

УДК 547.915.5

БИОХИМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ *

B. Ка рножицкий

Статья посвящена перекисям ненасыщенных липидов; изложен процесс их образования, показано катализитическое действие липоксидазы и гематиновых соединений. Обсуждается модифицирующее действие различных металлов и их хелатированных комплексов. Описан механизм их разложения с образованием карбонильных, окси-, эпокси- и полимерных соединений.

Изучено действие этих перекисей на гематиновые соединения, протеневые тиолы, ферменты и витамины различных типов. Рассматриваются различные патологические изменения, вызываемые введением полиненасыщенных липидов, а также пищевая токсичность различных масел и жиров, нагретых на воздухе. Изучены разрушения, вызываемые образованием перекисей ненасыщенных липидов в различных частях живой клетки, таких, как митохондрии, микросомы, лизосомы и ядра, и токсичность различных типов перекисей липидов, вводимых путем инъекций в живые организмы. Описаноявление перекисей липидов во время фотосинтеза, а также их участие в образовании куттина.

Библиография — 378 наименований.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1392
II. Липоксидаза	1394
III. Гематиновые соединения	1396
IV. Различные металлы и их хелатные комплексы	1399
V. Природа соединений, образующихся при разложении перекисей липидов	1401
VI. Действие перекисей липидов на различные субстраты	1407
VII. Роль перекисей липидов в порче пищевых продуктов	1411
VIII. Изменения в живых организмах, вызываемые перекисями липидов и продуктами их распада	1412
IX. Патологические изменения, вызываемые <i>in vivo</i> режимом питания, содержащим различные липиды, нагретые в присутствии воздуха	1413
X. Изменения в клетках тканей, происходящие при образовании перекисей	1418

I. ВВЕДЕНИЕ

Биохимической роли органических перекисей и их синтезу была посвящена статья¹; работа² связана с радиобиологией. В настоящей статье рассмотрены исключительно перекиси липидов, приведены ссылки на статьи, опубликованные до 1970 года, большая часть которых появилась в печати после 1965 г. Таким образом, в данной работе, кроме результатов исследований, проведенных совсем недавно, рассматриваются некоторые вопросы, относящиеся к действию перекисей липидов на различные типы ферментов и витаминов, их роль в разрушении некоторых частей клетки, ингибирующее действие витамина Е при образовании перекисей липидов *in vivo*, т. е. вопросы, которые были только затронуты или же совсем не обсуждались в ранее опубликованных работах.

Следует заметить, что биохимия перекисей липидов представляет собой довольно стройную и однородную область. Известен механизм их образования и разложения, причем большое число продуктов разложения

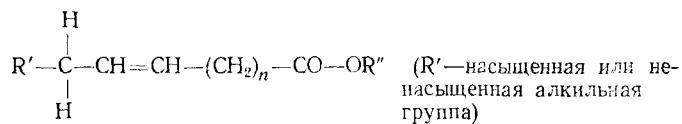
* Обзор написан специально для журнала «Успехи химии». Перев. с франц. Т. В. Чернышевой.

было идентифицировано. Имеются довольно точные сведения относительно действия перекисей на гематиновые соединения, протеиновые тиолы, различные ферменты и витамины, об ингибирующем действии витамина Е и изменениях, происходящих вследствие образования перекисей липидов *in vivo*, а также о пищевой токсичности различных окисленных масел и жиров. Все вышеизложенное привело нас к необходимости написать обзор, посвященный перекисям липидов.

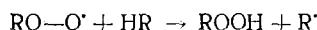
Перекиси липидов образуются в результате автоокисления моно- и полиненасыщенных жирных кислот, которые находятся в форме триглицеридов в растительных маслах и животных жирах. Эти кислоты могут также существовать в виде фосфолипидов и сложных стероловых эфиров в различных животных тканях. Это главным образом олеиновая, линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты, содержащие соответственно одну, две, три и четыре двойные связи. Олеиновая кислота очень распространена как в растительном, так и в животном мире, линоленовая кислота — особенно в растительном. Линоленовая кислота встречается гораздо реже других кислот, тем не менее, можно отметить исключительно большое содержание ее в льняном масле (50%) и конском жире (16%). Арахидоновая кислота содержится почти исключительно у животных, в организме которых она синтезируется из линолевой кислоты, поступающей с продуктами питания. Кроме перечисленных выше кислот, в тканях животных существуют тетра-, пента- и гексаолеиновые кислоты. Значительное количество кислот C₂₀ с 5-ю двойными связями и C₂₂ с 6-ю двойными связями находится в жире печени трески*.

При повышенной температуре и при более высокой степени ненасыщенности индукционный период реакции автоокисления становится короче, а скорость его увеличивается. Механизм автоокисления производных ненасыщенных жирных кислот осветили Боллэнд³ и Фармер^{4, 5} и подробно обсуждали в других публикациях⁶⁻⁹.

Прежде всего, происходит отрыв атома водорода от метиленовой группы в α -положении по отношению к двойной связи ненасыщенного соединения

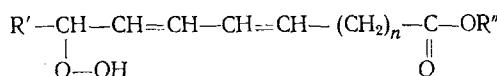


Образованный таким образом радикал R'-·CH—CH=CH—(CH₂)_n—CO—OR'' реагирует с молекулярным кислородом, давая перекисный радикал RO—O· (R=R'-·CH—CH=CH—(CH₂)_n—CO—CR''), который отрывает атом водорода, связанный с метиленовым углеродом в α -положении другой липидной цепи, при этом образуется α -метиленовая гидроперекись и радикал R':



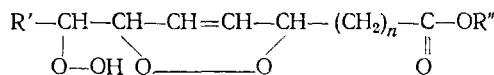
Гидроперекись, в свою очередь, разлагается на радикалы RO· и HO·, которые инициируют новые реакционные цепи.

Образование гидроперекиси сопровождается перемещением двойных связей, которые в случае полинепредельных систем оказываются сопряженными:



* В дальнейшем изложении непредельные кислоты будут обозначены 20:5 — кислота C₂₀ с 5-ю двойными связями; 22:6 — кислота C₂₂ с 6-ю двойными связями и т. д.
Прим. ред. переводца.

и на первоначальных стадиях может сопровождаться образованием более сложных производных типа гидроперекись — перекись:



Интересно отметить, что такие структуры были ранее предложены для перекисей полиизопрена¹⁰⁻¹⁸ и сквалена¹⁷. Таким образом, понятие «перекись липидов» относится к смеси нескольких гидроперекисей (с большим числом двойных сопряженных связей) глицеридов, фосфолипидов и стероловых сложных эфиров нескольких ненасыщенных жирных кислот, включающих по всей вероятности, перекисные соединения типа гидроперекись — перекись.

Существуют два основных типа эффективных катализаторов автоокисления ненасыщенных липидов: очень специфический для определенных конфигураций катализатор — липоксидаза и гематиновые соединения — катализаторы неспецифические, проявляющие активность в случае многих автоокисляющихся соединений, отличающихся от ненасыщенных липидов. Скорость их действия может быть значительно изменена в присутствии некоторых металлов и их хелатных комплексов.

II. ЛИПОКСИДАЗА

В животных тканях липоксидаза отсутствует^{19, 20}, но присутствует в растениях, особенно в растениях семейства бобовых (соя, горох, бобы, пшеница, земляной орех, клевер, вика, альфа, фасоль и пр.). Она обнаружена также в редисе и картофеле. Согласно исследованиям, проведенным совсем недавно, липоксидазы пшеницы и гороха²¹, так же как липоксидаза сои²², содержат несколько коферментов. Присутствие липоксидазы в микроорганизмах сомнительно. В самом деле, *Pseudomonas fluorescens* и *Mycrobacterium phlei* представляют собой единственныебактерии, быстро окисляющие ненасыщенные жирные кислоты, но это окисление не катализируется липоксидазой; ее присутствие отмечено в плесенях *Aspergillus* и *Rhizopus*²³, но действительный катализатор окисления точно определен не был.

Получение чистой липоксидазы из соевой муки описано подробно в работах^{24, 25}, а недавно применен новый усовершенствованный метод²⁶, основанный на экстрагировании водой обезжиренной соевой муки при pH 4,5 и при комнатной температуре. Энзим выделяется после последовательных высаливаний водными растворами сульфата аммония с последующим электрофорезом.

Чистая липоксидаза представляет собой бесцветные плоские микрокристаллы с молекулярным весом от 90 до 100 тыс.²⁵. Невозможность ингибиовать ее действие фторидами, цианидами, азидами, пирофосфатами, диэтиловым эфиром дитиокарбаминовой кислоты свидетельствует об отсутствии простетических групп²⁶. Точно так же невозможность ингибирования хлорбензоатом ртути доказывает отсутствие групп SH, что подтверждается химическим определением²⁷.

Каталитическую активность чистой липоксидазы изучали на водном $1,5 \cdot 10^{-2} M$ растворе линолеата натрия, в интервале температур от 0 до 37° и при различных pH²⁷. Результаты этого исследования показали, что максимальная скорость окисления имеет место при pH 9,4, она слегка снижается для щелочных pH и сильно уменьшается для кислотных pH. Таким образом, при pH 6,5 ее активность составляет только пятую часть активности при pH 9,4. Первоначальная скорость окисления при 37° боль-

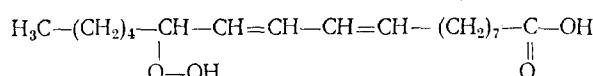
ше, чем при 0°, но в первом случае она сильно уменьшается со временем. Так, по прошествии 10 мин. содержание поглощенного O₂ в количестве 0,15 M/M одинаково для обеих температур, но по прошествии 40 мин. при 37° оно составляет только 0,4 M/M, а при 0° достигает 0,6 M/M.

Применение некоторых сырых липоксидаз для окисления при температурах от 0 до 37° производных полиненасыщенных кислот описано в работах^{20, 28-36}.

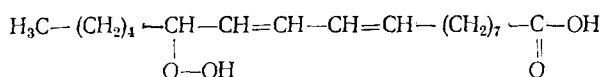
Сравнительное исследование³⁷ катализитического действия (при 20° и pH 7) липоксидаз сои, гороха, зеленого ореха, пшеницы, *Phaseolus mungo* и *Phaseolus aurens* при окислении аммониевыми солями линолевой и арахидоновой кислот показало, что ни одна из этих липоксидаз не имеет простетической группы, а липоксидазы *Phaseolus mungo* и *Phaseolus aurens*, по-видимому, содержат SH группы.

Из сказанного выше следует, что липоксидаза представляет собой очень специфический катализатор окисления ненасыщенных липидов. Действительно, она катализирует окисление только 1,4 пентадиеновых соединений —CH=CH—CH₂—CH=CH— исключительно с цис-конфигурацией двойных связей (таких, как в природных жирных кислотах). Оказалось, что липоксидаза не оказывает влияния на скорость окисления моно- и динепредельных сопряженных соединений или пентадиено- вых соединений с цис-транс или транс-транс-конфигурацией; необходимо отметить, что последние играют роль ингибитора при окислениях, катализированных цис-цис-пентадиеновыми соединениями. Более того, скорость окисления высоконепредельных соединений, катализированного липоксидазой, не зависит от степени их ненасыщенности. Так, аммонийные соли линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот окисляются с одинаковой скоростью³⁷; то же самое можно сказать и относительно сложных эфиров этих кислот^{33, 38}. Отсюда следует, что катализитическое действие липоксидазы уменьшается с увеличением степени ненасыщенности субстрата. Исследование³⁸ автоокисления при 37° и окисления, катализированного липоксидазой при 13°, сложных этиловых эфиров линолевой и линоленовой кислот показало, что поглощение O₂ (M/M) соответственно происходит в случае автоокисления за период от 0,2—0,9 до 50 час., в то время, как в случае окисления, катализированного липоксидазой, оно уже занимает от 0,5 до 50 мин. для обоих сложных эфиров.

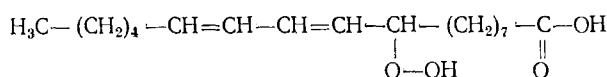
Проведенное недавно исследование³⁹ катализированного липоксидазой окисления сои, линолевой кислоты и ее метилового эфира, позволило доказать, что O₂ атакует только C₁₃ с образованием одной сопряженной гидроперекиси:



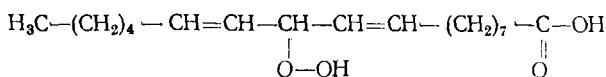
с цис-транс-конфигурацией (а не цис-цис), тогда как при автоокислении и окислении, катализированном гематиновыми соединениями, атака направлена одновременно на C₁₃ и C₉, что приводит к смеси двух сопряженных гидроперекисей:



II



в равных количествах. Кроме того, имеется незначительное количество, порядка 10%, несопряженной гидроперекиси



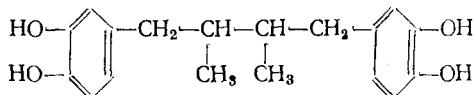
Следует заметить, что гидроперекиси, получаемые при окислении, катализированном липоксидазой, в противоположность гидроперекисим, образовавшимся при автоокислении, оптически активны. Эти результаты доказывают стереоспецифичность катализитического действия липоксидазы.

Механизм окисления, катализированного липоксидазой, подробно обсужден в статье³⁷.

Прежде всего, по-видимому, образуется переходный комплекс фермент — субстрат, на втором этапе должен образоваться свободный радикал у α -метиленового углерода вследствие захвата одного электрона протеином липоксидазы. Этот свободный радикал в присутствии молекулярного кислорода должен привести к классической реакции autoокисления (схема которой приведена выше).

Изучено³¹ ингибирующее действие различных фенольных соединений на окисление водного раствора $7 \cdot 10^{-3} M$, линолеата натрия при pH 9, катализированное липоксидазой сои при температурах от 0,25 до 30°. Степень ингибиования (измеренная в процентах к уменьшению скорости поглощения O_2) увеличивается с повышением температуры. В случае нордигидрогвайяретиновой кислоты при концентрации $10^{-4} M/l$ она составляет 100% при 30, а при 0°— только 32%. При 30° и той же концентрации относительные степени ингибиования для α -токоферола, гидрохинона, пропилового эфира галловой кислоты, нордигидрогвайяретиновой кислоты равны соответственно 27, 38, 100 и 100%. Нордигидрогвайяретиновая кислота (НДГА) оказалась также очень активной при окислениях, катализированных различными сырыми липоксидазами, аммонийных солей линолевой и арахидоновой кислот (при температуре 20° и pH 7). Применение пропилового эфира галловой кислоты гидрохинона и α -токоферола привели к различным результатам, в зависимости от природы липоксидазы³⁷.

НДГА, которая впоследствии будет часто упоминаться, представляет собой 2,3-диметил-1,4-бис-(3,4-диоксифенилбутан):



НДГА широко применяется в США в качестве ингибитора автоокисления многих пищевых продуктов в концентрации порядка 10^{-4} .

Кроме указанных выше работ, катализитическое действие липоксидазы отражено в четырех общих статьях, содержащих важные исторические данные^{8, 40-42}.

III. ГЕМАТИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Гемоглобин, миоглобин, гемин и цитохром С являются наиболее важными биологическими катализаторами автоокисления ненасыщенных липидов животного происхождения. Они участвуют во многих физиологических реакциях *in vivo*, а также в процессах окисления продуктов питания во время хранения (прогоркость).

В противоположность липоксидазе (которая катализирует окисление только пентадиеновых систем с *цис-цис*-конфигурацией), гематиновые соединения катализируют окисление не только всех ненасыщенных липидов, но и многих алкилароматических и алициклических углеводородов⁴³. Однако их катализитическое действие проявляется только в коллоидной среде или в эмульсии, но не в гомогенной системе (липоксидаза активна и в гетерогенной и в гомогенной среде). Так, при окислении линолевой кислоты, катализированном гемином, поглощение кислорода прекращается при переходе от водной эмульсии к гомогенному раствору (в результате добавления уксусной кислоты, диоксана или пиридина) и начинается вновь, когда, добавляя воду, переходят к гетерогенной среде⁴⁴.

Скорость окисления увеличивается со степенью ненасыщенности субстрата. Так, при окислении метиловых эфиров олеиновой, линолевой и линоленовой кислот (концентрация $2 \cdot 10^{-2} M$), в эмульсии при 0° , катализированном гемином (концентрация $2 \cdot 10^{-5} M$), скорости поглощения кислорода соответственно равны 1,3 и 6⁴⁵.

Скорость окисления пропорциональна квадратному корню из концентрации гематинового соединения. Это было подтверждено в случае окисления водной эмульсии $10^{-1} M$ линолеата аммония, катализированного гемоглобином⁴⁵, цитохромом С⁴⁶ и миоглобином⁴⁶ при изменении концентраций катализатора от 1 до $7 \cdot 10^{-6} M$.

Очень важно, что при больших концентрациях (порядка от $10^{-3} M$ до $10^{-2} M$ на 1 M субстрата) гематиновые соединения ингибируют окисление ненасыщенных липидов. Исследование⁴⁶ окисления водной эмульсии $17 \cdot 10^{-3} M$ линолевой кислоты показало, что гемоглобин, являясь активным катализатором при концентрации $4 \cdot 10^{-6} M$, становится ингибитором при концентрации $4 \cdot 10^{-5} M$; гемин и цитохром С становятся ингибиторами при концентрациях больше $10^{-4} M$. Констатировано также⁴⁷ ингибирующее действие цитохрома С при большой концентрации в процессе окисления линолевой кислоты.

В процессе окисления, катализированного гематиновыми соединениями, они разлагаются с выделением железа. Это наблюдали при окислении водных $2 \cdot 10^{-1} M$ эмульсий (рН 6,8) линолевой и линоленовой кислот, катализированном гемоглобином и гематином⁴⁸.

То, что катализитическое действие гематиновых соединений не ингибируется СО и только слегка изменяется при образовании гемихромов с азотистыми основаниями, несмотря на значительное изменение окислительно-восстановительного потенциала, позволяет думать, что валентность железа (в гематиновых соединениях) в процессе окисления не изменяется.

Обычные ингибиторы автоокисления, такие, как фенолы и амины оказались активными при окислении, катализированном гематиновыми производными различных ненасыщенных липидов.

α -Нафтоль, пирокатехин, *p*-аминофенол и диметиланилин оказались эффективными ингибиторами при окислении водных эмульсий олеиновой кислоты и льняного масла при 38° , катализированном гемином⁴⁹. Действие различных фенольных ингибиторов, α -токоферола, НДГА, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метиланизола было рассмотрено при исследовании⁵⁰ окисления коллоидного линолеата натрия ($0,2 M$) при 37° , катализированного гемоглобином и цитохромом С. Концентрация гематинового соединения $2 \cdot 10^{-5} M/l$. Оказалось, что α -токоферол является более слабым ингибитором, чем НДГА. Действительно, в случае окисления, катализированного гемоглобином, тридцатиминутный индукционный период достигается уже при концентрации НДГА $2 \cdot 10^{-5} M/l$, тогда как

концентрация α -токоферола для получения такого же эффекта, должна быть в 10 раз больше. Аналогичные результаты получены и в случае цитохрома С. В исследованиях^{50, 51} подробно рассмотрено действие различных фенольных ингибиторов и синергетических агентов (некоторых аминокислот, аскорбиновой кислоты) на окисление метилолеата и метиллиноволеата, свиного жира, жира тресковой печени и льняного масла при 37°, катализированное гемином, гемоглобином и цитохромом С.

Как и в предыдущем случае, ингибирующее действие α -токоферола слабее действия НДГА, 2,6-ди-трет.-бутил-4-метилфенола и 2,6-ди-трет.-бутил-4-метиланизола.

При окислении свиного жира при 37°, катализированном гемоглобином, аскорбиновая кислота оказалась превосходным синергетическим агентом в узкой области концентраций от 10^{-4} до $10^{-3} M/кг$. Оптимальные концентрации ингибитора и синергетического агента в молях на килограмм таковы:

$\left\{ \begin{array}{l} \text{НДГА} \\ \text{аскорбиновая кислота} \end{array} \right. \begin{array}{l} 10^{-2} \\ 10^{-3} \end{array}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{НДГА} \\ 2,6\text{-ди-трет.-бутил-4-метилфенол} \\ \text{аскорбиновая кислота} \end{array} \right. \begin{array}{l} 10^{-4} \\ 10^{-4} \\ 10^{-4} \end{array}$
---	--

Эти композиции увеличивают индукционный период в 85—300 раз соответственно. Окисление, катализированное гематиновыми производными, может быть ингибировано и другими соединениями, а не только обычными ингибиторами автоокисления в цепи. Так, при автоокислении 0,1 M эмульсии олеиновой кислоты при 37° лейко-производное метиленового синего (при концентрации $10^{-3} M/l$) в 20 раз увеличивает скорость поглощения кислорода, тогда как при окислении, катализированном гемином (при концентрации $10^{-5} M/l$) скорость уменьшается на 20%. Повидимому, происходит координация между атомами N и O с образованием более устойчивого к окислению комплекса.

Гематиновые соединения катализируют разложение гидроперекисей в инертной атмосфере. Разложение⁴³ 0,1 M эмульсии перекиси линолеата натрия при 40°, катализированное гемином (концентрация $2,10^{-4} M/l$), показало, что содержание перекиси, особенно вначале, уменьшается быстрее в присутствии гемина, чем без него. Так, за 10 час. соответствующие степени разложения составляют 70 и 40%, а за 60 час.—96—84%. Первоначально содержание гидроперекиси было 0,08 M/M линолеата.

Обсуждению каталитического действия различных гематиновых соединений: каталазы, гемоглобина, гематина, цитохрома С при разложении гидроперекиси линолеата натрия посвящена статья⁵².

Образование радикалов RO[·] в процессе разложения объясняют высоким выходом соответствующих карбанионов в присутствии таких соединений—доноров водорода, как полифенолы⁵³.

Таким образом, из смеси гидроперекиси метиллиноволеата (1 M), гидрохинона (2 M) и гемоглобина ($5 \cdot 10^{-3} M$), оставленной в спиртовом растворе при комнатной температуре, образуется соответствующий спирт с выходом 94%⁵³. Аналогичные результаты получены с гидроперекисью кумола⁵³, но с меньшим выходом (80%) кумилового спирта, вследствие некоторого разложения радикалов $C_6H_5(CH_3)_2CO^{\cdot}$.

То обстоятельство, что скорость реакции автоокисления (катализированной гематиновыми соединениями) пропорциональна содержанию гидроперекиси (образовавшейся или добавленной) и что в инертной атмосфере гематиновые соединения разлагают гидроперекись ROOH с образованием радикалов RO[·], наводит на мысль, что прежде всего здесь должна образовываться гидроперекись без посредства гематиновых соединений. Затем, очевидно, должно протекать разложение гидроперекиси.

киси с образованием радикалов RO^{\cdot} , которые, по-видимому, инициируют реакцию окисления, о цепном характере которой можно судить по действию обычных эффективных ингибиторов автоокисления. Тем не менее, механизм разложения образовавшейся гидроперекиси несколько отличается от механизма, катализированного металлами переменной валентности:



Постоянная валентность железа в процессе окисления заставляет предположить, что происходит отрыв электрона от гематинового протеина, а не от металла, как в предыдущем случае.

Кроме классической реакции обрыва цепей $\text{ROO}^{\cdot} + \text{-OOR} \rightarrow \text{ROOR} + \text{O}_2$, по-видимому, протекает также взаимодействие перекисных радикалов с гематиновыми соединениями⁴⁵, что приводит к более коротким цепям и к более высокому содержанию карбонильных соединений, чем при простом автоокислении.

Механизм окисления, катализированного гематиновыми соединениями, подробно обсужден в нескольких ранее опубликованных статьях^{8, 43, 44, 52-55}.

IV. РАЗЛИЧНЫЕ МЕТАЛЛЫ И ИХ ХЕЛАТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Окисление 0,017 M водных эмульсий линолевой и линоленовой кислот при 37° в интервале pH 4,5—7,5, катализированное различными металлами и их хелатными комплексами, явилось объектом серьезного исследования⁵⁶. Из многих опробованных металлов, очень немногие активны. Так, Co^{2+} и Mn^{2+} очень активны, а Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} — гораздо менее активны; при концентрации 10^{-3} M/l (1 M на 10 M линолеата) Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , V^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} увеличивают соответственно скорость поглощения O_2 в 2, 3, 9, 14, 136 и 170 раз. Изучена⁵⁷ катализическая активность ионов Fe^{2+} в зависимости от их концентрации при окислении коллоидной линолевой кислоты ($2 \cdot 10^{-2}$ M) при 30°, pH 7.

Можно заметить, что катализическая активность Fe^{3+} сильно увеличивается в присутствии такого восстановителя, как аскорбиновая кислота или цистein, и очень зависит от pH, в противоположность гематиновому катализу, который мало чувствителен к изменениям pH. Так, в случае аскорбиновой кислоты максимальная скорость окисления (которая в 54 раза больше скорости автоокисления) имеет место при pH 5 и при концентрациях Fe^{3+} и аскорбиновой кислоты 10^{-2} и 10^{-3} M/l соответственно.

В противоположность тому, что происходит с Fe^{3+} , катализическое действие гематиновых соединений ослабляется на первоначальной стадии в результате присоединения аскорбиновой кислоты, затем реакция становится автокатализической вследствие образования свободного железа при разложении гематиновых соединений.

Таким образом, при окислении линолевой кислоты, катализированном гемоглобином ($5 \cdot 10^{-6}$ M/l) или цитохромом С (10^{-5} M/l), присоединение аскорбиновой кислоты (10^{-3} M/l) обусловливает тридцатиминутный индукционный период, тогда как в ее отсутствие поглощение O_2 начинается сразу. Кроме того, аскорбиновая кислота не влияет на катализическое действие Cu^{2+} , но сильно ингибирует катализическое действие Co^{2+} .

Фосфаты при концентрации выше 10^{-1} M/l ингибируют активность Co^{2+} и системы Fe^{3+} +аскорбиновая кислота, но их оптимальная концентрация еще не определена.

Скорость окисления линолевой кислоты не изменяется в присутствии 8-оксихинолина и α,α' -дипиридила, тогда как *o*-фенантролин ($2 \cdot 10^{-3} M/l$) ее слегка увеличивает, но она совершенно изменяется при одновременном присутствии металлов и агентов комплексообразования, указанных ниже. Все металлы применяются при концентрации $10^{-3} M/l$ (за исключением $Co^{2+} 5 \cdot 10^{-4} M/l$) с отношением

$$K = \frac{M \text{ агента комплексообразования}}{\text{г. атомы металла}}$$

изменяющимся от 0 до 5.

При применении *o*-фенантролина, когда K изменяется от 0 до 2, скорость поглощения O_2 увеличивается в 60 раз в случае Fe^{2+} и уменьшается в 170 раз в случае Co^{2+} , а в случае Cu^{2+} увеличивается только в два раза.

8-Оксихинолин оказывает менее сильное модифицирующее действие, чем *o*-фенантролин. Действительно, когда K изменяется от 0 до 2, скорость поглощения O_2 увеличивается только в 16 раз в случае Fe^{2+} и уменьшается в 2—4 раза в случае Cu^{2+} и Co^{2+} , соответственно.

Альбумин кровяной сыворотки и яичный альбумин (при весовой концентрации 1%) соответственно увеличивают в 1,9—3,5 раза скорость поглощения O_2 при окислении линолевой кислоты, катализированном системой Fe^{3+} ($10^{-3} M$) + аскорбиновая кислота ($10^{-3} M$).

Каталитическая активность Cu^{2+} тоже увеличивается в присутствии некоторых протеинов. В одном из исследований⁵⁸, относящемся к окислению $10^{-1} M$ коллоидного раствора линолеата NH_4 (0° и $pH\ 7$), катализированному ионами Cu^{2+} ($10^{-3} M/l$), было показано, что яичный альбумин ($10^{-4} M/l$) в 5 раз увеличивает скорость поглощения O_2 . Это должно доказывать, что гемоцианин является катализатором окисления ненасыщенных жирных кислот.

Сыворотка лошадиной крови, наоборот, даже при разбавлении в 50 раз, сильно уменьшает активность системы Fe^{3+} + аскорбиновая кислота и полностью останавливает ее при двадцатикратном разбавлении. Аналогичное, но смягченное действие она оказывает на каталитическую активность Co^{2+} , однако мало изменяет каталитическую активность гематиновых соединений. Кроме ослабления действия некоторых каталитических систем в случае линолевой кислоты, она оказывает очень сильное ингибирующее действие при образовании липидных перекисей ($pH\ 7$) в гомогенате мозга крысы⁵⁹. Ингибирующее действие сыворотки должно быть следствием образования комплекса Fe^{3+} из сидерофилина сыворотки.

Из большого числа аминокислот только гистидин и его производное, гистидил-гистидин, оказались очень эффективными ингибиторами при окислении линолевой кислоты, катализированном Co^{3+} ($2 \cdot 10^{-4} M/l$). Ингибирующее действие очень сильно зависит от pH , становясь совершенно незначительным в кислой среде. Например, при $pH\ 7$ гистидин (4 М/атом Co^{2+}) в 50 раз уменьшает скорость поглощения O_2 , тогда как при $pH\ 5$ скорость поглощения кислорода уменьшается только на 1%.

При $pH\ 7$ каталитическое действие Co^{2+} тоже ослабляется фенилаланином, но в гораздо меньшей степени, чем гистидином.

Цистеин с Fe^{3+} действует как аскорбиновая кислота, максимальное ускорение происходит при $pH\ 4$ и становится нулевым при $pH\ 8$. При $pH\ 5$ система Fe^{3+} ($10^{-3} M$) + цистеин ($3,3 \cdot 10^{-3} M$) увеличивает скорость окисления линолевой кислоты в 10 раз.

V. ПРИРОДА СОЕДИНЕНИЙ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ

Ненасыщенный липид, отвечающий общей формуле $R-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-R'$ (R' =насыщенный или ненасыщенный), прежде всего образует гидроперекись $R-\overset{\underset{\text{O}-\text{OH}}{\text{O}}}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-R'$. Эта гидроперекись подвергается

гомолитическому разложению на радикалы $\dot{R}-\overset{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-R'$ и $\cdot\text{OH}$.

Радикалы $\cdot\text{OH}$ могут взаимодействовать с исходным липидом, атакуя двойные связи с образованием диоксисоединения $R-\text{CH}_2-\text{CH(OH)}-\text{CH(OH)}-R'$, которое, в результате дегидратации, может привести к соответствующему оксикетону и дикетону.

Радикалы $\cdot\text{OH}$ могут также атаковать α -метиленовый углерод с образованием H_2O и радикала $R-\overset{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-R'$ (последний участвует в цепной реакции окисления).

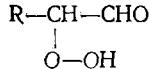
Радикалы $R-\overset{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-R'$ могут участвовать в цепной реакции, атакуя исходный липид с образованием монооксисоединения $R-\text{CH(OH)}-\text{CH}=\text{CH}-R'$ и регенерацией радикала $R-\overset{\underset{\text{O}}{\text{CH}}}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-R'$. Они могут также разлагаться в двух направлениях: 1) с разрывом двойной связи в α -положении с образованием альдегида RCHO и радикалов $\cdot\text{CH}=\text{CH}-R'$; эти радикалы в соединении с радикалами $\cdot\text{OH}$ дают неустойчивый енол $\text{HO}-\text{CH}=\text{CH}-R'$, изомеризующийся в альдегид $\text{OCH}-\text{CH}_2-R'$, такой разрыв приводит к образованию двух насыщенных альдегидов (при насыщенном R'); 2) с разрывом двойной связи в β -положении и образованием радикалов R' и альдегида $\text{O}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-R'$.

Радикалы R' , соединяясь с радикалами $\cdot\text{OH}$, дают спирт ROH . Преобладание карбонильных соединений по сравнению со спиртами, особенно при невысоких температурах должно, по-видимому, объясняться более легким разрывом в α -, чем в β -положении.

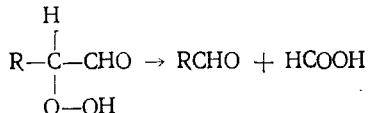
Образовавшиеся таким образом альдегиды, в свою очередь, подвергаются деструктивному окислению, по двум параллельным реакциям. Так, альдегид с C_n , представленный общей формулой RCH_2CHO может окисляться в перекись $R-\text{CH}_2-\overset{\underset{\text{O}}{\text{O}}}{\text{C}}-\text{O}-\text{OH}$, которая затем разлагается

на спирт $\text{C}_{n-1}\text{RCH}_2\text{OH}$ и CO_2^{60-62} (или реагирует с исходным альдегидом, образуя кислоту RCH_2COOH).

Альдегид может также окисляться в альдегидную гидроперекись

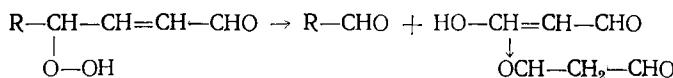


Эта гидроперекись разлагается гомолитически с последующим отрывом атомов углерода в α - или в β -положении по отношению к карбонильной функциональной группе⁶³. Разрыв в α -положении ведет к альдегиду с C_{n-1} и муравьиной кислоте

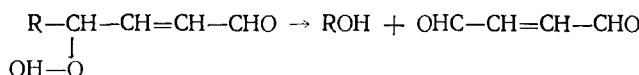


Разрыв в β -положении дает спирт C_{n-2} ROH и глиоксаль.

В случае α -непредельного альдегида $R-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CHO}$ (с C_n) должно иметь место образование гидроперекиси в α -положении по отношению к двойной связи (т. е. в γ -положении по отношению к карбонильной группе), которая, по-видимому, может разлагаться вследствие разрыва в α -положении на альдегид с C_{n-3} $R-\text{CHO}$ и малоновый альдегид:



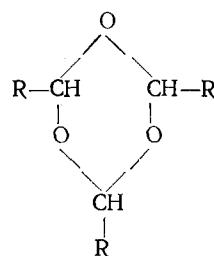
или в β -положении на спирт с C_{n-4} ROH и фумаровый альдегид:



α -Альдегидная гидроперекись $R-\overset{|}{\underset{\text{O}-\text{OH}}{\text{CH}}}-\text{CHO}$ может также разлагаться на H_2O и α -кето-альдегид RCOCHO .

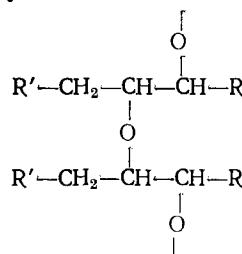
Изложенное выше объясняет образование большого числа карбонильных и окси-соединений с короткой цепью, а также образование муравьиной кислоты во время окисления многочисленных ненасыщенных липидов. Малоновый диальдегид заслуживает особого упоминания; с тиобарбитуровой кислотой он дает красное окрашивание. Эта реакция часто применялась для количественного определения перекисей в биологических средах и была обсуждена в⁶⁴. Следует отметить также образование формиатов⁶⁵, которые, по-видимому, получаются в результате этерификации спиртов под действием муравьиной кислоты.

Альдегиды в присутствии муравьиной кислоты могут приводить к образованию простых или смешанных триоксанов:



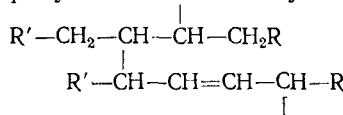
Может происходить образование полимеров двух типов.

В первом случае два атома углерода связаны атомом кислорода; они соответствуют общей формуле:



и получаются в результате дегидратации диокси-соединений. Они образуются в присутствии кислорода при умеренной температуре.

Во втором случае образуется связь между атомами углерода:



Полимеры получаются в этом случае в результате действия диокси- соединений на олеиновое соединение с отщеплением H_2O . Они образуются при термическом разложении гидроперекиси в инертной атмосфере. Необходимо отметить, что полимеры могут содержать в цепях некоторые функциональные группы: HO , C=O , образующиеся в результате атаки по α -метиленовому углероду или по двойной связи.

При высокой температуре ($>250^\circ$) и даже в отсутствие O_2 может протекать образование полимеров с циклогексеновыми ядрами вследствие присоединения по реакции Дильса — Альдера сопряженного поли- олеинового соединения к исходному несопряженному полиолеиновому соединению. Механизм образования различных типов полимеров, а также их определение, явились темой публикации, содержащей 60 ссылок на литературу⁶⁶. Автоокисление ненасыщенных липидов было рассмотрено в большой работе, содержащей 192 ссылки⁶⁷. Другая статья была посвящена различным перекисям сложных эфиров жирных ненасыщенных кислот⁶⁸.

Из мононенасыщенных липидов наиболее изучены производные олеиновой кислоты. Гидроперекись метилолеата была выделена с 85%-ной чистотой. Ее свойства описаны в^{68—70}. Это — жидкость, не имеющая цвета и запаха, легко растворимая в органических растворителях, медленно разлагающаяся при комнатной температуре, быстро — при 120° и за 15 мин. при 150° . Изучено автоокисление метилолеата^{71—81}. Из исследования⁷⁸ вытекает, что *цис*-форма (олеат) в процессе автоокисления превращается в *транс*-форму (элаидат).

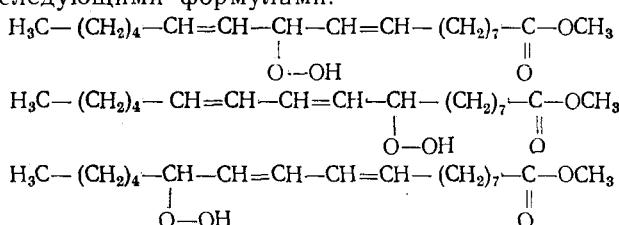
Из упомянутых выше исследований видно, что главными соединениями, образующимися при автоокислении метилолеата, являются H_2O , моно- и диоксиметилстеараты, насыщенные альдегиды с C_7 — C_9 , ненасыщенные альдегиды C_{10} и C_{11} , полуальдегиды пробковой и азелаиновой кислот. Заметим, что α -ундеценаль является основным соединением, получающимся в результате прямого разложения гидроперекиси метилолеата при 150° . Образование указанных выше карбонильных соединений объясняется на основе рассуждений, изложенных в предыдущем разделе, поскольку группа OOH может занимать положения от 7-го до 12-го вследствие перемещения двойной связи. Кроме упомянутых выше продуктов образуются многочисленные окси- и карбонильные соединения вследствие последующего автоокисления альдегидов, получающихся на первоначальной стадии разложения гидроперекиси.

Цепи полимеров, образующиеся при автоокислении метилолеата при 65° (в присутствии олеата Co^{2+}), содержат эфирные связи⁷⁹. Полимеры, получающиеся при разложении гидроперекиси при 210° ⁸², являются карбоцепными.

Автоокисление эфиров олеиновой кислоты, высших гомологов метил-, этил- и пропилолеата, тоже явилось объектом исследования⁸³; соответствующие гидроперекиси выделены не были. Следует заметить, что максимальная концентрация гидроперекиси при данной температуре уменьшается с увеличением молекулярного веса сложного эфира. Автоокисление олеиновой кислоты рассмотрено в статьях^{73—81, 84—86}. В последнем исследовании⁸⁶, проведенном в тонких слоях при 60 — 80° , особое внимание уделено выделению и характеристике летучих продуктов, образовавшихся при автоокислении.

Автоокисление высших гомологов олеиновой кислоты и их метиловых эфиров тоже послужило объектом нескольких исследований. Одно из них касается автоокисления эруковой кислоты и ее метилового и пропилового эфиров⁸⁷, другое — автоокисления брацидиновой кислоты⁸⁸. Из них видно, что, как и в случае олеиновой и элаидиновой кислот, *цис*-изомер (эруковый) подвергается автоокислению быстрее, чем *транс*-изомер (брацидиновый). Среди продуктов автоокисления была обнаружена диоксибензеновая кислота. Третье исследование относится к автоокислению при 40° сложных метиловых эфиров олеиновой, элаидиновой, эруковой и α -ундекиленовой кислот⁸⁹; из него видно, что скорость автоокисления уменьшается в вышеуказанном порядке. В опубликованной недавно работе⁹⁰, касающейся автоокисления метилундекилената при 50°, охарактеризованы гидроперекись (в двух стереоизомерных формах) и соответствующие эпокси-соединения.

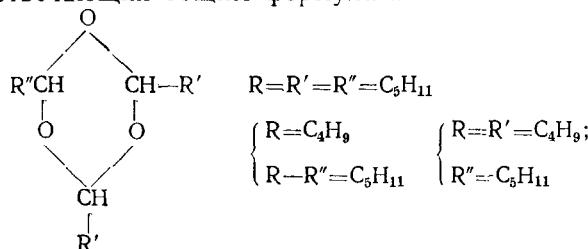
Автоокисление метиллиноволеата явилось объектом нескольких исследований^{72, 91–95}. Последнее исследование относится к действию различных ингибиторов при автоокислении *цис-цис* и *транс-транс*-изомеров. В темноте при 40–60° имеет место индукционный период продолжительностью 15 мин., а при 80° автоокисление начинается почти сразу. В работах^{91–93} соответствующая гидроперекись выделена с чистотой 84, 92 и 92% соответственно. Она состоит из смеси трех изомеров, представленных следующими формулами:



Изомеры с сопряженной диеновой группировкой, имеющие *цис-транс*-конфигурацию, составляют 90% общего количества гидроперекисей. Тем не менее, согласно проведенному недавно исследованию⁹⁴, касающемуся автоокисления метил- и этиллиноволеатов при 60° в растворе HCCl_3 , сопряженные диеновые группировки появляются только при содержании гидроперекиси порядка 100–200 mM/kg эфира.

Первичные продукты разложения перекисей метиллиноволеата состоят из: насыщенных альдегидов (гексаналь, пентаналь), октеналя, 2,4-декадиеналя, полуальдегидов пробковой и азеланиновой кислот.

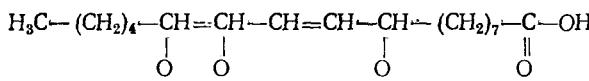
Указанные выше альдегиды выделены и при автоокислении при 37° водного $2 \cdot 10^{-2} M$ раствора линолеата NH_4 ⁹⁶. Получившиеся альдегиды на первой стадии разложения указанных выше гидроперекисей могут конденсироваться в триоксаны, окисляться в соответствующие кислоты или подвергаться дальнейшей окислительной деструкции с образованием различных карбонильных и окси-соединений с более низким молекулярным весом. Образование 2,4,6-триалкил-1,3,5-триоксанов, простых или смешанных, отвечающих общим формулам:



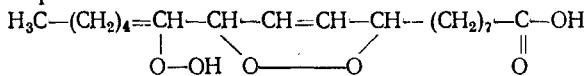
констатировано при окислении метиллиноолеата в тонком слое при комнатной температуре. Эти триоксаны получаются в результате полимеризации и сополимеризации пентаналя и гексаналя. Среди продуктов разложения исходных альдегидов особо отметим дикарбонильные соединения, состоящие из глиоксалей, кето-альдегида с C₆, фумарового диальдегида, 3-гексен-1,6-диала, которые были выделены при автоокислении метиллиноолеата при 45°⁹⁷⁻⁹⁹.

Полимеры, образующиеся в результате автоокисления метиллиноолеата при 4°⁸², состоят из смеси димеров и тримеров со связью через атомы кислорода. Каждой цепи свойственно наличие групп C=O и OH и некоторой насыщенности. Полимеры, получаемые¹⁰⁰ в результате автоокисления метиллиноолеата при 33° и последующего разложения при 100° в инертной атмосфере, тоже состоят из смеси димеров и тримеров, но со связью между атомами углерода.

Автоокисление линолевой кислоты было изучено недавно несколькими исследователями¹⁰¹⁻¹⁰³. Две первые работы касаются идентификации и выделения многочисленных летучих соединений, третья — кинетических закономерностей, относящихся к автоокислению при малых давлениях O₂ в присутствии различных ингибиторов. При автоокислении в тонких слоях при 20 и 40°^{101, 102} были выделены насыщенные альдегиды от C₂ до C₇, спирты от C₁ до C₅, сложные эфиры⁶⁵ (главным образом, эфиры муравьиной кислоты с преобладанием амилформиата). Кроме приведенных выше соединений, получающихся при разложении моногидроперекиси, могут также образоваться триокси-, трикето- и кетооксисоединения в результате диспропорционирования радикалов:



Последние являются продуктами гомолитического расщепления гидроперекиси — перекиси



Автоокисление этиллиноолеата тоже явилось предметом нескольких исследований^{3, 104-106}; при этом была выделена гидроперекись³. Строение полимеров, образующихся при автоокислении, сходно со строением полимеров из метиллиноолеата со связью через атомы кислорода¹⁰⁶.

Два исследования^{107, 108} посвящены автоокислению метилилиноолената при 37° и выделению соответствующей гидроперекиси с чистотой порядка 80%.

Гидроперекись мономерна с тремя двойными связями, две из них входят в сопряженную группировку; преобладающей конфигурацией является *цис-транс*-конфигурация (*транс-транс*-конфигурация незначительна). Поскольку группа OH может занимать положение 16, 13, 12 и 9, первичные продукты разложения гидроперекиси состоят из пропаналя, пентаналя, 2,4-гепта- и октадиеналей.

Дикарбонильные соединения, получающиеся в результате последующего автоокисления вышеуказанных альдегидов, состоят из малонового диальдегида¹⁰⁹ и 3-гексен-1,6-диала¹¹⁰.

Образование карбонильных соединений при автоокислении метиллиноолената (а также олеата и линолеата) рассмотрено в двух больших работах^{111, 112}.

Строение полимеров, образовавшихся во время автоокисления при 30°, сходно со строением полимеров из гидроперекиси линолеата (связь через атомы кислорода).

Совсем недавно в результате исследования, посвященного автоокислению линоленовой кислоты при 20° и 40°¹¹³, были выделены насыщенные альдегиды с C₂—C₆, 2,4-диэтил-б-пропилтриоксан, 2,4-диэтил-б-амилтриоксан, пентеналь, кислоты от C₁ до C₆ и их различные сложные эфиры.

Недавно¹¹⁴ получены гидроперекиси из метиллиновата, метиллиновата, этиларакидоната, метилэйкозапентеноата и этилового эфира менхаденового * жира 95%-ной чистоты.

Автоокисление эфиров сначала проводили при 4° в течение 80 дней, затем при комнатной температуре в течение 148 час., пока содержание гидроперекисей не достигло 28 M на 100 M эфира. Последние были выделены из полученного таким образом продукта автоокисления с помощью тонкослойной хроматографии.

При проведении двух серьезных исследований^{115, 116} в ряду насыщенных липидов было изучено автоокисление при 60, 150 и 200° очень чистого метилпальмитата. Найдено, что при 60° в течение 56 дней образования гидроперекиси не происходит, при 150° за 3 час. содержание гидроперекиси достигло 300 mM/kg, а при 200° можно было обнаружить только оксикарбонильные и карбоксильные соединения, получившиеся в результате разложения перекисей. Из этих наблюдений вытекает, что атака насыщенных сложных эфиров молекулярным кислородом при 150°, прежде всего ведет к образованию двойной связи в результате дегидрирования. Хотя, по-видимому, атакуются все атомы углерода, гидроперекись образуется предпочтительно в середине молекулы. В этих двух статьях подвергнуты критике все предыдущие работы и приведены многочисленные ссылки на работы по автоокислению насыщенных липидов.

Природные жиры и масла состоят из триглицеридов с различным, зависящим от их природы, содержанием разных жирных и ненасыщенных кислот. Таким образом, карбонильные соединения, образовавшиеся при окислительной деструкции, по природе своей, по-видимому, должны происходить одновременно от олеиновой и линолевой кислот, а в некоторых случаях, еще и от линоленовой и арахидоновой кислот.

Липид, содержащий относительно небольшое количество линолевой кислоты и, в особенности, линоленовой кислоты, может давать значительные количества карбонильных соединений, производных этих полиненасыщенных кислот, вследствие гораздо более слабого автоокисления олеиновой кислоты.

В публикациях^{111, 112} содержатся подробные сведения о насыщенных альдегидах, непредельных альдегидах и диеналях, образующихся из бараньего, говяжьего и свиного жиров, масла какао, а также из арахисового, соевого и льняного масел (так же и из метилолеата, триолеата, этиллиновата, метиллиновата). Эти липиды были подвергнуты автоокислению при комнатной температуре и при облучении УФ-светом до образования различных количеств гидроперекиси; их затем разлагали при комнатной температуре или при 165°.

Гексаналь, 2-октеналь, 2,4-декадиеналь были получены разложением при 100°, подвергнутого автоокислению хлопкового масла (при содержании перекиси 125 mM/kg)¹¹⁷.

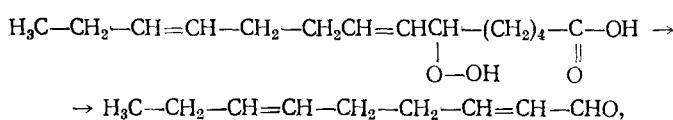
Из подсолнечного масла, подвергнутого автоокислению при 37°, были выделены многочисленные насыщенные альдегиды, непредельные альдегиды и диенали, а также октен-1-ол-3 и октен-1-он-3¹¹⁸.

* Менхаден — рыба семейства сельдевых (*Clupeidae*). Прим. ред. перевода.

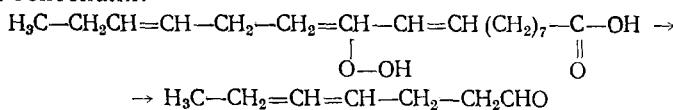
Из продуктов автоокисления соевого масла выделены¹¹⁹ насыщенные альдегиды от C₂ до C₉, непредельные альдегиды от C₅ до C₉, 2,4-диенали (от C₆ до C₁₀, исключая C₉); обсуждена конфигурация¹²⁰ 2,4-гепта- и 2,4-октадиеналей. Выделены гексаналь, 2-октеналь, 2,4-декадиеналь¹²¹; последний, по-видимому, состоит из смеси двух стереоизомеров 2-транс-4-цис (28%) и 2-транс-4-транс (72%). Идентифицированы^{122, 123} многочисленные альдегиды, кетоны и окси соединения, а также цис-гексен-3-аль-1¹²⁴. Исследование¹²⁵ посвящено образованию 2,4-диеналей из свиного сала, подвергнутого автоокислению.

Необходимо отметить выделение октадекадиеновых кислот (11—15 и в незначительном количестве 10—15) из говяжьего и бараньего жиров¹²⁶. Автоокисление проводили при 37° до содержания перекиси 2 мМ/кг, затем следовало разложение при 140° в инертной атмосфере.

Первая гидроперекись, по-видимому, является предшественником 2,6-нонадиеналя:



вторая — 4-гептеналя:



По-видимому, упомянутые выше ненасыщенные альдегиды частично ответственны за запах зеленого огурца, появляющийся у говяжьего жира во время его хранения.

Сделана попытка связать некоторые химические характеристики с органолептическими показателями пищевых жиров¹²⁷. Оказалось, что очень незначительное содержание перекиси имеет большое значение для оценки свежести этих жиров. Так, констатировано появление неприятного вкуса при содержании перекиси 0,10 Ммоля/кг.

VI. ДЕЙСТВИЕ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ НА РАЗЛИЧНЫЕ СУБСТРАТЫ

Образование эпокси-соединений и α -эпокси-спиртов в результате разложения α -олефиновых гидроперекисей было обнаружено в случае циклогексена¹²⁸ и многочисленных олефинов^{122, 129}. Автоокисление непредельных жирных кислот по двойным связям явилось объектом глубокого исследования^{130—132}, которое позволило установить следующие факты.

В присутствии гемина (концентрация по весу 2·10⁻⁵) в стехиометрической смеси олеиновой кислоты и перекиси этилолеата (при комнатной температуре и уменьшенном давлении) происходит постепенное уменьшение степени ненасыщенности кислоты, что сопровождается снижением общего содержания активного кислорода.

Кроме того отношение

$$r = \frac{\text{содержание ненасыщенной кислоты}}{\text{содержание активного кислорода}}$$

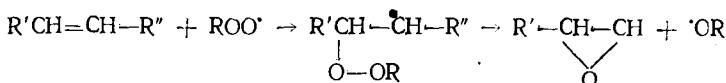
становится близким к 1.

В смеси жирных непредельных кислот (иодное число 126) и перекиси олеилового спирта происходит перенос перекисного кислорода к двойным связям кислот. Количественно это явление в большой степени

зависит от природы гематинового катализатора (весовая концентрация $3 \cdot 10^{-3}$). Так, при комнатной температуре в течение 1 часа отношение r имеет значение 0,31 при отсутствии гематинового катализатора или в присутствии окисленного цитохрома; r становится равным 0,96 в присутствии восстановленного цитохрома¹³¹.

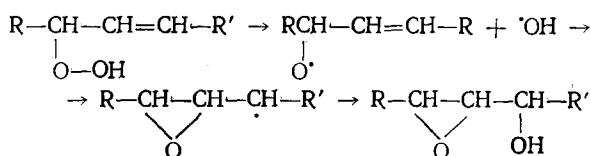
Роль восстановленного цитохрома при переносе перекисного кислорода к двойным связям жирных непредельных кислот подробно обсуждают Дюбуло с сотр.¹³².

Эпоксиды могут образоваться сразу в процессе автоокисления, вследствие присоединения радикалов ROO^{\cdot} по двойной связи:

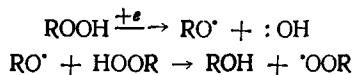


Механизм реакции рассмотрен подробно в работе¹³⁴.

Эпокси-спирты, по-видимому, образуются при разложении гидроперекиси с последующим присоединением радикалов $\cdot\text{OH}$ по двойной связи⁵³:



Эпоксидирование непредельных соединений в присутствии гематиновых соединений гидроперекисями, по всей вероятности, протекает через присоединение радикалов ROO^{\cdot} к двойной связи, поскольку последние образуются в результате ряда реакций¹³⁵:



Исследование¹³⁶ действия перекиси этилолеата (содержание перекиси 0,36 M/M эфира) на цистеин и деградированный альбумин яичного белка показало, что тиоловые группы протеина в присутствии избытка перекиси полностью вступают в реакции. Продукты реакции состоят из дисульфидов и их производных, содержащих кислород. Подробно обсуждено биологическое значение этой реакции, подвергнуты критике примененные методы¹³⁶.

Другое исследование¹³⁷ относится к автоокислению в эмульсии при 37° и pH 7,4 линолевой кислоты ($2 \cdot 10^{-3}$ M), катализированному гемином (10^{-5} M) или гемоглобином ($2 \cdot 10^{-6}$ M) в присутствии 10^{-3} M цистеина или глутатиона. Скорость деструкции групп SH двух последних соединений пропорциональна содержанию перекиси в эмульсии. Продукты окисления цистеина состоят из цистина, цистеиновой кислоты и дисульфоксида цистина.

Действие водной $2 \cdot 10^{-3}$ M эмульсии перекиси линолевой кислоты (37° и pH 7,4) на различные ферменты явилось объектом большого исследования¹³⁸. Показано, что действие всех энзимов с группами SH, так же как холинэстеразы, холиноксидазы, глиоксилазы, β-амилазы, сукцино-оксидазы и уреазы сильно ингибируется. Более или менее сильное ингибирование имеет место и в случае других ферментов, не содержащих групп SH, например, липазы, инвертазы, пепсина, трипсина, папайна, цитохром-оксидазы, аксантин-оксидаза, тирозиназа, каталаза, оксидаза, α-аминокислоты воздействиям не подвергаются. Следует отметить,

что такие ферменты, как холинэстераза, липаза, инвертаза, пепсин ингибитируются также водной эмульсией пальмитиновой кислоты. В этом случае ингибирование, по-видимому, вызывается нейтрализацией положительных зарядов протеинов отрицательными зарядами кислот. Несколько раз были сделаны попытки связать степень ингибирования фермента с содержанием перекиси в эмульсии. Так, степень ингибирования 80% в случае папаина и уреазы имеет место при концентрациях перекиси 0,22 и 0,12 mM/l, соответственно. В другом случае вместо эмульсии линолевой кислоты была применена эмульсия жирных кислот льняного масла. Отметим, что ингибирование при облучении сильнее в присутствии линолевой кислоты, чем без нее.

Таким образом, в случае сукцинооксидазы при облучении в течение двух часов была достигнута глубина ингибирования только 14%, а в присутствии эмульсии линолевой кислоты ($4 \cdot 10^{-4}$ mM), она стала 63%. Степень ингибирования сукцинооксидазы (при концентрации линолевой кислоты $4 \cdot 10^{-4}$ mM) исследовалась в зависимости от времени. Исследование показало, что через 15 мин. ингибирование достигает 20%, через 45 мин.—60% и асимптотически стремится к 80%.

Интересно, что эти энзимы можно защитить от действия перекисей более лабильными энзимами, содержащими группы SH. В работе¹³⁸ обсуждается защита уреазы цистеином против действия перекисей, образующихся в процессе автоокисления льняного масла. Проводили также исследование¹³⁹ инактивации глицеринового альдегида 3-фосфатдегидрогеназы гидроперекисью линолевой кислоты и инактивации рибонуклеазы той же гидроперекисью¹⁴⁰.

Специальное исследование¹⁴¹ посвящено инактивации энзимов с группами SH под действием пероксикислот.

Деструкция каротина в процессе автоокисления ненасыщенных липидов, катализированного липоксидазой сои, явилась объектом многих исследований^{142—144}. Деструкция происходит в альфе при хранении на полях¹⁴⁵, вследствие действия перекисей, образующихся в результате автоокисления ненасыщенных липидов, катализированного липоксидазой этого растения.

Исследование автоокисления¹⁴⁶ коллоидного метиллиновеата ($3,4 \cdot 10^{-2}$ M) инициированного рентгеновским облучением в присутствии витамина А, показало, что степень деструкции витамина А увеличивается с содержанием перекиси. Так, при концентрации перекиси $5 \cdot 10^{-5}$ M/l остается только 33% исходного витамина А. Деструкция витамина А не происходит под действием только рентгеновского облучения в отсутствие линолеата.

Исследование автоокисления¹⁴⁷ этиллиновеата (25 и 37°) в растворе петролейного эфира в присутствии каротина (весовая концентрация $2,5 \cdot 10^{-4}$ по отношению к линолеату) показало полное разложение каротина в течение 48 час. Для стабилизации каротина оказались эффективными некоторые ингибиторы автоокисления. Так, пирогаллол, гидрохинон и α-токоферол при весовой концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ по отношению к линолеату (37° в течение 48 час.) позволяет избежать окисления на 100, 74 и 76% соответственно.

Постепенное разрушение витамина А происходит в маргарине в процессе его автоокисления при комнатной температуре. Так, степень разложения витамина А, достигающая 6,5% при содержании перекиси 0,7 mM/kg, становится 43% при содержании перекиси 10 mM/kg¹⁴⁸.

Подробно изучена¹⁴⁹ деструкция витамина А в жире камбалы в процессе его автоокисления при 25, 80 и 98°, а также защита его только НДГА или НДГА в присутствии синергетического агента.

Исследование¹⁵⁰ деструкции витамина А в процессе автоокисления оливкового масла при 55° в тонких слоях показало, что витамин А постепенно разлагается. Так, за 2 час. степень его деструкции составляет 69%, но в присутствии 0,048% α -токоферола она составляет только 5%, и за 10 час. достигает только 36%.

В исследовании¹⁵¹ рассматривается деструкция каротина в процессе автоокисления арахисового масла при различных температурах (от 4 до 98°), а также защита его от окисления с помощью α -, β -, γ -токоферолов и госсипола.

Большая работа посвящена¹⁵² деструкции каротина при 35° под действием перекисей этилолеата, метиллиноволеата, метиллинилената, хлопкового, арахисового и соевого масел, а также защиты с помощью α -, β -, γ -токоферолов и госсипола. Защитное действие α -, β -, γ -токоферолов против деструкции каротина и биксина перекисью метиллиноволеата рассмотрено также в двух других статьях^{32, 153}.

В исследовании¹⁵⁴, посвященном деструкции витамина А и каротина в процессе автоокисления при 37° коллоидного раствора линолеата NH₄ (0,2 M/l, pH 7), катализированного 2·10⁻⁵ M/l гемоглобина или цитохрома С, показано, что при поглощении 500 см³ O₂ деструкция витамина А и каротина соответственно составляет 88 и 53%, но в присутствии 5·10⁻³ M/l α -токоферола деструкция составляет только 63 и 5% соответственно.

Другая работа⁵⁰ затрагивает и вопрос о защите витамина А и каротина с помощью α -токоферола в ходе автоокисления водной эмульсии олеиновой кислоты (37°, 0,1 M, pH 7), катализированного гемином (2·10⁻⁵ mM/l).

Через 3 час. поглощается 1400 см³ O₂ при 88% деструкции витамина А, но в присутствии α -токоферола (6·10⁻³ M/l) степень деструкции составляет только 63%, причем поглощается 300 см³ O₂. Поведение каротина аналогично поведению витамина А. При поглощении 1400 см³ O₂ происходит деструкция каротина на 63%, а в присутствии 5·10⁻³ M/l α -токоферола она составляет только 5%.

Обычно рационы питания, богатые ненасыщенными липидами, но бедные витаминами Е и А, вызывают уменьшение резерва витамина А в печени животных. Добавление α -токоферола и других антиоксидантов к питательным рационам оказывает защитное действие по отношению к витаминал А, что доказано следующими фактами.

По прошествии 7 мес. резерв витамина А в печени самок крыс-альбиносов, находящихся на рационе, содержащем 5% свиного жира и бедным витаминами А и Е, почти полностью исчерпывается. Добавление к этому режиму по 1 мг ацетата α -токоферола в неделю приводит за тот же отрезок времени к деструкции витамина, составляющей только 71%.

Добавление α -токоферола, метиленового синего (лейко-форма) тиодифениламина, тетраметилтиуродисульфида к рациону, включающему 10% жира тресковой печени и бедному витамином Е, увеличивает содержание витамина А в печени кур по сравнению с режимом питания без добавок¹⁵⁵.

Добавление метиленового синего или тиодифениламина к пище, включающей 10—20% жира тресковой печени и бедному витамином Е, увеличивает в течение 14 недель содержание витамина А в печени крыс по сравнению с режимом питания без добавок. Действие этих добавок сильно уменьшается при замене в режиме питания жира тресковой печени свиным жиром^{156, 157}.

Обсуждению защитного действия витамина Е для сохранения витамина А в печени крыс посвящены статьи^{158, 159}.

Перекись этиллиноолеата ($250 \text{ мМ}/\text{кг}$) в контакте с кристаллическим биотином при 37° за 12 час. приводит к 96% деструкции последнего. Как и в случае витамина А, α -токоферол оказывает защитное действие; степень ингибирования составляет 44% за 48 час. при 4% концентрации этого соединения. В исследовании¹⁶⁰ также была констатирована деструкция биотина при 25 и 37° в присутствии перекиси кукурузного масла ($100 \text{ мМ}/\text{кг}$) и в случае рациона питания, содержащего 5% липидов, из которых 3% составляет масло и 2% жир тресковой печени; общее содержание перекиси в рационе составляет 5 $\text{мМ}/\text{кг}$.

Из исследования, посвященного действию пиридоксина и рибофлавина¹⁶¹, видно, что рибофлавин разрушает липидные перекиси и защищает таким образом от них пиридоксин.

VII. РОЛЬ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ В ПОРЧЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Мы уже видели, что из липидных перекисей могут образоваться карбонильные и моно- или полифункциональные окисиоединения. Монокарбонильные соединения состоят из смеси насыщенных и непредельных альдегидо-кислот и, по всей вероятности, ответственны за окислительную прогоркость и реверсию. Эти, часто встречающиеся явления очень подробно обсуждены в ряде публикаций^{11–15, 162}.

Коровье молоко. Общий состав кислот, составляющих липиды молока, таков¹⁶³:

Насыщенные кислоты (60%): кислоты от C_4 до C_{12} —12%, миристиновая 11%, пальмитиновая 28%, стеариновая 9%.

Ненасыщенные кислоты (40%): олеиновая — 34%, линолевая 5%, другие 1%.

Кислоты, входящие в состав фосфолипидов¹⁶⁴: насыщенные — 41%,monoолефиновые 40%, диолефиновые сопряженные (2,3%, несопряженные 8,8%), триолефиновые 3,6%, тетраолефиновые 2%, пентаолефиновые 2,2%.

Как видно, фосфолипиды молока более богаты полинепредельными кислотами, чем глицеридами.

Показано¹⁶⁵, что содержание перекисей в порошковом молоке, оставленном на воздухе, возрастает со временем.

В исследовании¹⁶⁵ рекомендуют применять различные антиоксиданты (особенно фенольного типа) в весовой концентрации 10^{-4} . В работах¹³ и¹¹³ образование перекисей изучено на различных образцах порошкового молока во время хранения при 2 и 38° в течение от 4 мес. до 1 года. При содержании перекисей порядка 6—10 $\text{мМ}/\text{кг}$ липидов появляется прогорклый запах. Максимальное содержание перекисей, образовавшихся за 4 и 9 мес. 5—14 $\text{мМ}/\text{кг}$ липидов.

В липидах кислого молока были идентифицированы насыщенные альдегиды C_2 — C_{18} , непредельные альдегиды C_5 — C_{11} , 2—4-диеновые альдегиды C_8 и C_9 , а также октен-1-он-3 и октен-1-ол-3¹⁶⁶—¹⁶⁸. Происходит также образование метилалкилкетонов $RCOCH_3$ от C_1 до C_{13} ¹⁶⁹. Повидимому, они являются производными главным образом миристиновой и пальмитиновой кислот.

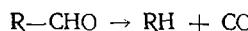
Природа и механизм образования различных соединений в процессе автоокисления липидов молока подробно обсуждаются в статьях¹⁶⁶—¹⁷⁴. В одной из этих статей¹⁷² приведена критика предшествующих работ.

В публикациях^{13, 175}—¹⁷⁸ изложены сведения о содержании перекисей и карбонильных соединений в различных животных жирах и съедобных растительных маслах в зависимости от условий хранения и облучения.

Исследование хранения сырых овощей, в частности гороха¹⁷⁹—¹⁸² показало, что содержание глюцидов и азота остается более или менее по-

стоянным. Изменения не происходят и в так называемых бланшированных овощах, т. е. подвергнутых действию кипящей воды, разрушающей липоксидазу. Напротив, в липидной части сырых овощей содержание перекисей и кислотность могут значительно увеличиться¹⁸¹. Может произойти также понижение иодного числа, например, в сыром горохе оно через 5 лет понижается с 98 до 89. Отметим также, что в горохе за 5 лет происходит также и деструкция хлорофилла примерно на 30%.

Липиды, составляющие всего 0,3% сухого картофеля¹⁸³, содержат 75% полиненасыщенных жирных кислот, 53% кислоты 18:2 и 22,5% кислоты 18:3. Насыщенная часть почти полностью состоит из кислоты C₆ (17,4%). После пропускания O₂ при комнатной температуре в течение 5 мес. были выделены насыщенные альдегиды C₂—C₆ и насыщенные углеводороды C₁—C₅. Последние, по-видимому, образуются из альдегидов по реакции



Поджаренная при 185° картофельная стружка в смеси, состоящей из 50% хлопкового и 50% кукурузного масла, подвергнутая хранению при комнатной температуре на воздухе, явилась объектом очень тщательного исследования¹⁷⁹. Из свежеподжаренных картофельных стружек было выделено 18 различных карбонильных соединений, из менее свежих — 19. В процессе старения происходит увеличение содержания насыщенных альдегидов (особенно гексаналя), α-непредельных альдегидов (больше C₇, чем C₈) и метилалкилкетонов (больше 2-пентанона, чем 2-гексанона). Напротив, происходит быстрое уменьшение содержания 2,4-декадиеналя.

При хранении свиное мясо часто прогоркает¹⁸⁴. Прогоркость сопровождается изменением цвета, который вместо розового становится серо-коричневым. Прогорклое мясо обладает неприятным запахом и вкусом и несколько токсично. Прогоркость является следствием окисления триглицеридов олеиновой кислоты и небольших количеств полиненасыщенных кислот (особенно линолевой) и последующей деструкции гемоглобина и миоглобина, сопровождаемой выделением неорганических соединений железа. Эта реакция катализируется гематиновыми соединениями самого мяса. Очень быстрая порча конского мяса в присутствии воздуха, по-видимому, следствие аналогичного явления, но гораздо более интенсивного из-за большого содержания линоленовой кислоты (16%) в жире лошади.

VIII. ИЗМЕНЕНИЯ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ПЕРЕКИСЯМИ ЛИПИДОВ И ПРОДУКТАМИ ИХ РАСПАДА

Наличие перекисей при концентрации в несколько десятков мМ/кг сухого вещества было обнаружено в липидной части зеленых листьев некоторых растений: подсолнечника, пшеницы, гороха, фасоли, элодеи¹⁸⁵ и белой люцерны¹⁸⁶. В стеблях, корнях и зернах этих растений перекиси обнаружить не удалось¹⁸⁵. То, что перекиси локализуются в листьях и разлагаются в условиях, прекращающих фотосинтез, но не дыхание тканей, позволяет предполагать, что процесс фотосинтеза тесно связан с процессом образования перекисей. Эта гипотеза опирается на то, что из листьев люцерны было выделено flavино-липопротeinовое соединение, содержащее железо и марганец и способное восстанавливать CO₂¹⁸⁶. Восстановление сопровождается образованием перекиси липидной части листа. В статьях^{187, 188} рассматривается роль перекисей, гликоловой и глиоксиловой кислот в разрушении хлорофилла. Интересно, что листья, ростки и зерна некоторых масличных растений содержат вещества, способные вызывать разложение перекисей^{189—191}.

Полимеры, получающиеся в результате разложения перекисей липидов, образование которых катализуется липоксидазой, являются, по-видимому, составляющими элементами кутина¹⁶⁰, непроницаемой пленки, покрывающей части растений, подвергающиеся атмосферным воздействиям.

Рацион питания, хотя и сбалансированный, но включающий от 5 до 20% сильно ненасыщенных липидов и содержащий мало витамина Е, может вызывать перечисленные ниже патологические изменения, которые могут варьировать в зависимости от вида животного^{162–192–235}:

1. Желтая окраска жировых тканей.
2. Образование цероидного пигmenta в печени крыс.
3. Коричневая окраска матки крысы.
4. Атеросклероз и перифическое поражение вен у людей.
5. Эксудативный диатез цыплят.
6. Энцефаломаласия у цыплят.
7. Уменьшение яйценоскости и оплодотворяемости кур.
8. Депигментация резцов у крыс.
9. Дистрофия мышц у жвачных животных.
10. Некроз печени и легочное кровотечение.

Эти десять патологических изменений обсуждены в двух больших обобщающих статьях^{233,234}. Некоторые заболевания, такие, например, как желтая окраска жировой ткани у некоторых животных, коричневая окраска матки крысы, образование у крыс цероидного пигmenta, появление эксудативного диатеза и энцефаломаласии у цыплят, могут быть прямо связаны с воздействием продуктов окисления ненасыщенных липидов и протеинов тканей, что вызывает их повреждение. Различия в поведении цыплят и крыс по отношению к рационам питания, богатым полиненасыщенными липидами, по-видимому, являются следствием различия строения их капиллярных сосудов. При других заболеваниях, например, дистрофии мышц или некрозе печени, которые могут происходить и в отсутствие липидов в режиме питания, роль полиненасыщенных липидов менее ясна. Однако при некрозе печени распад сульфо-аминокислот под действием перекисей липидов, играет, по всей вероятности, значительную роль. Вполне вероятно, что дистрофия мышц является следствием, по крайней мере частично, распада витамина Е под действием этих перекисей.

Следует отметить, что различные антиоксиданты, такие, как НДГА, метиленовый синий, дифенил-*p*-фенилендиамин, тиодифениламин, тетраэтилтиурам, могут быть заменены в режиме питания витамином Е и играть защитную роль против одного или нескольких из этих заболеваний. Например, соединения селена (конц. 10^{-7} — 10^{-5}) могут выполнять защитную роль против некроза печени и эксудативного диатеза, но не против энцефаломаласии. Действие этих различных антиоксидантов обсуждено в статьях^{233, 234} и, кроме того, в специальной статье, посвященной действию SeO_2 ²³⁵.

IX. ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ *IN VIVO* РЕЖИМОМ ПИТАНИЯ, СОДЕРЖАЩИМ РАЗЛИЧНЫЕ ЛИПИДЫ, НАГРЕТЫЕ В ПРИСУТСТВИИ ВОЗДУХА

Съедобные липиды состоят из смеси триглицеридов стеариновой, пальмитиновой, олеиновой и линолевой кислот. Животные жиры содержат гораздо больше насыщенных кислот, (40—60%) чем растительные масла (10—30%), и гораздо меньше линолевой кислоты. В говяжьем и в бараньем жирах содержится от 1 до 2% этой кислоты, а в свином жире 6—10%, тогда как во многих растительных маслах ее содержание достигает 60%. Исключение составляет конский жир, который, кроме не-

большого количества (4,5%) стеариновой кислоты, содержит 5,3% линоловой кислоты и значительное количество линоленовой кислоты (16%).

Различные жареные продукты, имеющиеся в продаже, прогреваются при 180—200°. В этих условиях обычно увеличивается содержание окискоединений, свободных кислот, сложных эфиров, сопряженных диенов и особенно полимеров (первоначальное содержание которых очень невелико — 1—2%). Содержание карбонильных соединений сначала увеличивается, достигает максимума, затем уменьшается; содержание перекисей более или менее постоянно. Оно может слегка уменьшаться или увеличиваться, но остается незначительным, резко превышая концентрацию 10 мМ/кг (если только продукт питания не был предварительно подвергнут воздействию ионизирующего облучения).

Происходит заметное уменьшение степени общей ненасыщенности (иодное число) и особенно содержания линоловой кислоты. Эти химические изменения проявляются в увеличении показателя преломления, диэлектрической постоянной и особенно вязкости^{236—239}.

Физико-химические изменения, происходящие в процессе жарения различных продуктов питания, содержащих липиды, обсуждаются в статьях^{240—244}, последняя из которых посвящена различным сортам мяса.

Кроме температуры и продолжительности жарения, на содержание перекисей липидов и продуктов их разложения влияют поверхность соприкосновения липида с воздухом, которая обусловлена формой, размерами и материалом, из которого сделана сковорода, а также продолжительность предварительного нагревания и охлаждения. Действительно, перекиси образуются во время предварительного нагревания, затем во время жарения разлагаются и вновь образуются во время охлаждения. Таким образом, очевидно, что содержание различных соединений, производных перекисей, будет больше, если нагревание прерывать, чем если вести его непрерывно, и будет увеличиваться с увеличением числа предварительных нагреваний и охлаждений. Тем не менее отметим, что карбонильные соединения могут быть частично удалены в результате испарения или подвергаться дальнейшей окислительной деструкции: этим и объясняется максимальное их содержание в случае ограниченной продолжительности нагревания.

Так, при нагревании кукурузного масла²³⁶ в течение 24 час. и постоянном расходе воздуха 150 см³/кг/мин содержание перекисей при 120, 160 и 200° соответственно было 40, 3 и 1 мМ/кг (первоначальное содержание было 0,5 мМ/кг). При 200° через 24 часа (при расходе воздуха, изменяющемся от 0 до 2400 см³/мин) содержание карбонильных соединений изменяется от 86 до 116 мМ/кг (макс. 122 мМ/кг при расходе воздуха 1200 см³/мин).

При 175° в течение 62 час. проводили непрерывное нагревание хлопкового масла²³⁸ и нагревание с перерывами (7—8 часов нагревания, затем 12—16 часов хранения при комнатной температуре); были получены следующие результаты (табл. 1).

Перекиси липидов, введенные в пищевод с помощью зонда, постепенно исчезают во время пищеварения. Так, содержание перекиси этилолеата через 5 час. составило только 12% от первоначального, равного 10⁻⁴ М²⁴⁵.

Более того, липиды, происходящие из различных частей организма, особенно из лимфы (образцы которой были взяты во время пищеварения), совсем не содержат перекисей^{245—247}.

По-видимому, происходит гидролиз перекиси сложного эфира или триглицерида липида под действием липазы с сохранением функциональной группы OH, последняя затем частично восстанавливается²⁴⁸.

поджелудочной железы. Приведенные выше факты, а также отсутствие перекисей в экскрементах позволяют считать, что на слизистой оболочке кишечника происходит главным образом распад перекисей липидов²⁴⁵.

Опыты²⁴⁸, проведенные на крысах, вскормленных пищей, содержащей 10% масла *Vernonia*, содержащего 70% 12,13-эпоксиолеиновой кислоты, показали присутствие этой кислоты в жировых тканях, печени, почках и сердце, а также в экскрементах. Наоборот, эпоксиды отсутствовали в этих тканях, если масло *Vernonia* заменяли кукурузным маслом. Приведенные факты говорят о том, что эпоксиды не разрушаются в организмах пищеварения (что странно из-за наличия в желудке 0,1 N HCl и чувствительности эпоксидов к кислотному гидролизу), а нормально откладываясь в различных тканях вместе с другими липидами.

Окси- и карбонильные соединения легко всасываются²⁴⁹; так, содержание карбонильных соединений в лимфе может увеличиться в 10 раз.

Питательный рацион, включающий 10—20% липидов, нагретых на воздухе, обычно вызывает замедление роста, уменьшение усвоения пищи и ее полезного действия, а также увеличение потребления воды.

При таком режиме питания, некоторые органы животных, особенно печень, сильно увеличиваются. Однако следует отметить, что восстановление нормального режима питания приводит к выздоровлению больных животных. Витамины (в том числе и витамин Е) смягчают, но не исключают эти заболевания. Свежие липиды, так же как и протеины, тоже оказывают благоприятное действие.

Токсичность нагретых липидов увеличивается с увеличением содержания линолевой кислоты (за исключением конского жира, содержание кислоты 18:3 в обычных липидах очень мало), о чем свидетельствуют результаты, полученные во время двух исследований крыс^{250—252}, вскормленных пищей, содержащей 20% липидов.

Токсичность увеличивается с числом и продолжительностью предварительных нагреваний и охлаждений (следовательно, надо избегать применения того же масла для нескольких следующих друг за другом обжариваний) и уменьшается в зависимости от массы липида. Например, вредность различных нагретых липидов, применяемых для жарения в коммерческих целях, проводимого с большими количествами продуктов, гораздо меньше вредности липидов, нагретых в лаборатории в значительно меньших количествах, что было доказано исследованиями^{253—259} крыс, вскормленных на пище, содержащей 23% липидов.

Так как слизистая оболочка кишечника разрушает перекиси липидов, их собственное действие должно быть ограничено на уровне пищеварительных энзимов. Кроме упомянутых выше энзимов¹³⁸, исследованием²⁴⁷ доказано ингибирование ксантил-оксидазы перекисью соевого масла. Это разрушение энзимов должно проявляться в снижении усвоемости пищи, которое ведет к торможению роста. Таким образом, в липидах, выдержанных при 200°, содержание перекисей не велико и, следовательно, их роль в общей картине вызванных заболеваний очень мала.

Однако при нагревании при более низких температурах (60—100°), когда содержание перекисей довольно высоко, их наличие может опреде-

ТАБЛИЦА 1

Вещество	Содержание, мМ/кг	
	нагревание	
	непрерывное	с перерывами
Перекиси	2,3	3,6
Карбонильные соединения	158	155
Окси-соединения	130	241
Свободные кислоты	280	560
Полимеры, %	14,8	13,8
Иодное число	103	98

лять общую токсичность нагретых липидов. Так, в случае уже подвергнувшегося автоокислению при 60° соевого масла депрессия роста крыс (вскормленных на режиме, содержащем 20% масла) увеличивается с содержанием перекисей^{247, 259}. Исследование, проведенное с хлопковым маслом, подвергнувшимся автоокислению при 60°, показало, что число заболеваний увеличивается по достижении максимального содержания перекисей²⁴⁰.

Связь между токсичностью и содержанием перекисей была обнаружена не только в случае хлопкового и соевого масел, подвергшихся автоокислению при 60°, но и в случае этиловых эфиров сильно ненасыщенных жирных кислот жира каракатицы. Продукты автоокисления полученные при 30 и 100°, содержали соответственно 970 и 75 мМ/кг перекисей и оказались очень токсичными для крыс²⁶⁰.

В других исследованиях перекиси липидов, введенные через пищеварительный тракт, оказались нетоксичными. Например, гидроперекись метилолеата, введенная в количестве 5% в режим питания крыс, совсем не токсична^{261, 262}.

Таким образом, нет определенной связи между степенью токсичности нагретого липида и содержанием в нем перекисей, особенно для одного и того же липида при невысоких температурах нагревания на начальной стадии автоокисления.

Следует отметить, что в патологических случаях, когда регенерация эпителия кишечника (разрушенного перекисями липидов) происходит медленно, перекиси липидов, по-видимому, могут преодолеть защитное действие кишечника²⁶³. Исследования, во время которых производилось введение через пищеварительный тракт гидроперекиси метиллинолеата, меченной ¹⁴C₁, показали, что в кишечнике происходит сильное разрушение этой перекиси и внедрение продуктов разрушения в различные тканевые липиды.

Эпоксиды, которые отлагаются вместе с другими липидами в различных клеточных тканях, с первого взгляда не кажутся токсичными. Действительно, введение в рацион крыс 5% эпокси-*цис*-метилстеарата^{261, 264} или 7% эпоксиолеиновой кислоты (в виде масла *Vernonia*, в количестве 10%)²⁴⁸ не приносит вреда. Однако, согласно данным исследования²⁶⁵, эпоксиды, по-видимому, являются канцерогенными.

Окси-соединения, по крайней мере длиноцепочечные, не токсичны. Например, моно- и диокси-метилстеарат при 5%-ном содержании не приносят крысам вреда²⁶¹.

Карбонильные соединения, по-видимому, в какой-то степени ответственны за общую токсичность нагретых липидов, которая уменьшается после обработки их семикарбазидом. Они могут действовать на пищеварительные ферменты, поскольку они ингибируют действие липазы. Следовало бы рассмотреть действие каждого типа альдегидов в зависимости от степени их ненасыщенности; по-видимому, более токсичными должны быть альдегиды с сопряженными двойными связями.

Полимеры обычно оказываются токсичными. Их действие, очевидно, зависит от степени диенового сопряжения, иначе говоря, от содержания линолевой кислоты в исходном липиде. Это доказано на примере свиного жира и хлопкового масла после нагревания их на воздухе при 95° в течение 300 час. и перегонки продуктов автоокисления, полученных таким образом, при 300° при очень низком давлении²⁶⁴. Остаток от хлопкового масла (40% от общего количества этого масла), введенный в количестве 20% в режим питания крыс, за одну неделю привел к смерти всех животных, а остаток от свиного жира (17% от общего количества) не вызывает смерти, но замедляет рост²⁶⁴. Отметим также, что остаток от пе-

регионки может содержать продукты термической полимеризации с циклогексеновыми фрагментами, которые не образуются при жарении в коммерческих масштабах²⁶⁶, но могут, по нашему мнению, образоваться в процессе разложения полимеров при 300°.

С другой стороны, если полимеры токсичны, степень усвоемости их уменьшается с ростом молекулярного веса, поэтому не всегда самые тяжелые фракции являются самыми токсичными.

Кроме того, нужно учитывать и существование триоксанов, особенно производных 2,4-диеновых альдегидов, таких как 2,4-декадиеналь, которым обогащается кукурузное масло, нагретое при 200°²³⁷.

Значение 1,3-сопряжения подчеркивается в работе²⁶⁷, в которой обсуждаются все соединения с двойной сопряженной диеновой связью, например, гидроперекись этиллиновата, продукты ее восстановления и разложения, а также этиллиноваты, не участвующие в нормальном обмене линолевой кислоты²⁶⁷.

ТАБЛИЦА 2
Состав некоторых животных жиров, %

Жир	Кислоты				
	18:0	16:0	18:1	18:2	18:3
Бараний	34	24	44	2	Следы
Говяжий	21	32	45	2	Следы
Свиной	16	30	45	7	Следы
Куриный	7	26	38	20	Следы
Конский	5	26	34	5	16
	(+5% 14:0)		(+7% 16:1)		

ТАБЛИЦА 3
Состав жира печени трески, %

Кислоты	% в жире	Кислоты	% в жире
20% Насыщенных триглицеридов	{ 18:0 16:0 14:0 15:0 17:0	{ 3 12 3 1 1	{ 18:3 20:3 22:3
45% Монотриглицеридов	{ 18:1 20:1 22:1 14:1 16:1	{ 25 13 6 Следы	{ 18:4 20:5 22:5 22:6

ТАБЛИЦА 4

Состав нескольких растительных масел, %

Кислоты	Льняное	Соевое	Хлопковое	Сафлоровое	Кукурузное	Арахисовое	Оливковое
18:3	47—60	4—8	Следы	Следы	1,5	Следы	Следы
18:2	15—24	49—56	40—50	77	58	20—3	4—12
18:1	15—19	24—34	20—30	13	27	50—60	70—85
Насыщенные	10—15	12—17	20—30	10	12,5	10—20	7—17

Биохимическое действие различных фракций льняного масла изучено в работах^{266, 268}, фракций жира сельди — в^{269, 271}, свиного жира — в²⁷¹.

Токсичности нагретых липидов посвящено несколько превосходных статей^{249—252, 256, 272, 273}.

Состав разных липидов приведен в работе Хилдича²⁷⁴. Ниже мы приводим состав основных животных жиров и растительных масел по данным^{111, 274} (см. табл. 2, 3, 4).

Х. ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ ТКАНЕЙ, ПРОИСХОДЯЩИЕ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ ПЕРЕКИСЕЙ

Ранее уже было сказано, что перекиси липидов, введенные крысам с пищей, по большей части разлагаются слизистой оболочкой кишечника, и в лимфе можно обнаружить только их следы.

Тем не менее, условия для образования перекисей липидов в организме даже млекопитающих, благопрятны, вследствие одновременного присутствия в эндотелии сосудов и легких ненасыщенных липидов (в виде эмульсии), гематиновых соединений и кислорода²⁴⁵. Способность ткани к образованию перекисей липидов увеличивается в зависимости от содержания ненасыщенных кислот и степени их ненасыщенности, так же как от присутствия таких катализитических систем, как гематиновое железо или не гематиновое железо с аскорбиновой кислотой, и уменьшается в присутствии ингибиторов, например, витамина Е.

Следует отметить, что на состав, особенно в отношении полиненасыщенных липидов, не только триглицеридов резервного жира, но и фосфолипидов различных тканей сильно влияет тип липидов пищи. Так, увеличение содержания линолевой кислоты в рационе питания увеличивает одновременно содержание линолевой кислоты в резервных липидах и содержание линолевой и арахidonовой кислот в различных тканях. Полиненасыщенные кислоты (не основные), такие как 20:5 и 22:6, масла печени трески откладываются в различных тканях животных без изменений.

Корреляция между степенью ненасыщенности липидов, входящих в состав тканей и степенью ненасыщенности пищевых липидов, объясняет патологические изменения, наблюдавшиеся *in vivo* под влиянием пищи, богатой полиненасыщенными липидами.

Заметим, однако, что в тканях может также произойти образование полиненасыщенных кислот 20:3, если пища бедна линолевой кислотой и включает такие насыщенные липиды, как масло кокосового ореха. В статьях^{275—279} подробно обсуждается состав липидов различных тканей в зависимости от типа пищевых липидов.

Мы уже упоминали о присутствии перекисей при различных патологических изменениях в тканях, образовавшихся вследствие рациона питания, богатого полиненасыщенными липидами и бедного антиоксидантами. Перекиси липидов были также обнаружены после действия ионизирующего облучения живого животного в присутствии атмосферного кислорода^{280—286}.

Образование перекисей липидов под действием ионизирующих излучений, по всей вероятности, инициируется радикалами ·ОН и ·ОН, получающимися в водной фазе¹³. Аналогия между заболеваниями, вызванными ионизирующими излучениями и перекисями липидов, в частности разрушение различных ферментов, подробно обсуждается в^{2, 287}. Факт нахождения перекисей в тканях живых животных был подвергнут критике в двух публикациях^{288, 289}. Действительно, при экстракции липидов в инертной атмосфере не удалось обнаружить даже следов перекисей

ни в одном из органов крыс (применялся метод хроматографии²⁹⁰), предварительно облученных рентгеновскими лучами на воздухе, или вскормленных на режиме питания, содержащем 20% свежего соевого масла или его перекиси²⁸⁸. Подобные же результаты получены при обследовании различных органов у цыплят, вскормленных пищей, содержащей 10% хлопкового масла. Исключением являются липиды крови, которые вызывают образование небольших количеств очень неустойчивой перекиси. Исследование²⁸⁹ на примере 33 различных тканей подтвердило правильность результатов, опубликованных в²⁸⁸.

По-видимому, отсюда следует, что живые ткани не содержат перекисей (самое большое — следы в случае жировых тканей) и что последние образуются *in vitro* во время экстракции в контакте с атмосферой, из которой не полностью исключен кислород. Недостаток витамина Е в ткани, видимо, заметно увеличивает скорость образования перекиси *in vitro*.

Если наличие перекисей липидов в живых тканях сомнительно, об образовании перекисей *in vivo* свидетельствуют продукты, получающиеся при разложении перекисей липидов и тот факт, что образованию этих продуктов *in vivo* препятствует витамин Е и другие антиоксиданты. В этом случае перекиси липидов, по-видимому, постепенно, с момента своего образования, подвергаются превращениям, что приводит к различным физиологическим (разложение протеиновых тиолов и различных энзимов) и структурным изменениям (разрыв мембран в митохондриях и лизосомах).

В результате ионизирующего облучения (5—100 крад) водных эмульсий экстрактов липидов из различных органов крыс²⁹¹ обнаружено образование перекисей с содержанием липидов порядка нескольких десятков мМ/кг.

Образование перекисей происходит также во время аэробной инкубации при 37° различных живых тканей. Однако в большинстве исследований перекиси определяли только косвенным путем с помощью цветной реакции, которую дает малоновый диальдегид (один из продуктов разложения перекисей липидов) с тиобарбитуровой кислотой. Эта очень чувствительная реакция дает интересные результаты при сравнительных исследованиях, но не отражает истинного содержания перекисей (см. дискуссию в²⁹²).

Рассуждения относительно образования перекисей *in vivo* и катализа окисления водных эмульсий линолевой кислоты хелатированными комплексами металлов применимы, в основных чертах, к определению способности образования *in vitro* эндогенных перекисей в различных живых тканях в присутствии кислорода воздуха, особенно, когда речь идет о катализической активности различных форм железа (гематиновой и негематиновой) и аскорбиновой кислоты, действия агентов хелатирования и концентрации фосфата. Скорость образования перекисей в ткани будет возрастать с общим содержанием в ней железа, так же, как с содержанием и степенью ненасыщенности составляющих ее липидов. В присутствии негематинового железа содержание в ткани аскорбиновой кислоты имеет очень большое значение. Таким образом, начало образования перекиси при присоединении аскорбиновой кислоты к гомогенатам различных тканей объясняется присутствием в них негематинового железа. В статье²⁹³ показано, что в различных тканях морских свинок, больных цингой, образуется меньше перекисей, чем в тканях здоровых морских свинок, и что присоединение аскорбиновой кислоты к тканям, пораженным цингой, восстанавливает их нормальную способность к образованию перекисей. Интересно отметить, что ткани в состоянии постоянного деле-

ния, такие как ткани костного мозга, слизистой оболочки кишечника, и раковые клетки не образуют перекисей.

Опубликованы обсуждения образования перекисей в результате аэробной инкубации *in vitro* гомогенатов различных тканей²⁹²⁻²⁹⁹.

В одной из статей подробно обсуждается образование эндогенных перекисей в гомогенатах различных органов крыс, а также каталитическое действие этих гомогенатов при автоокислении в эмульсии линолевой кислоты.

Обычно митохондрии содержат значительные количества полиненасыщенных липидов (особенно в форме фосфолипидов), производных кислот с 3, 4, 5 и 6 двойными связями, таких как 18:3, 20:3, 22:3, 20:4, 22:4, 22:5 и 22:6. Расположение молекул липидов вблизи от различных цитохромов делает их особенно подверженными автоокислению.

Состав митохондрий печени и сердца различных морских рыб и птиц, а также нескольких морских млекопитающих приведен в^{301,302}. В³⁰² опубликованы также данные о составе митохондрий печени цыпленка и сердца быка. Исследования^{303,304} посвящены составу митохондрий печени крьсы.

В суспензиях митохондрий при 37° в растворе сахарозы или NaCl (с фосфатным буфером) происходит поглощение кислорода с последующим образованием малонового альдегида. Обычно аскорбиновая кислота катализирует эти реакции, а витамин Е их ингибирует.

Описанные ниже явления сопровождаются деструкцией таких ферментов как сукциноксидаза, ТПН-Н цитохромредуктаза, холиноксидаза, оксидаза аминокислот (и наоборот, щелочная фосфатаза печени и холинэстераза мозга оказывают сопротивление этому образованию перекиси). Деструкция ферментов выражается в ослаблении окислительного фосфорилирования и окисления α -кетоглутаровой кислоты.

Кроме деструкции ферментов, имеет место набухание и лизис мембранны митохондрий с освобождением свободных жирных кислот и растворимых протеинов.

Витамин Е, введенный *in vitro* в суспензии митохондрий, уменьшает поглощение кислорода и образование малонового диальдегида, предохраняя таким образом указанные выше ферменты от окислительной деструкции, а мембрану от набухания и лизиса. В случае митохондрий из клеток сердечной ткани кролика, введение 0,47 и 4,7% витамина Е уменьшает в 7 и 28 раз скорость поглощения O₂³⁰⁵. Следует заметить, что способность митохондрий к образованию перекисей зависит также и от состава входящих в режим питания полиненасыщенных липидов и антиоксидантов (в частности, витамина Е). Так, при режиме питания, бедном витамином Е и содержащем 3% свиного жира и 2,5% рыбьего жира, скорость поглощения O₂ и количество образовавшегося малонового диальдегида соответственно уменьшаются в 2,5 и 10 раз, когда к этому режиму добавляют 10 мг α -токоферола³⁰⁶.

Деструкция энзимов митохондрий обсуждается в статьях^{307,308}, явления набухания и лизирования — в статьях^{309,310}. В последних двух статьях идет речь о роли, которую играет аскорбиновая кислота при возникновении этих процессов.

Обстоятельно изучено образование перекисей в митохондриях клеток печени крысы и сердца кролика^{305,306}.

Работы³¹¹⁻³¹³ посвящены ингибиющему действию витамина Е (по отношению к образованию перекисей в митохондриях клеток сердца кроликов, печени крысы и кролика).

Микросомы содержат 30—40% липидов, особенно фосфолипидов, и в два раза больше полиненасыщенных липидов (по отношению к азотистым основаниям), чем митохондрии. Некоторые молекулы этих липи-

дов расположены вблизи молекул цитохрома, что делает их особенно способными к образованию перекисей³¹⁴.

Применяя к микросомам клеток печени крысы те же методы, что и к митохондриям³⁰⁵, нашли, что происходит поглощение O_2 , сопровождаемое образованием малонового диальдегида.

Образование перекисей в микросомах ведет к модификации синтеза нуклеиновых кислот и протеинов и к уменьшению синтеза аскорбиновой кислоты, а также к ингибированию активности гулоно-лактооксидазы³¹⁵. Сами микросомы вырождаются, их измененная форма хорошо видна через электронный микроскоп.

Как и в случае совершенных гомогенатов и митохондрий, витамин Е играет роль ингибитора. Так, присоединение α -токоферола (0,25 g/gN) ведет соответственно к степеням ингибирования 72 и 69% при поглощении O_2 и образовании малонового диальдегида.

Образование перекисей в микросомах клеток печени крысы и сердца кролика в общих чертах изложено в статье³¹⁴. Работы^{315, 316} касаются ингибирования гулоно-лактооксидазы, и кроме того, в работе³¹⁶ рассмотрена зависимость степени ингибирования синтеза аскорбиновой кислоты от содержания малонового диальдегида. В исследовании³¹⁷ изучено действие ТПН-Н и АТФ при образовании перекиси в микросомах.

Лизосомы, хотя и содержат меньше липидов, чем митохондрии и микросомы, все же обладают только простой мембранный. Они с трудом образуют перекиси, зато у них легко разрывается мембрана при образовании перекиси в незначительных количествах. Так, под действием УФ- и γ -излучения и продукта автоокисления метиллиноволеата разрыв мембран лизосом клеток печени крысы сопровождается освобождением гидролизующих ферментов: катепсина, глукоронидазы, фосфатазы-кислоты, арилсульфатазы. Присоединение аскорбиновой кислоты увеличивает, а витамина Е — уменьшает количество этих освободившихся ферментов.

Образование перекисей в лизосомах в связи с освобождением энзимов обсуждается в публикациях^{318—320}.

С разрывом мембран в результате образования перекисей липидов связан гемолиз красных кровяных шариков. Гемолизу благоприятствует режим питания, бедный витамином Е, а введение в режим питания витамина Е или других антиоксидантов, например восстановленной формы метиленового голубого, мешает ему. Гемолиз красных кровяных телец обсуждается в публикациях^{321—325}.

Ингибирование деления клетки под действием УФ-облучения, по-видимому, вызывается также, по крайней мере, частично, действием перекисей липидов³²⁶.

Действительно, при исследовании оплодотворенных яиц червя (*Chaetopterus pergamentaceus*) и морского ежа (*Lytechornus variegatus*) установлено, что действие УФ-света и облученного метиллиноволеата ингибирует деление клеток.

По-видимому, это ингибирование является следствием подавления активности различных ферментов и деполимеризации нуклеопротеидов.

Витамин Е является обычной составляющей частью большинства живых организмов. Он встречается в тканях всех животных и широко распространен в растительном мире. Он найден также в таких одноклеточных организмах, как дрожжи и плесени. Его антиокислительное действие, выражющееся обычно в увеличении продолжительности индукционного периода, а также сокращении скорости поглощения O_2 и скорости образования гидроперекисей и продуктов их разложения, неоднократно отмечалось в данном обзоре.

Так же обстоит дело и при окислении линолеата, катализированном

липоксидазой и гематиновыми соединениями, и при окислении митохондрий и микросом.

Хотя α -токоферол *in vitro* является более слабым антиоксидантом, чем другие токоферолы, он накапливается в организме животного (особенно в фосфолипидах) и, следовательно, *in vivo* оказывает преобладающее антиокислительное действие. Его распределение в различных животных жирах и растительных маслах, так же как и в различных органах крыс, обсуждается в публикациях^{16, 327}.

Различные токоферолы не проявляют синергизма, но образуют мощные ингибирующие системы с аскорбиновой, лимонной и фосфорной кислотами, которые, по-видимому, играют очень важную роль в стабилизации липидов тканей^{326, 328, 329}.

Степень деструкции α -токоферола в тканях обычно увеличивается с содержанием и степенью полиненасыщенности липидов в режиме питания.

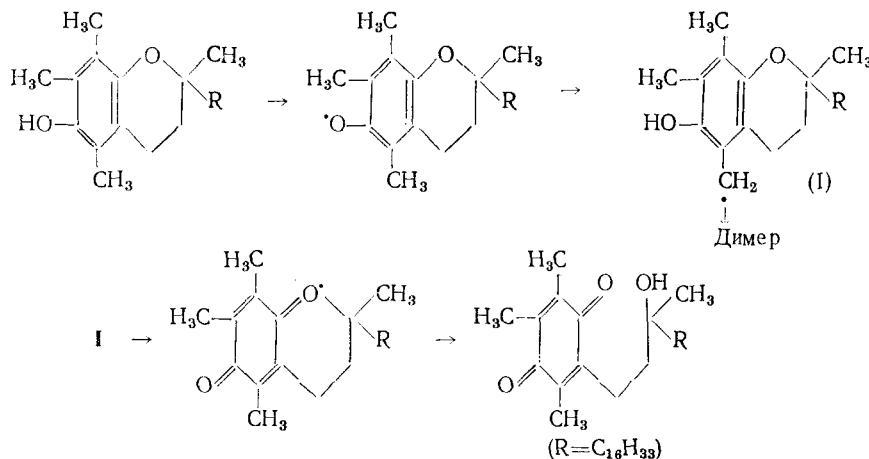
Однако потеря тканью токоферола при режиме питания, в котором он отсутствует, сильно зависит от его природы. Отметим очень сильное удерживание его мозгом³³⁰. Продукты разложения α -токоферола *in vivo* состоят из α -токоферилхинона (образованного вследствие раскрытия пиранового кольца) и димерного α -токоферола (с нетронутой гетероциклической структурой).

Действительно, присутствие токоферилхинона было констатировано в печени и мускулах мышей и свиней³³¹, а его содержание в жировых тканях увеличивается со степенью ненасыщенности пищевых липидов. (Оно в 3 раза больше в случае метиллиноволеата, чем в случае масла кокосового ореха³³².)

Присутствие одновременно димера и хинона было также обнаружено в печени мышей и крыс после внутрибрюшинной инъекции α -токоферола животным, которых в течение года вскармливали на режиме питания, бедном витамином Е^{331, 333}. Димер и хинон образуются также при одновременном окислении (60 и 100°) α -токоферола и метиллиноволеата кислородом воздуха³³⁴.

В исследовании³³⁵ рассмотрено действие на α -токоферол радикалов ROO[·], образующихся в результате действия солей Fe³⁺ на гидроперекись метиллиноволеата, перекись метиллиноволената, этиларахidonата и метилэйкозапентаноата, и приведены кинетические данные.

Превращение α -токоферола в α -токоферилхинон происходит в результате отрыва атома водорода (группы OH) с последующим разрывом пиранового кольца, перегруппировки и фиксации группы OH³³⁵:



Ингибирующее действие витамина Е при автоокислении *in vivo* полиненасыщенных липидов рассмотрено в публикациях^{16, 233, 234, 336–338}.

Убихинон, который обычно находится в митохондриях в более значительных количествах, чем α -токоферол, может быть восстановлен в убихинол^{339, 340}. Последний же может быть вновь окислен перекисями до убихинона. Убихинол проявил себя как ингибитор, приблизительно столь же эффективный, как и α -токоферол, при окислении эмульсии арахидоновой кислоты, катализированном $2 \cdot 10^{-6}$ M/m гемоглобина (37° , pH 7,4), а также при фотоокислении митохондрий клеток печени быка.

Эти факты говорят о том, что убихинол и убихинон могут играть довольно важную роль в качестве антиоксидантов митохондрий.

Сквален³⁴¹, содержащийся в значительных количествах в липидах рыб, может оказывать действие как антиоксидант, по крайней мере, в начале реакции. В самом деле, сравнительное исследование³⁴¹ автоокисления метиллинолеата и метилолеата при 63° в присутствии 0,02% токоферола или сквалена показало, что в течение первых 5 дней содержание гидроперекиси в присутствии сквалена меньше, чем с добавками α -токоферола; по прошествии этого времени образование перекиси в присутствии сквалена происходит быстрее и через 8 дней идет так же быстро, как и без ингибиторов.

Мы уже видели, что неорганические соединения^{337, 338, 342–344}, введенные с пищей, могут предупреждать некоторые патологические изменения, вызываемые питательным рационом, богатым полиненасыщенными липидами и бедным витамином Е. Исследование³³⁷ показало, что Na_2SeO_3 , введенный в диету, значительно уменьшает образование перекиси в печени, сердце и в мышцах цыплят. Селеноцистин и селенометионин были обнаружены в гидролизате протеинов печени.

Кроме того, различные аминокислоты, содержащие селен, в концентрации 10^{-4} и $2 \cdot 10^{-4}$ играют роль ингибиторов, которую можно сравнивать с ролью α -токоферола при окислении эмульсии метиллинолеата, катализированном гемоглобином.

Эти факты позволяют считать, что Se, введенный с пищей в виде неорганических соединений, откладывается в различных тканях цыпленка в виде селенопroteинов, которые *in vivo*, по-видимому, действуют как антиоксиданты. Механизм ингибирования соединениями Se состоит главным образом в разложении образовавшейся гидроперекиси этими соединениями не по радиальному механизму. Кроме того, играя роль вещества, разрушающего перекись, соединения селена предохраняют кофермент А в отсутствие цистина³⁴³.

Роль, которую играют соединения селена в обмене веществ, подробно обсуждена в^{338, 343}, а механизм их взаимодействия с гидроперекисями — в³⁴⁴.

Кроме α -токоферола, который широко распространен в растительном мире^{16, 327}, многие полиокси-соединения, такие, как простые ароматические полифенолы или гетероциклические производные (оксихроманы, оксикумароны³⁴⁵), могут играть в ингибировании более или менее важную роль. В некоторых особых случаях их ингибирующее действие может быть главным, как в случае НДГА, антиокислительное действие которой *in vitro* рассмотрено в этом обзоре.

Обстоятельное исследование³⁴⁶ посвящено токсическому действию различных типов перекисей липидов, вводимых внутривенно и внутрибрюшинно крысам и цыплятам. В нем показано, что токсичность в большей степени зависит от природы соединения, в котором связаны липиды, и от метода проведения инъекций. Таким образом, перекиси триглицеридов из оливкового и орехового масел гораздо менее токсичны, чем

свободные жирные кислоты; их сложные эфиры и фосфолипиды при одном и том же типе перекиси гораздо токсичнее при введении внутриенно, чем внутрибрюшенно.

Удерживание перекисей липидов различными тканями зависит также от типа перекисного соединения и природы эмульгирующего агента. По-видимому, оно тем больше, чем меньше токсичность перекиси. Перекиси триглицеридов значительно удерживаются кровью, легкими, печенью, спинным мозгом, почками, кишечником. Удерживание средней величины имеет место в сердце и мышцах и совсем незначительное — в головном мозге, поджелудочной железе и жировых тканях. В крови степень удерживания очень значительна в течение часа, незначительна после 2 час. и становится равной нулю через 500 час.

Возможно, механизм элиминирования перекисей триглицеридов отличается от механизма элиминирования перекисей других типов. Интересно отметить, что внутривенное введение дает одинаковые результаты у цыплят и у крыс, но при внутрибрюшинном введении удерживание перекисей триглицеридов различными органами крыс менее значительно, чем органами цыплят.

Отметим, что в случае гидроперекисей этиллиноволеата и $(CH_3)_3COOH$ при содержании 0,5 mM/кг появляется метагемоглобинурия.

В статье³⁴⁶ приведены многочисленные количественные данные об удерживании различных типов перекисей органами крыс и цыплят в зависимости от введенной дозы и продолжительности, а также от содержания метагемоглобина в случаях этиллиноволеата и $(CH_3)_3COOH$.

Токсичность некоторых продуктов автоокисления липидов и некоторых органических перекисей, вводимых только внутрибрюшенно крысам, рассмотрена в статьях^{2, 347}.

По данным³⁴⁷, гидроперекись метиллиноволеата и особенно $(CH_3)_3COOH$ должна быть менее токсична, чем по данным исследования³⁴⁶.

Тем не менее, из исследований^{346, 347} вытекает, что перекиси липидов (и, вероятно, другие перекиси) гораздо более токсичны при введении их с пищей, что является нормальным, учитывая их разложение слизистой оболочкой кишечника, которое протекает так, что только некоторые продукты их разложения переходят в лимфу. Их токсичность при введении путем инъекций, безусловно, является следствием комбинированного действия в результате атаки двойных связей (что влечет за собой деструкцию главных жирных кислот, 18 : 2, 20 : 4), деструкцию гематиновых ядер, протеиновых тиолов различных витаминов (особенно витаминов А и С), различных ферментов и мембран (что может привести к гемолизу красных кровяных телец).

Следует отметить, что окисление, катализированное элементами переменной валентности, было рассмотрено в статьях^{348, 349}, а общие теоретические вопросы ингибирования автоокисления — в³⁵⁰. Кроме того, несколько статей и работ по синтезу, проведенных после 1960 г., были посвящены органическим перекисям вообще^{351—359}, причем в статьях^{351—353} разбираются различные методы их определения.

ЛИТЕРАТУРА

1. V. Kagnojitzky, C. Viel, *Produits et Problèmes Pharmaceutiques*, 21, 245 (1966).
2. R. Latagut, *Peroxydes organiques en radiobiologie*, Masson, 1958.
3. J. Bolland, H. Koch, *J. Chem. Soc.*, 1945, 445.
4. E. Farmer, D. Sutton, *Tam же*, 1943, 122.
5. E. Farmer, *Trans. Faraday Soc.*, 12, 229 (1946).
6. J. Skellon, D. Wharry, *Chem. a. Ind.*, 1963, 929.

7. D. Swern, в книге: Autoxydation and antioxydants, Wiley and Sons, N. Y.—London, 1961, т. 1, стр. 2—54.
8. A. L. Tappel, Там же, стр. 325—366.
9. J. F. Mead, Там же, стр. 299—323.
10. E. M. Bevilacqua, в книге: Autoxydation and antioxydants, Wiley and Sons, N. Y.—London, 1962, т. 2, стр. 857—918.
11. W. O. Lundberg, Там же, стр. 451—456.
12. J. R. Chipault, Там же, стр. 477—542.
13. J. H. Mitchell, A. S. Henick, Там же, стр. 543—592.
14. J. C. Cowan, C. D. Evans, Там же, стр. 593—628.
15. O. S. Privett, Там же, стр. 985—1044.
16. E. Aaes-Jorgensen, Там же, стр. 1045—1094.
17. J. Bolland, H. Hugues, J. Chem. Soc., **1949**, 492.
18. A. Tobolsky, A. Mercurio, J. Am. Chem. Soc., **81**, 5538 (1959).
19. A. Tappel, Food Res., **18**, 104 (1953).
20. D. Boyd, C. Adams, Canad. J. Biochem. Physiol., **33**, 191 (1955).
21. A. Güss, J. Cereal. Chem., **44**, 607 (1967).
22. S. Hale, T. Richardson, J. Van-Eibe, D. Hagedun, Lipids, **4**, 209 (1969).
23. H. Fuinba, J. Agr. Chem. Soc. Japan, **26**, 167 (1952).
24. H. Theorell, R. Holmann, Arch. biochem. biophys., **14**, 250 (1947).
25. H. Theorell, R. Holmann, Acta Chem. Scand., **1**, 571 (1947).
26. N. Catsimpoolas, Arch. biochem. biophys., **131**, 185 (1969).
27. R. Holman, Там же, **15**, 403 (1947).
28. A. Tappel, W. Lundberg, J. Biol. Chem., **199**, 267 (1952).
29. S. Bergström, Nature, **161**, 55 (1948).
30. O. Privett, C. Nickeil, W. Lundberg, J. Am. Oil Chem. Soc., **32**, 505 (1955).
31. A. Tappel, W. Lundberg, P. Boyer, Arch. biochem. biophys., **42**, 293 (1953).
32. H. Kunkel, Там же, **30**, 306 (1951).
33. R. Holman, Там же, **10**, 519 (1946).
34. A. Siddiki, A. Tappel, Там же, **60**, 91 (1956).
35. A. Siddiki, A. Tappel, Plant. Physiol., **31**, 321 (1956).
36. W. Frank, H. Frehse, Ztschr. Physiol. Chem., **235**, 333 (1953).
37. A. Siddiki, A. Tappel, J. Am. Oil Chem. Soc., **34**, 529 (1957).
38. H. Holman, O. Elmer, Там же, **24**, 127 (1947).
39. A. Dolev, W. Rohwedder, H. Dutton, Lipids, **2**, 28 (1967).
40. S. Bergström, R. Holman, Adv. Enzymology, **8**, 425 (1948).
41. W. Frank, Ergebnisse Enzymforsch., **12**, 90 (1951).
42. H. Frehse, W. Frank, Fette und Seifen, **58**, 403 (1956).
43. A. Tappel, J. Biol. Chem., **217**, 721 (1955).
44. F. Haurovitz, P. Schwerin, Enzymologia, **9**, 197 (1941).
45. A. Tappel, Arch. biochem. biophys., **44**, 378 (1953).
46. S. Lewis, E. Wills, Biochim. biophys. acta, **70**, 338 (1963).
47. A. Banks, Chem. a. Ind., **40**, 41 (1961).
48. F. Haurovitz, P. Schwerin, M. Yensen, J. Biol. Chem., **140**, 353 (1941).
49. G. Barron, C. Lyman, Там же, **123**, 229 (1938).
50. A. Tappel, Arch. Biochem. Biophys., **56**, 473 (1954).
51. Y. Lew, A. Tappel, Food Technology, **10**, 235 (1956).
52. V. Maier, A. Tappel, J. Am. Oil Chem. Soc., **36**, 8 (1959).
53. V. Maier, A. Tappel, Там же, **36**, 12 (1959).
54. B. Tarlagdis, Там же, **38**, 479 (1961).
55. W. Brown, L. Harris, H. Olcott, Arch. biochem. biophys., **101**, 14 (1963).
56. E. Wills, Biochim. biophys. acta, **98**, 238 (1965).
57. G. Smith, L. Dunkley, Там же, **98**, 46 (1962).
58. A. Tappel, J. Am. Oil Chem. Soc., **32**, 252 (1955).
59. A. Barber, Arch. biochem. biophys., **92**, 38 (1961).
60. M. Loury, C. r., **255**, 2456 (1962).
61. D. Lefort, C. Paquot, J. Sorba, Bull. Soc. Chim. France, **1959**, 1385.
62. D. Lefort, J. Sorba, D. Rouillard, Там же, **1961**, 2219.
63. M. Loury, C. r., **256**, 2870 (1963).
64. K. Wilbur, F. Bernheim, O. Shapiro, Arch. biochem. biophys., **24**, 305 (1949).
65. M. Loury, A. Prevot, C. r. (C), **266**, 560 (1968).
66. D. Firestone, J. Am. Oil Chem. Soc., **40**, 247 (1963).
67. H. Wexler, Chem. Rev., **64**, 591 (1964).
68. V. Karnojitzky, Peintures, Pigments et Vernis, **39**, 144 (1963).
69. C. Swift, F. Dollear, R. O. Connor, Oil and Soap, **23**, 355 (1946).
70. E. Farmer, D. Sutton, J. Chem. Soc., **1943**, 119.
71. D. Atherton, T. Hilditch, Там же, **1944**, 105.
72. F. Gunstone, T. Hilditch, Там же, **1945**, 836.
73. F. Gunstone, T. Hilditch, Там же, **1946**, 1022.

74. C. Swift, F. Dollear, L. Brown, J. Am. Oil Chem. Soc., **25**, 39 (1948).
75. J. Ross, A. Greenhart, I. Gerlcht, J. Am. Chem. Soc., **71**, 283 (1949).
76. J. Skellon, J. Chem. Soc., **1948**, 343.
77. I. Gold, Там же, **1958**, 934.
78. N. Knight, Q. Reddy, D. Swern, J. Am. Oil Chem. Soc., **28**, 113 (1951).
79. D. Swern, N. Knight, W. Ault, J. Am. Chem. Soc., **67**, 1132 (1945).
80. C. Paquot, Ann. Nutrition et d'Alimentation, **134**, 327 (1958).
81. O. Privett, Fette und Seifen, **61**, 842 (1959).
82. E. Frankel, C. Evans, J. Cowan, J. Am. Oil Chem. Soc., **37**, 418 (1960).
83. A. Feuell, J. Skellon, J. Chem. Soc., **1952**, 59.
84. W. Ellis, Biochem. J., **46**, 129 (1950).
85. G. King, J. Chem. Soc., **1956**, 587.
86. M. Loury, C. Lechartier, Rev. Fr. des Corps Gras, **9**, 133 (1962).
87. J. Skellon, C. Taylor, J. Chem. Soc., **1952**, 1813.
88. J. Skellon, C. Taylor, Там же, **1953**, 1433.
89. C. Paquot, J. Mercier, Rev. Fr. des Corps Gras, **9**, 275 (1962).
90. J. Mercier, C. r. (C), **271**, 944 (1970).
91. O. Privett, W. Lundberg, N. Khan, J. Am. Oil Chem. Soc., **30**, 61 (1953).
92. J. Cannon, K. Zilch, Там же, **29**, 447 (1952).
93. A. Johnston, K. Zilch, H. Dutton, Там же, **38**, 367 (1961).
94. J. Pokorný, Nahrung, **12**, 747 (1968).
95. K. Fukusumi, N. Ikeda, J. Am. Oil Chem. Soc., **46**, 64 (1969).
96. H. Badings, Там же, **36**, 648 (1959).
97. R. Harvat, W. McFadden, H. Lane, A. Shilpherd, Там же, **43**, 351 (1966).
98. W. Colb, E. Day, Там же, **42**, 420 (1965).
99. D. Lillard, E. Day, Там же, **41**, 549 (1964).
100. L. Williamson, J. Appl. Chem., **3**, 301 (1953).
101. M. Loury, M. Forney, Rev. Fr. des Corps Gras, **15**, 367 (1968).
102. M. Loury, M. Forney, Там же, **15**, 663 (1968).
103. M. Marcuse, P. Fredericksen, J. Am. Oil Chem. Soc., **46**, 269 (1969).
104. J. Bolland, P. Ten-Have, Trans. Faraday Soc., **43**, 201 (1947).
105. J. Bolland, P. Ten-Have, Disc. Faraday Soc., **2**, 252 (1947).
106. S. Chang, F. Kummerow, J. Am. Oil Chem. Soc., **30**, 403 (1953).
107. O. Privett, C. Nickell, W. Tolberg, R. Paschke, D. Wheeler, W. Lundberg, J. Am. Oil Chem. Soc., **31**, 23 (1954).
108. E. Frankel, C. Evans, D. McCannel, H. Dutton, J. Org. Chem., **26**, 4663 (1961).
109. T. Kevon, D. Olcott, Nature, **210**, 214 (1966).
110. F. Kawahara, H. Dutton, J. Cowan, J. Am. Oil Chem. Soc., **29**, 633 (1952).
111. A. Gaddis, R. Ellis, C. Currie, J. Am. Oil Chem. Soc., **38**, 371 (1961).
112. R. Ellis, A. Gaddis, C. Currie, S. Pawel, Там же, **45**, 553 (1968).
113. M. Loury, M. Forney, Rev. Fr. des Corps Gras, **16**, 167 (1969).
114. E. Cruger, A. Tappel, J. Chromatogr., **40**, 277 (1969).
115. M. Brodnitz, W. Nawar, I. Fagerson, Lipids, **3**, 59 (1968).
116. M. Brodnitz, W. Nawar, I. Fagerson, Там же, **3**, 65 (1968).
117. C. Swift, F. Dollear, J. Am. Oil Chem. Soc., J. Am. Oil Chem. Soc., **26**, 297 (1949).
118. P. Swoboda, C. Lea, J. of Sci. of Food and Agricul., **16**, 680 (1965).
119. H. Von-Pezold, Fette und Seifen, **61**, 1019 (1959).
120. C. Hoffmann, J. Am. Oil Chem. Soc., **98**, 31 (1961).
121. C. Hoffmann, J. Keppler, Nature, **185**, 311 (1960).
122. T. Samouse, S. Chang, J. Am. Oil Chem. Soc., **44**, 508 (1967).
123. B. Mookheijee, S. Chang, Там же, **40**, 232 (1963).
124. C. Hoffmann, Там же, **38**, 1 (1961).
125. N. Kimoto, A. Gaddis, Там же, **46**, 403 (1969).
126. C. Hoffmann, P. Mejlum, Там же, **46**, 620 (1969).
127. M. Loury, G. Lechartier, Rev. Fr. des Corps Gras, **13**, 345 (1966).
128. E. Farmer, H. Sundralingham, J. Chem. Soc., **1942**, 121.
129. E. Hawkins, D. Quin, J. Appl. Chem., **6**, 1 (1956).
130. P. Dubouloz, J. Gandonnière, Bull. soc. chim. France, **1956**, 1339.
131. P. Dubouloz, J. Gandonnière, R. Merville, C. r. Soc. biol., **152**, 356 (1957).
132. P. Dubouloz, J. Gandonnière, R. Merville, Там же, **151**, 154 (1957).
133. P. Dubouloz, J. Fondarai, Bull. Soc. Chim. biol., **40**, 1521 (1958).
134. W. Brill, J. Am. Chem. Soc., **85**, 141 (1963).
135. D. Denney, J. Rosen, Tetrahedron, **20**, 271 (1964).
136. P. Dubouloz, J. Fondarai, Bull. Soc. Chim. Biol., **35**, 819 (1953).
137. S. Lewis, E. Wills, Biochem. Pharmacol., **11**, 901 (1962).
138. E. Wills, Там же, **7**, 7 (1961).
139. C. Little, P. O. Brien, Biochem. J., **103**, 13p (1966).

140. D. Menzel, *Lipids*, **2**, 83 (1967).
 141. E. Wills, *Biochem. Pharmacol.*, **2**, 276 (1959).
 142. H. Tauber, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 2251 (1940).
 143. R. Sumner, *J. Biol. Chem.*, **134**, 535 (1940).
 144. R. Sumner, Там же, **146**, 215 (1942).
 145. A. Kaineth, S. Haug e, *J. Agr. and Food Chem.*, **1**, 1001 (1953).
 146. B. Polister, J. Mead, Там же, **2**, 199 (1954).
 147. F. Quackenbusch, R. Cox, H. Stenbock, *J. Biol. Chem.*, **145**, 169 (1942).
 148. T. Hilditch, *Chem. a. Ind.*, **1944**, 67.
 149. J. Dasson, M. Stansby, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **26**, 475 (1949).
 150. C. Robson, J. Baxter, *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 940 (1943).
 151. E. Hove, L. Hove, *J. Biol. Chem.*, **156**, 623 (1944).
 152. H. Hove, L. Hove, Там же, **156**, 611 (1944).
 153. H. Kunkel, W. Nelson, Там же, **183**, 149 (1950).
 154. A. Tappel, *Arch. Biochem. Biophys.*, **47**, 223 (1953).
 155. H. Dam, I. Prange, E. Sondergaard, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **8**, 1 (1952).
 156. H. Dam, I. Prange, E. Sondergaard, Там же, **8**, 23 (1952).
 157. H. Dam, H. Granados, Там же, **8**, 47 (1953).
 158. H. Dam, P. Harris, M. Woodsid e, *Nature*, **150**, 91 (1952).
 159. T. Moore, *Biochem. J.*, **34**, 1321 (1940).
 160. P. Pavelc, G. Shull, *J. Biol. Chem.*, **146**, 351 (1942).
 161. J. Wizzing, T. Nishida, O. Johnston, E. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **34**, 421 (1957).
 162. C. Lea, *Chem. a. Ind.*, **1953**, 1303.
 163. J. Pien, *Mises au Point de Chim. Anal. Organ. Pharmac. et Bromatol.*, 3^e serie, Masson, Paris, 1955, стр. 85.
 164. L. Smith, E. Jack, *J. Dairy Sci.*, **42**, 767 (1959).
 165. J. Adda, *Le Lait*, **42**, 378 (1962).
 166. W. Stark, D. Forss, *J. Dairy Res.*, **29**, 173 (1962).
 167. W. Stark, D. Forss, Там же, **31**, 256 (1964).
 168. E. Hammond, F. Hill, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 180 (1964).
 169. R. Lawrence, *J. Hawke*, *Nature*, **197**, 1276 (1963).
 170. D. Forss, G. Pont, W. Stark, *J. Dairy Res.*, **22**, 31 (1955).
 171. D. Forss, E. Dunstone, W. Stark, Там же, **27**, 211 (1960).
 172. E. Day, Там же, **43**, 1360 (1960).
 173. D. Forss, E. Dunstone, W. Stark, Там же, **27**, 381 (1960).
 174. D. Forss, E. Dunstone, W. Stark, Там же, **27**, 373 (1960).
 175. J. Mercier, *Annales de Nutrition et d'Alimentation*, **16**, № 3, 59 (1962).
 176. R. Hannon, *Nature*, **169**, 152 (1952).
 177. R. Hannon, S. Shepard, Там же, **170**, 1021 (1952).
 178. J. Chipault, *Ind. Eng. Chem.*, **49**, 1713 (1957).
 179. E. Lee, A. Wagkenrech, *Food Res.*, **16**, 239 (1951).
 180. E. Lee, A. Wagkenrech, Там же, **17**, 343 (1952).
 181. E. Lee, Там же, **19**, 215 (1956).
 182. E. Lee, Там же, **21**, 605 (1956).
 183. R. Buttery, C. Hendel, M. Biggs, *J. Agric. Food Chem.*, **9**, 241 (1961).
 184. B. Watts, D. Peng, *J. Biol. Chem.*, **170**, 441 (1947).
 185. А. Козин, П. Школьников, *ДАН*, **65**, 789 (1949).
 186. Е. А. Бойченко, Г. Н. Саенко, Там же, **138**, 1453 (1961).
 187. П. Колесников, *Биохимия*, **13**, 370 (1948).
 188. П. Колесников, Там же, **14**, 124 (1949).
 189. P. Dubouloz, R. Merville, *C. r. Soc. biol.*, **146**, 1756 (1952).
 190. P. Dubouloz, J. Laurent, J. Fondarai, *Bull. Soc. Chim. France*, **1953**, 669.
 191. P. Dubouloz, J. Laurent, *C. r. Soc. biol.*, **150**, 216 (1956).
 192. A. Davies, T. Moore, *Nature*, **147**, 794 (1941).
 193. H. Dam, H. Granados, *Science*, **102**, 327 (1945).
 194. K. Robinson, E. Coly, *Nature*, **168**, 997 (1951).
 195. B. Beadle, O. Widler, H. Graybill, *J. Biol. Chem.*, **175**, 221 (1941).
 196. J. Oldfield, R. Sinhuber, A. Rasheed, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 357 (1963).
 197. A. Tappel, *Arch. biochem. biophys.*, **54**, 266 (1963).
 198. A. Venolia, A. Tappel, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **35**, 135 (1958).
 199. T. Nishida, F. Kummerow, *J. Lip. Res.*, **1**, 450 (1959).
 200. K. Narayan, F. Kummerow, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 339 (1963).
 201. K. Narayan, M. Pugal, F. Kummerow, Там же, **41**, 204 (1964).
 202. I. Andrews, J. Bjorksten, E. Trink, Там же, **42**, 778 (1965).
 203. K. Narayan, F. Kummerow, Там же, **35**, 51 (1958).
 204. I. Desai, A. Tappel, *J. Lipids Res.*, **4**, 204 (1963).
 205. W. Roubal, A. Tappel, *Arch. biochem. biophys.*, **113**, 5 (1966).

206. W. Roubal, A. Tappel, Там же, **113**, 150 (1966).
 207. S. Hartroft, Science, **113**, 678 (1951).
 208. B. Casselman, Biochim. biophys. acta, **11**, 445 (1953).
 209. B. Casselman, Там же, **11**, 446 (1953).
 210. B. Lalor, W. Leoschke, C. Elvehjem, J. of Nutrition, **45**, 183 (1951).
 211. J. Glavind, S. Hartman, Acta Pathol. Microbiol. Scand., **30**, 1 (1952).
 212. J. Glavind, S. Hartman, Там же, **29**, 73 (1971).
 213. H. Dam, J. of Nutrition, **27**, 193 (1944).
 214. H. Dam, K. Nielsen, I. Prange, E. Sondergaard, Nature, **182**, 809 (1958).
 215. H. Dam, J. of Nutrition, **28**, 297 (1944).
 216. E. Greech, M. Bahman, B. Reid, J. Couch, Там же, **64**, 55 (1958).
 217. B. Century, M. Horvitt, Arch. biochem. biophys., **104**, 416 (1964).
 218. J. Machlin, J. Am. Oil Chem. Soc., **40**, 368 (1963).
 219. J. Machlin, S. Gordon, J. Morr, W. Pope, J. of Nutrition, **76**, 284 (1962).
 220. J. Machlin, Feder. Proc., **21**, 474 (1962).
 221. H. Granados, H. Dam, Science, **101**, 250 (1945).
 222. E. Aaes-Jorgensen, H. Dam, H. Granados, Acta Pharmacol. Toxicol., **7**, 170 (1951).
 223. J. Glavind, H. Granados, S. Hartman, Experientia, **5**, 84 (1949).
 224. T. Moore, Biochem. J., **37**, 112 (1943).
 225. J. Irving, Nature, **184**, 645 (1959).
 226. C. McKenzie, M. McCollum, Science, **94**, 216 (1941).
 227. H. Draper, Nature, **180**, 1419 (1957).
 228. H. Dam, H. Granados, Acta Pharmacol. Toxicol., **7**, 181 (1951).
 229. W. Witt, K. Schwarz, Experientia, **14**, 28 (1958).
 230. J. McLean, J. Beveridge, J. of Nutrition, **52**, 499 (1954).
 231. J. McLean, J. Beveridge, Там же, **41**, 55 (1952).
 232. O. Lindau, E. Work, Biochem. J., **48**, 30i (1951).
 233. H. Dam, Experientia suppl., **1**, 195 (1953).
 234. H. Dam, Pharmacol. Rev., **9**, 1 (1957).
 235. F. Christiansen, H. Dam, I. Prange, E. Sondergaard, Acta Pharmacol. Toxicol., **15**, 181 (1958).
 236. O. Johnson, F. Kummerow, J. Am. Oil Chem. Soc., **34**, 407 (1957).
 237. L. Wischner, M. Keenly, Там же, **42**, 776 (1965).
 238. E. Perkins, Там же, **42**, 782 (1965).
 239. D. Firestone, W. Horowitz, G. Shue, Там же, **38**, 253 (1961).
 240. C. Poling, W. Warner, P. Mone, F. Rice, Там же, **39**, 315 (1962).
 241. T. Dornseifer, S. Keith, J. Powers, Там же, **42**, 1073 (1965).
 242. R. Kisnamoorthy, T. Kawada, S. Chang, Там же, **42**, 878 (1965).
 243. D. Melnick, F. Luckmann, C. Gooding, Там же, **35**, 271 (1958).
 244. S. Chang, B. Watts, Там же, **29**, 334 (1952).
 245. P. Dubouloz, J. Fondarai, C. Lagarde, Biochim. biophys. acta, **3**, 371 (1949).
 246. J. Glavind, N. Tryding, Acta Physiol. Scand., **49**, 97 (1960).
 247. J. Andrews, H. Griffith, J. Mead, R. Stein, J. of Nutrition, **70**, 199 (1960).
 248. A. Chaharidjan, L. Morris, R. Holman, Там же, **76**, 52 (1962).
 249. M. Hanson, Chem. a. Ind., **1964**, 1541.
 250. C. Lea, Там же, **1965**, 244.
 251. O. Johnson, T. Sekuragi, F. Kummerow, J. Am. Oil Chem. Soc., **33**, 433 (1956).
 252. J. Raulin, Journée d'Etude sur l'Alteration oxydative des corps gras, Marseille, 23 mars 1967, pp. 57—70.
 253. F. Rice, C. Poling, P. Mone, W. Warner, J. Am. Oil Chem. Soc., **37**, 606 (1960).
 254. O. Johnson, E. Perkins, M. Sugai, F. Kummerow, Там же, **34**, 594 (1957).
 255. D. Melnick, Там же, **34**, 351 (1957).
 256. A. Dungoumau, F. Berlierau, H. Debruyne, Rev. Fr. Corps Gras, **4**, 541 (1957).
 257. A. Dungoumau, D. Boussagnol, H. Debruyne, Там же, **5**, 613 (1958).
 258. N. Raju, N. Narayana, R. Rajagopalan, J. Am. Oil Chem. Soc., **42**, 774 (1965).
 259. J. Andrews, J. Mead, W. Griffith, Feder. Proc., **15**, 918 (1956).
 260. W. Matsuo, J. Biochemistry, **41**, 647 (1954).
 261. H. Kaunitz, C. Stanetz, Feder. Proc., **14**, 408 (1955).
 262. R. Holman, S. Greenberg, J. Am. Oil Chem. Soc., **35**, 707 (1958).
 263. P. O. Brien, A. Frazer, Proc. Nutr. Soc., **25**, 9 (1966).
 264. H. Kaunitz, C. Stanetz, H. Johnson, J. Am. Oil Chem. Soc., **93**, 630 (1956).
 265. P. Kotin, H. Falk, Rad. Res. Suppl., **3**, 3 (1963).
 266. J. Raulin, J. Petit, Arch. Sci. Physiol., **14**, 143 (1960).
 267. R. Holman, S. Greenberg, Arch. biochem. biophys., **49**, 49 (1954).

268. B. Potteau, J. Leclerc, J. Causeret, R. Cluzan, *Rev. Fr. des Corps Gras*, **13**, 379 (1966).
269. J. Raulin, J. Petit, *Arch. Sci. Physiol.*, **16**, 77 (1962).
270. J. Raulin, T. Terroine, Там же, **16**, 89 (1962).
271. R. Barnes, M. Clausen, I. Rusoff, H. Hanson, Там же, **2**, 313 (1948).
272. P. Dubouloz, *Rev. Fr. des Corps Gras*, **4**, 24 (1957).
273. E. Perkins, *Food Technology*, **14**, 508 (1960).
274. T. Hilditch, F. Williams, *Chemical Constitution of natural fats*, Chapter & Co, Lond., 1964.
275. M. Horvitt, C. Harvey, *B. Century, Science*, **130**, 917 (1959).
276. L. Witting, C. Harvey, *B. Century, M. Horvitt, J. Lip. Res.*, **2**, 412 (1961).
277. L. Machlin, C. Mareo, R. Gordon, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 229 (1962).
278. K. Bernhard, *Oleagineux*, **13**, 19 (1958).
279. E. LeBreton, Там же, **13**, 25 (1958).
280. P. Dubouloz, J. Dumas, *C. r. Soc. biol.*, **144**, 1080 (1950).
281. P. Dubouloz, J. Dumas, Там же, **146**, 1350 (1952).
282. P. Dubouloz, J. Dumas, *C. r.*, **234**, 2575 (1952).
283. P. Dubouloz, J. Dumas, *Bull. Soc. Chim. biol.*, **36**, 983 (1954).
284. J. Dumas, *These doctorat Sci. Nat.*, Marseille, 1954.
285. P. Dubouloz, J. Fondarai, J. Laurent, R. Marville, *Analyt. Chim. Acta*, **15**, 84 (1956).
286. P. McGraw, *Nature*, **198**, 98 (1963).
287. R. Gerschman, D. Gilbert, S. Nye, *Science*, **119**, 623 (1954).
288. N. Milas, R. Harris, A. Golbolic, *Rad. Res. Suppl.*, **3**, 71 (1963).
289. S. El-Kabib, U. Chenau, M. Carpenter, R. Caputto, *Nature*, **201**, 188 (1964).
290. N. Milas, N. Belic, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3358 (1959).
291. E. Wills, J. Rotblatt, *Int. J. Rad. Biol.*, **8**, 551 (1964).
292. E. Wills, *Biochem. J.*, **99**, 667 (1966).
293. H. Abramson, *J. Biol. Chem.*, **178**, 179 (1949).
294. F. Bernheim, *Rad. Res. Suppl.*, **3**, 17 (1963).
295. A. Barber, Там же, **3**, 33 (1963).
296. E. Prutchard, H. Singh, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2**, 184 (1960).
297. J. Bieri, A. Anderson, *Arch. biochem. biophys.*, **90**, 105 (1960).
298. A. Barber, *Lipids*, **1**, 146 (1966).
299. N. Wolfson, K. Wilbur, *Exp. Cell. Res.*, **10**, 556 (1956).
300. E. Hill, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **40**, 360 (1963).
301. T. Richardson, A. Tappel, L. Smith, C. Houle, *J. Lip. Res.*, **3**, 344 (1969).
302. T. Richardson, A. Tappel, C. Cruger, *Arch. biochem. biophys.*, **94**, 1 (1961).
303. A. Marjorie, A. Swanson, C. Arton, *J. Biol. Chem.*, **187**, 281 (1950).
304. M. Spiro, J. McKibbin, Там же, **217**, 643 (1956).
305. A. Tappel, H. Zalkin, *Arch. biochem. biophys.*, **80**, 326 (1959).
306. A. Tappel, H. Zalkin, Там же, **80**, 333 (1959).
307. E. Bernheim, K. Wilbur, C. Kenaston, *Arch. biochem. biophys.*, **38**, 177 (1952).
308. A. Ottolenghi, E. Bernheim, K. Wilbur, Там же, **56**, 156 (1955).
309. A. Ottolenghi, Там же, **79**, 355 (1959).
310. S. Fortney, W. Lynn, Там же, **104**, 241 (1964).
311. H. Zalkin, A. Tappel, Там же, **88**, 113 (1960).
312. Z. Corwin, Там же, **97**, 51 (1962).
313. H. Kinura, F. Kummerow, Там же, **102** (1963).
314. A. Tappel, H. Zalkin, *Nature*, **185**, 35 (1960).
315. A. Kitabchi, P. McCay, M. Carpenter, R. Trucco, R. Caputto, *J. Biol. Chem.*, **235**, 1591 (1960).
316. R. Coputto, R. Trucco, A. Kitabchi, *Ann. Acad. Sci. N. Y.*, **92**, 79 (1961).
317. P. Hochstein, L. Ernster, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **12**, 388 (1963).
318. D. Desai, P. Sawant, A. Tappel, *Biochim. biophys. acta*, **86**, 277 (1964).
319. E. Wills, A. Wilkinson, *Biochem. J.*, **99**, 657 (1966).
320. R. Heath, L. Packer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **19**, 716 (1965).
321. C. Tsien, H. Collier, *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **38**, 981 (1960).
322. J. Bunyan, J. Green, E. Edwin, A. Diplock, *Biochem. J.*, **77**, 47 (1960).
323. F. Christiansen, H. Dam, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **7**, 167 (1951).
324. F. Christiansen, H. Dam, R. Gortner, E. Sondergaard, *Acta Physiol. Scand.*, **35**, 215 (1956).
325. M. Horvitt, C. Harvey, B. Meyer, *Feder. Proc.*, **17**, 245 (1958).
326. O. Privett, F. Quackenbusch, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 321 (1954).
327. E. Have, P. Harris, Там же, **28**, 405 (1951).
328. A. Tappel, W. Brown, H. Zalkin, V. Maier, Там же, **38**, 5 (1961).

329. C. Columbic, H. Matill, J. Am. Chem. Soc., **63**, 1279 (1941).
330. O. Gloor, F. Weber, J. Wush, O. Wiss, Helv. Chim. Acta, **46**, 2457 (1963).
331. S. Csallany, H. Draper, Arch. biochem. biophys., **96**, 142 (1962).
332. F. Weber, O. Wiss, Helv. Physiol. Pharmacol. Acta, **21**, 131 (1962).
333. S. Csallany, H. Draper, Arch. biochem. biophys., **100**, 335 (1963).
334. S. Csallany, M. Chiu, H. Draper, Lipids, **5**, 63 (1970).
335. F. Gruger, A. Tappel, Там же, **5**, 326 (1970).
336. F. Kummerow, Feder. Proc., **23**, 1053 (1964).
337. H. Zalkin, A. Tappel, P. Jordan, Arch. biochem. biophys., **91**, 117 (1960).
338. L. Witting, Feder. Proc., **24**, 912 (1965).
339. A. Mellas, A. Tappel, J. Biol. Chem., **241**, 4353 (1966).
340. J. Green, A. Diplock, J. Bunyan, E. Edwin, D. McHale, Nature, **199**, 318 (1961).
341. G. Rao, K. Achaya, J. Am. Oil Chem. Soc., **45**, 297 (1968).
342. J. Bieri, Nature, **184**, 1148 (1959).
343. J. Bieri, E. Andrews, J. Am. Oil Chem. Soc., **40**, 365 (1963).
344. A. Tappel, Feder. Proc., **24**, 73 (1965).
345. C. Columbic, J. Am. Oil Chem. Soc., **63**, 1142 (1941).
346. J. Glavind, E. Sundergaard, H. Dam, Acta Pharmacol. Toxicol., **18**, 267 (1961).
347. V. Horgan, L. Philpot, W. Portner, D. Roodyn, Biochem. J., **67**, 551 (1957).
348. N. Uri, Chem. Rev., **50**, 875 (1952).
349. Е. Т. Денисов, Н. М. Эмануэль, Усп. химии, **29**, 1409 (1960).
350. Д. Г. Кнорре, З. К. Майзус, Л. К. Обухова, Н. М. Эмануэль, **26**, 416 (1957).
351. A. Martin, Organic Analysis, N. Y., 1960, Т. 4, стр. 1—58.
352. V. Karnoijitzky, Mises au Point de Chim. anal. organ. pharmac. et bromatol., 12 serie, 1964, стр. 43—106.
353. R. Johnson, I. Siddiqi, The Determination of organic peroxydes (Monographie of organic functional group analysis), Pergamon Press, Lond., 1970.
354. E. Hawkins, Organic Peroxides, Spon Ltd., Lond., 1961.
355. A. Davies, Organic Peroxides, Butterworth, Lond., 1961.
356. J. Edwards, Peroxides reactions mechanisms, Wiley & Sons, N. Y., 1962.
357. H. Winter, Peroxyde organische, Ullmanns Encyclopädie des Technischer Chem., 1962, т. 13, стр. 249—258.
358. O. Mageli, C. Shappard, I. Edwards, R. Curie, Encyclopedia of Chem. Technol., Kirk-Othmer, 2-e ed., 1967, т. 14, стр. 766—834.
359. D. Szwern, Organic Peroxides, Wiley Intersc., N. Y., 1970.

О. Н. Е. Р. А., Шатильон, Франция