

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПОНЕНТОВ ВНЕШНЕЙ КОРЫ БЕРЕЗЫ

Белякова А. Ю., Погребняк А.В., Погребняк Л.В.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия, (357534, проспект Калинина 11), alekssandra@mail.ru*

В обзоре приводятся сведения о химическом составе и биологической активности суммарного препарата из внешней коры растений семейства Березовые. В историческом разрезе обсуждается эволюция применения экстрактов коры в качестве вспомогательных веществ (материалов) и биологически-активных соединений. Обсуждаются методы извлечения и изоляции отдельных компонентов методами жидкостной экстракции. Приводятся подробные сведения о патентах на использование продуктов переработки коры березы (в том числе бетулина) за последние 10 лет (с 2005 года по н.в.). Излагаются основные перспективы развития и внедрения биологически-активных и вспомогательных веществ, получаемых из отечественного сырья. Отдельная часть обзора посвящена методам качественного и количественного определения пентациклических тритерпеноидов, составляющих мажорную компоненту экстракта внешней коры березы. Отмечается, что в области стандартизации суммарного экстракта и чистого бетулина наблюдается существенный пробел, который необходимо восполнить, используя современные физико-химические методы анализа.

Ключевые слова: внешняя кора березы, экстракция, бетулин, стандартизация.

## PHYSICO-CHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE COMPONENTS OF THE OUTER BIRCH BARK

Beljakova A. J., Pogrebnyak A. V., Pogrebnyak L. V.

*PMFI (Pyatigorsk medical-pharmaceutical Institute – branch of Volgograd state medical University, Pyatigorsk, Russia ( 357500, Prospekt Kalinina 11), alekssandra@mail.ru*

The review provides information on the chemical composition and biological activity of the total drug from the outer bark of plants of the family Betulaceae. In historical context, the paper discusses the evolution of the use of extracts of bark as auxiliary substances (materials) and biologically active compounds. Discusses methods of extraction and isolation of individual components by the methods of solvent extraction. Provides detailed information on patents for the use of products of processing of birch bark (including betulin) in the last 10 years (from 2005 till now). Outlines the main prospects for the development and implementation of biologically active substances and excipients, produced from domestic raw materials. A separate part of the review is devoted to methods of qualitative and quantitative determination of pentacyclic triterpenoids, constituting a major component of the extract of outer birch bark. It is noted that standardization of total extract and pure betulin there is a significant gap, which needs to be addressed using modern physico-chemical methods of analysis.

Keywords: The review provides, extraction, betulin, standardization.

Свойствам семейства Березовые посвящено множество научных исследований, однако у данных растений и продуктов их переработки сохраняется большой потенциал, имеется множество нераскрытых, либо не полностью изученных свойств. Сочетание огромного сырьевого запаса сырья отечественного происхождения и малое число систематических работ по изучению его биологических свойств ставит задачу продолжения изучения свойств комплекса экстрактивных веществ, их физико-химических характеристик, стимулирует к созданию и стандартизации новых препаратов.

Берёза (лат. *Bétula*) – род листопадных деревьев и кустарников семейства Берёзовые (*Betulaceae*). Берёза широко распространена в Северном полушарии; на территории России принадлежит к числу наиболее распространённых древесных пород. Общее число видов -

около ста. Своеобразный белый цвет коры березы связан с наличием в ее клетках особого белого порошкообразного вещества - бетулина, высыпающегося из клеток при отшелушивании коры. Стройное белоствольное светлое дерево, пользуется особой любовью в России. С давних лет берёза была образом нашей страны.

В коре большинства видов содержится тритерпеноид бетулин, один из немногочисленных белых органических пигментов. Из видов, растущих в России, максимальное содержание бетулина наблюдается в коре берёзы пушистой (*Betula pubescens*) – до 44 %. Он стал объектом тщательного исследования медиков, биологов, фармацевтов почти в 40 странах мира. Интерес к этому веществу в наши дни находится на новом пике, т.е. взамен устаревающим и неточным оценкам приходят современные методы физико-химических и фармакологических исследований. Кроме всего вышеупомянутого, бетулин является эмульгирующим средством и абсолютно безвреден, даже после термической обработки [2].

Березовая кора имеет две четко различимые части – внешнюю (бересту) и внутреннюю (луб), которые значительно отличаются по химическому составу. Наиболее богата экстрактивными веществами внешняя кора [3]. Луб березовой коры содержит меньше экстрактивных веществ и их состав отличается от состава веществ, экстрагируемых из бересты. Предлагаемые способы выделения ценных веществ из коры березы включают ее разделение на бересту и луб и последующую независимую переработку экстракционными методами [9]. Особое внимание в последнее время уделяется разработке методов экстракции из бересты тритерпеноида бетулина. Сам бетулин и его производные, например, бетулиновая кислота, проявляют высокую биологическую активность [1,11] и на их основе разрабатываются новые препараты. Во внутренней части коры (так называемом лубе) содержание целлюлозы варьируется от 19,3 до 25,2%, лигнина от 24,7 до 37,9%, легкогидролизуемых полисахаридов от 18,1 до 26,9%, трудногидролизуемых полисахаридов от 17,1 до 22,8% и золы от 1,1 до 2,4% [10]. Луб березы содержит от 9 до 12% дубильных и до 6,5% сахаристых веществ. Доброкачественность дубильного экстракта, получаемого из луба березовой коры, в зависимости от возраста и вида берез составляет от 42 до 71% [6,12]. Значительные ресурсы березовой коры представлены, так называемой комлевой корой, в которой отсутствует четко выраженная граница между берестой и лубом. В экстрактах коры этих берез наряду с бетулином содержатся его окисленные производные: бетулиновая кислота, бетулиновый альдегид, метиловый эфир бетулиновой кислоты, бетулоновый альдегид, бетулоновая кислота. Бетулин и бетулиновая кислота представляют интерес для медицины в качестве основы для разработки новых противовирусных агентов[4].

Бетулин – это тритерпеновый спирт ряда лупана, имеющий брутто-формулу  $C_{30}H_{50}O_2$  и химическое название бетуленол. Он содержится в большом количестве растений (орешник, календула, солодка и пр.), но в промышленных масштабах его можно получить только экстракцией из бересты. Несмотря на то, что бетулин давно известен своими целебными свойствами (он был открыт Т.Е. Ловицем – преемником М.В. Ломоносова – в 1778г.), в последние годы в мировой фармакологии наблюдается рост интереса к нему. На текущий момент доказанными считаются следующие свойства:

- антисептическое и ранозаживляющее свойства;
- гепатопротекторные;
- желчегонные;
- антиоксидантные;
- иммуностимулирующие;
- противоопухолевые свойства;
- не вызывает сомнений выраженная противовирусная активность бетулина, особенно в отношении всех форм вируса герпеса [9];
- являются ингибиторами вируса полиомиелита, лихорадочных и респираторных заболеваний;
- бетулин способен ингибировать развитие микробактерий туберкулеза;
- противогрибковое действие бетулина открывает широкие перспективы в его применении, как для профилактики, так и для лечения микозов кожи, ногтей и волос [9];
- учеными США и Японии доказана противомеланомная активность самого бетулина и его производных [9];
- при включении бетулина в крем он продемонстрировал солнцезащитное действие (UVA-UVB-фильтр) [11];
- активно ингибирует фермент эластазу, ответственный за потерю упругости эластичными волокнами кожи;
- стимулирует синтез коллагена и останавливает воспалительные процессы в коже, защищая ее от воздействия протеинкиназ;
- отбеливает кожу за счет тормозящего действия на меланогенез [1].

Предложены несколько способов выделения бетулина из коры березы:

- путем кипячения бересты с водой, а затем высушивания и дальнейшего извлечения алкоголем;
- осаждение спиртового (этанол) экстракта бересты уксуснокислым свинцом и удаление свинца углекислой солью [8];

- березовую кору экстрагируют бензолом, выделившийся при охлаждении бетулин отфильтровывают и сушат [1];

- использовалась также последовательная экстракция измельченной коры петролейным эфиром, четыреххлористым углеродом и хлороформом [1];

- предложен многостадийный метод выделения бетулина из коры березы, включающий экстракцию трихлорэтиленом, прямое ацелирование экстракта и гидролиз диацетата бетулина [1];

- известен способ получения бетулина, заключающийся в том, что бересту предварительно измельчают в водной щелочи и экстрагируют изопропиловым спиртом [10];

- выделение бетулина из коры березы, активированной в условиях взрывного автогидролиза [6].

Измельчение бересты в водном растворе щелочи является сложным в технологическом плане, так как производится механическим путем и требует больших энергетических затрат. Кроме того, недостатком данного способа является длительность операции извлечения и вследствие этого малая эффективность процесса. Близким по технологической сущности и достигаемому результату является способ получения бетулина из бересты березы, включающий предварительное активирование ее в условиях неизобарного парокрекинга при температуре 180 – 260°C, давления 2 – 5 МПа в течение 60-360 сек и последующую экстракцию в водно-спиртовой щелочной среде [4]. Данный способ характеризуется недостаточной интенсивностью извлечения бетулина из бересты березы, что обусловлено слабым гидролизом в лигноуглеводном комплексе. В основном в момент резкого сброса давления происходит разрыхление бересты в пыль. Для полного же извлечения бетулина необходима еще одна стадия – исчерпывающий гидролиз лигноуглеводного комплекса измельченной бересты с использованием большого количества щелочи (на 3 г активированной бересты берут 20 г щелочи). Техническим результатом является сокращение продолжительности процесса, а также снижение расхода щелочи на стадии гидролиза. Поставленная задача решается тем, что в способе получения бетулина из бересты березы, включающем ее активацию при температуре 180-260°C, давлении 2 – 5 МПа в течение 60 – 300 сек, обработку щелочью и экстракцию спиртом, согласно изобретению, активацию бересты березы и ее щелочной гидролиз проводят одновременно, причем щелочь берут в количестве 10 – 20% от веса абсолютно сухой бересты. Сопоставительный анализ с прототипом показывает, что отличительным от прототипа признаком является проведение активации бересты одновременно с щелочным гидролизом, причем количество щелочи берут в указанных пределах.

Проведение гидролиза бересты совместно с ее активацией в условиях неизобарного парокрекинга, т.е. при температуре 180 – 260°C, давлении 2 – 5 МПа в течение 60 – 360 сек, позволяет провести исчерпывающий гидролиз лигноуглеводного комплекса бересты, что способствует повышению интенсивности извлечения бетулина. Кроме того, отпадает необходимость использования большого количества щелочи при гидролизе в условиях неизобарного парокрекинга, так как высокая температура и давление способствуют исчерпывающему гидролизу лигноуглеводного комплекса бересты и при малой концентрации щелочи. Благодаря совмещению стадий активации и щелочного гидролиза сокращается продолжительность извлечения бетулина, т.к. отпадает отдельная стадия обработки щелочью. Технологическую бересту предварительно подвергают активации в условиях неизобарного парокрекинга в присутствии щелочи, взятой в количестве 5 – 20% от веса абсолютно сухой бересты. Неизобарный парокрекинг проводят при давлении 2 – 5 МПа, температуре 180 – 260°C, времени активации 60 – 300 сек. Береста березы после проведения неизобарного парокрекинга в присутствии щелочи представляет собой однородную, сметанообразную массу серого цвета. Гидролизат бересты (после активации в присутствии щелочи) разбавляют спиртом и кипятят в течение 2 и 5 минут, отделяют спиртовой раствор бетулина фильтрованием и концентрируют. Выпавший при этом в осадок бетулин отделяют фильтрованием. Предлагаемый способ позволяет существенно интенсифицировать процесс получения бетулина [7, 8].

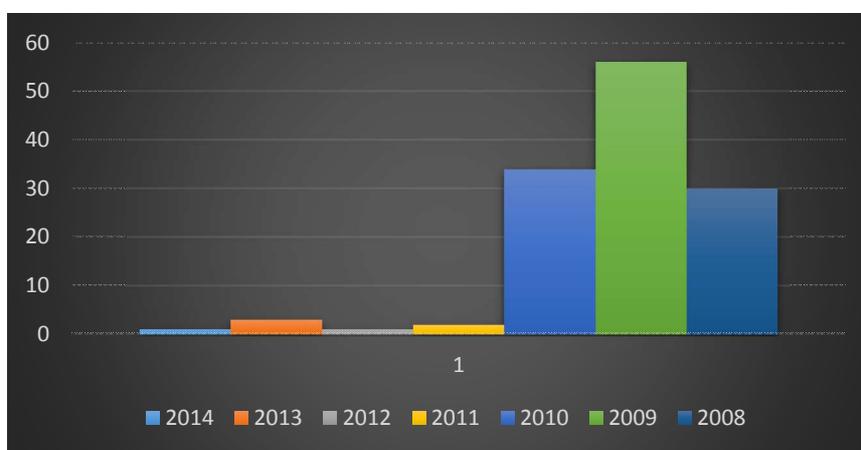
В качестве экстрагентов также предлагались алифатические и ароматические углеводороды, спирты C<sub>x</sub>-C<sub>4</sub>, ацетон и хлорсодержащие растворители. Зависимость скорости извлечения бетулина от степени измельчения бересты прослежена в работе [5]. При экстракции сырья с размером частиц 0.15-1.5 мм в течение 5 мин в раствор переходит более 90 % содержащегося в бересте бетулина. Процесс практически не зависит от вида экстрагента (углеводородный растворитель LIAV-20, дихлорметан, метанол, азеотроп изопропанол – вода, этанол, азеотроп 2-бутанол-вода, ацетон). При использовании сырья более грубого помола (0.8-4.0 мм) скорость и полнота извлечения зависят от вида экстрагента, повышаясь в ряду: дихлорметан < изопропанол < 2-бутанол = ацетон < метанол < этанол. В то же время экстракция кусковой коры в автоклаве проходит с исчерпывающим извлечением бетулина [5].

Предварительная активация бересты водяным паром в присутствии NaOH (240 °C, 1-3 мин) позволяет сократить время экстракции этанолом и выделить до 97 % от всего содержания бетулина. Наиболее подходящими растворителями для перекристаллизации признаны азеотропы изопропанола и бутанола. Потери бетулина в маточнике составляют 15-17 %. Бетулин высокой очистки можно получить через 3,28-ди-О-ацетат [4].

Выделение бетулина из коры березы *Betula papyfera* сублимацией отдельно обсуждается в работе М.-Ф. Guidoin [13].

Российской компанией «Березовый мир» (г. Москва) создана серия биологически активных добавок на основе экстракта бересты, «БетулаФарм» выпускают группу препаратов: Бетулин, Бетулин Антиокс, Бетулин Гепато, Бетулин Иммуно, Бетулин Слим Коррект. SNSPharma производит препарат «Бетуал».

В последние годы число патентов снижается (рисунок). Пик исследований приходится на 2008-2010 годы. Анализ патентной информации, имеющейся на данное время, позволяет сделать вывод, о необходимости более полного изучения и, в особенности, разработки методик анализа и стандартизации суммарного экстракта из внешней коры березы и самого бетулина.



*Количество вышедших патентов, посвященных бетулину по годам*

### Список литературы

1. База знаний «Албест»; [Http://knowledge.allbest.ru](http://knowledge.allbest.ru).
2. Ботаника. Энциклопедия «Все растения мира»: пер. с англ./ Под ред. Д. Григорьева и др. – М.: Könemann, 2006. – С. 142-144.
3. Животные и растения. Иллюстрированный энциклопедический словарь. – М.: Эксмо, 2007. – С. 117-119.
4. Иллюстрированный определитель растений Ленинградской области / Под ред. А. Л. Буданцева и Г. П. Яковлева. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. – С. 167. - 700
5. Красутский П. А., Коломитсян И. В., Красутский Д. А. Деполимеризация соединений из бересты Патент US8197870, 2009-07-16.

6. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Еськин А.П. и др. Выделение бетулина и суберина из коры березы, активированной в условиях взрывного автогидролиза; [http://www.nioch.nsc.ru/mirrors/press/chemwood/volume2/n1/stat\\_1.html](http://www.nioch.nsc.ru/mirrors/press/chemwood/volume2/n1/stat_1.html).
7. Мальчиков Е. Л., Кислицын А. Н. Способ получения бетулина Патент 2524778, 2013-03-28.
8. Роцин В.И., Шабанова Н.Ю., Ведерников Д.Н. Способ получения бетулина Патент 2184120, 27-06-2002.
9. Сайт ООО «Древит». Описание бетулина и препаратов на его основе; <http://betulin96.ru/application.php>.
10. Словари и энциклопедии. «Академик»; <http://dic.academic.ru/>
11. Собрание рефератов и научных работ. «Ронл.ру» <Http://www.ronl.ru/referaty/himiya/227812/>.
12. Флехтер О.Ф., Карачурина Л.Т, Нигматуллина Л.Р. и др. Синтез и фармакологическая активность диникотината бетулина // Биоорганическая химия. – 2002. – Т. 28, №6. – С. 543–550.
13. M.-F. Guidoin, J. Yang, A. Pichette, C. Roy, *Thermochim. Acta* (2003), 153 p.

#### **Рецензенты:**

Компанцев В.А, д.фарм.н., профессор кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико- фармацевтического института – филиала государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск;

Василенко Ю.К., д.м.н., профессор кафедры биохимии и микробиологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск.