С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің **Ғылым жаршысы**(пәнаралық) = **Вестник науки** Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный). – 2015. - №1 (84). – С.4-9

ГРУППОВОЙ СОСТАВ ТРИТЕРПЕНОИДОВ В КОРЕ БЕРЕЗЫ

Аймаков О.А.[1], Лежнева М.Ю.[2], Юрченко С.П.[3]
Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина (г. Астана)[1], Северо-Казахстанский государственный университет им. М.Козыбаева (г.Петропавловск)[2], Санкт-Петербургский государственный университет (г.Санкт-Петербург, Россия)[3]

Аннотация

В статье рассмотрены научные исследования в области химии тритерпеноидов, в частности, процессы выделения группы веществ из коры березы. Путем экстракции были получены бетулин, бетулиновая и бетулоновая кислота и др. В процессе экстракции в пределах 82,3-83,7% получен бетулин. Вышеназванные вещества являются биологически активными соединениями. Таким образом, даны технологические схемы экстракции, физико-химические характеристики веществ и спектры тритерпеноида-бетулина и некоторые его производные.

Ключевые слова: тритерпеноиды, бетулин, бетулиновая и бетулоновая кислоты, ИК-, ЯМР-спектроскопия.

Введение

Тритерпеноиды ряда лупана привлекают внимание исследователей широким спектром их медико-биологических свойств и технологической доступностью исходных природных веществ: бетулина, бетулиновой и бетулоновой кислот, бетулинового альдегида, β-ситостерина и суберина. К числу таких базовых соединений относятся тритерпеноиды (также стероиды), обладающие широким набором фармакологических свойств [1-3]. В литературе также известны разнообразные эфирные масла растений, которые представляют собой богатые смеси различных соединений (число компонентов достигает нескольких десятков, а чаще, более сотни), большую часть которых составляют терпеноиды и тритерпеноиды.

Биологические свойства тритерпеноидовлупанового ряда были известны еще в XIX веке. Так, в 1899 г. Вилер указывал на антисептические свойства бетулина, благодаря чему его стали применять для стерилизации ран и порезов в виде пластырей [4]. С тех пор ведутся многочисленные научные изыскания с целью

получения новых производных бетулина, обладающих той или иной биологической активностью.

В литературных источниках показаны такие биологические свойства терпеноидов, как противовоспалительное, болеутоляющее, антигель-минтное, антифунгальное, антимикробное, антивирусное [5], антигистаминное, противоревматическое, гипотензивное, противоартритное, противоопухолевое, диуретическое, седативное, отхаркивающее, спазмолитическое, холагенное, слабительное [6].

В патентах и научных публикациях, изданных в различных странах мира, предлагается использовать терпеновые соединения для создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов для лечения:бронхоэктазов [7], почечных и печеночных камней, вегетативных полиневритов, геморроев, холециститов и других заболеваний печени и желчного пузыря, для стимуляции роста волосяного покрова, атеросклероза, профилактики ревматических и аллергических заболеваний, онкологических заболеваний [8] и другие.

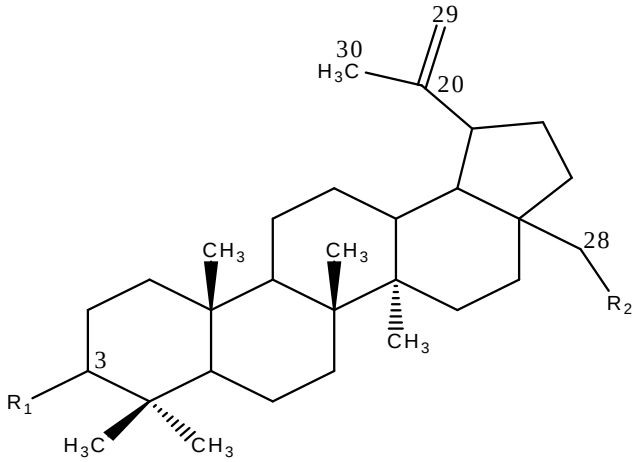
Также имеются сведения о получении целой серии амидов бетулиновой кислоты с биогенными аминокислотами [9], амидов бетулоновой кислоты с эфирами аминокислот, алифатическими и гетероциклическими аминами [10-12]. На основе бетулоновой кислоты синтезированы моно- и дипептиды, обнаружившие ценную биологическую активность [13]. К тому же, имеется описание синтеза амидов бетулиновой кислоты, модифицированных введением функциональных групп молекулы бетулина[14].

Материалы исследования

Для исследований использовалась кора березы белой, произрастающая в северной части Казахстана.

Кора березы содержит ряд ценных природных соединений, такие как бетулин, бетулиновая и бетулоновая кислоты, суберин и другие. Наиболее востребованным компонентом коры березы является биологически активный бетулин, также бетулиновая и бетулоновая кислоты, бетулиновый альдегид.

Ниже приведены структурные формулы тритерпеноидов: бетулина (1), бетулиновый альдегид (2), бетулоновый альдегид (3), бетулиновая кислота (4), бетулоновая кислота (5), 3-ацето-бетулиновый альдегид (6).



R_1,R_2 =OH (1); R_1=OH, R_2=COH (2); R_1= C=O, R_2=COH(3); R_1=OH, R_2=COOH(4);

R_1= C=O, R_2=COOH(5); R_1=AcO, R_2=COH(6)

Рисунок 1 – Структурные формулы тритерпеноидов

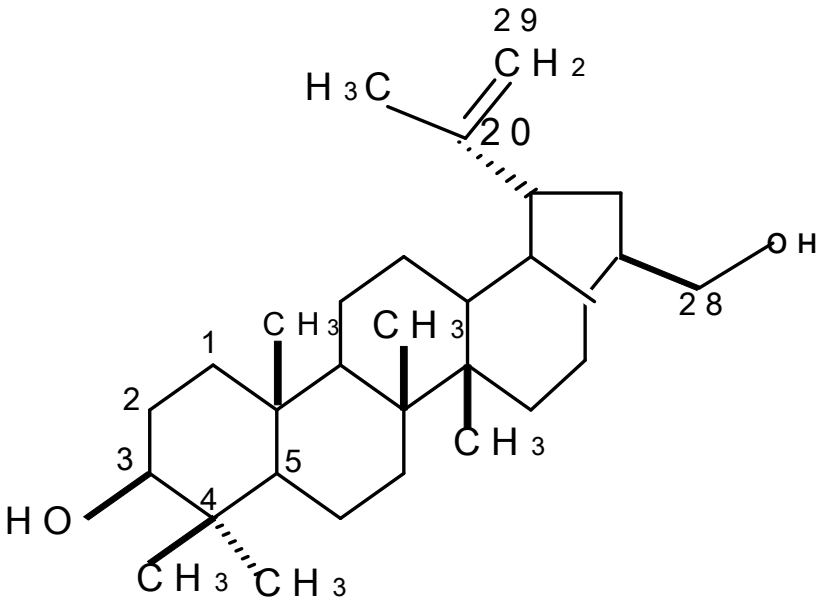


Рисунок 2 – Структурная формула бетулина

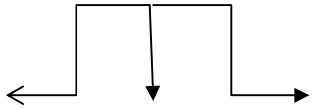
Наиболее богата экстрактивными веществами внешняя часть коры березы (до 40% (BetulaverrucosaEhrh.; BetulapendulaRoth.).

Схема извлечения тритерпеноидов приведена ниже (выделение кислой фракции из суммы тритерпеноидов березы белой пушистой):

Кора березы (кора измельченная)

↓

Обработка 5%-ным
спиртовым раствором NaOH (24 часа)
Тритерпеноидная фракция



Нерастворимые части осадок
(нейтральная фракция) раствор (кислая фракция +
нейтральная фракция)

В экстракте присутствуют также липиды ~ 3,6%, ß-ситостерин ~ 3,5%, лупеол~ 5,2%, бетулин~ 82,5%. Смесь бетулиновой и олеановой кислот в сумме составляет около 4,1%.

Результаты исследований

Сбор материала проведен на территории Северного Казахстана. Образцы для исследований были собраны в середине июля 2013-2014 гг. Размеры измельченной коры березы 0,5-1,0 мм.

Экстракция проводилась в реакционной колбе (объем 0,5-0,7 л), оснащенной воздушным холодильником, при нагревании. Измельченную кору березы в растворе н-бутанола нагревали в течение трех часов при температуре 110-115^{0}С. После этого экстракт оставляли на 15 часов, т.е. продолжительность экстракции составляла 18 часов. Далее в процессе фильтрования выделена экстрактивная фракция, которая в дальнейшем подвергнута извлечению отдельных компонентов.

Продукт экстракции очищали колоночной хроматографией (сорбент - силикагель марки L 40/100). В качестве элюента использовали н-бутанол, хлороформ в различных соотношениях. После отгонки растворителя было выделеномасло коричневого цвета, которое по данным тонкослойной хроматографии, содержала сумму экстрактивных веществ.

Полученное масло подвергалось дальнейшей очистке колоночной хроматографией и при этом были получены отдельные фракции тритерпеноидов. С использованием 98%-ного этанола проводилась кристаллизация и перекристаллизация полученных веществ.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) проводилась на пластинке «SilufolUV254» в системах н-бутанол-хлороформ (2:1), н-бутанол-диэтиловый эфир (2:4). ТСХ проведена по стандартной методике [15, 16].

Состав и структуру полученного бетулина и его производного исследовали методом ИК- и ЯМР-спектроскопии (спектрометр UR – 20 и спектрометр марки Brucker (400 МГц)WM 400 соответственно). Ниже приводятся спектры ИК и ЯМР полученных соединений:

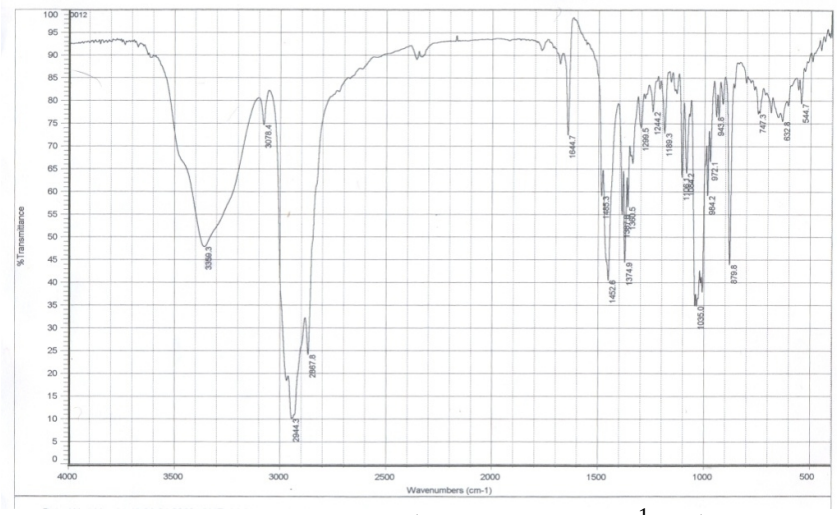


Рисунок 3 – ИК- спектр бетулина **(**ν, см$^{-1}$ табл. KBr**)**

ИК-спектр бетулина характеризуется присутствием полос поглощения в области 3350-3410 см $^{-1}$, характерных для –ОН групп, 1620-1640 см $^{-1}$ (двойная связь С=С) и другие.

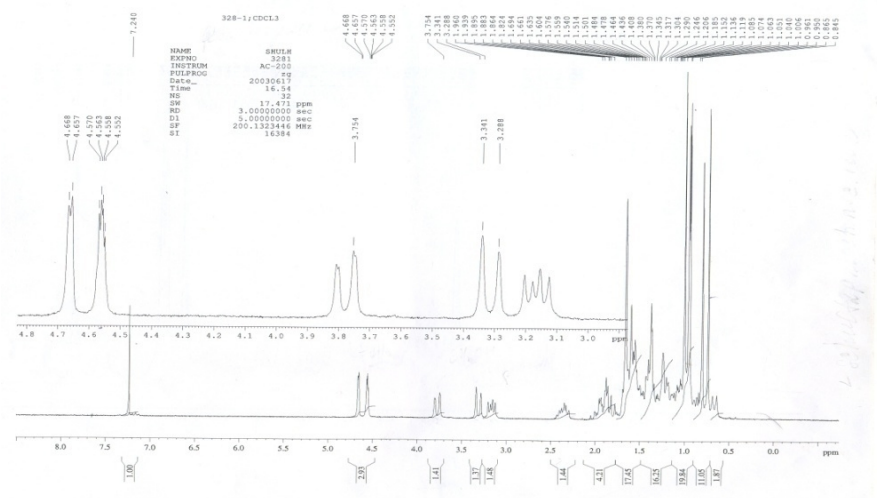


Рисунок 4 – ^{1}Н ЯМР - спектр бетулина ($CDCl_3$)

ЯМР-спектр (протонные) для бетулина, в области до 2 м.д. находятся сигналы протонов лупанового скелета, где выделяются сигналы протонов шести метильных групп в структуре бетулина (пять синглетов в области до 1 м.д. и синглет при 1.65 м.д., соответствующий сигналу протонов метильной группы при двойной связи). В области более слабых полей находятся сигналы протонов терминальной олефиновой группы (4.56 и 4.66 м.д.), протона при С3 атома углерода (дублет дублетов при 3.17 м.д.), а также протонов при С28 атомов углерода (пара дублетов при 3.31 и 3.78 м.д. с КССВ 10Гц).

Выводы

Кора березы содержит ранообразные экстрактивные вещества, обладающие биологической активностью и представляющие поетнциальный интерес для получения новых продуктов и фармакологических препаратов.

Известно, что тритерпеноиды и их различные производные производные являются эффективными противовоспалительными, противовирусными, противоопухолевыми препаратами при низкой токсичности. Также эти соединения могут быть ключевыми мономерами для конструирования различных полициклических и гетероциклических систем. Это даст возможность получать новые биологически активные вещества и модифицировать структуру природных соединений. Исходя из этих данных можно утвердительно сказать, что полученные на основе тритерпеноидов новые модифицированные их производные могут проявлять широкий спектр биологической активности.

Таким образом, на основе возобновляемого растительного сырья нами разрабатываются методики выделения групповых составов тритерпеноидов и их химические модификации с получением новых полифункциональных производных тритерпеноидных соединений, которые обладают физиологической активностью и являются перспективными в создании лекарственных средств с противоопухолевой и противовирусной активностью.

Использованная литература

1. Флехтер О.Б., Ашавина О.Ю., Бореко Е.И., Карачурина Л.Т. и др. Хим.-фарм.журнал – 2002. Т.36, №6. С. 21-24.
2. Нигматуллина Л.Р. Автореферат дис. канд.хим.наук, Уфа, 2002, 24с.
3. Baltina L.A., Flekhter O.B., Nigmatullin L.R. et al. Bioorg.Med.Chem.Lett., 2002, 13, p.3549.
4. Флехтер О., Нигматуллина Л.Р., Карачурина Л.Т. и др. Хим.-фармацевт.журн., 2000, 34, с.17.
5. Simonsen J.L., Ross W.C.J. The Triterpenes, vol.4, Univ. Press, Cambrige, 1957, pp. 287-367.
6. Бромштейн А.Л., Лобанова Л.В., Векслер Т.Б. Тезисы докл. совещ. «Лесохимия и органический синтез», Сыктывкар, 1994, с.34.
7. Hayek E.W.H., Jordis U., Moche W., Sauter F. Phytochemistry, 1989, 28, p.2229.
8. CintaPinzaru S., Leopold N., Kieper W. Talanta, 2002, 57, p.625.
9. Sun I.C., Shen J.K. Wang et.al., Ibid., 1998, 8, p.1267.
10. Pakdel H., Murwanashyuka M., Roy C. J.Wood Chem. Techology, 2002, 22, p.147.

11. Lee K.H., Kashiwada Y., Hasimoto F., Cosentino L.M., Monak M. US Patent 5679828 1997.
12. Медведева Н.И., Флехтер О.Б., Балтина Л.А. и др. В сб.: Тез.докл. конф. «Актуальные проблемы органической химии», Екатеринбург, 2001, с.179.
13. Флехтер О.Б., Карачурина Л.Т., Поройков В.В. и др. Биоорганическая химия , 2000, 26, с.215.
14. Петренко Н.И., Шульц Э.Э., Толстиков Г.А. Химия природ.соединений, спец. выпуск , 1999, с.22.
15. Кейтц М. Техника липидологии. М., 1975, с.322
16. Ахрем А.А., Кузнецова А.И. Тонкослойная хроматография. М.: Наука, 1964.

Түйін

Табиғатта кездесетін әртүрлі өсімдіктердің құрамында сан-алуан күрделі табиғи органикалық қосылыстар, олар биологиялық белсенді қасиеттер көрсететін қосылыстар болып табылады. Зерттеу жұмыстарында көрсетілгендей қайын қабығының құрамында да топтық құрамды бірнеше күрделі табиғи органикалық заттар бар екендігі анықталды. Әсіресе күрделі органикалық қосылыстар қатарына үштерпенді қосылыстар және олардың биологиялық белсенді заттар қатарына жататындығы дәлелденген.

Бұл қосылыстардың физико-химиялық сипаттамалары және құрылысы экстракциялау, спектрлік әдістерді қолдану арқылы талданғандығы жан-жақты көрсетілген. Қайын қабығының құрамына кіретін топтасқан үштерпендоидты қосылыстарды экстракциялау әдісімен бөлу жұмыстары қарастырылған және бөлінген кейбір осы топтағы қосылыстардың физико-химиялық қасиеттеріне талдау жасалынған.

Summary

The composition of different types of plants comprises various complex organic substances. These organic substances are biologically active natural compounds.For the purpose of extraction of these separate natural substances different methods are used such as extraction, chromatography and other.
In our research the object example was the isolation of complex substances from the birch bark by way of extraction. And extractive substances were purified that is there were established group compositions containing in birch bark. With the help of IR-, NMR-spectroscopy structures of these substance groups were established.Further on we plan to continue many-sided research of physical and chemical properties of received new derivatives of triterpenoids.