

2. Васильева, Е. Е. Биоплекс медь для поросят / Е. Е. Васильева, А. Я. Яхин, В. П. Надеев // Животноводство России. – 2008. – № 11. – С. 35-36.
3. Викторов, П. И. Влияние разного уровня биологически активных веществ в рационах молодняка свиней на их мясную скороспелость / П. И. Викторов, Ю. Н. Петрушенко // Актуальные проблемы кормления сельскохозяйственных животных. – Дубровицы, 2007. – С. 316-318.
4. Давтян, Д. Биоплексы // Расцвет информации. – 2007. – №7. – С. 23-24.
5. Зуев, О. Е. Продуктивность и обмен веществ у молодняка свиней при скармливании рационов, обогащенных премиксами с включением хелатов : автореф. дис. ... канд. с-х. наук : 06.02.02 / Зуев Олег Евгеньевич. – Персияновка, 2009. – С. 22.
6. Кудрин, А. В. Микроэлементы в иммунологии и онкологии / А. В. Кудрин, О. А. Громова. – М. : ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 544 с.
7. Маршал, В. Д. Клиническая биохимия. – М. : Бином, 2011. – 408 с.
8. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных : справочное пособие / сост. : А. П. Калашников, В. В. Щеглов, Н. И. Клейменов [и др.]. – М., 2003. – 455 с.

DOI 10.12737/21715

УДК 543.421/424+543.429.23

СИНТЕЗ НАНОДИСПЕРСНЫХ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ КОМПОЗИТОВ

Мамцев Александр Николаевич, д-р биол. наук, проф., директор БИТУ (филиал) ФГБОУ ВО МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ).

453850, Республика Башкортостан, г. Мелеуз, ул. Смоленская, д. 34.

E-mail: mail@mfmgtu.ru

Козлов Валерий Николаевич, д-р биол. наук, проф., руководитель научно-исследовательского центра БИТУ (филиал) ФГБОУ ВО МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ).

453850, Республика Башкортостан, г. Мелеуз, ул. Смоленская, д. 34.

E-mail: bioritom@mail.ru

Григорьев Василий Семенович, д-р биол. наук, проф. кафедры «Эпизоотология, патология и фармакология», ФГБОУ ВО Самарская ГСХА.

446442, Самарская область, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2.

E-mail: grigorev_vs@ssaa.ru

Максютов Руслан Ринатович, канд. тех. наук, доцент кафедры «Машины и аппараты пищевых производств» БИТУ (филиал) ФГБОУ ВО МГУТУ им. К. Г. Разумовского (ПКУ).

453850 Республика Башкортостан, г. Мелеуз, ул. Смоленская, д. 34.

E-mail: ruslan.maxiutov@yandex.ru

Ключевые слова: йоддефицит, ЯМР-, ИК-, УФ-спектроскопия, наноразмерность, хроматография.

*Цель исследования – разработать технологии химического внедрения полученных низкомолекулярных продуктов с ковалентно связанным йодом в биodeградируемые матрицы (глицирризиновая кислота) с получением нанодисперсных композитов, способных к дозированному отщеплению йода *in vivo*. Одним из жизненно важных микроэлементов является йод. Внесение йодсодержащих компонентов в продукты питания является прогрессивной технологией и способствует восполнению недостатка йода в организме человека. Наиболее интересны соединения, в которых неорганический йод химически связан с органической матрицей. Изучены процессы образования комплекса «*o*-йодбензойная кислота- β -глицирризиновая кислота» и механизмы инкапсулирования 5-йод-6-метилурацила в наноразмерную биodeградируемую матрицу – β -глицирризиновую кислоту с помощью физико-химических методов анализа – ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии. Проведена оценка наноразмерности синтезированных йодбиорганоческих комплексов методом лазерного наноструктурного анализа. Изучены процессы дейодирования *o*-йодбензойной кислоты *in vivo* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведенные исследования свидетельствуют о биодоступности синтезированного наноструктурированного йодсодержащего органоминерального комплекса.*

Для поддержания здоровья человека особое значение имеет полноценное и регулярное снабжение организма микроэлементами и витаминами. Одним из жизненно важных микроэлементов является йод. Йод является единственным из известных в настоящее время микроэлементов, участвующих в построении гормонов щитовидной железы – тироксина и трийодтиронина. Как известно, в результате недостатка йода у человека возникают нарушения в функциональной активности щитовидной железы, что может способствовать возникновению ряда заболеваний. У взрослых дефицит йода снижает умственную и физическую работоспособность, способствует развитию ожирения, гормонально-метаболических сдвигов, фиброзно-кистозной болезни молочных желез, иммунодефицита и остеопороза. Дефицит йода может оказывать негативное дей-

ствии на сердечно-сосудистую систему, а увеличение его потребления благоприятно влияет на функционирование систем кровоснабжения [8].

Внесение йодсодержащих компонентов в продукты питания является прогрессивной технологией и позволяет значительно снизить недостаток йода в организме человека. Йодирование продуктов питания возможно путем введения либо органических, либо неорганических форм йода [1, 3, 6, 7]. Обогащение продуктов питания минеральными солями йода является самым простым, дешевым и эффективным способом массовой йодной профилактики, но этот способ имеет ряд недостатков. Известно, что минеральный йод, являясь чрезвычайно активным веществом, способен вступать в химические реакции с органическими веществами организма, разрушая или качественно изменяя их структуру. Органический йод, в отличие от минерального, находится в связанном состоянии и в реакции не вступает. К тому же йод органических соединений лучше усваивается, а его излишки – легко эвакуируются из организма без токсических эффектов, например диффузного токсического зоба [5]. Данную форму йода легко дозировать.

В связи с этим в настоящее время у исследователей особый интерес вызывают соединения, в которых неорганический йод химически связан с органической матрицей. Однако не все виды матриц, используемые для стабилизации йода, совместимы с технологиями производств пищевых продуктов [4]. Как правило, органическая матрица должна обладать хорошей растворимостью, быть устойчивой к седиментации и обеспечивать пролонгированное высвобождение ионов йода из её состава [2].

Цель исследований – разработать технологии химического внедрения полученных низкомолекулярных продуктов с ковалентно связанным йодом в биodeградируемые матрицы (глицирризиновая кислота) с получением нанодисперсных композитов, способных к дозированному отщеплению йода *in vivo*.

Задача исследований – изучение механизмов инкапсулирования *o*-йодбензойной кислоты и 5-йод-6-метилурацила в наноразмерную биodeградируемую матрицу – β -глицирризиновую кислоту, а также оценка процессов дейодирования нанокompозита «*o*-йодбензойная кислота – β -глицирризиновая кислота» *in vivo* методом хроматографического анализа сыворотки крови у лабораторных крыс.

Материалы и методы исследований. В работе использовались следующие реактивы: йод кристаллический (чда), β -глицирризиновая кислота (чда), *o*-йодбензойная кислота (чда), 6-метилурацил (чда), этанол 95%, дейтерированные растворители для записи спектров ЯМР – вода D₂O (Aldrich, США) и диметилсульфоксид DMSO-d₆ (Sigma-Aldrich, США) без дополнительной очистки.

ИК-спектры образцов, приготовленных в вазелиновом масле, регистрировались на ИК-Фурье спектрометре «IR Prestige-21 Shimadzu» (Япония), УФ-спектры – на спектрофотометре «Specord-M40» (Германия). Для составления изомолярной серии использовали водные растворы с концентрацией 10⁻³ М. Измерения проводились в кварцевых кюветах толщиной 0,5 см при 20 °С.

Спектры ЯМР ¹³C и ¹H записывали на спектрометре Bruker AV500 (США) с рабочей частотой 125,76 МГц и 500 МГц. Редактирование спектров ¹³C проводилось с помощью методики DEPT. Для отнесения сигналов использовались также двумерные спектры гомо- (¹H-¹H COSY) и гетероядерной (¹H-¹³C HSQC, HMBC) корреляции. Внутренний стандарт – ТМС. Пробы готовились в концентрации 30 мг на 0,5 мл растворителя. Химические сдвиги в спектрах ЯМР ¹³C, ¹H приведены в м.д. (миллионные доли).

Определение размеров частиц проводилось на приборе «SALD-7101 Shimadzu» (Япония). Рабочий диапазон измерений составлял 10 нм - 300 мкм. Длина волны полупроводникового лазера 375 нм. Измерения проводились в водных растворах с концентрацией 0,5% (масс.) при постоянном перемешивании по всему объему кварцевой кюветы (7 мл). Результаты измерений представлены в виде распределения частиц по размерам, которое показывает долю частиц с данным диаметром. Исследование процессов дейодирования нанокompозита «*o*-йодбензойная кислота – β -глицирризиновая кислота» проведено на 50 беспородных белых крысах-самцах массой 150-180 г четырехмесячного возраста. Животных содержали в стационарных условиях вивария на обычном питании. Декапитация крыс проводилась в разные временные интервалы после перорального введения йодорганической субстанции: 1-я группа – контроль (введение физраствора), 2, 3, 4, 5-я группы – через 1, 2, 4, 8 ч соответственно.

Крысам вводили комплекс «*o*-йодбензойная- β -глицирризиновая кислота» из расчета 500 мкг анионов йода на 1 мл крови. Содержание бензойной кислоты в сыворотке крови крыс определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке LiChrospher RP-8 с зернением 5 мкм, размером 250 мм на 4 мм и спектрофотометрическим детектированием на длине волны 215 нм. В качестве элюента использовалась смесь 0,1 М раствора уксусной кислоты и ацетонитрила в соотношении 50:50. Скорость потока составила 1,0 мл/мин.

Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования приборами и оборудованием Уфимского Института химии Российской академии наук за возможность использования научного оборудования.

Результаты исследований. Образование химической связи между йодом и производным нуклеинового основания – 6-метилурацилом было подтверждено изменениями в ИК-спектрах. Так, в спектре синтезированного соединения зарегистрирована новая полоса валентных колебаний (C-I) 586 см^{-1} . Полученный низкомолекулярный продукт с ковалентно связанным йодом инкапсулирован в наноразмерную матрицу – β -глицирризиновую кислоту. Результаты изучения спектров ЯМР 5-йод-6-метилурацила, β -глицирризиновой кислоты и клатрата показали, что изменения в положении сигналов характерны для образования соединений включения, связанных водородными связями. Наблюдаемые сдвиги сигналов в дисахаридном фрагменте молекулы (C3', C6', C6''), а также в агликоновой части (C2, C11, C13, C30) позволяют сделать предположение об образовании клатрата при участии в водородных связях как углеводной части молекулы β -глицирризиновой кислоты, так и ее тритерпенового фрагмента. ИК-спектры в данном случае мало информативны, поскольку наблюдается наложение полос поглощения глицирризиновой кислоты и 5-йод-6-метилурацила. Однако изменения прослеживаются как в области валентных колебаний карбонильных групп (область $1700\text{-}1600\text{ см}^{-1}$), валентных колебаний гидроксильных групп ($3500\text{-}3100\text{ см}^{-1}$), скелетных колебаний $\nu\text{C-C}$ в структуре глицирризиновой кислоты ($1100\text{-}1000\text{ см}^{-1}$), а также деформационных колебаний $\delta\text{C-OH}$ глицирризиновой кислоты при образовании клатрата. Спектрофотометрическим методом по данным изомольярной серии для системы 5-йод-6-метилурацил (5-I-6-MeUr)- β -глицирризиновая кислота (GA) было зарегистрировано образование клатрата и проведено определение его состава: GA : 5-I-6-MeUr = 2:1. Методами ИК-, ЯМР- и электронной спектроскопии показано, что между 5-йод-6-метилурацилом (5-I-6-MeUr) и β -глицирризиновой кислотой образуется новое соединение. Таким образом, синтезированное соединение содержит низкомолекулярный продукт с ковалентно связанным йодом, включенным в биodeградируемую нанокapsулу – глицирризиновую кислоту.

Исследование системы «о-йодбензойная кислота - β -глицирризиновая кислота» методом изомольярных серий в спектрофотометрическом варианте показало наличие изобестических точек, что свидетельствует об образовании в системе нового соединения. Состав соединения, определенный по результатам данного эксперимента – 1 молекула о-йодбензойной кислоты на 2 молекулы β -глицирризиновой кислоты.

Было синтезировано и, далее, охарактеризовано методом ИК-спектроскопии соединение данного состава. Обнаруженные изменения в ИК-спектре синтезированного соединения по сравнению со спектрами исходных соединений имели характер, соответствующий образованию комплексов включения. Наблюдалось смещение полос поглощения $\nu\text{C=O}$ карбоксильных групп β -глицирризиновой кислоты ($1712\text{ см}^{-1} \rightarrow 1720\text{ см}^{-1}$), изменения в области полос поглощения сопряженных связей C=O и C=C ($1650\text{ см}^{-1} \rightarrow 1657\text{ см}^{-1}$), а также в области поглощения скелетных колебаний ($1089\text{ см}^{-1} \rightarrow 1080\text{ см}^{-1}$).

Результаты изучения спектров ЯМР о-йодбензойной кислоты, β -глицирризиновой кислоты и клатрата показали, что изменения в положении сигналов в спектрах ^{13}C характерны для образования соединений включения, связанных водородными связями. Наблюдаемые сдвиги сигналов в дисахаридном фрагменте молекулы β -глицирризиновой кислоты (C6', C6''), а также в её агликоновой части (C9, C13, C23, C28) позволяют сделать предположение об образовании соединения клатратного типа при участии в водородных связях как углеводной части молекулы (с участием карбоксильных групп), так и ее тритерпенового фрагмента (с участием системы сопряженных связей).

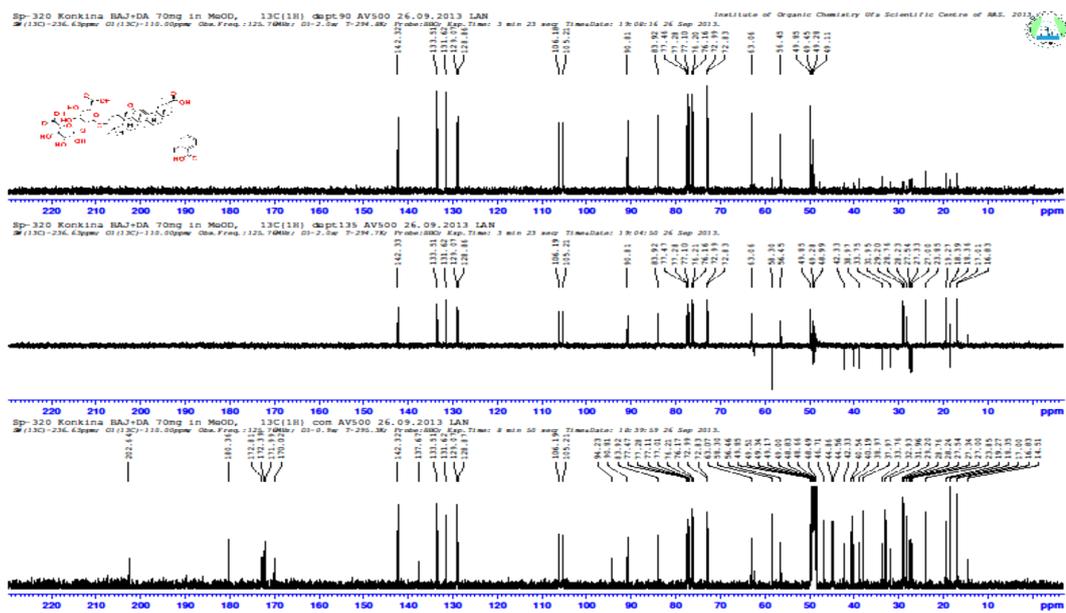


Рис. 1. Спектр ЯМР ¹³C клатрата, β-глицирризиновой и о-йодбензойной кислоты

Следующим этапом работы было проведение оценки размеров частиц изучаемых соединений – «5-йод-6-метилурацил-β-глицирризиновая кислота» и «о-йодбензойная кислота – β-глицирризиновая кислота» – при их распределении в водной среде. При смешивании образцов с водой образуются надмолекулярные агрегаты (мицеллы). По результатам лазерного наноструктурного анализа установлено, что частицы комплексов «5-йод-6-метилурацил-β-глицирризинованная кислота» и «о-йодбензойная кислота-β-глицирризиновая кислота» в водных растворах образуют дисперсии, где диаметр частиц составляет 50-350 нм. Оценка динамики трансформации полученной субстанции у лабораторных крыс проводилась методом ВЭЖХ по степени деградации йодбензойной кислоты *in vivo*. В таблице 1 представлены результаты определения содержания бензойной кислоты в анализируемых образцах сыворотки крови крыс в состоянии мерказолилового гипотиреоза. В ходе реализации исследований было установлено, что в сыворотке крови не идентифицируется о-йодбензойная кислота, где йод ковалентно связан с органической кислотой. При этом увеличение в сыворотке крови продукта дейодирования – бензойной кислоты – фиксируется через 4 ч после внутрижелудочного введения йодорганической субстанции.

Таблица 1

Содержание бензойной кислоты в анализируемых образцах сыворотки крови, мг/мл

Образец	Содержание бензойной кислоты в сыворотке крови, мг/мл
1-я группа (контроль)	-
2-я группа	0,000084
3-я группа	0,000088
4-я группа	0,000097
5-я группа	0,000103

Заключение. Методами ИК-, ЯМР- и электронной спектроскопии было показано, что между 5-йод-6-метилурацилом и β-глицирризиновой кислотой образуется соединение путем внедрения низкомолекулярного продукта с ковалентно связанным йодом – 5-йод-6-метилурацила – в биodeградируемую органическую матрицу - β-глицирризиновую кислоту. По результатам лазерного наноструктурного анализа установлено, что исследованные комплексы образуют водные дисперсии, в которых диаметр частиц составляет 50-350 нм, что может способствовать более полноценному усвоению внедренного микроэлемента. Исследования комплекса «о-йодбензойная-β-глицирризиновая кислота» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии *in vivo* позволили оценить биодоступность данного наноструктурированного йодсодержащего органоминерального комплекса.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГНТП РБ № 3.1.3.5 «Инновационные технологии оздоровления населения Республики Башкортостан» по теме: Разработка инновационных технологий производства «Нано-йод-глюконата».

Библиографический список

1. Битуева, Э. Б. Безопасность биологически активной добавки к пище «Йод-эластин» / Э. Б. Битуева, С. Д. Жамсаранова, Л. В. Антипова // Известия Вузов. – 2006. – № 1. – С. 125.
2. Ахмадеева, Р. А. Иммобилизация йода в структуру низкомолекулярного инулина / Р. А. Ахмадеева, А. Л. Даниленко, Р. Р. Максютюв, И. Г. Конкина // Вестник Башкирского аграрного университета. – 2013. – №1 (29). – С 95-98.
3. Мударисова, Р. Х. Образование фиолетового комплекса при взаимодействии хитозана с йодом / Р. Х. Мударисова, Н. Р. Ершова, Е. И. Кулиш, С. В. Колесов // Вестник Башкирского университета. – 2010. – №3. – С. 585-586.
4. Мамцев, А. Н. Оценка нанодисперсности и спектральных характеристик йодбиорганических соединений / А. Н. Мамцев, В. Н. Козлов, Е. Е. Пономарёв [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2013. – №8. – С. 39-41.
5. Паламарек, К. В. Роль питания в профилактике йододефицитных заболеваний // Научный журнал НИУ ИТМО. – 2013. – №1. – С. 46-51. – (Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»).
6. Пат. 22653777 Российская Федерация, С1 А23 L 1/30, 1/304. Биологически активная добавка к пище для профилактики йодной недостаточности и способ ее получения / Мамцев А. Н., Бондарева И. А., Козлов В. Н. [и др.] – Заявл. 20.07.2004 ; опубл. 10.12.2005, Бюл. № 34.
7. Птичкин, И. И. Пищевые полисахариды: структурные уровни и функциональность / И. И. Птичкин, Н. М. Птичкина. – Саратов : ГУП «Типография № 6», 2012. – 96 с.
8. Шацких, Е. В. Показатели мясной продуктивности бройлеров при использовании йодказеина / Е. В. Шацких, О. С. Цыганова // Аграрный вестник Урала. – 2008. – №3 (44). – С. 45-47.