

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА ПРОДУКТОВ ОЗОНОЛИЗА НЕКОТОРЫХ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

DOI: 10.17691/stm2019.11.3.08

УДК 612.273:616–073.584

Поступила 13.05.2019 г.



А.С. Гордецов, д.х.н., профессор, зав. кафедрой общей химии¹;
С.П. Перетягин, д.м.н., профессор²;
А.В. Кадомцева, к.х.н., старший преподаватель кафедры общей химии¹;
А.Н. Новикова, к.х.н., старший преподаватель кафедры общей химии¹;
О.В. Гречканева, научный сотрудник²;
С.В. Зими́на, к.х.н., доцент кафедры общей химии¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

²Ассоциация российских озонотерапевтов, ул. Панина, 9, Н. Новгород, 603089

Цель исследования — изучение состава реакционных систем, образующихся при озонировании некоторых липидов, в частности оливкового масла и его модельной системы — олеиновой кислоты, а также выявление в них активных форм кислорода (АФК), приводящих к появлению саногенетических свойств у приготовленных на их основе лечебных препаратов.

Материалы и методы. Липиды, содержащие олеиновую кислоту в этерифицированной и свободной формах, озонировали с помощью аппарата озонотерапии с деструктором озона «Медозонс-03» (АОТ-Н-01-Арз-01) (Россия). Исследование химического состава и строения продуктов озонлиза, содержащих АФК, выполняли на ИК-Фурье спектрофотометре Shimadzu IR Prestige 21 (Япония) в области волновых чисел 4000–400 см⁻¹ в виде жидких пленок в окошках из KBr или ZnSe. Поиск АФК проводили сравнением ИК-спектров образцов исследуемых веществ до и после озонирования. Динамику образования и изменения концентрации АФК контролировали также методом йодометрического титрования по Межгосударственному стандарту ГОСТ ISO 3960-2013. Свойства приготовленных на основе озонированных продуктов лечебных препаратов, а также динамику изменения концентраций АФК в них исследовали аналогичным образом.

Результаты. Метод ИК-Фурье-спектроскопии позволил установить, что в результате озонирования липидов, содержащих олеиновую кислоту в этерифицированной и свободной формах, в качестве основных относительно стабильных форм АФК образуются соответственно гидропероксиациды и гидропероксиэфиры, а не озониды. Концентрация последних весьма незначительна, в то время как гидропероксипроизводные распадаются достаточно медленно и существуют в реакционных продуктах (системах) в течение нескольких месяцев. Выявлено также, что многокомпонентные гидрофильные основы лечебных препаратов практически не оказывают прямого химического влияния на данный тип АФК.

Ключевые слова: ИК-Фурье-спектроскопия; озон; гидропероксиациды; гидропероксиэфиры.

Как цитировать: Gordetsov A.S., Peretyagin S.P., Kadomtseva A.V., Novikova A.N., Grechkaneva O.V., Zimina S.V. Reactive oxygen species of ozonolysis products of some unsaturated organic compounds. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(3): 60–65, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.3.08>

Для контактов: Гордецов Александр Сергеевич, e-mail: algordetsov@yandex.ru

English

Reactive Oxygen Species of Ozonolysis Products of Some Unsaturated Organic Compounds

A.S. Gordetsov, DSc, Professor, Head of General Chemistry Department¹;

S.P. Peretyagin, MD, DSc, Professor²;

A.V. Kadomtseva, PhD, Senior Teacher, General Chemistry Department¹;

A.N. Novikova, PhD, Senior Teacher, General Chemistry Department¹;

O.V. Grechkaneva, Researcher²;

S.V. Zimina, PhD, Associate Professor, General Chemistry Department¹

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²Ozone Therapist Association, 9 Panin St., Nizhny Novgorod, 603089

The aim of the investigation was to study the composition of reaction systems formed when certain lipids are ozonized, in particular, olive oil lipids and olive oil model system — oleic acid, as well as to reveal reactive oxygen species (ROS) in the systems resulting in sanogenetic properties appearing in preparations based on the properties.

Materials and Methods. Lipids containing oleic acid in esterified and free forms were ozonized by an ozone therapy unit with an ozone destructor (Medozons-03, AOT-N-01-Arz-01, Russia). The chemical composition and structure of ozonolysis products containing ROS were studied using Fourier-transform IR spectrophotometer (Shimadzu IR Prestige 21, Japan) in a wave number area 4000–400 cm⁻¹ in the form of liquid films in the windows from KBr or ZnSe. ROS were searched by comparing IR spectra of studied samples before and after ozonolysis. The dynamics of ROS formation and concentration changes were also controlled by iodometric titration according to Interstate standard GOST ISO 3960-2013. The properties of medicinal preparations made on ozonized products, as well as ROS concentration changes were studied in a similar way.

Results. Fourier-transform IR spectroscopy enabled to find that the ozonolysis of lipids containing oleic acid in esterified and free forms results in the formation of hydroperoxyacids and hydroperoxyesters, respectively, rather than ozonides, as basic relatively stable ROS forms. The concentration of ozonides is rather low, while hydroperoxy-derivatives segregate rather slowly, and exist in reaction products (systems) within several months. Multi-component hydrophilic bases of pharmaceuticals have a slight direct chemical effect on this ROS type.

Key words: Fourier-transform IR spectroscopy; ozone; hydroperoxyacids; hydroperoxyesters.

Введение

В течение последних 2–3 десятилетий началось успешное применение наружных озонидсодержащих препаратов с лечебными целями в различных областях медицины (дерматовенерологии, гинекологии, стоматологии, комбустиологии). Кроме того, ведущими мировыми производителями сразу в нескольких странах: России, Украине, Италии, Кубе, Испании, Турции, США, Мексике — несколько лет назад налажено широкое производство наружных препаратов, содержащих химически модифицированные озонем липиды типа оливкового масла [1]. Все это стимулирует более тщательное изучение химического состава образующихся реакционных смесей.

Востребованность озонидсодержащих препаратов на медицинском рынке позиционируется их мощным бактерицидным действием, антиоксидантными свойствами, способностью улучшать микроциркуляцию крови, стимулировать регенераторный потенциал клетки путем интенсификации процессов аэробного метаболизма [2]. Вместе с тем разработка новых средств, содержащих активные формы кислорода — АФК (масла, препараты на гидрофильной основе) дик-

тует проведение физико-химических и биохимических исследований для установления их состава и биологических свойств, возникающих в них в результате технологического процесса.

Цель исследования — изучение состава реакционных систем, образующихся при озонировании некоторых липидов, в частности оливкового масла и его модельной системы — олеиновой кислоты, а также выявление в них активных форм кислорода, приводящих к появлению саногенетических свойств у приготовленных на их основе лечебных препаратов.

Материалы и методы

Липиды, содержащие олеиновую кислоту в этерифицированной и свободной формах, озонировали с помощью аппарата озонотерапии с низкой концентрацией и деструктором озона «Медозонс-03» (AOT-N-01-Arz-01) («Медозонс», Россия). Исследование химического состава и строения продуктов озонлиза, содержащих АФК, выполняли на ИК-Фурье-спектрофотометре Shimadzu IR Prestige 21 (Shimadzu Corp., Япония) в области 4000–400 см⁻¹ в виде жидких пленок в окошках из KBr или ZnSe.

быстро переходят в гидропероксиды жирных кислот и сложных эфиров. В то же время сложноэфирные связи триглицеридов также расщепляются, давая различные моно- и диглицериды с пероксидными группами. В итоге получается сложная смесь продуктов окисления органических веществ, среди которых идентифицированы альдегиды, кетоны, короткоцепочечные и длинноцепочечные карбоновые кислоты, а также пероксидные и гидропероксидные производные перечисленных соединений. Отдельные продукты озонирования доказаны методами газовой и тонкослойной хроматографии, причем наибольшую концентрацию среди идентифицированных веществ имела нонановая кислота [9].

Изучение нами исходного и озонированного оливкового масла с помощью ИК-спектров показало, что в условиях технологического процесса, во-первых, реакция проходит достаточно глубоко и, во-вторых, основными продуктами являются пероксикислоты и их эфиры (схема 4), а также нонановая кислота. ИК-спектры смеси продуктов реакции (рис. 2) содержат следующие основные полосы поглощения (см^{-1}): 3478–3468 (ν ООН), 1754 (ν C=O), 1464, 1418, 1101 (ν COO), 885 (ν O–O, плечо) [гидропероксикислоты и их эфиры] [4], 1718–1712 (ν C=O), 1464, 1418, 1243, 1105, 954 [нонановая кислота]. Имеется также полоса поглощения при 1050 см^{-1} [озониды]. Таким образом, как и в случае олеиновой кислоты, носителями АФК являются гидропероксикислоты и их сложные эфиры, а также незначительные количества озонидов.

Следует отметить, что интенсивность пиков АФК в ИК-спектрах продуктов реакции (4) несколько ниже, чем при озонировании индивидуальной олеиновой кислоты. Гидролиз олеатов и других триглицеридов оливкового масла не наблюдался. Так, в ИК-спектрах отсутствуют полосы поглощения основного продукта гидролиза — глицерина, причем специальными экспериментами было показано, что сам глицерин в применяемых условиях с озоном не реагирует. Предположительная схема озонлиза триолеина, являющегося главным компонентом оливкового масла, имеет

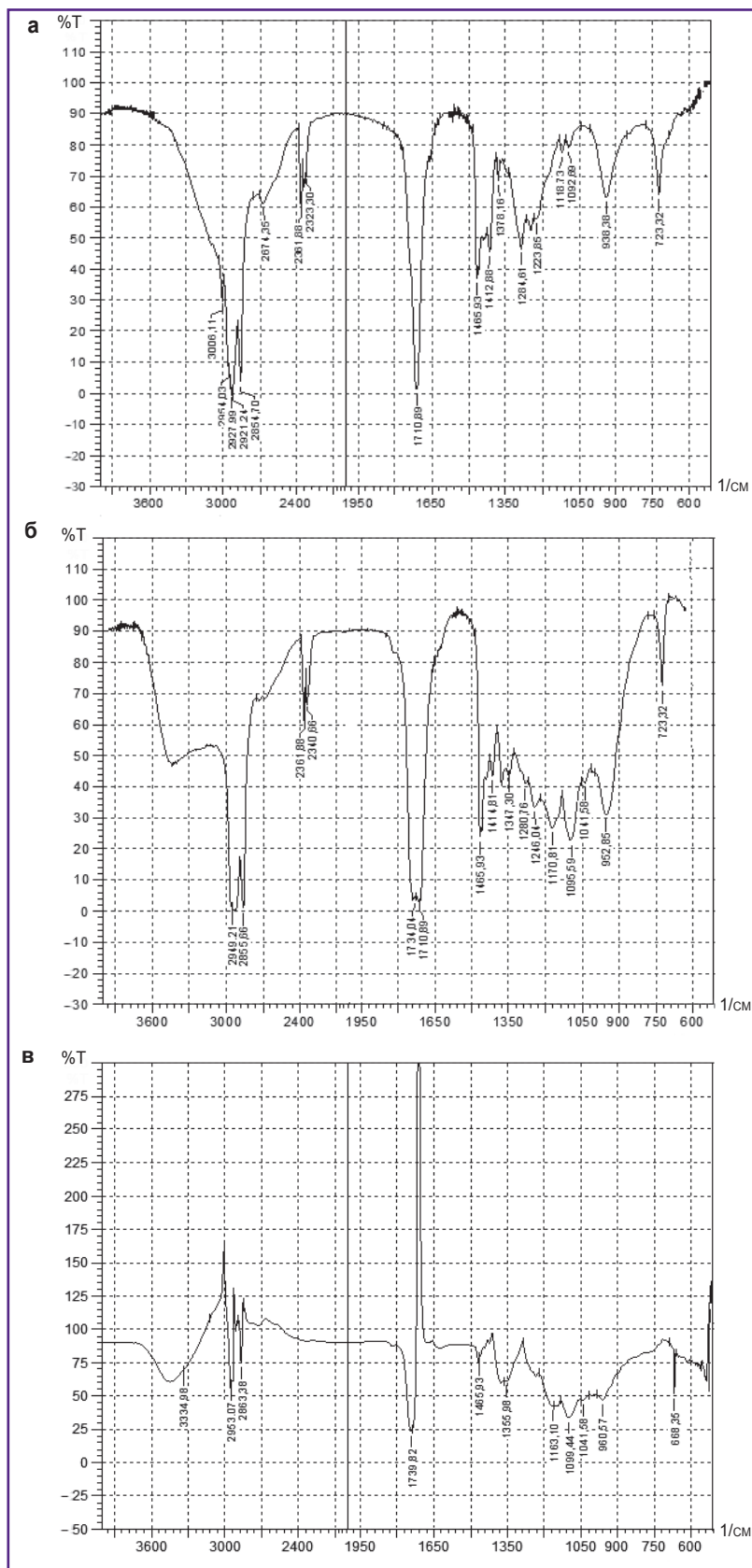


Рис. 1. ИК-спектр:
 а — олеиновой кислоты; б — продуктов озонирования олеиновой кислоты; в — гидропероксикислоты, который получен вычитанием ИК-спектров олеиновой кислоты до и после озонирования

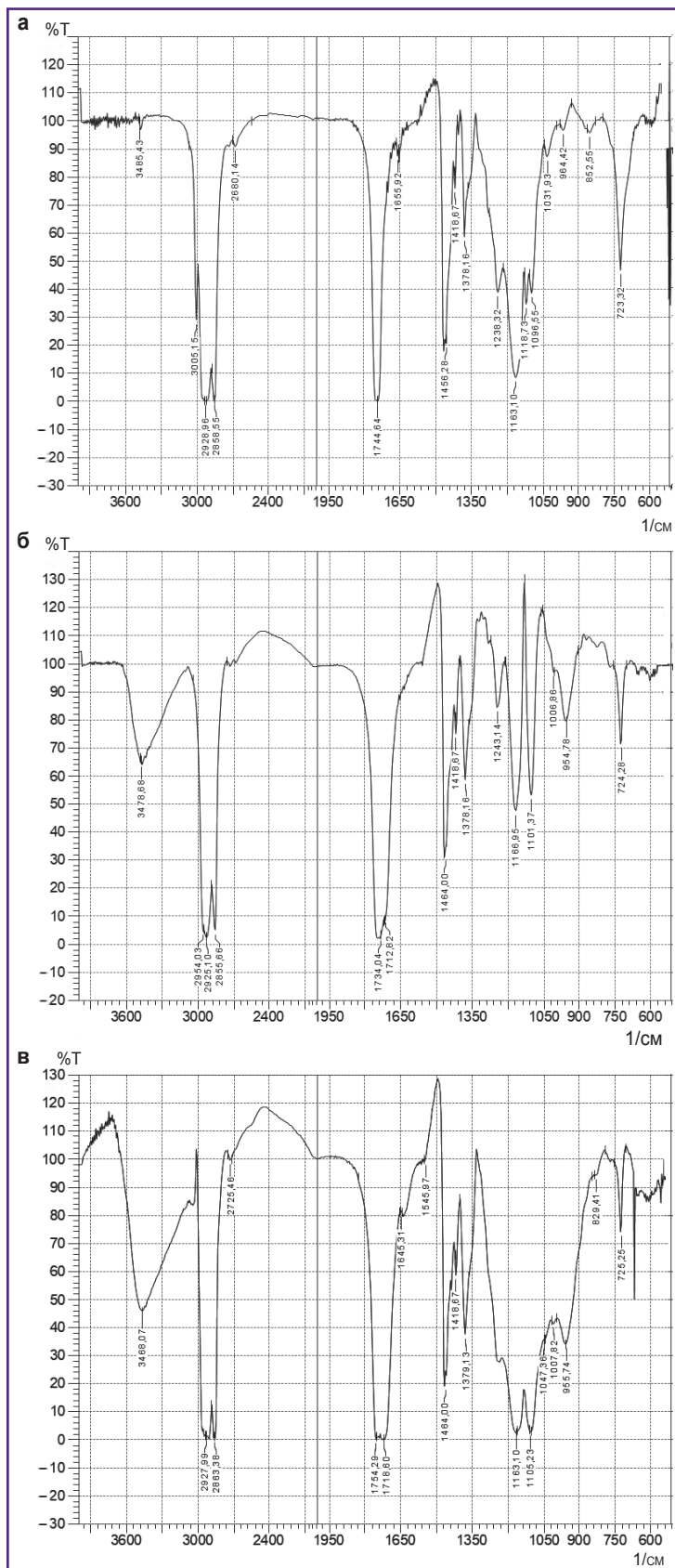
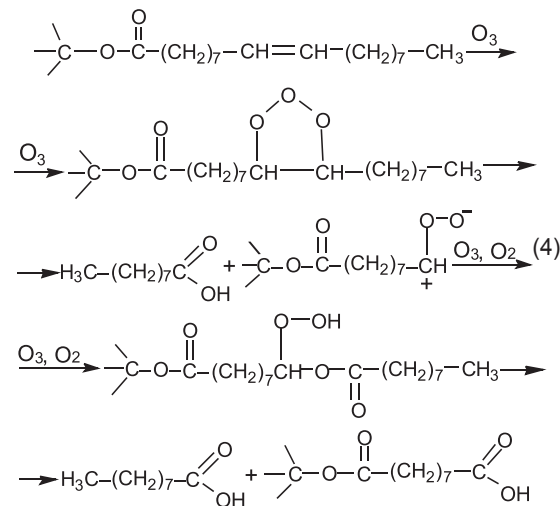


Рис. 2. ИК-спектр:
 а — оливкового масла; б — продуктов озонирования оливкового масла; в — гидропероксиэфиров, который получен вычитанием ИК-спектров оливкового масла до и после озонирования

для отдельного фрагмента липида такой же вид (схема 4):

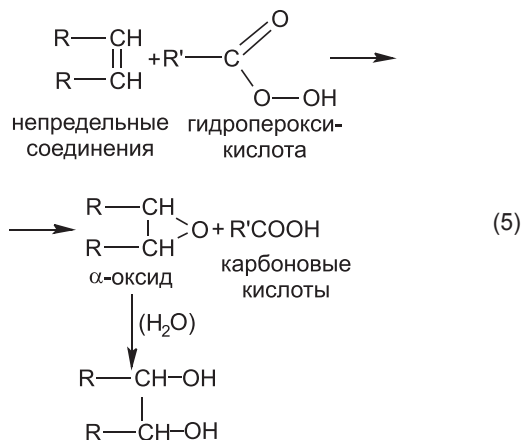


Очевидно, что реакция может протекать не только по трем, но и по двум и даже одному эфирному фрагменту заместителя в липиде, причем образующиеся вещества далее гидролизуются и окисляются, давая смесь моно-, ди- и триглицеридов более короткоцепочечных кислот [9], а также различных альдегидов и свободных кислот. Естественно, что среди продуктов озонирования оливкового масла должны присутствовать и все продукты реакции свободной олеиновой кислоты с озоном (схема 3), но их общая концентрация составляет примерно 1%, так как концентрация свободной кислоты в масле не превышает 1–2%.

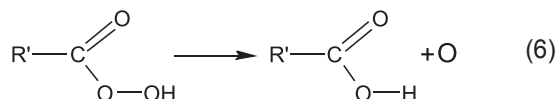
В заключение исследования мы провели ИК-спектроскопический анализ лечебных препаратов, приготовленных на основе озонированного оливкового масла, добавляемого к водной суспензии многокомпонентной базы лечебного крема, состоящей из сложных эфиров, солей высших карбоновых кислот и полимерных спиртов. Как и ожидалось, основные полосы поглощения образцов базы крема отвечали характеристическим частотам воды с максимумами при 3400–3300, 2083 и 1647 см⁻¹. В процессе прибавления к этой базе озонированного масла и увеличения концентрации последнего от 3 до 30% наблюдается постепенный рост интенсивности полос поглощения в интервале ~1745–1717 см⁻¹ (валентные колебания C=O смеси продуктов реакции озонирования оливкового масла).

Полоса поглощения с максимумом при 1106 см⁻¹ (ν C–O–O пероксисоединений) практически не проявляется в 3, 5 и 10% кремах, однако достаточно интенсивна в 30% креме. По всей вероятности, АФК малой концентрации практически полностью реагируют с базовой основой, сложноеэфирные составляющие

которой (например, изопропилмиририлат) повышают растворимость ацилглицеридов оливкового масла, переводя его в гомогенную фазу с неопредельными компонентами. Последние, по всей вероятности, вступают в реакцию Прилежаева, давая α -оксиды, а затем гликоли (схема 5):



Кроме того, следует ожидать прямого образования карбоновых кислот и атомарного кислорода, который объясняет отбеливающий эффект пероксициклот [4] (схема 6):



Следует отметить также, что ИК-спектры 30% крема изменяются при хранении его в течение нескольких месяцев. Так, если после 3 мес выдержки основным пиком ν C=O является $1750\text{--}1741\text{ см}^{-1}$ (ν C=O гидропероксисоединений), то через 6 мес — усредненный ν C=O — 1733 см^{-1} , а через 8 мес — 1716 см^{-1} . Это говорит о постепенном распаде АФК и липидов в процессе хранения препаратов.

Заключение

При озонировании липидов типа оливкового масла и его модельной системы — олеиновой кислоты в качестве активных форм кислорода образуются соответственно гидропероксикислоты и гидропероксиэфиры, причем озониды содержатся только в виде примесей. Приготовленные на основе озонированного оливкового масла лечебные препараты сохраняют функцию носителей АФК достаточно долго. Контроль динамики химических превращений с участием АФК удобно реализовать методом ИК-Фурье-спектроскопии.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Grechkanyova O., Bitkina O., Peretyagin S., Peretyagin P., Gabasov I., Razheva P. The usage of laser Doppler flowmetry for evaluation of the efficiency of ozone-containing drugs for external use. *J Pharm Pharmacol* 2018; 6(1): 3238, <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2018.01.004>.
2. Перетягин С.П., Гординская Н.А., Стручков А.А., Гордеев А.С. Химические свойства, биологическая активность и биодоступность озонированного масла. *Казанский медицинский журнал* 2007; 88(4): 101–102. Peretyagin S.P., Gordinskaya N.A., Struchkov A.A., Gordetsov A.S. Chemical properties, biological activity and bioavailability of ozonized oil. *Kazanskij medicinskij zurnal* 2007; 88(4): 101–102.
3. ГОСТ ISO 3960-2013 Жиры и масла животные и растительные. 2015. *GOST ISO 3960-2013 Zhiry i masla zhivotnye i rastitel'nye* [GOST ISO 3960-2013 Animal and vegetable fats and oils]. 2015.
4. Химическая энциклопедия. Т. 3. М: Большая Российская энциклопедия; 1992; 639 с. *Khimicheskaya entsiklopediya*. Т. 3 [Chemical encyclopedia. Vol. 3]. Moscow: Bol'shaya Rossiyskaya entsiklopediya; 1992; 639 p.
5. Razumovskii S.D., Zaikov G.E. Kinetics and mechanism of the reaction of ozone with double bonds. *Russian Chemical Reviews* 1980; 49(12): 1163–1180, <https://doi.org/10.1070/rc1980v049n12abeh002535>.
6. Rieche A., Schulz M., Becker D. Ozonisierung von Olefinalkoholen. Bildung von Hydroperoxyden cyclischer Äther. *Chem Ber* 1965; 98(11): 3627–3631, <https://doi.org/10.1002/cber.19650981129>.
7. Вытовтов А.А. Определение подлинности и обнаружение фальсификации пищевых продуктов методом ИК-Фурье-спектроскопии. *Ученые записки Санкт-Петербургского им. В.Б. Бобкова филиала Российской таможенной академии* 2010; 1(35): 193–196. Vytovtov A.A. Identification and detection of adulteration of food products by the method of the infrared Fourier spectrometry. *Uchenye zapiski Sankt-Peterburgskogo im. V.B. Bobkova filiala Rossiyskoy tamozhennoy akademii* 2010; 1(35): 193–196.
8. Mishina N.E., Zilberman B.Ya., Kol'tsova T.I., Lumpov A.A., Puzikov E.A. Composition of precipitates of barium and strontium nitrates crystallizing from nitric acid solutions. *Radiochemistry* 2014; 56(3): 252–261, <https://doi.org/10.1134/s1066362214030060>.
9. Rainbauer H., Washüttl J., Steiner I., Kroyer G., Winker N., Streichsbier F. Chemische Untersuchungen an ozonisiertem Olivenöl. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 1982; 84(5): 188–191, <https://doi.org/10.1002/lipi.19820840506>.