



Скурыдина Евгения Сергеевна

**ОДНОСТАДИЙНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПОЛУЧЕНИЯ
ПРОИЗВОДНЫХ БЕТУЛИНА ИЗ БЕРЕСТЫ БЕРЕЗЫ
И ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА**

1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Красноярск – 2025

Работа выполнена в Институте химии и химической технологии Сибирского отделения Российской академии наук – обособленном подразделении федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»

Научный руководитель: **Кузнецова Светлана Алексеевна**

доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Исаева Елена Владимировна**

доктор технических наук, профессор, профессор кафедры химической технологии древесины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнёва»

Ломовский Игорь Олегович

кандидат химических наук, старший научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего лабораторией физико-химии полимерных композитных материалов ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет»

Защита диссертации состоится «06» июня 2025 г. в 14:30 на заседании диссертационного совета 24.1.228.04, созданного на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50, стр. 24, конференц-зал ИХХТ СО РАН (e-mail: dissovet@icct.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке, на сайтах ФИЦ КНЦ СО РАН и ИХХТ СО РАН <http://icct.ru/about/dissovet/dissertatsii-i-obyavleniya-o-zashchite/>.

Автореферат разослан «____» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.1.228.04,

доктор химических наук

Бурмакина Галина Вениаминовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Древесина березы широко используется в качестве сырья в деревообрабатывающей промышленности. Многотоннажным отходом ее переработки является кора, значительная часть которой вывозится в отвалы или сжигается. Одним из перспективных направлений утилизации отходов коры березы является ее экстрактивная переработка с получением ценных химических веществ. В экстрактах бересты различных видов берез присутствуют биологически активные пентациклические тритерпеноиды ряда лупана, среди которых преобладает пентациклический тритерпеновый спирт – бетулин (луп-20(29)-ен-3 β ,28-диол), обладающий широким спектром биологической активности. Путем химической модификации бетулина получают его производные с новыми или улучшенными фармакологическими свойствами: антиоксидантными, противовирусными, гепатопротекторными, капилляроурепляющими и др. Известные способы получения производных бетулина являются многостадийными и основаны на предварительном выделении бетулина из бересты берёзы. Процессы извлечения бетулина из бересты трудоемки и энергозатратны вследствие плохой растворимости бетулина в большинстве доступных и нетоксичных растворителях. Эти факторы обуславливают актуальность разработки новых малостадийных процессов получения биологически активных производных бетулина. Высокое содержание в бересте березы бетулина (до 45 % от массы абсолютно сухой бересты) открывает широкие перспективы для разработки одностадийных процессов получения производных бетулина непосредственно из бересты березы, исключая стадию выделения бетулина.

Цель работы. Разработка, экспериментальная и математическая оптимизация новых одностадийных процессов получения производных бетулина из бересты березы, изучение их физико-химических и антиоксидантных свойств.

Для достижения данной цели решались следующие **задачи**:

1. Разработать новые одностадийные процессы синтеза диацилов бетулина, установить влияние условий активации бересты берёзы и ацилирования уксусной и пропионовой кислотами на выход диацетата и дипропионата бетулина.
2. Разработать новый одностадийный процесс получения аллобетулина, исследовать влияние условий проведения реакции кислотной изомеризации бетулина, содержащегося в бересте берёзы, на выход аллобетулина.
3. Разработать новые одностадийные процессы получения 3-О-лактата аллобетулина из бересты берёзы и бетулина, основанные на совмещении стадий изомеризации бетулина и этерификации аллобетулина.
4. Определить оптимальные условия проведения одностадийного процесса получения бетулоновой кислоты окислением бетулина бересты берёзы реактивом Джонса.

5. Изучить физико-химические свойства и антиоксидантную активность производных бетулина, полученных из бересты берёзы с использованием новых одностадийных процессов.

Научная новизна. Впервые разработаны одностадийные процессы получения диацетата и дипропионата бетулина, аллобетулина и 3-О-лактата аллобетулина из бересты берёзы. Установлена связь условий активации бересты «паровым взрывом» с выходом диацетата и дипропионата бетулина.

Впервые осуществлена экспериментальная оптимизация процессов получения диацетата и дипропионата бетулина и аллобетулина и математическая оптимизация бетулоновой кислоты из бересты берёзы с целью увеличения их выхода.

Впервые методами элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии определены состав и строение 3-О-лактата аллобетулина, полученного из бетулина и бересты берёзы.

Практическая значимость. Предложенные новые методы получения биологически активных веществ из бересты берёзы: аллобетулина, 3-О-лактата аллобетулина, бетулоновой кислоты и диацильных производных бетулина могут быть использованы при разработке биологически активных добавок, фармакологических препаратов для медицины и ветеринарии.

Методология и методы исследования. Разработаны и оптимизированы новые одностадийные процессы получения производных бетулина из бересты берёзы. Состав и строение полученных химических продуктов установлены физико-химическими (ИК- и ЯМР-спектроскопия, хромато-масс-спектрометрия, элементный анализ) и химическими методами.

Положения, выносимые на защиту:

1. Экспериментальная оптимизация новых одностадийных процессов получения диацетата бетулина и дипропионата бетулина из бересты берёзы.
2. Экспериментальная оптимизация новых одностадийных процессов получения аллобетулина из бересты берёзы.
3. Новые методы синтеза 3-О-лактата бетулина из бетулина и бересты и его физико-химические характеристики.
4. Экспериментальная и математическая оптимизация одностадийного процесса получения бетулоновой кислоты из бересты берёзы.
5. Физико-химические характеристики и антиоксидантная активность производных бетулина, полученных из бересты берёзы с использованием новых одностадийных процессов.

Степень достоверности результатов. Сформулированные в диссертации научные положения и выводы обоснованы экспериментальными данными, полученными в работе с применением современных физико-химических методов, и не противоречат известным положениям физической химии. Достоверность полученных данных подтверждается использованием взаимно дополняющих современных физико-химических методов

исследования. Применяемые методики изучения биологической активности являются общепринятыми в фармакологической практике.

Апробация работы. Основные результаты работы представлялись на IX Международной Российско-Казахстанской научно-практической конференции «Химические технологии функциональных материалов», г. Новосибирск, 2023; VI Международной конференции «Фундаментальные основы механохимических технологий», г. Новосибирск, 2022; XI Международной научно-практической конференции «Химия – XXI век: новые технологии, новые продукты», г. Кемерово, 2008; Международной конференции «Техническая химия. От теории к практике», Пермь, 2008.

Работа выполнена в соответствии с планами НИР ИХХТ СО РАН:

– проект FWES-2021-0017 (номер регистрации в ЕГИСУ 121031500180-8) «Физико-химические основы новых экологически безопасных и ресурсосберегающих методов направленной трансформации возобновляемых растительных полимеров (целлюлозы, лигнина, гемицеллюлоз) в востребованные функциональные полимеры, нанокompозитные материалы и ценные химические продукты»;

– грант №18G135 Красноярского краевого фонда науки.

Личный вклад автора. Все эксперименты, обработка и анализ результатов, подготовка и оформление публикаций выполнены лично или при непосредственном участии автора.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 8 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, получено 2 патента РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 95 страницах, включает 34 рисунка, 14 таблиц, список литературы из 164 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулирована цель исследований, отражена научная новизна и практическая значимость результатов, перечислены основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения об апробации материалов диссертации.

В первой главе (обзор литературы) представлены литературные данные по химическому составу внешней коры и экстрактивных веществ бересты берёзы, описаны методы выделения экстрактивных веществ, современные способы получения бетулина и его физико-химические свойства. Представлен обзор синтетических трансформаций бетулина с получением его производных. Описаны области применения бетулина и его производных. По результатам анализа литературных данных сформулированы цели и задачи исследований, решаемые в диссертационной работе.

Во второй главе (экспериментальная часть) описаны исходные материалы, методы и методики, используемые в экспериментальной работе.

В качестве исходного сырья для получения диацилов бетулина, аллобетулина, 3-О-лактата аллобетулина и бетулоновой кислоты использовали измельченную бересту березы повислой (*Betula pendula Roth.*). Химический состав исходной бересты (% от массы а.с.б.): бетулин 44,6; суберин 20,2; лигнин 18,1; целлюлоза 1,5; зола общая 0,3; водорастворимые вещества 0,4.

Получение диацетата и дипропионата бетулина проводили обработкой исходной и активированной бересты берёзы кипящей уксусной или пропионовой кислотами. Активацию бересты проводили путем ее кратковременной обработки перегретым водяным паром с последующим резким сбросом давления - «паровым взрывом» при температуре 180 °С, давлении 3,4 МПа и продолжительности от 120 до 240 с. Продолжительность процесса ацилирования исходной бересты варьировала от 0,5 до 18 ч. Продолжительность процесса ацилирования активированной бересты варьировали от 0,5 до 8 ч. Полученные продукты ацилирования перекристаллизовывали из этанола.

Аллобетулин получали обработкой бересты берёзы кипящим этанолом в присутствии катализатора H_3PO_4 . Содержание H_3PO_4 в растворе варьировали от 1 до 5 %, продолжительность процесса от 2 до 15 ч. Полученный аллобетулин-сырец перекристаллизовывали из изопропанола.

3-О-лактат аллобетулина получали обработкой бетулина или бересты смесью молочной кислоты и толуола в присутствии катализатора 5 % H_2SO_4 при температуре 125 °С в течение 18 ч. Полученный продукт перекристаллизовывали последовательно из этанола и ацетона.

Бетулоновую кислоту получали обработкой бересты реактивом Джонсона (смесь CrO_3 , H_2SO_4 и ацетона) при температуре 20 °С и продолжительности 3,5 ч. Полученный продукт перекристаллизовывали из метанола. Математическую оптимизацию процесса получения бетулоновой кислоты из бересты березы проводили с использованием полного факторного эксперимента типа 3^2 и пакета программ Statgraphics Centurion XVI, блок DOE, процедура Multi-Factor Categorical.

Элементный анализ проводили с использованием элементного анализатора Flash EATM –1112 (Thermo Quest Italia).

Температуру плавления веществ определяли на приборе Electrothermal A9100 (Electrothermal Engineering Ltd.).

Хроматографический анализ (ГХ-МС) выделенных продуктов проводили с использованием газового хроматографа Agilent Technologies 7890A GC System с масс-детектором Agilent Technologies 7000A GC/MS Triple Quad.

ИК-спектроскопические исследования выполнялись с использованием ИК-Фурье спектрометра Shimadzu IR Tracer 100.

Спектры ЯМР регистрировали с использованием спектрометра Bruker Avance III 600 МГц в CD_3OD , 0 – ТМС.

Морфологию бересты берёзы определяли с помощью сканирующего электронного микроскопа ТМ-1000 (Hitachi, Япония).

Антиоксидантную активность диацетата бетулина и аллобетулина изучали на белых крысах в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

В третьей главе изложены и обсуждены результаты исследований по разработке новых оптимизированных одностадийных процессов получения из бересты берёзы производных бетулина и по определению состава и строения полученных соединений с использованием физико-химических методов анализа.

Получение диацетата и дипропионата бетулина из бересты берёзы и определение их физико-химических характеристик

Разработаны новые методы получения диацетата и дипропионата бетулина, основанные на ацилировании бересты берёзы кипящей уксусной или пропионовой кислотами (рис.1), установлено влияние условий ацилирования на выход и состав получаемых продуктов.

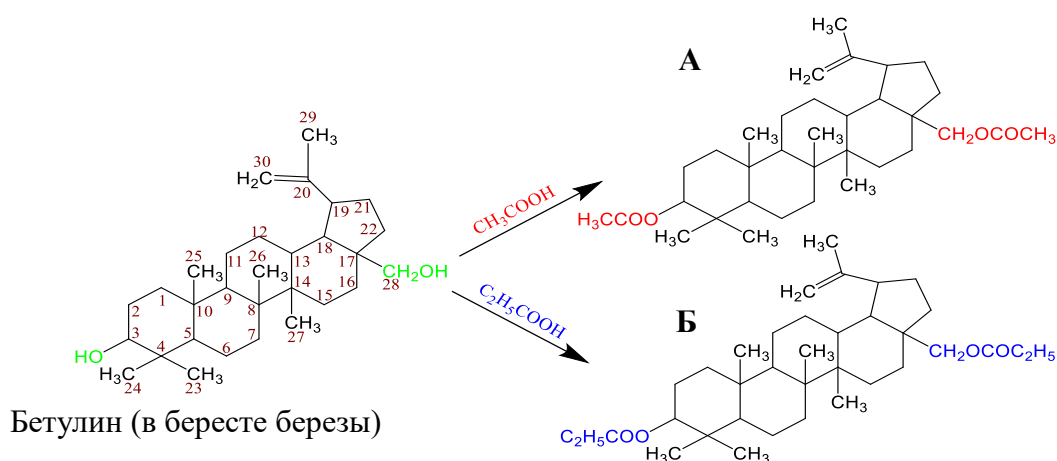


Рисунок 1 – Схема получения диацетата (А) и дипропионата (Б) бетулина из бересты берёзы

Методом хромато-масс-спектрометрии установлено, что в процессе обработки бересты «ледяной» уксусной кислотой, в основном образуются диацетат бетулина (ДАБ), а также в небольших количествах бетулин, лупеол и ацетат лупеола (рис.2).

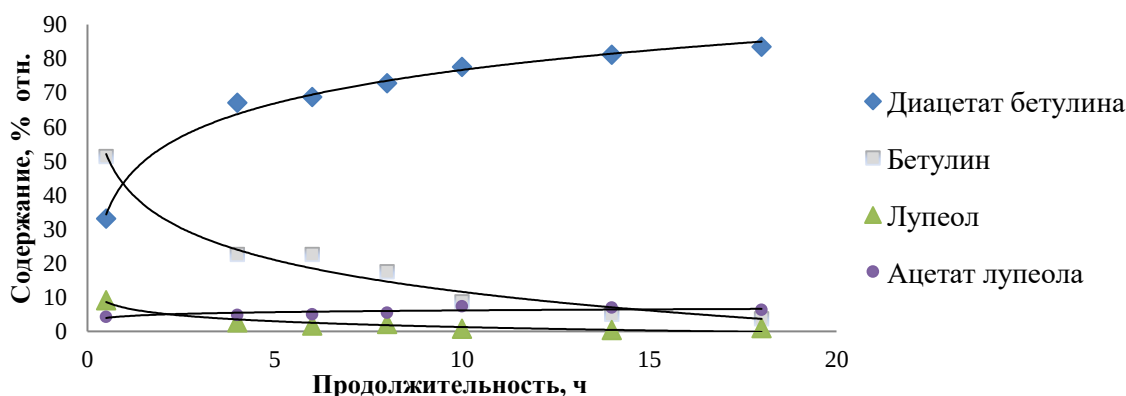


Рисунок 2 – Влияние продолжительности ацетилирования бересты кипящей уксусной кислотой на состав и относительное содержание выделенных продуктов

С увеличением продолжительности обработки бересты уксусной кислотой с 0,5 до 18 часов выход ДАБ возрастает с 33 до 84 % от массы продукта.

Изучено влияние условий активации бересты «паровым взрывом» на выход продуктов ацетилирования. Береста, активированная в условиях «парового взрыва», имеет разрыхленную структуру (рис. 3Б), что облегчает транспорт реагентов в бересту и диффузию в раствор продуктов реакции. Это позволяет сократить продолжительность процессов ацилирования.

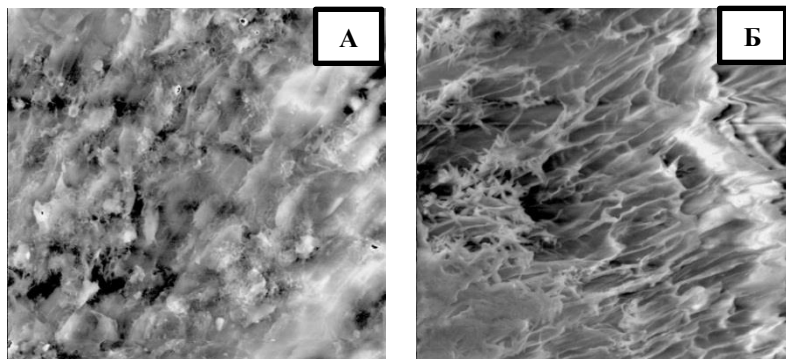


Рисунок 3 – СЭМ-изображения исходной (А) и активированной «паровым взрывом» (Б) бересты берёзы

На основании данных элементного анализа образца диацетата бетулина найдено, %: (С) 78,06; (Н) 10,2; (О) 11,9. Вычислено, %: (С) 77,6; (Н) 10,3; (О) 12,2. Состав и строение перекристаллизованного диацетата бетулина (3 β ,28-диацетокси-луп 20 (29)-ен), C₃₄H₅₄O₄ подтверждены методами ИК- и ПМР-спектроскопии (рис. 4).

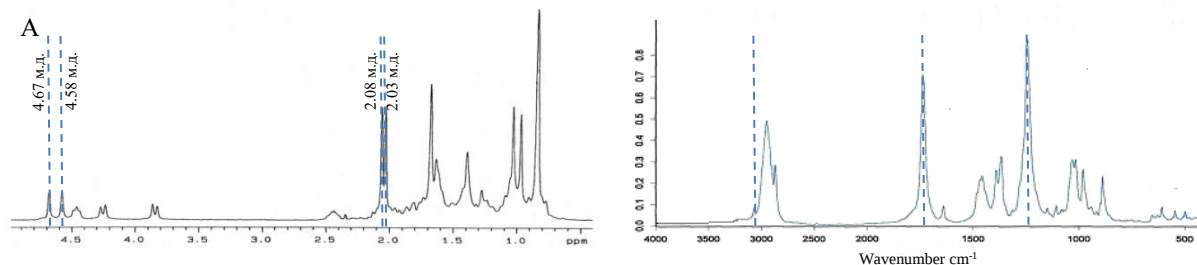


Рисунок 4 – ¹H-ЯМР-спектр (А) и ИК-спектр (Б) диацетата бетулина

Отсутствие полос поглощения в ИК-спектре ДАБ в области 3400–3450 см⁻¹ указывает на полное замещение гидроксильных групп в молекуле бетулина на ацетильные группы. В ИК-спектре ДАБ присутствуют валентные колебания =CH₂ группы при 3070,9 см⁻¹, колебания карбонильной С=О группы обнаруживаются, как интенсивная полоса при 1739,93 см⁻¹. Также наблюдаются валентные колебания эфирной группировки С-О-С в виде полосы поглощения при 1246,14 см⁻¹.

В спектре ¹H ЯМР диацетата бетулина присутствуют два синглетных пика в области 4.58 и 4.67 м.д., принадлежащие химическому сдвигу протонов =CH₂ группы, что свидетельствует о присутствии концевой двойной связи в молекуле. Также в ¹H ЯМР спектре диацетата бетулина имеются сигналы протонов при 2.08 и 2.03 м.д., которые указывают на образование эфирной связи.

Основными продуктами, выделенными при ацилировании бересты берёзы кипящей пропионовой кислотой являются дипропионат бетулина (ДПБ) и монопропионат бетулина (МПБ) (рис. 5).

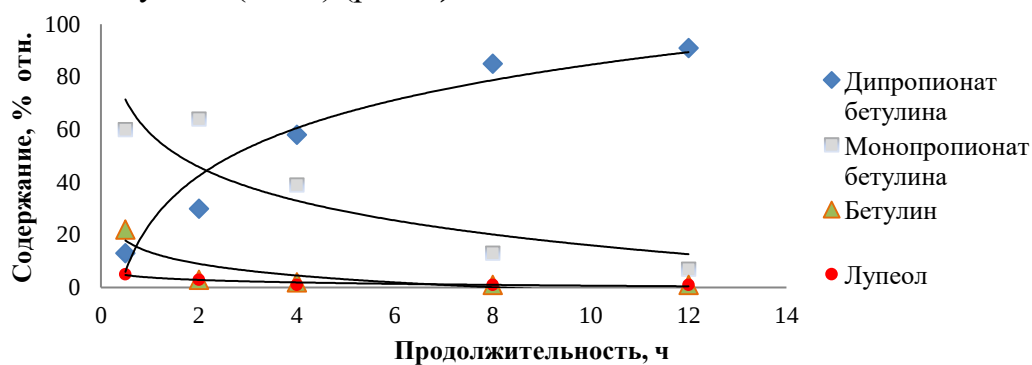


Рисунок 5 – Влияние продолжительности ацилирования бересты кипящей пропионовой кислотой на состав и относительное содержание выделенных продуктов

Реакция этерификации бетулина, содержащегося в исходной бересте, пропионовой кислотой осуществляется в две стадии: первая – образование МПБ путем присоединения кислотного остатка к первичному атому С-28; вторая – этерификация гидроксильной группы при С-3 с образованием ДПБ (рис. 6). При продолжительности ацилирования два часа и менее в качестве основного продукта образуется МПБ.

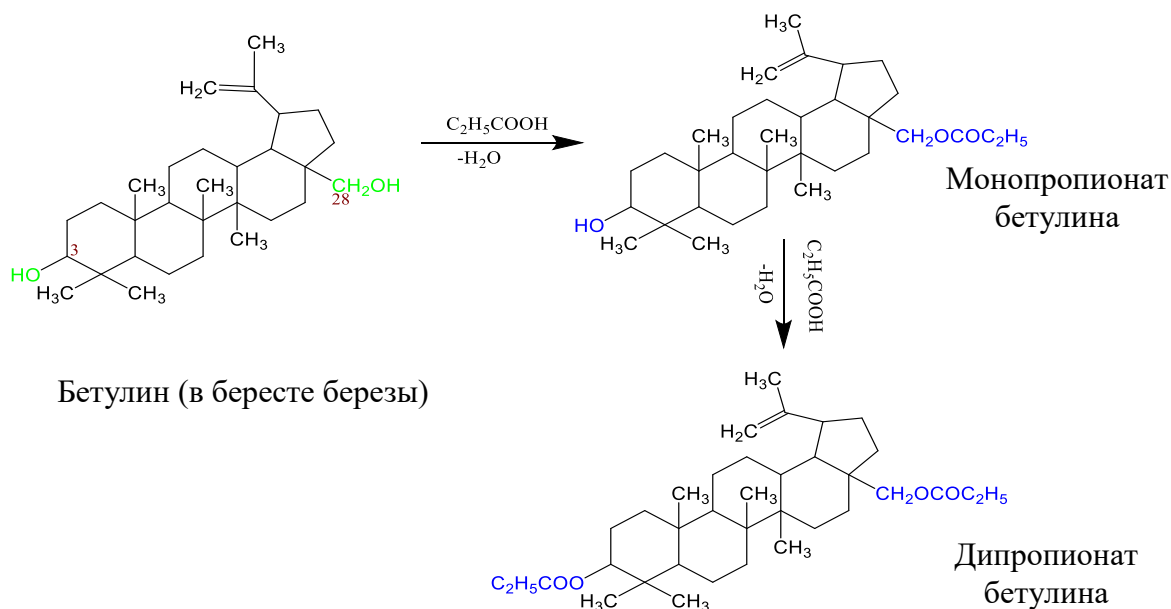


Рисунок 6 – Схема получения дипропионата бетулина из бересты берёзы

С увеличением продолжительности ацилирования бересты до 12 часов выход ДПБ достигает 91 % от массы выделенных продуктов, а выход МПБ снижается до 7 мас.%, бетулина до 1 мас.%, лупеола до 1 мас. %.

Изучение влияния предварительной активации бересты «паровым взрывом» и ее ацилирования пропионовой кислотой на выход и состав выделенных продуктов показало, что наиболее высокое содержание ДПБ в выделенных продуктах (85 %) достигается при продолжительности ацилирования активированной бересты 8 ч, в этих условиях бетулин полностью превращается в ацильные производные.

После перекристаллизации из этанола (с углем марки ОУ-А) полученный ДБП представляет собой светло-желтый кристаллический порошок и имеет температуру плавления 149-152 °С.

На основании данных элементного анализа перекристаллизованного дипропионата бетулина найдено, %: (С) 80, (Н) 10, (О) 10. Вычислено, %: (С) 78, (Н) 11, (О) 11. Состав и строение перекристаллизованного дипропионата бетулина подтверждены методами ИК- и ^1H -ЯМР-спектроскопии (3 β -,28-дипропиокси-луп-20(29)-ен-1), $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_4$. (рис.7).

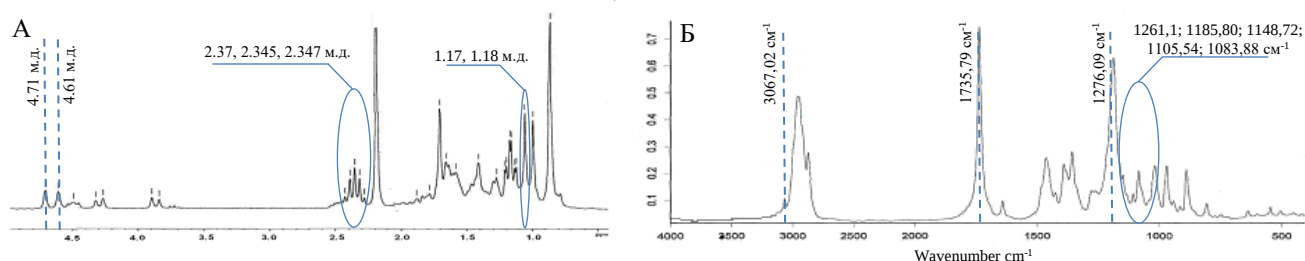


Рисунок 7 – ^1H -ЯМР-спектр (А) и ИК-спектр (Б) дипропионата бетулина

Отсутствие полос поглощения в ИК-спектре ДПБ в области 3400–3450 cm^{-1} указывает на полное замещение гидроксильных групп в молекуле бетулина на ацильные группы. В ИК-спектре ДПБ присутствуют валентные колебания $=\text{CH}_2$ группы при 3067,02 cm^{-1} . Также в ИК-спектре ДПБ присутствуют колебания карбонильной $\text{C}=\text{O}$ группы в виде интенсивной полосы поглощения при 1735,79 cm^{-1} . Наблюдаются валентные колебания эфирной группировки $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ в ДПБ в виде полос поглощения при 1276,09; 1261,10; 1185,80; 1148,72; 1105,54; 1083,88 cm^{-1} .

В отличие от бетулина в спектре ^1H -ЯМР дипропионата бетулина имеются сигналы, которые по химическим сдвигам, константам спин-спинового расщепления относятся к двум пропионильным группам: 2.37(CH_2), 2.345, 2.347(CH_2), 1.17 и 1.18 (2CH_3). Также в спектре ^1H -ЯМР ДПБ присутствуют два синглетных пика в области 4.61 и 4.71 м.д., принадлежащие химическому сдвигу протонов $=\text{CH}_2$ группы, что свидетельствует о присутствии концевой двойной связи в молекуле.

Спектр ^{13}C -ЯМР дипропионата бетулина имеет 36 сигналов, что соответствует брутто-формуле $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_4$. В отличие от бетулина дипропионат бетулина имеет 6 дополнительных сигналов пропионильных групп: 174.92 и 174.30 мд (две карбонильные группы $\text{C}31$, $\text{C}34$), 28.08 и 27.74 (две метиленовые, $\text{C}32$ и $\text{C}35$), 9.35 и 9.24 (две метильные группы $\text{C}33$ и $\text{C}36$). Остальные сигналы спектра дипропионата бетулина близки к сигналам спектра диацетата бетулина. Это указывает, что остов бетулина остался не затронутым в ходе реакции.

Получение аллобетулина и 3-О-лактата аллобетулина из бересты березы и определение их физико-химических характеристик

Разработан новый метод получения аллобетулина из бересты березы, основанный на её обработке кипящим этанолом в присутствии катализатора H_3PO_4 , который способствует изомеризации содержащегося в бересте бетулина в аллобетулин (рис. 8).

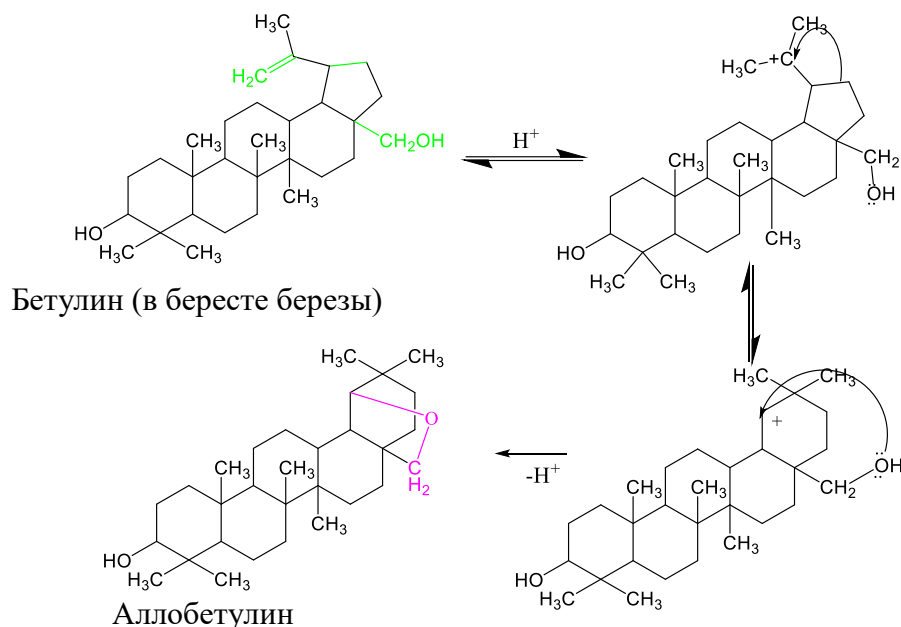


Рисунок 8 – Схема получения аллобетулина из бетулина, содержащегося в бересте берёзы

Изучено влияние продолжительности процесса обработки бересты этанолом (от 2 до 15 часов) и содержания катализатора H_3PO_4 (1, 2, 3 и 5 %) на выход аллобетулина-сырца. Показано, что наиболее высокий выход неочищенного аллобетулина-сырца из бересты (35 % от массы а.с.б.) достигается при следующих условиях: содержание H_3PO_4 5 %, продолжительность процесса 8 часов.

После перекристаллизации из изопропанола аллобетулин представляет собой белый кристаллический порошок и имеет температуру плавления 261 °С. Состав и строение перекристаллизованного аллобетулина (19,28-эпокси-олеанан-3-ол), $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ подтверждены методами ИК- и ^1H ЯМР-спектроскопии (табл.1).

Таблица 1 – Отнесение полос в спектрах аллобетулина

Вещество	ИК-спектр (ν , см^{-1})	^1H ЯМР-спектр
Перекристаллизованный аллобетулин	3429 (О-Н), 2937, 2868 (С-Н), 1451, 1386 (С-СН ₃), 1076 (С-О-С)	3.85 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H, 28-H), 3.58 (s, 1H, 19-H), 3.51 (d, $J=8\text{Hz}$, 1H, 28-H), 3.29 (m, 1H, 3-H), 1.00-1.77 (комплекс СН ₂ , СН), 0.99, 0.97, 0.90, 0.85, 0.82 (все синглеты, 21H, СН ₃)

В ИК-спектре перекристаллизованного аллобетулина, в отличие от спектра бетулина, отсутствует полосы поглощения С-Н (1643 см^{-1}) и С=С (3072 см^{-1}) групп соответствующие валентным колебаниям в изопропенильном фрагменте. Наличие полосы поглощения при 1076 см^{-1} указывает на присутствие С-О-С группы, что свидетельствует об образовании аллобетулина.

В ^1H ЯМР-спектре бетулина имеются сигналы двух протонов концевой двойной связи (4.71 и 4.59 м.д.), характерной для всех его производных, имеющих изопропенильную группу. В ^1H ЯМР-спектре аллобетулина сигналы указанных выше протонов отсутствуют, что свидетельствует о полном превращении бетулина в

аллобетулин.

Выход перекристаллизованного из изопропанола аллобетулина составляет около 22 % от массы абсолютно сухой бересты.

Разработаны новые методы получения 3-О-лактата аллобетулина из бересты березы и бетулина. При обработке бересты березы или бетулина кипящей смесью молочной кислоты и толуола в присутствии кислотного катализатора 5 % H_2SO_4 происходит изомеризация бетулина в аллобетулин и взаимодействие последнего с молочной кислотой с получением 3-О-лактата аллобетулина (рис. 9).

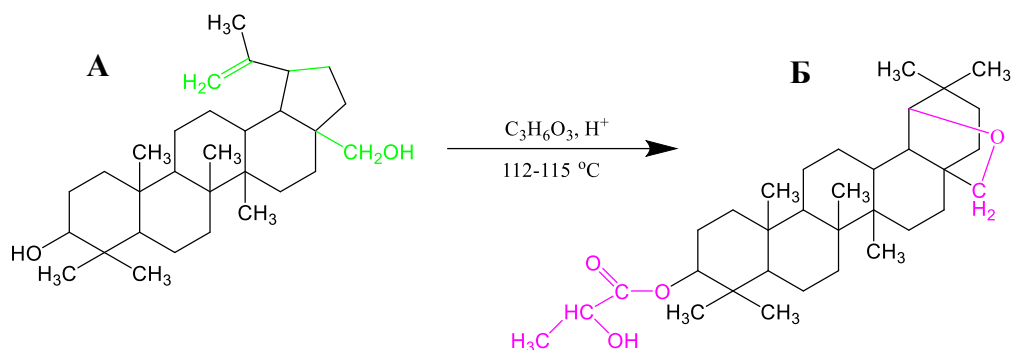


Рисунок 9 – Схема получения 3-О-лактата аллобетулина (Б) из бетулина (А)

После последовательной перекристаллизации из этанола и ацетона полученный 3-О-лактат аллобетулина представляет собой светло-желтые кристаллы с температурой плавления 225-226 °С. Выход перекристаллизованного 3-О-лактата аллобетулина, полученного из бетулина составил 77 % мас., а из бересты березы 12 % от массы а.с.б. (~ 32 % мас. от содержащегося в ней бетулина).

На основании данных элементного анализа перекристаллизованного 3-О-лактата аллобетулина ($\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_4$) найдено, %: (С) 76,53; (Н) 10,78; (О) 12,69. Вычислено, %: (С) 77,04; (Н) 10,51; (О) 12,45.

Образцы 3-О-лактата аллобетулина были охарактеризованы методами ИК- (рис. 10), ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии (рис.11). Результаты отнесения полос поглощения в ИК-спектрах образцов 3-О-лактата аллобетулина и исходного бетулина приведены в таблице 2 и на рисунке 10.

В ИК-спектре образца 3-О-лактата аллобетулина присутствуют полосы поглощения при 1132, 1257, 1099, 908, 892, 873, 767 cm^{-1} подтверждающие образование эфирной связи.

В ^1H ЯМР спектре образца 3-О-лактата аллобетулина, в отличие от бетулина, отсутствуют два синглетных пика в области 4.58 и 4.68 м.д., принадлежащие протонам группы $=\text{CH}_2$, и два дуплетных сигнала при 3.32 и 3.79 м.д., относящиеся к протонам $-\text{CH}_2$ связи при атоме С-28. При этом в спектре присутствуют дополнительные сигналы при 4.38 и 4.27 м.д., характерные для протонов в группах $-\text{CH}$, имеющих связь с группой $\text{C}(=\text{O})\text{O}$, что подтверждает образование эфирной связи между аллобетулином и молочной кислотой.

Таблица 2 – Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах образцов перекристаллизованного 3-О-лактата аллобетулина и бетулина

3-О-лактат аллобетулина	Бетулин	Отнесение полос поглощения
$\nu, \text{см}^{-1}$		
-	3072	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C-H})$ в изопрופןильном фрагменте
-	1643	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C=C})$ в изопрופןильном фрагменте
-	880	Внеплоскостные деформационные колебания $\delta(\text{C-H})$ в изопрופןильном фрагменте
1036*	1036	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C-O})$ в первичных спиртах, а также валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C-O-C})$ в сложных эфирах первичных спиртов
1740	-	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C=O})$ в сложноэфирной группировке
1132	-	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C-O-C})$ в простой эфирной группировке
767, 873, 1099, 1257	-	Антисимметричные и симметричные валентные колебания кольца в циклических эфирах или эпоксисоединениях
908, 892	-	Валентные колебания $\bar{\nu}(\text{C}_{\text{п}}\text{C-O})$ в простой эфирной группировке

* по сравнению с бетулином интенсивность полосы поглощения $\bar{\nu}(\text{C-O})$ для 3-О-лактата аллобетулина возрастает почти в 2 раза

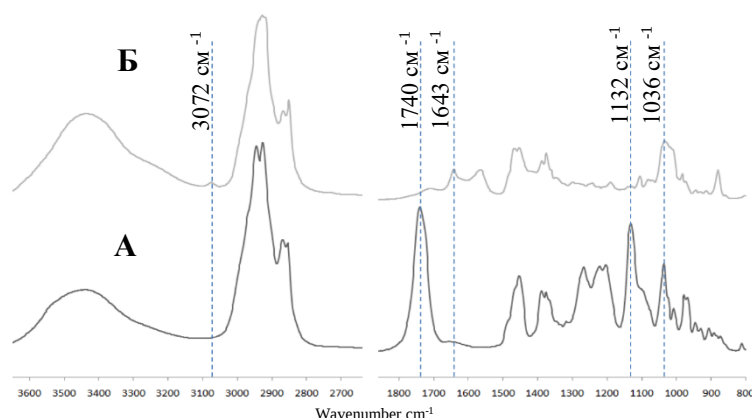


Рисунок 10 – ИК-спектры образцов полученного 3-О-лактата аллобетулина (А) и исходного бетулина (Б)

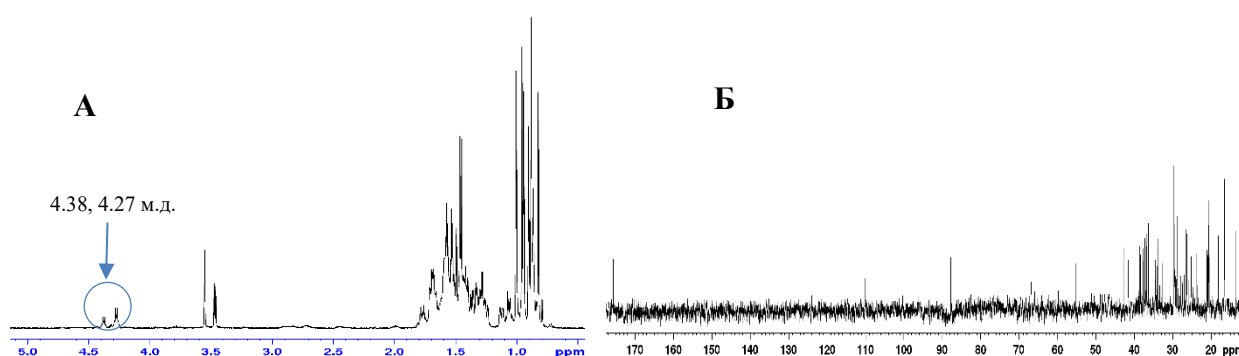


Рисунок 11 – ^1H (А) и ^{13}C (Б) ЯМР спектры 3-О-лактата аллобетулина

Спектр ^{13}C ЯМР образца 3-О-лактата аллобетулина имеет 33 сигнала, что соответствует брутто-формуле $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{O}_4$ (рис. 11Б). В отличие от спектра бетулина в спектре ^{13}C ЯМР 3-О-лактата аллобетулина наблюдается сдвиг сигналов атома С-3 в слабое поле с 78.2–78.8 м.д. в 82.64 м.д. соответственно, что подтверждает образование сложноэфирной связи при атоме С-3. Также в спектре 3-О-лактата аллобетулина происходит сдвиг сигналов атома С-28 с 58.5–58.8 м.д. в 87.96 м.д., что указывает на образование эфирной связи С–О–С и присутствует сигнал при 175,63 м.д.,

соответствующий группе С=О лактата. Остальные сигналы спектра ^{13}C ЯМР 3-О-лактата аллобетулина близки к сигналам спектра бетулина. Это указывает на то, что основной остов бетулина не затронут в ходе реакции.

Получение бетулоновой кислоты из бересты березы, её физико-химические характеристики и математическая оптимизация процесса

Бетулоновая кислота (БК) получена обработкой бересты березы реактивом Джонса (смесь CrO_3 , H_2SO_4 и ацетона) при температуре 20°C (рис. 12).

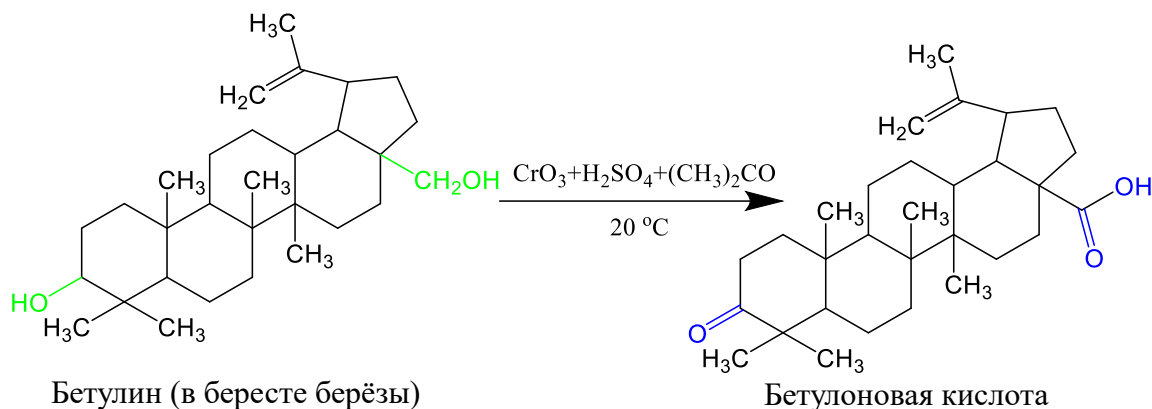


Рисунок 12 – Схема получения бетулоновой кислоты из бересты берёзы с использованием реактива Джонса

Изучено влияние гидромодуля (соотношение ацетон: береста) и продолжительности процесса на выход БК. Продолжительность процесса варьировали от 1,5 до 3,5 ч, гидромодуль от 12 до 16. Зависимость выхода бетулоновой кислоты от времени в интервале 1,5-2,5 ч, независимо от гидромодуля, имеет практически линейный характер, а после 2,5 ч выходит на плато (рис. 13). При гидромодулях 10 и 12 выход бетулоновой кислоты (через 3,5 ч) составляет 12,3 и 13,3 мас.% соответственно. Увеличение гидромодуля приводит к увеличению выхода бетулоновой кислоты, но при этом для гидромодуля 14 и 16 наблюдаются сопоставимые значения выхода: 15,0-15,5 мас. % после 3-3,5 ч реакции.

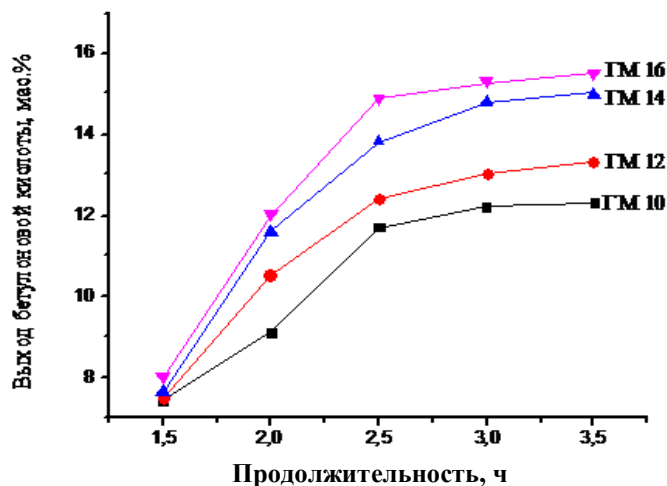


Рисунок 13 – Зависимость выхода БК от гидромодуля и продолжительности обработки бересты березы реактивом Джонса при 20°C

На основании экспериментальных результатов проведена математическая оптимизация процесса. В качестве наиболее значимых переменных факторов взяты продолжительность (X_1) и гидромодуль (X_2). Выходной параметр оптимизации – выход бетулоновой кислоты (Y).

В результате математической обработки результатов получено уравнение регрессии, адекватно описывающие данную модель с доверительной вероятностью 98,2%:

$$Y = -19,1583 + 13,225X_1 + 1,30208X_2 - 2,55X_1^2 + 0,2125X_1X_2 - 0,05X_2^2 \quad (1)$$

Поверхность отклика, соответствующая уравнению (1) изображена на рисунке 14. Прогнозируемый выход БК (≥ 15 мас. %) при её получении из бересты, в изученной области факторного пространства, достигается в интервале значений ГМ 14,3 – 16,0 и продолжительности 2,7 – 3,5 ч. (темно-зеленая область на рис.14).

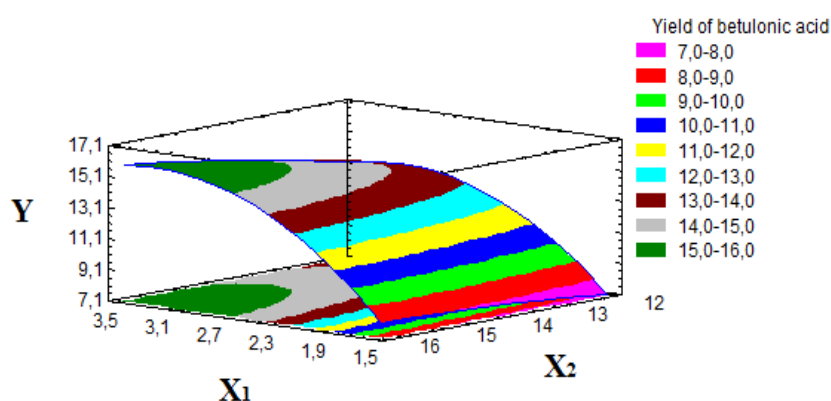


Рисунок 14 –
Поверхность отклика
выходного параметра -
выхода бетулоновой
кислоты (Y) от
переменных факторов
процесса:
продолжительности (X_1) и
гидромодуля (X_2)

Рассчитанная точка оптимума, в которой выход БК равен 15,9 мас. % соответствует следующим значениям: гидромодуль – 15, продолжительность – 3,5 ч.

Температура плавления БК, полученной в оптимальных условиях составляет 245-248 °С. Состав бетулоновой кислоты подтвержден элементным анализом. Найдено, %: (C) 79.51; (H) 9.73; (O) 10.31. Вычислено, %: C 79.30; H 10.13; O 10.57.

Строение БК полученной из бересты березы подтверждено методами ИК- и ЯМР-спектроскопии (рис.15). В ИК-спектре бетулоновой кислоты (рис.15А), в отличие от спектра бетулина, отсутствует полоса поглощения спиртового гидроксила в области 3500 см^{-1} . В области 1688 и 1704 см^{-1} присутствуют плохо разрешимые полосы поглощения карбоксильной и кетонной группы. В области 3000-2800 см^{-1} присутствует широкая полоса, соответствующая колебаниям -ОН карбоксильной группы.

В ^1H ЯМР спектре бетулоновой кислоты (рис.15Б) в интервале 0.97-1.72 м.д. наблюдаются шесть синглетов, соответствующих метильным протонам. Наличие сигналов двух протонов концевой двойной связи (4.51 и 4.64 м.д.) свидетельствует об устойчивости двойной связи изопропенового фрагмента к окислению в выбранных условиях. В области 3.39 м.д. присутствует сигнал метинового протона при C19, а в области 3.75-3.85 м.д. отсутствует сигнал протона при C3, характерный для бетулина.

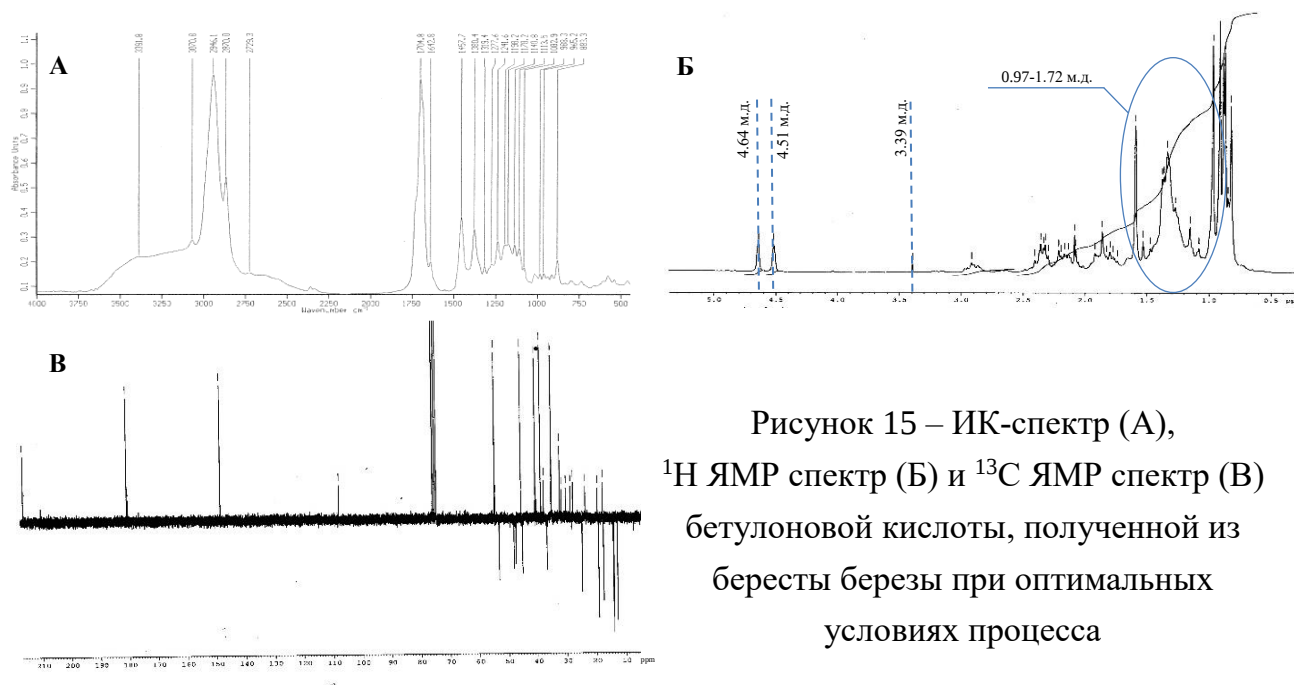


Рисунок 15 – ИК-спектр (А),
¹Н ЯМР спектр (Б) и ¹³С ЯМР спектр (В)
 бетулоновой кислоты, полученной из
 бересты березы при оптимальных
 условиях процесса

В спектре ¹³С ЯМР бетулоновой кислоты наблюдается сигнал атома углерода С3-оксогруппы в области 219.4 м.д. и сигнал атома углерода С28 карбоксильной группы в области 178.5 м.д. (рис.15В). Доказательством того, что при превращении бетулина в бетулоновую кислоту двойная связь в изопреновом фрагменте остается в неизменном виде, служит наличие с ¹³С ЯМР спектре бетулоновой кислоты сигналов ¹³С (δ м.д.): 150.5 (С20), 108.6 (С29), 19.3 (С30), что соответствует литературным данным.

Антиоксидантная активность диацетата бетулина и аллобетулина

В экспериментах *in vivo* и *in vitro* были изучены антиоксидантные свойства диацетата бетулина и аллобетулина, проявляющиеся в их влиянии на количество малонового диальдегида (МДА), на активность ферментов каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) в печени и эритроцитах белых крыс, подвергнутых физической нагрузке.

Полученные данные свидетельствуют о том, что систематическое введение ДАБ или аллобетулина при физической нагрузке приводило к понижению интенсивности перекисного окисления липидов в организме белых крыс. Под влиянием ДАБ или аллобетулина в исследованных образцах по сравнению со стрессовой группой существенно уменьшался уровень МДА, повышалась активность СОД и каталазы. Наблюдаемый эффект можно объяснить антиоксидантной активностью диацетата бетулина и аллобетулина.

Результаты экспериментов *in vivo* и *in vitro* показывают, что диацетат бетулина, аллобетулин и коммерческий препарат дигидрокверцитин обладают примерно одинаковой антиоксидантной активностью.

ВЫВОДЫ

1. Впервые получены диацетат бетулина и дипропионат бетулина из бересты берёзы с использованием новых одностадийных процессов, основанных на ацилировании содержащегося в бересте бетулина уксусной и пропионовой кислотами. Экспериментальными методами установлены оптимальные режимы одностадийных оригинальных способов получения диацилов бетулина. Установлено, что кратковременная активация бересты перегретым водяным паром позволяет сократить продолжительность процессов ацилирования до 16 раз. Чистота полученных диацилов бетулина после перекристаллизации из этанола составляет 93-95 % мас. Состав и строение перекристаллизованных диацетата и дипропионата бетулина подтверждены методами элементного анализа, хромато-масс-спектрометрии, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

2. Впервые получен аллобетулин из бересты берёзы с использованием нового одностадийного процесса, основанного на кислотной изомеризации содержащегося в бересте бетулина в аллобетулин в среде этанола в присутствии ортофосфорной кислоты. Экспериментальными методами установлены оптимальные режимы получения аллобетулина из бересты берёзы. Показано, что в присутствии 5 % кислотного катализатора - ортофосфорной кислоты, при продолжительности процесса 8 часов и после перекристаллизации из изопропанола получен аллобетулин с выходом ~22 % от массы абсолютно сухой бересты. Состав и строение перекристаллизованного аллобетулина подтверждены методами элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

3. Разработаны новые одностадийные процессы получения 3-О-лактата бетулина из бетулина и бересты берёзы, основанные на совмещении стадий кислотной изомеризации бетулина в аллобетулин и реакцией аллобетулина с молочной кислотой в присутствии катализатора - серной кислоты. Выход перекристаллизованного 3-О-лактата аллобетулина составил 77 % от массы бетулина, а из бересты 12 % от массы абсолютно сухой бересты при следующих условиях процесса: температура 112-115 °С, продолжительность 8 часов, концентрация H_2SO_4 5 %, последовательная перекристаллизация из этанола и ацетона. Впервые методами элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии определены состав и строение перекристаллизованного 3-О-лактата аллобетулина.

4. Впервые осуществлена экспериментальная и математическая оптимизация одностадийного процесса получения бетулоновой кислоты, основанного на окислении бересты берёзы реактивом Джонса в среде ацетона. При оптимальных условиях процесса выход перекристаллизованной бетулоновой кислоты составил 44,8 % от массы содержащегося в бересте берёзы бетулина. Состав и строение перекристаллизованной

бетулоновой кислоты подтверждены методами элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

5. Экспериментами *in vivo* и *in vitro* доказаны антиоксидантные свойства диацетата бетулина и аллобетулина, полученных из бересты коры берёзы. Установлено, что антиоксидантная активность диацетата бетулина и аллобетулина сопоставима с активностью коммерческого препарата дигидрокверцетина.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Скурыдина Е.С.**, Кузнецова С.А., Новикова С.А., Шахтшнейдер Т.П., Кузнецов Б.Н. Новые способы получения 3-О-лактата аллобетулина и его физико-химические свойства // Химия растительного сырья. – 2023. – № 4. – С. 367-274.

2. **Скурыдина Е.С.**, Васильева Н.Ю., Кузнецова С.А., Титова Н.М., Кузнецов Б.Н. Разработка одностадийного способа получения аллобетулина из бересты коры берёзы и изучение его антиоксидантной активности // Химия растительного сырья. – 2023. – № 3. – С. 243-252.

3. Левданский В.А., Гарынцева Н.В., Левданский А.В., **Скурыдина Е.С.** Математическая оптимизация процесса получения бетулоновой кислоты из бересты коры *Betula Pendula Roth*. // Журнал СФУ. Химия. – 2023. – Т. 16 (2). – С. 255-265.

4. Kuznetsova S.A., Kuznetsov B.N., Malyar Yu.N., **Skurydina E.S.**, G.P. Skvortsova, Pen R.Z., Chesnokov N.V., Khanchich O.A. Optimization of the Production Process of Biologically-Active Betulin Diacetate from Raw and Activated Birch Bark // Theoretical Foundation of Chemical Engineering. – 2018. – V. 52. – N. 4. – P. 664-669.

5. Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., **Скурыдина Е.С.**, Маляр Ю.Н., Ханчич О.А. Влияние условий ацилирования пропионовой кислотой бересты коры берёзы и её активации на выход и состав экстрактов // Журнал СФУ. Химия. – 2011. – Т.4 (3). – С. 248-256.

6. Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Скворцова Г.П., **Скурыдина Е.С.**, Калачева Г.С. Влияние условий ацетилирования и предварительной обработки бересты коры берёзы на выход и состав тритерпеновых продуктов // Журнал СФУ. Химия. – 2010. – Т. 3 (2). – С. 174-182.

7. Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., Скворцова Г.П., Васильева Н.Ю., **Скурыдина Е.С.**, Калачева Г.С. Разработка способов получения диацилов бетулина из коры берёзы // Химия в интересах устойчивого развития. – 2010. – Т.18 (3). – С. 313-320.

8. Кузнецова С.А., Васильева Н.Ю., Калачева Г.С., Титова Н.М., **Редькина Е.С. (Скурыдина Е.С.)**, Скворцова Г.П. Получение диацетата бетулина из бересты коры берёзы и изучение его антиоксидантной активности // Журнал СФУ. Химия. – 2008. – Т.1(2). – С. 151-165.

Патенты

9. Патент № 2415148 Российская Федерация, МПК C07J 53/00 (2006.01). Способ получения дипропионата бетулинола : № 2009121826/04 : заявл. 08.06.2009 : опубл. 27.03.2011 / Кузнецова С.А., **Скурыдина Е.С.**, Кузнецов Б.Н., Скворцова Г.П. – 8 с.

10. Патент № 2324700 Российская Федерация, МПК C07J 53/00 (2006.01), 63/00 (2006.01). Способ получения диацетата бетулинола : № 2007101115/04 : заявл. 09.01.2007 : опубл. 20.05.2008 / Кузнецова С.А., Кузнецов Б.Н., **Редькина Е.С. (Скурыдина Е.С.)**, Соколенко В.А., Скворцова Г.П. – 4 с.

Материалы конференций

11. Skurydina E.S., Kuznetsova S.A., Kuznetsov B.N. Synthesis of diacyles of betulin from activated birch bark // VI International Conference «Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies», 21-24 ноября, 2022 г., г. Новосибирск, Россия, 2022. – С. 155.

12. Кузнецова С.А., Редькина Е.С. (Скурыдина Е.С.), Васильева Н.Ю., Скворцова Г.П. Новый способ получения диацетата бетулина из бересты коры берёзы и изучение его антиоксидантной активности//XI Международная научно-практическая конференция «Химия – XXI век: новые технологии, новые продукты», 22-25 апреля 2008 г., г. Кемерово, 2008. – С. 307-309.

13. Кузнецова С.А., Редькина Е.С. (Скурыдина Е.С.), Васильева Н.Ю., Скворцова Г.П. Совершенствование способов получения биологически активных диацилов бетулина из бересты берёзы // Международная конференция «Техническая химия от теории к практике» том 1, 8-12 сентября 2008 г., г. Пермь., 2008. – С. 253-257.

14. Левданский В.А., Кузнецова С.А., Левданский А.В., Редькина Е.С. (Скурыдина Е.С.), Скворцова Г.П., Кузнецов Б.Н. Совершенствование способов синтеза аллобетулина и диацетата бетулина // Международная конференция «Техническая химия от теории к практике» том 1, 8-12 сентября 2008 г., г. Пермь., 2008. – С. 273-277.

Автор выражает благодарность научному руководителю доктору химических наук, ведущему научному сотруднику ИХХТ СО Кузнецовой Светлане Алексеевне, руководителю научного направления ФИЦ КНЦ СО РАН, доктору химических наук, профессору Кузнецову Борису Николаевичу за поддержку, важные замечания и ценные советы по выполнению работы; коллегам лаборатории химии природного органического сырья ИХХТ СО РАН и сотрудникам Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН за проведение совместных физико-химических исследований и обсуждение результатов работы.