

М. Ю. ЛЕЖНЕВА, А. Д. КОЖАНОВА

ОПТИМИЗИРОВАННАЯ МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ ОКИСЛЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕТУЛИНА

Северо-Казахстанский государственный университет им. М. Козыбаева,
Петропавловск, Казахстан, e-mail: mlezhneva_@mail.ru

Аннотация. Разработан новый способ получения окисленных производных бетулина реакцией окисления тритерпенового спирта азотной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты. Изучены различные условия проведения данной реакции окисления с варьированием температурного режима и различных мольных соотношений исходных реагентов. Строение полученного соединения установлено на основании ИК спектроскопии, спектроскопии ^1H -ЯМР, ^{13}C -ЯМР.

Ключевые слова: окисление, бетулин, окисленные производные бетулина, бетулон, бетулоновая кислота, ИК спектроскопия, спектроскопия ^1H -ЯМР, ^{13}C -ЯМР.

Важнейшим направлением современной медицинской химии является получение синтетических трансформаций растительных соединений. В качестве исходных метаболитов предпочтительнее используются те, о биологических свойствах которых имеется достоверная информация. Одним из таких соединений является тритерпеновый спирт – бетулин, биологическая активность которого подтверждена в результате многолетних исследований, как российских так и зарубежных научных центров [1]. Вполне возможно использование в практической медицине как самих терпеновых соединений, так и их производных, обладающих очень малой токсичностью, а именно окисленных трансформаций, которые интересны с точки зрения изучения их биологической активности и разработки новых оптимальных методик их получения [2-5].

Показано, что некоторое количество окисленных производных бетулина содержится в бересте березы [6], но выделение их нерентабельно из-за низкого содержания, что также является доказательством перспективности синтеза окисленных производных из бетулина.

В качестве окислителя нами была использована азотная кислота, о действии которой на молекулу бетулина литературные данные отсутствуют.

Экспериментальная часть

Контроль хода реакций осуществляли методом ТСХ на пластинках «Silyfol» с использованием растворителя хлороформ. ИК-спектры записывали на приборе ИК-Фурье-спектрометр ФСМ-1201 в КВг, спектры ЯМР – на приборе Bruker Avancen (400 МГц). Растворители очищали и сушили по стандартным методикам.

Окисление бетулина азотной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты. В трехгорлую колбу, снабженную мешалкой, обратным холодильником и капельной воронкой, загружали 1,1 г (0,0025 моль) бетулина и

64 мл ледяной уксусной кислоты. Нагревали смесь до полного растворения бетулина ($t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$). Для удаления нерастворимых примесей отфильтровали горячий раствор с помощью складчатого фильтра. В течение 5 минут добавляли 6 мл 54 %-ной (0,0325 моль) азотной кислоты при постоянном перемешивании. Оставляли при комнатной температуре ($t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$) на 12 часов. Добавляли 30 мл дистиллированной воды, при этом наблюдали образование осадка. Полученные продукты промывали дистиллированной водой до нейтральной среды по универсальному индикатору. Сушили продукты. Отделяли полученный окисленный продукт от диацетата бетулина методом дробной перекристаллизации из этанола. Строение полученного соединения устанавливали методами ИК-, ^1H -ЯМР- и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии.

С целью увеличения выхода окисленного производного варьировали соотношение исходных реагентов (таблица 1).

Таблица 1 – Расчет синтеза окисления бетулина азотной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты

Исх. Вещества	Опыт	Масса веществ в г по методике	Кол-во вещ-ва по уравнению реакции	Кол-во вещества по методике	Избыток в молях	Хроматографический контроль реакции
Бетулин		1,1	1 моль	0,0025 моль	–	
Азотная кислота	1	3,80 (3 мл)	1 моль	0,0325 моль	0,0300	2 соединения с неполной конверсией бетулина
	2	7,60 (6 мл)		0,0650 моль	0,0625	2 соединения с полной конверсией бетулина
	3	11,40 (9 мл)		0,0975 моль	0,0950	4 соединения
Уксусная кислота		66,80 (64 мл)	–	1,11 моль	–	

Исходя из данных таблицы, наиболее оптимальным является мольное соотношение бетулин:азотная кислота = 1:26. Это объясняется и более высоким выходом полученного окисленного производного и возможностью его очистки от смеси побочных продуктов методом перекристаллизации.

Использование температурного режима с целью увеличения выхода окисленного продукта в пределах $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ оказалось нецелесообразным, так как это приводило к получению трудноразделимой смеси окисленных производных тритерпенового спирта.

Константы, идентифицированные у полученного окисленного производного тритерпенового спирта. Выход $C_{30}H_{48}O_3$ 85%; бесцветное вещество с $T_{пл.}$ 217,5 – 218,5 °С; ИК-спектр (КВг ν_{max} , cm^{-1}): 3405; 2842; 1625; 1452; 1375; 1359; 1236; 1029; спектр 1H -ЯМР, (δ , м.д.): 0,84; 0,85; 0,93; 0,97; 1,03 (15H, 5с., 5CH₃); 1,69 (с, 3H C³⁰H₃-C=C); 2,04; 2,07 (2H, 2с., C²H₂-C=O); 3,85; 4,26 (2 д. по 2H C²⁸H₂-OH); 4,47 (д.д. 1H C¹⁶H-OH); 4,69; 4,59 (2 уш.с. 2H C²⁹H₂=C). Данные ^{13}C -ЯМР-спектроскопии: 38,38; 23,68; 171,52 (C³); 37,77; 55,37; 18,16; 34,53; 40,88; 50,28; 37,05; 20,80; 25,14; 37,55; 42,67; 34,53; 80,87 (C¹⁶); 46,30; 48,77; 47,69; 150,06; 29,74; 34,12; 27,93; 16,02; 16,14; 16,47; 14,71; 62,76 (C²⁸); 109,88; 19,10.

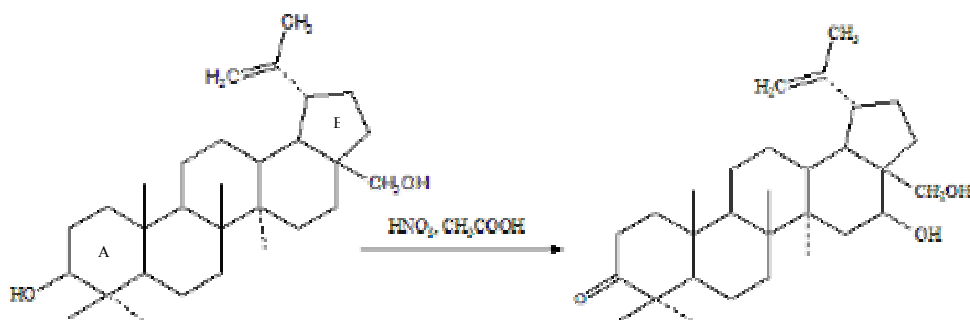
Результаты и обсуждение

В качестве окислителя бетулина была использована азотная кислота (54%) в мольном соотношении бетулина и окислительного реагента 1:26 в среде ледяной уксусной кислоты.

В ходе превращения был выделен 1 окисленный продукт. Фракция представляла собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 217,5 – 218,5 °С. В ИК-спектре (КВг ν_{max} , cm^{-1}) полученного окисленного соединения отмечены сигналы, доказывающие наличие гидроксильной (3405 cm^{-1}), карбонильной (1735,7 cm^{-1}) и двойной связи (1659 cm^{-1}), характерной для бетулина, также характеристические сигналы лупанового скелета: (2842, 1452, 1375, 1359, 1029 cm^{-1}). В спектре 1H -ЯМР, (δ , м.д.) наблюдаются характерные сдвиги протонов пяти метильных групп 0,84; 0,85; 0,93; 0,97; 1,03 (15H, 5с., 5CH₃); протонов при углеродном атоме, соединенном с карбонильной группой 2,04; 2,07 (2H, 2с., C²H₂-C=O); протонов при двойной связи 1,69 (с, 3H C³⁰H₃-C=C) и 4,69; 4,59 (2 уш.с. 2H C²⁹H₂=C). Отмечается отсутствие сигналов в области 3,16 (д.д. 1H C³H-OH), характерных для OH группы при C³ молекулы бетулина, но появляется сдвиг в области 4,47 (д.д. 1H C¹⁶H-OH), что свидетельствует об окислении гидроксильной группы при C³ и образовании гидроксильной группы при C¹⁶ а также отмечается смещение сигналов протонов при атоме, соединенном с гидроксильной группой 3,85; 4,26 (2 д. по 2H C²⁸H₂-OH), который объясняется появлением близлежащего электроотрицательного атома при C¹⁶.

В спектре ^{13}C -ЯМР отмечено изменение сигналов при C³ с 79,0 до 171,52, что обусловлено образованием карбонильной группы при данном атоме, а также изменение сигналов при C¹⁶ и C²⁸ с 29,3 до 80,87 и с 60,1 до 62,76 соответственно, что свидетельствует об образовании гидроксильной группы. Полученные константы позволяют идентифицировать полученный продукт как 16-гидроксобетулон.

Таким образом, в результате взаимодействия происходит окисление гидроксильной группы цикла А, приводящее к возникновению карбонильной группы с одновременным образованием гидроксогруппы при C¹⁶ по уравнению:



Заключение. Подобраны оптимальные условия проведения реакции окисления тритерпенового спирта азотной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты. Получено окисленное производное бетулина – 16-гидроксидбетулон. Строение полученного соединения установлено на основании данных ИК спектроскопии, спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C .

Литература

- [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] Kashiwada Y., Chiyo J., Ikeshiro Y. Synthesis and anti-HIV activity of 3-alkylamido-3deoxy betulinic acid derivations // Chem. and Pharm. Bull. – 2000. – Vol. 8, № 9. – P. 1387-1390.
- [3] Петренко Н.И., Еланцева Н.В., Шульц Э.Э., Шакиров М.М., Толстикова Г.А. Синтез производных бетулоновой кислоты, содержащих аминокислотные фрагменты // Химия природных соединений. – 2002. – № 4. – С. 276-283.
- [4] Патент 2246500 РФ. Способ получения бетулиновой кислоты / Когай Т.И., Левданский В.А., Кузнецов Б.Н.; опубл. 20.02.2005.
- [5] Заявка на патент РК № 2014/1329.1. Способ окисления бетулина азотной кислотой / Лежнева М.Ю., Кожанова А.Д. от 17.10.2014.
- [6] Флехтер О.Б., Нигматулина Л.Р., Балтина Л.А. и др. Получение бетулиновой кислоты из экстракта бетулина. Противовирусная и противовозвездная активность некоторых родственных терпеноидов // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, № 9. – С. 26-28.

Резюме

М. Ю. Лежнева, А. Д. Кожанова

БЕТУЛИННЕН ТОТЫҚҚАН ТУЫНДЫЛАР АЛУДЫҢ ОҢТАЙЛАНДЫРЫЛҒАН ӘДІСТЕМЕСІ

Үштерпенді спиртті мұзды сірке қышқылы ортасында азот қышқылымен тотықтыру реакциясы арқылы бетулиннен тотыққан туындылар алудың жаңа әдісі тұжырымдалды. Бұл тотығу реакциясының шарттары температуралық тәртібін және бастапқы реагенттердің әртүрлі мольдік қатынастарын өзгертумен зерттелді. ИҚ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР спектроскопия негізінде алынған қосылыстардың құрылысы анықталды.

Тірек сөздер: тотықтыру, бетулин, бетулиннің тотыққан туындылары, бетулон, бетулон қышқылы, ИҚ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР спектроскопия.

Summary

M. Yu. Lezhneva, A. D. Kozhanova

OPTIMIZED METHOD OF GETTING THE OXIDIZED DERIVATIVES OF BETULIN

A new method of getting the oxidized derivatives of betulin by oxidation of triterpene alcohol by nitric acid in glacial acetic acid was discovered. Different conditions of this oxidation reaction by varying the temperature and different molar ratios of the initial reagents were studied. The structure of the gotten compound was proved by the IR-, ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-spectroscopy.

Key words: oxidation, betulin, oxidized derivatives of betulin, betulon, betulon acid, IR-, ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR-spectroscopy.