

УДК: 54.05

ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ БЕТУЛИНА ИЗ КОРЫ БЕРЕЗЫ КИРГИЗСКОЙ *BETULA KIRGHISORUM*, ЭНДЕМИЧНОГО РАСТЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Жумабекова А.У.¹, Касенов Р.З.¹, Демец О.В.¹

¹КарГТУ - Карагандинский государственный технический университет, Казахстан, Караганда, e-mail: layana15@mail.ru

Данная работа посвящена выделению природного тритерпеноида – бетулина из березы киргизской (*Betula kirghisorum*), эндемичного растения флоры Казахстана. На территории Республики Казахстан произрастает 15 видов берез, в том числе 4 эндемичных вида. Береза киргизская представляет собой невысокое дерево с красноватой корой и рыхлой кроной. На территории Кентского лесничества Каркаралинского государственного национального природного парка был проведен сбор бересты березы киргизской. Бересту измельчали и сушили до постоянного веса. Из бересты березы киргизской методом экстракции с последующей перекристаллизацией из изопропилового спирта был выделен бетулин. Температура плавления выделенного вещества составляла 243 °С. Бетулин идентифицировали с помощью тонкослойной хроматографии и сравнивали со стандартным образцом. Вещество анализировали методами инфракрасной спектроскопии в таблетках КВг и высокоэффективной жидкостной хроматографии. В Фурье - спектрометре ФСМ – 1201 с помощью характеристических частот полос поглощения было определено наличие в молекуле различных групп атомов и связей, характерных для бетулина. ВЭЖХ исследование образца проводилось с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu LC – 20 Prominence. Подобраны условия для качественного и количественного определения бетулина

Ключевые слова: береза киргизская, береста, экстракция, изопропиловый спирт, фильтрат, тонкослойная хроматография, ИК – спектроскопия, ВЭЖХ

EFFECTIVE METHOD OF BETULIN EXTRACTION FROM KYRGYZ BIRCH BARK *BETULA KIRGHISORUM*, AN ENDEMIC PLANT OF REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

A. U. Zhumabekova¹, R.Z. Kasenov¹, O.V. Demets¹

¹KSTU - Karaganda State Technical University, Karaganda, Kazakhstan, e-mail: layana15@mail.ru

This article is devoted extraction of natural triterpenoid - betulin from birch bark of the Kyrgyz (*Betula kirghisorum*), an endemic plant of the flora of Kazakhstan. On the territory of the Republic of Kazakhstan there

are 15 species of birch trees, including 4 endemic species. This plant is a low tree with a reddish bark and a loose crown. On the territory of the Kent forestry of the Karkaraly state national natural park, Kyrgyz birch bark was collected. Birch bark was crushed and dried to constant weight. From birch bark of the Kyrgyz with extraction method followed by recrystallization from isopropyl alcohol was isolated betulin. The melting point of the isolated substance was 243 ° C. Betulin was identified by thin layer chromatography and compared with a standard sample. The substance was analyzed by infrared spectroscopy methods in KBr tablets and high performance liquid chromatography. In the Fourier spectrometer FSM - 1201, the characteristic frequencies of the absorption bands were used to determine the presence of various groups of atoms and bonds characteristic of betulin in the molecule. HPLC was used to study a sample using a Shimadzu LC - 20 Prominence liquid chromatograph. Selected conditions for the qualitative and quantitative determination of betulin.

Keywords: betulin, Kyrgyz birch, birch bark, extraction, isopropyl alcohol, filtrate, thin layer chromatography, Silufol plates, eluent, developer, IR spectroscopy, HPLC.

Введение

Бетулин (3 β , 28-гидрокси-20(29)-лупен) является тритерпеноидом лупанового ряда и является одним из основных компонентов, получаемых из коры березы.

В последнее время наблюдается неуклонно растущий интерес к бетулину и его производным, обусловленный широким спектром биологической активности этих соединений. Доказано, что бетулин и ряд его производных обладают антиоксидантными, противовоспалительными, противоопухолевыми, антивирусными, антисептическими, гепатопротекторными свойствами. Различные фармацевтические фирмы ближнего и дальнего зарубежья выпускают препараты на основе бетулина в виде экстрактов, драже, сиропов и капсул для профилактики и лечения различных заболеваний.

В связи с этим, целью настоящей работы является выделение бетулина из бересты эндемичного растения Казахстана березы киргизской для последующего синтеза его новых биологически активных производных

Материалы и методы

Из березы киргизской методом экстракции с последующей перекристаллизацией из изопропилового спирта был выделен бетулин. В качестве сырья использовали внешнюю часть коры березы (бересту) *Betula kirghisorum*. Бересту измельчали до частиц размером 5 – 8мм, сушили при 1000С до постоянного веса. Для эффективной очистки, был выбран метод выделения бетулина методом экстракции низшими алифатическими спиртами. Затем, проводили перекристаллизацию бетулина с помощью изопропилового спирта. Перекристаллизацию продукта проводили до получения белого аморфного вещества несколько раз.

Основная часть

Полученное вещество идентифицировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Silufol с использованием элюирующих систем: бензол: хлористый метилен: этиловый спирт = 5:5:1. Детектирование пятен осуществляли 10% раствором фосфорномолибденовой кислоты с последующим нагреванием пластины в течение 3 – 4 минут. Вещество сравнивали с образцом бетулина, предоставленного сотрудниками лаборатории органического синтеза Томского государственного университета. Хроматограмма показала, что образец и исследуемое вещество идентичны. Далее полученное нами вещество анализировали с помощью инфракрасной спектроскопии (ИК–спектроскопии) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Регистрацию ИК – спектров проводили на Фурье – спектрометре марки ФСМ – 1201, в диапазоне длин волн $500 - 4000 \text{ см}^{-1}$ в таблетках бромида калия (Рис. 1).

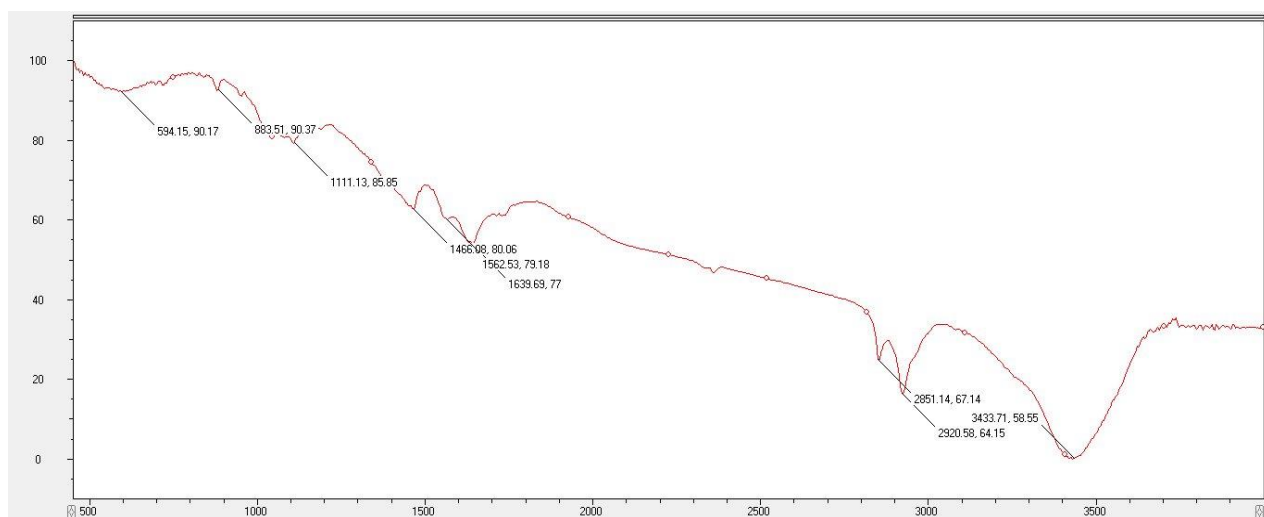


Рисунок 1. ИК – спектр образца вещества

Результаты

С помощью характеристических частот полос поглощения было определено наличие в молекуле различных групп атомов и связей, характерных для молекулы бетулина. Были идентифицированы полосы поглощения, характерные для следующих групп атомов: имеется широкая полоса поглощения, принадлежащая валентным колебаниям гидроксильных групп, при 3433 см^{-1} ; валентные колебания, характерные для C – H групп лупанового скелета, при 2920 и 2851 см^{-1} ; валентные колебания двойной связи C=C при 1639 см^{-1} ; деформационные колебания CH_2 групп наблюдаются при 1466 см^{-1} ; валентные колебания C – O группы наблюдаются при 1111 см^{-1} ; деформационные колебания CH_3 групп – при 883

см – 1. Сравнение ИК – спектра полученного образца с ИК – спектрами, приведенными в различных источниках, позволяет сделать заключение, что полученное нами вещество – бетулин.

ВЭЖХ исследование образца (Рис. 2) проводилось с помощью жидкостного хроматографа Shimadzu LC – 20 Prominence , колонка Zorbax размером 150*4,6 мм, спектрофотометрический детектор SPD 20 AV. Подвижной фазой являлась смесь растворителей: ацетонитрил – вода (3:1). Элюирование проводилось изократическое. Температура колонки – 40 0С. Объемная скорость потока – 0,8 мл/мин. Время анализа – 25 минут. Температура ячейки детектора – 40 0С.

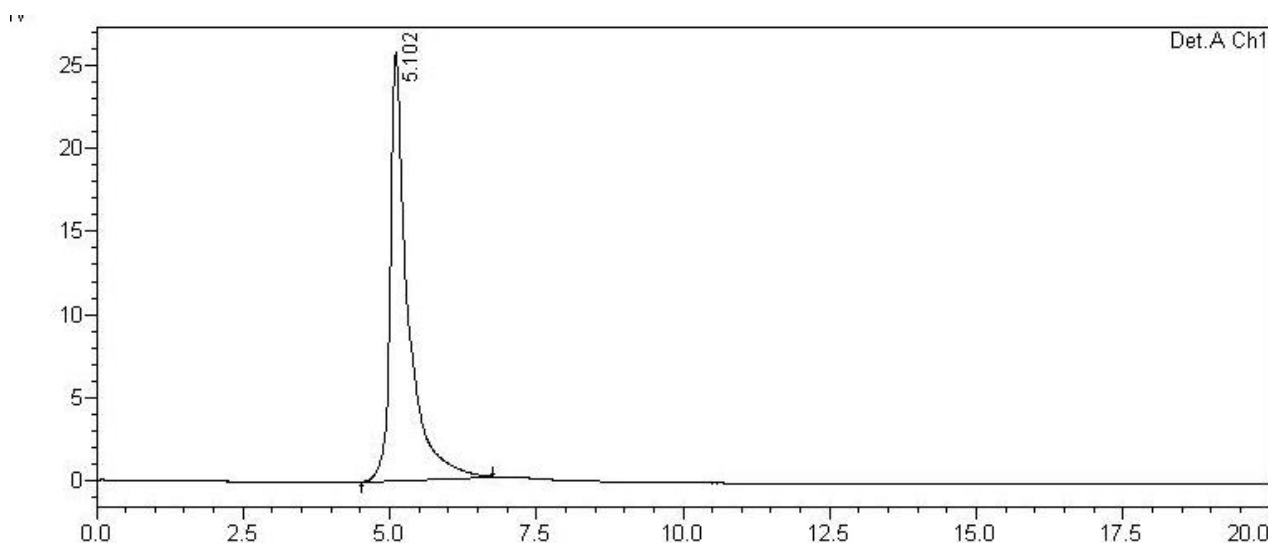


Рисунок 2. ВЭЖХ анализ вещества

Заключение

Результаты проведенного нами анализа позволяют сделать некоторые частные выводы, представляющие интерес для нашего исследования: эффективное выделение бетулина осуществлялось методом экстракции из изопропилового спирта, гидролизованного в водном растворе щелочи. Вещество несколько раз перекристаллизовывали для получения чистого бетулина, используя изопропиловый спирт. Бетулин идентифицировали методом ТСХ на пластинах Silufol и анализировали с использованием методов ИК-спектрокопии, ВЭЖХ. В качестве стандарта использовали образец, предоставленный учеными Томского государственного университета РФ. С помощью характеристических частот поглощения в спектрах ИК было определено наличие в соединении различных групп атомов и связей, характерных для молекулы бетулина. Методом ВЭЖХ проведены качественный и количественный анализ бетулина. Из березы киргизской данное вещество выделено впервые

Список литературы

- 1 Кислицын А.Н. Экстрактивные вещества бересты: выделение, состав, свойства, применение // Химия древесины. 1994. №3. С. 3 – 28.
- 2 Сайт Каркаралинского государственного национального природного парка// [ЭР]. — Режим доступа: <https://karkaralinsk-park.ru>.
- 3 Сайт Наурзумского государственного заповедника// [ЭР]. — Режим доступа: <https://www.old.unesco.kz>.
- 4 Толстикова Г. А. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность / Х Флехтер О.Б., Шульц Э.Э. и др.// Химия в интересах устойчивого развития. 2005. №13. С . 1 – 13.
- 5 Энциклопедия декоративных садовых растений // [ЭР]. — Режим доступа: <https://flower.onego.ru>.
- 6 Matsuda H. Hepatoprotective, superoxide scavenging and antioxidative activities of aromatic constituents from the bark of *Betula platyphylla* var. *japonica* / Ishikado A., Nishida N. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter. 1998. Vol. 8. Pp. 2939 – 2944.
- 7 Urban M. synthesis of A – Seco Derivatives of Betulinic Acid with Cytotoxic Activity // Journal of Natural Products. 2004/ vol. 67. Pp. 1100 – 1105.