



УДК 547.814 : 577.161

© 1994 В. В. Чудинова, С. М. Алексеев,
Е. И. Захарова, Р. П. Евстигнеева

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И МЕХАНИЗМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА Е

*Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М. В. Ломоносова*

Ключевые слова: липиды, перекисное окисление липидов, витамин Е, антиоксидантное действие, соокисление с липидами, продукты окисления.

В обзоре обобщены литературные данные о процессе перекисного окисления липидов и механизме тормозящего действия на этот процесс витамина Е. Описаны стадии автоокисления липидов под действием активных инициаторов, существующих в биологических мембранных системах, а также образование первичных и вторичных продуктов окисления липидов, дестабилизирующих мембранную структуру и обладающих цитотоксическим действием. Рассмотрен механизм антиоксидантного действия α -токоферола и родственных соединений, зависимость их активности от структуры молекулы, а также состав продуктов совместного окисления липидов и α -токоферола в биологических и модельных системах.

Живая клетка существует в среде, насыщенной кислородом, который даже в физиологических условиях способен образовывать активные частицы, вызывающие окисление биологических субстратов — липидов, белков, ДНК. Однако, поскольку клетка находится в условиях постоянной угрозы окисления, в организме предусмотрены специальные ферментативные и неферментативные механизмы, предупреждающие и устраняющие последствия окислительных повреждений. Основным действующим началом этих механизмов являются антиоксиданты — соединения, присутствующие в тканях в значительно более низких концентрациях по сравнению с окисляющимися субстратами и ингибирующие окисление биологического материала.

Липиды — основной компонент биологических мембран — представляют собой класс чрезвычайно легко окисляющихся соединений. Глубоко зашедший процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), одна из стадий оксидантного стресса, приводит к дестабилизации и нарушению барьерных функций биологических мембран. В масштабах целого организма этот процесс может иметь следствием многочисленные патологии, в том числе артрит, катаракту, ишемию и т. д. [1]. Однако известно, что, несмотря на наличие мощных окислителей, при отсутствии

Адрес для переписки: 117571, Москва, пр. Вернадского, 86, Московская государственная академия тонкой химической технологии, В. В. Чудиновой.

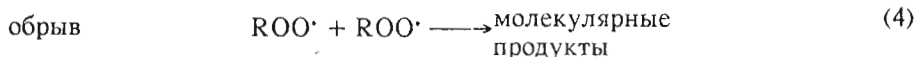
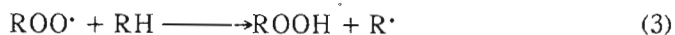
стресса мембранная система функционирует сбалансированно. Заметные процессы ПОЛ наблюдаются лишь в случае ослабления активности клеточных защитных систем [2]. Важнейшим компонентом этих систем является витамин Е — основной липофильный антиоксидант, локализованный непосредственно в гидрофобной области фосфолипидного бислоя мембраны [3]. Вопросам изучения процесса ПОЛ и механизма антиоксидантного действия α -токоферола посвящено большое количество исследований, результаты которых мы обобщили в настоящем обзоре.

1. Механизм перекисного окисления липидов

Перекисное окисление липидов — это сложный, зависящий от многих факторов процесс взаимодействия молекулярного кислорода и ацильных остатков фосфолипидов, играющий важную роль в системе клеточной регуляции. В биологических системах существуют по меньшей мере два типа процессов ПОЛ. Перекисное окисление высших полиненасыщенных жирных кислот, в частности арахидоновой, под действием специфических ферментов — липоксигеназ и циклооксигеназ — является первой стадией биосинтеза эйкозаноидов — простагландинов, тромбоксанов, простациклинов, лейкотриенов — мощных вторичных посредников, действующих практически на все органы и системы организма [4]. С другой стороны, первичные продукты окисления липидов — их гидропероксиды — могут образовываться при непосредственном взаимодействии субстрата с кислородом воздуха. Этот процесс носит название «автоокисление» и протекает по цепному свободнорадикальному механизму.

Необходимо отметить, что α -токоферол играет важную роль в регуляции обоих типов ПОЛ. Это обуславливается сходством процессов ферментативного и неферментативного окисления липидов. Основная функция витамина Е заключается в предотвращении образования и распада гидропероксидов жирных кислот и дезактивации самых различных свободных радикалов. Однако энзиматическое ПОЛ и участие в этом процессе α -токоферола имеет целый ряд особенностей, более подробно рассмотренных, например, в работе [5]. В настоящем обзоре мы ограничились описанием механизма автоокисления липидов и роли в нём витамина Е.

Классическая схема автоокисления предложена Бартоном и другими авторами [6, 7]:

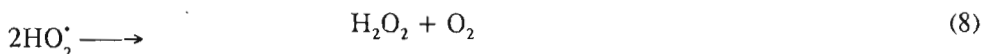
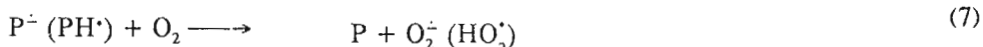


Инициация цепной реакции (уравнение 1) происходит за счет отрыва атома водорода Н^{*} от метиленовой группы, разделяющей олефиновые связи в молекуле полиненасыщенной жирной кислоты. Низкая прочность связи С—Н и ее высокая реакционная способность обуславливают образование при разрыве этой связи сопряженного и поэтому термодинамически выгодного пентадиенильного радикала R^{*} (III) (схема 1). Этот процесс может быть вызван

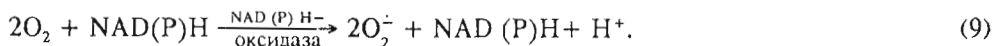
воздействием тепла, квантов света, свободных радикалов, переносом электрона от восстановителя, например Fe^{2+} , к акцептору или за счет переноса электрона в ферментативной реакции.

В модельных исследованиях мембран автоокисление жирных кислот вызывают действие тепла, света или специфических инициаторов, например ионов Fe^{2+} [8], системы Fe^{3+} /восстановитель (аскорбиновая кислота) или комплекса $[\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}/\text{O}_2]$ [9]. Ионы некоторых других металлов, например свинца Pb^{2+} и меди Cu^{2+} , способны дополнительно активировать окисление липидов, восстанавливая Fe^{3+} [10]. В то же время показано, что окислительные процессы в бислое могут вызывать как жирорастворимые инициаторы, например азо-бис-2,4-диметилвалеронитрил, так и водорастворимые инициаторы, например азо-бис-(2-амидинопропанхлоргидрат) [11]. При этом высказывается предположение, что проникновение водорастворимого инициатора в гидрофобную область происходит за счет группирования вокруг него липидных частиц (образования мицелл). Процесс переноса электрона, иницирующий ПОЛ, может происходить также при участии неспецифических ферментных систем, например метмиоглобина [12], или под действием системы лактопероксидаза/ H_2O_2 /галогенид-ион [13].

В биологических системах одна из основных причин инициации ПОЛ — взаимодействие субстрата с возбужденными действием света молекулами фотосенсибилизаторов (P), в результате которого кроме алкильных радикалов появляется супероксидный анион-радикал (O_2^-), а в кислых средах — пергидроксидный радикал (HO_2^\cdot) [14].



В последнем процессе может возникать синглетный кислород. Супероксидный анион-радикал генерируется и в некоторых ферментативных реакциях. Хорошо известен фермент ксантин—оксидаза, окисляющий ксантин в мочевую кислоту с выделением O_2^- . Другой фермент — NAD(P)H —оксидаза генерирует эту активную частицу в плазматической мембране нейтрофилов.



Однако считается, что основное повреждающее действие биологическим объектам наносит не O_2^- , а гидроксильный радикал HO^\cdot , который образуется в цикле Хаберта—Вайса в присутствии ионов железа:



или по реакции Фентона [15]:



Супероксидный анион-радикал — основная активная форма кислорода, образующаяся непосредственно из его молекулярного состояния за счет присоединения электрона. Поэтому защитные антиоксидантные системы клетки направлены в первую очередь на его дезактивацию.

Важную роль в инициации окисления фосфолипидов мембран играют ионы Fe [16, 17]. Поскольку прямая реакция молекулярного триплетного кислорода с большинством биологических молекул, находящихся в синглетном состоянии, запрещена по спину, была выдвинута гипотеза, согласно которой в биологических системах не происходит реального автоокисления, а наблюдаемые процессы — следствие окислительно-восстановительных реакций, осуществляющихся при участии связанных с биологическими молекулами переходных металлов (Cu или Fe) [18].

Одним из примеров инициации ПОЛ под действием ионов железа может быть разложение гидропероксидов жирных кислот, которые в незначительных количествах всегда присутствуют в липидных бислоях. Этот процесс протекает по уравнению 12 [9, 19, 20] с образованием оксирадикалов (RO[•]) — активных инициаторов цепной радикальной реакции перекисного окисления.



Таким образом, несмотря на то что железо необходимо для нормального функционирования клетки, оно является основным фактором, катализирующим образование свободных радикалов. Поэтому одним из видов превентивных антиоксидантов являются хелаторы металлов, связывающие железо и предотвращающие образование активных форм кислорода, HO[•], комплексов Fe²⁺/Fe³⁺/O₂ и разложение пероксидов до пероксид- и алкоксирадикалов [21]. При этом показано, что эффективным ингибиторами ПОЛ, индуцированного NADPH и ADP—Fe³⁺ в микросомах печени крыс, могут быть продукты гидролиза 1,2-бис(3,5-диоксопиперазин-1-ил)пропана (ADR-529) — (1,1,2,2-N,N'-тетрауксусная кислота)-1,2-диаминопропан и N-ацетилацетамид, образующие комплексные соединения с ионами железа, — чем обусловлено защитное действие лекарственного средства ADR-529 от токсического эффекта антрациклина [22].

Еще одной причиной ПОЛ может быть УФ-А-составляющая солнечного света. Фотоны УФ-А вызывают переход кислорода из триплетного в синглетное состояние, а ¹O₂ активно взаимодействует с субстратами, вызывая окисление [23].

На первой, быстрой стадии развития цепи (уравнение 2) радикал R[•] реагирует с кислородом с образованием пероксильного радикала ROO[•], который затем значительно медленнее атакует новую молекулу кислоты RH (уравнение 3) [24]. Место присоединения молекулы O₂ к пентадиенильному радикалу определяется его термодинамическими параметрами. По данным ЭПР [25], спиновые плотности на различных атомах углерода в этом радикале равны 0,39 (С-1 и С-5), 0,45 (С-3) и —0,12 (С-2 и С-4) соответственно. Теоретически кислород должен присоединяться преимущественно к атому углерода с максимальной спиновой плотностью. Однако присоединение в положения С-1 и С-5 значительно более экзотермично: теплота реакции



при числе двойных связей в молекуле жирной кислоты больше двух составляет для положений С-1 и С-5 —13 ккал/моль, а для положения С-3 —9 ккал/моль. Поэтому присоединение кислорода к крайним атомам пентадиенильного радикала более вероятно.

Основные первичные продукты ПОЛ — гидропероксиды жирных кислот, образующиеся на стадии развития цепной реакции по уравнению 3. Рассмотрим механизм их образования на примере окисления диеновой кислоты — линолевой. Поскольку в ее молекуле присутствуют две олефиновые метиленразделенные связи, образовавшийся по уравнению 1 или 3 алкильный радикал R[•] быстро стабилизируется за счет перераспределения электронной плотности между пятью смежными атомами углерода (схема 1).

Схема 1

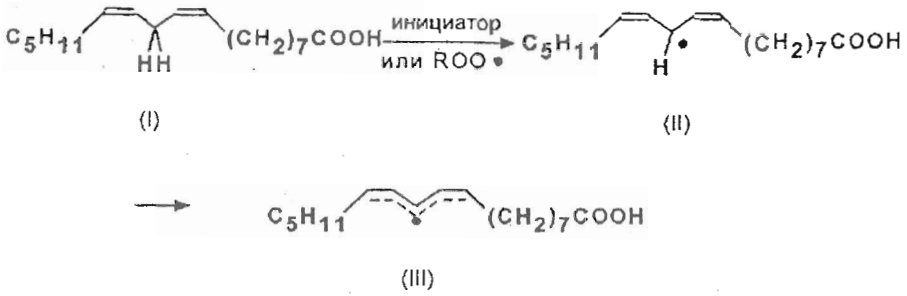
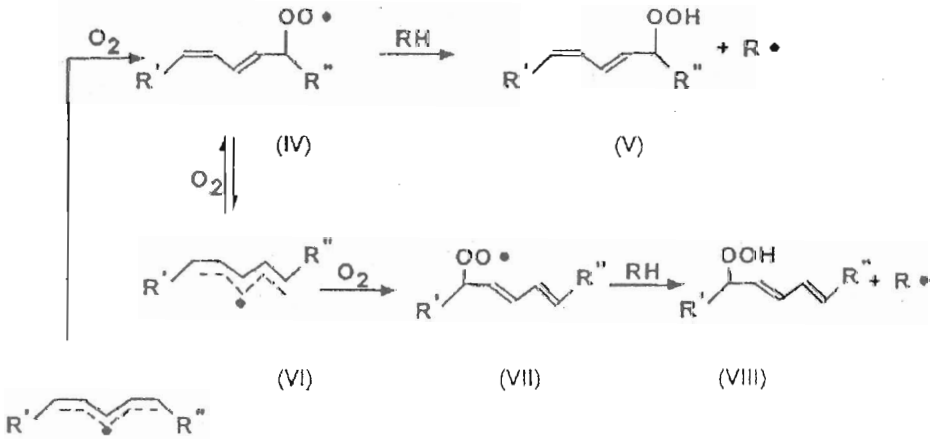


Схема 2



(III)

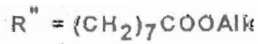
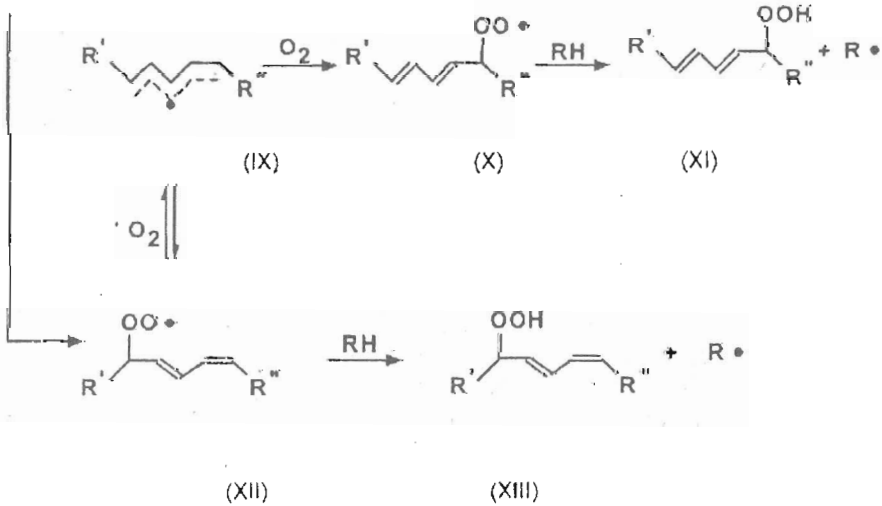
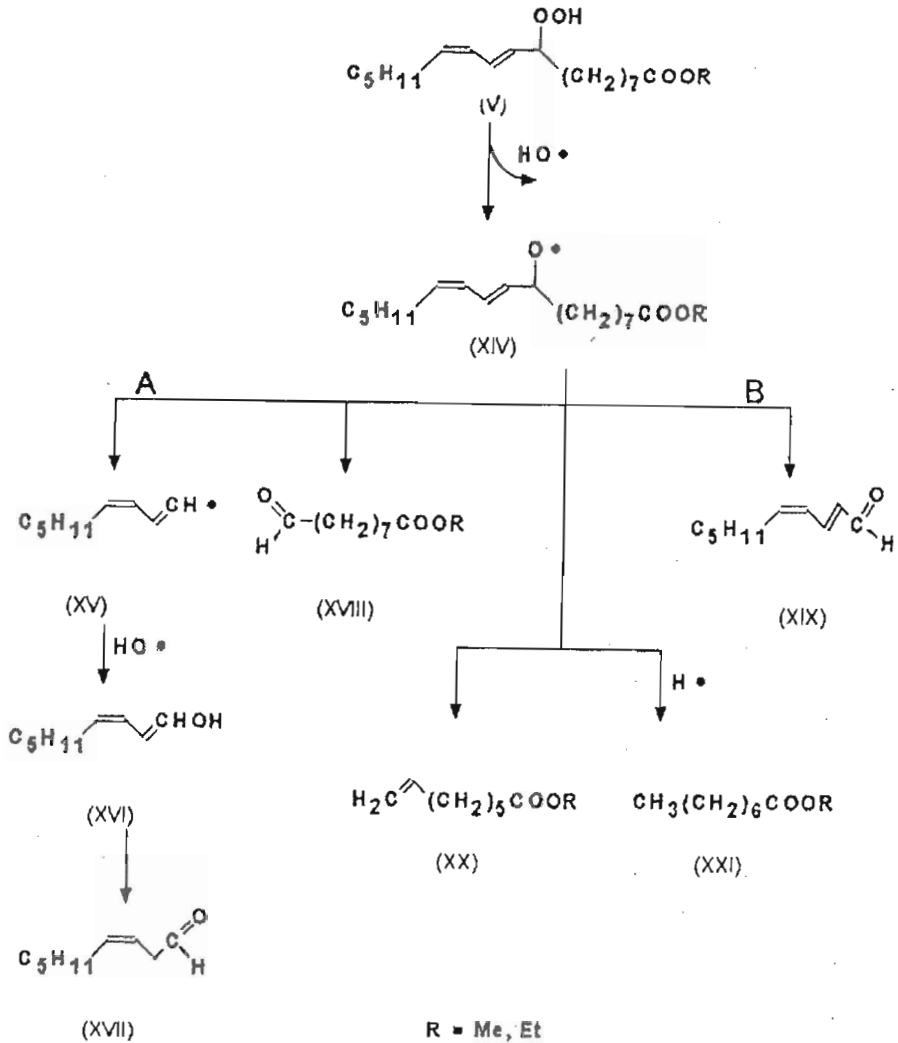


Схема 3



При атаке кислородом такой пентадиенильной структуры (III) присоединение может происходить с равной вероятностью по положениям С-9 и С-13. Кроме того, пентадиенильный радикал, не обладая жесткостью двойных связей, способен изомеризоваться по схеме 2.

Эта схема, предложенная Портером [6], объясняет наличие среди продуктов автоокисления линолевой кислоты или ее эфиров 4 изомерных гидропероксидов: 9-гидроперокси-10*E*,12*Z*-(V), 13-гидроперокси-9*E*,11*E*- (VIII), 9-гидроперокси-10*E*,12*E*-(XI) и 13-гидроперокси-9*Z*,11*E*-октадиеноатов (XIII) приблизительно в равном количестве [26—28].

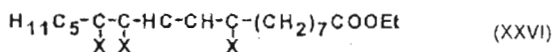
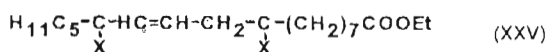
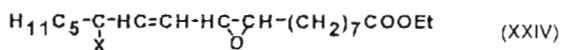
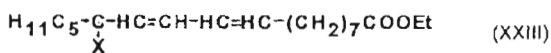
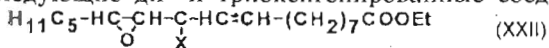
Накопившиеся на стадии развития процесса ПОЛ первичные продукты способны деградировать дальше по радикальному механизму, претерпевая гомолитический распад с разрывом связи RO—OH, давая алкоксильные радикалы RO \cdot . При расщеплении связи C—C образуются многочисленные продукты вторичного распада — альдегиды, кетоны, спирты, углеводороды, простые эфиры [29, 30]. Иллюстрация этого — схема гомолитического распада 9-гидроперокси-10*E*,12*Z*-октадиеноата (V), при котором продуктами расщепления алкоксирадикала (XIV) по пути А являются 3-нонаеналь (XVII) и 9-оксонаноат (XVIII),

а по пути В — 7-октеноат (XX) (или в присутствии донора Н' — октаноат (XXI)) и 2,4-декадиеналь (XIX) (схема 3).

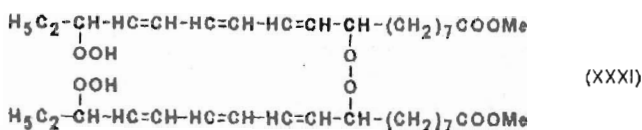
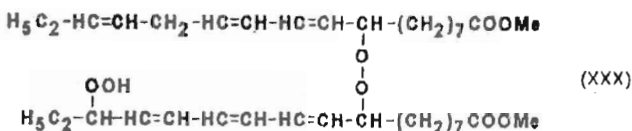
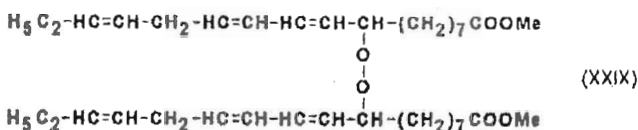
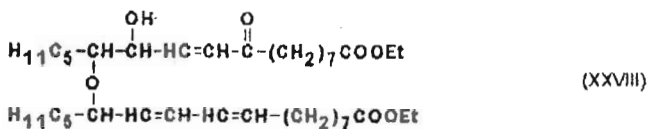
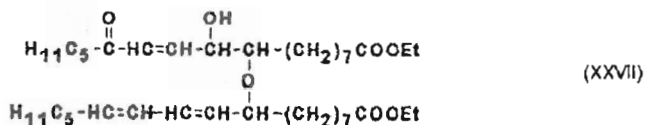
Анализ разнообразных клинических тестов на ПОЛ показывает, что метод контроля за образованием углеводов, так же как и вышеречисленных полярных соединений, может стать по мере своего усовершенствования одним из наиболее перспективных [31]. Подтверждением их образования может служить выделение аддуктов пентильного и пентенильного радикалов с радикалами α -(4-пиридил-1-оксид)-N-трет-бутилнитрона. Такие аддукты, охарактеризованные с помощью масс-спектрометрии, были получены при разложении гидропероксидов линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот под действием липоксигеназы сои [32].

В биологических системах большая доля вторичных продуктов перекисного окисления липидов приходится на альдегиды различного строения. 4-Гидрокси-2-ноненаль (HNE) — один из основных продуктов, образующихся из ω -6-полиненасыщенных жирных кислот, таких, как линолевая и арахидоновая. В высоких концентрациях этот альдегид цитотоксичен, в малых оказывает стрессовое воздействие на клеточную пролиферацию и обладает генотоксичным эффектом. Изучение путей биогенной детоксикации этого альдегида показало, что метаболизм его связан с активностью глутатионовой системы (глутатион/глутатионтрансфераза) [33], что подтверждается тем, что 25% продуктов его метаболизма приходится на конъюгат глутатион/HNE. Кроме того, образуются 4-гидрокси-2-ноненевая кислота (25%) и 1,4-дигидрокси-2-нонен (10%), а также циклический ацеталь. Предварительные результаты позволяют предполагать, что по крайней мере один из этих метаболитов, 4-гидрокси-2-ноненевая кислота, может полностью окисляться в митохондриях в цепи β -окисления [34]. Глутатионовая система также участвует в детоксикации других токсичных альдегидов — вторичных продуктов перекисного окисления липидов — алкеналей, алканалаей, 2-алкеналей, 2,4-алкандиеналей. Как показано в работе [35], восстановление этих соединений может протекать и с помощью NAD(P)H. Другие ферментативные пути окисления α , β -ненасыщенных альдегидов — 2-бутенала, 2-ноненала, 4-гидрокси-2-ноненала описаны в работах [36, 37]. Эти ненасыщенные альдегиды являются субстратами ксантиноксидазы и алкогольдегидрогеназы.

Гомолитическое расщепление — не единственный путь превращения гидропероксидов жирных кислот: они могут вновь реагировать с кислородом с образованием эпоксигидропероксидов, кетопероксидов, дигидропероксидов, циклических и бициклических эндопероксидов. Так, например, из высокоокисленного этиллиналеата выделены следующие ди- и триоксигенированные соединения [29]:



C-X = C=O, CH-OH или CH-OOH

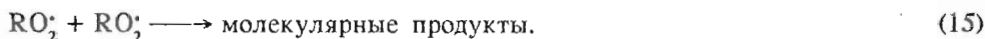


В то же время показано, что кетосоединения образуются и при окислении биологического материала *in vitro*. Например, мембраны интактных ретикулоцитов кролика и мембраны митохондрий печени крыс, окисгенированные очищенной липоксигеназой ретикулоцитов, содержали как 13-кето-9*Z*,11*E*-, так и 9-кето-10*E*, 12*Z*-октадекадиеновую кислоту. Причем 90% этих кетосоединений существовало в виде эфиров, что позволило предположить, что кетодиеновые жирные кислоты образуются непосредственно при разложении фосфолипидов, содержащих остатки гидропероксиполиеновых жирных кислот [38].

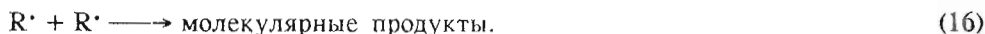
Механизм обрыва цепи ПОЛ зависит от концентрации кислорода. При физиологических, т. е. сравнительно низких, значениях $[\text{O}_2]$ следует ожидать преимущественного протекания реакций:



или



При гипоксических состояниях возможна также и реакция



Термодинамические оценки показывают, что эти реакции происходят по

механизму рекомбинации (димеризации); диспропорционирование практически исключено [25]. Следовательно, квадратичный обрыв приводит к «сшиванию» двух фрагментов полиненасыщенных жирных кислот с образованием связей С—О—О—С, С—О—С и С—С.

Эти предположения подтверждаются исследованиями продуктов глубокого окисления этиллинолеата и метиллинолеата, представляющих собой структуры с простой эфирной [39] или пероксисвязью [40].

Дополнительные данные об образовании олигомерных продуктов типа (XXVII)—(XXI) были получены при автоокислении синтетических триацилглицеридов, содержащих линолевую и линоленовую кислоты. Основными первичными продуктами их окисления были моногидроперокси- и гидропероксиэпидиоксиды. Перекисные радикалы внутримолекулярных 12- и 13-моногидропероксидов компонентов триацилглицеридов, содержащих линоленовую кислоту, быстро образуют циклические продукты [41].

2. Роль витамина Е в процессах перекисного окисления липидов

Витамин Е — собирательное название, объединяющее группу родственных соединений, токоферолов и токотриенолов, — известен как один из незаменимых липидных компонентов живой клетки. Наиболее полная информация о соотношении отдельных соединений, входящих в группу витамина Е, и их относительной биологической активности обобщена в работах [42—44].

Биологические функции витамина Е чрезвычайно разнообразны. Суммируя известные литературные данные, можно сказать, что основные аспекты его действия — блокирование цепных процессов перекисного окисления липидов, нейтрализация активных форм кислорода, связывание свободных жирных кислот и продуктов их перекисного окисления, ингибирование липоксигеназ и циклооксигеназ, мембранотропное действие, кофакторное действие (участие в работе десатуразного комплекса).

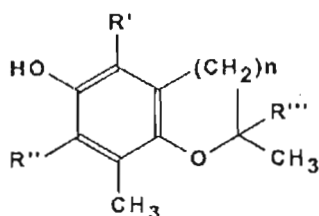
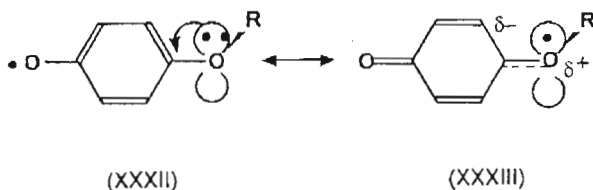
На сегодняшний день, пожалуй, наиболее разработан вопрос об участии витамина Е в процессе перекисного окисления липидов. При этом наиболее эффективным природным жирорастворимым антиоксидантом, обрывающим цепь перекисного окисления липидов, является основной представитель витаминов группы Е — α -токоферол (α -ТОН) [7].

Классическая теория антиоксидантного действия α -токоферола, построенная на большом количестве экспериментальных кинетических данных по совместному окислению полиненасыщенных жирных кислот и витамина Е [3, 45—48], предполагает его взаимодействие с гидропероксильными радикалами жирной кислоты, блокирующее развитие цепной реакции



В соответствии с современными представлениями эффективность антиоксиданта зависит как от его химических свойств, структуры молекулы, способности реагировать с пероксильными радикалами [49], так и от его взаимодействия с липидной системой, а именно от характера распределения и диффузионных характеристик [50].

При взаимодействии с гидропероксильным радикалом молекула α -токоферола легко отдает атом водорода фенольной группы хроманового ядра сильному акцептору. От стабильности образовавшегося феноксильного радикала в значительной степени зависит эффективность антиоксидантного действия. Барто и Ингольд [3] исследовали активность ряда природных и синтетических антиоксидантов — α , β , γ и δ -токоферолов (XXXIV—XXXVII), пентаметил-6-гидроксихромена (хромена С₁) (XXXVIII) и пентаметил-6-дигидробензофурана (XLI) (схема 4) и показали, что эффективность антиоксидантного действия этих соединений связана с возможностью перераспределения электронной



(XXXIV - XLI)

(XXXIV) $R' = R'' = \text{CH}_3, R''' = \text{C}_{16}\text{H}_{33}, n = 2$ (XXXV) $R' = \text{CH}_3, R'' = \text{H}, R''' = \text{C}_{16}\text{H}_{33}, n = 2$ (XXXVI) $R' = \text{H}, R'' = \text{CH}_3, R''' = \text{C}_{16}\text{H}_{33}, n = 2$ (XXXVII) $R' = R'' = \text{H}, R''' = \text{C}_{16}\text{H}_{33}, n = 2$ (XXXVIII) $R' = R'' = R''' = \text{CH}_3, n = 2$ (XXXIX) $R' = R'' = \text{CH}_3, R''' = \text{C}_{11}\text{H}_{23}, n = 2$ (XL) $R' = R'' = \text{CH}_3, R''' = \text{C}_6\text{H}_{13}, n = 2$ (XLI) $R' = R'' = R''' = \text{CH}_3, n = 1$

плотности в радикальном состоянии и образования стабильной формы (XXXIII), в которой неподеленная пара электронов атома кислорода фуранового или пиранового кольца сопряжена с π -электронами ароматической структуры и фенок- сильным радикалом.

Максимальное сопряжение, величина которого зависит от угла между связью O1—C2 и плоскостью ароматического цикла и определяется строением молекулы, возникает в случае пентаметил-6-гидроксидигидробензофурана (XLI), а из природных антиоксидантов — у α -токоферола (XXXIV). Эта гипотеза была подтверждена расчетами оптимальной структуры молекулы, соответствующей минимуму энергии, и теплоты гомолитического разрыва связи O—H у различных хроманов. Была выявлена непосредственная корреляция между энергией разрыва связи в гидроксильной группе, снижающейся при увеличении количества метильных групп в хромановом ядре, и эффективностью антиоксидантного действия аналогов α -токоферола [49].

В то же время в литературе есть данные [51] о снижении эффективности антиоксидантного действия аналогов α -токоферола при уменьшении длины боковой изопреноидной цепи в ряду: α -токоферол (XXXIV) > хроман C₁₁ (XXXIX) > хроман C₆ (XL) > хроман C₁ (XXXVIII).

Анализ спектров поглощения и флуоресценции α -токоферола при его взаимодействии с жирными кислотами и их гидропероксидами показал, что ключевым моментом нейтрализующего действия α -токоферола может быть образование им специфических молекулярных комплексов в возбужденном состоянии — эксиплекса с гидропероксидом жирной кислоты и эксимера [52—54]. В окисляющейся системе при взаимодействии молекулы α -токоферола в основном состоянии с высокоактивным гидропероксильным радикалом липида может происходить ре-

зональный перенос энергии, сопровождающийся образованием эксиплекса за счет увеличения донорных свойств гидроксильной группы α -токоферола при переходе молекулы в первое возбужденное состояние S_1 [55]. Таким образом, в процессе ПОЛ и других биологических процессах с участием высокоэнергетических компонентов ингибирующая и стабилизирующая роль α -токоферола может сводиться к последовательному снижению энергии за счет излучательных и безызлучательных переходов при образовании, трансформации и распаде возбужденных ассоциатов [54].

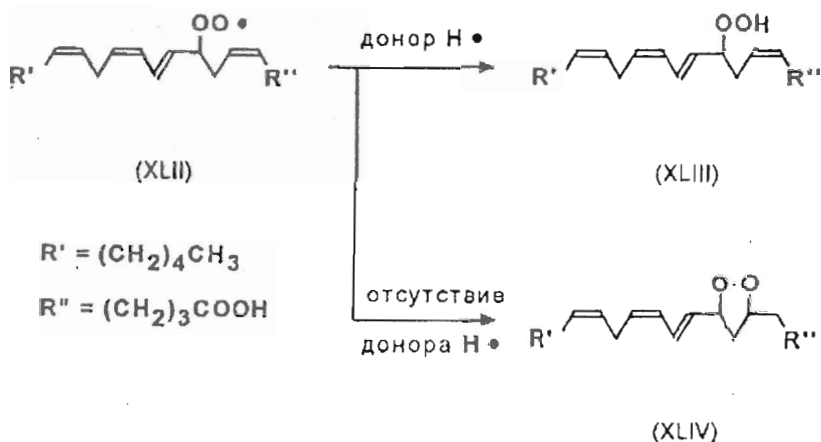
В последнее время в литературе появились сообщения о различии эффективности антиоксидантного действия α -токоферола в гомогенных и гетерогенных мембранных системах. В микродоменах гетерогенной мембранной системы антиоксидантный потенциал витамина Е определяется не только его химическими свойствами, но и его подвижностью и взаимодействием с мембраной.

В ряде работ [50, 56, 57] показано, что минорный компонент витамина Е — α -токотриенол — обладает в липосомных системах в 3 раза большей антиоксидантной активностью, чем α -токоферол. Одним из возможных объяснений этого факта может быть то, что токотриенол равномерно распределен в липидном бислое [58], в то время как даже при соотношении хроман — липид 1 : 1000, близком к физиологическому, около 23% α -токоферола существует в виде кластеров [50]. С другой стороны, по данным ^1H -ЯМР-, ЭПР- и флуоресцентной спектроскопии, α -токотриенол обладает более сильным разупорядочивающим действием на мембрану, что способствует взаимодействию со свободными радикалами [56]. Еще одним фактором, влияющим на эффективность антиоксидантного действия хромана, может быть его подвижность в бислое. Известно, что полиеновые липиды более подвижны, чем их насыщенные аналоги, поэтому можно предсказать большую подвижность α -токотриенола в бислое по сравнению с α -токоферолом и связанную с этим способность к восстановлению хроманоксильного радикала [50].

Тем не менее α -токоферол является основным природным липофильным антиоксидантом, поскольку присутствует в биологических системах в значительно больших количествах, чем α -токотриенол. Он эффективно ингибирует развитие цепи перекисного окисления липидов, снижая количество образующихся продуктов первичного окисления.

Известно, однако, что α -токоферол в неодинаковой степени ингибирует перекисное окисление различных классов фосфолипидов. При направленной индукции окисления фосфолипидов мембран различных органов мышей в первую очередь расходовался фосфатидилэтаноламин (PE), в то время как фосфатидилхолин (PC) был наиболее устойчив к окислению [58], что может объясняться способностью полярной головки PE связывать ионы Fe^{2+} . Кроме того, специальные исследования позволили выдвинуть гипотезу, согласно которой устойчивость фосфолипидов к окислению повышается, если в их молекулах присутствует остаток аминок спирта, который, как и остаток фосфорной кислоты, подавляет окислительное разложение α -токоферола, проявляя синергизм его антиоксидантному действию [59, 60].

Необходимо отметить, что при соокислении липидов и α -токоферола изменяется не только количество образующихся гидропероксидов [61, 62], но и их изомерный состав [63], причем преимущественно образуются *цис, транс*-изомеры. Винен и Портер [63] показали, что при окислении дилинолеилфосфатидилхолина в присутствии α -токоферола отношение образующихся изомеров *Z,E/E,E* равно 27 : 1, в то время как отношение 13-гидроперокси- и 9-гидропероксисоединений составляет приблизительно 1 : 1, как и в отсутствие α -токоферола. При совместном окислении фосфолипида, содержащего остаток арахидоновой кислоты, и α -токоферола изменяется состав не только геометрических изомеров (преобладание *цис, транс*-соединений), но и изомеров положения. Это объясняется тем, что пероксильный радикал, располагающийся

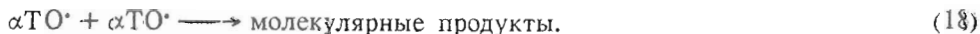


в 8, 9, 11 или 12-м положении углеводородной цепи жирной кислоты, является гомоаллильным и способен циклизироваться при отсутствии сильного донора водорода (схема 5).

Поэтому обычно (при отсутствии α -токоферола) в автоокисляющейся системе количество 5- и 15-гидропероксисоединений преобладает над количеством 8, 9, 11- и 12-гидропероксиизомеров. α -Токоферол, быстро передавая атом водорода пероксильному радикалу, блокирует процесс циклизации, и все 6 изомеров образуются в приблизительно равном количестве [63].

В то же время в литературе имеются сообщения, что в модельных системах при высоких концентрациях α -токоферол увеличивает скорость перекисного окисления липидов и действует как прооксидант [51, 64, 65].

По-видимому, при концентрации хромана выше определенного значения (в модельной системе выше 1% от количества жирной кислоты) соответственно повышается концентрация α -токофероксильных радикалов, не успевающих образовывать молекулярные продукты по уравнению



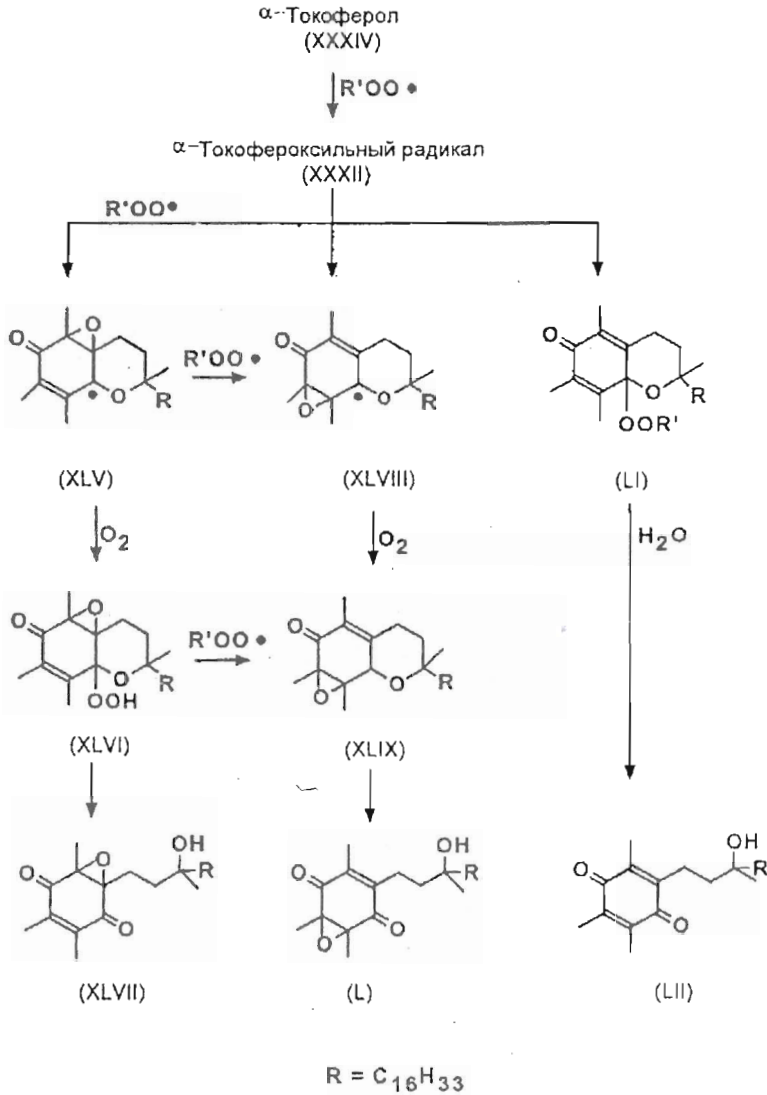
Можно предположить, что в этом случае хроманоксильный радикал сам способен оттягивать атомы водорода окисляющегося субстрата, генерируя алкильный радикал $\text{R}\cdot$, который быстро реагирует с молекулярным кислородом:



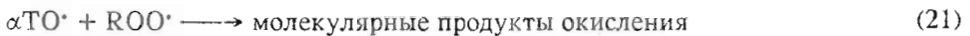
В этом случае реализуются прооксидантные свойства α -токоферола и в системе быстро накапливаются продукты окисления [51].

3. Продукты превращения витамина Е при соокислении его с жирными кислотами

Согласно литературным данным, в процессе прерывания цепи перекисного окисления жирных кислот α -токоферол отдает атом водорода пероксильному радикалу, превращая его в гидропероксид ROOH (уравнение 17). При этом образуется хроманоксильный радикал, который в свою очередь может взаимодействовать со вторым пероксильным радикалом, что приводит к образованию молекулярных продуктов, в первую очередь хинона (уравнение 21), превращаться в α -токоферол под действием восстановителей (уравнение 20) или взаимодейст-



воват с другим хромоксильным радикалом с образованием ряда олигомерных продуктов (уравнение 22):



В последнее время ряд публикаций был посвящен вопросу непосредственного взаимодействия хромоксильного и пероксильного радикалов [66—70]. Так, Либлер и соавт. опубликовали несколько работ [67—69], в которых предлагают возможный путь окисления α-токоферола в присутствии пероксильных радикалов как в гомогенном растворе, так и в модельном липидном бислое (схема 6). Основными продуктами взаимодействия α-токоферола (XXXIV) и пероксильных

радикалов R' OO• являются 8α-алкилперокситокоферон (LI), 4α,5-эпокси-8α-гидроперокситокоферон (XLVI) и 7,8-эпокси-8α-гидроперокситокоферон (XLIX). Однако все эти соединения со временем подвергаются гидролизу, образуя α-токоферилхинон (LII), 2,3-эпокси- и 5,6-эпокси-α-токоферилхинон (XLVII) и (L) соответственно.

Здесь необходимо отметить, что при окислении хроманоксильного радикала (XXXII) в гидропероксиды (XLVI) и (XLIX) не происходит дезактивация пероксильного радикала, т. е. отсутствует антиоксидантный эффект (в соответствии с его определением, как стабилизации пероксильного радикала и трансформации его в молекулярный продукт).

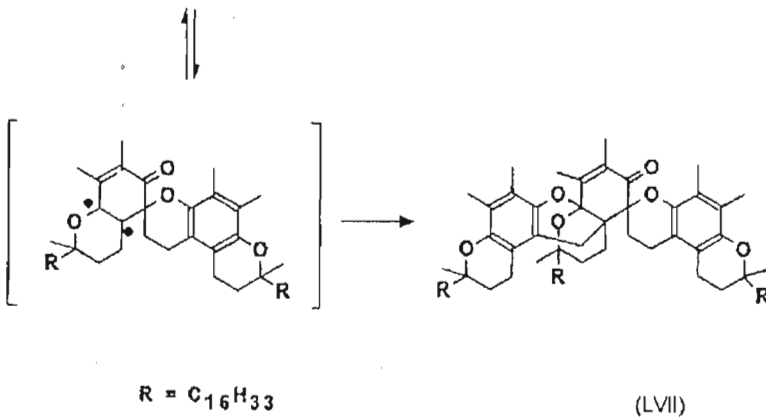
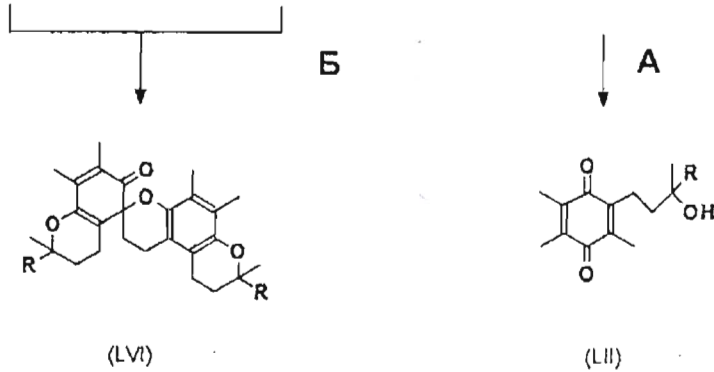
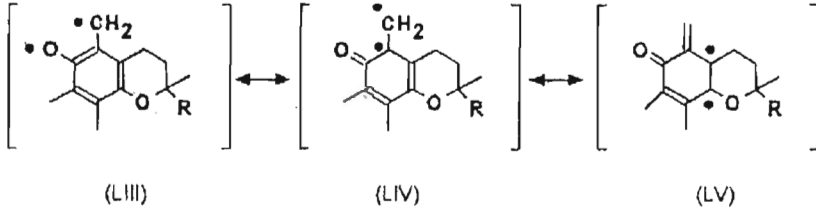
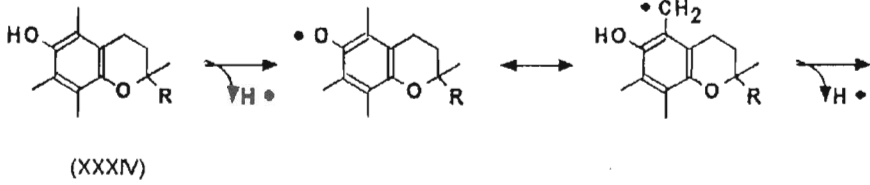
Кроме того, было показано, что α-токоферол способен непосредственно взаимодействовать с радикалами пероксидов метиллинолеата, образуя все 4 возможных изомера 13-(8α-перокси-α-токоферон)-9Z,11E-октадекадиеноата и 9-(8α-перокси-α-токоферон)-10E,12Z-октадекадиеноата, аналогичных соединению (LI) в схеме 6. При этом при малом содержании α-токоферола в реакционной смеси происходит лишь ковалентное присоединение α-токофероксильного радикала к липопероксильным радикалам [71].

Надо отметить, что продукты окисления α-токоферола алкилпероксирадикалами отличаются от продуктов его окислительной деградации в присутствии супероксидного радикала, приводящей в основном к образованию гидропероксидиенонов [72] (схема 7).

Второй возможный путь превращения α-токофероксильного радикала в среде окисляющихся липидов ведет к образованию димерных и тримерных продуктов, основными из которых являются спирономер (LVI) и тример (LVII) [73—75].

Сравнительное исследование продуктов окисления α-токоферола в среде этиллинолеата и в гомогенном растворе показало, что среда оказывает значительное воздействие на состав продуктов окисления хромана. Основным продуктом превращения α-токоферола при соокислении с этиллинолеатом были хинон, и лишь на стадии глубокого окисления появлялись продукты олигомеризации. А при автоокислении α-токоферола в основном были зарегистрированы димеры и тримеры [76]. Обобщенно эти процессы представлены на схеме 7. Предполагается, что процесс двухэлектронного окисления α-токоферола протекает по радикальному механизму. При этом образование олигомерных соединений обусловлено взаимодействием бирадикальных изомеров (LIII) и (LIV) друг с другом, подразумевающим их пространственное сближение, что легко осуществимо в гомогенном растворе (путь Б, схема 7). При совместном же окислении с этиллинолеатом бирадикальные формы α-токоферола, вероятно, экранированы друг от друга молекулами эфира жирной кислоты, поэтому основным продуктом является α-токоферилхинон (LII) (путь А, схема 7).

Необходимо отметить, что все описанные продукты окисления α-токоферола (хинон, димеры и тримеры) — природные метаболиты витамина Е и выделены как при соокислении жирных кислот с α-токоферолом в модельных системах автоокисления, так и при экспериментах *in vitro* [75, 77]. В настоящее время известно, что основной метаболит α-токоферола — хинон, однако данные о его биологической активности крайне противоречивы. Долгое время считали, что α-токоферилхинон — антагонист витамина Е [43], однако сейчас появились сообщения о том, что он, возможно, обладает антиоксидантной активностью и проявляет синергизм с α-токоферолом [78]. Известно также, что димеры α-токоферола могут быть промежуточными соединениями в процессах катаболизма витамина Е [79], однако более подробные исследования их активности в литературе отсутствуют. По всей вероятности, противоречивый и дискуссионный характер сведений, касающихся биологической роли различных продуктов окисления α-токоферола, обусловлен тем, что они встречаются в организме в чрезвычайно низких концентрациях и их изучение *in vivo* практически невозможно без применения изотопных методов и нагрузочных доз [79].



4. Заключение

Итак, на сегодняшний день вопрос участия витамина Е в процессе перекисного окисления липидов хорошо разработан. Детально изучен механизм обрыва цепи радикального окисления жирных кислот за счет образования стабильного хроманоксильного радикала. Предполагается также, что α -токоферол и его аналоги предотвращают образование цитотоксичных продуктов окисления липидов. При этом экспериментальные данные показывают, что эффективность антиоксидантного действия соединений, включаемых в понятие витамина Е, в значительной степени зависит от их молекулярного строения. Однако антиоксидантная активность — лишь одна из многочисленных функций витамина Е, активного тушителя

синглетного кислорода [80], проявляющего мембранотропные свойства [81], обладающего кофакторным [82] и иммуномодулирующим [83] действием.

Многочисленные исследования посвящены роли α -токоферола в общей системе функционирования живой клетки. Была высказана гипотеза о рецептор-опосредованном влиянии антиоксидантов на структурно-функциональные характеристики плазматической мембраны клетки. Механизмы такого влияния могут быть опосредованы как неспецифическими, так и высокоаффинными взаимодействиями с компонентами мембраносвязанных рецепторных комплексов [84]. Однако гипотеза эта, открывающая новые возможности для понимания механизмов действия α -токоферола, еще не доказана окончательно. Таким образом, исследования в области витамина Е продолжаются и многие вопросы еще ждут своего решения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Packer L., Landvik S.//Ann. N. Y. Acad. Sci. 1989. V. 570. P. 1—6.
2. Babbs Ch. F., Steiner M. G.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 29.
3. Burton G. W., Ingold K. U.//Acc. Chem. Res. 1986. V. 19. № 2. P. 194—201.
4. Shimizu T., Wolfe L. S.//J. Neurochem. 1990. V. 55. № 1. P. 1—15.
5. Reddana P., Whelan Y., Burgess J. P., Eskew M. L.//Ann. N. Y. Acad. Sci. 1989. V. 570. P. 136—145.
6. Porter N. A.//Acc. Chem. Res. 1986. V. 19. № 3. P. 262—268.
7. Булакова Е. Б., Храпова Н. Г.//Успехи химии. 1985. Т. 54. Вып. 9. С. 1540—1558.
8. Fukuzawa K., Tadokoro T., Kishikawa K.//Arch. Biochem. and Biophys. 1988. V. 260. № 1. P. 146—152.
9. Aurora O. I., Halliwell B., Laughton M. J.//Biochem. J. 1989. V. 258. № 3. P. 617—620.
10. Beckman J. K., Borowitz S. M., Greene H. L., Burr I. M.//Lipids. 1988. V. 23. № 6. P. 559—563.
11. Barclay L. R. C., Baskin K. A., Kong D., Locke S. J.//Can. J. Chem. 1987. V. 65. № 11. P. 2541—2550.
12. Newman E. S. R., Rice-Evans C. A., Davies M. J.//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1991. V. 179. № 3. P. 1414—1419.
13. Kanner J., Kinsella J. E.//Lipids. 1983. V. 18. № 3. P. 204—210.
14. Красновский А. А.//Итоги науки и техники. Современные проблемы лазерной физики. Т. 3. М.: ВИНТИ, 1990. С. 64—151.
15. Basage H. S.//Biochem. and Cell Biol. 1990. V. 68. № 7—8. P. 989—998.
16. Gutteridge J. M. C., Halliwell B.//Trends Biochem. Sci. 1990. V. 15. № 4. P. 129—135.
17. Yagi K., Ishida N., Komura S., Ohishi N., Kusai M., Kohno M.//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1991. V. 181. № 1. P. 145—150.
18. Miller D. M., Buettner G. R., Aust S. D.//Free Radic. Biol. Med. 1990. V. 8. № 1. P. 95—108.
19. Gardner H. W., Jursinic P. A.//Biochim. et biophys. acta. 1981. V. 665. № 2. P. 100—112.
20. Kowalska E., Naglik T.//Acta biochim. pol. 1990. V. 37. № 1.
21. Halliwell B., Gutteridge J. M. C.//Arch. Biochem. and Biophys. 1990. V. 280. № 1. P. 1—8.
22. Ryan T. P., Samokyszyn V. M., Dellis S., Aust S. D.//Chem. Res. Toxicol. 1990. V. 3. № 4. P. 384—390.
23. Bose B., Agarwal S., Chatterjee S. N.//Biotechnol. Appl. Biochem. 1990. V. 12. № 4. P. 557—561.
24. Mfillard B., Scaiano J., Ingold K.//J. Amer. Chem. Soc. 1983. V. 105. № 9. P. 5095—5099.
25. Рогинский В. А.//Молекулярн. биология. 1990. Т. 24. № 6. С. 1582—1589.
26. Porter N. A., Lehman L.//J. Amer. Chem. Soc. 1981. V. 103. № 12. P. 6447—6455.
27. Porter N. A., Wujec D. G.//J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106. № 6. P. 2626—2629.
28. Frankel E. N.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1984. V. 61. № 12. P. 1908—1917.
29. Duthie G. G.//Chem. and Ind. 1991. № 2. P. 42—44.
30. Frankel E. N., Gardner H. W.//Lipids. 1989. V. 24. № 4. P. 603—608.
31. Iwahoshi H., Albro P. W., McGown S. R., Tomer K. B., Mason R. P.//Arch. Biochem. and Biophys. 1991. V. 285. № 1. P. 172—180.
32. Roberts S. R. L., Adams D. T., Sherman C. M., Spitz D. R.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 111.
33. Siems W. G., Zoliner H., Esterbauer H.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 110.
34. Brophy P. M., Barrett J.//Biochem. Cell Biol. 1990. V. 68. № 1. P. 1280—1291.
35. Bounds P. L., Winston G. W.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 129.
36. Kuhn H., Belkner J., Wiesner K., Alder L.//Arch. Biochem. and Biophys. 1990. V. 279. № 2. P. 218—224.

37. Sellin S., Holmquist B., Mannervik B., Vallee B. L.//Biochemistry. 1991. V. 30. № 9. P. 2514—2518.
38. Miyashita K., Hara N.//Lipids. 1985. V. 20. № 9. P. 578—587.
39. Neff W. E., Frankel E. N., Fujimoto K.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1988. V. 65. № 4. P. 616—623.
40. Miyashita K., Frankel E. N., Neff W. E., Aul R. A.//Lipids. 1990. V. 25. № 1. P. 48—53.
41. Burton G. W., Ingold K. U.//J. Amer. Chem. Soc. 1981. V. 103. № 9. P. 6472—6477.
42. Хафизов Р. Х., Надиров Н. К., Сакаева Р. Ф.//Витамины. VIII. Биохимия витамина Е и селена. Киев: Наук. думка, 1975. С. 7—22.
43. Березовский В. М. Химия витаминов. М.: Пищевая пром-сть, 1973. С. 263—265.
44. Шилов П. И., Яковлев Т. Н. Основы клинической витаминологии. М.: Медицина, 1964. С. 124—127.
45. Mukai K., Kohno Y., Ishizu K.//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1988. V. 155. № 2. P. 1046—1050.
46. Mukai K., Watanabe Y., Uemoto Y., Ishizu K.//Bull. Chem. Soc. Jap. 1986. V. 59. № 7. P. 3113—3116.
47. Mukai K., Fukuda K., Tajima K., Ishizu K.//J. Org. Chem. 1988. V. 53. № 3. P. 430—432.
48. Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani H.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1991. V. 68. № 5. P. 307—312.
49. Бурлакова Е. Б., Буислев С. Н., Шамовский И. Л.//Хим. физика. 1989. Т. 8. № 11. С. 1471—1474.
50. Serbinova E., Kagan V., Han D., Packer L.//Free Radic. Biol. Med. 1991. V. 10. № 2. P. 263—275.
51. Захарова Е. И., Шуаинов К. А.-В., Чудинова В. В., Алексеев С. М., Евстигнеева Р. П.//Биоорганическая химия. 1989. Т. 15. № 9. С. 1268—1273.
52. Чудинова В. В., Захарова Е. И., Алексеев С. М., Евстигнеева Р. П.//Докл. РАН. 1992. Т. 322. № 4. С. 773—775.
53. Чудинова В. В., Захарова Е. И., Алексеев С. М., Евстигнеева Р. П.//Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 12. С. 1528—1534.
54. Чудинова В. В., Захарова Е. И., Алексеев С. М., Евстигнеева Р. П.//Биоорганическая химия. 1993. Т. 19. № 4. С. 515—520.
55. Sow M., Durocher G.//J. Photochem. Photobiol. 1990. V. 54. № 3. P. 349—365.
56. Serbinova E., Kagan V., Han D., Packer L.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 9.
57. Yamaoka M., Carillo M. J. H., Nakahara T., Komiyama K.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1991. V. 68. № 2. P. 114—118.
58. Пальмина Н. П., Джанарова А. А., Гаищева В. Д., Бурлакова Е. Б.//Биохимия. 1988. Т. 53. № 11. С. 1888—1894.
59. Бурлакова Е. Б., Сторожок Н. М., Храпова И. Г.//Биол. мембраны. 1990. Т. 7. № 6. С. 612—618.
60. Kashima M., Cha G.-S., Isoda Y., Hirano J., Miyazawa T.//J. Amer. Chem. Soc. 1991. V. 68. № 2. P. 119—122.
61. Terao J.//Biochim. et biophys. acta. 1989. V. 1003. № 2. P. 221—224.
62. Miyahara T., Suzuki T., Fujimoto K., Kaneda T.//J. Biochem. 1990. V. 107. № 5. P. 689—693.
63. Weenen H., Porter N. A.//J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 10. P. 5216—5221.
64. Terao J., Matsushita S.//Lipids. 1986. V. 21. № 4. P. 255—260.
65. Cillard J., Cillard P.//J. Amer. Oil Chem. Soc. 1986. V. 63. № 9. P. 1165—1169.
66. Yamauchi R., Matsui T., Satake Y.//Lipids. 1989. V. 24. № 3. P. 204—209.
67. Liebler D. C., Baker P. F., Kaysen K. L.//J. Amer. Chem. Soc. 1990. V. 112. № 11. P. 6995—7000.
68. Liebler D. C., Kaysen K. L., Burr J. A.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 61.
69. Liebler D. C., Kaysen K. L., Burr J. A.//Chem. Res. Toxicol. 1991. V. 4. № 1. P. 89—93.
70. Liebler D. C., Kaysen K. L., Kennedy T. A.//Biochemistry. 1989. V. 28. № 22. P. 9772—9777.
71. Yamauchi R., Kato K., Ueno Y.//Free Radic. Biol. Med. 1990. Suppl. № 1. P. 23.
72. Matsumoto S., Matsuo M.//J. Org. Chem. 1986. V. 51. № 8. P. 1435—1440.
73. Proksa B., Skoda A.//Pharmazie. 1984. V. 89. № 4. P. 279.
74. Yamauchi R., Kato K., Ueno Y.//Lipids. 1988. V. 23. № 8. P. 779—783.
75. Ha Y. L., Csallany A. S.//Lipids. 1988. V. 23. № 4. P. 359—361.
76. Захарова Е. И., Чудинова В. В., Шуаинов К. А.-В., Алексеев С. М., Евстигнеева Р. П.//Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 7. С. 985—995.
77. Nilsson J. L., Daves G. D., Folker K.//Acta chem. scand. 1968. V. 22. № 2. P. 200—205.
78. Lindsey J. A., Hantang Z., Hisayuki K.//Lipids. 1985. V. 20. № 3. P. 151—157.
79. Донченко Г. В. Биохимия убихинона Q. Киев: Наук. думка, 1988. С. 52—54.

80. Kaiser S., Di M. P., Murphy M. E., Stes H.//Arch. Biochem. and Biophys. 1990. V. 277. № 1. P. 101—108.
81. Wassall S. R., Thewalt J. L., Wong L.//Biochemistry. 1986. V. 25. № 3. P. 319—326.
82. Infante J. P.//Mol. Cel. Biochem. 1986. V. 69. № 1. P. 93—108.
83. Machlin L. J. Handbook of Vitamins, Nutritional Biochemical and Clinical Aspects. N. Y.: M. Dekker, 1984. P. 99.
84. Хохлов А. П., Ярыгин К. Н., Бурлакова Е. Б.//Биол. мембраны. 1989. Т. 6. № 2. С. 133—142.

Поступила в редакцию
29.IV.1993

После доработки
24.I.1994

*V. V. Chudinova, S. M. Alekseev, E. I. Zakharova,
R. P. Evstigneeva*

LIPID PEROXIDATION AND MECHANISM OF THE VITAMIN E ANTIOXIDANT ACTION

M. V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow

Key words: lipids, lipid peroxidation, vitamin E, antioxidant activity, cooxidation with lipids, oxidation products.

Data concerning lipid peroxidation and mechanism of the vitamin E inhibiting action are reviewed. Steps of initiated lipid autooxidation, formation of primary and secondary oxidation products, destabilizing the membrane structure and possessing cytotoxic effects are described. The mechanism of the antioxidant action of α -tocopherol, dependence of its activity on the structure and composition of the products of cooxidation of lipids and α -tocopherol in biological and model systems are also discussed.