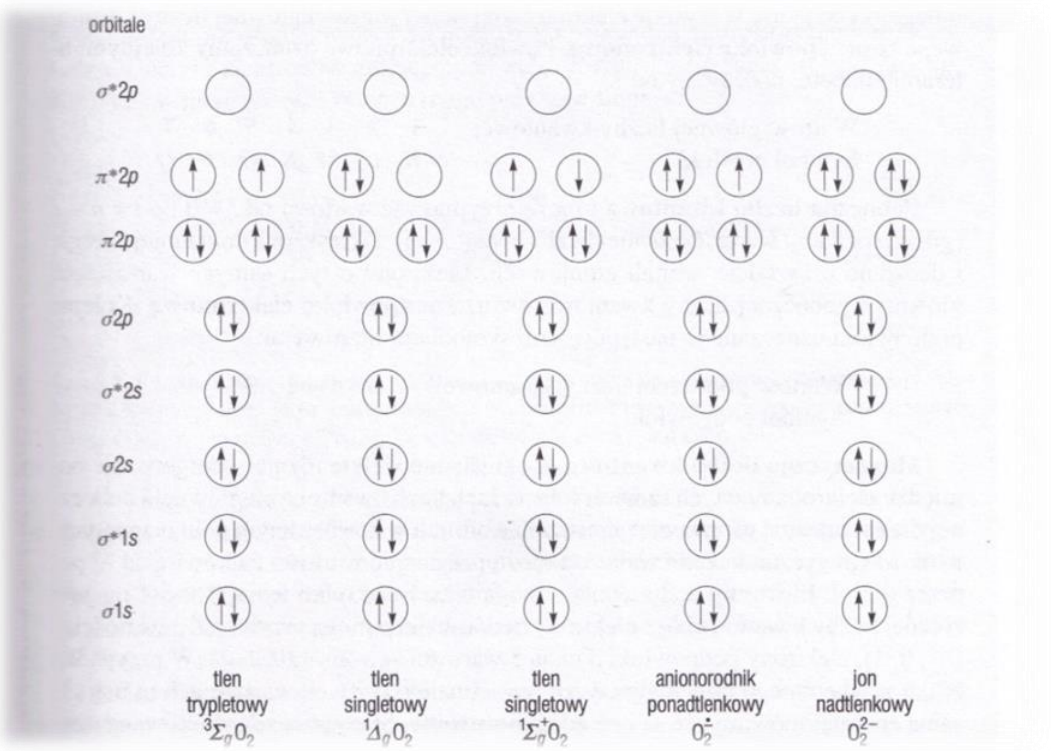
Badanie aktywności antyoksydantów w usuwaniu reaktywnych form tlenu (Antyoksydanty)

Reaktywne formy tlenu

Organizmy aerobowe do podtrzymania czynności życiowych potrzebują tlenu. Bez pożywienia człowiek jest w stanie przeżyć kilka tygodni, bez wody kilka dni, natomiast bez tlenu organizm umiera w przeciągu kilku minut. Każdy oddech to 500 ml powietrza czyli ok. 100 ml O_2, tzn. że podczas spokojnego oddychania podczas 1 minuty przepuszczane jest przez płuca 1,6 litra tlenu. Tlen z płuc przechodzi do krwi i zostaje rozprowadzony do wszystkich komórek w organizmie ludzkim, by uczestniczyć w procesach biochemicznych, następnie jest przekształcany w energię niezbędną dla innych reakcji metabolicznych. Tlen cząsteczkowy reagując ze związkami organicznymi utlenia je a sam ulegaredukcji. Całkowita redukcja cząsteczki tlenu oznacza przyłączenie się do cząsteczki czterech elektronów i czterech protonów, w wyniku czego powstają dwie cząsteczki wody:

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O \qquad (1)$$

Jednak cząsteczka tlenu nie zawsze ulega pełnej, czteroelektrodowej redukcji, co związane jest z rozkładem elektronów na orbitalach cząsteczki tlenu (rys. 1).



Rys. 1. Rozkład elektronów na orbitalach molekularnych tlenu w stanie podstawowym oraz reaktywnych form tlenu [3].

Tlen w stanie podstawowym ma dwa niesparowane elektrony i zgodnie z prawami mechaniki kwantowej – jest stanem trypletowym ($^3O_2$). Oznacza to, że cząsteczka tlenu mogłaby wejść w reakcję

tylko z cząsteczką mającą również dwa niesparowane elektrony. Ponieważ większość związków chemicznych w organizmach żywych, to związki w stanie singletowym, dlatego reaktywność tlenu trypletowego jest ograniczona. Natomiast znacznie bardziej reaktywny jest tlen singletowy ($^1O_2$), który powstaje w wyniku wzbudzenia cząsteczki tlenu i przegrupowania elektronów w taki sposób by zostały one sparowane. Może to nastąpić np. poprzez zaabsorbowanie kwantu promieniowania nadfioletowego. Tlen singletowy może łatwo reagować ze związkami singletowymi.

Tlen trypletowy reaguje z liczną grupą związków jednoelektronowych. Produktem takiej reakcji jest np. anionorodnik ponadtlenkowy (ang. *superoxide radical anion*) $O_2^{\cdot-}$:

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot-} \qquad (2)$$

Przyłączenie kolejnego elektronu do anionorodnika ponadtlenkowego (3) lub dwóch elektronów do cząsteczki tlenu (4) prowadzi do powstania nadtleneku wodoru H_2O_2:

$$O_2^{\cdot-} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 \qquad (3)$$

$$O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 \qquad (4)$$

Z kolei przyłączenie protonu lub trzech elektronów do anionorodnika ponadtlenkowego prowadzi do powstania rodnika wodoronadtlenkowego i rodnika hydroksylowego:

$$O_2^{\cdot-} + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot-} \qquad (5)$$

Wszystkie wymienione wyżej produkty redukcji i wzbudzenia tlenu są bardziej reaktywne niż cząsteczka tlenu w trypletowym stanie. Są one określane jako Reaktywne Formy Tlenu (RFT).

Reaktywne Formy Tlenu (*Reactiv Oxygen Species – ROS*) to indywidua chemiczne, które uczestniczą w procesach biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w żywych organizmach. W zdrowym organizmie zachowana jest równowaga między wytwarzaniem, a usuwaniem wolnych rodników. Istnieje jednak wiele czynników, które zaburzają tą równowagę, skutkiem czego powstawanie wolnych rodników i innych reaktywnych form tlenu jest uprzywilejowane. Należą do nich m. in.:

- zanieczyszczenia środowiska,
- promieniowanie jonizujące oraz nadmierna ekspozycja na działanie promieni UV,
- palenie tytoniu,
- kosmetyki i leki zawierające substancje szkodliwe dla zdrowia (np.: glin w kosmetykach przeciw potowych),
- procesy związane z likwidacją toksyn w wątrobie oraz stany zapalne organizmu,
- stres,

Wzrost stężenia reaktywnych form tlenu w organizmie spowodowany wyżej wymienionymi czynnikami może prowadzić z kolei do występowania stresu oksydacyjnego. RFT w odpowiednio dużych dawkach uszkadzają komórki, a nawet mogą prowadzić do ich śmierci.

Anionorodnik ponadtlenkowy

Anionorodnik ponadtlenkowy jest produktem jednoelektrodowej redukcji tlenu (2). W roztworach wodnych anionorodnik ponadtlenkowy znajduje się w równowadze ze swoją uprotonowaną formą rodnikiem wodoronadtlenkowym:

$$O_2^{\cdot-} + H^+ \leftrightarrow HO_2^{\cdot-} \qquad (7)$$

Anionorodnik ponadtlenkowy jest bardziej reaktywny od tlenu i reaguje z większą ilością substancji. Może też, w zależności od formy reagujących ze sobą rodników ulegać reakcji dysmutacji, która przebiega następująco:

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + H_2O \rightarrow HO_2^- + O_2 + OH^- \qquad k < 0.31\ l \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1} \qquad (8)$$

$$O_2^{\cdot-} + HO_2^{\cdot} + H_2O \rightarrow H_2O_2 + O_2 + OH^- \qquad k = 9.7 \cdot 10^7\ l \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1} \qquad (9)$$

$$HO_2^{\cdot} + HO_2^{\cdot} \rightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad k = 8.3 \cdot 10^5\ l \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1} \qquad (10)$$

W reakcji dysproporcjonowania (8), anionorodnik ponadtlenkowy wykazuje zdolność utlenienia i redukcji. Analogicznie $O_2^{\cdot-}$ reaguje też z innymi związkami, mogąc być albo reduktorem, albo utleniaczem, na co wskazują wartości potencjałów standardowych par redoks $O_2/O_2^{\cdot-}$. Może on utleniać niektóre substancje, np. adrenalinę (11) i NADH (12), w wyniku czego powstaje nadtlenek wodoru.

$$Adr + O_2^{\cdot-} \rightarrow Adr^{\cdot} + H_2O_2 \qquad (11)$$

$$NADH + O_2^{\cdot-} + H^+ \rightarrow NAD^{\cdot} + H_2O_2 \qquad (12)$$

W fizjologicznym zakresie pH (7,35 – 7,45) rodnik $O_2^{\cdot-}$ jest na tyle trwały, że może dyfundować na znaczne odległości od miejsca powstania po całym organizmie. Może on również przenikać przez błony komórkowe, choć z dużo większymi trudnościami niż rodnik wodoronadtlenkowy. Jest to jednak związane z koniecznością zajścia protonacji $O_2^{\cdot-}$. Dopiero wtedy uprotonowiony rodnik wodoronadtlenkowy może przeniknąć błonę komórkową i po drugiej stronie ulec dysocjacji na proton i anionorodnik ponadtlenkowy. Jednak przejście takie jest dużo wolniejsze, bo prawdopodobieństwo że anionorodnik ulegnie innej niż protonacja reakcji jest duże.

Wydawać by się mogło, że szkodliwy wpływ obecności anionorodnika ponadtlenkowego w organizmie ludzkim nie jest zbyt duży, ze względu na wyżej wymienione przykłady czynników utrudniających zachodzenie reakcji utleniania głównych budulcowych makrocząsteczek biologicznych. Należy jednak pamiętać, że zachodzenie reakcji dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego pociąga za sobą istotną konsekwencję: wszędzie tam gdzie pojawia się anionorodnik ponadtlenkowy, pojawia się także nadtlenek wodoru, który jest lepszym utleniaczem niż anionorodnik ponadtlenkowy.

Rodnik hydroksylowy

Rodnik hydroksylowy jest jednym z najbardziej reaktywnych utleniaczy. Powstaje on w wyniku przyłączenia do anionorodnika ponadtlenkowego trzech elektronów. Wysoki potencjał redoks rodnika hydroksylowego wskazuje na jego bardzo silne właściwości utleniające oraz możliwość zajścia reakcji z praktycznie wszystkimi substancjami występującymi w organizmie. O tym czy zajdzie reakcja pomiędzy $^{\cdot}OH$, a daną cząsteczką organiczną lub jonem metalu nie decyduje pokonanie bariery aktywacji przy spotkaniu dwóch cząsteczek, ale sama możliwość napotkania jakiejkolwiek cząsteczki przez $^{\cdot}OH$. W związku z tym nasuwa się wniosek, że reakcje $^{\cdot}OH$ nie są specyficzne i jest on bardziej reaktywny niż $O_2^{\cdot-}$ i H_2O_2.

Powstawanie rodnika hydroksylowego jest opisane za pomocą reakcji Fentona. Fenton wykazał silne właściwości utleniające mieszaniny nadtlenku wodoru i soli żelaza(II), a doświadczenia przeprowadzone 40 lat później przez Habera i Weissa wykazały, że czynnikiem utleniającym jest rodnik hydroksylowy, który powstaje w badanym układzie.

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow {}^{\cdot}OH + OH^- + Fe^{3+} \tag{13}$$

$$O_2^{\cdot-} + Fe^{3+} \rightarrow O_2 + Fe^{2+} \tag{14}$$

sumując

$$O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow {}^{\cdot}OH + OH^- + O_2 \tag{15}$$

Pierwsza reakcja (13) jest określana mianem właściwej reakcji Fentona, natomiast druga (14) jako reakcja regenerująca jon żelaza(II). Obie reakcje są egzoergiczne, mogą zachodzić spontanicznie i wytwarzać znaczące ilości rodnika hydroksylowego.

Idealną ochroną przed niszczącym działaniem $^{\cdot}OH$ byłby enzym rozkładający go katalitycznie. Jednak wysoka i niespecyficzna reaktywność $^{\cdot}OH$ mogłaby doprowadzić do tego, że nie reagowałby on z centrum aktywnym enzymu, ale z pierwszym napotkanym fragmentem cząsteczki enzymu, co prowadzić by mogło do jego dezaktywacji.

Antyoksydanty

Organizmy aerobowe bronią się przed nadmiarem wolnych rodników z pomocą rozmaitych mechanizmów antyoksydacyjnych, które wykształciły się przez ponad dwa miliardy lat ewolucji [4]. Ochrona antyoksydacyjna żywej komórki wykorzystuje szereg związków, które można przyporządkować do następujących grup:

- enzymy ochronne,

- inne związki wielkocząsteczkowe,
- antyoksydanty niskocząsteczkowe,

Do pierwszej grupy zalicza się przede wszystkim enzymy rozkładające RFT na drodze katalitycznej i przyśpieszające dysproporcjonowanie wolnych rodników. Przykładem takich enzymów są: dysmutaza ponadtlenkowa i katalaza. Dysmutaza ponadtlenkowa (ang. *superoxide dismutase* – SOD) jest enzymem katalizującym reakcję dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego:

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \qquad (1)$$

Natomiast katalaza katalizuje reakcję dysproporcjonowania nadtlenku wodoru:

$$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2 \qquad (2)$$

Do drugiej grupy zalicza się szereg protein, m.in. albuminę i ferrytynę, oraz szereg polipeptydów.

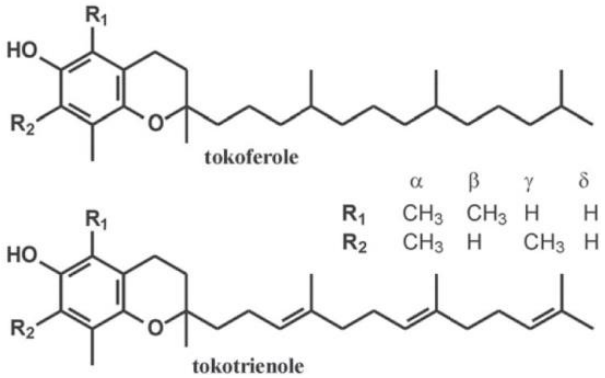
Trzecia grupa obejmuje antyoksydanty niskocząsteczkowe. Są to substancje, które występując w małych stężeniach w porównaniu z stężeniem substancji ulegającej utlenieniu, opóźniają lub zapobiegają utlenieniu tej substancji, wchodząc w reakcje redoks z czynnikami utleniającymi. Reakcje niskocząsteczkowych antyoksydantów z RFT i organicznymi wolnymi rodnikami są mniej specyficzne niż reakcje enzymów – dzięki temu związki te pełnią bardziej uniwersalną rolę obrońcy organizmu i mogą spełniać funkcję prewentywną i interwentywną. Mogą reagować z tą częścią $O_2^{\cdot-}$ i H_2O_2, które uniknęły działania enzymów ochronnych, dzięki czemu jeszcze bardziej zmniejszają szanse powstania rodnika hydroksylowego. Jeżeli jednak rodnik hydroksylowy powstanie to może on właśnie reagować z niskocząsteczkowymi antyoksydantami.

Antyoksydanty niskocząsteczkowe można podzielić na antyoksydanty endogenne i egzogenne. Do pierwszej grupy zalicza się związki, wytwarzane przez organizm ludzki (np.: tripeptyd glutation, koenzym Q_{10}, należące do hormonów: estron, estradiol i melatonina, a w śród produktów metabolizmu: kwas moczowy, bilirubina i kwas α-liponowy).

Do grupy antyoksydantów egzogennych należą te związki, które są dostarczane do organizmu wraz z żywnością lub w postaci suplementów. Należą do nich: związki polifenolowe, w tym duża grupa flawonoidów, witaminy C i E, karotenoidy oraz inne składniki diety.

Istotnym podziałem antyoksydantów niskocząsteczkowych jest ich rozpuszczalność. W komórkach występują dwa środowiska o różnych właściwościach fizycznych. Jedno z nich to faza wodna (cytoplazma i środowisko wodne wewnątrz organelli komórkowych), natomiast drugie to faza hydrofobowa (dwuwarstwa lipidowa błona komórkowa). Antyoksydanty rozpuszczalne w wodzie, zwane również antyoksydantami hydrofilowymi stanowią najliczniejszą grupę niskocząsteczkowych antyoksydantów. Głównymi przedstawicielami tej grupy są: kwas askorbinowy, glutation, cysteina, kwas

moczowy, kreatynina. Do tej grupy należy również zaliczyć flawonoidy, choć ich rozpuszczalność w wodzie jest znacznie ograniczona. Do grupy antyoksydantów rozpuszczalnych w tłuszczach (antyoksydantów hydrofobowych) należą: tokoferole i tokotrienole (składniki witaminy E), retinol (witamina A), karotenoidy (prowitamina A) oraz kalcyferole (witamina D). Najważniejszym fizjologicznie antyoksydantem hydrofobowym jest α-tokoferol (rys. 2).



Rys. 2. Antyoksydanty hydrofobowe: tokoferole i tokotrienole.

Wraz z ciągle poszerzającą się wiedzą związaną z działaniem antyoksydantów pojawiają wątpliwości co do efektów wywoływanych obecnością antyoksydantów w organizmie. Szereg przeprowadzonych badań sugeruje, że przeciwutleniacze w pewnych warunkach, poza aktywnością antyoksydacyjną wykazują pro oksydacyjną (stymulujące procesy wolnorodnikowe) możliwość działania w organizmie ludzkim i zwierzęcym.

Kwas askorbinowy (witamina C)

Jednym z najbardziej znanych antyutleniaczy jest kwas askorbinowy, powszechnie znany jako witamina C. Jego obecność jest niezbędna w diecie człowieka, ponieważ niedobór powoduje powstawanie szkorbutu, uszkodzenie naczyń krwionośnych, złe gojenie i odnawianie się ran, osłabienie, obniżenie wydolności fizycznej, schorzenia żołądka .

Rośliny i część zwierząt posiadają zdolność syntezy witaminy C. Jednakże ludzie i inne naczelne należą do tej grupy organizmów, które muszą dostarczać witaminę C do organizmu wraz z pożywieniem, ponieważ utraciły zdolność syntezy kwasu askorbinowego wraz z utratą enzymu odpowiedzialnego za syntezę witaminy C – oksydazy L-gulonolaktanowej.

Głównym źródłem witaminy C w diecie człowieka, są świeże oraz właściwie przetworzone owoce i warzywa. Na pierwszym miejscu można wymienić warzywa kapustne i owoce jagodowe (np.: czarne porzeczki zawierają około 180 mg witaminy C na 100 g). Na drugim miejscu ziemniaki (14 mg witaminy C na 100 g – zależnie od pory roku). Na trzecim miejscu żółte i zielone warzywa i owoce (np.: 91 mg

witaminy C w 100 g zielonej papryki). Pozostała grupa warzyw i owoców (np.: truskawki, maliny, owoce cytrusowe i południowe) są uboższym źródłem witaminy C, w porównaniu z wyżej wymienionymi grupami. Produkty takie jak: masło, mleko krowie, mięso, produkty zbożowe zawierają niewielkie ilości witaminy C.

W organizmie kwas askorbinowy pełni rolę katalizatora w reakcjach hydroksylacji zachodzących podczas biosyntezy kolagenu. Kolejną ważną rolę odgrywa jego aktywność redukująca. Silnie redukujące właściwości decydują o jego właściwościach antyoksydacyjnych wobec $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2, $^{\cdot}OH$, HOCl, rodników nadtlenkowych i tlenu singletowego. Redukuje jony żelaza (3) Fe (III) do Fe (II), co ma duże znaczenie w procesach biochemicznych żelaza, gdyż żelazo jest absorbowane w dwunastnicy w postaci zredukowanej Fe (II).

$$Ask - H_2 + Fe^{3+} \rightarrow Ask - H^- + Fe^{2+} + H^+ \qquad (3)$$

Zaobserwowano, że askrobinian hamuje rakotwórczą aktywność związków nitrozowych, takich jak N-nitrozoaminy, co może być wynikiem redukcji tych związków do postaci nieaktywnych.

W warunkach fizjologicznych występuje w postaci prawie całkowicie zdysocjowanej, występując w postaci anionu askrobinianowego (4). W roztworach wodnych o pH = 7.4 jest związkiem stabilnym. Jeżeli w środowisku znajduje się czynnik oksydacyjny askrobinian w wyniku redukcji jednoelektronowej (5) może tworzyć wolny rodnik askrobylowy, który jest stosunkowo niereaktywny.

$$Ask - H_2 \rightarrow Ask - H^- + H^+ \qquad (4)$$

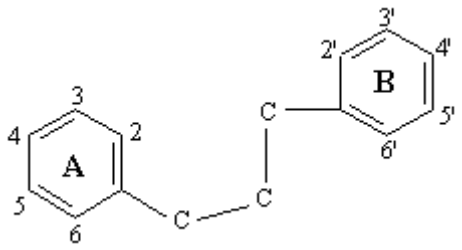
$$Ask - H^- \xleftrightarrow{e^-, H^+} Ask^- \qquad (5)$$

$$Ask - H_2 \xleftrightarrow{2e^-, 2H^+} DHA \qquad (6)$$

Dotychczas przeprowadzone badania wskazują na silne właściwości przeciwutleniające askorbinianu. Swoim działaniem zabezpiecza cząsteczki o ważnych dla organizmu właściwościach biologicznych (np.: błony biologiczne, frakcje lipidowe krwi), przed zniszczeniem przez RFT.

Związki fenolowe

Związki fenolowe powszechnie występują w diecie człowieka. W najprostszym ujęciu to substancje zawierające jedną lub więcej grup –OH związanych z pierścieniem aromatycznym.



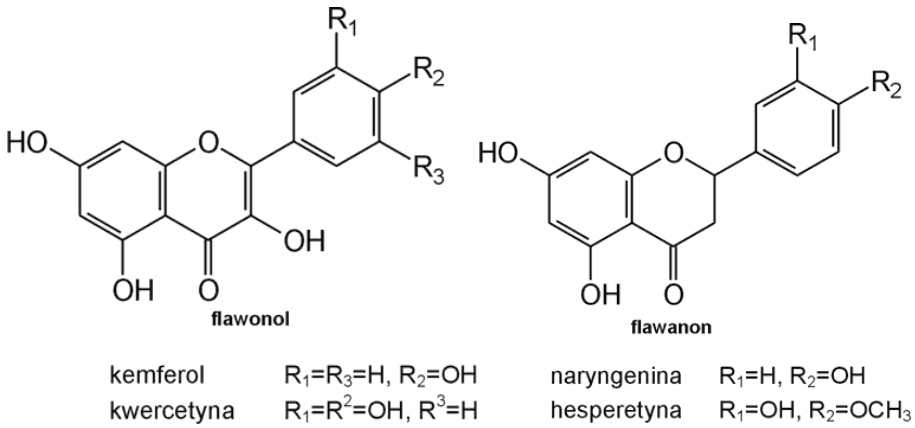
Rys. 3. Podstawowy element strukturalny flawonoidów.

W organizmach żywych pełnią różne role:

- stanowią substraty w reakcjach biosyntezy,
- wytwarzane są w celu ochrony roślin przed szkodliwym działaniem promieniowania UV,
- przykładowo czerwone lub niebieskie antocyjany przyciągają owady zapylające,

Ze względu na powszechne występowanie fenoli w diecie człowieka zwrócono uwagę na ich działanie w organizmie. Przeprowadzone badania potwierdzają antyoksydacyjną aktywność fenoli zawartych w żywności pochodzenia roślinnego. Aktywność ta jest związana z pierścieniową budową cząsteczki posiadającej sprzężone wiązania podwójne, jak i z obecnością grup funkcyjnych w tych pierścieniach – szczególnie korzystna jest obecność grup –OH.

Cennym źródłem fenoli są warzywa i owoce. W takich roślinach jak: cykoria, brokuł, rzodkiewka, grejpfrut, cebula, sałata, żurawina błotna, jabłoń, a także w jagodzie czarnej, znajdują się następujące fenole: pochodne kemferolu, kwercetyny (najpowszechniejszy związek flawonoidowy i silny przeciwutleniacz) i mirycetyny (również silny przeciwutleniacz). Owoce cytrusowe są źródłem m.in.: pochodnych naryngeniny, hespertyny i taksyfoliny – są to jednak fenole o mniejszej aktywności przeciwutleniające.



Rys 4. Wzory strukturalne kemferolu , kwercetyny, naryngeniny i hespertyny.

Na szczególne wyróżnienie, wśród związków fenoli zasługuje resveratrol (3,4',5-trihydroksystilben), ze względu na posiadanie wysokiej aktywności antyoksydacyjnej. Większą aktywność biologiczną wykazuje forma cis- niż trans-. Występuje w ponad 70 roślinach (w większości są to rośliny jadalne). Głównym źródłem resveratrolu w ludzkiej diecie jest czerwone wino (stężenie od

0.1 do 15 mg/l), skórki czerwonych winogron i śliwek. W mniejszym stopniu orzeszki ziemne, owoce morwy, morele i ananasy. Resveratrol wykazuje szereg działań biologicznych:

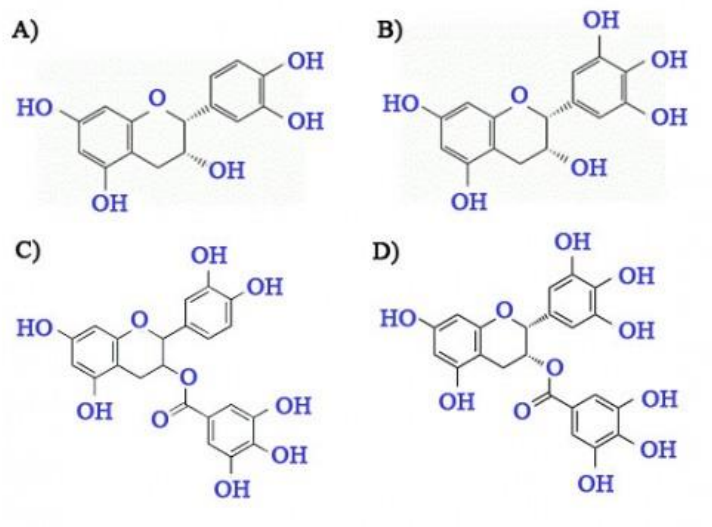
- chroni organizm przed czynnikami kancerogennymi,
- zapobiega schorzeniom układu sercowo-naczyniowego,
- wykazuje działanie przeciwalergiczne i przeciwzapalne (przyspiesza powstawanie tzw. mediatorów procesów zapalnych),
- neutralizuje szereg wolnych rodników,
- zabezpiecza przed utlenianiem cholesterolu LDL i odkładaniem się produktów jego utleniania w naczyniach krwionośnych,

Z tego względu znalazł on zastosowanie w następujących procesach leczniczych [2–3]:

- profilaktyka i leczenie schorzeń układu sercowo-naczyniowego,
- chemoprewencja – zapobieganie chorobom nowotworowym,
- wspomaganie leczenia chorób reumatycznych,
- łagodzenie konsekwencji sytuacji traumatycznych, stresu,
- poprawa i usprawnianie procesu pamięci,
- leczenie różnorodnych chorób o podłożu zapalnym,

Innym, powszechnym źródłem fenoli w diecie człowieka jest zielona herbata. Zielona herbata jest otrzymywana z liści krzewu herbaty chińskiej. Roślina ta występuje na terenie Chin, północnej Birmy i Indii. Powszechnie uważa się, że zielona herbata jest zdrowsza i wartościowsza niż czarna herbata.

Zielona herbata zawiera przede wszystkim alkaloidy purynowe i katechiny. Do alkaloidów zaliczamy: kofeinę (1.5 – 4.5 % w suchej masie liści), teofilinę i teobrominę. Natomiast wśród katechin wyróżniamy: epikatechinę (EC), epigallokatechinę (EGC), galusan epiaktechiny (ECG) i galusan epigallokatechiny (EGCG).



Rysunek 5. Wzory strukturalne: A) epikatechina, B) epigallokatechina, C) galusan epikatechiny, D) galusan epigallokatechiny.

Katechiny to związki polifenolowe o dużej aktywności antyoksydacyjnej. Związki te stanowią 25 – 30 % suchej masy liścia herbaty. Na szczególną uwagę zasługuje EGCG. Badania pokazały, że galusan

epigallokatechiny jest około 100-krotnie aktywniejszy od witaminy C, oraz około 25-krotnie aktywniejszy od witaminy E. Obecne w herbacie katechiny wykazują działanie przeciwnowotworowe, ponieważ wiążą się z białkami należącymi do rodziny Bcl-2, będącymi blokerami fizjologicznej śmierci komórek nowotworowych, na wskutek czego hamują ich działanie i stwarzają warunki do niszczenia nowotworu. Szacuje się, że w filiżance zielonej herbaty znajduje się około 316 mg polifenoli, podczas gdy w filiżance czarnej herbaty około 268 mg. Związane jest to z różnicą produkcji obu odmian – przy produkcji czarnej herbaty następuje fermentacja liścia herbacianego, wskutek czego najważniejsze związki czynne ulegają utlenieniu do tearubiginy. Stanowią one do 30% suchej masy liści herbaty i nadają naparowi czarnej herbaty charakterystyczną pomarańczowo-brązową barwę.

Katechiny są efektywnymi zmiataczami wolnych rodników. Zapobiegają mutacjom komórek, hamują wzrost i rozrost komórek tłuszczowych, ograniczają wchłanianie cukrów w jelitach, chronią naczynia krwionośne pobudzając ich rozkurcz i ułatwiając przepływ krwi, a także opóźniają proces starzenia.

Kwas kofeinowy należy do kwasów fenolowych, które są podgrupą związków fenolowych. Występuje między innymi w liściach tymianku oraz w liściach drzewa *Ilex paraguarensis.* To właśnie z suszonych liści tego drzewa jest wytwarzany napój podobny do herbaty Yerba Mate. Szerokie spektrum działania Yerba Mate sprawia, że jest stosowana jako naturalny lek np.: przy artretyzmie, bólach głowy, reumatyzmie, otyłości, zmęczeniu, nadciśnieniu, czy problemach wątrobowych. Badania prowadzone nad poszczególnymi składnikami Yerba Mate dowiodły, że kwas kofeinowy i jego pochodne wykazują działanie antyoksydacyjne w układach chemicznych i biologicznych.

Literatura:

1. Jankowska K., praca magisterska, Elektrochemiczne badanie właściwości antyoksydacyjnych wybranych związków w rozpuszczalniku aprotycznym, 2014
2. Kurleto K., praca inżynierska, Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej wybranych związków niskocząsteczkowych metodą woltamperometrii cyklicznej, 2011
3. Bartosz G., *Druga twarz tlenu – Wolne rodniki w przyrodzie,* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003.