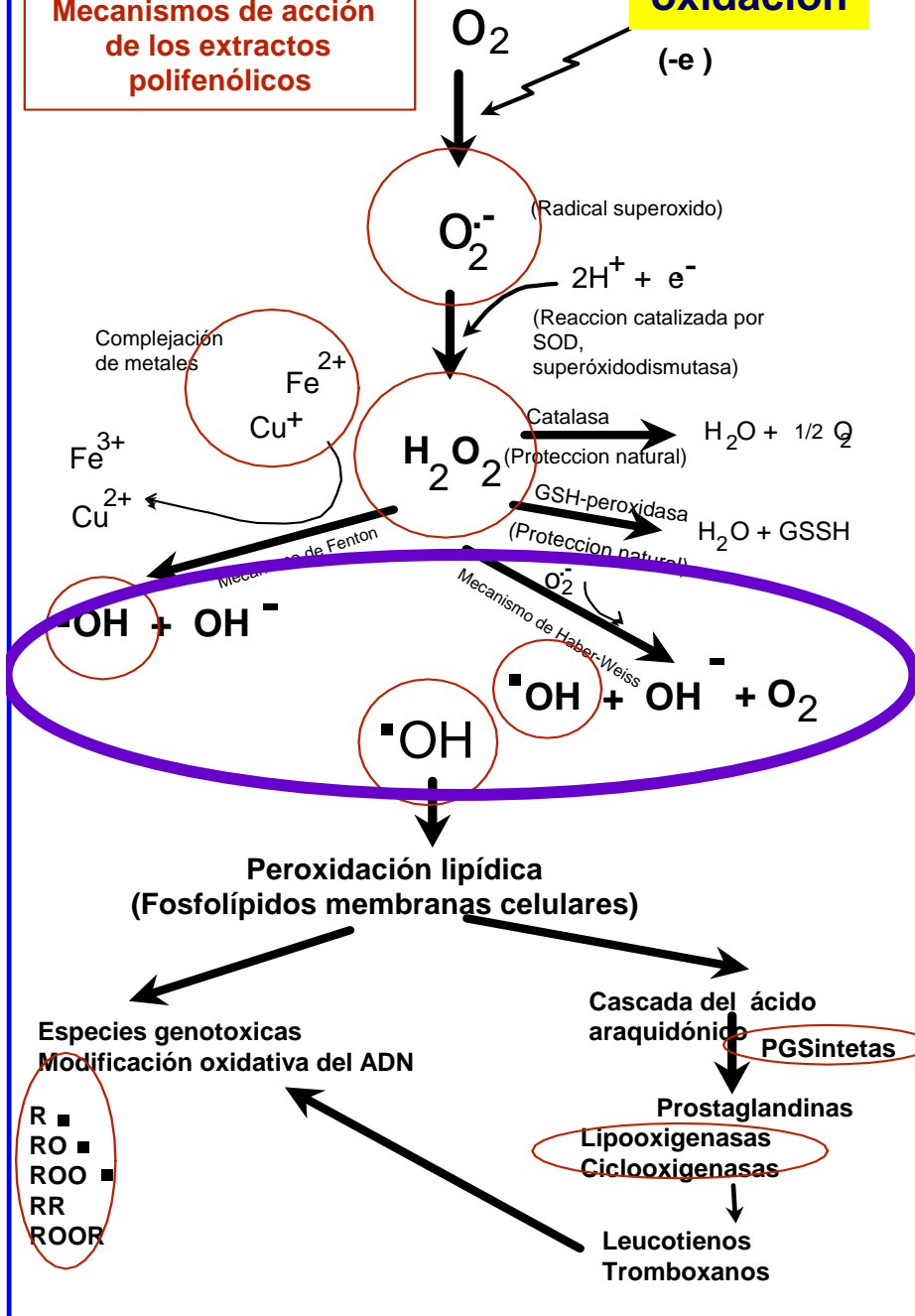


Regulación por Nrf2

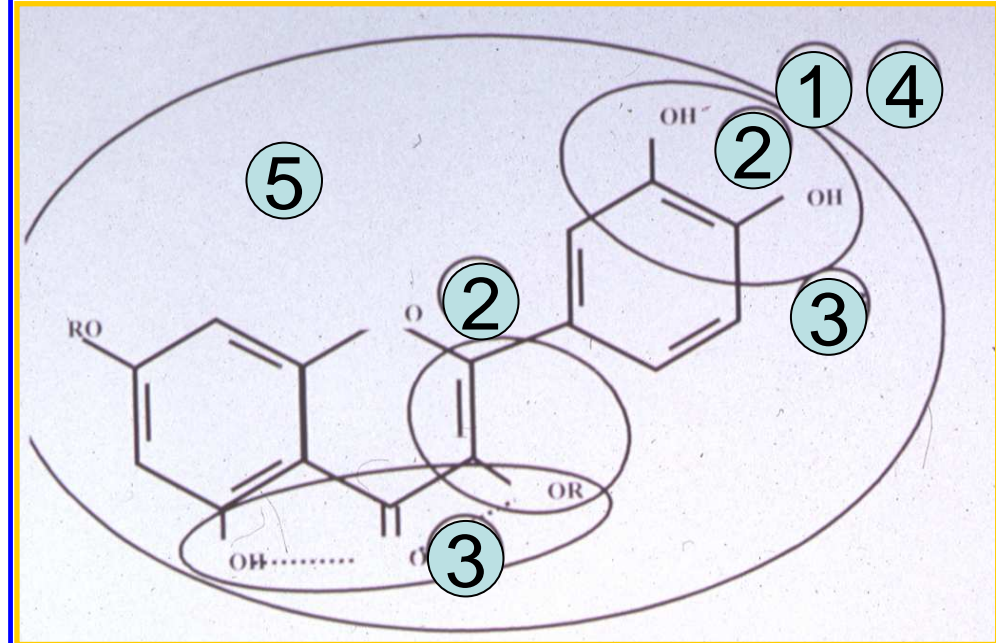


Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos

oxidación (-e)



Fundamento estructural de protección

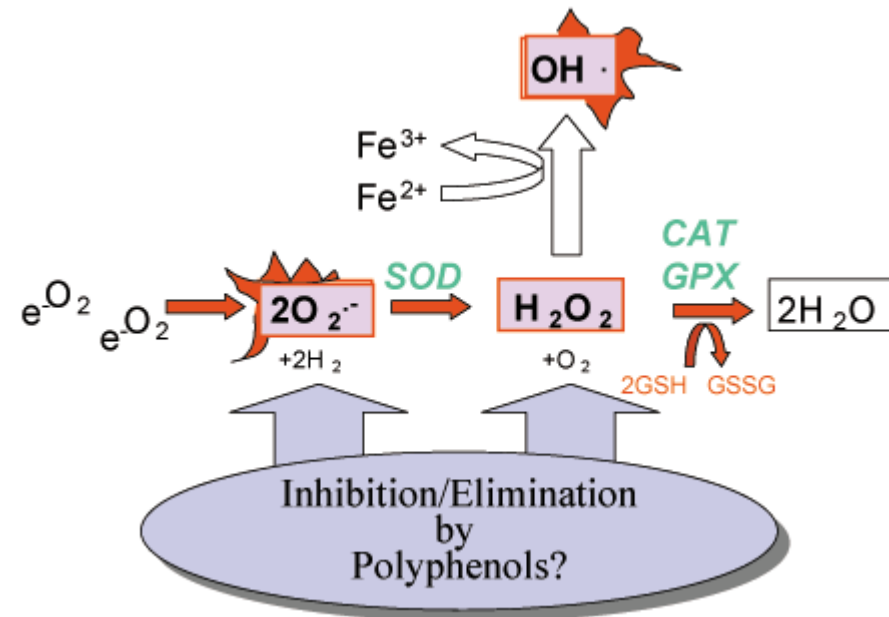


- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C₂₋₃ "captadores" de radicales O₂· y ·OH.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C₄.
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



¿Es posible “atrapar” al radical hidroxilo?

- Capturar expresamente al radical hidroxilo es prácticamente imposible, su periodo de vida media 10^{-9} segundos y su reactividad a través de vías diversas, así lo confirman.



- En general, nuestro objetivo será evitar su formación, o detener la cascada posterior de peroxiradicales que su actuación genera.



Concepto de “ralentizador” (retarder)

Son compuestos capaces de “ralentizar” el desarrollo de un proceso de oxidación, e incluso de llegar a detenerlo, pero en un grado y eficacia mucho menor que un verdadero antioxidante.

Sólo son capaces de provocar un cambio significativo en la tasa de oxidación cuando están presentes en cantidades relativamente grandes.

A menudo se confunden con los verdaderos antioxidantes en esa reacción específica.

Una misma estructura molecular puede ser antioxidante en un sistema y frente a un sustrato y “retarder” en otro diferente.

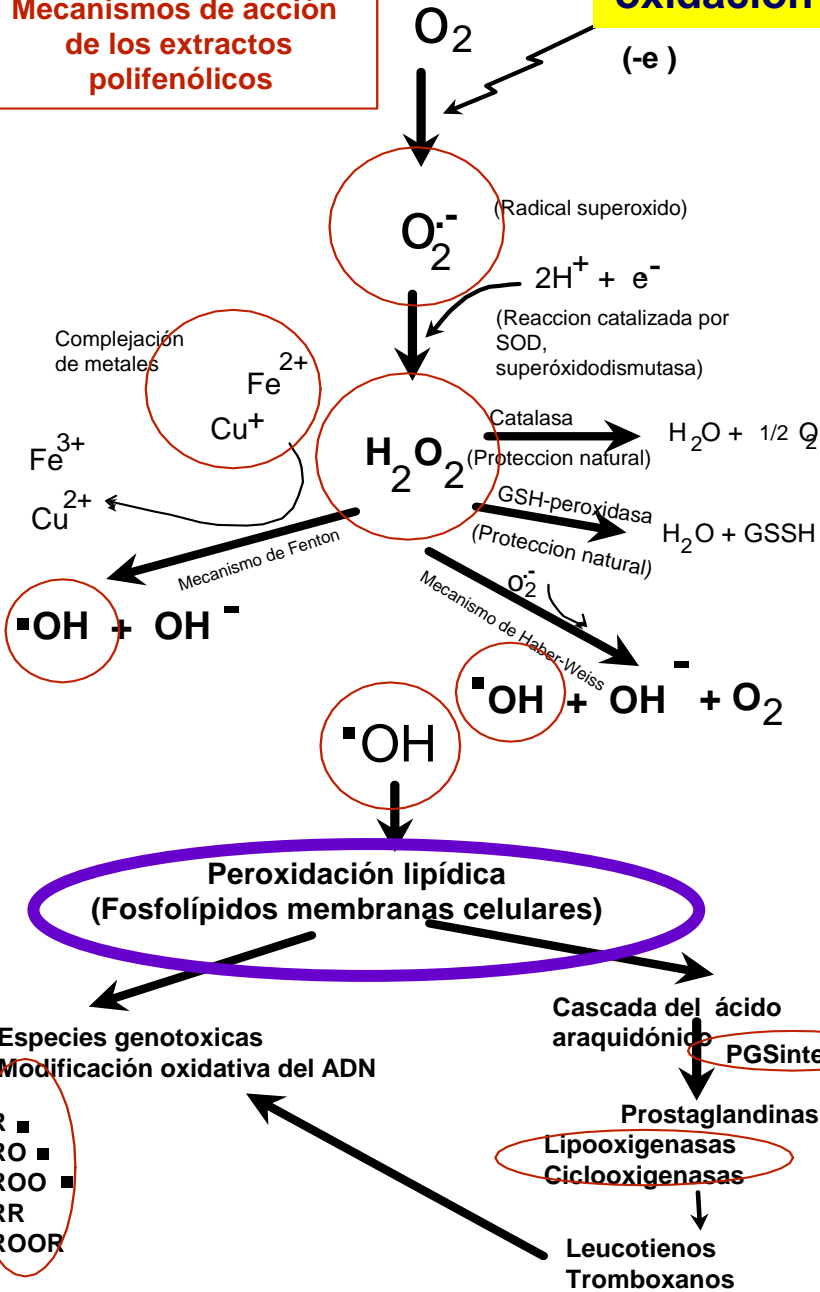
**¡¡Pues bien!!, debemos establecer un
verdadero teorema:**

**NO hay verdaderos antioxidantes frente
al HO•, solo “retarders”**

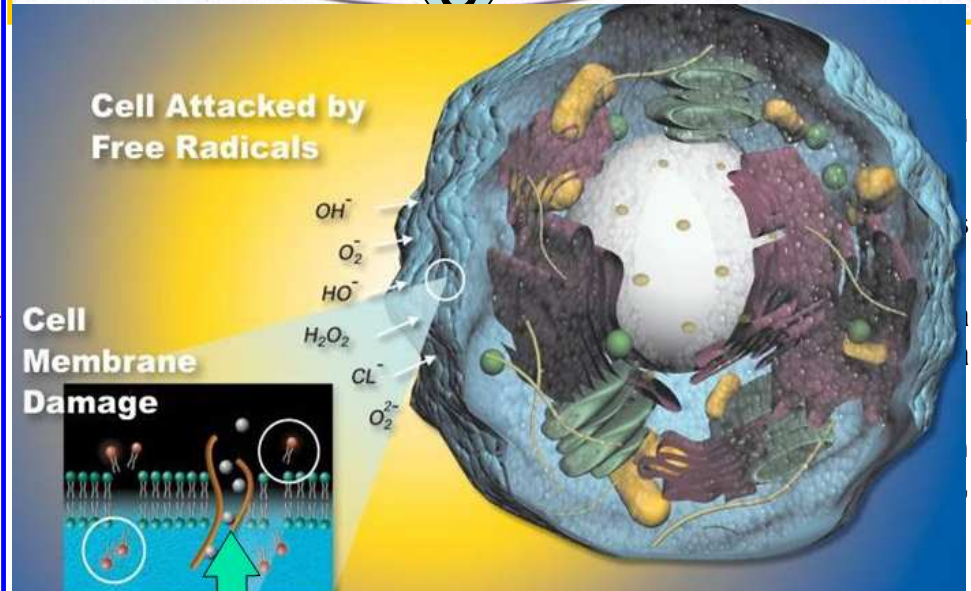
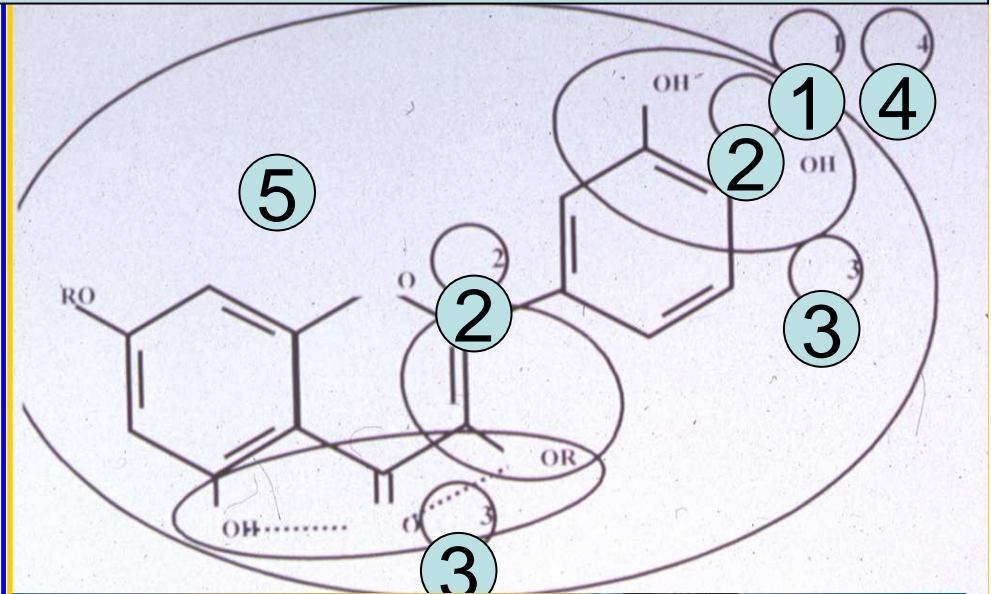
Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos

oxidación

(-e)

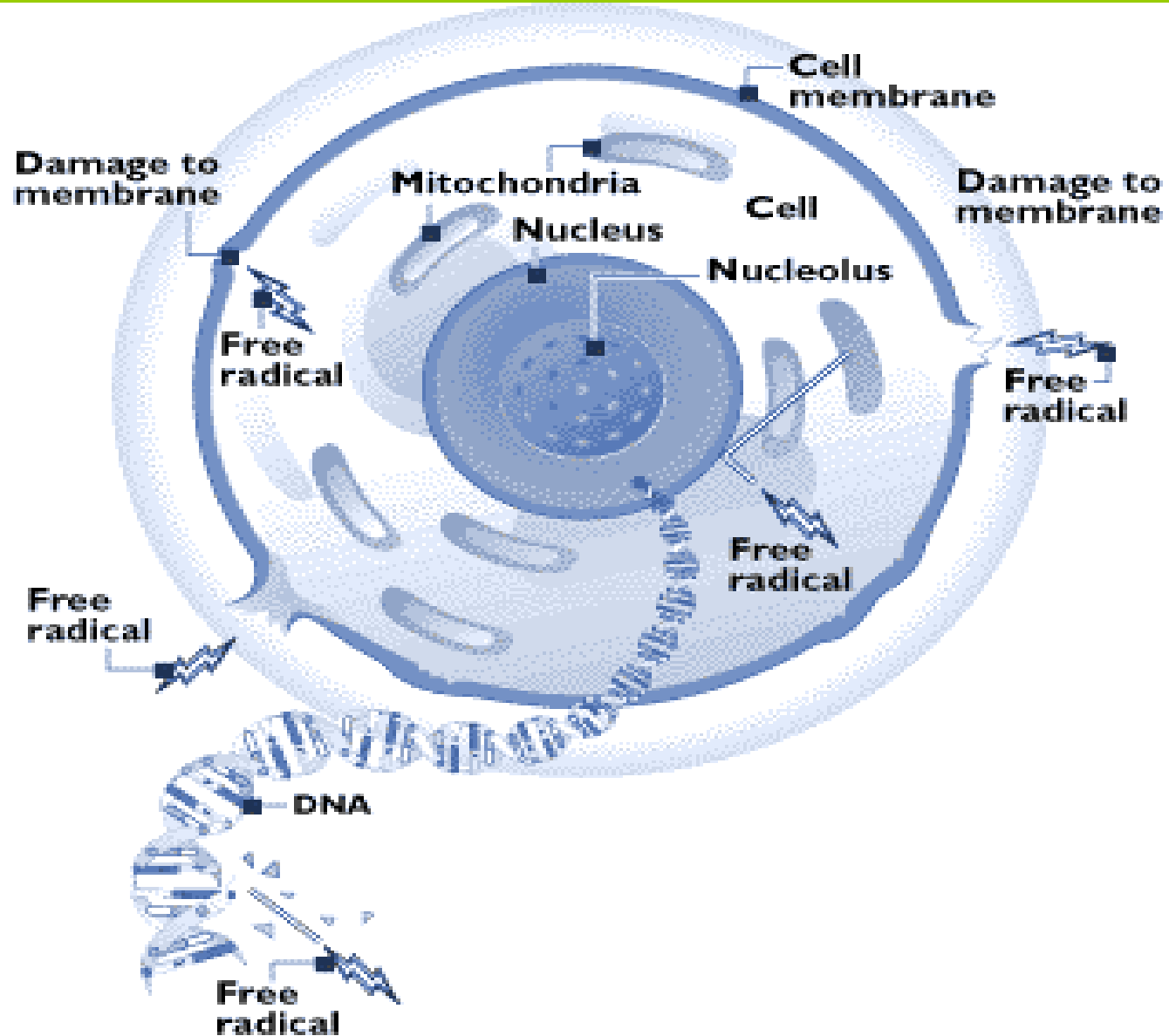


Fundamento estructural de protección



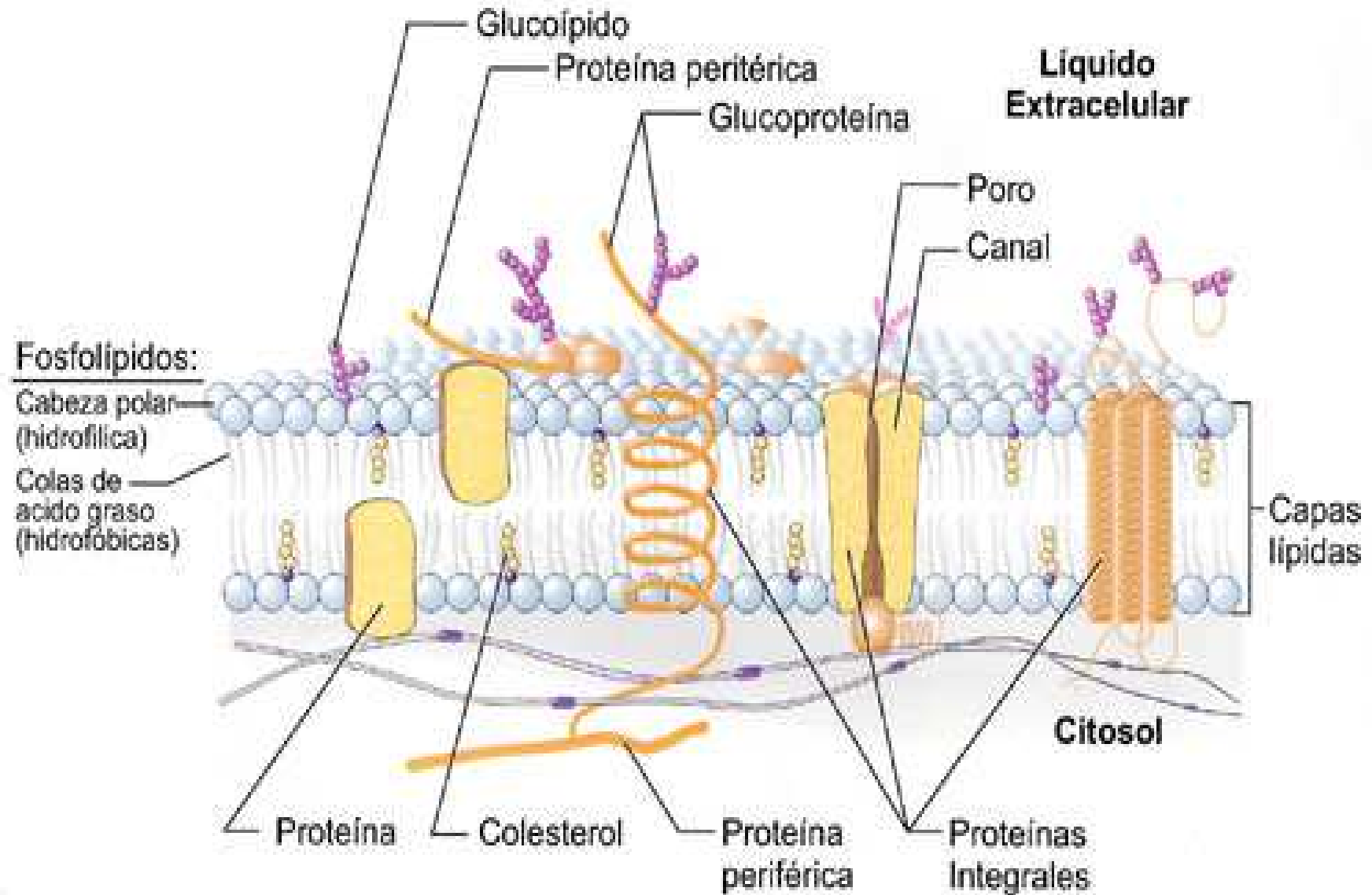


¿Qué pasa en la célula?





Recordemos la membrana

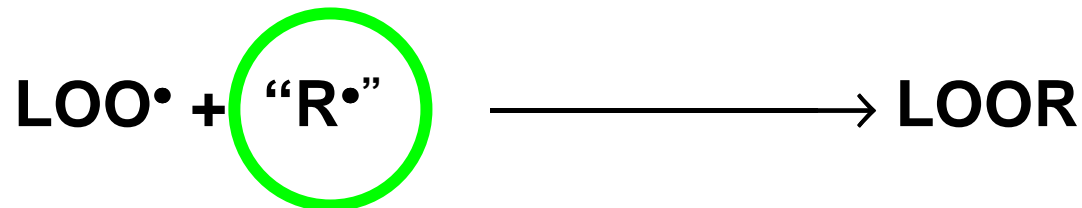
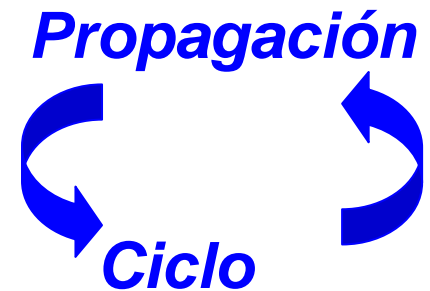
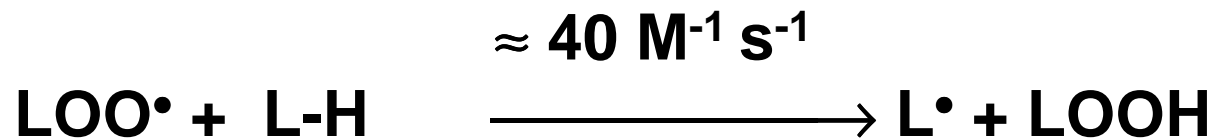
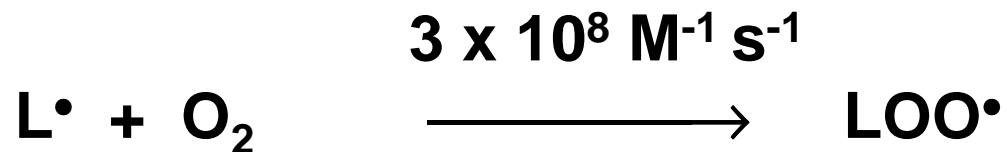




Peroxidación lipídica elemental



Iniciación

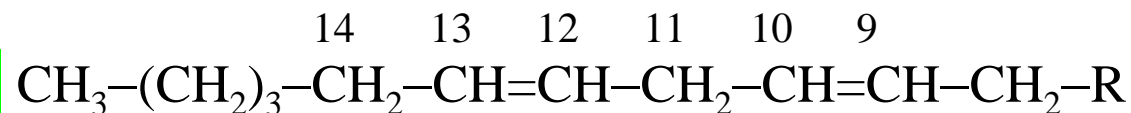


Terminación

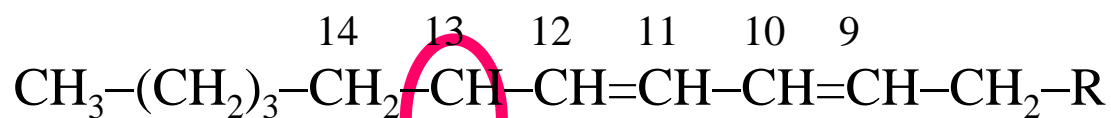


Oxidación lipídica (ROO·)

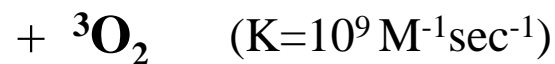
Iniciación



Especies reactivas de oxígeno (ROS)

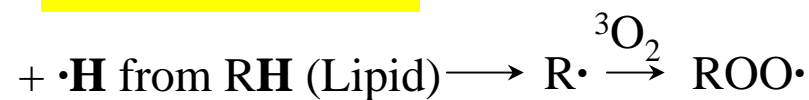


$E^0 = 600\text{mV}$

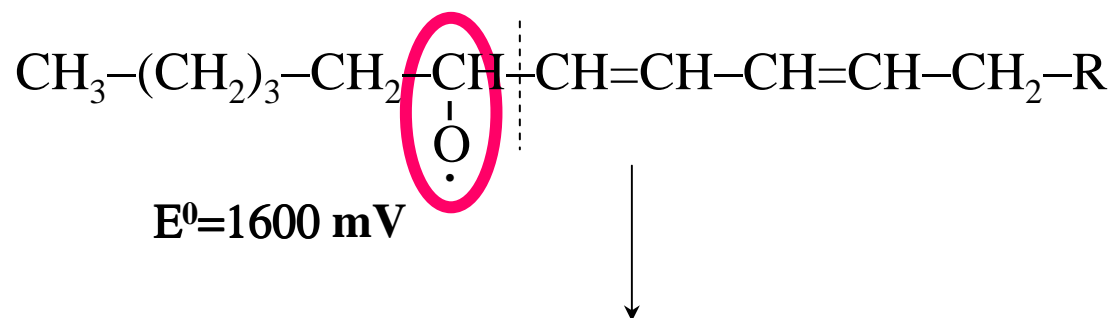
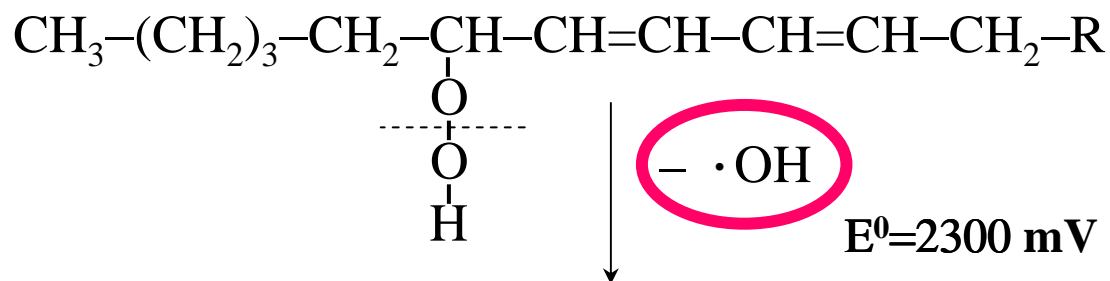


Peroxi-radical

Propagación



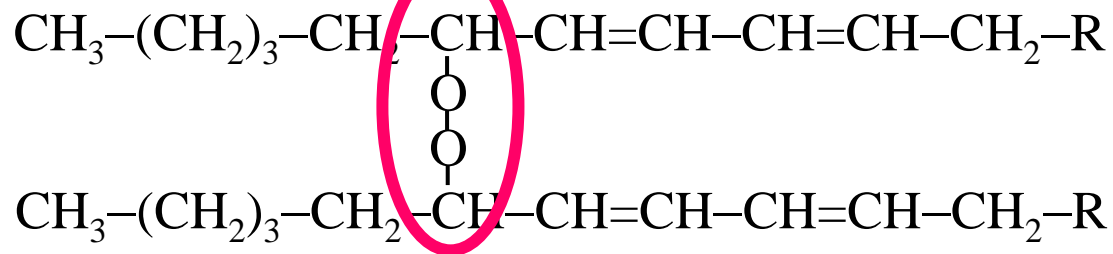
$E^0 = 1000\text{mV}$

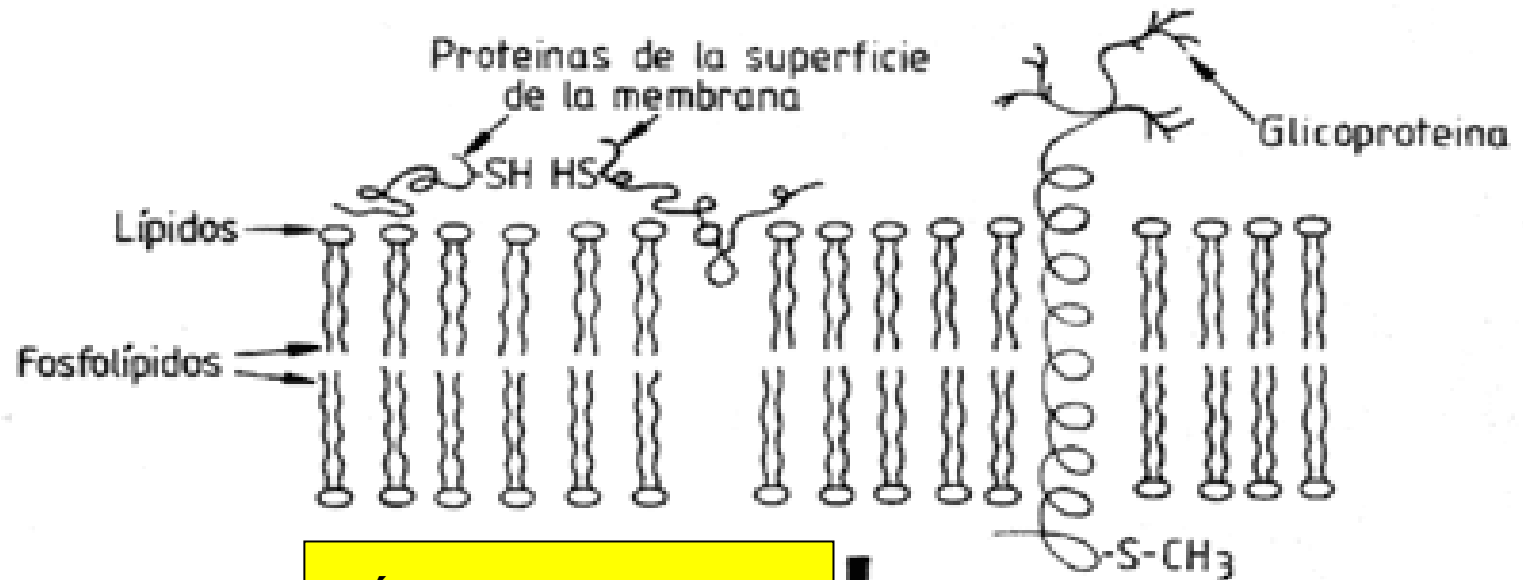


Terminación

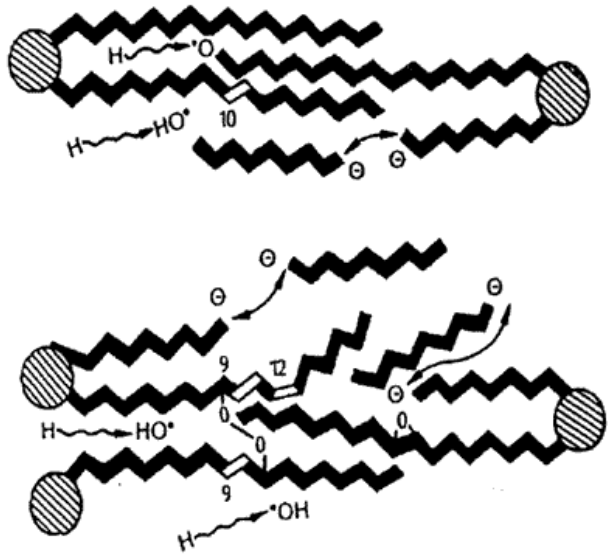


or





MÁS LESIONES POR RADICALES LIBRES

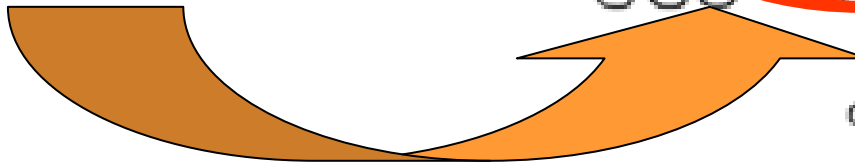


Puentes disulfídricos

Separación del fragmento proteico

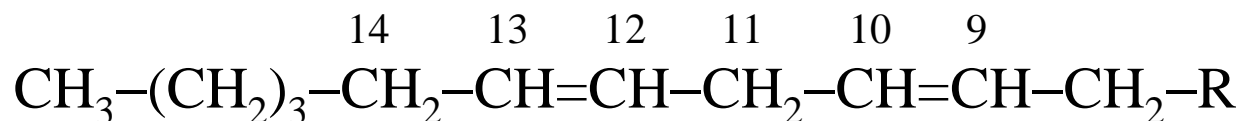
Oxidación de ácidos grasos

Puentes lipídicos





Mecanismo general de actuación de un antioxidante

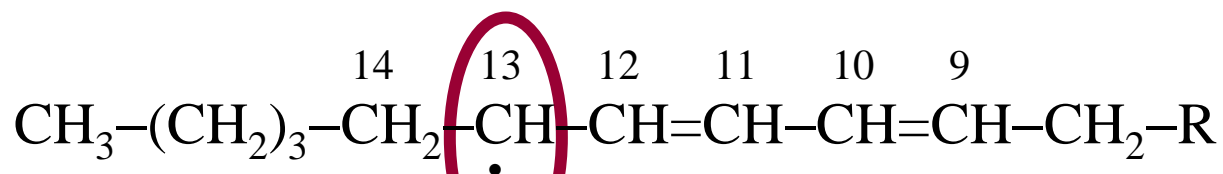


Iniciación

Metales

ROS

Lipoxigenasas



$$E^0 = 600\text{mV}$$

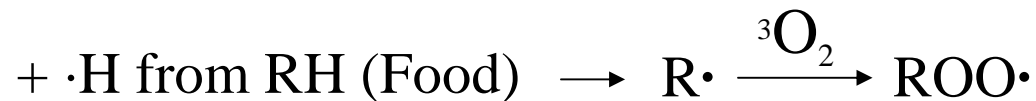


$$(K=10^9 \text{M}^{-1}\text{sec}^{-1})$$



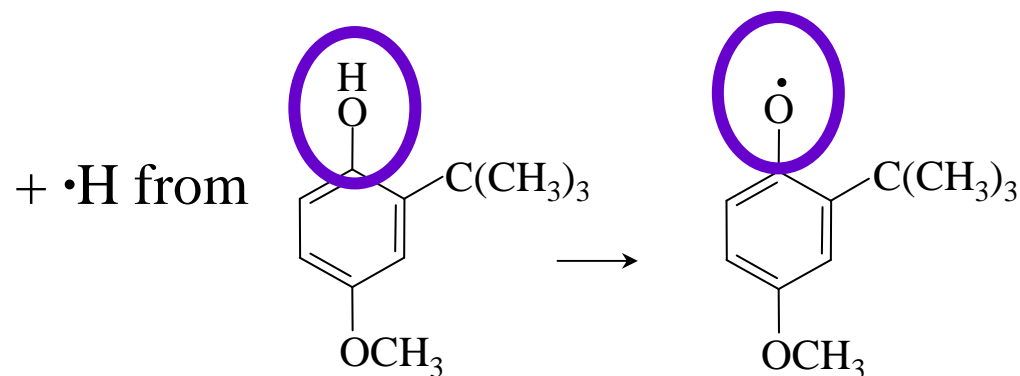
Propagación

$$E^0=1000\text{mV}$$



$$K=10^0 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$$

**“secuestro” del radical y
estabilización por
antioxidante fenólico**



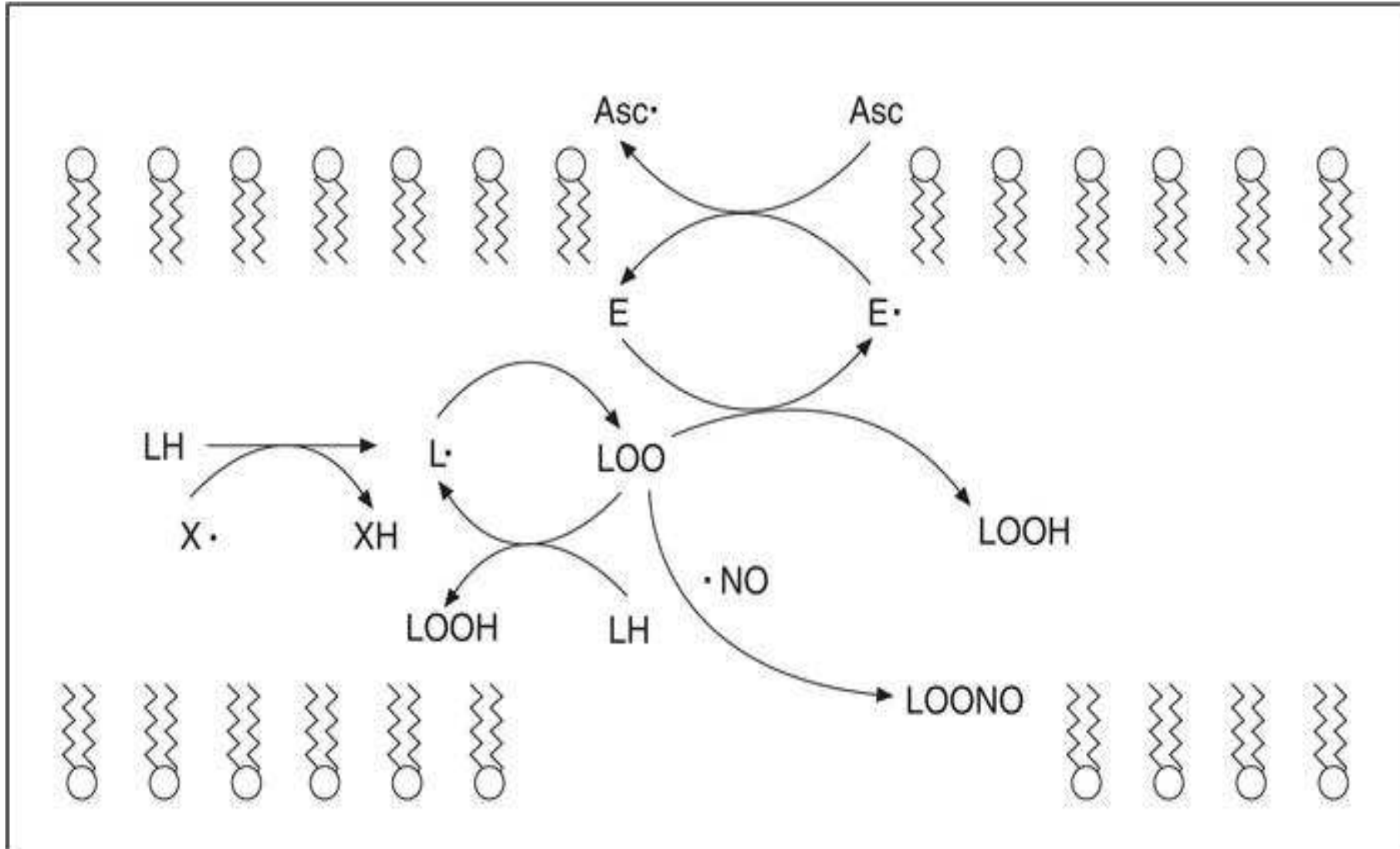
$$K=10^7 \text{ M}^{-1}\text{sec}^{-1}$$

$$E^0=400 \text{ mV}$$



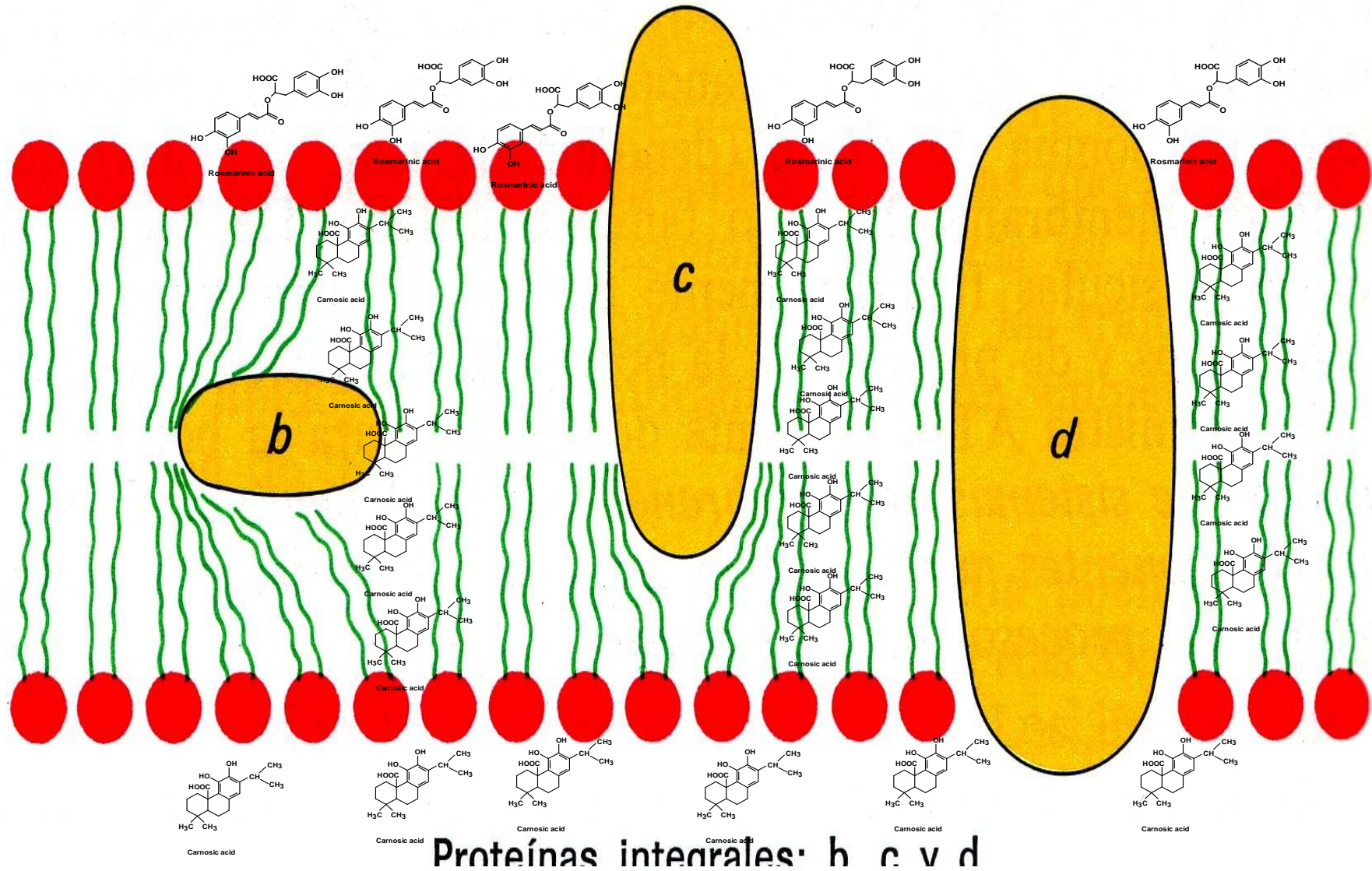


Actividad antioxidante a nivel de membrana celular





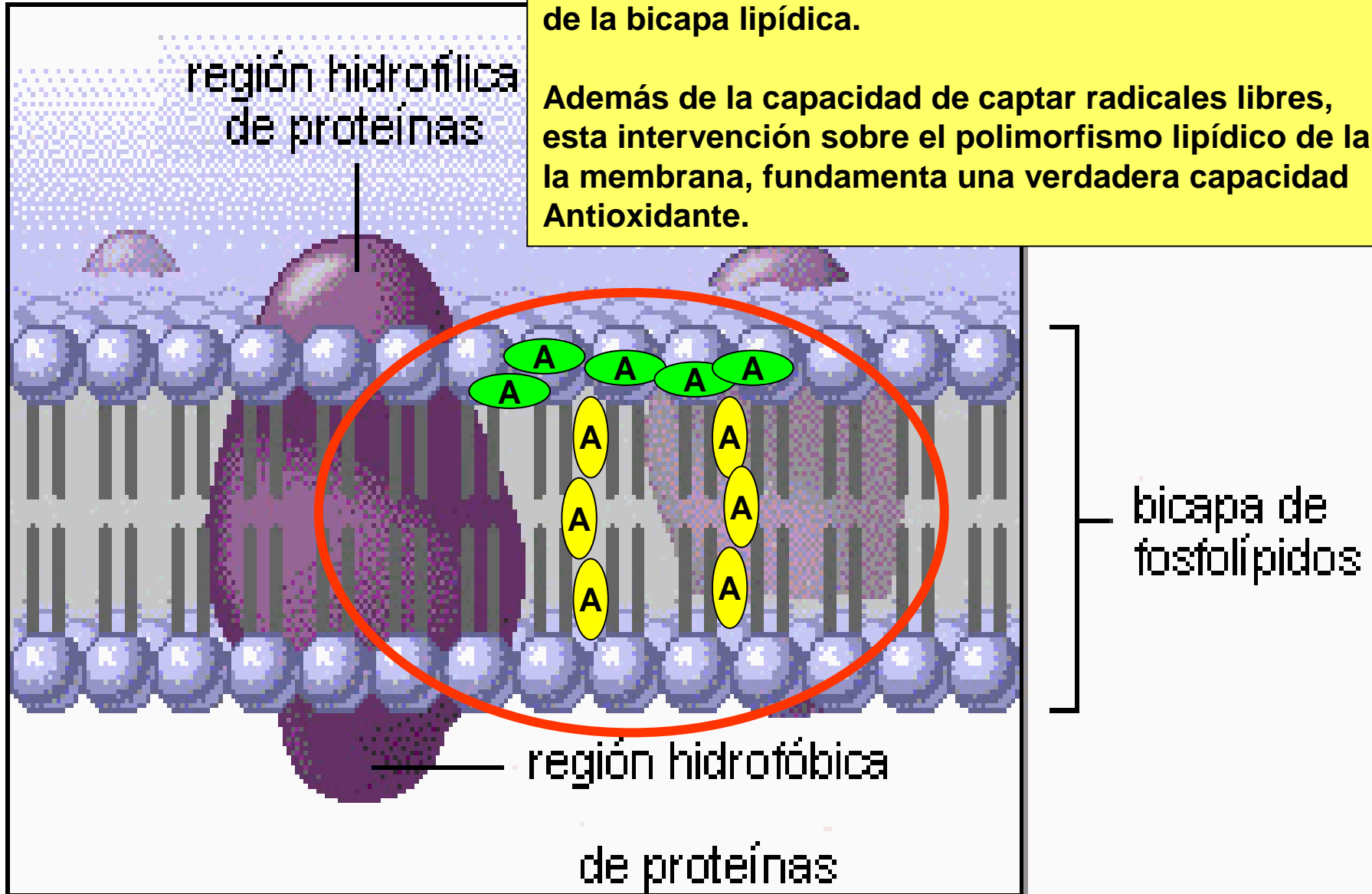
Ubicación en la membrana





Los compuestos antioxidantes favorecerían la Interacción con y entre las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos de la membrana, incrementando así el grado de orden interno y el empaquetamiento de la bicapa lipídica.

Además de la capacidad de captar radicales libres, esta intervención sobre el polimorfismo lipídico de la la membrana, fundamenta una verdadera capacidad Antioxidante.



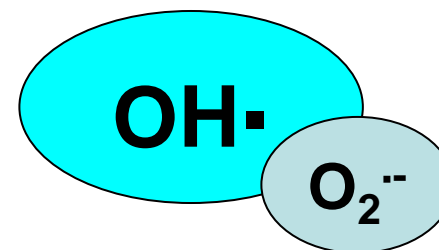


Relación Estructura-actividad

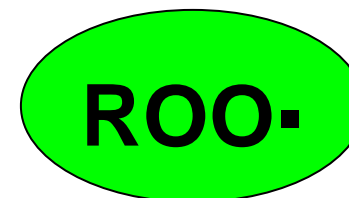
Propiedades físicas

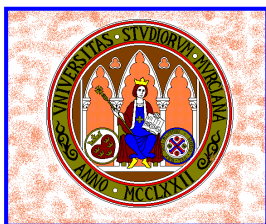
Dos actividades antioxidantes
estructuralmente diferentes

Actividad “antiradical”



Actividad “anti-lipoperoxidante”

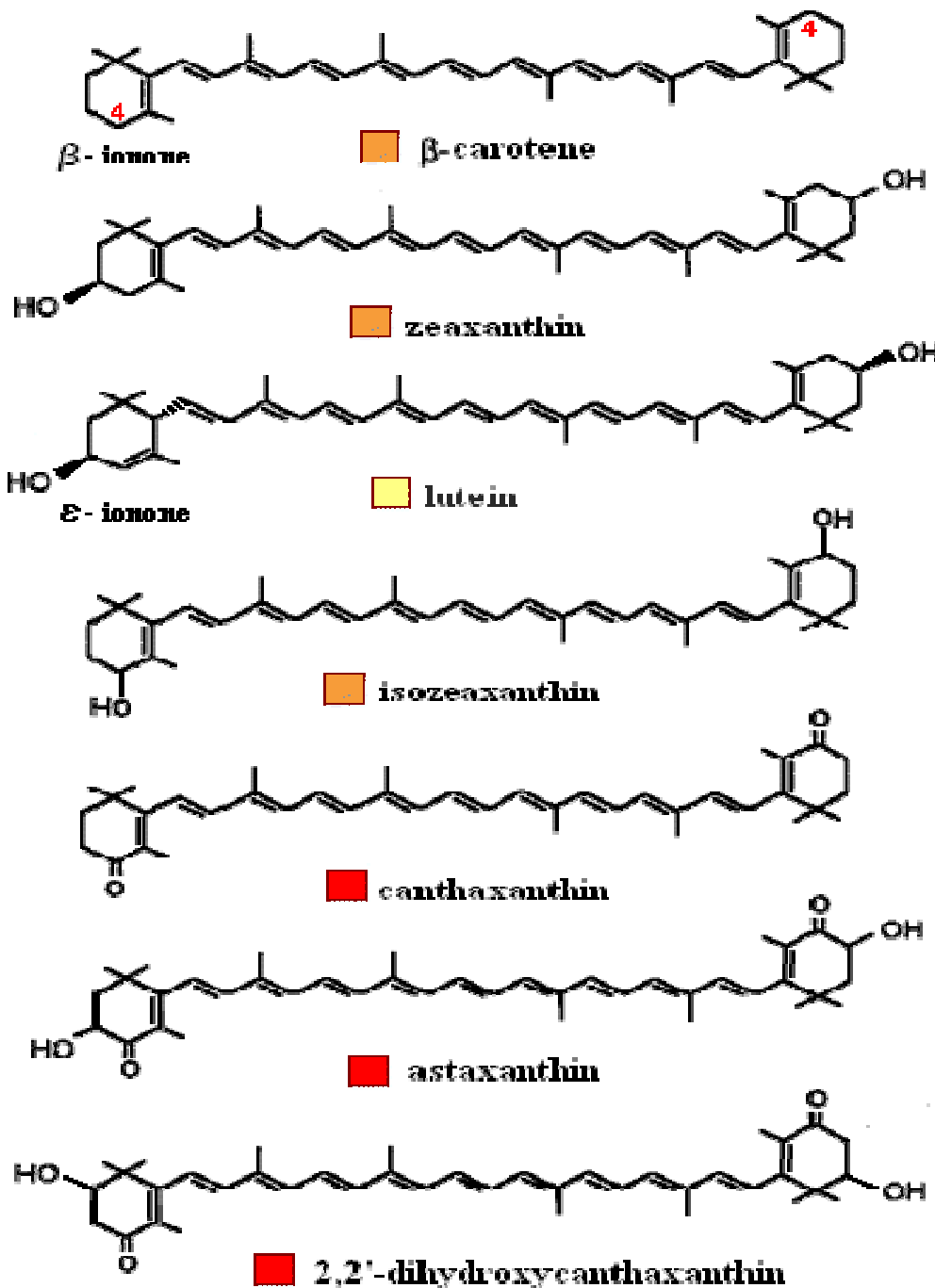




Relación estructura y actividad antioxidante frente a peroxiradicales de los carotenoides

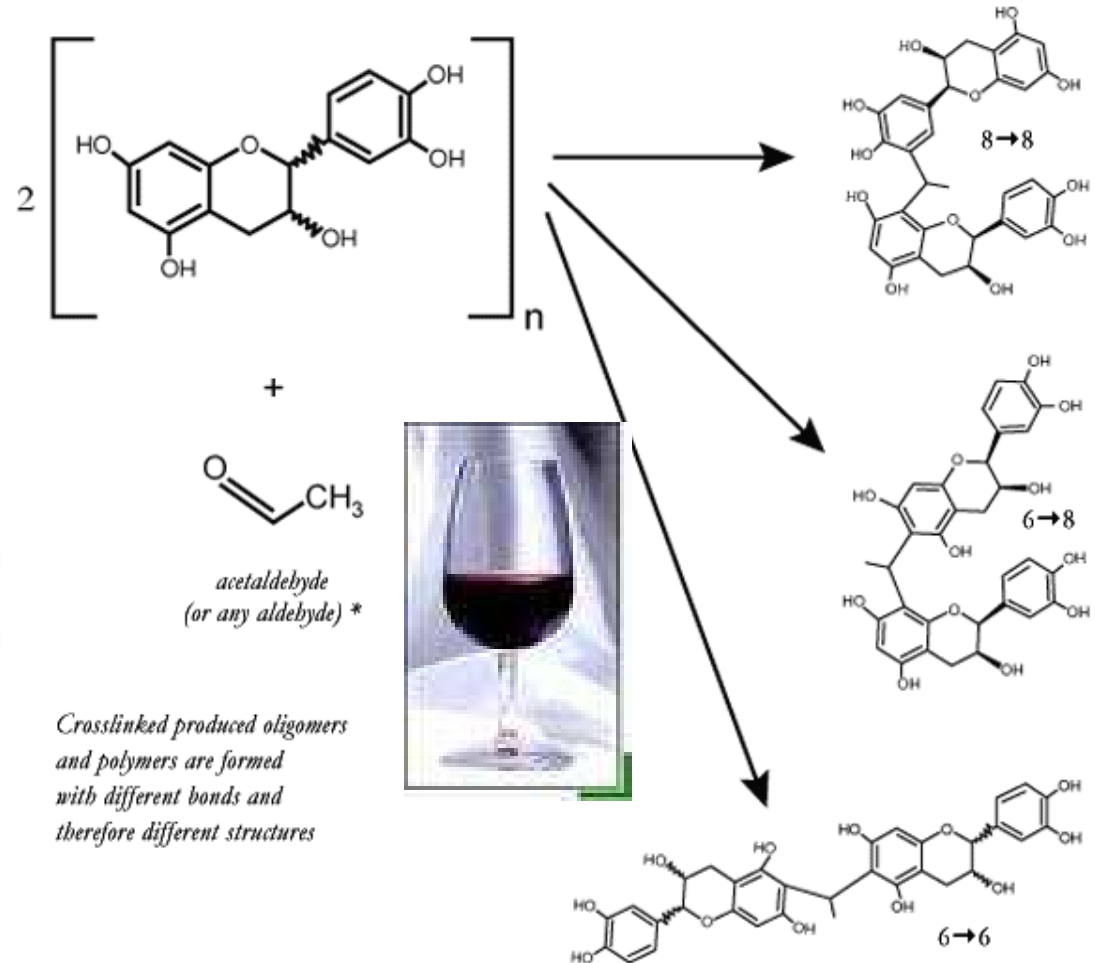
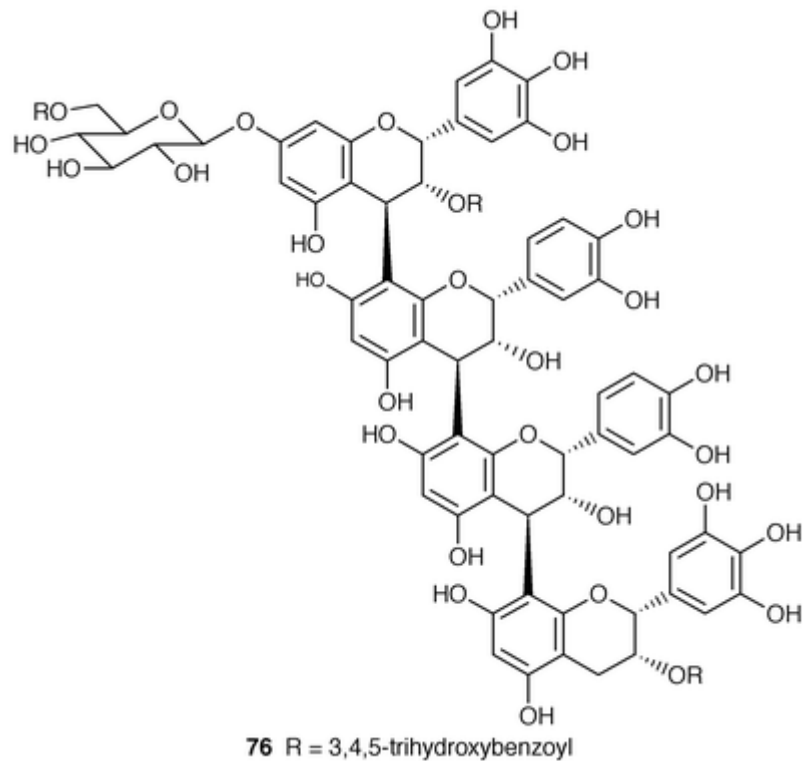
Sacrificial radical scavenging

Anti-oxidant (quench singlet oxygen)



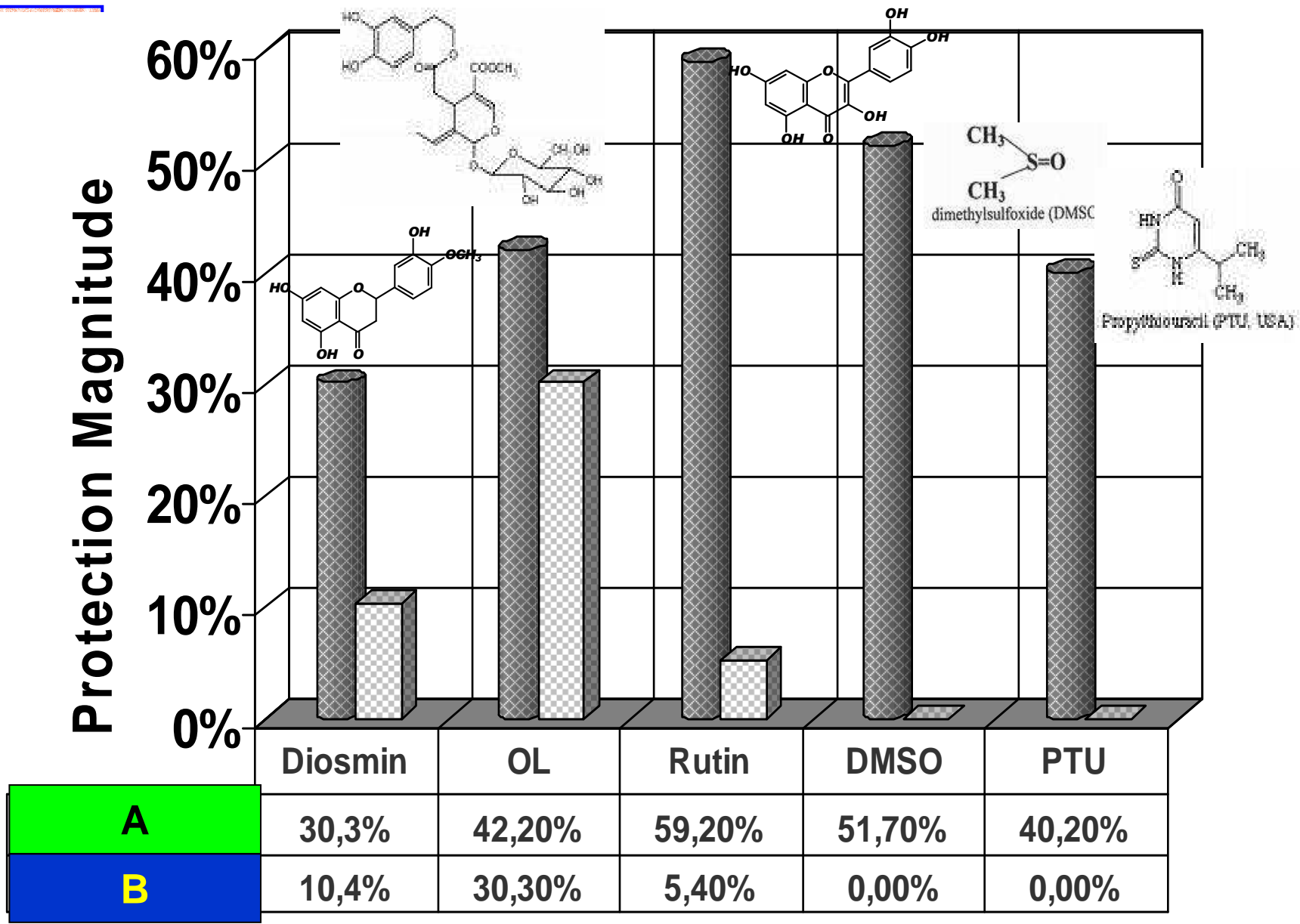


Polímeros flavonoides: controversia estructural



(Montounet et al., J. Agric. Fd. Chem., Vol 47, pp. 2088-2095, 1999)

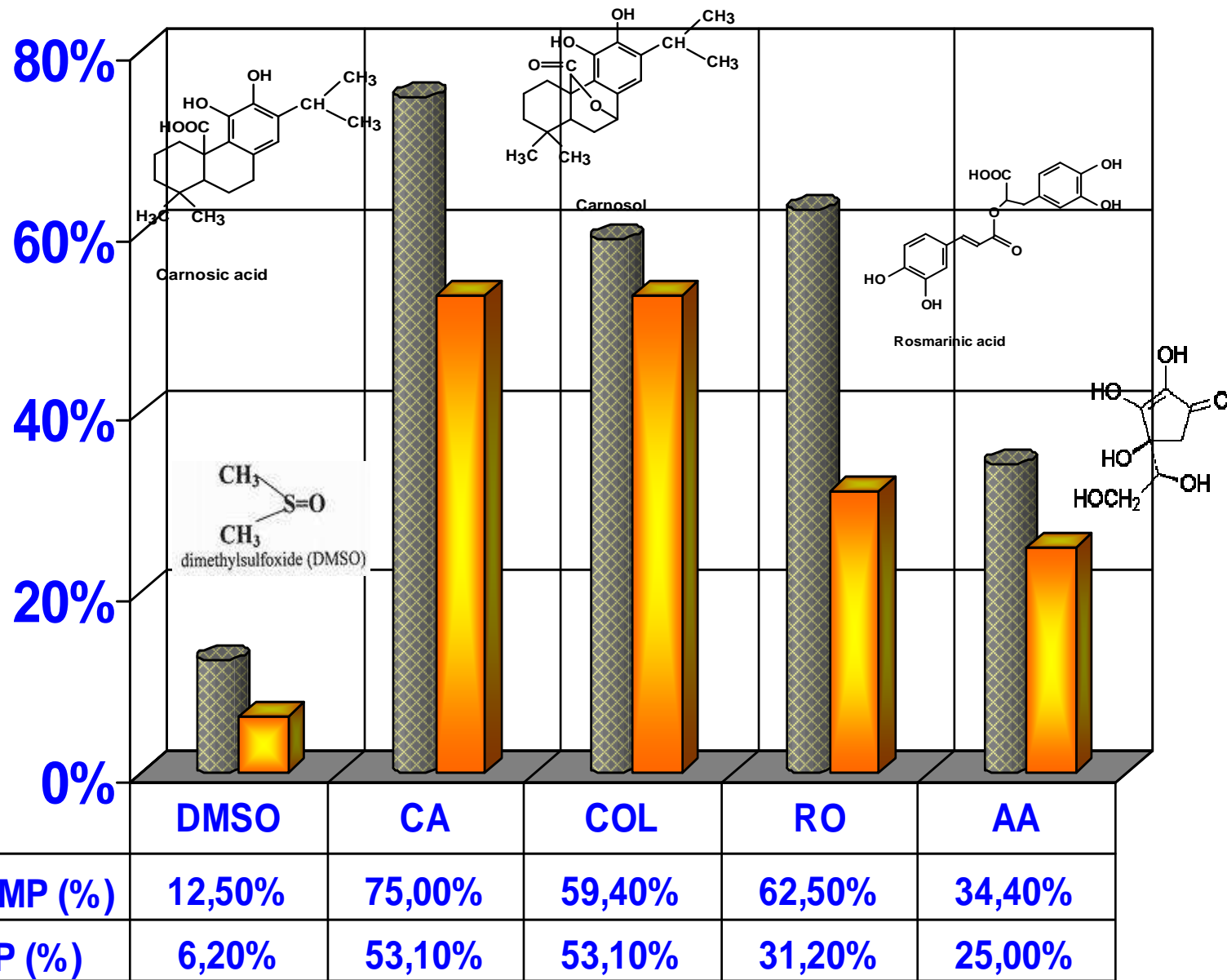
*(Montounet et al., J. Agric. Fd. Chem., Vol. 48, 48 pp. 5946-5954, 2000)



(A) Capacidad "genoprotectora" frente a superóxido e hidroxilo
 (B) Capacidad "genoprotectora" frente a lipoperoxiradicales



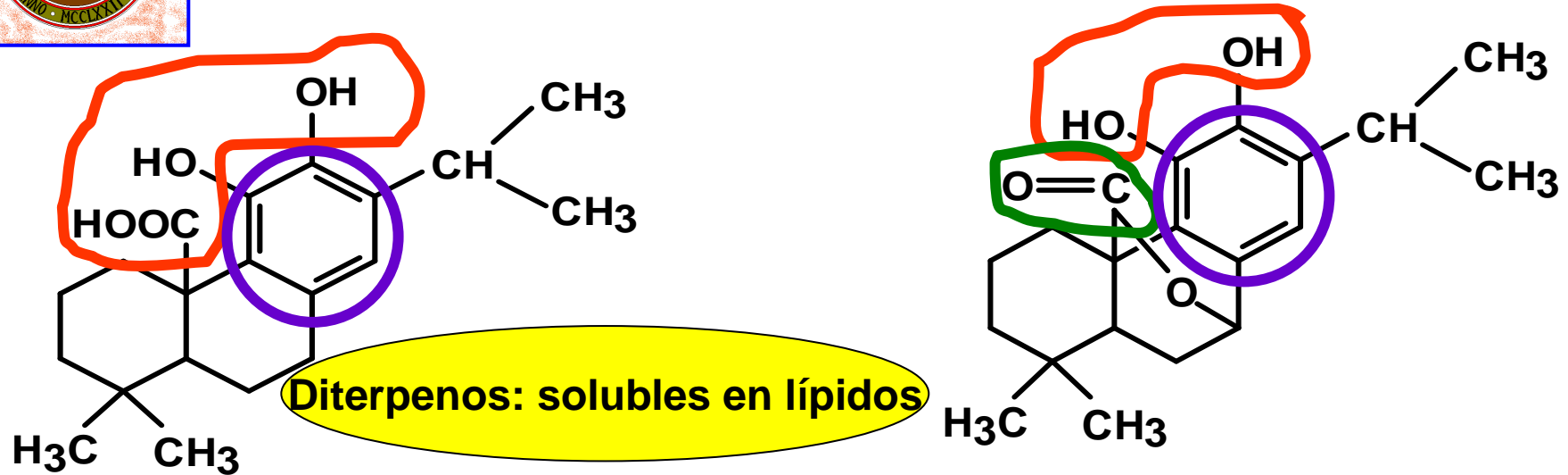
Magnitude of protection



Treatments

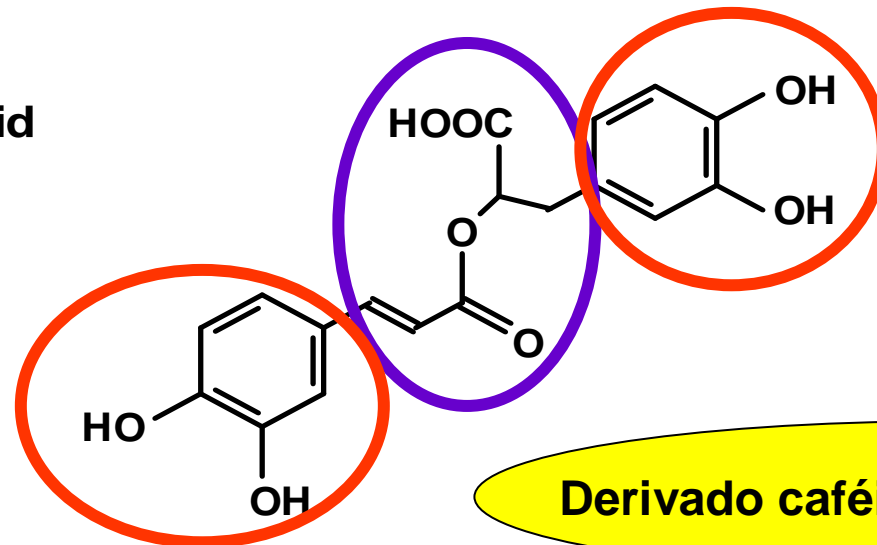


Esqueletos moleculares



Carnosic acid

Carnosol

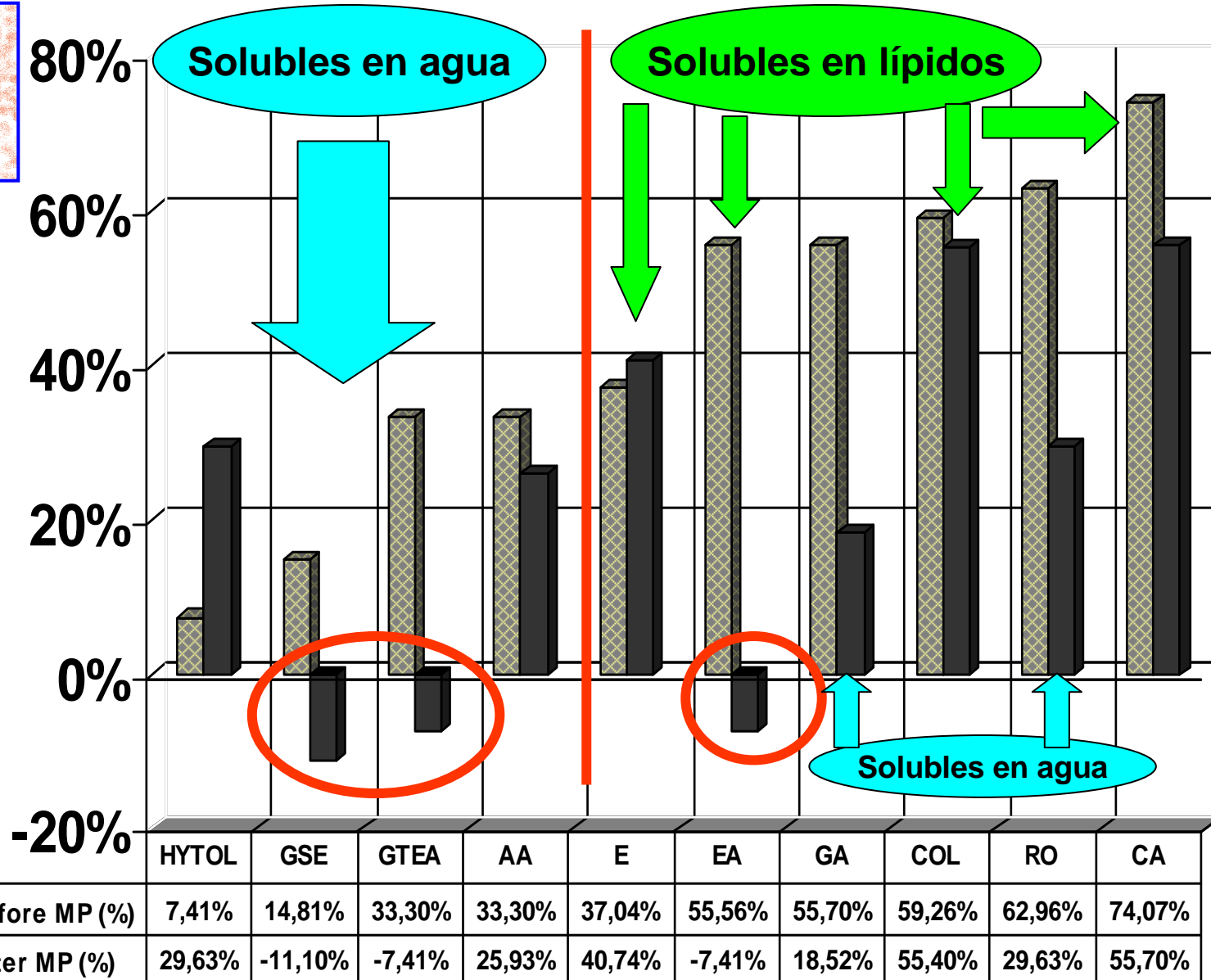


Derivado caféico: soluble en agua

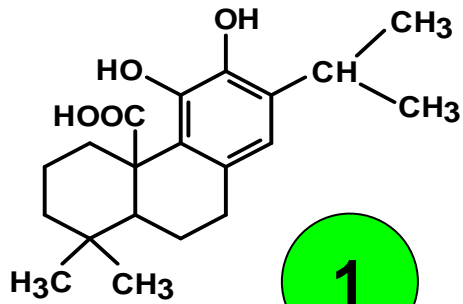
Rosmarinic acid



Magnitude of protection

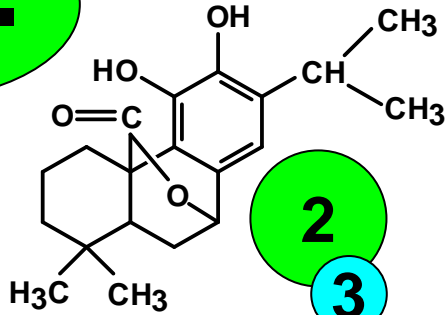
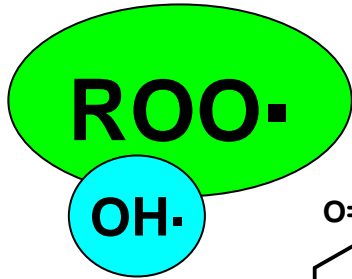


Treatments



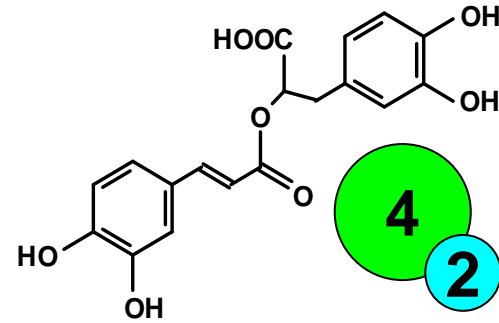
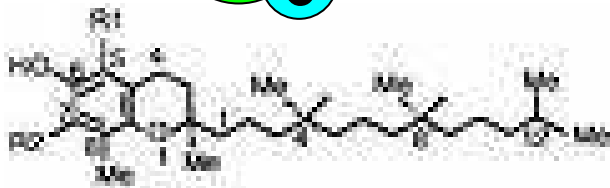
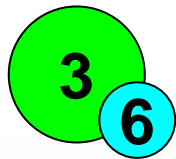
Carnosic acid

1
1



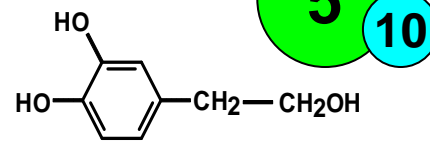
Carnosol

2
3



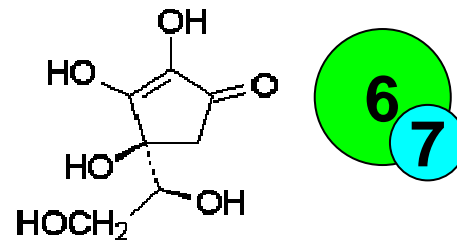
Rosmarinic acid

4
2

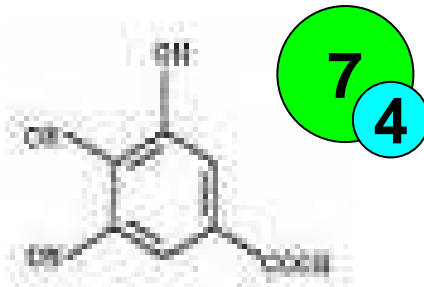


HYDROXYTYROSOL

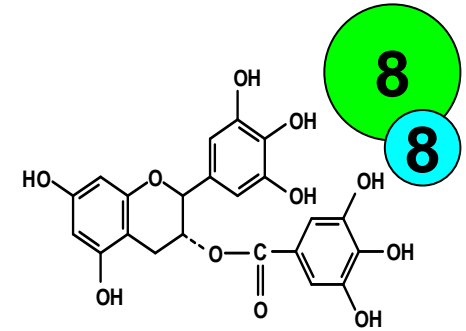
5
10



6
7



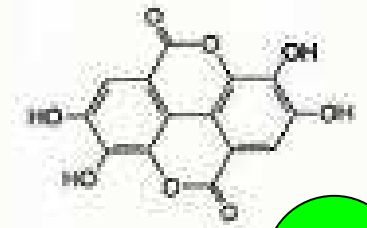
7
4



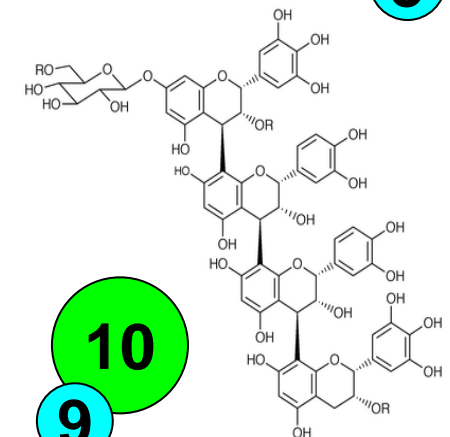
Epigallocatechin-3-O-gallato

8
8

ACIDO ELLAGICO



9
5



10
9

76 R = 3,4,5-trihydroxybenzoyl

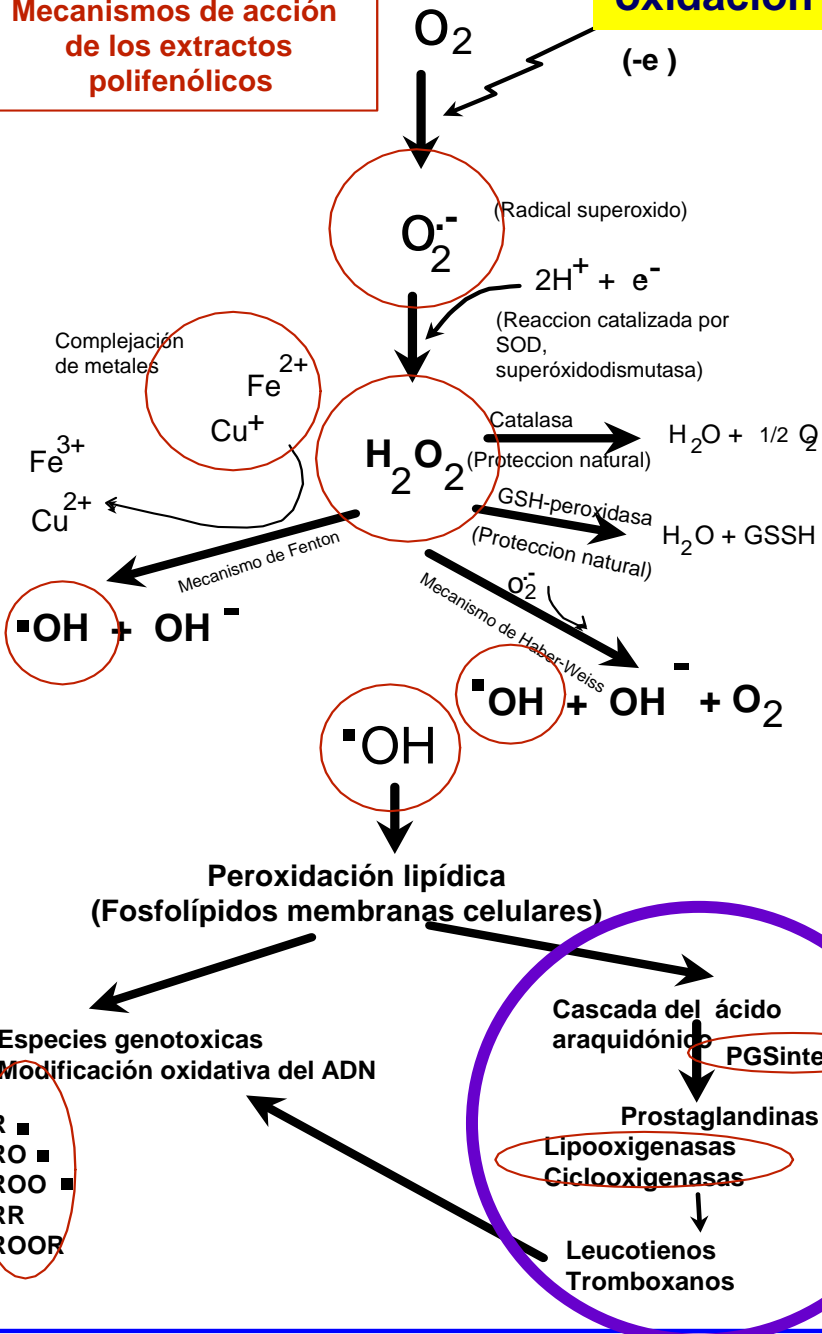


La dicotomía entre antiradical y antilipoperoxidante

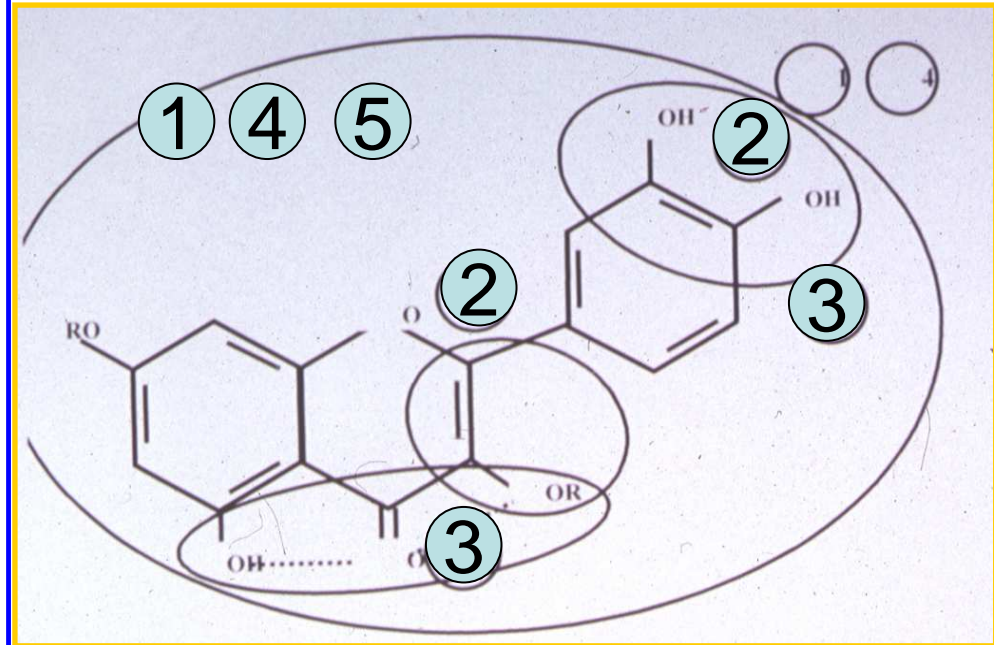
- A través de sucesivos estudios parece claro que existe una diferente concepción de lo que es actividad antioxidante basada en la captación de radicales libres oxigenados y el comportamiento y eficacia de un antioxidante frente a los procesos de peroxidación lipídica.
- Un proceso de peroxidación lipídica depende de más factores que una simple “captación” de radicales libres, y depende, entre otros de tres factores fundamentales:
 - Naturaleza del sustrato lipídico oxidable
 - Condiciones físico-químicas de operación
 - Propiedades de solubilidad en lípidos del agente antioxidante
- En definitiva, puede haber muy buenos antioxidantes, secuestradores de ROS, que no sean capaces de detener una cadena de peroxidación lipídica, una vez que ésta se ha “desencadenado”.

Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos

oxidación (-e)



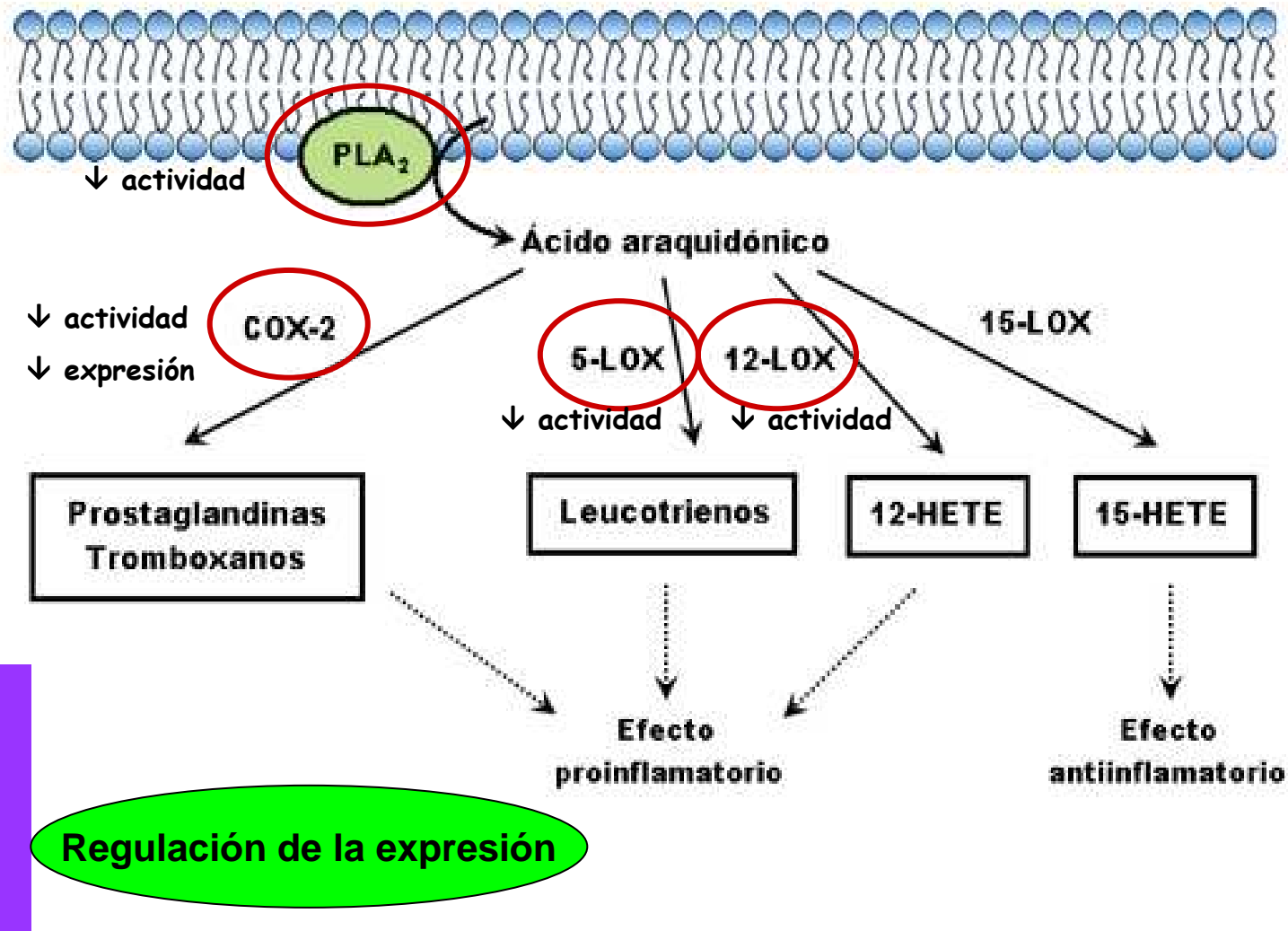
Fundamento estructural de protección

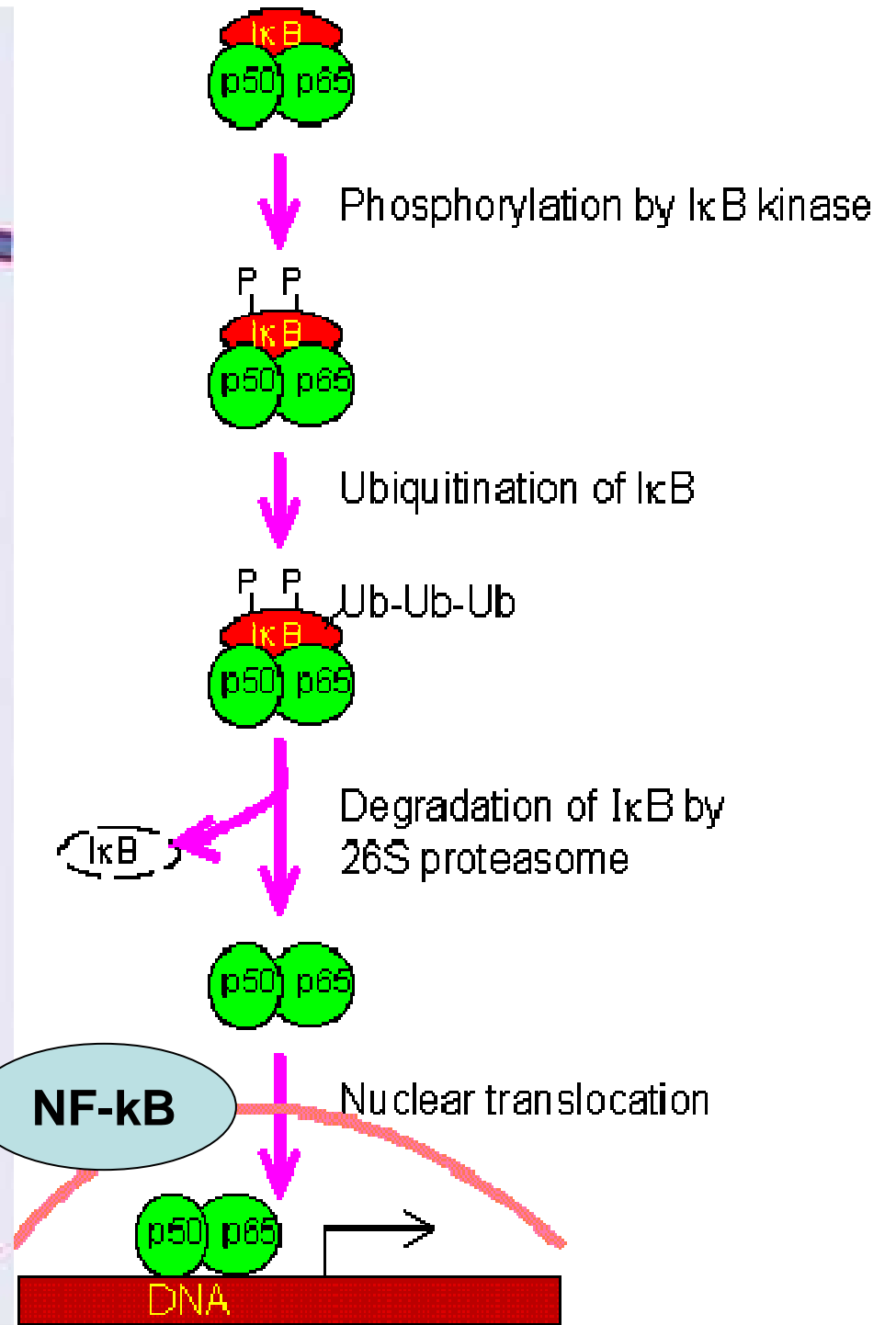
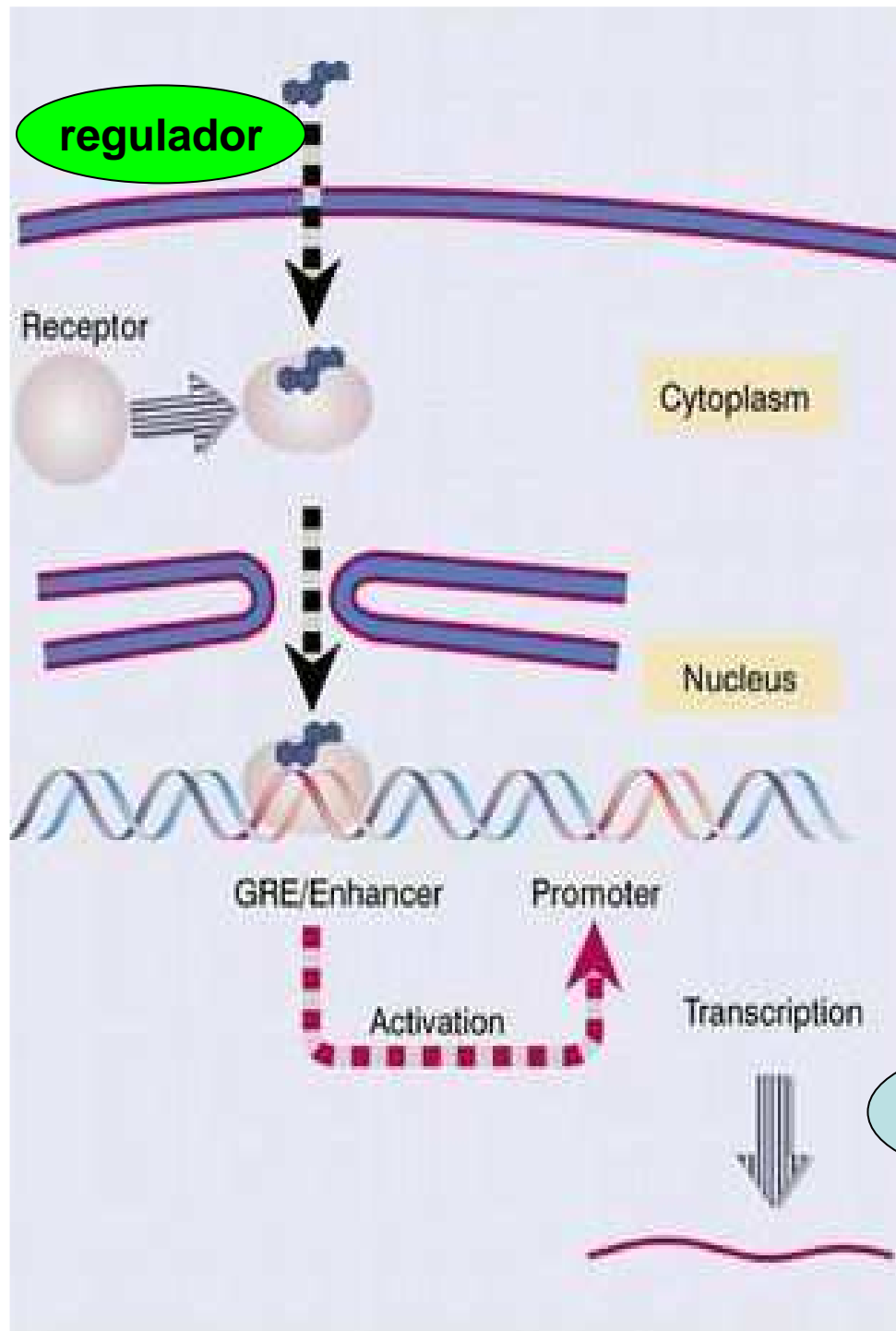


- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2^{\cdot-}$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



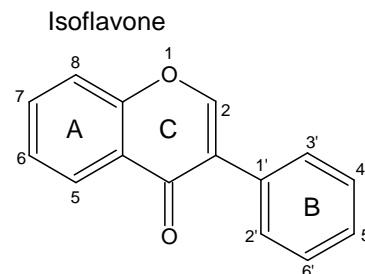
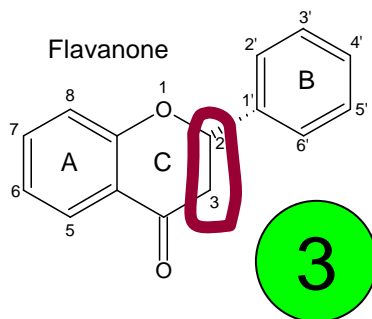
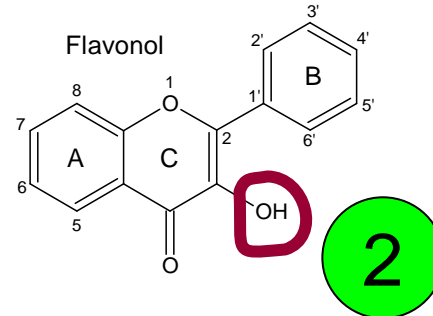
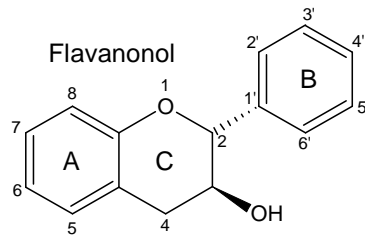
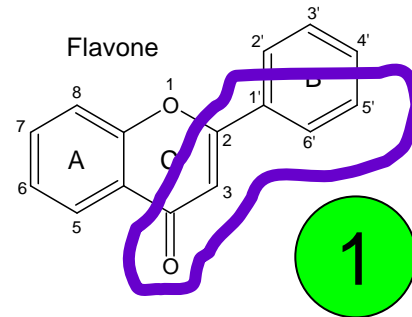
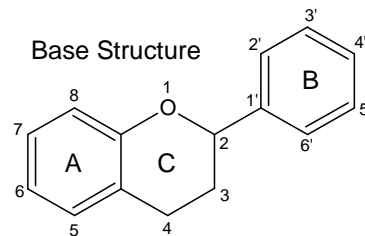
Cascada oxidativa del ÁCIDO ARAQUIDÓNICO







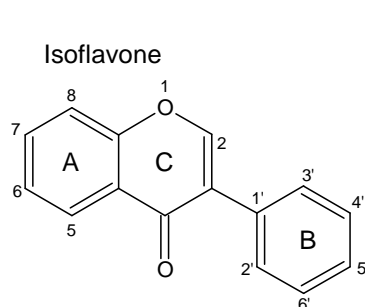
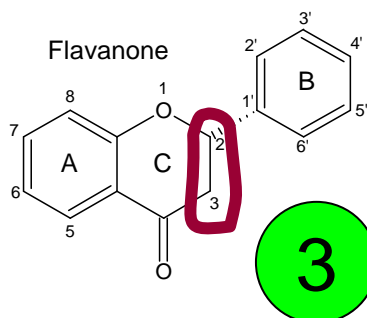
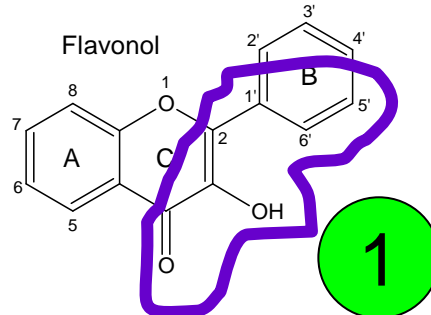
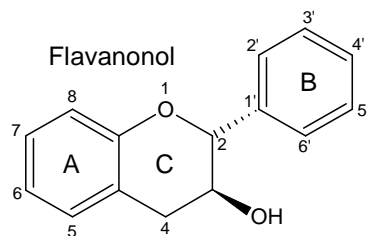
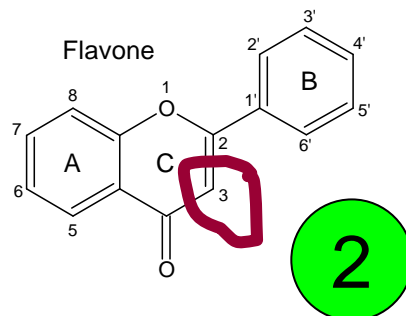
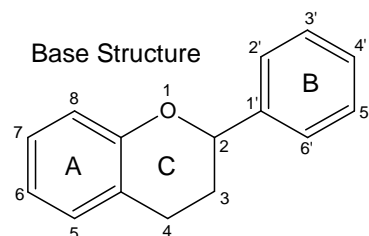
CICLOXIGENASAS



1. La estructura flavona presenta la mayor capacidad inhibidora (apigenina).
2. Los flavonoles tienen una actividad moderada
3. Las flavanonas carecen prácticamente de actividad.
4. Los flavonoides de cualquier tipo carecen de actividad si están glicosilados.



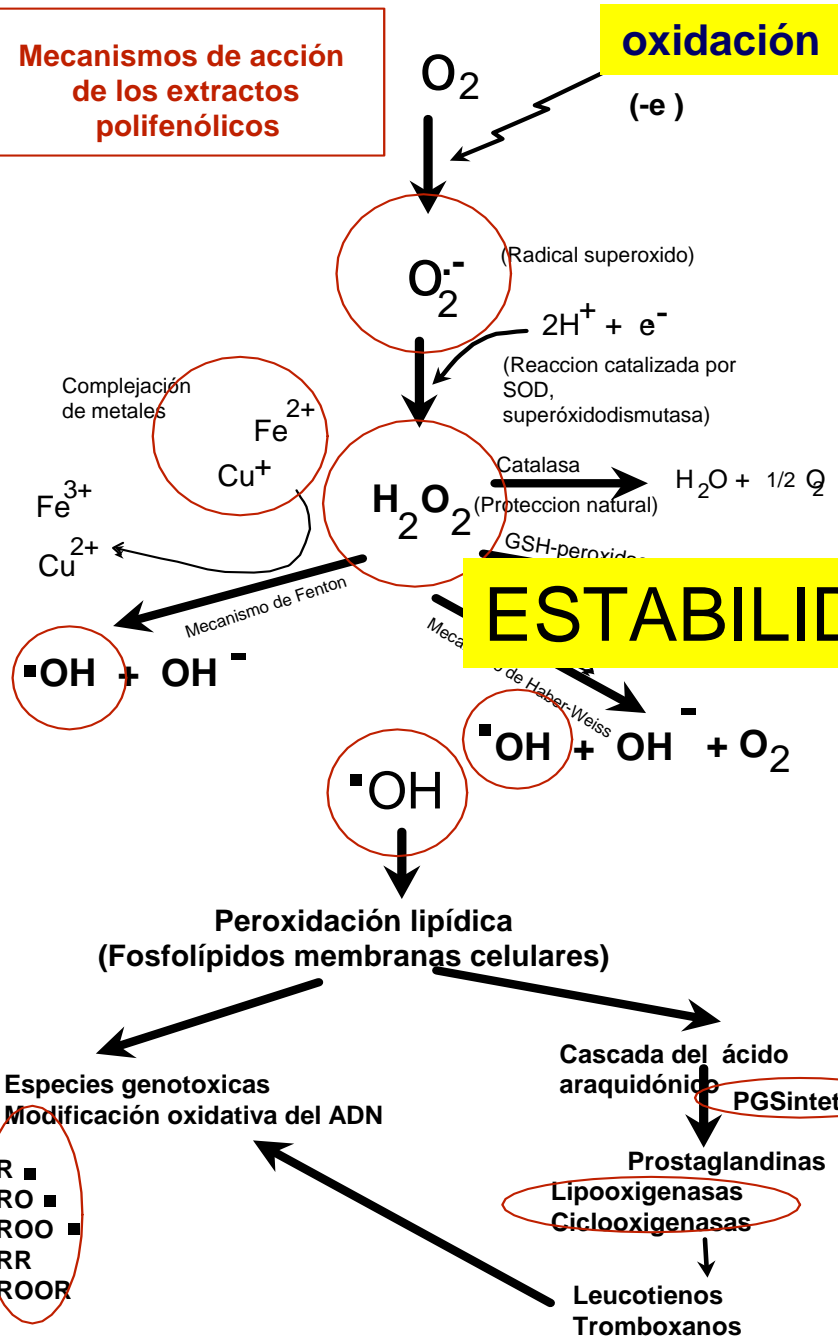
LIPOXIGENASAS



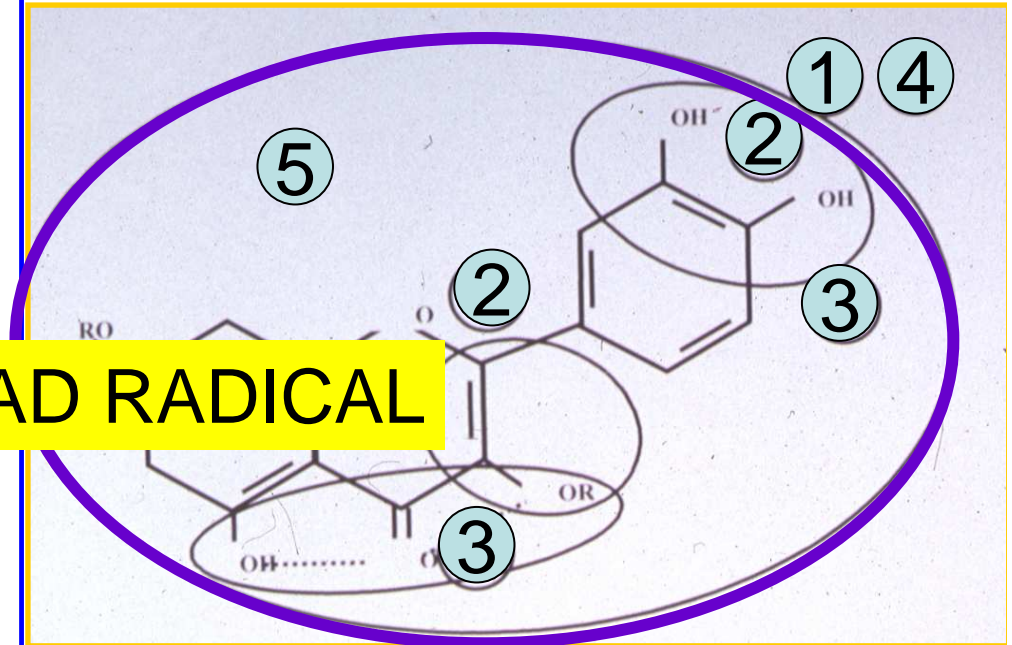
1. La estructura flavonol presenta la mayor capacidad inhibidora
2. Las flavonas tienen una actividad moderada
3. Las flavanonas carecen prácticamente de actividad.
4. Los flavonoides de cualquier tipo carecen de actividad si están glicosilados.
5. Algunos derivados presentan una alta especificidad (prenylated flavonoids)

Fundamento estructural de protección

Mecanismos de acción de los extractos polifenólicos



ESTABILIDAD RADICAL

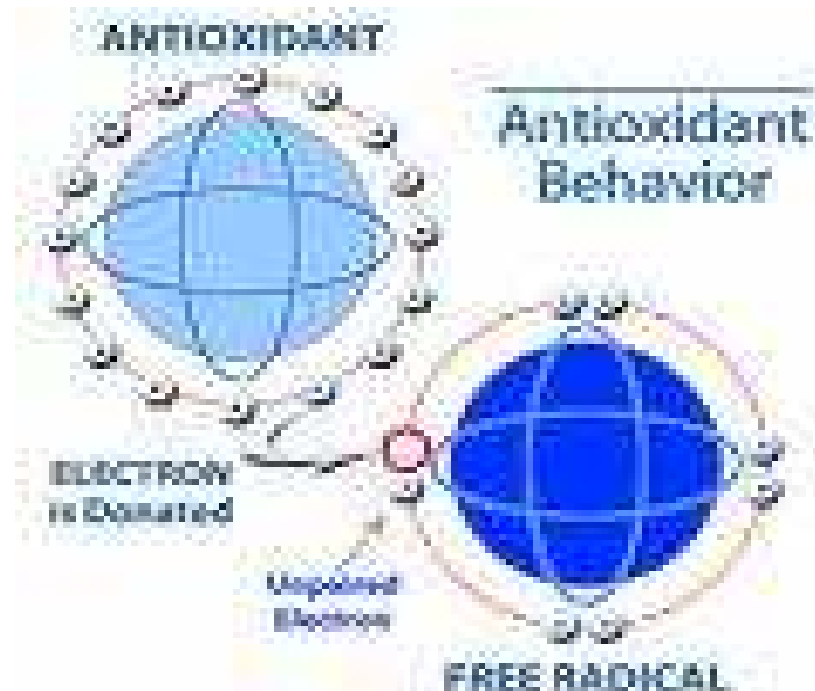


- 1.- Nube electrónica capaz de deslocalizar la carga del radical agresivo. Sist. resonante.
- 2.- Grupo catecol (anillo B) y C_{2-3} "captadores" de radicales $O_2\cdot$ y $\cdot OH$.
- 3.- Complejación de metales (Fe/Cu) catalizadores de la reacción de Fenton: catecol y tautomería cetoenólica C_4 .
- 4.- Inhibidor de los enzimas oxidantes (inhibición competitiva) por bloqueo del centro activo: PGS, COX, LOX.....
- 5.- Estabilidad del radical flavonoide (RADICAL AROXIL).



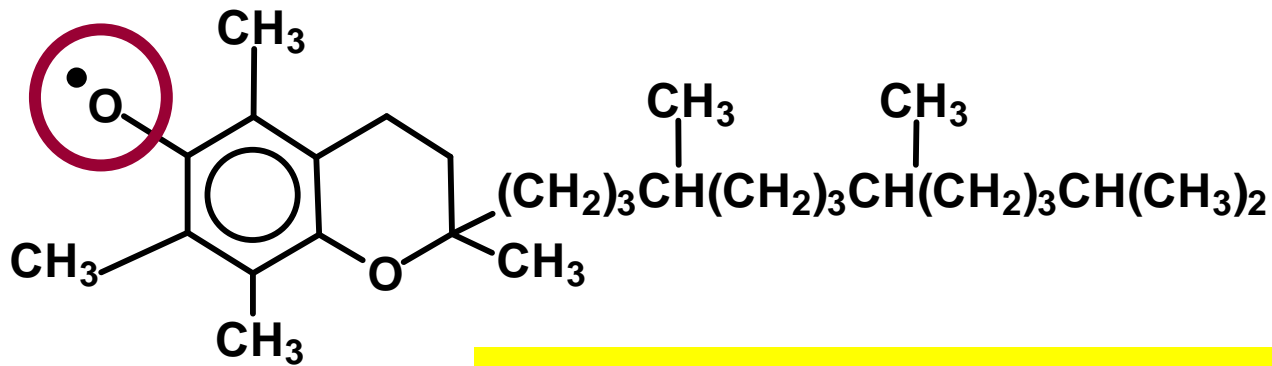
Estabilidad del radical antioxidante generado

El antioxidante debe poseer una estructura molecular capaz de deslocalizar y mantener estabilizado el radical “antioxidante” generado





La vitamina E no puede actuar sola



TO•

Reacción con peróxidos lipídicos:

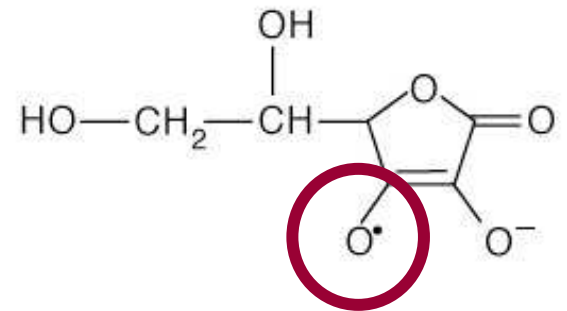
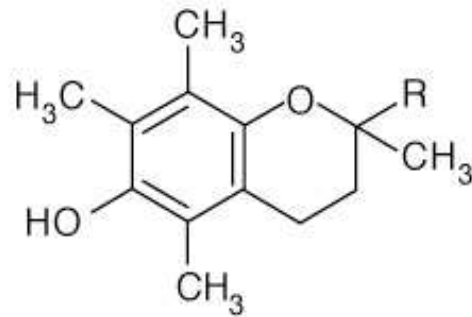
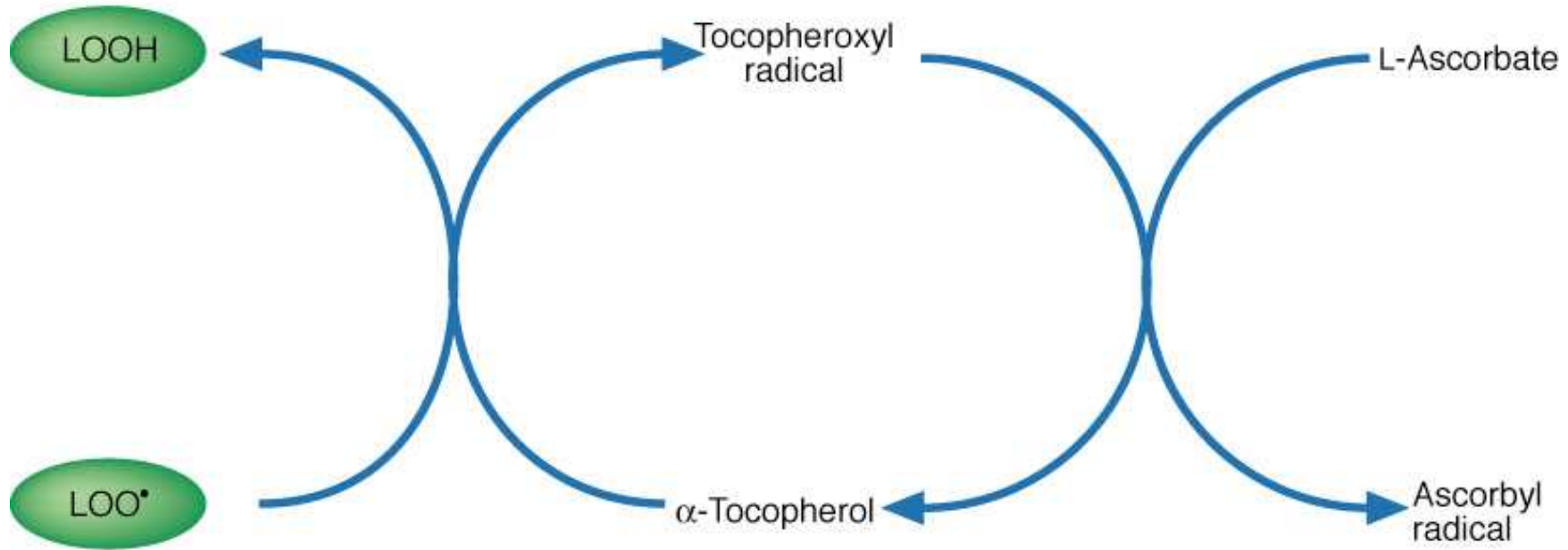
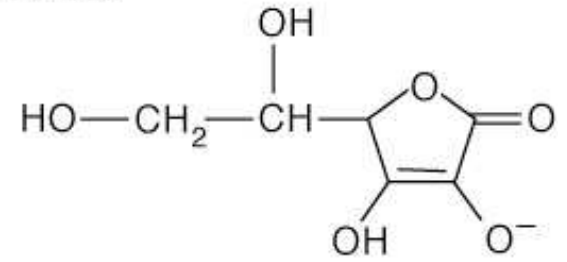
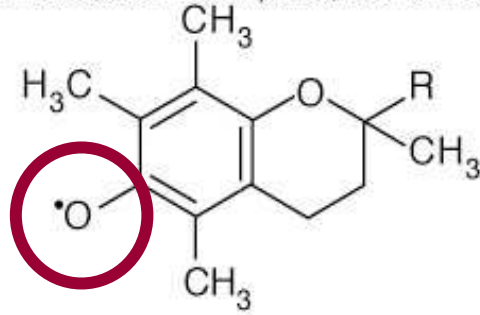


**Necesita un proceso de “Reciclaje”
mediante otro antioxidante**

Antioxidante no reciclable



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



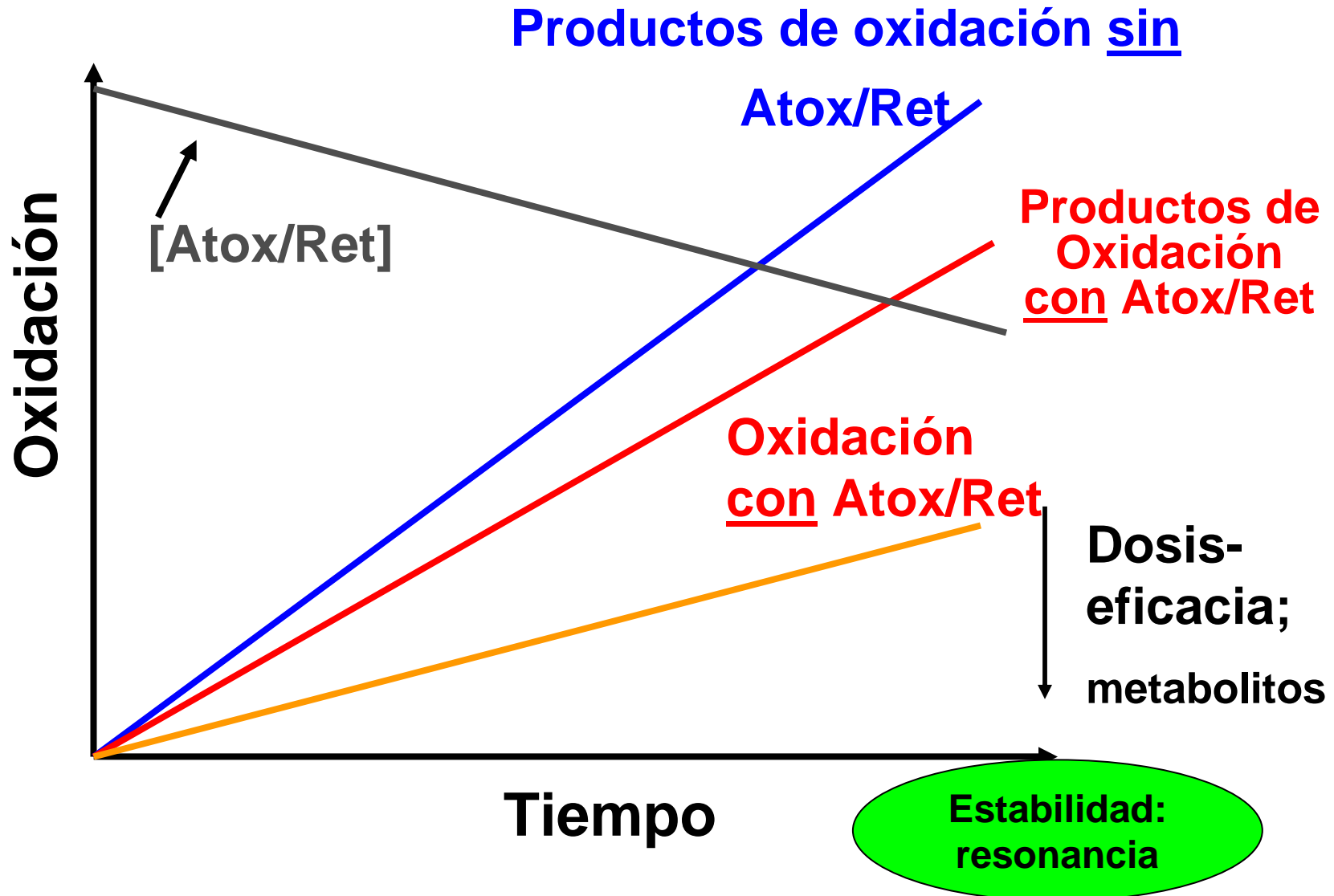
The Pecking Order

Depending on their reduction potential, antioxidants can recycle each other. For example, ascorbate with a reduction potential of +282 mV can recycle TO^\bullet (+480 mV) and urate $^{\bullet-}$ (+590 mV).

Buettner GR. (1993)
Arch Biochem Biophys.
300:535-543.

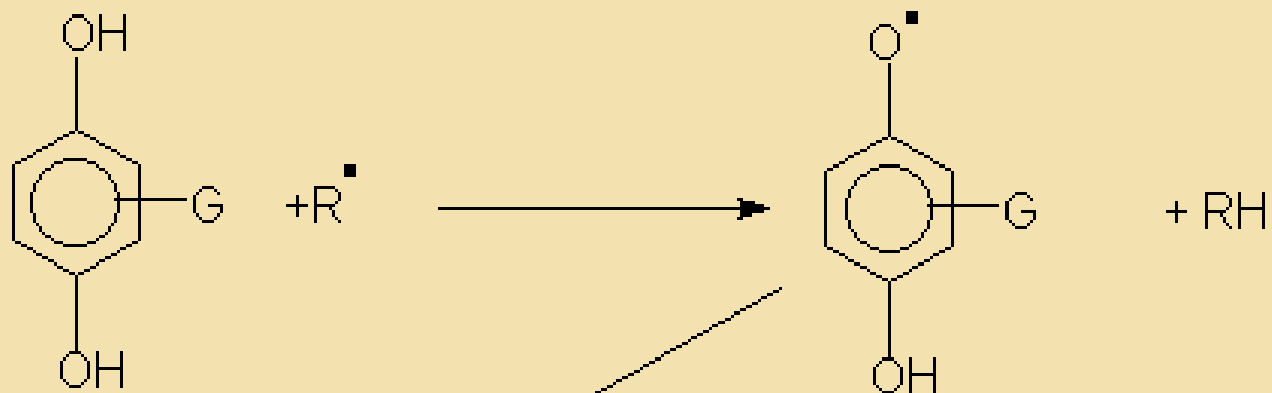
Redox Couple (one-electron reductions)	E°/mV
$\text{HO}^\bullet, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}$	+2310
$\text{RO}^\bullet, \text{H}^+/\text{ROH}$ (aliphatic alkoxy radical)	+1600
$\text{ROO}^\bullet, \text{H}^+/\text{ROOH}$ (alkyl peroxy radical)	+1000
$\text{GS}^\bullet/\text{GS}^-$ (glutathione)	+920
$\text{PUFA}^\bullet, \text{H}^+/\text{PUFA-H}$ (<i>bis</i> -allylic-H)	+600
$\text{TO}^\bullet, \text{H}^+/\text{TOH}$ (tocopherol)	+480
$\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+/\text{H}_2\text{O}, \text{HO}^\bullet$	+320
$\text{Asc}^{\bullet-}, \text{H}^+/\text{AscH}^-$ (Ascorbate)	+282
$\text{CoQ}^{\bullet-}, 2\text{H}^+/\text{CoQH}_2$	+200
$\text{Fe(III) EDTA}/\text{Fe(II) EDTA}$	+120
$\text{CoQ}/\text{CoQ}^{\bullet-}$	-36
$\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$	-160
$\text{Paraquat}/\text{Paraquat}^{\bullet-}$	-448
$\text{Fe(III)DFO}/\text{Fe(II)DFO}$	-450
$\text{RSSR}/\text{RSSR}^{\bullet-}$ (GSSG)	-1500
$\text{H}_2\text{O}/\text{e}^-_{\text{aq}}$	-2870

Antioxidante/"retarder"

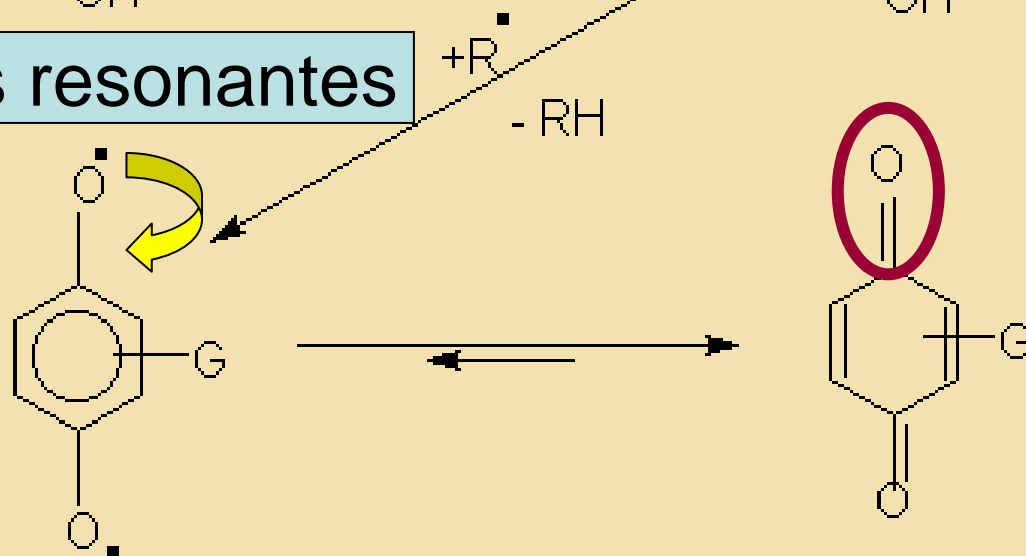


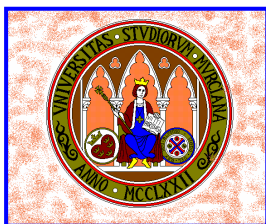


Estabilidad del radical aroxilo

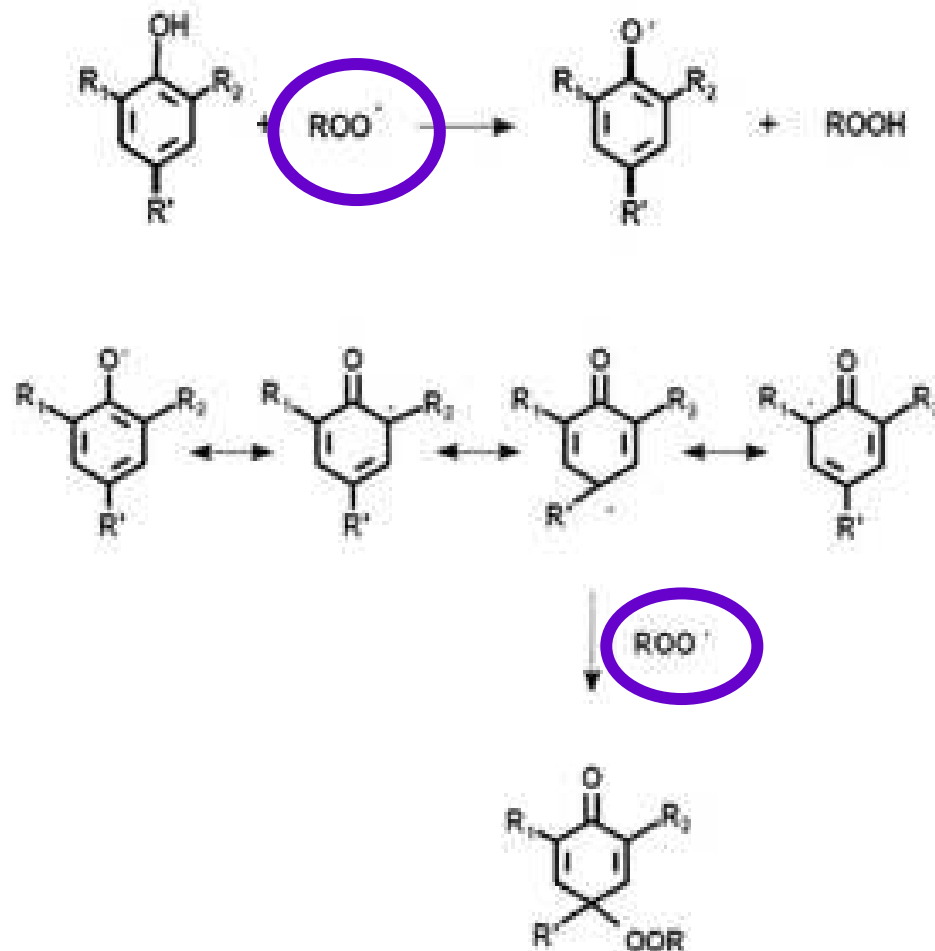


Estructuras resonantes

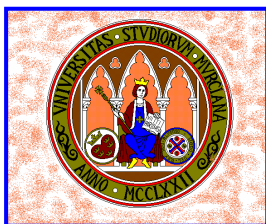




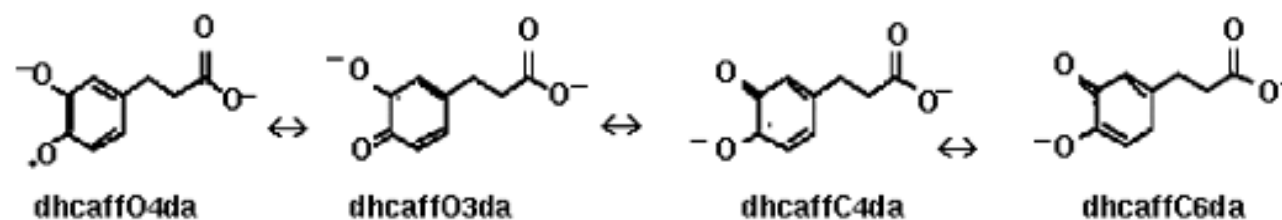
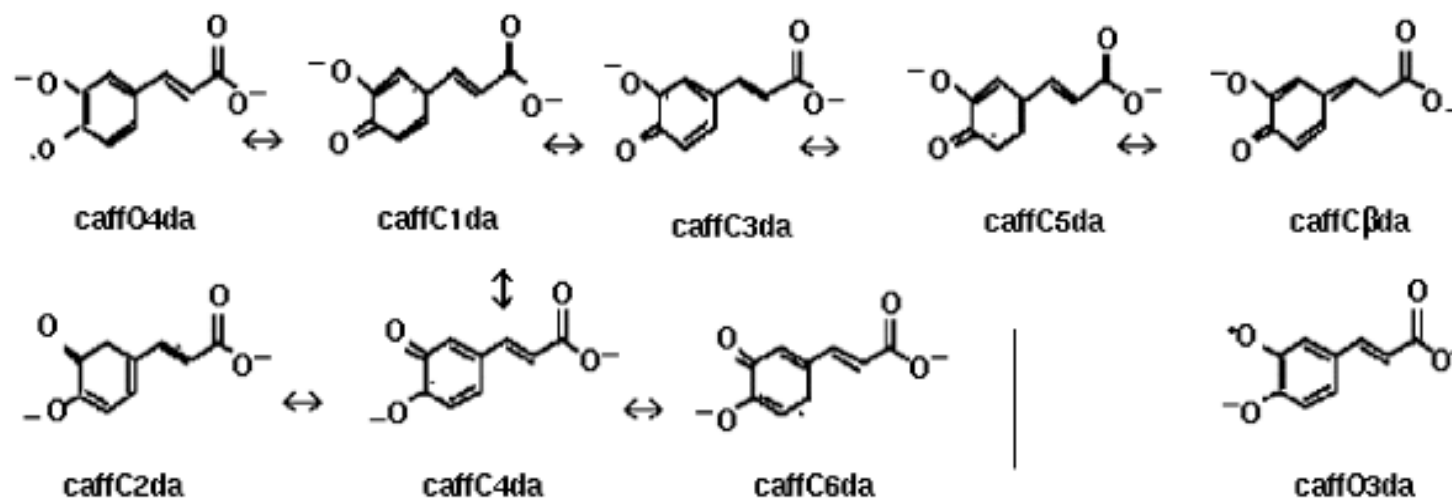
Estabilidad: resonancia



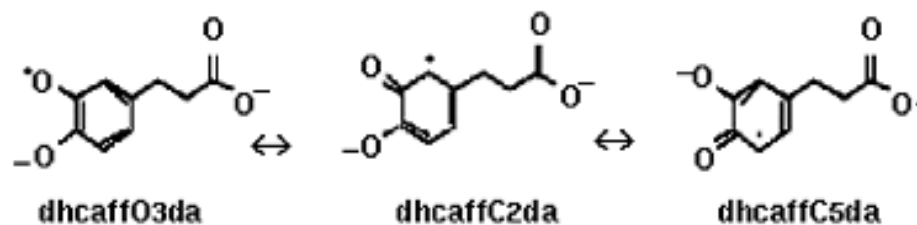
Mecanismo de actuación y estabilidad de un antioxidante primario



Estructuras resonantes



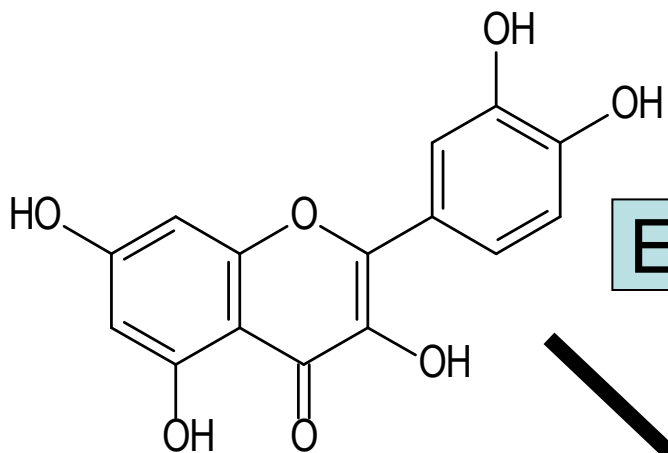
Ácido caféico



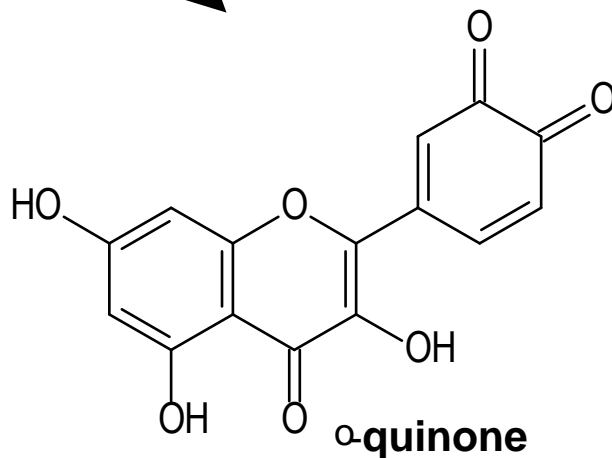


FLAVONOIDES

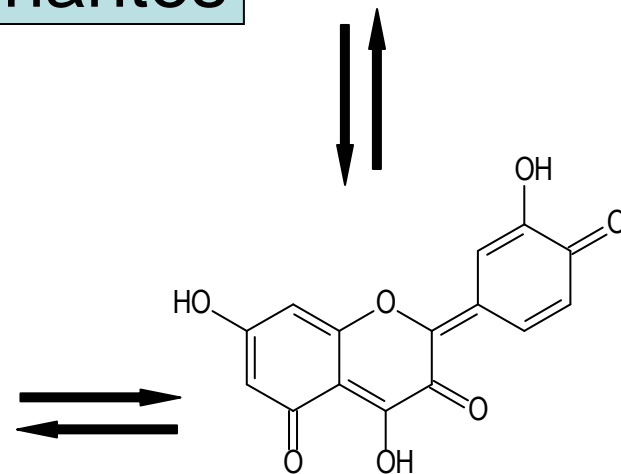
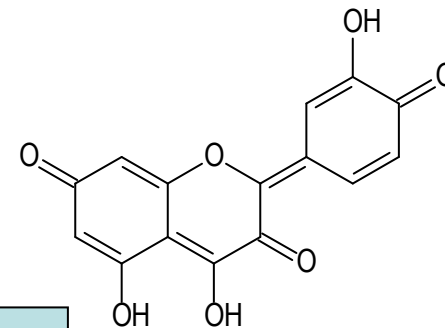
Quercetin



Estructuras resonantes



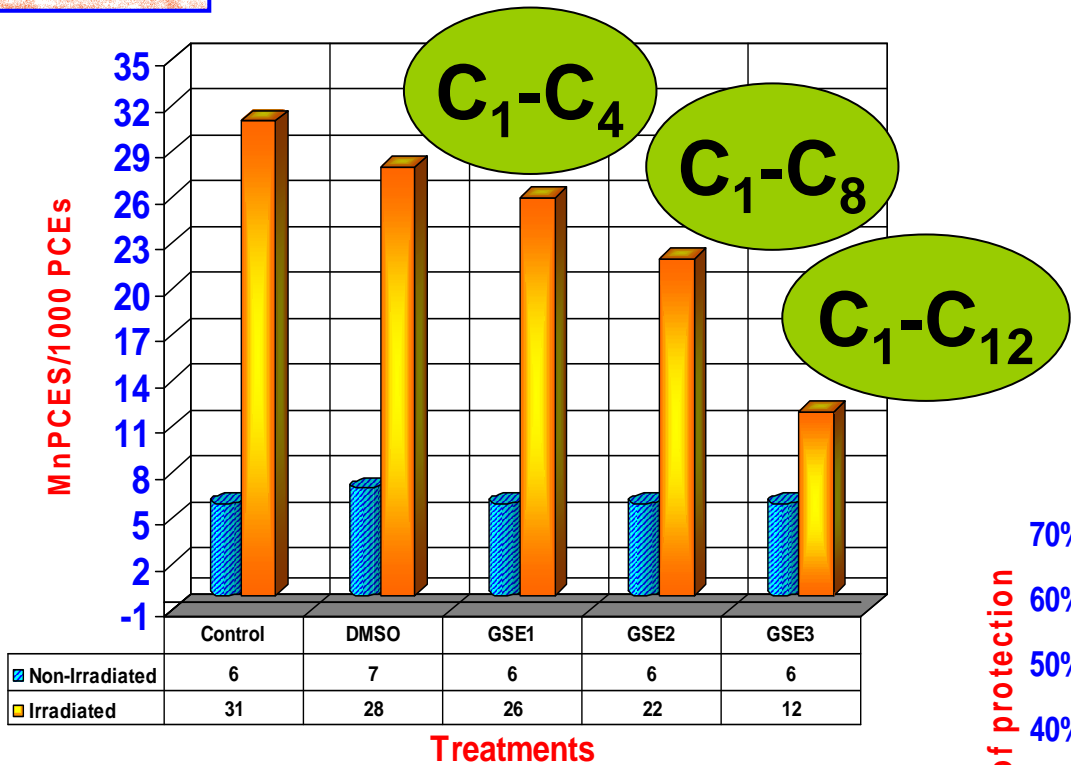
Quercetin-7-quinone methide



Quercetin-5-quinone methide



GRADO DE POLIMERIZACIÓN



PROCIANIDINAS

