

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Титов В.Н.¹, Сажина Н.Н.², Евтеева Н.М.²

ОЗОН ОКИСЛЯЕТ ОЛЕИНОВУЮ ЖИРНУЮ КИСЛОТУ С НАИБОЛЕЕ ВЫСОКОЙ КОНСТАНТОЙ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ, ПАЛЬМИТИНОВУЮ ЖЕ НЕ ОКИСЛЯЕТ ВООБЩЕ. РАЗЛИЧИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СУБСТРАТОВ И РОЛЬ В ФИЛОГЕНЕЗЕ

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава России», 121552, Москва, Россия;

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, Россия

Физико-химическое различие параметров окисления O₃ пальмитиновой и олеиновой ЖК в филогенезе (эволюции) явилось одним из основополагающих факторов становления последовательно: а) реакций синтеза пальмитолеиновой МЖК; б) формирования карнитин пальмитоил ацилтрансферазы как транспортера ЖК в митохондрии и, наконец, в) синтеза in vivo олеиновой НЖК при гуморальном, регуляторном действии инсулина. В стремлении к более высоким кинетическим параметрам организмов, невозможно изменить физико-химические и биохимические реакции в матриксе митохондрий, но можно обеспечивать митохондрии субстратом, который даст органеллам возможность выразить увеличенную эффективность и количество нарабатываемого ими АТФ. Физико-химические параметры олеиновой МЖК явились эталонным субстратом окисления при наработке in vivo энергии, синтезировать которую организмы стремились в филогенезе миллионы лет. Вторым основополагающим фактором становления кинетического совершенствования организмов в филогенезе явилось воздействие факторов внешней среды. Бывают ли они благоприятными, чаще нет, но они формируют условия, которые во многом стимулируют все приспособительные (адаптивные) функции организма, в том числе биологическую функцию локомоции, когнитивную функцию - функцию позиционирования вида (особи) в окружающей среде и в столь разнообразном мире. И сформированное биологическое, энергетическое, кинетическое совершенство in vivo можно столь легко нарушить, если травоядный в филогенезе Homo sapiens начинает злоупотреблять плотоядной мясной пищей; ее на ступенях филогенеза ни предки человека, ни сам человек никогда не употреблял. Это и есть основная причина столь частого распространения в популяции метаболических пандемий как синдром резистентности к инсулину, атеросклероз и атероматоз, ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени. И самые эффективные методы профилактики метаболических пандемий, ИБС и инфаркта миокарда до наивности просты. Человек всегда должен оставаться травоядным.

Ключевые слова: пальмитиновая; олеиновая жирные кислоты, филогенез; инсулин; Homo sapiens – травоядный.

Для цитирования: Титов В.Н., Сажина Н.Н., Евтеева Н.М. Озон окисляет олеиновую жирную кислоту с наиболее высокой константой скорости реакции, пальмитиновую же не окисляет вообще. Различия физико-химических параметров субстратов и роль в филогенезе. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(3): 132-139.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-132-139>

Titov V.N.¹, Sazhina N.N.², Evteeva N.M.²

OXONE OXIDIZES OLEIC FATTY ACID WITH THE HIGHEST RATE CONSTANT AND DOES NOT OXIDIZE PALMITIC ACID. DIFFERENT PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF SUBSTRATES AND THEIR ROLE IN PHYLOGENESIS

¹National Medical Research Center for Cardiology Ministry of Health, 121552, Moscow, Russia;

²Emanuel Institute of Biochemical Physics, 119334, Moscow, Russia

Physicochemical differences between O₃ oxidation parameters for palmitic and oleic fatty acids (FA) during phylogenesis (evolution) are fundamental for a) production of palmitoleic monounsaturated fatty (MFA), b) formation of carnitine palmitoyltransferase as a FA transporter to mitochondria, and c) in vivo production of oleic MFA under humoral regulatory effect of insulin. In the strive for the best kinetic parameters of biological organisms without a possibility of modifying physicochemical and biochemical reactions in the mitochondrial matrix, the mitochondria can be provided with a substrate that increases energy production efficiency and the amount of ATP. Physicochemical parameters of oleic MFA has become the standard of an oxidation substrate for in vivo energy production; this MFA was synthesized in organisms for millions of years. Environmental influences are the second factor which determines kinetic perfection of biological organisms during phylogenesis. Are these influences always beneficial? Mostly, they are not. However, they largely stimulate adaptive functions of the organism, including the biological function of locomotion, cognitive function and the function of positioning in the environment. Biological, energy and kinetic perfection formed in vivo can be easily destroyed if phylogenetically herbivorous Homo sapiens abuses the diet of carnivorous animals (meat) which was not consumed by him and his ancestors during phylogenesis. This abuse is the major cause of metabolic pandemics in human

population. They are: insulin resistance, atherosclerosis and atheromatosis, obesity and nonalcoholic liver disease. The most effective measures preventing metabolic pandemics, cardiac heart disease and myocardial infarction are extremely simple. People should remain herbivorous.

Key words: palmitic and oleic fatty acids; phylogenesis; insulin; carnivores and herbivores.

For correspondence: Titov Vladimir Nikolaevich, doctor of medical sciences, professor; e-mail: vn_titov@mail.ru

For citation: Titov V.N., Sazhina N.N., Evteeva N.M. Ozone oxidizes oleic fatty acid with the highest rate constant and does not oxidize palmitic acid. Different physicochemical parameters of substrates and their role in phylogenesis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (3): 132-139. (in Russ.) DOI : <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2-84-2019-64-3-132-139>

Acknowledgment. This study had no sponsorship.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received 25.02.2019
Accepted 01.03.2019

В 2004 г. опубликована статья «Кинетические параметры окисления озонот индивидуальных жирных кислот». В ней автоматическое титрование O_3 индивидуальных жирных кислот (ЖК) *in vitro* на анализаторе двойных связей (АДС) показало, что окисление ω -9 C18:1 *cis* олеиновой мононенасыщенной ЖК (МЖК) происходит с константой скорости реакции существенно выше, чем C16:0 пальмитиновой насыщенной ЖК (НЖК) [1]. Первые эксперименты проведены на опытном образце АДС при окислении озонот стилибена (стандартный образец), пальмитиновой и олеиновой ЖК, α -токоферола и β -каротина. Через 12 лет эксперименты повторены на серийном образце АДС; окислены 13 индивидуальных ЖК [2]. И хотя абсолютные значения констант скорости реакций окисления O_3 в двух сериях опытов отличались, зависимость осталась той же.

Реально оценивая функциональное предназначение ЖК как субстратов *in vivo*, мы, в зависимости от содержания в цепи атомов углерода двойных связей (ДС), подразделяем ЖК на:

- а) НЖК – ДС не имеют;
- б) МЖК – имеют в цепи атомов С одну ДС;
- в) ненасыщенные ЖК (ННЖК) с 2-3 ДС в цепи и
- г) полиеновые ЖК (ПНЖК) с 4-6 ДС в молекуле

длинноцепочечных ЖК. Химики же подразделяют ЖК проще на НЖК, МЖК и ПНЖК. В функциональном же отношении *in vivo* ни ω -6 C18:2 линолевая, ни ω -6 C18:3 γ -линоленовая и ω -3 C18:3 α -линоленовая ННЖК функционально являются разными. Клетки не используют ННЖК в синтезе аминокислот в структуре внутреннего монослоя бислоистой плазматической мембраны клеток, тем более для синтеза ранних в филогенезе биологически активных эйкозаноидов. И если клетки при блокаде поглощения ими ПНЖК, компенсаторно начинают синтез эйкозаноидов не из физиологических ПНЖК, а из афизиологических ННЖК, в частности, из ω -9 C20:3 дигомо- γ -линоленовой ННЖК, все гуморальные медиаторы – эйкозаноиды лишены функциональной активности [3].

Константы скорости реакции окисления озонот индивидуальных ЖК. Реакция, параметры которой мы обсуждаем, это озонот – «фиксация» молекулы O_3 на ДС в цепи атомов углерода с последующим ее разрывом и образованием озонидов; химически они неу-

стойчивы и быстро разлагаются. Физико-химическая реакция озонотпроисходит очень быстро; константа скорости реакции составляет порядка 10^5 - 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ [4]. Далее следует каскад реакций и преобразование свободного радикала во вторичный озонид. Далее происходит образование промежуточных радикалов, которые превращаются в спирты, альдегиды и карбонильные кислоты [5]. *In vivo* озонот наиболее активно модифицирует фосфолипиды (ФЛ) мембран клеток. Озон реагирует с ДС в цепи ЖК, когда в аминокислотах в sn-2 позиции глицеридов этерифицированы ПНЖК. Характерными продуктами модификации липидов являются диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид; по концентрации их оценивают активность озонот в липидах. Липидами, мы полагаем, являются все ЖК и все соединения, в состав которых ЖК входят.

Анализатор двойных связей, модели АДС-4М использован нами для измерения количества ДС в органических соединениях. Принцип действия анализаторов основан на способности непредельных органических соединений быстро и количественно присоединять озон по месту расположения ДС (одна молекула O_3 на одну ДС). Поскольку скорость взаимодействия озона с ДС в ЖК на несколько порядков выше скорости взаимодействия с иными функциональными группами, это обеспечивает высокую селективность анализа. При барботировании O_3 -кислородной смеси через исследуемый раствор, концентрация озона на выходе из реакционного сосуда уменьшается. Это изменение АДС преобразует в электрический сигнал и далее регистрирует в виде динамичной кривой поглощения озона. Площадь ограниченной этой кривой пропорциональна количеству прореагировавшего O_3 и соответствует количеству ДС в анализируемой ЖК. Данные полученные нами ранее [6], приведены в таблице.

Основными физико-химическими параметрами ЖК, которые могут определять кинетику их взаимодействия с озонот, являются:

- а) число атомов С в алифатической цепи, ее длина;
- б) число ДС в цепи ЖК;
- в) локализация ДС по длине цепи атомов С и
- г) конфигурация ДС (*cis* ли *rans*).

Самое большое значение константы ($k_{ЖК} = 2,58 \cdot 10^5$

Измеренное число ДС в индивидуальных ЖК и константы скорости реакций взаимодействия их с озоном

№ образца	Наименование ЖК	Измеренное число ДС	$k_{\text{жк}} \cdot 10^5, (\text{M} \cdot \text{c})^{-1}$
1	Олеиновая (C 18:1, <i>cis</i> 9)	0,996±0,024	2,58±0,33
2	Элаидиновая (C18:1, <i>trans</i> 9)	0,994±0,021	1,40±0,23
3	Петроселиновая (C18:1, <i>cis</i> 6)	1,012±0,013	1,53±0,21
4	Вакценовая (C18:1, <i>cis</i> 11)	1,038±0,067	1,32±0,26
5	Пальмитолеиновая (C16:1, <i>cis</i> 9)	0,998±0,026	1,30±0,13
6	Гадолеиновая (C20:1, <i>cis</i> 11)	не раствор.	-
7	Эруковая (C22:1, <i>cis</i> 13)	0,998±0,023	1,03±0,08
8	Нервоновая (C24:1, <i>cis</i> 15)	1,011±0,021	0,99±0,02
9	Линолевая (C18:2, <i>cis</i> 9,12)	1,984±0,031	1,47±0,22
10	Линоленовая (C18:3, <i>cis</i> 9,12,15)	3,002±0,015	0,93±0,11
11	Арахидоновая (C20:4, <i>cis</i> 5,8,11,14)	3,976±0,031	0,85±0,13
12	Докозагексаеновая (C22:6, <i>cis</i> 4,7,10,13,16,19)	6,012±0,032	0,56±0,03
12	Миристиновая (C14:0)	0	0
13	Пальмитиновая (C16:0)	0	0

* Исходная концентрация всех растворов $2 \cdot 10^{-2} \text{M}$, вводимых в реактор объемом 10–40 мкл.

($\text{M} \cdot \text{c}^{-1}$) выявлено для ω -9 C18:1 *cis* олеиновой МЖК; ДС в ней расположена в центре цепи в *cis* конфигурации. Конформация этой связи, т.е. изменение конфигурации на *trans*, уменьшает скорость взаимодействия элаидиновой ЖК с озоном почти в 2 раза. Объяснить это можно тем, что потенциальная энергия *trans* изомера меньше, чем у *cis* изомера. Поэтому реакция с озоном проходит с большей энергией активации, т.е. меньшая доля молекул *trans* изомера обладает достаточной энергией для преодоления барьера активации.

Элаидиновая ω -9 C18:1 *trans* ЖК имеет иные химические и физические свойства из-за иной конфигурации ДС: более высокую температуру плавления (45°C) по сравнению с *cis* леиновой кислотой ($13,4^\circ\text{C}$). Происходит это по причине способности *trans* молекул ЖК уплотняться более тесно, формируя почти «твердое тело»; они охраняют более плотную упаковку и при температуре организма. Расположение ДС по длине цепи для ЖК (C:18) также меняет величину константы скорости взаимодействия с озоном, как видно из таблицы для олеиновой (C18:1, *cis* 9), петроселиновой (C18:1, *cis* 6) и вакценовой (C18:1, *cis* 11) ЖК. Более латеральное расположение ДС в *cis* конфигурации (ближе к метильному или карбоксильному концу цепи ЖК) уменьшает константу скорости реакции окисления.

Для МЖК с разной длиной алифатической цепи (пальмитолеиновой, эруковой и нервоновой) отмечено уменьшение константы скорости окисления с увеличением числа атомов С в молекуле. С увеличением числа ДС в молекуле ННЖК и особенно ПНЖК, скорость реакции окисления их озоном уменьшается; процесс идет более медленно. Возможно, O_3 последовательно разрывает ДС в зависимости от их расположения и энергии связи. Для докозагексаеновой ЖК (C22:6, *cis* 4,7,10,13,16,19) константа скорости составила всего-то $0,56 \cdot 10^5, (\text{M} \cdot \text{c})^{-1}$; что примерно в 5 раз меньше, чем для олеиновой ЖК (C 18:1, *cis* 9). В то же время, в экспериментах *in vitro* озон не окисляет НЖК, ни C14:0 миристиновую, ни C16:0 пальмити-

новую НЖК, ни C18:0 стеариновую НЖК, что приведено в литературе.

Физико-химические параметры определяют наиболее высокую скорость окисления *in vitro* олеиновой МЖК. Энергия химической связи равна работе, которую необходимо затратить, чтобы разделить молекулу на две части (на атомы, группы атомов) и удалить их друг от друга на бесконечное расстояние [7]. Зависимо от радикалов, которые образуют химическую связь (ковалентная, водородная связь), от кратности связи (ДС, тройная связь) энергия связи имеет величину от 8-10 до 1000 килоджоулей, кДж/моль. Энергия химической связи определяет реакционную способность вещества; ее используют и при расчете кинетики химических реакций [8].

В составе НЖК энергия разрыва связи между атомами углерода в цепи составляет около 381 кДж/моль, у МЖК по месту единственной ДС она равна ≈ 364 кДж, т.е. существенно меньше. Активные формы O_2 могут отнимать атом водорода из группы CH_2 в составе МЖК и ННЖК и превращать их в свободнорадикальные группы CH^* . Радикал ЖК легко присоединяет молекулу O_2 и превращается в перекисный радикал ЖК. Перекиси являются нестабильными; они распадаются с образованием альдегидов в результате разрыва в цепи ЖК связи С-С, которая соседствует с перекисной группой. Подобным образом происходит окисление НЖК и ННЖК. И МЖК; ННЖК и НЖК в большей мере подвержены β -окислению, чем α - или ω -окислению [9].

Положение и число ДС в ЖК определяет особенности их окисления. При окислении олеиновой МЖК *in vivo* энергии выделяется больше и в течение более короткого интервала времени, чем при окислении пальмитиновой НЖК. В цепи атомов углерода в ЖК энергия разрыва связи между крайними атомами С (с метильного и карбоксильного концов) является наиболее высокой; она уменьшается по мере увеличения числа атомов углерода в цепи [10]. В ЖК энергия разрыва связи между атомами в цепи атомов С постепенно уменьшается по направлению к середине цепи. В

C8:0 ЖК она составляет: 394 – 373 – 364 – 360 – 360 – 364 – 373 – 394 кДж/моль [11].

Как особенности структуры, так и масса молекулы ЖК (углеводородов) оказывают влияние на величину энергии разрыва связей между атомами С, углерода с водородом и углерода с серой. Данные получены авторами в процессе выяснения корреляции между структурными и термодинамическими характеристиками, учитывая различия в типах связи и тепловом характере химических реакций. Предложено также уравнение расчета энергетического и водного баланса катаболизма ЖК и ТГ, коэффициента их сравнительной биоэнергетики [12]. Предложено также эмпирическое уравнение для вычисления энергии диссоциации СН-С и С-С связей в молекулах насыщенных углеводородов и свободных алифатических радикалов [13].

Обращает на себя внимание выраженное различие константы скорости окисления озоном ω -9 C18:1, *cis* олеиновой МЖК и ω -9 C16:1, *cis* пальмитолеиновой МЖК. Обладая выраженным сходством физико-химических параметров, две МЖК различаются только по длине цепи ЖК. В олеиновой МЖК двойная связь расположена между девятым и десятым атомом углерода, считая от метильного конца молекулы; ДС равно удалена как от метильного, так и от карбоксильного конца ЖК. В ω -9 пальмитолеиновой МЖК, единственная ДС смещена к карбоксильному концу цепи ЖК. И этого различия структуры оказывается достаточно, чтобы свойства ее как субстрата для окисления озоном *in vitro* оказались в два раза менее предпочтительными. Подобно пальмитолеиновой МЖК, более низкие константы скорости окисления озоном характерны и для более длинноцепочечных МЖК, как эруковая и нервоновая (см.таблицу).

Окисление индивидуальных ЖК in vitro и in vivo. Важно отдавать себе отчет в том, что все физико-химические закономерности, которые мы выявили в экспериментах *in vitro*, в полной мере остаются таковыми же и в биохимических реакциях метаболизма *in vivo*. И в митохондриях *in vivo*, физико-химические параметры олеиновой МЖК определяют наиболее высокую константу скорости ее окисление в физико-химических и биохимических реакциях матрикса. Окисление только олеиновой МЖК обеспечивает наиболее высокую эффективность функции митохондрий, наработку ранними в филогенезе органеллами большого количества энергии в форме макроэргического аденозинтрифосфата (АТФ) в единицу времени. И если в экспериментах *in vitro* озон в равной мере не окисляет пальмитиновую и миристиновую НЖК, то *in vivo* митохондрии активно окисляют C14:0 миристиновую, среднецепочечную НЖК но, как и *in vitro*, с нежеланием, с низкой константой скорости реакции, окисляют и длинноцепочечную пальмитиновую C16:0 НЖК [14, 15].

И если на ступенях филогенеза, при формировании на суше новых видов животных с более высокими параметрами кинетических реакций, при становлении новой биологической функции – функции локомоции, можно обоснованно полагать, что субстратом для окисления в митохондриях будет олеи-

новая МЖК. Роль биологии на ступенях филогенеза состоит, в формировании последовательности включения биологических реакций, в системном подходе, в построении единого для всех животных филогенеза, единого для всего живого анамнеза. Происходило это (происходит и сей час) в условиях воздействия чаще неблагоприятных факторов внешней среды. В то же время, отдельные этапы становления биологических процессов в филогенезе обоснованно рассматривать с позиций физической химии, биохимии и даже математики. Науку, мы представляем себе как, по сути, как единение когнитивной биологической функции, интеллекта, профессионального совершенства и философии, как науке наук.

В стремлении рассмотреть все закономерности общей биологии с единых позиций, можно проследить физические и физико-химические начала в становлении филогенеза всего живого, в эволюции, в основных критериях естественного отбора, а также и в системах молекул полимеров. При этом критериями отбора являются физические и физико-химические свойства макромолекул и их комплексов. Как критерии реальности теории можно рассматривать и возможность дедуктивного ее построения на основе объективной реальности, данной нам в ощущениях в физике и химии. Биология – наука историческая. При этом важно рассмотреть не только порядок построения биологических функций на ступенях филогенеза, но и условия формирования кинетических параметров биологического совершенства организмов на ступенях филогенеза. Основной чертой процесса биологической эволюции является основополагающая роль, доминирование кинетических закономерностей [16].

Направленность биологической эволюции определена в первую очередь физико-химическими факторами, далее биологическими функциями и биологическими реакциями. Совершенствование живых организмов на ступенях филогенеза всегда направлено в сторону большего кинетического (биологического) совершенства, формирования биологической функции локомоции – движения за счет сокращения поперечнополосатых скелетных миоцитов. В условиях естественного, конкурентного отбора всегда побеждают виды животных, кинетические параметры функции локомоции которых являются более совершенными. Это относится: а) к погоне при желании добыть пищу; б) при убегании в стремлении этой пищей не стать; в) при сезонных миграциях с целью поиска пищи и г) длительных перелетах птиц, перехода рыб из соленой воды океана в пресную воду рек в стремлении сохранить вид, для реализации биологической функции размножения, сохранения вида [17].

Кинетические параметры организма максимальны при окислении

в митохондриях олеиновой МЖК. Согласно приведенным нами выше данным (см.таблицу), с наиболее высокой константой скорости реакции как в опытах *in vitro*, как и в экспериментах с животными *in vivo*, клетки окисляют олеиновую МЖК. Исходя из этого, можно понять стремление клеток на ступенях филогенеза сформировать такие биохимические и физико-

химические реакции, при которых митохондрии могли бы всегда поглощать из цитоплазмы и подвергать метаболизму, главным образом, олеиновую МЖК. Однако первые одноклеточные, которыми в анаэробных условиях глубин океана были гетеротрофы археи; окисляли в митохондриях, главным образом, пальмитиновую НЖК [18, 19].

Определено это тем, что температура раннего (первого) мирового океана соответствовала изоволюметрическому интервалу воды, 36–42°C. В этих условиях стабильность мембраны клеток могли обеспечить только ФЛ, в каждом из которых в sn-1 (реже и в позиции sn-2 трехатомного спирта глицерина) была этерифицирована пальмитиновая НЖК. Именно пальмитиновую НЖК в цитоплазме, в цикле Кноппа-Линена из уксусной кислоты как субстрата, точнее из ацетил-КоА, синтезировали все одноклеточные археи. При этом *in vivo* доминировал энергетически не самый эффективный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК. Какие же реакции *in vivo* были реализованы на ступенях филогенеза, чтобы митохондрии стали реализовать наиболее эффективный олеиновый вариант метаболизма ЖК?

Как же произошло так, что на ступенях филогенеза основная масса эндогенно синтезированной *in vivo* С16:0 пальмитиновой НЖК стала в биохимических реакциях (реакция элонгации и реакция десатурации) субстратом для синтеза ω -9 С18:1 *cis* олеиновой МЖК? Мы полагаем, что на ступенях филогенеза превращения эти оказались успешными далеко не с первой попытки, несмотря на то, что этот процесс *in vivo*, мы полагаем, в большой мере инициировали и неблагоприятные воздействия внешней среды. Через миллионы лет синтеза археями оптимально большого количества пальмитиновой НЖК, температура воды в океане постепенно понизилась почти на порядок.

Количество синтезированной *in situ de novo* пальмитиновой НЖК, которое одноклеточные при высокой температуре океана реализовали в построении клеточных структур, при низкой температуре стало явно излишним. В то же время, использовать пальмитиновую НЖК как субстрат для окисления в митохондриях у одноклеточных тоже невозможно; внутренняя мембрана органелл непроницаема для пальмитиновой НЖК [20]. На ранних ступенях филогенеза, для более легкого проведения пальмитиновой НЖК через внутреннюю мембрану митохондрий, клетки реализовали превращение С16:0 пальмитиновой НЖК в С16:1 пальмитолеиновую МЖК. Для этого одноклеточные экспрессировали новый энзим-пальмитоил-КоА-десатуразу. Однако, согласно полученным нами данным, (см. таблицу), моноолеиновую пальмитолеиновую МЖК озон окисляет с константой скорости реакции в два раза ниже, чем при окислении *in vitro* пальмитиновой НЖК. Успешным на ступенях филогенеза это биохимическое превращение признать сложно.

Во втором варианте на ступенях филогенеза *in vivo* для активации окисления эндогенной пальмитиновой НЖК в митохондриях, одноклеточные сформировали специфичный транспортер – карнитин пальмитоил ацилтрансферазу [21]. Он призван переносить НЖК через внутреннюю мембрану митохондрий. Посколь-

ку окисление пальмитиновой НЖК на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий не происходит, митохондрии стали переносить в матрикс пальмитиновую НЖК целиком. При этом на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий проходит переэтерификация пальмитиновой НЖК из эфира с тиоспиртом КоА в эфир со спиртом карнитином. В этой форме митохондрии переносят пальмитиновую НЖК через внутреннюю мембрану в матрикс.

На внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий происходит обратная переэтерификация пальмитиновой НЖК из карнитинового эфира пальмитиновой НЖК в тио-эфир, в пальмитоил-КоА. В матриксе митохондрий не столь быстро, как бы хотелось, происходит гидролиз пальмитиновой НЖК на две среднецепочечные ЖК, окисление их цикле Кребса, в дыхательной цепи митохондрий и формирование макроэргического АТФ. Однако и при действии транспортера, митохондрии *in vivo*, как и прежде, окисляли эндогенную пальмитиновую НЖК с явно более низкой константой скорости реакции. Поэтому активность карнитин-пальмитоил-ацилтрансферазы на ступенях филогенеза в полной мере, признать эффективным транспортером оснований явно недостаточно.

На всех ранних ступенях филогенеза, *in vivo*, как у одноклеточных, так и у многоклеточных, доминировал энергетически мало эффективный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК [22]. Однако становление на ступенях филогенеза биологической функции локомоции настоятельно требовало формирования *in vivo* более совершенного олеинового варианта метаболизма ЖК; при нем митохондрии могли бы окислять в матриксе преимущественно олеиновую МЖК. На поздних ступенях филогенеза сформировалась острая необходимость биохимического превращения основного количества эндогенной, синтезированной *in situ de novo* пальмитиновой НЖК в олеиновую МЖК и формирование *in vivo* высокоэффективного олеинового варианта метаболизма ЖК. Столь необходимые биохимические превращения в клетках, органах и в организме, на всех трех уровнях относительного биологического «совершенства» реализовал гуморальный медиатор инсулин.

Биологическая функция локомоции, регуляторная роль инсулина

и кинетическое совершенство организмов. Произошло это в рамках становления на поздней ступенях филогенеза биологической функции локомоции – движения за счет сокращения поперечнополосатых, скелетных миоцитов. В течение миллионов лет функциональным предшественником инсулина, полагают, был инсулинподобный фактор роста; регуляторными свойствами инсулина он, однако, не обладал. Тем не менее, инсулинподобный фактор роста реально имеет отношение к регуляции доинсулиновых глюкозных транспортеров как ГЛЮТ-1, ГЛЮТ-2 и ГЛЮТ-3 на плазматической мембране филогенетически более ранних клеток и регуляции метаболизма глюкозы в клетках нервной системы. При формировании биологической функции локомоции, инсулину *in vivo* поручено обеспечить потребности в энергии.

Для реализации биологических потребностей в энергии инсулин экспрессировал формирование *in vivo* новых зависимых от гормона клеток. Ими стали: 1. поперечнополосатые, скелетные миоциты; 2. синцитий кардиомиоцитов; 3. подкожные адипоциты; 4. перипортальные гепатоциты и 5. высоко специализированные макрофаги Купфера в печени. Все инсулинзависимые клетки на плазматической мембране имеют: а) рецепторы для инсулина и б) более эффективные глюкозные транспортеры ГЛЮТ-4. Все зависимые от инсулина клетки реализуют олеиновый вариант метаболизма ЖК. Митохондрии зависимых от инсулина клеток окисляют преимущественно олеиновую МЖК, реализуя высокоэффективный олеиновый вариант метаболизма ЖК.

В зависимых от инсулина клетках, гормон экспрессирует синтез двух новых ферментов: пальмитоил-КоА-элонгазу и стеарил-КоА-десатуразу [23]. В цитоплазме клеток они превращают большую часть синтезированной *in situ de novo* пальмитиновой НЖК в олеиновую МЖК. Происходит это в двух сопряженных биохимических реакциях:

$C16:0 + \text{пальмитоил-КоА-элонгаза} \rightarrow C18:0 \text{ стеариновая НЖК} \rightarrow$

$C18:0 + \text{стеарил-КоА-десатураза} \rightarrow \omega-9 C18:1 -cis \text{ олеиновая МЖК.}$

Инсулин может превратить в олеиновую МЖК только эндогенно синтезированную клетками пальмитиновую НЖК *in situ de novo*, но никак не экзогенную пальмитиновую НЖК, которая поступает с мясной пищей. На ступенях филогенеза функционально это обусловлено разной локализацией процессов во внутриклеточных органеллах (компарментализацией) в клетках пула экзогенной пальмитиновой НЖК и пула эндогенно синтезированного пальмитата.

И чем меньше *Homo sapiens* потребляет углеводов, а клетки менее выражено синтезируют олеиновую МЖК, чем больше пул экзогенной пальмитиновой НЖК поступает с мясной (плотоядной) пищей, тем в большей мере эффективный олеиновый вариант метаболизма ЖК начинает замещать афизиологичный пальмитиновый, формируя в организме хронический дефицит энергии [24]. Связываясь с рецепторами к инсулину на плазматической мембране клеток и выставляя на мембрану клеток дополнительное число ГЛЮТ-4, гормон активирует поглощение клетками глюкозы с целью использовать ее как субстрат для синтеза олеиновой МЖК и выработки энергии в форме АТФ.

Согласно предложенной нами филогенетической теории общей патологии, в океане ранние клетки гетеротрофы археи начали метаболизм ЖК на миллионы лет ранее, чем клетки более поздних автотрофов стали синтезировать и осуществлять метаболизм глюкозы [25]. В силу методологического приема биологической преэминентности в филогенезе, ни одна из клеток *in vivo* из межклеточной среды не поглощает глюкозу, пока возможно поглощать ЖК. Клетки начинают активно поглощать глюкозу только тогда, когда содержание ЖК в межклеточной среде в форме полярных неэтерифицированных ЖК (НЭЖК) в ассоциации с альбумином оказывается сниженным. Так и

осуществлено действие инсулина; гормон, блокируя липолиз в инсулинзависимых подкожных адипоцитах, понижает содержание НЭЖК в межклеточной среде, в плазме крови и только в этих условиях клетки начинают поглощать глюкозу [26].

Согласно филогенетической теории общей патологии, инсулин на поздних ступенях филогенеза регулирует, в первую очередь, ЖК, формируя высокоэффективный олеиновый вариант метаболизма ЖК, синтез *in vivo* максимально возможного количества макроэргического АТФ в единицу времени. И только во вторую очередь, косвенно, гормон задействован в метаболизме глюкозы как субстрата для синтеза олеиновой МЖК. Биологическое предназначение инсулина – обеспечение энергией, в первую очередь, биологической функции локомоции и потребности организма в целом. Основной причиной гипергликемии в плазме крови является синдром резистентности к инсулину – блокада поглощения клетками глюкозы по причине постоянно высокого уровня в крови (в межклеточной среде) НЭЖК: их клетки поглощают со значительно большей константой скорости реакции, чем глюкозу [27].

Если градиент концентрации НЭЖК по обе стороны клеточной мембраны составляет физиологично $\approx 0,8-1,0$ ммоль:следовые количества, то для глюкозы различие составляет всего $0,2-0,3$ ммоль. НЭЖК в цитоплазме инсулинзависимых клеток практически нет, как нет и депонированных ТГ в форме капель липидов. Если в клетках семейство белков переносящих НЭЖК быстро доставляют их от транспортера (CD36 транслоказы ЖК) на клеточной мембране к митохондриям для окисления, то чтобы окислить в митохондриях образованный из глюкозы ацетил-КоА, необходимо предварительно провести десять последовательных реакций гликолиз в цитоплазме. Да и зависимые от инсулина ГЛЮТ-4 являются пассивными транспортерами, функция которых определена градиентом глюкозы межклеточная среда \leftrightarrow цитоплазма.

Согласно предложенной нами филогенетической теории общей патологии, биологическое предназначение инсулина, состоит в превращении плотоядных (рыбоядных) видов океана в травоядные на суше. Когда животные не по своей воле оказались на суше, где нет плотоядной (рыбной) пищи, а экзогенная пища представлена растениями, клетчаткой, углеводами и глюкозой, инсулин за миллионы лет сформировал синтез из глюкозы *in situ de novo* олеиновой МЖК и эффективный олеиновый вариант метаболизма ЖК. На ступенях филогенеза на суше инсулин исполнил историческую роль – осуществил превращение плотоядных (рыбоядных) животных океана в травоядные виды.

Травоядным в филогенезе стал и вид *Homo sapiens*, человек разумный. В наследство травоядному человеку от плотоядного периода жизни в океане осталось способность каждой из клеток синтезировать из уксусной кислоты (из ацетата) пальмитиновую НЖК в цикле Кноппа-Линена. И только зависимые от инсулина клетки могут превратить эндогенно синтезированный пальмитат в олеиновую МЖК. Как наследство от рыбоядного (плотоядного) питания при

жизни в океане, травоядный человек вскармливает новорожденных молоком матери. Специфическими, «конечными» липидами в молоке матери являются, главным образом, пальмитиновые ТГ с малым количеством этерифицированной в них олеиновой МЖК [28]. Наследством из раннего филогенеза стал и синтез специфического ФЛ клеток эпителия альвеол легких в форме выражено гидрофобного сурфактанта – дипальмитоил фосфатидилхолина.

Согласно филогенетической теории общей патологии, синдром резистентности к инсулину и большинство случаев гипергликемии у пациентов с ИБС является патологией метаболизма, в первую очередь, ЖК. Гипергликемия – функциональное нарушение, инициированное постоянно высоким содержанием в межклеточной среде НЭЖК. И нет оснований именовать столь частые функциональные нарушения, синдром резистентности к инсулину сахарным диабетом второго типа [29]. Основной причиной столь высокой частоты синдрома резистентности к инсулину [30], атеросклероза, атероматоза и ИБС является забвение *Homo sapiens* того, что филогенетически он травояден (в прошлом рыбаоден), но никак не мясоед. И злоупотребление мясной пищей с высоким содержанием экзогенной пальмитиновой НЖК является основной причиной формирования синдрома резистентности к инсулину [31].

Может показаться необычным, что мы начали статью с изложения констант скорости реакции окисления озоном индивидуальных ЖК, а заканчиваем описанием биохимических событий на ступенях филогенеза. Реально же основами биологического совершенства организмов на ступенях филогенеза являются, в первую очередь: а) физико-химические параметры субстратов; б) кинетика биохимических реакций и в) воздействие факторов внешней среды. На протяжении миллионов лет на всех ступенях филогенеза позитивные изменения *in vivo* направлены в сторону все большего кинетического (биологического) совершенства организмов [16], становления биологической функции локомоции.

Обобщая изложенное, можно сказать, что физико-химическое различие параметров окисления озоном пальмитиновой НЖК и олеиновой МЖК в филогенезе (эволюции) является одним из основополагающих факторов становления последовательно: а) реакций синтеза пальмитолеиновой МЖК; б) формирования карнитин пальмитоил ацилтрансферазы как транспортера НЖК в митохондрии и наконец в) синтеза *in vivo* олеиновой НЖК при гуморальном, регуляторном действии инсулина. В стремлении к более высоким кинетическим параметрам организмов невозможно изменить физико-химические и биохимические реакции в матриксе митохондрий, но можно обеспечить митохондрии таким субстратом, который даст органеллам возможность выражено увеличить эффективность функционирования и количество нарабатываемого ими АТФ. Физико-химические параметры олеиновой МЖК явились эталоном субстрата окисления при наработке *in vivo* энергии [6], синтезировать которую организмы стремились в филогенезе многие миллионы лет. Вторым основополагающим фактором становления кинетического совершенствования орга-

низмов на ступенях филогенеза явилось воздействие факторов внешней среды. Бывают ли они благоприятными, чаще нет, но они формируют жесткие условия, которые во многом стимулируют все приспособительные (адаптивные) функции организма, в том числе биологическую функцию локомоции, когнитивную функцию – функцию позиционирования вида (особи) в окружающей среде и в столь разнообразном мире.

И миллионами лет сформированное биологическое, энергетическое, кинетическое совершенство *in vivo* можно столь легко нарушить, если травоядный в филогенезе *Homo* не всегда *sapiens* начинает злоупотреблять плотоядной мясной пищей [32]; ее на ступенях филогенеза ни предки человека, ни сам человек никогда не употреблял. Это и есть основная причина столь частого распространения в популяции метаболических пандемий как синдром резистентности к инсулину, атеросклероз и атероматоз, ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени [33]. И самые эффективные методы профилактики метаболических пандемий, ИБС и инфаркта миокарда до наивности просты. Человек должен всегда оставаться травоядным.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 14, 15, 17-24, 27-33 REFERENCES)

1. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Содержание спиртов холестерина и глицерина в плазме крови зависит от числа двойных связей жирных кислот в пуле липидов липопротеинов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2006; 42(11): 521 – 4.
2. Сажина Н.Н., Титов В.Н., Евтеева Н.М., Ариповский А.В. Изменение суммарной ненасыщенности жирных кислот липидов плазмы крови больных артериальной гипертензией в глюкозотолерантном тесте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 60(2): 74 – 80.
3. Рожкова Т.А., Ариповский А.В., Яровая Е.Б., Каминная В.И., Кухарчук В.В., Титов В.Н. Индивидуальные жирные кислоты плазмы крови: биологическая роль субстратов, параметры количества и качества, диагностика атеросклероза и атероматоза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(11): 655 – 65.
4. Лисицын Д.М., Разумовский С.Д., Тишин М.А., Титов В.Н. Кинетические параметры окисления озоном индивидуальных жирных кислот. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2004; 138(11): 517 – 9.
5. Рощина В.В. *Озон и живая клетка. Учебное пособие к спецкурсу*. Пушино: Аналитическая микроскопия; 2009.
6. Титов В.Н., Сажина Н.Н., Ариповский А.В., Евтеева Н.М., Тибилова О.А., Кухарчук В.В. Определение ненасыщенности липидов крови методами физической химии и клинической биохимии. Регуляция инсулином метаболизма жирных кислот, числа двойных связей и поглощения клетками глюкозы. *Кардиологический вестник*. 2016; 2: 74 – 80.
7. Веденев В.И. Энергия разрыва С-Н-связей в углеводородах. *Доклады Академии наук СССР*. 1957; 114(3): 571 – 4.
8. Киреев В.А. *Курс физической химии*. 3 издание. М., 1975.
9. Иванов К.И. *Промежуточные продукты и промежуточные реакции автоокисления углеводородов*. М.-Л.: Гостоптехиздат; 1949.
10. Строев Е.А. *Биологическая химия*. М.: Высшая школа; 1986.
11. Сваровская Н.А., Зеленко И.Ю. Перспективный подход в моделировании процессов переработки углеводородного сырья. *Наука и технология углеводородов*. 2003; 4: 59 – 67.

12. Матьков К.Г. Уравнения расчета энергетического и водного баланса катаболизма жирных кислот и триглицеролов, коэффициент эффективности и сравнительная биоэнергетика. *Успехи современного естествознания*. 2007; 3: 89 – 91.
13. Воеводский В.В. Эмпирические уравнения для вычисления энергий диссоциации СН- и СС- связей в молекулах насыщенных углеводородов и в свободных алифатических радикалах. *Доклады Академии наук СССР*. 1951; 79(3): 455 – 8.
16. Шноль С.Э. *Физико-химические факторы биологической эволюции*. М.: Наука; 1979.
25. Титов В.Н. Филогенетическая теория становления болезни, теория патологии, патогенез «метаболических пандемий» и роль клинической биохимии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 10: 5 – 13.
26. Титов В.Н. *Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий. Сахарный диабет*. М.: ИНФРА-М; 2014.
14. Holloway G.P., Bezaire V., Heigenhauser G.J., Tandon N.N., Glatz J.F., Luiken J.J. Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyltransferase activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. *J. Physiol.* 2006; 571(Pt 1): 201 - 10.
15. Valero T. Mitochondrial biogenesis: pharmacological approaches. *Curr. Pharm. Des.* 2014; 20(35): 5507 - 9.
16. Shnol S.E. *Physicochemical factors of biological evolution. [Fiziko-khimicheskiye faktory biologicheskoy evolyuzii]*. Moskva. Izdatel'stvo "Nauka". 1979. (in Russian)
17. Laxman S. Conceptualizing Eukaryotic Metabolic Sensing and Signaling. *J. Indian. Inst. Sci.* 2017; 97(1): 59 - 77.
18. Egnatchik R., Leamy A.K., Noguchi Y., Shiota M., Young J.D. Palmitate-induced activation of mitochondrial metabolism promotes oxidative stress and apoptosis in H4IIEC3 rat hepatocytes. *Metabolism*. 2014; 63(2): 283 - 95.
19. Constantinescu S., Turcotte L.P. Amelioration of palmitate-induced metabolic dysfunction in L6 muscle cells expressing low levels of receptor-interacting protein 140. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2015; 93(11): 913 - 22.
20. Yang C., Aye C.C., Li X., Diaz Ramos A., Zorzano A., Mora S. Mitochondrial dysfunction in insulin resistance: differential contributions of chronic insulin and saturated fatty acid exposure in muscle cells. *Biosci. Rep.* 2012; 32(5): 465 - 78.
21. Longo N., Frigeni M., Pasquali M. Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016; 1863(10): 2422 - 35.
22. Hirabara S.M., Curi R., Maechler P. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. *J. Cell. Physiol.* 2010; 222(1): 187 - 94.
23. Stamatikos A.D., Paton C.M. Role of stearyl-CoA desaturase-1 in skeletal muscle function and metabolism. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013; 305(7): E767 – E775.
24. Niu Y., Li S., Na L., Feng R., Liu L., Li Y., Sun C. Mangiferin decreases plasma free fatty acids through promoting its catabolism in liver by activation of AMPK. *PLoS One.* 2012; 7(1): e30782.
25. Titov V.N. Phylogenetic theory of disease formation, pathology theory, pathogenesis of “metabolic pandemics” and the role of clinical biochemistry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 10: 5 – 13. (in Russian)
26. Titov V.N. *Phylogenetic theory of general pathology. The pathogenesis of metabolic pandemics. Diabetes. [Filogenicheskaya teoriya obschey patologii. Patogenez metabolicheskikh pandemiy. Sakharniy diabet]*. Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
27. Dias C.B., Amigo N., Wood L.G., Correig X., Garg M.L. Effect of diets rich in either saturated fat or n-6 polyunsaturated fatty acids and supplemented with long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on plasma lipoprotein profiles. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2017; 71(11): 1297 - 1302.
28. Fillipou A., Teng K.T., Berry S.E., Sanders T.A. Palmitic acid in the sn-2 position of dietary triacylglycerols does not affect insulin secretion or glucose homeostasis in healthy men and women. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2014; 68(9): 1036 -41.
29. Anthanont P., Ramos P., Jensen M.D., Hames K.C. Family history of type 2 diabetes, abdominal adipocyte size and markers of the metabolic syndrome. *Int. J. Obes (Lond)*. 2017; 41(11): 1621 - 6.
30. Samuel V.T., Petersen K.F., Shulman G.I. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet*. 2010; 375(9733): 2267 - 77.
31. Quiles L., Portolés O., Sorlí J.V., Corella D. Short term effects on lipid profile and glycaemia of a low-fat vegetarian diet. *Nutr. Hosp.* 2015; 32(1): 156 - 64.
32. Goswami H.K., Ram H.K. Ancient Food Habits Dictate that Food Can Be Medicine but Medicine Cannot Be “Food”. *Medicines (Basel)*. 2017; 4(4): E82 - E88.
33. Torres N., Guevara-Cruz M., Velázquez-Villegas L.A., Tovar A.R. Nutrition and Atherosclerosis. *Arch. Med. Res.* 2015; 46(5): 408 - 26.

REFERENCES

1. Titov V.N., Lisitsyn D.M. The content of alcohols of cholesterol and glycerin in the blood plasma depends on the number of double bonds of fatty acids in the lipid lipoprotein pool. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2006; 42(11): 521 – 4. (in Russian)
2. Sazhina N.N., Titov V.N., Evteeva N.M., Aripovskiy A.V. Change in total unsaturation of fatty acids of blood plasma lipids in patients with arterial hypertension in a glucose-tolerant test. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2016; 60(2): 74 – 80. (in Russian)
3. Rozhkova T.A., Aripovsky A.V., Yarovaya E.B., Kaminskaya V.I., Kukharchuk V.V., Titov V.N. Individual fatty acids of blood plasma: the biological role of substrates, the parameters of quantity, the diagnosis of atherosclerosis and atheromatosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2017; 62(11): 655 – 665. (in Russian)
4. Lisitsyn D.M., Razumovskiy S.D., Tischenin M.A., Titov V.N. Kinetic parameters of individual ozone oxidation of fatty acids. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004; 138(11): 517 – 9. (in Russian)
5. Roschina V.V. *Ozone and a living cell. Textbook for special courses. [Ozon i zhivaya kletka. Uchebnoe gosizdat k spetskursu]*. Puschino: Analiticheskaya mikroskopiya; 2009. (in Russian)
6. Titov V.N., Sazhina N.N., Aripovskiy A.V., Evteeva N.M., Tibilova O.A., Kukharchuk V.V. Determination of unsaturation of blood lipids by physical chemistry and clinical biochemistry. Regulation of insulin metabolism of fatty acids, the number of double bonds and the absorption of glucose by cells. *Kardiologicheskij vestnik*. 2016; 2: 74 – 80. (in Russian)
7. Vedenev V.I. Energy of rupture of C-H-bonds in hydrocarbons. *Doklady Akademii nauk SSSR*. 1957; 114(3): 571 – 4. (in Russian)
8. Kireev V.A. *Course of physical chemistry. [Kurs fizicheskoy khimii]*. 3rd izdanie. Moscow; 1975. (in Russian)
9. Ivanov K.I. *Intermediate products and intermediate reactions of auto-oxidation of hydrocarbons. [Promezhutochnye produkty i promezhutochnye reaktsii avtookisleniya uglevodorodov]*. Moscow-Leningrad: Gosoptechizdat; 1949. (in Russian)
10. Stroev E.A. *Biological chemistry. [Biologicheskaya khimiya]*. Moscow: Vysshaya shkola; 1986. (in Russian)
11. Svaroskaya N.A., Zelenko I.Yu. A promising approach in modeling hydrocarbon processing processes. *Nauka i tekhnologiya uglevodorodov*. 2003; 4: 59 – 67. (in Russian)
12. Mat'kov K.G. Equations for calculating the energy and water balance of catabolism of fatty acids and triglycerols, efficiency factor and comparative bioenergetics. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2007; 3: 89 – 91. (in Russian)
13. Voevodskiy V.V. Empirical equations for calculating the dissociation energies of CH and CC bonds in saturated hydrocarbon molecules and in free aliphatic radicals. *Doklady Akademii nauk SSSR*. 1951; 79(3): 455 – 8. (in Russian)