



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013155122/13, 11.12.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.12.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 11.12.2013

(45) Опубликовано: 10.04.2015 Бюл. № 10

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **ЖУРАВЛЕВА Л.А. И ДР.** "Разработка метода тестирования средства антиоксидантотерапии", ж-л "Вопросы современной науки и практики" Университет им. В.И.Вернадского, N2(4), 2006, стр.144-153. RU 2294958 C1, 10.03.2007. WO 2011025382 A1, 03.03.2011.

Адрес для переписки:

625003, г.Тюмень, ул. Семакова, 10, ФГБОУ ВПО
"Государственный аграрный университет
Северного Зауралья"

(72) Автор(ы):

Перевозкина Маргарита Геннадьевна (RU),
Еремин Дмитрий Иванович (RU),
Перевозкин Андрей Андреевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования
"Государственный аграрный университет
Северного Зауралья" (RU)

(54) СОСТАВ ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ЛИПИДОВ К ОКИСЛЕНИЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области пищевой технологии, а именно к способам защиты липидов, масел, жиров от окисления и окислительной деструкции. В качестве антиоксиданта используют 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (осалмид,

оксафенамид), добавляемый в количестве 0,01-0,14% от массы липидов. Изобретение направлено на расширение ассортимента эффективных синтетических антиоксидантов, достижение высоких эффектов ингибирования при меньших концентрациях антиоксиданта. 2 табл., 2 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 545 652**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.
C11B 5/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2013155122/13, 11.12.2013

(24) Effective date for property rights:
11.12.2013

Priority:

(22) Date of filing: 11.12.2013

(45) Date of publication: 10.04.2015 Bull. № 10

Mail address:

625003, g.Tjumen', ul. Semakova, 10, FGBOU VPO
"Gosudarstvennyj agrarnyj universitet Severnogo
Zaural'ja"

(72) Inventor(s):

Perevozkina Margarita Gennad'evna (RU),
Eremin Dmitrij Ivanovich (RU),
Perevozkin Andrej Andreevich (RU)

(73) Proprietor(s):

federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego
professional'nogo obrazovanija
"Gosudarstvennyj agrarnyj universitet
Severnogo Zaural'ja" (RU)

(54) **LIPID OXIDATION STABILISATION COMPOSITION**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: antioxidant used is 2-hydroxy-1-(N-4'-hydroxyphenyl)benzcarbamide (osalmide, oxaphenamide), which is added in amount of 0.01-0.14% of the weight of lipids.

EFFECT: wider range of effective synthetic antioxidants, achieving high inhibiting effect with low concentration of the antioxidant.

2 tbl, 2 ex

R U
2 5 4 5 6 5 2
C 1

R U
2 5 4 5 6 5 2
C 1

Изобретение относится к области пищевой технологии, а именно к способам защиты липидов, масел, жиров от окисления и окислительной деструкции, и может быть использовано в пищевой, косметической и химико-фармацевтической промышленности для получения стабильных липидосодержащих пищевых добавок (нутрицевтиков),

5 лечебно-косметических средств и лекарственных препаратов.

Для торможения процессов окисления применяют антиоксиданты (ингибиторы окисления), которые находят все более широкое применение для предотвращения окислительных превращений липидов и содержащих их препаратов *in vitro*, а также *in vivo* в комплексной терапии широкого круга заболеваний / Герчук М.П. Антиокислители в пищевой промышленности // Журн. Всесоюз. хим. общества им. Д.И. Менделеева. - 10 1960. - N. 4. - С. 395-402. Авакумов В.М., Ковлер М.А., Крутикова - Львова Р.П. Лекарственные средства метаболической терапии на основе витаминов и ферментов (Обзор) // Вопросы мед. ХИМИИ. - 1992. - Т. 38. - N 4. - С. 14-21. Дурнев А.Д., Середенин С.В. Антиоксиданты как средства защиты генетического аппарата // Хим.-фарм. журн. 15 - 1990. - N 2. - С. 92-100/. Таким образом, антиоксиданты, присутствующие в лекарственном или косметическом препарате, являются не только действующим началом этих средств, но могут значительно тормозить их окисление в процессе длительного хранения, способствуя сохранению в нативном состоянии легкоокисляемых биологически активных компонентов. Известны составы для стабилизации липидов к 20 окислению различного происхождения путем введения антиоксидантов токоферолов /US №2564106, кл. 252-404, опубликованный 14.08.1951/, нафтолов и фенолов /Эмануэль Н.М., Лясковская Ю.Н. Торможение процессов окисления жиров. М.: Пищепромиздат, 1961. - 360 с. /.

В качестве прототипа выбран состав для стабилизации липидов к окислению с 25 помощью введения токоферолов /Патент США №2564106, кл. 252-404, опубликованный 14.08.1951/. Указанный состав тормозит процесс окисления липидов за счет антиоксидантного действия ингибитора природного происхождения α -токоферола (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-2-фитил-хромана, витамина Е). Известно, что α -токоферол характеризуется чрезвычайно высокой константой скорости реакции с пероксильными 30 радикалами $k_7=(3,3-3,5)\times 10^6 \text{ M}^{-1}\times\text{c}^{-1}$ /Бурлакова Е.Б., Крашаков С.А., Храпова Н.Г. Кинетические особенности токоферолов как антиоксидантов. Черноголовка, 1992. - 56 с./.

Недостатком этого состава является сложный механизм действия α -токоферола в 35 липидных субстратах, его участие не только в реакциях обрыва цепей, но и реакциях продолжения цепей, что приводит к снижению антиоксидантной активности α -токоферола и промотированию процесса окисления.

Предлагаемое соединение 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (осалмид, 40 оксафенамид), производное салициловой кислоты и пара-аминофенола, применяется как желчегонное средство. Соединение проявляет активность с пероксильными радикалами с константой скорости реакции $k_7=6,86\times 10^4 \text{ M}^{-1}\times\text{c}^{-1}$ и обладает дополнительно способностью непосредственно взаимодействовать с гидропероксидами, разрушая их без образования свободных радикалов, что не наблюдается в присутствии α -токоферола /Перевозкина М.Г. Кинетика и механизм ингибирующего действия 45 производных фенозана, салициловой кислоты и их синергических смесей с α -токоферолом и фосфолипидами. Автореф. дис.... канд. хим. наук. Тюмень. - 2003. 28 с./.

Разрушение гидропероксидов под влиянием 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил) бензкарбамида, в свою очередь, является причиной выигрыша в периодах индукции.

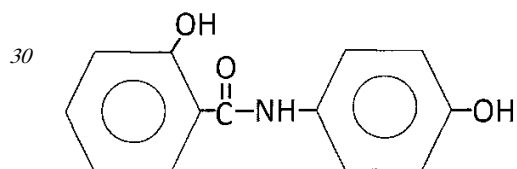
Для предлагаемого синтетического антиоксиданта имеет место положительная корреляционная связь между концентрацией и величиной ингибирующего эффекта, что не наблюдается для α -токоферола, указанная зависимость имеет экстремальный характер и при высоких концентрациях антиоксидантное действие α -токоферола сменяется на проантиоксидантное. Дополнительно 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид обладает фотостабилизирующим действием, способен поглощать УФ-излучение в диапазоне 301-305 нм, опасным для развития рака кожи, что может использоваться в косметической промышленности /Поротов Л.Г., Сторожок Н.М., Перевозкина М.Г. Кинетические исследования антиоксидантного и фотостабилизирующего действия осалмида - нового амидного производного салициловой кислоты // Сб. докл. всерос. науч. конф. молодых ученых и II школа им. Академика Н.М. Эмануэля «Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты». Москва. (1-3 июня). 2006. С. 131-133/.

Задачей заявляемого изобретения является разработать состав для стабилизации липидов к окислению с помощью антиоксиданта, обладающего высокой ингибирующей активностью и фотостабилизирующим действием в процессе окислительной деструкции природных липидов.

Технический результат - простой состав, не требующий больших материальных затрат, основанный на способности низкотоксичного антиоксиданта 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида взаимодействовать с пероксильными радикалами и разрушать продукты окислительной деструкции липидов (гидропероксиды) нерадикальным путем, поглощать УФ-излучение в диапазоне 301-305 нм и обладать фотостабилизирующим действием.

Технический результат достигается тем, что к липидам добавляют в качестве антиоксиданта 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид в количестве 0,01-0,14% от массы липидов.

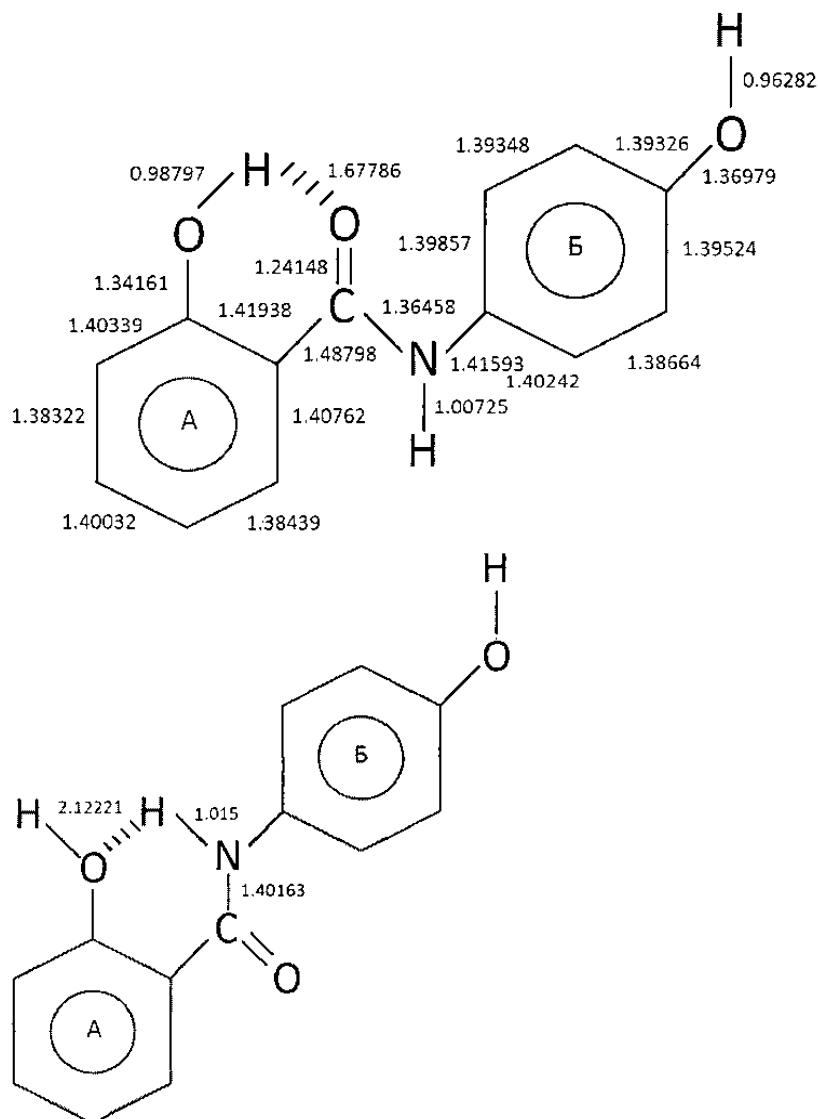
Сущность изобретения заключается в использовании по новому назначению 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида (осалмида, оксафенамида), химическая структура соединения представлена ниже



Антиоксидантную активность (АОА) тестировали волнометрическим методом поглощения кислорода в модифицированной установке типа Варбурга при окислении этилолеата (ЭО) в присутствии водного раствора триметилцетиламмоний бромид (ЦТМАБ) в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) в концентрации 1×10^{-3} М, с добавками водного раствора хлорида меди (II) в концентрации 2×10^{-3} М при $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Соотношение воды и липидов составляло 3:1, общий объем пробы 4 мл /Ушкалова В.Н., Перевозкина М.Г., Барышников Э.В. Разработка способа тестирования средств антиоксидантотерапии // В сб.: Свободно-радикальное окисление липидов в эксперименте и клинике. Тюмень, Из-во Тюм. ГУ. - 1997. - С. 77-82. Патент RU 2322658, опубл. 20.04.2008 г. Бюл. №11/.

При помощи компьютерной программы Current Gaussian 09 Revision D.01 были рассчитаны длины связей между атомами в молекуле осалмида, возможность образования внутримолекулярной водородной связи (ВВС), дипольные моменты (μ) и энергии активации молекул (E_a). Показано, что длина связи О-Н в ароматическом

кольце А соединения ($0,98787 \times 10^{-10}$ м) больше, чем длина связи О-Н в кольце Б ($0,96282 \times 10^{-10}$ м) (см. схему: Длины связей между атомами в молекуле осалмида). Наиболее активными О-Н группами в реакциях с пероксильными радикалами являются гидроксильные группы из кольца А. Длина ВВС между группами О-Н...О=С составляла ($1,67786 \times 10^{-10}$ м). Длина связи С-Н в молекуле осалмида составляла ($1,36458 \times 10^{-10}$ м). Дипольный момент и энергия активации молекулы осалмида составляет 2,6778 D и -782,6772869 кДж/моль соответственно. Показано, что осалмид не образует ВВС между группами N-H...O-H, по расчетам длина связи будет составлять $2,12221 \times 10^{-10}$ м (см. схему), а дипольный момент $\mu=3,3548$ D, поэтому существование такой молекулы не является оптимальным.



В качестве критериев оценки антиоксидантных свойств соединений использовали - периоды индукции, начальные и максимальные скорости окисления. Графическим методом определяли величину периода индукции (τ_i), представляющей собой отрезок оси абсцисс, отсекаемый перпендикуляром, опущенным из точки пересечения касательных, проведенных к кинетической кривой. Эффективность торможения процесса окисления липидного субстрата определяется совокупностью реакций ингибитора и обозначает его антиоксидантную активность, количественно определяемой по формуле

$AOA = \tau_i - \tau_S / \tau_S$, где τ_S и τ_i - периоды индукции окисления субстрата в отсутствие и в присутствии исследуемого антиоксиданта (АО) соответственно. Критерием антиоксидантного действия служили начальная ($W_{O2_{нач}}$) и максимальная ($W_{O2_{max}}$) скорости процесса окисления в присутствии и в отсутствие антиоксиданта. Скорость инициирования определяли уравнением $W_i = f[InH] / \tau_i$, где f - стехиометрический коэффициент ингибирования, $[InH]$ - концентрация реперного ингибитора, τ_i - период индукции.

Кинетику накопления гидропероксидов в модельном субстрате исследовали в условиях аутоокисления методом обратного йодометрического титрования в среде хлорбензола при $t = (60 \pm 0,2)^\circ C$. Навеску окисляемого модельного субстрата растворяли в смеси ледяной уксусной кислоты и хлороформа в соотношении 3:2, добавляли насыщенный на холоде иодид калия, смесь перемешивали и оставляли в темноте. Через равные промежутки времени отбирали пробы и определяли в них перекисное число:

$$ПЧ = \frac{0,1269 \times (a - b)}{d}; \text{ где } a - \text{объем } Na_2S_2O_3, \text{ пошедший на титрование пробы; } b - \text{объем}$$

$Na_2S_2O_3$, пошедший на титрование контрольного опыта; d - масса навески субстрата окисления.

Сущность изобретения иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

Берут 1 г (точная навеска) этилолеата (ЭО) и помещают в манометрическую ячейку, добавляют 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид в количестве 0,03% от массы липидов, добавляют водный раствор хлорида меди (II) в концентрации в пробе 2×10^{-3} М, водный раствор цетилтриметиламмония бромид (ЦТМАБ) в концентрации в пробе 1×10^{-3} М, доводят водой до общего объема пробы 4 мл. Поглощение кислорода оценивают волнометрическим методом в термостатированной установке типа Варбурга при температуре $t = (60 \pm 0,2)^\circ C$ при перемешивании на магнитной мешалке.

Измеряют объем ($мм^3$) поглощенного кислорода во времени, строят график в координатах dV/dt . Графическим методом из кинетических кривых определяют величину периода индукции (τ_i). Из наклона кинетических кривых определяют начальную ($W_{O2_{нач}}$) и максимальную ($W_{O2_{max}}$) скорости окисления липидного субстрата в контрольном опыте и с добавками антиоксидантов. Показатели сравнивают с прототипом.

Кинетические параметры окисления этилолеата (ЭО) в водно-липидной среде в присутствии 2×10^{-3} М $CuCl_2$ в зависимости от концентрации 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида и α -токоферола (прототип), $W_i = 6,7 \times 10^{-5} \text{ М} \times c^{-1}$, $t = 60^\circ C$.

Таблица 1

№ п/п	Содержание АО*, мас. %	τ , мин.	$W_{O_2 \text{нач.}} \times 10^{-5}$, $M \times c^{-1}$	$W_{O_2 \text{мах.}} \times 10^{-5}$, $M \times c^{-1}$	$W_{O_2 \text{мах}} \text{ ЭО}$ $W_{O_2 \text{мах}} \text{ АО}$
Субстрат окисления - этилолеат (контроль)					
1	0	0	7,5	14,0	-
α -токоферола (прототип)					
2	0,01	40	3,8	7,4	1,9
3	0,03	50	3,6	7,5	1,9
4	0,07	70	3,0	7,9	1,8
5	0,09	60	3,4	14,6	1,0
6	0,14	45	4,3	16,8	0,8
2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (осалмид)					
7	0,01	45	2,9	2,7	5,2
8	0,03	90	2,3	2,5	5,6
9	0,07	215	1,4	2,5	5,6
10	0,09	280	1,0	2,4	5,8
11	0,14	350	0,6	2,2	6,4

Примечание -*АО-антиоксидант; «-» - отсутствие эффекта. Каждая цифра – результат 10 опытов, $p < 0,05$.

Пример 2

Берут 10 г (точная навеска) линолевой кислоты (ЛК), добавляют 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид в количестве 0,03% от массы липидов, перемешивают магнитной мешалкой в светонепроницаемой термостатированной ячейке при температуре $t = (60 \pm 0,2)^\circ C$. Через равные промежутки времени отбирают пробы и определяют в них перекисное число (ПЧ).

Величины начальной, максимальной скоростей поглощения кислорода при каталитическом окислении этилолеата (ЭО), разрушения гидропероксидов при аутоокислении линолевой кислоты (ЛК) в присутствии 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида и α -токоферола (прототип), $t = 60^\circ C$.

Таблица 2

5 Состав смеси	Каталитическое окисление ЭО, $W_i = 6,7 \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$		Аутоокисление ЛК		10 Процент разрушения ROOH за 7 часов
	$W_{O_2 \text{ нач}} \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{O_2 \text{ max}} \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{лакоокисления}} \text{ ROOH} \times 10^{-4}; \text{ г I}_2/100 \text{ г лип.}^* \times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{разрушения}} \text{ ROOH} \times 10^{-4}; \text{ г I}_2/100 \text{ г лип.}^* \times \text{c}^{-1}$	
15 ЛИПИДЫ (контроль)	7,5	14,0	5,52	-	-
ЛИПИДЫ + α -токоферол (0,03 мас.%) (прототип)	3,6	7,5	5,52	-	-
20 ЛИПИДЫ + 2-гидрокси-1-(N-4'-гидрокси-фенил)бензкарбамид (0,03 мас.%)	2,3	2,5	-	3,81	72,9

25 Примечание *- липиды; «-» - отсутствие эффекта. Каждая цифра – результат 10 опытов, $p < 0,05$.

Формула изобретения

30 Состав для стабилизации липидов к окислению, включающий антиоксидант, отличающийся тем, что в качестве антиоксиданта используют 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (осалмид, оксафенамид), добавляемый в количестве 0,01-0,14% от массы липидов.