

УДК 54.05

ЭКСТРАКЦИЯ БЕТУЛИНА АЛИФАТИЧЕСКИМИ СПИРТАМИ C₃-C₄ ИЗ БЕРЕСТЫ БЕРЕЗЫ, ГИДРОЛИЗОВАННОЙ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ ЩЕЛОЧИ

© *В.А. Левданский*^{1,2*}, *А.В. Левданский*¹

¹*Институт химии и химической технологии СО РАН, ул. К. Маркса, 42,
Красноярск 660049 (Россия), e-mail: inm@icct.ru*

²*Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, Красноярск,
660041 (Россия)*

Установлено, что при гидролизе бересты в водном растворе щелочи в присутствии изопропанола, бутанола и изобутанола образуются два слоя. Верхний слой содержит бетулин, растворенный в спирте, а нижний – водную щелочь и растворимые в ней продукты гидролиза бересты. Бетулин выделяют путем отделения и концентрирования спиртового слоя. Строение бетулина подтверждено методами ИК и ЯМР-спектроскопии.

Ключевые слова: береста, щелочной гидролиз, гидроксид натрия, гидроксид калия, экстракция, изопропанол, бутанол, изобутанол, бетулин.

Введение

Высокое содержание бетулина во внешнем слое коры берёзы и его разносторонняя биологическая активность [1, 2] стимулируют разработку все новых способов получения этого ценного продукта. Известные способы получения бетулина из бересты можно разделить на две основные группы.

Одна из них основана на экстракции внешнего слоя коры берёзы – бересты различными растворителями и выделения из полученных экстрактов бетулина. Экстракционные методы выделения бетулина из бересты привлекают исследователей простотой технологического исполнения и возможностью регенерации и многократному использованию растворителей. В работе [3] в качестве экстрагента используют углеводородный растворитель LIAV-200 (T_{кип} 150–185 °С) и получают осадок, в который из экстракта переходит 97% бетулина с содержанием основного вещества 75%. После кристаллизации этого осадка из азеотропа 2-бутанол – вода получают продукт, содержащий до 95% бетулина, но уменьшается доля перешедшего в кристаллический продукт бетулина до 80% от его содержания в экстракте.

В последнее десятилетие запатентован ряд способов выделения бетулина с использованием как неполярных углеводородов гексана [4], толуола [5], уайт-спирита [6], смеси неполярных растворителей, например смесь толуола с петролейным эфиром [7], так и полярных растворителей – этанола и других спиртов [8]. Основным недостатком экстракционных методов получения бетулина является то, что из бересты попутно с бетулином и различными тритерпеноидами извлекаются и другие классы соединений. Причем с увеличением температуры кипения и полярности растворителя общий выход экстракта увеличивается, а

Левданский Владимир Александрович – ведущий научный сотрудник, доктор химических наук, тел.: (391) 249-55-84, e-mail: inm@icct.ru

Левданский Александр Владимирович – научный сотрудник, кандидат химических наук, тел.: (391) 249-55-84, e-mail: inm@icct.ru

доля бетулина в нем снижается [3]. В результате для достижения 96–98% чистоты бетулина требуется многократная (до 3 раз) перекристаллизация экстракта, что значительно снижает выход и усложняет весь процесс получения бетулина.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Вторая группа способов заключается в щелочном гидролизе бересты и последующей спиртовой экстракции бетулина. Щелочной гидролиз бересты позволяет перевести основную часть веществ, попутно выделяемых с бетулином, в растворимое в водной щелочи состояние и легко от них избавиться. Бетулин в водной щелочи нерастворим. В результате степень извлечения бетулина из бересты достигает 95–97%, а его чистота – 93–95% [9–11]. Для достижения 98–99% чистоты бетулина достаточно одной перекристаллизации из изопропанола.

Экспериментальная часть

В качестве исходного сырья использовали внешнюю часть коры березы (бересту) *Betula pendula* Roth., заготовленную в июле 2012 г. в окрестностях Красноярска. Бересту измельчали до частиц размером 1–3 мм и высушивали при 105 °С до влажности менее 1%. Химический состав бересты (% мас.): бетулин 34,7, суберин 40,3, лигнин 13,5, целлюлоза 3,8, зола 2,3.

ИК-спектры записаны на Фурье ИК-спектрометре Vector-22 фирмы Bruker в области длин волн 400–4000 см⁻¹ в таблетках KBr (3 мг образца / 300 мг KBr). Спектры ЯМР образцов бетулина сняты на спектрометре Bruker Avance III 600 МГц в дейтерохлороформе с привязкой к дейтериевому резонансу растворителя. Элементный анализ выполнен на элементном анализаторе Flash EA™ –1112 (Thermo Quest Italia), одновременно определяющем количество (в %) углерода, водорода и кислорода. Электронные микрофотографии получены на растровом электронном микроскопе TM-1000 HITACHI (Япония) с ускоряющим напряжением 15 kV и с увеличением от 100 до 10000 крат с разрешением 30 нм. Чистоту бетулина контролировали методом ТСХ на пластинках Silufol в системе хлороформ – метанол – муравьиная кислота (100 : 2 : 0,5).

Гидролиз бересты и выделение бетулина. В колбу объемом 0,5 л, снабженную обратным холодильником и мешалкой, загружают 10 г бересты, предварительно измельченной до частиц размером от 1 до 3 мм, заливают 100 мл 20% раствора гидроксида калия и 250 мл изопропанола и при интенсивном перемешивании кипятят в течение 4 ч. После прекращения перемешивания и кипения реакционная масса расслаивается на два слоя. Верхний слой – горячий раствор бетулина в изопропаноле, отделяют и концентрируют до полного удаления растворителя, остаток разбавляют водой, затем отфильтровывают, промывают на фильтре водой до нейтральных промывных вод и высушивают. Выход бетулина составил 2,52 г (25,2%) от веса абсолютно сухой бересты.

Выход бетулина, выделенного из бересты, гидролизованной в водном растворе гидроксида калия и гидроксида натрия, в зависимости от концентрации щелочи и продолжительности гидролиза в присутствии изопропанола, бутанола или изобутанола, приведен в таблицах 1 и 2.

Результаты и обсуждение

Изучая условия выделения бетулина из бересты, мы установили, что при гидролизе бересты в водном растворе щелочи в присутствии изопропанола (в отличие от экстракции бетулина метанолом и этанолом) было обнаружено, что при прекращении перемешивания происходит расслоение реакционной массы и образуются две жидкие фазы. Изучение нижнего слоя показало, что он содержит водную щелочь и растворимые в ней вещества щелочного гидролиза бересты, а верхний слой – изопропанол и растворенный в нем бетулин. При отделении верхнего изопропанольного слоя и его концентрирования выделяется бетулин. Предложено для извлечения бетулина из бересты, подверженной щелочному гидролизу, использовать спирты, плохо растворимые в воде – бутанол и изобутанол. Показано, что бутанол и изобутанол, используемые в процессе гидролиза бересты, хорошо растворяют бетулин и образуют двухфазную систему, что дает возможность использовать эти спирты для извлечения бетулина из реакционной смеси [12]. Гидролиз бересты проводят в кипящем водно-спиртно-щелочном растворе. Температура кипения реакционной смеси в присутствии метанола, этанола и изопропанола составляет 65–80 °С. При использовании бутанола и изобутанола температура кипения реакционной смеси повышается до 100 °С, что сокращает продолжительность гидролиза бересты и уменьшает количество спирта, необходимого для растворения бетулина. Исследовано влияние природы щелочи и продолжительности щелочного гидролиза бересты на выход бетулина, извлекаемого изопропанолом, изобутанолом и бутанолом (см. табл. 1, 2).

Таблица 1. Данные о выходе бетулина, извлекаемого изопропанолом, бутанолом и изобутанолом из бересты гидролизованной в присутствии гидроксида калия

Концентрация КОН, %	Продолжительность гидролиза, ч		
	3,0	3,5	4,0
	Выход бетулина при экстракции изопропанолом, % от аб.с.б.		
15	22,9	24,3	23,8
20	24,6	24,8	25,2
25	24,9	25,1	25,7
	Выход бетулина при экстракции бутанолом, % от аб.с.б.		
15	24,2	24,1	26,7
20	26,7	25,9	28,3
25	27,0	26,0	28,4
	Выход бетулина при экстракции изобутанолом, % от аб.с.б.		
15	23,1	25,9	25,8
20	25,6	27,6	26,1
25	25,3	27,4	26,3

Таблица 2. Данные о выходе бетулина, извлекаемого изопропанолом, бутанолом и изобутанолом из бересты гидролизованной в присутствии гидроксида натрия

Концентрация NaOH, %	Продолжительность гидролиза, ч		
	3,0	3,5	4,0
	Выход бетулина при экстракции изопропанолом, % от аб.с.б.		
15	23,6	24,1	24,2
20	25,9	26,0	24,5
25	25,7	25,8	24,4
	Выход бетулина при экстракции бутанолом, % от аб.с.б.		
15	24,8	27,4	27,2
20	25,3	27,8	26,8
25	26,5	27,4	27,0
	Выход бетулина при экстракции изобутанолом, % от аб.с.б.		
15	24,5	26,2	26,4
20	26,1	27,3	26,9
25	26,3	27,5	27,1

Установлено, что природа щелочи, используемой при гидролизе бересты, не оказывает существенного влияния на степень извлечения бетулина из бересты. Как видно из данных, представленных в таблицах 1 и 2, выход бетулина изменяется незначительно и составляет от 25 до 28% от массы абсолютно сухой бересты.

Показано, что максимальный выход бетулина 27–28% достигается при гидролизе бересты в 20–25% щелочи в течение 3,5–4,0 ч и экстракции его бутанолом или изобутанолом.

Все образцы бетулина, извлекаемые изопропанолом, изобутанолом и бутанолом из бересты, гидролизованной в присутствии гидроксида калия и гидроксида натрия после перекристаллизации из этанола или изопропанола, представляют собой порошки белого цвета с температурой плавления 256–258 °С. На рисунках 1 а, б представлены изображения растровой электронной микроскопии (РЭМ) бетулина-сырца и бетулина, перекристаллизованного из этанола и изопропанола.

Кристаллы всех образцов бетулина имеют игольчатую форму. Размер кристаллов перекристаллизованного продукта составляет от 3 до 20 мкм, размер кристаллов бетулина, перекристаллизованного из этанола, – от 10 до 100 мкм, размер кристаллов бетулина перекристаллизованного из изопропанола – от 25 до 150 мкм.

Было установлено, что ИК-спектры полученных образцов бетулина идентичны приведенным в работе [13]. В области 3200–3500 см⁻¹ ИК-спектра наблюдается широкая полоса со сложным спектральным контуром, которую следует отнести к валентным колебаниям групп О–Н молекул бетулина. В таблице 3 приведены частоты основных полос поглощения и их отнесение в ИК-спектре бетулина.

В ЯМР ¹Н спектре бетулина (рис. 2) основная часть протонов тритерпенового скелета резонирует в интервале 0,7–2,0 м.д. В этой области наблюдается шесть сигналов соответствующих метильным протонам. В области 3,1–3,25 м.д. присутствуют сигналы протонов С₂₈-гидроксиметиленовой группы, а в области 2,36 м.д. сигнал метилового протона при С₁₉. Сигналы двух протонов концевой двойной связи при С₂₉ наблюдаются в области 4,59 и 4,71 м.д.

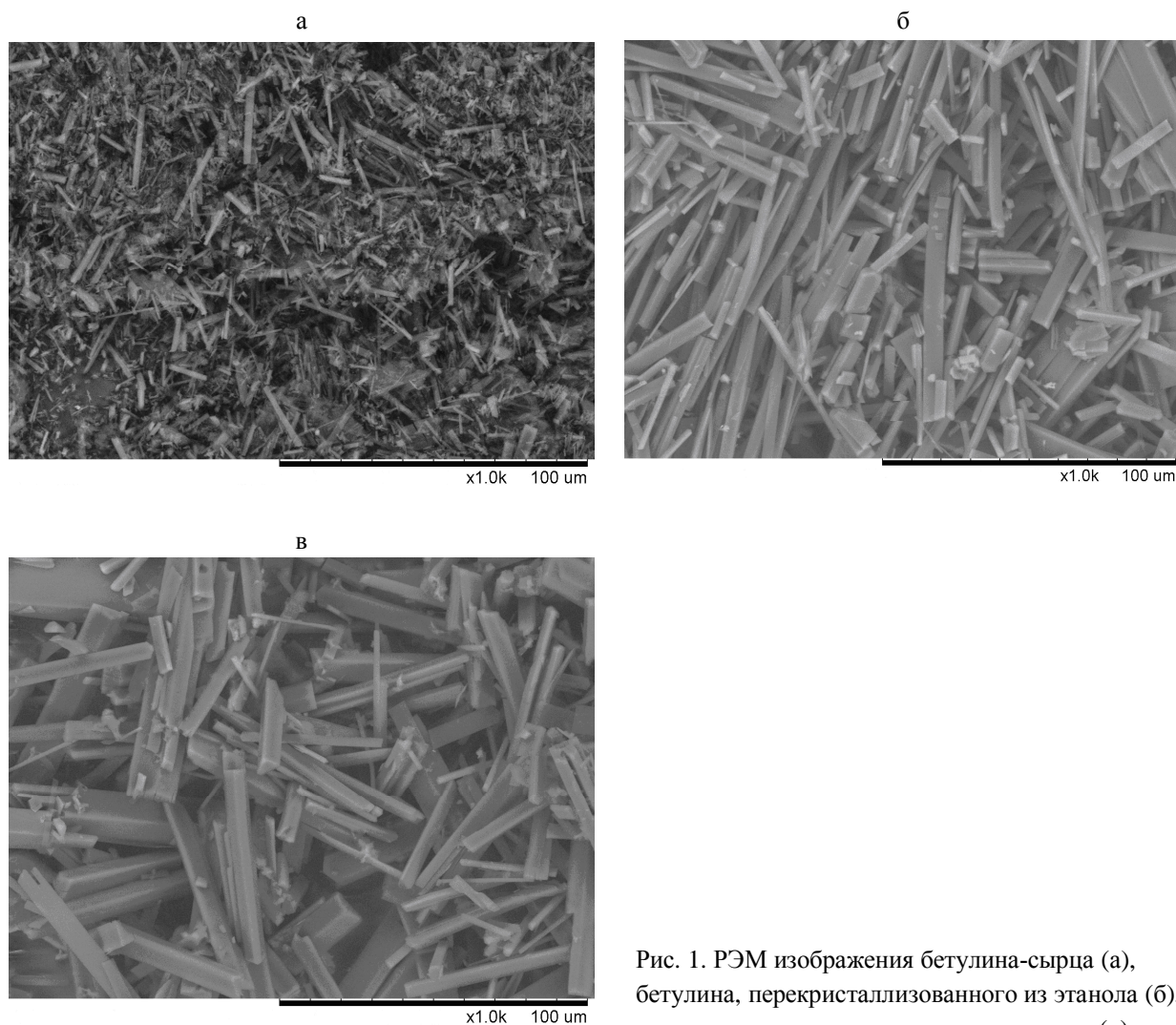


Рис. 1. РЭМ изображения бетулина-сырца (а), бетулина, перекристаллизованного из этанола (б), перекристаллизованного из изопропанола (в)

Таблица 3. Частоты основных полос поглощения в ИК-спектре бетулина (в см^{-1}) и их отнесение

Частота, см^{-1}	Характеристика полосы	Отнесение полосы
3200–3500	широкая	ν (O–H)
3078,4	слабая, as	ν (=C–H) ненас
2912,5	сильная, s	ν (=C–H) ненас
2848,8	сильная	ν (–C–H) нас
1693,5	слабая, as	ν (C=C)
1643,3	средняя, s	ν (C=C)
1568,1	слабая	ν (C–C) кольца
1452,4	сильная	δ (CH ₃)
1373,3	сильная	δ (C–CH ₃)
1297,6	слабая	δ (CH ₂)
1188,1	средняя	δ (C–H), δ (C–C), δ (C–O)
1105,2	средняя	δ (C–H), δ (C–C), δ (C–O)
1032,9	сильная	ν (C–O)
877,6	сильная	τ (=C–H)

В ЯМР ^{13}C (рис. 3а) присутствуют сигналы всех тридцати атомов углерода бетулина. Отдельно выделены сигналы первичных атомов углерода, принадлежащих шести метильным группам (рис. 3б), сигналы двенадцати вторичных атомов углерода (рис. 3в) и сигналы шести третичных атомов углерода (рис. 3г). На рисунке 3д приведены сигналы всех двадцати четырех атомов углерода – первичных, вторичных и третичных, за исключением сигналов шести четвертичных атомов (C₄, C₈, C₁₀, C₁₄, C₁₇, C₂₀).

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C бетулина выделенного изопропанолом изобутанолом и бутанолом из бересты гидролизованной в присутствии щелочи идентичны приведенным в работах [14, 15].

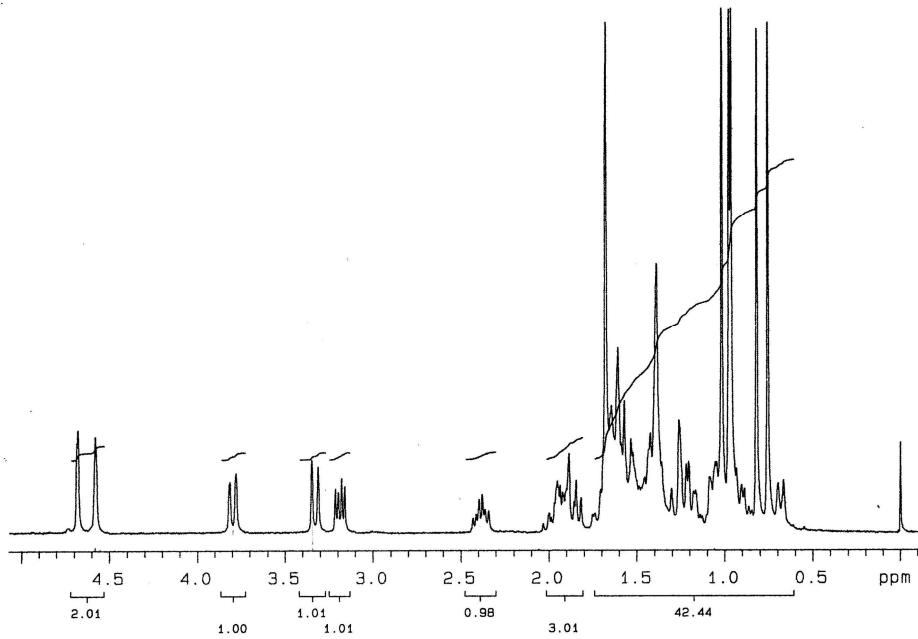


Рис. 2. ЯМР ¹H спектр бетулина

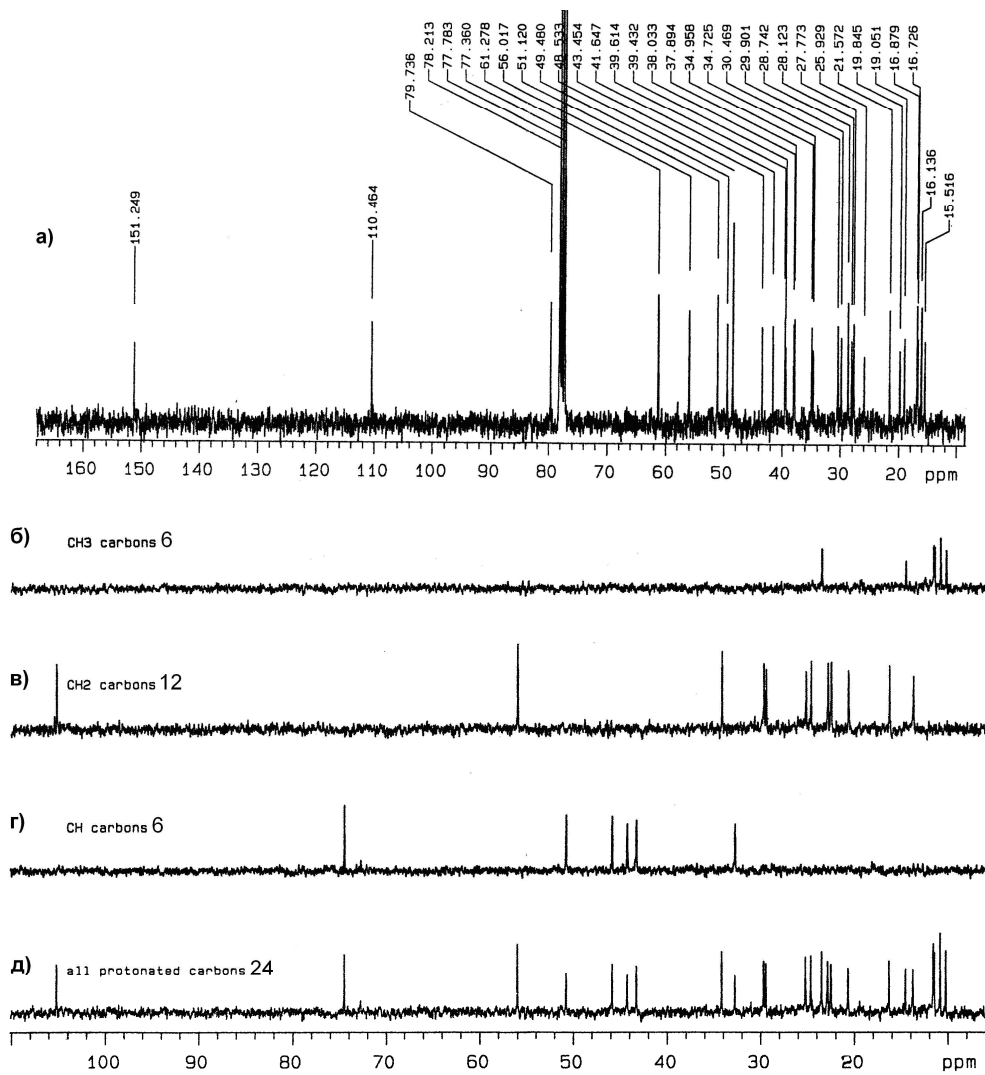


Рис. 3. ЯМР ¹³C спектр бетулина

Вывод

Установлено, что при использовании в процессе выделения бетулина из бересты, гидролизованной в присутствии щелочи, спиртов, C₃ и C₄ образуются два несмешивающихся между собой слоя. Верхний слой содержит растворенный в спирте бетулин, а нижний – щелочь и растворимые в ней продукты гидролиза бересты. Выделение бетулина осуществляется путем отделения и концентрирования верхнего слоя, что позволяет сократить число стадий и продолжительность процесса выделения бетулина из бересты.

Список литературы

1. Толстикова Г.А., Флехтер О.Б., Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстикова А.Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // Химия в интересах устойчивого развития. 2005. №13. С. 1–30.
2. Кислицын А.Н. Экстрактивные вещества бересты: выделение, состав, свойства, применение. Обзор // Химия древесины. 1994. №3. С. 3–28.
3. Eckerman Ch., Ekman R. Comparison of solvents for extraction and crystallization of betulinol from birch bark waste // Paperi ja Puu – Pap. och Tra. 1985. №3. Pp. 100–106.
4. Patent 2206572 (RU). Способ выделения бетулинола / М.С. Борц, Е.Г. Николаева, И.С. Лаевский. 20.06.2003.
5. Patent 2192879 (RU). Способ получения бетулина / Ю.И. Стернин. 20.11.2002.
6. Patent 2138508 (RU). Способ выделения бетулинола / А.Н. Кислицын, И.И. Сластников, А.Н. Трофимов. 27.09.1999.
7. Patent 2184120 (RU). Способ получения бетулина / В.И. Рощин, Н.Ю. Шабанова, Д.Н. Ведерников. 27.06.2002.
8. Patent 2172178 (RU). Способ получения бетулина / Г.В. Сироткин, Ю.И. Стернин. 20.08.2001.
9. Patent 2131882 (RU). Способ получения бетулина / В.А. Левданский, Н.И. Полежаева, А.П. Еськин, В.А. Винк, Б.Н. Кузнецов. 20.06.1999.
10. Patent 2340624 (RU). Способ получения бетулина / В.А. Левданский, А.В. Левданский, Б.Н. Кузнецов. 10.12.2008.
11. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Полежаева Н.И. Экстракция бетулина низшими алифатическими спиртами из внешней коры березы *Betula Pendula* Roth., активированной перегретым паром в присутствии щелочи // Химия растительного сырья. 2004. №2. С. 21–24.
12. Patent 2458934 (RU). Способ получения бетулина / В.А. Левданский, А.В. Левданский, Б.Н. Кузнецов. 20.08.2012.
13. Era V., Jaaskelainen P., Ukkonen K. Fatty acid esters from Betulinol // J. Amer. Oil Chem. Soc. 1981. Vol. 58. Pp. 20–23.
14. Одинокова Л.Э., Ошитоков Г.И., Денисенко В.А., Ануфриев В.Ф., Толкач А.М., Уварова Н.И. Гликозилирование бетулина и его ацетатов в присутствии карбоната кадмия // Химия природных соединений. 1984. №2. С. 182–187.
15. Sholichin, M., Yamasaki K., Kasai R., Tanaka O. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of lupane-type triterpens, lupeol, betulin and betulinic acid // Chem. Pharm. Bull. 1980. Vol. 28, N3. Pp. 10006–10008.

Поступило в редакцию 22 февраля 2013 г.

Levdansky V.A.^{1,2*}, Levdansky A.V.¹ EXTRACTION OF BETULIN BY ALIPHATIC ALCOHOLS C₃-C₄ FROM AN EXTERNAL LAYER OF A BIRCH BARK HYDROLYZED IN AQUEOUS ALKALINE SOLUTION

¹Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, K. Marx str., 42, Krasnoyarsk 660049 (Russia),

e-mail: inm@icct.ru

²Siberian Federal University, pr. Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041, (Russia)

It was established, that after hydrolysis of birch bark in water solution of alkali in the presence of isopropanol, butanol and isobutanol two layers were formed. The top layer contained betulin dissolved in alcohol, and the bottom layer contained a water-soluble alkali and its hydrolysis products of bark. Betulin was isolated by the separation and concentration of the alcohol layer. The structure of betulin was confirmed by methods of IR and NMR spectroscopy.

Keywords: birch bark, alkaline hydrolysis, sodium hydroxide, potassium hydroxide, extraction, isopropanol, butanol, isobutanol, betulin.

References

1. Tolstikov G.A., Flekhter O.B., Shul'ts E.E., Baltina L.A., Tolstikov A.G. *Khimiia v interesakh ustoichivogo razvitiia*, 2005, no. 13, pp. 1–30. (in Russ.).
2. Kislitsin A.N. *Khimiia drevesiny*, 1994, no. 3, pp. 3–28. (in Russ.).
3. Eckerman Ch., Ekman R. *Paperi ja Puu – Pap. och Tra.*, 1985, no. 3, pp. 100–106.
4. Patent 2206572 (RU). 2003. (in Russ.).
5. Patent 2192879 (RU). 2002. (in Russ.).
6. Patent 2138508 (RU). 1999. (in Russ.).
7. Patent 2184120 (RU). 2002. (in Russ.).
8. Patent 2172178 (RU). 2001. (in Russ.).
9. Patent 2131882 (RU). 1999. (in Russ.).
10. Patent 2340624 (RU). 2008. (in Russ.).
11. Kuznetsov B.N., Levdanskii V.A., Polezhaeva N.I. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2004, no. 2, pp. 21–24. (in Russ.).
12. Patent 2458934 (RU). 2012. (in Russ.).
13. Era V., Jaaskelainen P., Ukkonen K. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1981, vol. 58, pp. 20–23.
14. Odinkova L.E., Oshitok G.I., Denisenko V.A., Anufriev V.F., Tolkach A.M., Uvarova N.I. *Khimiia prirodnykh soedinenii*, 1984, no. 2, pp. 182–187. (in Russ.).
15. Sholichin, M., Yamasaki K., Kasai R., Tanaka O. *Chem. Pharm. Bull.*, 1980, vol. 28, no. 3, pp. 10006–10008.

Received February 22, 2013

* Corresponding author.

