

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013155441/13, 12.12.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
12.12.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.12.2013

(45) Опубликовано: 20.03.2015 Бюл. № 8

(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" Универстет
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)C1
2 544 967 C1
RU

(54) СОСТАВ ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ЛИПИДОВ К ОКИСЛЕНИЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области пищевой
технологии, а именно к способам защиты
липидов, масел, жиров. В качестве антиоксиданта
использован 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-
пропионил]-L-пролин (капотен), добавляемый в
количество 0,0001-0,05% от массы липидов.

Изобретение направлено на расширение
ассортимента эффективных синтетических
антиоксидантов, достижение высоких эффектов
ингибиции при меньших концентрациях
антиоксиданта. 3 табл., 2 пр.

RU 2 544 967 C1

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2013155441/13, 12.12.2013

(24) Effective date for property rights:
12.12.2013

Priority:

(22) Date of filing: 12.12.2013

(45) Date of publication: 20.03.2015 Bull. № 8

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 obrazovaniya
"Gosudarstvennyj agrarnyj universitet
Severnogo Zaural'ja" (RU)

(54) COMPOSITION FOR LIPIDS OXIDATION STABILISATION

(57) Abstract:

FIELD: food industry.

SUBSTANCE: antioxidant is represented by 1-[(2S)-
3-mercaptopro-2-methyl-propionyl]-L-proline (capoten)
added in an amount of 0.0001-0.05% of the lipid weight.

EFFECT: expansion of the range of efficient

synthetic antioxidants and achievement of high effects
of inhibition combined with decreased concentrations
of the antioxidant.

3 tbl, 2 ex

C 1

2 5 4 4 9 6 7

RU

R U 2 5 4 4 9 6 7 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 10 в пищевой промышленности // Журн. Всесоюз. хим. общества им. Д.И. Менделеева. - 1960. - N. 4. - С. 395-402. Авакумов В.М., Ковлер М.А., Кругликова-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 СВ. 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 легкоокисляемых биологически активных компонентов в нативном состоянии. Известны составы для стабилизации липидов к 20 окислению различного происхождения путем введения антиоксидантов токоферолов /Патент SU №2564106, кл. 252-404, опубл. 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 SU №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 $k_7=(3,3-3,5)\times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ /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 липидных субстратах, его участие не только в реакциях обрыва цепей, но и реакциях 35 продолжения цепей, что приводит к снижению антиоксидантной активности α -токоферола и промоторированию процесса окисления.

Предлагаемое соединение 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин (капотен) 40 является производным аминокислоты - пролина с отдаленной боковой тиольной группой (меркаптогруппой). Препарат применяют при лечении легкой и умеренной гипертонии, а также при тяжелых формах сердечно-сосудистых заболеваний. 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин проявляет активность в реакции с пероксильными радикалами и обладает дополнительно способностью непосредственно взаимодействовать с гидропероксидами, разрушая их без образования свободных 45 радикалов, что не наблюдается в присутствии α -токоферола. Разрушение гидропероксидов под влиянием 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролина, в свою очередь, является причиной выигрыша в периодах индукции. Для предлагаемого синтетического антиоксиданта в водно-липидной среде 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.

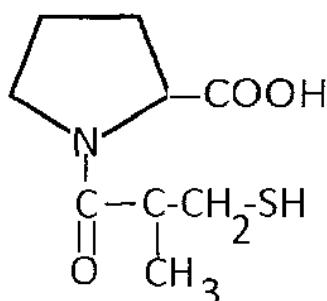
Задачей заявляемого изобретения является разработать состав для стабилизации липидов к окислению с помощью антиоксиданта, обладающего высокой ингибирующей 5 активностью в процессе окислительной деструкции природных липидов

Технический результат - простой состав, не требующий больших материальных затрат, основанный на способности низкотоксичного антиоксиданта 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролина взаимодействовать с пероксильными радикалами и разрушать продукты окислительной деструкции липидов (гидропероксиды)

10 нерадикальным путем.

Технический результат достигается тем, что к липидам добавляют в качестве антиоксиданта 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин в количестве 0,0001-0,05% от массы липидов.

Сущность изобретения заключается в использовании по новому назначению 1-[(2S) 15 -3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролина (капотена), химическая структура соединения представлена ниже:



Антиоксидантную активность (АОА) тестировали волюметрическим методом поглощения кислорода в модифицированной установке типа Варбурга при окислении метиллиноволеата (МЛ), в присутствии триметилцетиламмоний бромида (ЦТМАБ) в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) при концентрации 1×10^{-3} М, с

30 добавками растворов хлорида меди (II) в количестве 2×10^{-3} М при $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$.

Соотношение липидов и воды составляло 1:3, а общий объем пробы 4 мл /Ушакова 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./. Кинетику

35 поглощения кислорода в безводной среде изучали в среде инертного растворителя хлорбензола, процесс инициировали за счет термического разложения азо-бис-

изобутиронитрила (АИБН) в концентрации 6×10^{-3} М. В качестве критериев оценки антиоксидантных свойств соединений использовали периоды индукции, начальные и максимальные скорости окисления. Графическим методом определяли величину периода

40 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 $\text{AOA} = \tau_i - \tau_S / \tau_S$, где τ_S и τ_i - периоды индукции

45 окисления субстрата в отсутствие и в присутствии исследуемого антиоксиданта (АО) соответственно. Критерием антиоксидантного действия служили начальная ($W_{O2\text{ нач}}$)

и максимальная ($W_{O2\text{ max}}$) скорости процесса окисления в присутствии и в отсутствии

антиоксиданта. Скорость инициирования определяли уравнением $Wi=f[InH]/\tau_i$, где f - стехиометрический коэффициент ингибиравания, $[InH]$ - концентрация реперного ингибитора, τ_i - период индукции.

Кинетику накопления гидропероксидов в модельном субстрате исследовали в 5 условиях аутоокисления методом обратного йодометрического титрования в среде хлорбензола при $t=(60\pm0,2)^\circ\text{C}$. 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 10 равные промежутки времени отбирали пробы и определяли в них перекисное число:

$$\text{ПЧ} = \frac{0,1269 \times (a - b)}{d}; \text{ где } a - \text{объем } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{, пошедший на титрование пробы; } b - \text{объем}$$

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, пошедший на титрование контрольного опыта; d - масса навески субстрата окисления.

Сущность изобретения иллюстрируется следующими примерами

Пример 1

Берут 1 г (точная навеска) метиллиноолеата (МЛ) или другого субстрата, помещают в манометрическую ячейку, добавляют 1-[2S]-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин (капотен) в количестве 0,03% от массы липидов, 0,5 мл 6×10^{-3} М инициатора окисления АИБН в конечной концентрации, доводят хлорбензолом до общего объема пробы 2 мл. Поглощение кислорода оценивают волюметрическим методом в термостатированной установке типа Варбурга при температуре $t=(60\pm0,2)^\circ\text{C}$ при 20 перемешивании на магнитной мешалке. Измеряют объем (мм^3) поглощенного кислорода во времени, строят график в координатах V/t . Графическим методом из кинетических 25 кривых определяют величину периода индукции (τ_i). Из наклона кинетических кривых определяют начальную ($W_{O_2\text{ нач}}$) и максимальную ($W_{O_2\text{ max}}$) скорости окисления липидного субстрата в контрольном опыте и с добавками антиоксидантов. Показатели сравнивают с прототипом.

Кинетические параметры окисления метиллиноолеата в безводной среде в присутствии 6×10^{-3} М АИБН в зависимости от концентрации капотена и α -токоферола (прототип), $W_i=4,8\times10^{-8} \text{ M}\times\text{c}^{-1}$, $t=60^\circ\text{C}$

Таблица 1

№ п/п	Содержание АО*, мас. %	τ , мин.	$W_{O_2\text{ нач.}} \times 10^{-8}$, $\text{M}\times\text{c}^{-1}$	$W_{O_2\text{ max.}} \times 10^{-7}$, $\text{M}\times\text{c}^{-1}$
Субстрат окисления - метиллиноолеат (контроль)				
1	0	0	6,0	2,2
α -токоферола (прототип)				
2	0,0001	32	2,5	1,9
3	0,001	44	2,3	1,8
4	0,01	67	1,1	1,8
капотен				
5	0,0001	45	5,0	1,7
6	0,0007	56	4,7	1,5
7	0,007	90	4,5	1,4

Пример 2

Берут 1 г (точная навеска) метиллиноволеата или другого субстрата, помещают в манометрическую ячейку, добавляют 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин (капотен) в количестве 0,03% от массы липидов, добавляют 1 мл 1×10^{-3} М водного раствора цетилтритилемоний бромида в конечной концентрации, 1 мл 2×10^{-3} М хлорида меди (II) в конечной концентрации, доводят водой до общего объема пробы 4 мл. Поглощение кислорода оценивают волюметрическим методом в термостатированной установке типа Варбурга при температуре $t=(60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ при перемешивании на магнитной мешалке. Измеряют объем (мм) поглощенного кислорода во времени, строят график в координатах V/t . Графическим методом из кинетических кривых определяют величину периода индукции (τ_i). Из наклона кинетических кривых определяют начальную ($W_{O_2\text{ нач.}}$) и максимальную ($W_{O_2\text{ max.}}$) скорости окисления липидного субстрата в контрольном опыте и с добавками антиоксидантов. Показатели сравнивают с прототипом.

Кинетические параметры окисления метиллиноволеата в водно-эмulsionной среде в присутствии 2×10^{-3} М CuCl_2 в зависимости от концентрации капотена и α -токоферола (прототип), $W_i=1,9 \times 10^{-5}$ $\text{M} \times \text{c}^{-1}$, $t=60^\circ\text{C}$.

20

Таблица 2

№ п/п	Содержание АО*, мас. %	τ , мин.	$W_{O_2\text{ нач.}} \times 10^{-5}$, $\text{M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{O_2\text{ max.}} \times 10^{-4}$, $\text{M} \times \text{c}^{-1}$
Субстрат окисления - метиллиноволеат (контроль)				
1	0	0	14,4	2,6
α -токоферола (прототип)				
2	0,0001	20	9,7	1,9
3	0,001	25	6,8	1,8
4	0,01	35	5,2	1,9
5	0,14	15	14,6	3,2
капотен				
6	0,0001	30	7,6	1,6
7	0,001	40	6,9	1,5
8	0,01	55	6,2	1,3
9	0,05	60	4,1	1,1

Пример 3

Берут 10 г (точная навеска) метилолеата (МО) или другого субстрата, добавляют 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин (капотен) в количестве 0,03% от массы липидов, перемешивают магнитной мешалкой в светонепроницаемой термостатированной ячейке при температуре $t=(60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$. Через равные промежутки времени отбирают пробы и определяют в них перекисное число (ПЧ).

Величины начальной, максимальной скоростей поглощения кислорода при катализитическом окислении метиллиноволеата (МЛ), разрушения гидропероксидов при аутоокислении метилолеата (МО) ($C_{\text{субстрата}}=7,4 \times 10^{-1}$ М) в присутствии капотена и α -токоферола (прототип), $t=60^\circ\text{C}$

Таблица 3

Состав смеси	Каталитическое окисление МЛ, $W_i = 1,9 \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$		АUTOокисление МО		Процент разрушения ROOH за 7 часов
	$W_{O_2 \text{ нач}} \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{O_2 \text{ max}} \times 10^{-4} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{накопления ROOH}} \times 10^{-4} \text{ г I}_2/100 \text{ г лип.} \times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{разрушения ROOH}} \times 10^{-4} \text{ г I}_2/100 \text{ г лип.} \times \text{c}^{-1}$	
ЛИПИДЫ (контроль)	14,4	2,6	4,17	-	-
ЛИПИДЫ + α -токоферол (0,03 мас.%) (прототип)	6,3	2,5	4,17	-	-
ЛИПИДЫ + капотен (0,03 мас.%)	4,6	1,2	-	2,46	59,1

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

Формула изобретения

Состав для стабилизации липидов к окислению, включающий антиоксидант, отличающийся тем, что в качестве антиоксиданта использован 1-[(2S)-3-меркапто-2-метил-пропионил]-L-пролин (капотен), добавляемый в количестве 0,0001-0,05% от массы липидов.

30

35

40

45