

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" 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  
2 545 652 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 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 ингибиции при меньших  
концентрациях антиоксиданта. 2 табл., 2 пр.

RU 2 545 652 C1

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

## (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 obrazovaniya  
"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

C 1

2 5 4 5 6 5 2

R U

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 10 в пищевой промышленности // Журн. Всесоюз. хим. общества им. Д.И. Менделеева. - 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 15 С.В. Антиоксиданты как средства защиты генетического аппарата // Хим.-фарм. журн. - 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 20 биологически активных компонентов. Известны составы для стабилизации липидов к 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  $\alpha$ -токоферола (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметил-2-фитил-хромана, витамина Е). Известно, что  $\alpha$ -токоферол характеризуется чрезвычайно высокой константой скорости реакции с пероксильными 30 радикалами  $k_7=(3,3-3,5)\times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{xc}^{-1}$  /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  $\alpha$ -токоферола в липидных субстратах, его участие не только в реакциях обрыва цепей, но и реакциях продолжения цепей, что приводит к снижению антиоксидантной активности  $\alpha$ -токоферола и промотированию процесса окисления.

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

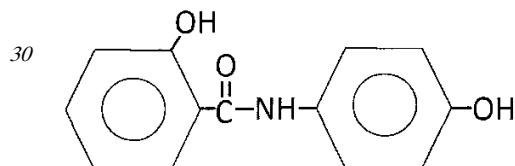
Для предлагаемого синтетического антиоксиданта имеет место положительная корреляционная связь между концентрацией и величиной ингибирующего эффекта, что не наблюдается для  $\alpha$ -токоферола, указанная зависимость имеет экстремальный характер и при высоких концентрациях антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола сменяется на 5 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 10 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 15 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 20 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)бензкарбамида в количестве 0,01- 25 0,14% от массы липидов.

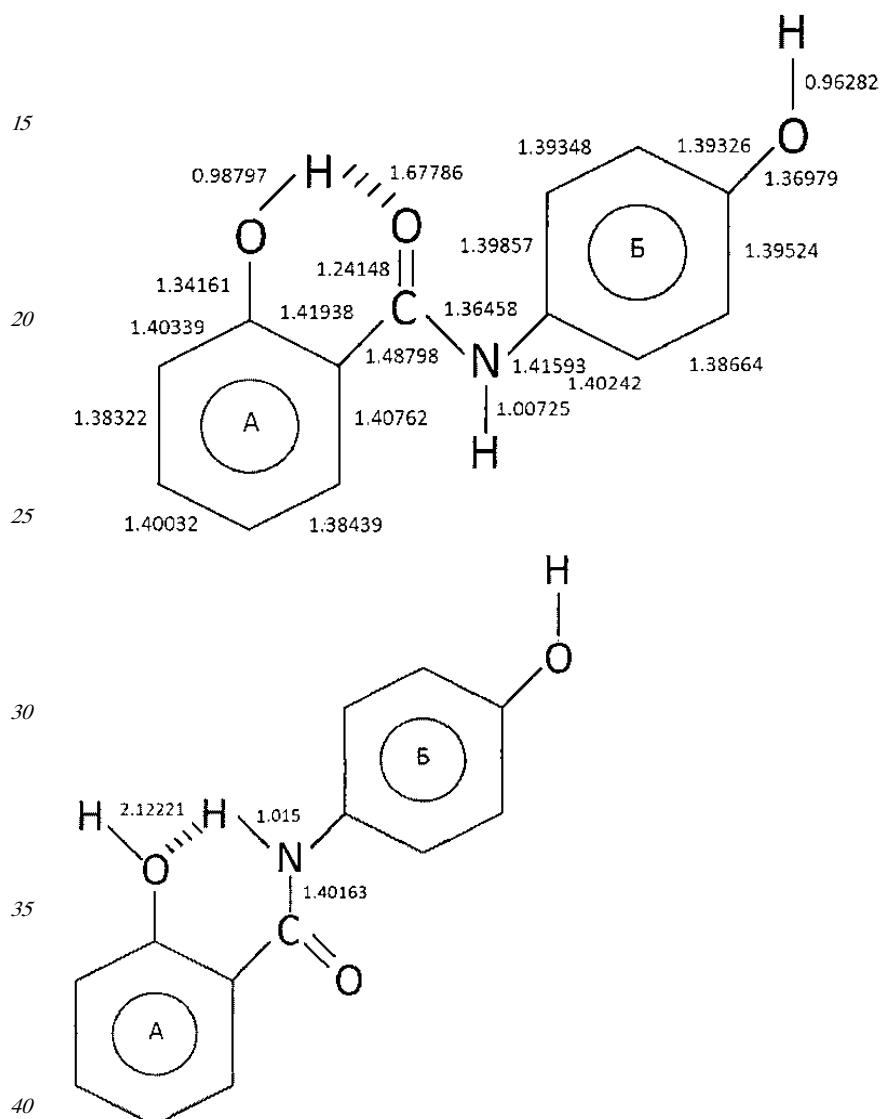
Сущность изобретения заключается в использовании по новому назначению 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида (осалмида, оксафенамида), химическая структура соединения представлена ниже



Антиоксидантную активность (АОА) тестировали волюметрическим методом 35 поглощения кислорода в модифицированной установке типа Варбурга при окислении этилолеата (ЭО) в присутствии водного раствора триметилцетиламмоний бромида (ЦТМАБ) в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) в концентрации  $1 \times 10^{-3}$  М, с добавками водного раствора хлорида меди (II) в концентрации  $2 \times 10^{-3}$  М при  $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ . Соотношение воды и липидов составляло 3:1, общий объем пробы 4 мл 40 /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. Патент RU 2322658, опубл. 20.04.2008 г. Бюл. №11/.

При помощи компьютерной программы Current Gaussian 09 Revision D.01 были 45 рассчитаны длины связей между атомами в молекуле осалмида, возможность образования внутримолекулярной водородной связи (BBC), дипольные моменты ( $\mu$ ) и энергии активации молекул ( $E_a$ ). Показано, что длина связи O-H в ароматическом

5 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-N 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 10 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 ( $t_i$ ), представляющей собой отрезок оси абсцисс, отсекаемый перпендикуляром, опущенным из точки пересечения 45 касательных, проведенных к кинетической кривой. Эффективность торможения процесса окисления липидного субстрата определяется совокупностью реакций ингибитора и обозначает его антиоксидантную активность, количественно определяемой по формуле

АОА=  $\tau_i - \tau_S / \tau_S$ , где  $\tau_S$  и  $\tau_i$  - периоды индукции окисления субстрата в отсутствие и в присутствии исследуемого антиоксиданта (АО) соответственно. Критерием антиоксидантного действия служили начальная ( $W_{O2\text{нач}}$ ) и максимальная ( $W_{O2\text{макс}}$ ) скорости процесса окисления в присутствии и в отсутствии антиоксиданта. Скорость инициирования определяли уравнением  $W_i = f[\text{InH}] / \tau_i$ , где  $f$  - стехиометрический коэффициент ингибирования,  $[\text{InH}]$  - концентрация реперного ингибитора,  $\tau_i$  - период индукции.

Кинетику накопления гидропероксидов в модельном субстрате исследовали в

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 равные промежутки времени отбирали пробы и определяли в них перекисное число:

$$\text{ПЧ} = \frac{0,1269 \times (a - b)}{d};$$
 где  $a$  - объем  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , пошедший на титрование пробы;  $b$  - 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) 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  $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ , водный раствор цетилtrimетиламмония бромида (ЦТМАБ) в концентрации в пробе  $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ , доводят водой до общего объема пробы 4 мл. Поглощение кислорода оценивают волюметрическим методом в термостатированной установке типа Варбурга при температуре  $t=(60\pm0,2)^\circ\text{C}$  при перемешивании на магнитной мешалке.

Измеряют объем ( $\text{мм}^3$ ) поглощенного кислорода во времени, строят график в координатах  $dV/dt$ . Графическим методом из кинетических кривых определяют величину периода индукции ( $\tau_i$ ). Из наклона кинетических кривых определяют начальную ( $W_{O2\text{нач2}}$ ) и максимальную ( $W_{O2\text{макс}}$ ) скорости окисления липидного субстрата в контролльном опыте и с добавками антиоксидантов. Показатели сравнивают с прототипом.

Кинетические параметры окисления этилолеата (ЭО) в водно-липидной среде в присутствии  $2 \times 10^{-3} \text{ M CuCl}_2$  в зависимости от концентрации 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида и  $\alpha$ -токоферола (прототип),  $W_i = 6,7 \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$ ,  $t=60^\circ\text{C}$ .

40

45

Таблица 1

№ н/п	Содержание АО*, мас. %	τ, мин.	W <sub>O<sub>2</sub> нач.</sub> × 10 <sup>-5</sup> , M × c <sup>-1</sup>	W <sub>O<sub>2</sub> max.</sub> × 10 <sup>-5</sup> , M × c <sup>-1</sup>	W <sub>O<sub>2</sub> max ЭО</sub> W <sub>O<sub>2</sub> max АО</sub>
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  $t = (60 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ . 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 аUTOокислении линолевой кислоты (ЛК) в присутствии 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамида и α-токоферола (прототип),  $t = 60^\circ\text{C}$ .

Таблица 2

Состав смеси	Каталитическое окисление ЭО, $W_i = 6,7 \times 10^{-5} \text{ M} \times \text{c}^{-1}$		Автоокисление ЛК		Процент разрушения ROOH за 7 часов
	$W_{O2 \text{ нач}} \times 10^{-5}$ $\text{M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{O2 \text{ max}} \times 10^{-5}$ $\text{M} \times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{накопления}}$ роон $\times 10^{-4}$ ; $\text{гI}_2/100$ г лип.* $\times \text{c}^{-1}$	$W_{\text{разрушения}}$ роон $\times 10^{-4}$ , $\text{гI}_2/100$ г лип.* $\times \text{c}^{-1}$	
ЛИПИДЫ (контроль)	7,5	14,0	5,52	-	-
ЛИПИДЫ + $\alpha$ -токоферол (0,03 мас.%) (прототип)	3,6	7,5	5,52	-	-
ЛИПИДЫ + 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (0,03 мас.%)	2,3	2,5	-	3,81	72,9

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 используют 2-гидрокси-1-(N-4'-гидроксифенил)бензкарбамид (осалмид, оксафенамид), добавляемый в количестве 0,01-0,14% от массы липидов.