

УДК 547.915.5

## БИОХИМИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ \*

## В. Карножицкий

Статья посвящена перекисям ненасыщенных липидов; изложен процесс их образования, показано каталитическое 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, протеновые 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. Описано появление перекисей липидов во время фотосинтеза, а также их участие в образовании кутина.

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

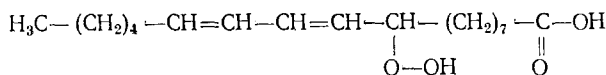
Биохимической роли органических перекисей и их синтезу была посвящена статья <sup>1</sup>; работа <sup>2</sup> связана с радиобиологией. В настоящей статье рассмотрены исключительно перекиси липидов, приведены ссылки на статьи, опубликованные до 1970 года, большая часть которых появилась в печати после 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

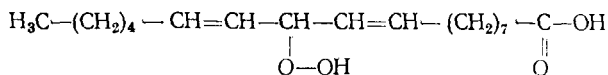
\* Обзор написан специально для журнала «Успехи химии». Перев. с франц. Т. В. Чернышевой.

\* В дальнейшем изложении непредельные кислоты будут обозначены 20:5 — кислота  $C_{20}$  с 5-ю двойными связями; 22:6 — кислота  $C_{22}$  с 6-ю двойными связями и т. д. *Прим. ред. перевода.*





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



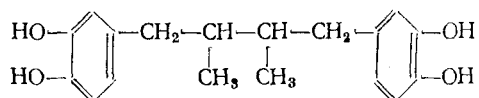
Следует заметить, что гидроперекиси, получаемые при окислении, катализированном липоксидазой, в противоположность гидроперекисям, образовавшимся при автоокислении, оптически активны. Эти результаты доказывают стереоспецифичность каталитического действия липоксидазы.

Механизм окисления, катализированного липоксидазой, подробно обсужден в статье<sup>37</sup>.

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

Изучено<sup>31</sup> ингибирующее действие различных фенольных соединений на окисление водного раствора  $7 \cdot 10^{-3}$  М, линолеата натрия при pH 9, катализированное липоксидазой сои при температурах от 0,25 до 30°. Степень ингибирования (измеренная в процентах к уменьшению скорости поглощения  $\text{O}_2$ ) увеличивается с повышением температуры. В случае нордигидрогвайретиновой кислоты при концентрации  $10^{-4}$  М/л она составляет 100% при 30, а при 0° — только 32%. При 30° и той же концентрации относительные степени ингибирования для  $\alpha$ -токоферола, гидрохинона, пропилового эфира галловой кислоты, нордигидрогвайретиновой кислоты равны соответственно 27, 38, 100 и 100%. Нордигидрогвайретиновая 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  $\alpha$ -токоферола привели к различным результатам, в зависимости от природы липоксидазы<sup>37</sup>.

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, каталитическое действие липоксидазы отражено в четырех общих статьях, содержащих важные исторические данные<sup>8, 40-42</sup>.

### 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 (прогорклость).

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 углеводов<sup>43</sup>. Однако их каталитическое действие проявляется только в коллоидной среде или в эмульсии, но не в гомогенной системе (липоксидазы активны и в гетерогенной и в гомогенной среде). Так, при окислении линолевой кислоты, катализированном геминном, 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 среде<sup>44</sup>.

Скорость окисления увеличивается со степенью ненасыщенности субстрата. Так, при окислении метиловых эфиров олеиновой, линолевой и линоленовой кислот (концентрация  $2 \cdot 10^{-2}$  М), в эмульсии при 0°, катализированном геминном (концентрация  $2 \cdot 10^{-5}$  М), скорости поглощения кислорода соответственно равны 1,3 и 6<sup>45</sup>.

Скорость окисления пропорциональна квадратному корню из концентрации гематинового соединения. Это было подтверждено в случае окисления водной эмульсии  $10^{-1}$  М линолеата аммония, катализированного гемоглобином<sup>45</sup>, цитохромом С<sup>45</sup> и миоглобином<sup>46</sup> при изменении концентраций катализатора от 1 до  $7 \cdot 10^{-6}$  М.

Очень важно, что при больших концентрациях (порядка от  $10^{-3}$  М до  $10^{-2}$  М на 1 М субстрата) гематиновые соединения ингибируют окисление ненасыщенных липидов. Исследование<sup>46</sup> окисления водной эмульсии  $17 \cdot 10^{-3}$  М линолевой кислоты показало, что гемоглобин, являясь активным катализатором при концентрации  $4 \cdot 10^{-6}$  М, становится ингибитором при концентрации  $4 \cdot 10^{-5}$  М; гемин и цитохром С становятся ингибиторами при концентрациях больше  $10^{-4}$  М. Констатируется также<sup>47</sup> 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  $2 \cdot 10^{-1}$  М эмульсий (рН 6,8) линолевой и линоленовой кислот, катализированном гемоглобином и геминном<sup>48</sup>.

То, что каталитическое 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.

$\alpha$ -Нафтол, пирокатехин, *p*-аминофенол и диметиланилин оказались эффективными ингибиторами при окислении водных эмульсий олеиновой кислоты и льняного масла при 38°, катализированном геминном<sup>49</sup>. Действие различных фенольных ингибиторов,  $\alpha$ -токоферола, НДГА, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метиланизола было рассмотрено при исследовании<sup>50</sup> окисления коллоидного линолеата натрия (0,2 М) при 37°, катализированного гемоглобином и цитохромом С. Концентрация гематинового соединения  $2 \cdot 10^{-5}$  М/л. Оказалось, что  $\alpha$ -токоферол является более слабым ингибитором, чем НДГА. Действительно, в случае окисления, катализированного гемоглобином, тридцатиминутный индукционный период достигается уже при концентрации НДГА  $2 \cdot 10^{-5}$  М/л, тогда как

концентрация  $\alpha$ -токоферола для получения такого же эффекта, должна быть в 10 раз больше. Аналогичные результаты получены и в случае цитохрома С. В исследованиях<sup>50, 51</sup> подробно рассмотрено действие различных фенольных ингибиторов и синергетических агентов (некоторых аминокислот, аскорбиновой кислоты) на окисление метилолеата и метиллинолеата, свиного жира, жира тресковой печени и льняного масла при 37°, катализируемое гемом, гемоглобином и цитохромом С.

Как и в предыдущем случае, ингибирующее действие  $\alpha$ -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°, катализируемом гемоглобином, аскорбиновая кислота оказалась превосходным синергетическим агентом в узкой области концентраций от  $10^{-4}$  до  $10^{-3}$  М/кг. Оптимальные концентрации ингибитора и синергетического агента в молях на килограмм таковы:

{	НДГА	$10^{-2}$	{	НДГА	$10^{-4}$
	аскорбиновая кислота	$10^{-3}$		2,6-ди- <i>трет</i> .-бутил-4-метилфенол	$10^{-4}$
				аскорбиновая кислота	$10^{-4}$

Эти композиции увеличивают индукционный период в 85—300 раз соответственно. Окисление, катализируемое гематиновыми производными, может быть ингибировано и другими соединениями, а не только обычными ингибиторами автоокисления в цепи. Так, при автоокислении 0,1 М эмульсии олеиновой кислоты при 37° лейко-производное метиленового синего (при концентрации  $10^{-3}$  М/л) в 20 раз увеличивает скорость поглощения кислорода, тогда как при окислении, катализируемом гемом (при концентрации  $10^{-5}$  М/л) 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. Разложение<sup>43</sup> 0,1 М эмульсии перекиси линолеата натрия при 40°, катализируемое гемом (концентрация  $2,10^{-4}$  М/л), показало, что содержание перекиси, особенно вначале, уменьшается быстрее в присутствии гема, 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 М/М линолеата.

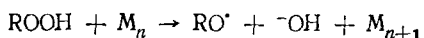
Обсуждению каталитического действия различных гематиновых соединений: каталазы, гемоглобина, гематина, цитохрома С при разложении гидроперекиси линолеата натрия посвящена статья<sup>52</sup>.

Образование радикалов  $RO\cdot$  в процессе разложения объясняют высоким выходом соответствующих карбанионов в присутствии таких соединений — доноров водорода, как полифенолы<sup>53</sup>.

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

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

киси с образованием радикалов  $RO\cdot$ , которые, по-видимому, инициируют реакцию окисления, о целом 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 протсина, а не от металла, как в предыдущем случае.

Кроме классической реакции обрыва цепей  $ROO\cdot + \cdot OOR \rightarrow ROOR + O_2$ , по-видимому, протекает также взаимодействие перекисных радикалов с гематиновыми соединениями<sup>45</sup>, 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<sup>8, 43, 44, 52-55</sup>.

#### 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 исследования<sup>56</sup>. 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*/л (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. Изучена<sup>57</sup> каталитическая 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 каталитическая активность  $Fe^{3+}$  сильно увеличивается в присутствии такого восстановителя, как аскорбиновая кислота или цистеин, 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*/л соответственно.

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

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

Фосфаты при концентрации выше  $10^{-1}$  *M*/л 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  $\alpha, \alpha'$ -дипиридила, тогда как *о*-фенантролин ( $2 \cdot 10^{-3}$  М/л) ее слегка увеличивает, но она совершенно не изменяется при одновременном присутствии металлов и агентов комплексообразования, указанных ниже. Все металлы применяются при концентрации  $10^{-3}$  М/л (за исключением  $\text{Co}^{2+}$   $5 \cdot 10^{-4}$  М/л) с отношением

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

изменяющимся от 0 до 5.

При применении *о*-фенантролина, когда  $K$  изменяется от 0 до 2, скорость поглощения  $\text{O}_2$  увеличивается в 60 раз в случае  $\text{Fe}^{2+}$  и уменьшается в 170 раз в случае  $\text{Co}^{2+}$ , а в случае  $\text{Cu}^{2+}$  увеличивается только в два раза

8-Оксихинолин оказывает менее сильное модифицирующее действие, чем *о*-фенантролин. Действительно, когда  $K$  изменяется от 0 до 2, скорость поглощения  $\text{O}_2$  увеличивается только в 16 раз в случае  $\text{Fe}^{2+}$  и уменьшается в 2—4 раза в случае  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$ , соответственно.

Альбумин кровяной сыворотки и яичный альбумин (при весовой концентрации 1%) соответственно увеличивают в 1,9—3,5 раза скорость поглощения  $\text{O}_2$  при окислении линолевой кислоты, катализированном системой  $\text{Fe}^{3+}$  ( $10^{-3}$  М) + аскорбиновая кислота ( $10^{-3}$  М).

Каталитическая активность  $\text{Cu}^{2+}$  тоже увеличивается в присутствии некоторых протеинов. В одном из исследований<sup>58</sup>, относящемся к окислению  $10^{-1}$  М коллоидного раствора линолеата  $\text{NH}_4$  ( $0^\circ$  и рН 7), катализированному ионами  $\text{Cu}^{2+}$  ( $10^{-3}$  М/л), было показано, что яичный альбумин ( $10^{-4}$  М/л) в 5 раз увеличивает скорость поглощения  $\text{O}_2$ . 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  $\text{Fe}^{3+}$  + аскорбиновая кислота и полностью останавливает ее при двадцатикратном разбавлении. Аналогичное, но смягченное действие она оказывает на каталитическую активность  $\text{Co}^{2+}$ , 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 (рН 7) в гомогенате мозга крысы<sup>59</sup>. Ингибирующее действие сыворотки должно быть следствием образования комплекса  $\text{Fe}^{3+}$  из сидерофилина сыворотки.

Из большого числа аминокислот только гистидин и его производное, гистидил-гистидин, оказались очень эффективными ингибиторами при окислении линолевой кислоты, катализированном  $\text{Co}^{3+}$  ( $2 \cdot 10^{-4}$  М/л). Ингибирующее действие очень сильно зависит от рН, становясь совершенно незначительным в кислой среде. Например, при рН 7 гистидин ( $4$  М/атом  $\text{Co}^{2+}$ ) в 50 раз уменьшает скорость поглощения  $\text{O}_2$ , тогда как при рН 5 скорость поглощения кислорода уменьшается только на 1%.

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

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

# V. ПРИРОДА СОЕДИНЕНИЙ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ ПЕРЕКИСЕЙ ЛИПИДОВ

Ненасыщенный липид, отвечающий общей формуле  $R-CH_2-CH=CH-R'$  ( $R'$  — насыщенный или ненасыщенный), прежде всего образует гидроперекись  $R-\underset{\substack{| \\ O-OH}}{CH}-CH=CH-R'$ . Эта гидроперекись подвергается

гомолитическому разложению на радикалы  $R\dot{C}H-CH=CH-R'$  и  $\cdot OH$ .

Радикалы  $\cdot OH$  могут взаимодействовать с исходным липидом, атакуя двойные связи с образованием диоксисоединения  $R-CH_2-CH(OH)-CH(OH)-R'$ , которое, в результате дегидратации, может привести к соответствующим оксикетону и дикетону.

Радикалы  $\cdot OH$  могут также атаковать  $\alpha$ -метиленовый углерод с образованием  $H_2O$  и радикала  $R-\dot{C}H-CH=CH-R'$  (последний участвует в цепной реакции окисления).

Радикалы  $R-\underset{\substack{| \\ O\cdot}}{CH}-CH=CH-R'$  могут участвовать в цепной реак-

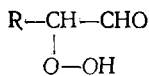
ции, атакуя исходный липид с образованием монооксисоединения  $R-CH(OH)-CH=CH-R'$  и регенерацией радикала  $R-\dot{C}H-CH=CH-R'$ . Они могут также разлагаться в двух направлениях: 1) с разрывом двойной связи в  $\alpha$ -положении с образованием альдегида  $RCHO$  и радикалов  $\dot{C}H=CH-R'$ ; эти радикалы в соединении с радикалами  $\cdot OH$  дают неустойчивый енол  $HO-CH=CH-R'$ , изомеризующийся в альдегид  $OSCH-CH_2-R'$ , такой разрыв приводит к образованию двух насыщенных альдегидов (при насыщенном  $R'$ ); 2) с разрывом двойной связи в  $\beta$ -положении и образованием радикалов  $R\cdot$  и альдегида  $O=CH-CH=CH-R'$ .

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

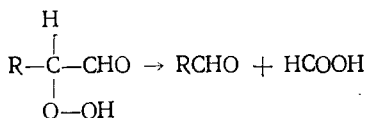
Образовавшиеся таким образом альдегиды, в свою очередь, подвергаются деструктивному окислению, по двум параллельным реакциям. Так, альдегид с  $C_n$ , представленный общей формулой  $RCH_2CHO$  может окисляться в перекись  $R-CH_2-C(=O)-O-OH$ , которая затем разлагается

на спирт  $C_{n-1}RCH_2OH$  и  $CO_2$ <sup>60-62</sup> (или реагирует с исходным альдегидом, образуя кислоту  $RCH_2COOH$ ).

Альдегид может также окисляться в альдегидную гидроперекись

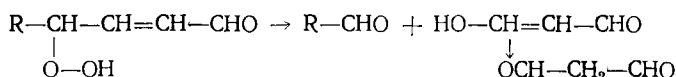


Эта гидроперекись разлагается гомолитически с последующим отрывом атомов углерода в  $\alpha$ - или в  $\beta$ -положении по отношению к карбонильной функциональной группе<sup>63</sup>. Разрыв в  $\alpha$ -положении ведет к альдегиду с  $C_{n-1}$  и муравьиной кислоте

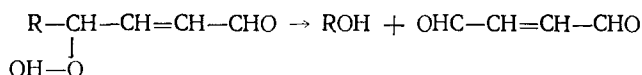


Разрыв в  $\beta$ -положении дает спирт  $C_{n-2}$  ROH и глиоксаль.

В случае  $\alpha$ -непредельного альдегида  $R-CH_2CH=CH-CHO$  (с  $C_n$ ) должно иметь место образование гидроперекиси в  $\alpha$ -положении по отношению к двойной связи (т. е. в  $\gamma$ -положении по отношению к карбонильной группе), которая, по-видимому, может разлагаться вследствие разрыва в  $\alpha$ -положении на альдегид с  $C_{n-3}$   $R-CHO$  и малоновый альдегид:



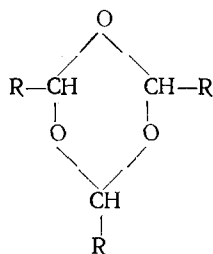
или в  $\beta$ -положении на спирт с  $C_{n-4}$  ROH и фумаровый альдегид:



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

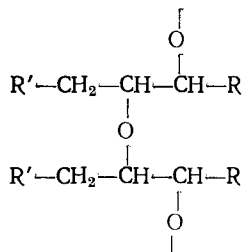
Изложенное выше объясняет образование большого числа карбонильных и окси-соединений с короткой цепью, а также образование муравьиной кислоты во время окисления многочисленных ненасыщенных липидов. Малоновый диальдегид заслуживает особого упоминания; с тиобарбитуровой кислотой он дает красное окрашивание. Эта реакция часто применялась для количественного определения перекисей в биологических средах и была обсуждена в <sup>64</sup>. Следует отметить также образование формиатов <sup>65</sup>, 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:



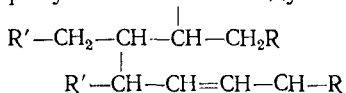
Может происходить образование полимеров двух типов.

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 получают в этом случае в результате действия диоксисоединений на олефиновое соединение с отщеплением  $\text{H}_2\text{O}$ . Они образуются при термическом разложении гидроперекиси в инертной атмосфере. Необходимо отметить, что полимеры могут содержать в цепях некоторые функциональные группы:  $\text{HO}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ , образующиеся в результате атаки по  $\alpha$ -метиленовому углероду или по двойной связи.

При высокой температуре ( $>250^\circ$ ) и даже в отсутствие  $\text{O}_2$  может протекать образование полимеров с циклогексеновыми ядрами вследствие присоединения по реакции Дильса — Альдера сопряженного полиолефинового соединения к исходному несопряженному полиолефиновому соединению. Механизм образования различных типов полимеров, а также их определение, явились темой публикации, содержащей 60 ссылок на литературу<sup>66</sup>. Автоокисление ненасыщенных липидов было рассмотрено в большой работе, содержащей 192 ссылки<sup>67</sup>. Другая статья была посвящена различным перекисям сложных эфиров жирных ненасыщенных кислот<sup>68</sup>.

Из мононенасыщенных липидов наиболее изучены производные олеиновой кислоты. Гидроперекись метилолеата была выделена с 85%-ной чистотой. Ее свойства описаны в<sup>68-70</sup>. Это — жидкость, не имеющая цвета и запаха, легко растворимая в органических растворителях, медленно разлагающаяся при комнатной температуре, быстро — при  $120^\circ$  и за 15 мин. при  $150^\circ$ . Изучено автоокисление метилолеата<sup>71-81</sup>. Из исследования<sup>78</sup> 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  $\text{H}_2\text{O}$ , моно- и диоксиметилстеараты, насыщенные альдегиды с  $\text{C}_7$ — $\text{C}_9$ , ненасыщенные альдегиды  $\text{C}_{10}$  и  $\text{C}_{11}$ , полуальдегиды пробковой и азелаиновой кислот. Заметим, что  $\alpha$ -ундеценаль является основным соединением, получающимся в результате прямого разложения гидроперекиси метилолеата при  $150^\circ$ . Образование указанных выше карбонильных соединений объясняется на основе рассуждений, изложенных в предыдущем разделе, поскольку группа  $\text{OON}$  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  $65^\circ$  (в присутствии олеата  $\text{Co}^{2+}$ ), содержат эфирные связи<sup>79</sup>. Полимеры, получающиеся при разложении гидроперекиси при  $210^\circ$ <sup>82</sup>, являются карбоцепными.

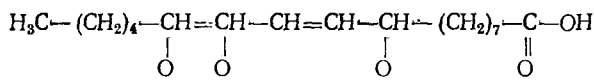
Автоокисление эфиров олеиновой кислоты, высших гомологов метил-, этил- и пропилолеата, тоже явилось объектом исследования<sup>83</sup>; соответствующие гидроперекиси выделены не были. Следует заметить, что максимальная концентрация гидроперекиси при данной температуре уменьшается с увеличением молекулярного веса сложного эфира. Автоокисление олеиновой кислоты рассмотрено в статьях<sup>73-81, 84-86</sup>. В последнем исследовании<sup>86</sup>, проведенном в тонких слоях при  $60$ — $80^\circ$ , особое внимание уделено выделению и характеристике летучих продуктов, образовавшихся при автоокислении.



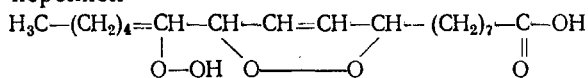
констатировано при окислении метиллинолеата в тонком слое при комнатной температуре. Эти триоксаны получают в результате полимеризации и сополимеризации пентанала и гексанала. Среди продуктов разложения исходных альдегидов особо отметим дикарбонильные соединения, состоящие из глиоксалий, кето-альдегида с  $C_6$ , фумарового диальдегида, 3-гексен-1,6-диаля, которые были выделены при автоокислении метиллинолеата при  $45^\circ$ <sup>97-99</sup>.

Полимеры, образующиеся в результате автоокисления метиллинолеата при  $4^\circ$ <sup>82</sup>, состоят из смеси димеров и тримеров со связью через атомы кислорода. Каждой цепи свойственно наличие групп  $C=O$  и  $OH$  и некоторой ненасыщенности. Полимеры, получаемые<sup>100</sup> в результате автоокисления метиллинолеата при  $33^\circ$  и последующего разложения при  $100^\circ$  в инертной атмосфере, тоже состоят из смеси димеров и тримеров, но со связью между атомами углерода.

Автоокисление линолевой кислоты было изучено недавно несколькими исследователями<sup>101-103</sup>. Две первые работы касаются идентификации и выделения многочисленных летучих соединений, третья — кинетических закономерностей, относящихся к автоокислению при малых давлениях  $O_2$  в присутствии различных ингибиторов. При автоокислении в тонких слоях при 20 и  $40^\circ$ <sup>101, 102</sup> были выделены насыщенные альдегиды от  $C_2$  до  $C_7$ , спирты от  $C_1$  до  $C_5$ , сложные эфиры<sup>65</sup> (главным образом, эфиры муравьиной кислоты с преобладанием амилформиата). Кроме приведенных выше соединений, получающихся при разложении моногидроперекиси, могут также образоваться триокси-, трикето- и кетокислосоединения в результате диспропорционирования радикалов:



Последние являются продуктами гомолитического расщепления гидроперекиси — перекиси



Автоокисление этиллинолеата тоже явилось предметом нескольких исследований<sup>3, 104-106</sup>; при этом была выделена гидроперекись<sup>3</sup>. Строение полимеров, образующихся при автоокислении, сходно со строением полимеров из метиллинолеата со связью через атомы кислорода<sup>106</sup>.

Два исследования<sup>107, 108</sup> посвящены автоокислению метилинолената при  $37^\circ$  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  $OOH$  может занимать положение 16, 13, 12 и 9, первичные продукты разложения гидроперекиси состоят из пропаналя, пентанала, 2,4-гепта- и октадиеналей.

Дикарбонильные соединения, получающиеся в результате последующего автоокисления вышеуказанных альдегидов, состоят из малонового диальдегида<sup>109</sup> и 3-гексен-1,6-диаля<sup>110</sup>.

Образование карбонильных соединений при автоокислении метилинолената (а также олеата и линолеата) рассмотрено в двух больших работах<sup>111, 112</sup>.

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

Совсем недавно в результате исследования, посвященного автоокислению линоленовой кислоты при 20° и 40°<sup>113</sup>, были выделены насыщенные альдегиды с C<sub>2</sub>—C<sub>6</sub>, 2,4-диэтил-6-пропилтриоксан, 2,4-диэтил-6-амилтриоксан, пентеналь, кислоты от C<sub>1</sub> до C<sub>6</sub> и их различные сложные эфиры.

Недавно<sup>114</sup> получены гидроперекиси из метиллинолеата, метиллинолената, этиларахидоната, 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 М на 100 М эфира. Последние были выделены из полученного таким образом продукта автоокисления с помощью тонкослойной хроматографии.

При проведении двух серьезных исследований<sup>115, 116</sup> 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 мМ/кг, 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<sup>111, 112</sup> содержатся подробные сведения о насыщенных альдегидах, непредельных альдегидах и диеналах, образующихся из бараньего, говяжьего и свиного жиров, масла какао, а также из арахисового, соевого и льняного масел (так же и из метилолеата, триолеата, этиллинолеата, метиллинолената). 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 мМ/кг)<sup>117</sup>.

Из подсолнечного масла, подвергнутого автоокислению при 37°, были выделены многочисленные насыщенные альдегиды, непредельные альдегиды и диеналы, а также октен-1-ол-3 и октен-1-он-3<sup>118</sup>.

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







что такие ферменты, как холинэстераза, липаза, инвертаза, пепсин ингибируются также водной эмульсией пальмитиновой кислоты. В этом случае ингибирование, по-видимому, вызывается нейтрализацией положительных зарядов протенинов 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 мМ/л, 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 ( $4 \cdot 10^{-4}$  мМ), она стала 63%. Степень ингибирования сукцинооксидазы (при концентрации линолевой кислоты  $4 \cdot 10^{-4}$  мМ) 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 работе<sup>138</sup> обсуждается защита уреазы цистеином против действия перекисей, образующихся в процессе автоокисления льняного масла. Проводили также исследование<sup>139</sup> инактивации глицеринового альдегида 3-фосфатдегидрогеназы гидроперекисью линолевой кислоты и инактивации рибонуклеазы той же гидроперекисью<sup>140</sup>.

Специальное исследование<sup>141</sup> посвящено инактивации энзимов с группами SH под действием пероксикислот.

Деструкция каротина в процессе автоокисления ненасыщенных липидов, катализированного липоксидазой сои, явилась объектом многих исследований<sup>142–144</sup>. Деструкция происходит в альфе при хранении на полях<sup>145</sup>, вследствие действия перекисей, образующихся в результате автоокисления ненасыщенных липидов, катализированного липоксидазой этого растения.

Исследование автоокисления<sup>146</sup> коллоидного метиллинолеата ( $3,4 \cdot 10^{-2}$  М) иницированного рентгеновским облучением в присутствии витамина А, показало, что степень деструкции витамина А увеличивается с содержанием перекиси. Так, при концентрации перекиси  $5 \cdot 10^{-5}$  М/л остается только 33% исходного витамина А. Деструкция витамина А не происходит под действием только рентгеновского облучения в отсутствие линолеата.

Исследование автоокисления<sup>147</sup> этиллинолеата (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  $\alpha$ -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 мМ/кг, становится 43% при содержании перекиси 10 мМ/кг<sup>148</sup>.

Подробно изучена<sup>149</sup> 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.

Исследование<sup>150</sup> 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%  $\alpha$ -токоферола она составляет только 5%, и за 10 час. достигает только 36%.

В исследовании<sup>151</sup> рассматривается деструкция каротина в процессе автоокисления арахисового масла при различных температурах (от 4 до 98°), а также защита его от окисления с помощью  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -токоферолов и госсипола.

Большая работа посвящена<sup>152</sup> деструкции каротина при 35° под действием перекисей этилолеата, метиллинолеата, метиллинолената, хлопкового, арахисового и соевого масел, а также защите с помощью  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -токоферолов и госсипола. Защитное действие  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -токоферолов против деструкции каротина и биксина перекисью метиллинолеата рассмотрено также в двух других статьях<sup>32, 153</sup>.

В исследовании<sup>154</sup>, посвященном деструкции витамина А и каротина в процессе автоокисления при 37° коллоидного раствора линолеата  $\text{NH}_4$  (0,2 М/л, рН 7), катализированного  $2 \cdot 10^{-5}$  М/л гемоглобина или цитохрома С, показано, что при поглощении 500 см<sup>3</sup>  $\text{O}_2$  деструкция витамина А и каротина соответственно составляет 88 и 53%, но в присутствии  $5 \cdot 10^{-3}$  М/л  $\alpha$ -токоферола деструкция составляет только 63 и 5% соответственно.

Другая работа<sup>50</sup> затрагивает и вопрос о защите витамина А и каротина с помощью  $\alpha$ -токоферола в ходе автоокисления водной эмульсии олеиновой кислоты (37°, 0,1 М, рН 7), катализированного геминном ( $2 \cdot 10^{-5}$  мМ/л).

Через 3 час. поглощается 1400 см<sup>3</sup>  $\text{O}_2$  при 88% деструкции витамина А, но в присутствии  $\alpha$ -токоферола ( $6 \cdot 10^{-3}$  М/л) степень деструкции составляет только 63%, причем поглощается 300 см<sup>3</sup>  $\text{O}_2$ . Поведение каротина аналогично поведению витамина А. При поглощении 1400 см<sup>3</sup>  $\text{O}_2$  происходит деструкция каротина на 63%, а в присутствии  $5 \cdot 10^{-3}$  М/л  $\alpha$ -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  $\alpha$ -токоферола и других антиоксидантов к питательным рационам оказывает защитное действие по отношению к витамину 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  $\alpha$ -токоферола в неделю приводит за тот же отрезок времени к деструкции витамина, составляющей только 71%.

Добавление  $\alpha$ -токоферола, метиленового синего (лейко-форма) тиодифениламина, тетраметилтиурамдисульфида к рациону, включающему 10% жира тресковой печени и бедному витамином Е, увеличивает содержание витамина А в печени кур по сравнению с режимом питания без добавок<sup>155</sup>.

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<sup>156, 157</sup>.

Обсуждению защитного действия витамина Е для сохранения витамина А в печени крыс посвящены статьи<sup>158, 159</sup>.

Перекись этиллинолеата (250 мМ/кг) в контакте с кристаллическим биотином при 37° за 12 час. приводит к 96% деструкции последнего. Как и в случае витамина А,  $\alpha$ -токоферол оказывает защитное действие: степень ингибирования составляет 44% за 48 час. при 4% концентрации этого соединения. В исследовании<sup>160</sup> также была констатирована деструкция биотина при 25 и 37° в присутствии перекиси кукурузного масла (100 мМ/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 мМ/кг.

Из исследования, посвященного действию пиридоксина и рибофлавина<sup>161</sup>, 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 оксисоединения. Монокарбонильные соединения состоят из смеси насыщенных и непредельных альдегидо-кислот и, по всей вероятности, ответственны за окислительную прогорклость и реверсию. Эти, часто встречающиеся явления очень подробно обсуждены в ряде публикаций<sup>11–15, 162</sup>.

*Коровье молоко.* Общий состав кислот, составляющих липиды молока, таков<sup>163</sup>:

*Насыщенные кислоты* (60%): кислоты от C<sub>4</sub> до C<sub>12</sub>—12%, миристиновая 11%, пальмитиновая 28%, стеариновая 9%.

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

*Кислоты, входящие в состав фосфолипидов*<sup>164</sup>: насыщенные—41%, моноолеиновые 40%, диолеиновые сопряженные (2,3%, несопряженные 8,8%), триолеиновые 3,6%, тетраолеиновые 2%, пентаолеиновые 2,2%.

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

Показано<sup>165</sup>, что содержание перекисей в порошковом молоке, оставленном на воздухе, возрастает со временем.

В исследовании<sup>165</sup> рекомендуют применять различные антиоксиданты (особенно фенольного типа) в весовой концентрации 10<sup>-4</sup>. В работах<sup>13</sup> и<sup>113</sup> 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 мМ/кг липидов появляется прогорклый запах. Максимальное содержание перекисей, образовавшихся за 4 и 9 мес. 5–14 мМ/кг липидов.

В липидах кислого молока были идентифицированы насыщенные альдегиды C<sub>2</sub>—C<sub>18</sub>, непредельные альдегиды C<sub>5</sub>—C<sub>11</sub>, 2–4-диеновые альдегиды C<sub>8</sub> и C<sub>9</sub>, а также октен-1-он-3 и октен-1-ол-3<sup>166–168</sup>. Происходит также образование метилалкилкетонов RCOCH<sub>3</sub> от C<sub>1</sub> до C<sub>13</sub><sup>169</sup>. По-видимому, они являются производными главным образом миристиновой и пальмитиновой кислот.

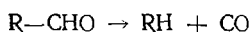
Природа и механизм образования различных соединений в процессе автоокисления липидов молока подробно обсуждаются в статьях<sup>166–174</sup>. В одной из этих статей<sup>172</sup> приведена критика предшествующих работ.

В публикациях<sup>13, 175–178</sup> 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 гороха<sup>179–182</sup> показало, что содержание глюкоидов 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 увеличиться<sup>181</sup>. 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 картофеля<sup>183</sup>, содержат 75% полиненасыщенных жирных кислот, 53% кислоты 18:2 и 22,5% кислоты 18:3. Насыщенная часть почти полностью состоит из кислоты C<sub>16</sub> (17,4%). После пропускания O<sub>2</sub> при комнатной температуре в течение 5 мес. были выделены насыщенные альдегиды C<sub>2</sub>—C<sub>6</sub> и насыщенные углеводороды C<sub>1</sub>—C<sub>5</sub>. 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 тщательно исследования<sup>179</sup>. 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 C<sub>7</sub>, чем C<sub>8</sub>) и метилалкилкетонов (больше 2-пентанона, чем 2-гексанона). Напротив, происходит быстрое уменьшение содержания 2,4-декадиенала.

При хранении свиное мясо часто прогоркает<sup>184</sup>. Прогорклость сопровождается изменением цвета, который вместо розового становится серо-коричневым. Прогорклое мясо обладает неприятным запахом и вкусом и несколько токсично. Прогорклость 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, элодеи<sup>185</sup> и белой люцерны<sup>186</sup>. В стеблях, корнях и зернах этих растений перекиси обнаружить не удалось<sup>185</sup>. То, что перекиси локализируются 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 флавино-липопротеиновое соединение, содержащее железо и марганец и способное восстанавливать CO<sub>2</sub><sup>186</sup>. Восстановление сопровождается образованием перекиси липидной части листа. В статьях<sup>187, 188</sup> рассматривается роль перекисей, гликолевой и глиоксильной кислот в разрушении хлорофилла. Интересно, что листья, ростки и зерна некоторых масличных растений содержат вещества, способные вызывать разложение перекисей<sup>189-191</sup>.

Полимеры, получающиеся в результате разложения перекисей липидов, образование которых катализуется липоксидазой, являются, по-видимому, составляющими элементами кутина<sup>160</sup>, 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<sup>162-192-235</sup>:

1. Желтая окраска жировых тканей.
2. Образование цероидного пигмента в печени крыс.
3. Коричневая окраска матки крысы.
4. Атеросклероз и периферическое поражение вен у людей.
5. Экссудативный диатез цыплят.
6. Энцефаломаласия у цыплят.
7. Уменьшение яйценоскости и оплодотворяемости кур.
8. Делигментация 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<sup>233,234</sup>. Некоторые заболевания, такие, например, как желтая окраска жировой ткани у некоторых животных, коричневая окраска матки крысы, образование у крыс цероидного пигмента, появление экссудативного диатеза и энцефаломаласии у цыплят, могут быть прямо связаны с воздействием продуктов окисления ненасыщенных липидов и протеннов 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 экссудативного диатеза, но не против энцефаломаласии. Действие этих различных антиоксидантов обсуждено в статьях<sup>233, 234</sup> и, кроме того, в специальной статье, посвященной действию  $\text{SeO}_2$ <sup>235</sup>.

#### 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% линолевой кислоты и значительное количество линоленовой кислоты (16%).

Различные жареные продукты, имеющиеся в продаже, прогреваются при 180—200°. В этих условиях обычно увеличивается содержание оксисоединений, 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 линолевой кислоты. Эти химические изменения проявляются в увеличении показателя преломления, диэлектрической постоянной и особенно вязкости<sup>236—239</sup>.

Физико-химические изменения, происходящие в процессе жарения различных продуктов питания, содержащих липиды, обсуждаются в статьях<sup>240—244</sup>, 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 масла<sup>236</sup> в течение 24 час. и постоянном расходе воздуха 150 см<sup>3</sup>/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 см<sup>3</sup>/мин) содержание карбонильных соединений изменяется от 86 до 116 мМ/кг (макс. 122 мМ/кг при расходе воздуха 1200 см<sup>3</sup>/мин).

При 175° в течение 62 час. проводили непрерывное нагревание хлопкового масла<sup>238</sup> 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<sup>-4</sup> М<sup>245</sup>.

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

По-видимому, происходит гидролиз перекиси сложного эфира или триглицерида липида под действием липазы с сохранением функциональной группы ООН, последняя затем частично восстанавливается соками

поджелудочной железы. Приведенные выше факты, а также отсутствие перекисей в экскрементах позволяют считать, что на слизистой оболочке кишечника происходит главным образом распад перекисей липидов<sup>245</sup>.

Опыты<sup>248</sup>, проведенные на крысах, вскормленных пищей, содержащей 10% масла *Vernonia*, содержащего 70% 12,13-эпоксидолеиновой 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 органах пищеварения (что странно из-за наличия в желудке 0,1 N HCl и чувствительности эпоксидов к кислотному гидролизу), а нормально откладываются в различных тканях вместе с другими липидами.

ТАБЛИЦА 1

Вещество	Содержание, мг/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

нормально откладываются в различных тканях вместе с другими липидами.

Окси- и карбонильные соединения легко всасываются<sup>249</sup>; 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 искореняют эти заболевания. Свежие липиды, так же как и протенины, 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<sup>250—252</sup>, 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<sup>253—259</sup> 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 энзимов<sup>138</sup>, исследованием<sup>247</sup> доказано ингибирование ксантин-оксидазы перекисью соевого масла. Это разрушение энзимов должно проявляться в снижении усвояемости 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-



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<sup>247, 259</sup>. Исследование, проведенное с хлопковым маслом, подвергнувшимся автоокислению при 60°, показало, что число заболеваний увеличивается по достижении максимального содержания перекисей<sup>240</sup>.

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 крыс<sup>260</sup>.

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<sup>261, 262</sup>.

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 кишечника<sup>263</sup>. Исследования, во время которых производилось введение через пищеварительный тракт гидроперекиси метиллинолеата, меченной  $^{14}\text{C}_1$ , 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<sup>261, 264</sup> или 7% эпоксиолеиновой кислоты (в виде масла *Vernonia*, в количестве 10%)<sup>248</sup> не приносит вреда. Однако, согласно данным исследования<sup>265</sup>, эпоксиды, по-видимому, являются канцерогенными.

Окси-соединения, по крайней мере длинноцепные, не токсичны. Например, моно- и диокси-метилстеарат при 5%-ном содержании не приносят крысам вреда<sup>261</sup>.

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 давлении<sup>264</sup>. 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 рост<sup>264</sup>. Отметим также, что остаток от пе-

регонки может содержать продукты термической полимеризации с циклогексеновыми фрагментами, которые не образуются при жарении в коммерческих масштабах<sup>266</sup>, но могут, по нашему мнению, образоваться в процессе разложения полимеров при 300°.

С другой стороны, если полимеры токсичны, степень усвояемости 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°<sup>237</sup>.

Значение 1,3-сопряжения подчеркивается в работе<sup>267</sup>, в которой обсуждаются все соединения с двойной сопряженной диеновой связью, например, гидроперекись этиллинолеата, продукты ее восстановления и разложения, а также этиллинолеаты, не участвующие в нормальном обмене линолевой кислоты<sup>267</sup>.

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	2% Триолефиновых	18:3
	16:0		20:3
	14:0		22:3
	15:0	Тетраолефиновая	18:4
	17:0		2
45% Моноолефиновых триглицеридов	18:1	10% Пентаолефиновых	20:5
	20:1		22:5
	22:1		22:6
	14:1	Гексаолефиновая	9
	16:1		1

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 <sup>266, 268</sup>, фракций жира сельди — в <sup>269, 271</sup>, свиного жира — в <sup>271</sup>.

Токсичности нагретых липидов посвящено несколько превосходных статей <sup>249–252, 256, 272, 273</sup>.

Состав разных липидов приведен в работе Хилдича <sup>274</sup>. Ниже мы приводим состав основных животных жиров и растительных масел по данным <sup>111, 274</sup> (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, благоприятны, вследствие одновременного присутствия в эндотелии сосудов и легких ненасыщенных липидов (в виде эмульсии), гематиновых соединений и кислорода <sup>245</sup>. Способность ткани к образованию перекисей липидов увеличивается в зависимости от содержания ненасыщенных кислот и степени их ненасыщенности, так же как от присутствия таких каталитических 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 арахидоновой 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 <sup>275–279</sup> 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 <sup>280–286</sup>.

Образование перекисей липидов под действием ионизирующих излучений, по всей вероятности, инициируется радикалами  $\cdot\text{OH}$  и  $\cdot\text{OON}$ , получающимися в водной фазе <sup>13</sup>. Аналогия между заболеваниями, вызванными ионизирующими излучениями и перекисями липидов, в частности разрушение различных ферментов, подробно обсуждается в <sup>2, 287</sup>. Факт нахождения перекисей в тканях живых животных был подвергнут критике в двух публикациях <sup>288, 289</sup>. Действительно, при экстракции липидов в инертной атмосфере не удалось обнаружить даже следов перекисей

ни в одном из органов крыс (применялся метод хроматографии<sup>290</sup>), предварительно облученных рентгеновскими лучами на воздухе, или вскормленных на режиме питания, содержащем 20% свежего соевого масла или его перекиси<sup>288</sup>. 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. Исследование<sup>289</sup> на примере 33 различных тканей подтвердило правильность результатов, опубликованных в<sup>288</sup>.

По-видимому, отсюда следует, что живые ткани не содержат перекисей (самое большее — 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 крыс<sup>291</sup> 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 в<sup>292</sup>).

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 каталитической 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 статье<sup>293</sup> 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 тканей<sup>292-299</sup>.

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<sup>301,302</sup>. В<sup>302</sup> опубликованы также данные о составе митохондрий печени цыпленка и сердца быка. Исследования<sup>303, 304</sup> посвящены составу митохондрий печени крысы.

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  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты.

Кроме деструкции ферментов, имеет место набухание и лизис мембраны митохондрии 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  $O_2$ <sup>305</sup>. 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  $O_2$  и количество образовавшегося малонового диальдегида соответственно уменьшаются в 2,5 и 10 раз, когда к этому режиму добавляют 10 мг  $\alpha$ -токоферола<sup>306</sup>.

Деструкция энзимов митохондрий обсуждается в статьях<sup>307,308</sup>, явления набухания и лизирования — в статьях<sup>309, 310</sup>. 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<sup>305, 306</sup>.

Работы<sup>311-313</sup> посвящены ингибирующему 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 перекисей<sup>314</sup>.

Применяя к микросомам клеток печени крысы те же методы, что и к митохондриям<sup>305</sup>, 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-лактоноксидазы<sup>315</sup>. 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  $\alpha$ -токоферола (0,25  $\mu$ g/N) 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 статье<sup>314</sup>. Работы<sup>315, 316</sup> касаются ингибирования гулоно-лактоноксидазы, и кроме того, в работе<sup>316</sup> рассмотрена зависимость степеней ингибирования синтеза аскорбиновой кислоты от содержания малонового диальдегида. В исследовании<sup>317</sup> 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 мембраной. Они с трудом образуют перекиси, зато у них легко разрывается мембрана при образовании перекиси в незначительных количествах. Так, под действием УФ- и  $\gamma$ -излучения и продукта автоокисления метиллинолеата разрыв мембран лизосом клеток печени крысы сопровождается освобождением гидролизующих ферментов: катепсина, глюкоронидазы, 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<sup>318–320</sup>.

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<sup>321–325</sup>.

Ингибирование деления клетки под действием УФ-облучения, по-видимому, вызывается также, по крайней мере, частично, действием перекисей липидов<sup>326</sup>.

Действительно, при исследовании оплодотворенных яиц червя (*Chaetopterus pergamentaceus*) и морского ежа (*Lytechinus variegatus*) установлено, что действие УФ-света и облученного метиллинолеата 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, выражающееся 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  $\alpha$ -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<sup>16, 327</sup>.

Различные токоферолы не проявляют синергетизма, но образуют мощные ингибирующие системы с аскорбиновой, лимонной и фосфорной кислотами, которые, по-видимому, играют очень важную роль в стабилизации липидов тканей<sup>326, 328, 329</sup>.

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

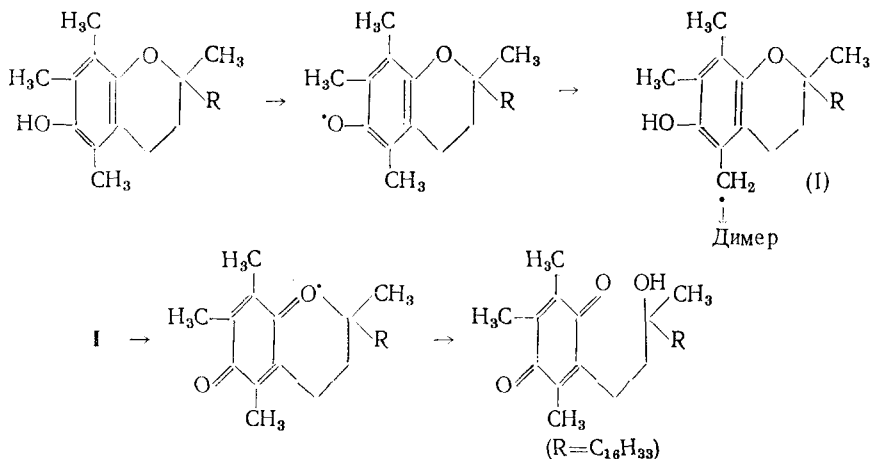
Однако потеря тканью токоферола при режиме питания, в котором он отсутствует, сильно зависит от его природы. Отметим очень сильное удержание его мозгом<sup>330</sup>. Продукты разложения  $\alpha$ -токоферола *in vivo* состоят из  $\alpha$ -токоферилхинона (образованного вследствие раскрытия пиранового кольца) и димерного  $\alpha$ -токоферола (с нетронутой гетероциклической структурой).

Действительно, присутствие токоферилхинона было констатировано в печени и мускулах мышей и свиней<sup>331</sup>, а его содержание в жировых тканях увеличивается со степенью ненасыщенности пищевых липидов. (Оно в 3 раза больше в случае метиллинолеата, чем в случае масла кокосового ореха<sup>332</sup>.)

Присутствие одновременно димера и хинона было также обнаружено в печени мышей и крыс после внутрибрюшинной инъекции  $\alpha$ -токоферола животным, которых в течение года вскармливали на режиме питания, бедном витамином Е<sup>331, 333</sup>. Димер и хинон образуются также при одновременном окислении (60 и 100°)  $\alpha$ -токоферола и метиллинолеата кислородом воздуха<sup>334</sup>.

В исследовании<sup>335</sup> рассмотрено действие на  $\alpha$ -токоферол радикалов  $\text{ROO}\cdot$ , образующихся в результате действия солей  $\text{Fe}^{3+}$  на гидроперекиси метиллинолеата, перекиси метиллинолената, этиларахидоната и метилэйкозапентаноата, и приведены кинетические данные.

Превращение  $\alpha$ -токоферола в  $\alpha$ -токоферилхинон происходит в результате отрыва атома водорода (группы OH) с последующим разрывом пиранового кольца, перегруппировки и фиксации группы OH<sup>335</sup>.



Ингибирующее действие витамина Е при автоокислении *in vivo* полиненасыщенных липидов рассмотрено в публикациях<sup>16, 233, 234, 336–338</sup>.

Убихинон, который обычно находится в митохондриях в более значительных количествах, чем  $\alpha$ -токоферол, может быть восстановлен в убихинол<sup>339, 340</sup>. Последний же может быть вновь окислен перекисями до убихинона. Убихинол проявил себя как ингибитор, приблизительно столь же эффективный, как и  $\alpha$ -токоферол, при окислении эмульсии арахидиновой кислоты, катализированной  $2 \cdot 10^{-6}$  М/м гемоглобина (37°, рН 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.

Сквален<sup>341</sup>, содержащийся в значительных количествах в липидах рыб, может оказывать действие как антиоксидант, по крайней мере, в начале реакции. В самом деле, сравнительное исследование<sup>341</sup> 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  $\alpha$ -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<sup>337, 338, 342–344</sup>, введенные с пищей, могут предупреждать некоторые патологические изменения, вызываемые питательным рационом, богатым полиненасыщенными липидами и бедным витамином Е. Исследование<sup>337</sup> показало, что  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 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  $\alpha$ -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 селенопротеинов, 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 цистина<sup>343</sup>.

Роль, которую играют соединения селена в обмене веществ, подробно обсуждена в<sup>338, 343</sup>, а механизм их взаимодействия с гидроперекисями — в<sup>344</sup>.

Кроме  $\alpha$ -токоферола, который широко распространен в растительном мире<sup>16, 327</sup>, многие полиокси-соединения, такие, как простые ароматические полифенолы или гетероциклические производные (оксихроманы, оксикумароны<sup>345</sup>), 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 исследование<sup>346</sup> посвящено токсическому действию различных типов перекисей липидов, вводимых внутривенно и внутрибрюшинно крысам и цыплятам. В нем показано, что токсичность в большой 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 внутривенно, чем внутрибрюшинно.

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 этиллинолеата и  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  при содержании 0,5 мМ/кг появляется метагемоглобинурия.

В статье<sup>346</sup> 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 этиллинолеата и  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ .

Токсичность некоторых продуктов автоокисления липидов и некоторых органических перекисей, вводимых только внутрибрюшинно крысам, рассмотрена в статьях<sup>2,347</sup>.

По данным<sup>347</sup>, гидроперекись метиллинолеата и особенно  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  должна быть менее токсична, чем по данным исследования<sup>346</sup>.

Тем не менее, из исследований<sup>346,347</sup> 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, катализируемое элементами переменной валентности, было рассмотрено в статьях<sup>348,349</sup>, а общие теоретические вопросы ингибирования автоокисления — в<sup>350</sup>. Кроме того, несколько статей и работ по синтезу, проведенных после 1960 г., были посвящены органическим перекисям вообще<sup>351-359</sup>, причем в статьях<sup>351-353</sup> разбираются различные методы их определения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. V. Karnojitzky, C. Viel, Produits et Problemes Pharmaceutiques, 21, 245 (1966).
2. R. Lataret, Peroxydes organiques en radiobiologie, Masson, 1958.
3. J. Bolland, H. Koch, J. Chem. Soc., 1945, 445.
4. E. Farmer, D. Sutton, Там 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-Elbe, D. Hagedun, *Lipids*, **4**, 209 (1969).
23. H. Fuinba, *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **26**, 167 (1952).
24. H. Theorell, R. Holman, *Arch. biochem. biophys.*, **14**, 250 (1947).
25. H. Theorell, R. Holman, *Acta Chem. Scand.*, **1**, 571 (1947).
26. N. Catsimpaolas, *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. Nickell, 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. Gerlicht, 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. Feucl, 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. Pokorny, Nahrung, 12, 747 (1968).
95. K. Fukusimi, 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. Frederickksen, 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 Agric., 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. Mejlom, 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. Hauge, *J. Agr. and Food Chem.*, **1**, 1001 (1953).
146. B. Polister, J. Mead, Там же, **2**, 199 (1954).
147. F. Quackenbush, 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. Bexter, *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. Woodside, *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<sup>e</sup> 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. Sheppard, Там же, **170**, 1021 (1952).
178. J. Chipault, *Ind. Eng. Chem.*, **49**, 1713 (1957).
179. E. Lee, A. Wagenknecht, *Food Res.*, **16**, 239 (1951).
180. E. Lee, A. Wagenknecht, 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. Kraybill, *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, E. 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. J. 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**, 301 (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. Horvitz, 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. Kishnamourthy, 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. Berluerau, 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. Rajagoplan, 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. Leclere, 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. McGray, *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. Chenu, 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. Prutchar, 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. Wolison, 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. McKiblin, 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. Tsen, 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. Golumbic, 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. Eldwin, 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. Golumbic, 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. Karnojitzky, 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. Swern, Organic Peroxides, Wiley Intersc., N. Y., 1970.

O. N. E. R. A., Шатильон, Франция