

*На правах рукописи*

**АГАФОНОВ АЛЕКСЕЙ МИХАЙЛОВИЧ**

**РАЗРАБОТКА НОВОГО СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ  
НЕНАСЫЩЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

3.4.2. – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2025

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук, профессор Ремезова Ирина Петровна

**Официальные оппоненты:**

**Белоногова Валентина Дмитриевна**, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Марахова Анна Игоревна**, доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармации и биотехнологии института фармации и биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки высшего образования Российской Федерации

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. Карла Маркса, 165Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/2024/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Ученый секретарь диссертационного совета,**  
кандидат фармацевтических наук, доцент

**Жданова Алина Валитовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы.**

Жирные и эфирные масла, которые содержат соединения с ненасыщенными связями, нашли широкое применение в фармации в качестве субстанций и вспомогательных веществ лекарственных препаратов. Эти масла используются уже не одно столетие и хорошо изучены благодаря широкому спектру фармакологической активности и низкой токсичности. С каждым годом увеличивается спрос на натуральные продукты, такие как жирные и эфирные масла. В настоящее время на фармацевтическом рынке зарегистрировано около 43 лекарственных препаратов на основе эфирных и жирных масел.

Широкое применение растительных масел в терапии различных заболеваний, а также специфичность состава и свойств этих масел требуют строгого контроля качества и оценки показателей их годности. Идентификация эфирных масел проводится с помощью современных физико-химических методов, таких как газовая хроматография, тонкослойная хроматография, хроматомасс-спектрометрия, УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопия и др.

Наиболее распространенным методом определения степени ненасыщенности жирных масел является метод определения йодного числа. Этот показатель позволяет судить о способности масел к окислению и полимеризации. Однако йодное число может быть завышено в связи со способностью йода вступать в реакции галогенирования насыщенных атомов углерода в молекуле масла. Кроме того, вещества изопреновой структуры, которые входят в состав эфирных масел, могут дополнительно подвергаться окислению (например, из-за наличия альдегидных группировок). Все это может приводить к завышению результатов анализа. Поэтому, данный метод имеет ограниченное применение и не может быть использован для характеристики степени ненасыщенности эфирных масел.

Альтернативой методу определения йодного числа является способ определения ненасыщенности, основанный на реакции эпоксицирования. В данном методе используются пероксикислота в качестве эпоксицирующего реагента которая не вступает в побочные реакция окисления. Этот метод не имеет таких недостатков и может быть использован для характеристики степени ненасыщенности эфирных масел.

При контроле качества эфирных масел, помимо необходимых физико-химических показателей, может быть определено йодное число. Это позволяет не только подтвердить качество масла, но и осуществить количественное определение основного компонента продукта или индивидуального вещества, полученного из эфирного масла.

Также стоит отметить, что в настоящее время не существует фармакопейных методов количественного определения ряда эфирных масел. Разработка метода определения

ненасыщенности растительных масел, основанного на реакции эпокси́дирования, является актуальной задачей.

### **Степень разработанности темы.**

Метод оценки ненасыщенности по кислородным числам путем титрования перокси́кислотой на примере надбензойной кислоты был предложен Н. Meerwein в 1924 году. Полученные результаты пересчитывались на йод и сравнивались с йодными числами, определенными по методу Вийса.

В работе Blazheyevskiy M.E. и соавт., 2014 показана возможность использования метода эпокси́дирования с использованием стабильной высшей перокси́карбоновой кислоты — перокси́октановой — для определения степени ненасыщенности некоторых терпеноидов и эфирных масел, применяемых в медицине. Важным фактором, определяющим возможность использования методики для анализа, является стабильность выбранных реагентов.

Было установлено, что при длительных анализах (несколько часов) при комнатной температуре достаточно устойчивыми являются 0,3-0,5% растворы перокси́кислоты (перокси́декановой и перокси́октановой) в хлороформе или дихлорметане. Именно в этих растворителях достигается наибольшая скорость окисления при обеспечении количественной стехиометрии реакции эпокси́дирования ненасыщенных связей.

**Цель исследования.** Разработка нового способа определения степени ненасыщенности некоторых жирных и эфирных масел, а также лекарственных препаратов на их основе.

Для достижения цели были поставлены **задачи исследования:**

1. На основании квантово-химических расчетов предположить механизм реакции эпокси́дирования перокси́уксусной и пербензойной кислотами.
2. Изучить кинетику реакции эпокси́дирования перокси́карбоновыми кислотами на примере жирных и эфирных масел.
3. Провести определение ненасыщенности жирных масел по реакции эпокси́дирования перокси́декановой кислотой.
4. Провести определение ненасыщенности эфирных масел по реакции эпокси́дирования перокси́декановой и перокси́октановой кислотой.
5. Разработать методику анализа некоторых лекарственных препаратов на основе эфирных масел с использованием реакции эпокси́дирования.

### **Научная новизна.**

С помощью квантово-химических расчетов установлено, что реакция эпокси́дирования перокси́кислотами протекает по двухстадийному бирадикальному механизму. Впервые предложена методика определения ненасыщенности жирных кислот (олеиновой и рицинолевой) с помощью перокси́декановой кислоты. Разработана методика количественного

определения ненасыщенности жирных масел (оливковое, персиковое, рициновое, подсолнечное, кукурузное, масла семян тыквы, касторовое, льняное), а также рыбьего жира по реакции эпокси́дирования пероксидекановой кислотой. Кроме того, разработана методика определения ненасыщенности терпеноидов ( $\alpha$ -пинена, лимонена, линалоола, мирцена, анетола) и некоторых масел (лимонное, розмариновое, эвкалиптовое), скипидара по реакции эпокси́дирования пероксидекановой и пероксиоктановой кислотой.

Впервые предложена методика анализа некоторых лекарственных препаратов на основе эфирных масел по реакции эпокси́дирования с помощью пероксидекановой кислоты в среде метиленхлорида.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Предложена методика получения монокарбоновых кислот с высокими выходами за время, которое не превышает 1 ч. Изучена кинетика реакций эпокси́дирования на примере некоторых жирных и эфирных масел: определено оптимальное время прохождения реакции и установлено стехиометрическое соотношение реагентов. Предложена методика анализа нашатырно-анисовых капель, укропной воды, антисклерола, мази скипидарной 10% по реакции эпокси́дирования с помощью пероксидекановой кислоты в среде метиленхлорида.

Разработанные методики определения ненасыщенности жирных и эфирных масел с помощью реакции эпокси́дирования апробированы на ФКП «Армавирская биофабрика» (Акт апробации от 22.11.2022 г.), а также используются в учебном процессе ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки при проведении лекций и лабораторных занятий по фармацевтической химии для студентов, обучающихся по специальности «Фармация» (Акт внедрения от 22.01.2024 г.). Получен положительный результат формальной экспертизы заявки на изобретение №2024118798/04(041748) от 29.07.2024 на определение ненасыщенности жирных и эфирных масел реакцией эпокси́дирования.

#### **Методология и методы исследования.**

Методология диссертационной работы основана на трудах отечественных и зарубежных ученых в области фармацевтического анализа. Применялся титриметрический метод установления степени ненасыщенности веществ путем обратного титрования избытка эпокси́дирующего реактива. Строились кривые титрования и рассчитывались скорости реакций. Квантово-химические расчеты осуществлялись лицензированной программой Gaussian 09.

Полученные экспериментальные данные статистически обработаны, методики количественного определения валидированы в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Российской Федерации XV издания.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Механизм реакции эпокси́дирования пероксиуксусной и пербензойной кислотами на основании квантово-химических расчетов.
2. Определение оптимального времени прохождения реакции и установление стехиометрического соотношения реагентов в реакции эпокси́дирования пероксикарбоновыми кислотами на примере жирных и эфирных масел.
3. Разработка методики определения ненасыщенности жирных масел по реакции эпокси́дирования пероксидекановой кислотой.
4. Разработка методики определения ненасыщенности эфирных масел по реакции эпокси́дирования пероксидекановой и пероксиоктановой кислотой.
5. Разработка методики анализа некоторых лекарственных препаратов на основе эфирных масел.

### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Для доказательства достоверности проводилось большое число экспериментальных исследований. Предложенные методики количественного определения валидированы. Статистическая обработка полученных результатов проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XV издания.

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 6.

### **Личный вклад автора.**

Автор самостоятельно провел систематизацию и анализ данных литературы по теме исследования, провел квантово-химические расчеты, провел экспериментальные исследования по изучению кинетики реакций эпокси́дирования пероксикарбоновыми кислотами, разработал методики определения ненасыщенности жирных и эфирных масел по реакции эпокси́дирования, разработал методику анализа некоторых лекарственных препаратов на основе эфирных масел. Также проведен анализ и обработка полученных данных, которые опубликованы в научных работах и доложены на конференциях.

### **Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

### **Внедрение результатов исследования.**

Основные положения экспериментальных исследований представлены и обсуждены на Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых: Актуальные

проблемы клинической, экспериментальной, профилактической медицины, стоматологии и фармации (Донецк 2018), Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ» (Минск 2017), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики» (Кемерово 2022).

#### **Объем и структура работы.**

Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста, и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 6 глав собственного исследования, общих выводов, списка литературы из 105 источников, (49 из которых зарубежные), списка используемых сокращений и приложения. Работа иллюстрирована 45 рисунками и включает 30 таблиц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Общая характеристика жирных и эфирных масел и методов контроля их качества

В данной главе описаны методы определения степени ненасыщенности жирных масел, методы контроля качества жирных и эфирных масел. Приведены сведения по контролю качества жирных и эфирных масел фармакопеями различных стран.

В главе 2 приводятся используемые объекты, реактивы, вспомогательные и лабораторное оборудование, методики исследований и расчетные формулы.

### Квантово-химическое исследование механизма реакции эпексидирования некоторых терпеноидов пероксиуксусной и пербензойной кислотами

Для расчета использовали метод функционала плотности (приближение UBH&HLYP/6-31G(d)) с использованием программы Gaussian 09. Нами была исследована кинетика эпексидирования эвгенола и изоэвгенола с участием ПБК.

Анализ волновой функции переходных состояний (5 и 6) свидетельствует об их бирадикальности.

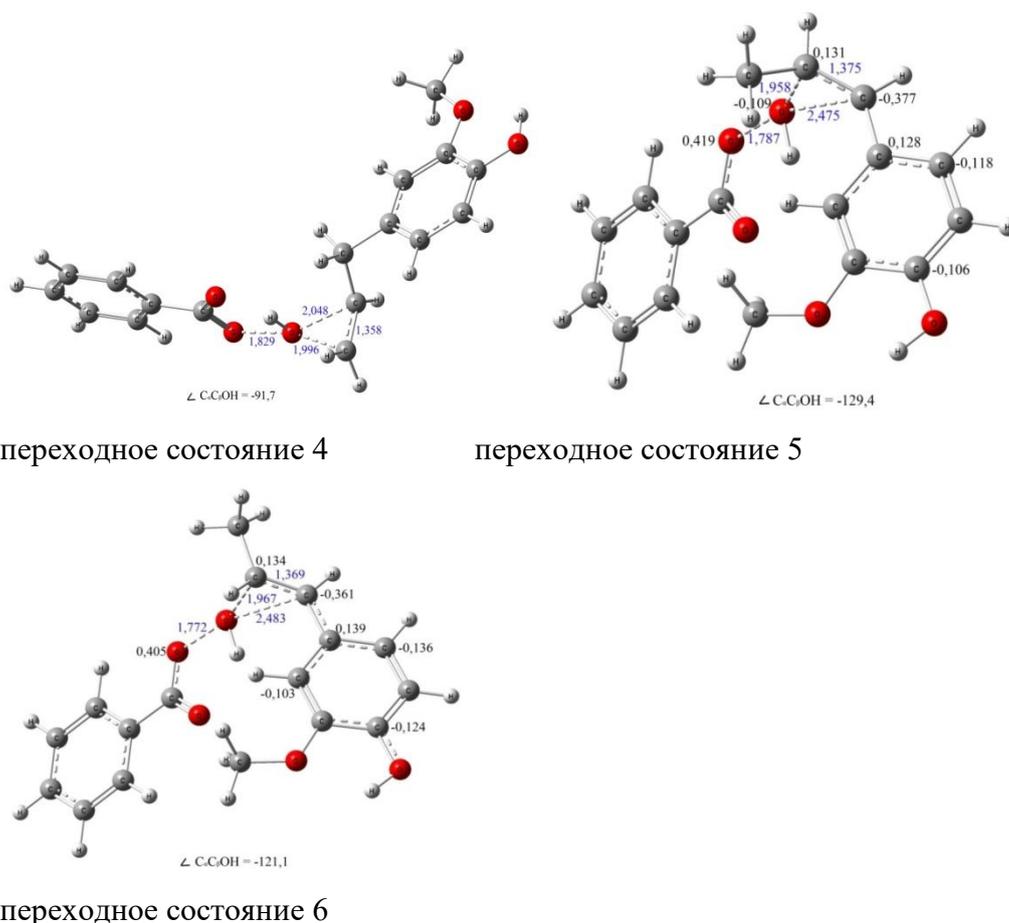


Рисунок 1 - Структура, геометрические параметры (Å, град.) и величины спиновой плотности на некоторых атомах переходных состояний эпексидирования эвгенола та изоэвгенола пербензойной кислотой

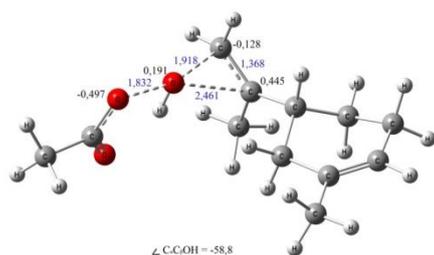
Таблица 1-Величины активационных параметров эпексидирования эвгенола и изоевгенола пербензойной кислотой, рассчитанные в приближении UBH&HLYP/6-31G(d))

Переходное состояние	$\Delta H_{\text{акт.}}$ , кДж/моль	$\Delta G_{\text{акт.}}$ , кДж/моль
Без учета спиновой коррекции		
4	118,69	129,29
5	105,23	116,73
6	100,06	112,87
С учетом спиновой коррекции		
5	81,24	92,74
6	77,23	90,04

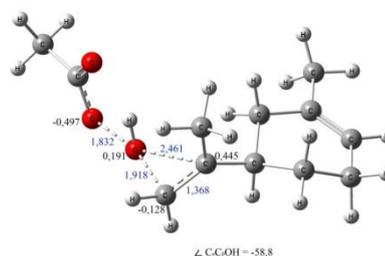
Согласно расчету, наименьшей величиной активационного барьера характеризуется реакция, которая протекает через переходное состояние 6. Эта тенденция сохраняется и после учета спиновой коррекции.

Особое внимание привлекает вопрос относительной реакционной способности лимонена, а именно двух его олефиновых фрагментов, *экзо*-циклического и *эндо*-циклического.

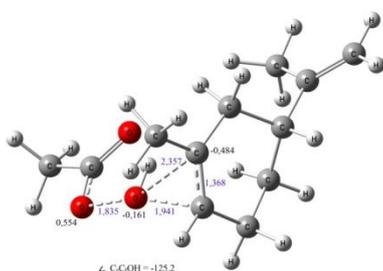
Анализ волновой функции переходных состояний эпексидирования лимонена надуксусной кислотой (рисунок 2) свидетельствует об их бирадикальном характере (переходные состояния 11-12), кроме переходного состояния 14, которое имеет закрытую электронную оболочку.



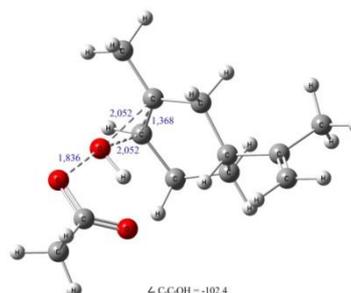
переходное состояние 11



переходное состояние 12



переходное состояние 13



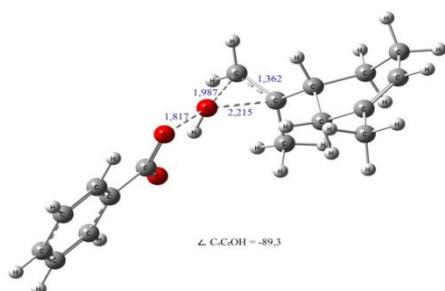
переходное состояние 14

Рисунок 2 -Структура, геометрические параметры (Å, град.) и величины спиновой плотности на некоторых атомах переходных состояний эпексидирования лимонена надуксусной кислотой

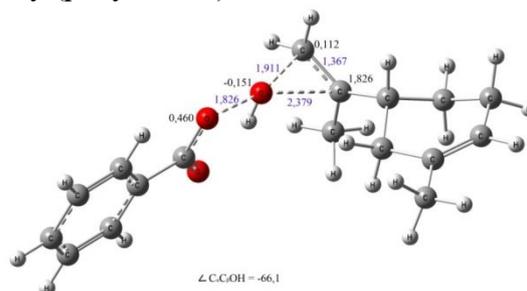
Таблица 2- Величины активационных параметров эпексидирования лимонена надуксусной кислотой, рассчитанные в приближении UBH&HLYP/6-31G(d)

Переходное состояние	$\Delta H_{\text{акт.}}$ , кДж/моль	$\Delta G_{\text{акт.}}$ , кДж/моль
Без учета спиновой коррекции		
11	112,12	115,42
12	115,41	115,41
13	106,15	118,02
14	110,33	124,35
С учетом спиновой коррекции		
11	74,78	78,08
12	74,84	78,13
13	77,39	89,25

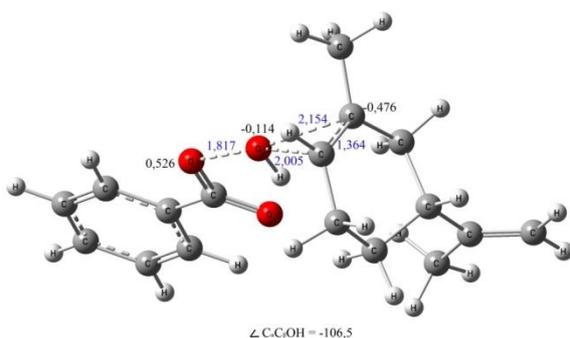
В случае эпексидирования лимонена надбензойной кислотой наблюдается, что переходные состояния 16 и 17 имеют также бирадикальный характер, в отличие от структур 15 и 18, они имеют закрытую электронную оболочку (рисунок 14).



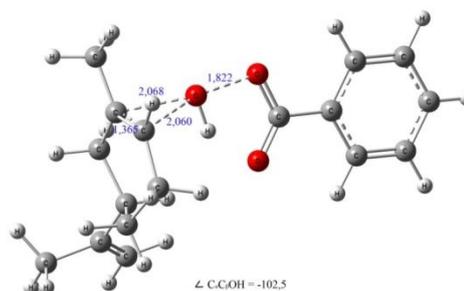
переходное состояние 15



переходное состояние 16



переходное состояние 17



переходное состояние 18

Рисунок 3-Структура, геометрические параметры (Å, град.) и величины спиновой плотности на некоторых атомах переходных состояний эпексидирования лимонена надбензойной кислотой

Таблица 3- Величины активационных параметров эпексидирования лимонена (1.2) надбензойной кислотой, рассчитанные в приближении UBH&HLYP/6-31G(d))

Переходное состояние	$\Delta H_{\text{акт.кДж/моль}}$	$\Delta G_{\text{акт.кДж/моль}}$
15	109,93	121,27
16	111,18	116,29
17	104,03	117,30
18	106,51	122,29

Сравнивая переходные состояния 14 и 18 видно, что эти структуры являются симметричными, то есть имеют близкие по значению длины связей между атомами кислорода пероксидной связи. Исходя из результатов расчета можно прийти к выводу, что эпексидирование лимонена надуксусной и надбензойной кислотами происходит по циклической двойной связи (переходные состояния 13 и 17 соответственно), и характеризуются наименьшим активационным барьером.

### **Получение монопероксикарбоновых кислот**

Используемая нами методика позволяет нам получить алифатические пероксикарбоновые кислоты с длиной углеродной цепи C8-C10 с высоким процентным содержанием основного вещества, который составляет 92-97%.

Экспериментально установлено, что использование в процессе в качестве окислителя 50% пероксида водорода в присутствии 3,75-кратного молярного излишка серной кислоты при +20 °C позволяет получать монопероксикарбоновые кислоты алифатического ряда, а также пербензойную кислоту с высокими выходами за время, которое не превышает 1 час.

Наиболее устойчивый препарат пероксидекановой кислоты (ПДК) можно получить, при изолировании путем экстракции органическим растворителем (гексаном или петролейным эфиром) с последующей отгонкой после просушки безводным натрий сульфатом растворителя под вакуумом на водяной бане при температуре 35-40 °C.

### **Определение ненасыщенности масел по реакции эпексидирования пероксикарбоновыми кислотами**

Определение ненасыщенности масел проводили по реакции эпексидирования пероксикарбоновыми кислотами по разработанной нами методике. В качестве модельных объектов при изучении кинетических характеристик реакции эпексидирования были использованы вещества, которые составляют значительную часть исследуемых масел. Олеиновая кислота преобладает по химическому составу в оливковом, персиковом масле. В подсолнечном масле основным компонентом является линолевая кислота, которая имеет две ненасыщенные связи.

**Олеиновая кислота.** Для изучения кинетики эпексидирования ненасыщенных соединений посредством пероксикарбонной кислоты нами была использована олеиновая кислота, которая имеет одну ненасыщенную связь. Изучение кинетики реакции методом йодометрического титрования показало, что на 1 моль олеиновой кислоты расходуется 1 моль пероксидекановой кислоты, а время, необходимое для завершения реакции, не превышает 35 мин при 27°C (рисунок 4).

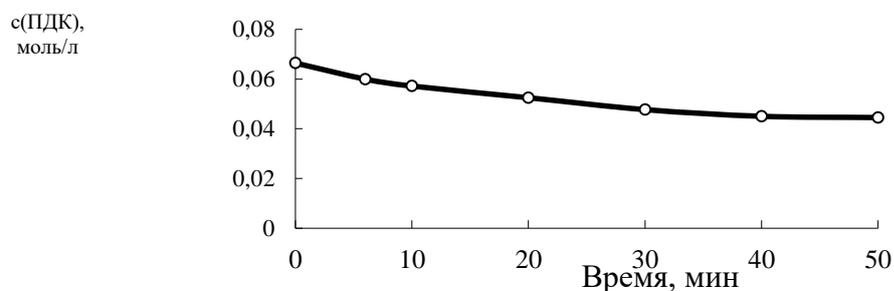


Рисунок 4 - Кинетическая кривая реакции эпексидирования олеиновой кислоты пероксидекановой кислотой в среде хлороформа.  $c(\text{ПДК})=6,65 \cdot 10^{-2}$  моль/л;  $c(\text{олеиновая к-та})=2 \cdot 10^{-2}$  моль/л;  $T=27^\circ\text{C}$

На рисунке 5 приведена обращено–концентрационная анаморфоза кинетической кривой реакции эпексидирования олеиновой кислоты пероксидекановой кислотой в среде хлороформа. Как видно, при соразмерных концентрациях компонентов, кинетика реакции эпексидирования подчиняется кинетическому уравнению второго порядка: обращено–концентрационная анаморфоза кинетической кривой является линейной функцией.

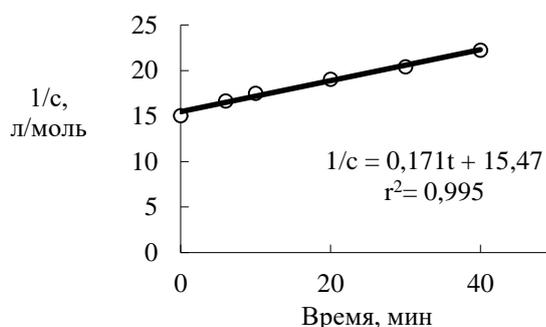


Рисунок 5. Обращенно–концентрационная анаморфоза кинетической кривой реакции эпексидирования олеиновой кислоты пероксидекановой кислотой в среде хлороформа.  $c(\text{ПДК})=6,65 \cdot 10^{-2}$  моль/л;  $c(\text{олеиновая к-та})=2 \cdot 10^{-2}$  моль/л;  $T=27^\circ\text{C}$ .

Так, как олеиновая кислота не является фармакопейной субстанцией и показатель йодного числа для нее не регламентирован, то для сравнения с полученными в ходе исследований результатами нами было принято решение рассчитать теоретическое йодное число, которое позволяет сравнивать данные показатели. Так как в эксперименте по

определению ненасыщенности мы использовали субстанцию олеиновой кислоты с точно известной массовой долей, мы рассчитали теоретическое йодное число исходя из фактического содержания. Сравнивали значения йодного числа, полученные в ходе эксперимента, с теоретически рассчитанными, принимая их в качестве эталонного значения.

Расчет теоретического йодного числа проводился по формуле:

$$I = \frac{2 \times 126.9 \times N_{\text{дв.св.}} \times 100}{M}$$

где  $N_{\text{дв.св.}}$  - количество двойных связей определяемого вещества

M- молекулярная масса определяемого вещества

Теоретически рассчитанное йодное число олеиновой кислоты составляет 89,85г йода на 100г вещества. Практически определенное йодное число составляет 89,29.

Таблица 4 - Результаты определения йодного числа олеиновой кислоты (при P=95%, n=5).

№ п/п	Йодные число	Процентное содержание	Статистические данные
1	89,39	99,46	$\bar{X}=89,29$ ; $S^2=0,2572$ ; $S=0,5071$ ; $S_{\bar{x}}=0.2143$ ; $\Delta x=\pm 1,08$ ; $\varepsilon =\pm 1,21\%$
2	89,387	99,45	
3	89,83	99,95	
4	88,45	98,4	
5	89,40	99,47	

Полученные результаты свидетельствуют о том, что йодное число олеиновой кислоты, определенное по разработанной методике, составляет  $89,29 \pm 1,08$ . Относительная ошибка не превышает  $\pm 1,21\%$ .

Была изучена кинетика реакций эпоксицирования некоторых жирных масел, содержащих в преимущественном количестве остатки олеиновой, рицинолевой и других ненасыщенных жирных кислот в виде глицеридов.

Учитывая тот факт, что по устойчивости ПДК преобладает над многими другими пероксикислотами (например, НБК, НУК, пероксифталевая кислота), нами предусматривалась возможность найти такие условия для количественного протекания реакции, которые должны упростить методику определения и существенно сократить необходимое для анализа время.

Пероксидекановая кислота, легка в получении при действии пероксида водорода на раствор декановой кислоты в серной (ацилирование пероксида водорода по Сверну). Были проведены испытания, целью которых было определение оптимальных условий проведения реакции эпоксицирования жирных масел пероксидекановой кислотой. В таблице 5 и 6 приведены результаты изучения влияния природы растворителя (этилацетата и хлороформа) и температуры в растворе хлороформа на примере анализа рыбьего жира.

Таблица 5 - Влияние природы растворителя на кинетику разложения пероксидекановой кислоты в присутствии рыбьего жира при 13°C и 38°C

Время от начала реакции, мин	Растворитель		Температура, °C
	Этиловый эфир уксусной кислоты	Хлороформ	
	<i>c</i> , моль/л	<i>c</i> , моль/л	
0	0,053	0,059	13
55	0,050	0,050	
180	0,048	0,0415	
245	0,0475	0,0395	
320	0,047	<b>0,039</b>	
388	0,041	0,0365	
1445	0,035	0,0335	
2885	<b>0,033</b>	0,032	
0	0,058	0,059	38
55	0,0365	<b>0,039</b>	
110	0,0342	0,0345	
1125	0,020	0,022	
1365	0,019	0,021	

Таблица 6 - Изменение концентрации пероксидекановой кислоты в растворе хлороформа при отсутствии и в присутствии очищенного рыбьего жира из печени трески при 13, 25, 38°C

Время от начала реакции, мин	<i>c</i> <sub>пк</sub> , моль/л		Температура протекания реакции, °C
	без рыбьего жира	В присутствии рыбьего жира (0,10385 г)	
0	0,058	0,059	13
55	0,057	0,050	
180	0,056	0,0415	
245	0,055	0,0395	
320	0,0545	<b>0,0390</b>	
388	0,053	0,0365	
1445	0,055	0,0335	
2885	0,055	0,032	
0	0,0605	0,06	25
80	0,0605	0,043	
140	0,0605	<b>0,039</b>	
200	0,0605	0,038	
275	0,0600	0,037	
0	0,074	0,059	38
55	0,071	<b>0,039</b>	
110	0,070	0,0345	
1125	0,063	0,022	
1365	0,0635	0,021	

Как видно, самое быстрое эпоксирирование происходит при условиях нагрева до 38 °C и завершается полностью примерно через 1 ч, однако при таких условиях наблюдается заметное термическое разложение самой пероксидекановой кислоты. При 13°C реакция эпоксирирования протекает значительно медленнее и завершается в среде хлороформа через 320 мин, и лишь через 2885 мин в этилацетате. При таких условиях термическое разложение пероксидекановой кислоты практически не происходит.

Как нами было установлено, 0,3-0,5% растворы пероксидекановой кислоты в хлороформе или дихлорметане являются достаточно устойчивыми при температуре 25°C.

Поэтому их можно использовать для анализа, продолжительность которого может превышать даже несколько часов. Нами установлено, что именно в этих растворителях достигается наивысшая скорость окисления при одновременном обеспечении количественной стехиометрии реакции эпоксицирования ненасыщенных связей. Эти растворы пероксидекановой кислоты способны количественно окислять олеиновую, рицинолевою и другие ненасыщенные кислоты, а также их эфиры, в том числе глицериды натуральных жирных (высыхающих и полувывсыхающих масел) при нормальных условиях. Чтобы продолжительность взаимодействия не превышала 120-150мин, необходимо, по меньшей мере, двукратный молярный избыток окислителя.

Исходя из полученных результатов, для анализа наиболее благоприятными условиями является осуществление реакции эпоксицирования в среде хлороформа при температуре 25 °С. При выбранных условиях реакция практически завершается через 120 минут, в то время как побочная реакция термического разложения пероксикислоты кинетически заторможена. Эти условия и были положены в основу разработанного нами нового метода определения ненасыщенности жирных масел по реакции эпоксицирования.

Разложение пероксикарбоновой кислоты при 13 °С практически не наблюдалось. При 38°С в среде хлороформа в течение 1,5 ч разлагается 0,003 моль/л пероксикислоты (4,05 %); в этилацетате через 24 часа – 32,9 % от начального ее содержания.

Найденные экспериментально по данным изучения кинетики реакции рекомендуемые условия для осуществления определения йодных чисел по реакции эпоксицирования с пероксидекановой кислотой приведены в таблице 7

Таблица 7 - Рекомендуемые условия для осуществления определения кислородных чисел некоторых жирных масел по реакции с кислотой пероксидекановой

Анализируемое масло	Рекомендованные условия		
	Растворитель	Температура, °С	Врем, мин
Невысыхающие			
Оливковое	Хлороформ	25	150
Персиковое	Хлороформ	25	150
Рициновое	Хлороформ	25	150
Полувывсыхающие			
Подсолнечное	Хлороформ	25	150
Кукурузное	Хлороформ	25	150
Рыбий жир	Хлороформ	25	138

Таким образом, нами рекомендованы оптимальные условия для определения йодных чисел некоторых жирных масел по реакции эпоксицирования с кислотой пероксидекановой.

Была изучена кинетика спонтанного разложения пероксикислоты. При изучении кинетики реакции эпоксицирования параллельно отбирали пробу с такими же временными

промежутками из контрольного опыта и оттитровывали. Рассчитывали концентрацию пероксидекановой кислоты. При этом наблюдали что при 25°C концентрация пероксидекановой кислоты в контрольном опыте не изменялась, что дает нам основание судить о стойкости пероксикислоты в ходе анализа (рисунок 6). Установлено, что скорости эпоксирирования ненасыщенных жирных масел пероксидекановой и пероксиоктановой были практически одинаковыми, что дает нам дополнительное преимущество в выборе эпоксирирующего агента при проведении анализа. С учетом того, что определение йодного числа проходит в течение часа, разницей в эпоксирировании жирных масел пероксидекановой и пероксиоктановой кислотами можно пренебречь.

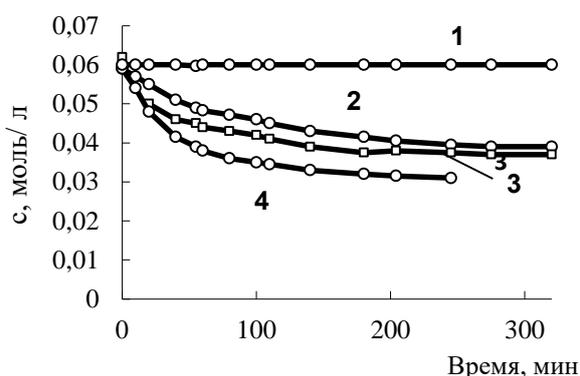


Рисунок 6 - Кинетика реакций спонтанного разложения пероксидекановой кислоты (1) та эпоксирирование рыбьего жира пероксидекановой кислотой в среде хлороформа (2 – 4). с(ПДК) = 0,06 моль/л; при температуре 1,3 – 25°C; 2 – 13°C; 4 – 38°C.

Как видно из рисунка 6 скорость эпоксирирования увеличивается с повышением температуры реакционной среды. При 25°C разложение пероксикислоты практически не наблюдается. Кинетика реакций эпоксирирования масел в среде хлороформа подчиняется кинетическому уравнению второго порядка (рисунок 7).

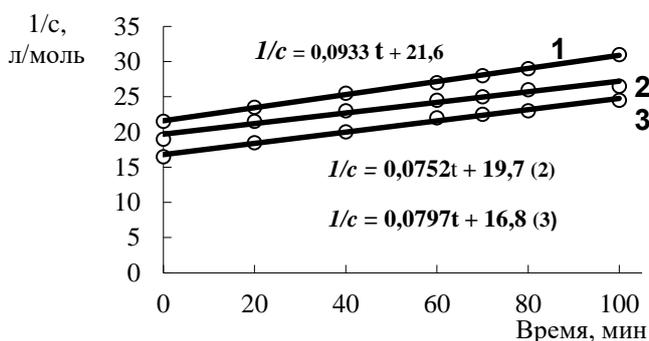


Рисунок 7 - Обращено-концентрационная анаморфоза кинетических кривых реакций эпоксирирования рициновой (1), подсолнечного(2) масла и рыбьего жира (3) пероксидекановой кислотой в среде хлороформа при 25°C.

Эффективные константы скорости можно расположить в ряд:  $k_{\text{эф}} = 9,33 \cdot 10^{-2} \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$  (касторовое масло)  $>$   $k_{\text{эф}} = 7,97 \cdot 10^{-2} \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$  (рыбий жир)  $>$   $k_{\text{эф}} = 7,52 \cdot 10^{-2} \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$  (подсолнечное масло).

Ниже приведены полученные кинетические кривые и их обращено-концентрационные анаморфозы процесса эпоксицирования подсолнечного и семян тыквы.

Как видно из рисунка 7 время эпоксицирования подсолнечного масла пероксицикановой кислотой не превышает 150 минут при температуре 25°C.

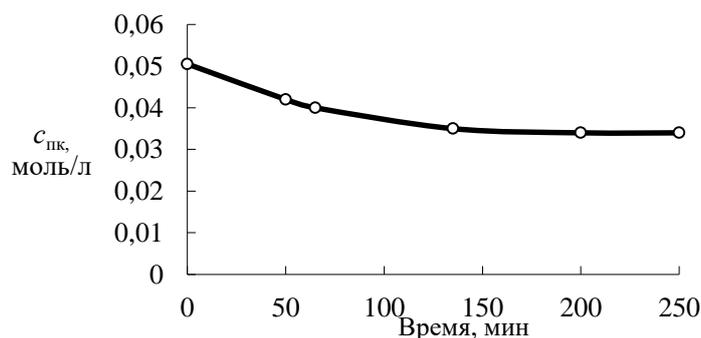


Рисунок 8 - Кинетическая кривая реакции эпоксицирования масла подсолнечного пероксицикановой кислотой в среде хлороформа с  $(\text{ПДК}) = 5,05 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$ ;  $w(\text{масла}) = 0,4194\%$ ;  $T = 25^\circ\text{C}$ .

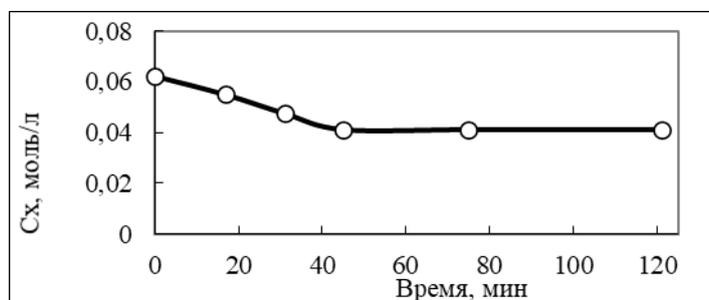


Рисунок 9 - Кинетическая кривая реакции эпоксицирования масла семян тыквы пероксицикановой кислотой в среде хлороформа.  $s(\text{ПДК}) = 5,25 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$ ;  $w(\text{масла}) = 0,3120\%$

В таблице 8 приведены сравнительные результаты косвенного титрования некоторых масел пероксицикановой кислотой и однохлористым йодом по Вийсу (референтный метод). Результаты, полученные по первому методу, в среднем на 2-10% ниже, чем полученные по референтному методу. Результаты полученные в ходе исследований были статистически обработаны согласно ОФС.1.1.0013 Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний Государственной фармакопеи РФ XV издания.

Таблица 8 - Результаты определения йодного числа некоторых растительных жирных масел путем титрования пероксидекановой кислотой и йода монохлоридом

Испытуемое жирное масло	Йодное число	$X_{cp}$	$S^2$	$S$	$\pm\Delta x$	$\varepsilon, \%$	$F_{выч}$	$\delta, \%$
Кукурузное	По реакции с JCl	131,1	0,568	0,754	2,10	1,60	3,34	
	Титрование ПДК	129,5	0,170	0,412	1,15	0,89		-1,19
Оливковое	По реакции с JCl	98,5	0,373	0,617	1,72	1,75	4,01	
	Титрование ПДК	96,8	0,093	0,305	0,85	0,88		-1,77
Подсолнечное	По реакции с JCl	108,2	0,562	0,750	2,09	1,92	3,43	
	Титрование ПДК	93,8	0,164	0,405	1,26	1,35		-13,3
Касторовое	По реакции с JCl	87,4	0,432	0,657	0,93	1,06	4,04	
	Титрование ПДК	87,0	0,107	0,327	1,12	1,29		-0,46

В таблице 8 рассчитаны значения погрешности  $\delta$  меньше величины относительного стандартного отклонения, что свидетельствует о правильности полученных результатов анализа.

Хотя все результаты, полученные пероксикислотным методом, несколько ниже рассчитанных значений йодных чисел с монохлоридом йода, эта погрешность анализа является незначимой: кажущиеся заниженным результаты среднего значения йодных чисел свидетельствуют о том, что степень чистоты анализируемых проб ниже 100%. То, что реакция присоединения протекает количественно, а побочные процессы сведены к минимуму, а также то обстоятельство, что глицериды ненасыщенных кислот при хранении обычно образуют пероксиды, содержание которых учитывается в холостом опыте, доказывает, что предложенный пероксикислотометрический метод позволяет находить действительное содержание глицеридов высокомолекулярных ненасыщенных кислот в пробе масел.

Высокая устойчивость кукурузного масла во времени (постоянство состава на протяжении длительного времени) и относительно высокое значение величины йодного числа позволяет рекомендовать ее как эталонную смесь глицеридов высокомолекулярных жирных кислот при разработке оптимальных условий анализа масел неизвестного состава с помощью высших алифатических пероксикислот, а также проверки правильности определения степени ненасыщенности испытуемых масел.

Приведенные в таблице 9 результаты анализа испытуемых невысыхающих и полувысыхающих жирных масел апробированным методом пероксикислотометрии убедительно свидетельствуют о возможности осуществления количественного определения с

помощью нового аналитического реагента – пероксидекановой кислотой – количественного показателя степени ненасыщенности жирных масел по йодному числу.

Таблица 9 - Результаты определения ненасыщенности некоторых жирных масел по реакции эпексидирования пероксидапреновой кислотой в среде хлороформа

№ п/п	Испытуемое жирное масло	Йодное число (ЙЧ)	Регламентированное ЙЧ
1	Олеиновая кислота	89,29	—
2	Рыбий жир трески	143,4	150-175
3	Рициновое масло	87	82-88
			82-90
			83-88
4	Подсолнечное масло	86,9	118-144
5	Кукурузное масло	129,5	111-133
6	Оливковое масло (сырец)	93,8	75-94
		96,8	79-88
7	Персиковое масло	100,8	96-103
8	Льняное масло	159,2	160-200
9	Масло семян тыквы	132	—

Фармакопея не предполагает определение йодного числа в эфирных маслах. В нашей работе представлена возможность определять степень ненасыщенности как дополнительный показатель качества эфирных масел, которые со временем способны эпексидироваться под воздействием кислорода воздуха и света при хранении. Мы предлагаем контролировать йодное число в эфирных маслах, как показатель степени ненасыщенности, который бы свидетельствовал о качестве масла.

Методику определения ненасыщенности эфирных масел использовали аналогично как и для жирных масел. Мы изучили кинетику эпексидирования некоторых терпенов: пинен, лимонен, мирцен. В качестве эпексидирующего агента использовали пероксидекановую кислоту.

Результаты изучения кинетики эпексидирования пероксидекановой кислотой индивидуальных терпеноидов, медицинского скипидара в среде метилхлорида при 22-25°C приведены на рисунках 27,28.

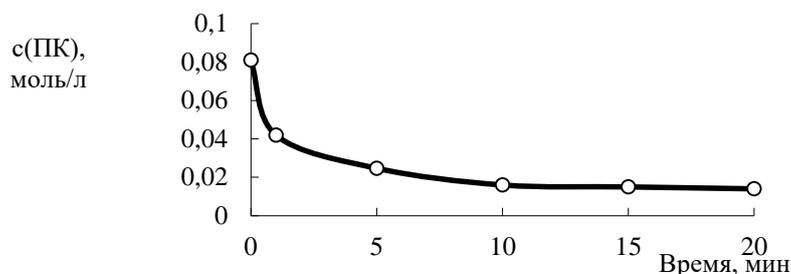


Рисунок 10 - Кинетическая кривая реакции эпексидирования α-пинена пероксидекановой кислотой в среде метилхлорида при 24°C

Установлено, что на 1 моль  $\alpha$ -пинена расходуется 1 моль пероксикислоты. Исходя из стехиометрии 1: 1 и времени количественного взаимодействия – 20 мин содержание основного вещества,  $w$ , в %, составляло:

$$w = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 0,1 \cdot K \cdot M \cdot V \cdot 100}{2 \cdot m \cdot 1000} = \frac{(1,62 - 0,05) \cdot 0,1000 \cdot 136,23 \cdot 20 \cdot 100}{2 \cdot 0,2143 \cdot 1000} = 99,8\%.$$

$$I = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 0,1 \cdot K \cdot 126,93 \cdot V \cdot 100}{m \cdot 1000} = \frac{(1,62 - 0,05) \cdot 0,1000 \cdot 126,93 \cdot 20 \cdot 100}{0,2143 \cdot 1000} = 186,0$$

Так как пинен, который был использован в анализе, является чистой субстанцией, то мы можем рассчитать теоретическое йодное число, которое даст нам возможность сравнить с практически полученным результатом. Рассчитанное теоретическое йодное число составляет 186,35. Полученное нами йодное число  $\alpha$ -пинена довольно близко к теоретическому. Так же позволяет количественно определять чистую субстанцию.

Таблица 10\_- Результаты определения йодного числа  $\alpha$ -пинена (при P=95%, n=5).

№ п/п	Йодные число	Процентное содержание	Статистические данные
1	185,5	99,5	$\bar{X}=186,0; S^2=0,545;$ $S=0,738; S_{\bar{x}}=0,33;$ $\Delta x=\pm 1,57;$ $\varepsilon =0,84\%$
2	186,5	100,1	
3	186,8	100,2	
4	187,0	100,3	
5	185,2	99,4	

Реакция эпексидирования терпеноидов так же подчиняется уравнению второго порядка. (рисунок 11).

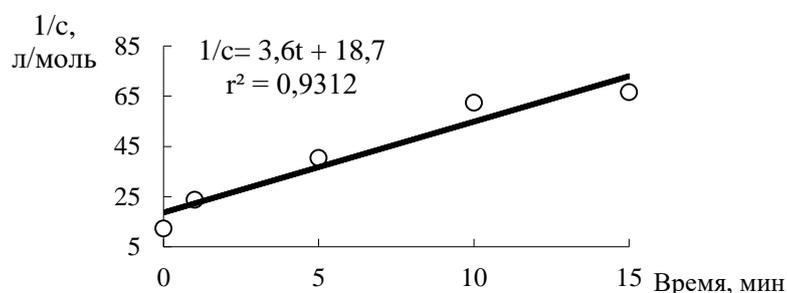


Рисунок 11 - Обращено-концентрационная анаморфоза кинетической кривой реакции эпексидирования  $\alpha$ -пинена пероксидекановой кислотой .  $k_{ef}=3,6$  л/моль·мин ( $24^{\circ}\text{C}$ )

Как мы видим, применённый метод определения йодного числа позволяет количественно определить пинен, при этом побочные реакции окисления не наблюдаются.

При изучении реакции эпексидирования лимонного масла пероксидекановой кислотой в среде метиленхлорида при  $24^{\circ}\text{C}$  был получен следующий график кинетической кривой (рисунок 12):

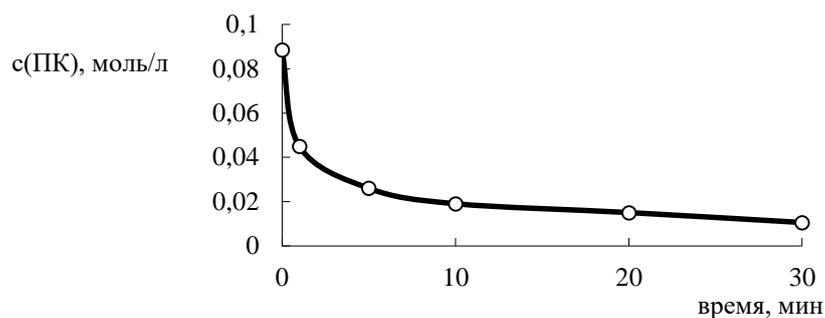


Рисунок 12 - Кинетическая кривая реакция эпоксирирования лимонного масла пероксидекановой кислотой в среде метилехлорида при 24°C

Представленные на рисунке 12 данные свидетельствуют о том, что время проведения анализа составляет 30 мин при температуре 24°C.

Растительные масла является смесью различных соединений и их состав может количественно варьироваться в довольно большом диапазоне. Оптимальным показателем качества будет именно йодное число, показывающий степень ненасыщенности. Процентное содержание не будет коррелировать с йодным числом в таких сложных системах, которыми являются масла. Поэтому в маслах рассчитывалось только йодное число как показатель качества масла. Практически рассчитанное йодное число по формуле:

$$I = \frac{(V_0 - V_1) * 0,1 * K * 126,93 * V * 100}{m * 1000} = \frac{(1,77 - 0,01) * 0,1000 * 126,93 * 20 * 100}{0,1840 * 1000} = 243$$

Таблица 11 - Результаты определения йодного числа лимонного масла (при P=95%, n=6).

№ п/п	Практически рассчитанные йодное число	Статистические данные
1	243	$\bar{X}=243; S^2=1,58;$ $S=1,26; S_x=0,51;$ $\Delta x=\pm 2,54;$ $\varepsilon = 1,05\%$
2	242,8	
3	244,5	
4	241	
5	242,6	
6	244,2	

Обращено-концентрационная анаморфоза кинетической кривой эпоксирирования лимонного масла является линейной функцией (рисунок 12). Эффективная константа скорости реакции составляет 3,9 л·моль<sup>-1</sup>·мин<sup>-1</sup>.

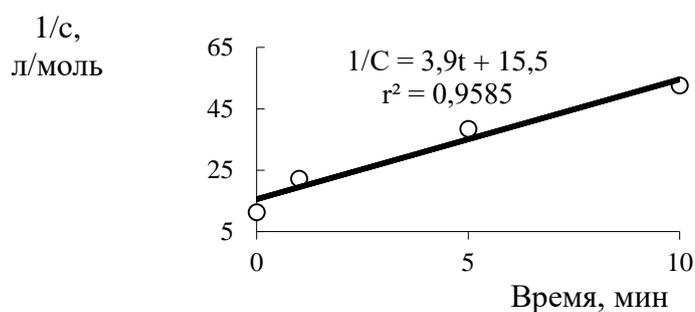


Рисунок 12 - Обращено-концентрационная анаморфоза кинетической кривой реакции эпоксирирования лимонного масла при 24°C (кеф=3,9 л/моль·мин)

Кинетика реакции эпокси́дирования эфирного масла в среде метиленхлорида так же подчиняется кинетическому уравнению второго порядка.

Таким образом, независимо от природы терпеноида и окислителя, кинетика реакций в среде метиленхлорида подчиняется кинетическому уравнению второго порядка. По данным кинетики были определены время количественного взаимодействия и стехиометрия реакции. В результате проведенного анализа было установлено, что небольшой избыток перокси́кислоты способствует максимально стехиометрическому прохождению реакции.

### **Применение реакции эпокси́дирования при анализе лекарственных средств на основе эфирных масел.**

Мы применили реакцию эпокси́дирования для количественного определения при контроле качества скипидарной мази 10% Нами предложено для стандартизации препаратов на основе Биена использовать данные определения йодного числа по реакции эпокси́дирования, содержащихся полиненасыщенных кислот при 25°C в среде хлороформа перокси́каприновой кислотой (ПКК), избыток которой определяют йодометрически. Провели количественный анализ укропной воды и нашатырно-анисовых капель с использованием реакции эпокси́дирования.

### **Заключение**

В рамках данной диссертационной работы нами получены следующие результаты:

1. На основании квантово-химических расчетов был предположен механизм реакции эпокси́дирования перокси́уксусной и пербензойной кислотами.

В результате исследования реакции эпокси́дирования монотерпеноидов эвгенола и изоэвгенола с помощью органических перокси́кислот с использованием приближения UBH&HLYP/6-31G(d) установлены следующие закономерности: соотношение энергий активации при взаимодействии монотерпеноидов эвгенола и изоэвгенола с перокси́этановой и пербензойной кислотами свидетельствует о более высокой реакционной способности именно изоэвгенола. Полученные результаты согласуются с экспериментальными данными, что подтверждает корректность использования приближения UBH&HLYP/6-31G(d) для изучения регио-химических условий протекания эпокси́дирования алкенов.

2. Методом йодометрического титрования изучена кинетика реакций эпокси́дирования некоторых индивидуальных терпеноидов ( $\alpha$ -пинена, лимонена, лимонена оксида), а также скипидара медицинского перокси́декановой кислотой в среде метиленхлорида при 25-26°C К. Показано, что кинетика реакции подчиняется кинетическому уравнению второго порядка. Определены эффективные константы скорости реакции второго порядка: для  $\alpha$ -пинена 3,6

л/моль×мин (24°C), лимонена (до эпоксида) 2,1 л/моль×мин (22°C), лимонена оксида (до диоксида) 0,052 л/моль×мин (22°C), для скипидара 3,9 л/моль×мин (24°C).

3. Проведено определение ненасыщенности жирных масел по реакции эпоксирирования пероксидекановой кислотой. Йодные числа, найденные методом пероксикислотометрии с использованием в качестве титранта пероксидекановой кислоты, в целом находятся в соответствии с регламентированными значениями йодных чисел испытуемых жирных масел.

4. Проведено количественное определение ненасыщенности эфирных масел по реакции эпоксирирования пероксидекановой и пероксиоктановой кислотой. Рассчитали йодные числа для эфирных масел. Предложены и испытаны методики количественного определения содержания основного вещества и определение йодного числа некоторых терпеноидов ( $\alpha$ -пинена, лимонена, лимонена оксида), а также скипидара живичного (медицинского) по данным реакции эпоксирирования пероксидекановой кислотой в среде метилехлорида.

5. На основании полученных данных применена простая и эффективная методика определения лекарственных препаратов на основе эфирных масел при помощи пероксикислот, позволяющая проводить контроль качества лекарственных препаратов в любой лаборатории без использования дорогостоящего оборудования.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Агафонов, А. М. Применение реакции эпоксирирования при анализе терпеноидов / А. М. Агафонов, И. П. Ремезова, Л. С. Аносова // Аспирантский вестник Поволжья. – 2023. – Т. 23, № 1. – С. 25-30. – DOI 10.55531/2072-2354.2023.23.1.25-30. – EDN GLSMZQ.

2. Определение степени ненасыщенности эфирных масел / А. М. Агафонов, И. П. Ремезова, В. В. Косенко [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 112-120. – DOI 10.30895/1991-2919-2023-492. – EDN NKJTJB.

3. Агафонов, А. М. Разработка методики количественного определения эфирных масел с помощью пероксикислот / А. М. Агафонов, И. П. Ремезова, Л. С. Аносова // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 1. – С. 15-21. – DOI 10.29296/25419218-2023-01-03. – EDN VICVMN.

4. Агафонов, А.М., Сравнительное квантово-химическое исследование механизма реакции эпоксирирования эвгенола и изоэвгенола надуксусной и пербензойной кислотами / А.М. Агафонов, Л.С. Аносова // Актуальные проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики : сб. науч. тр. по материалам II Международной научно-практической конференции. – Кемерово, 2022. – С. 376-381.

5. Агафонов, А.М. Стандартизация препаратов на основе Биена с использованием реакции эпексидирования / А.М. Агафонов, Н.Е. Блажеевский //Тезисы докл. Республ. науч. конф. по аналит. химии с межд. участ. „Аналитика РБ", посв. 100-летию со дня рожд. чл- корр. НАН Беларуси Старобинца Г.Л., Минск. - С. 157.

6. Agafonov, A. M. The comparative quantum chemical study of the epoxidation reaction mechanism of eugenol and *isoeugenol* with peracetic and perbenzoic acids/ A. M. Agafonov, S. I. Okovytyy, M. Ye. Blazheyevskiy// Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2019. – Vol. 17, Iss. 3 (67) – P 44-50. – DOI 10.24959/ophcj.19.169808

7. Agafonov, A. M. The quantum chemical study of the mechanism of the epoxidation reaction of limonene and geraniol with peracetic and perbenzoic acids/ A. M. Agafonov, S. I. Okovytyy, M. Ye. Blazheyevskiy// Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2019. – Vol. 17, Iss. 1 (65) – P 42-47. DOI 10.24959/ophcj.19.963

8. Blazheyevskiy, M.Y. Quantitative determination of essential oil terpenoids by the reaction of epoxidation with peroxy decanoic acid/ M.Y. Blazheyevskiy, O. M. Agafonov, V. P. Moroz, M. M. Ivashura// J. Chem. Pharm. Research. – 2014. – V. 6, № 3. – P. 1286-1293. (Scopus).

9. Blazheyevskiy, M. Ye. Quantitative determination of anise oil in ammonia-anise drops by the method of peroxy acidometry/ M. Ye. Blazheyevskiy, O. M. Agafonov //Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student (April 20, 2017) in 2 vol., Vol.1. – Kh.: Publishing Office NUPh, 2017. – 414 P.