

На правах рукописи

БУРЛОВА ИРИНА ВИКТОРОВНА

**ПРЕПАРАТИВНЫЙ СИНТЕЗ БЕТУЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ И
БЕТУЛОНОВОГО АЛЬДЕГИДА ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНЫМ
ОКИСЛЕНИЕМ БЕТУЛИНА**

02.00.03 – органическая химия

химические науки

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Нижний Новгород

2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» и Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования Нижегородская медицинская академия Минздрава России

Научный руководитель: **Мельникова Нина Борисовна**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Черкасов Владимир Кузьмич**
доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное бюджетное учреждение науки Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева Российской академии наук, г. Нижний Новгород

Климов Евгений Семенович
доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Ульяновский государственный технический университет, г. Ульяновск

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань

Защита диссертации состоится «22» мая 2013 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 212.166.05 по химическим наукам при ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, ГСП-20, пр. Гагарина 23, корпус 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан « » марта 2013 года

Ученый секретарь Диссертационного совета
кандидат химических наук, доцент



Замышляева
Ольга Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Тритерпеноиды лупанового ряда, представителями которых является бетулин ($3\beta,28$ – дигидрокси – $20(29)$ – лупен) и его оксо – производные, обладают ценными биологически активными свойствами (иммуностимулирующими, антиоксидантными, гепатопротекторными, противовоспалительными и противовирусными) и представляют исключительный интерес для фармацевтической, косметической и пищевой промышленности.

Важным приёмом синтеза оксо – производных бетулина – бетулоновой (луп – $20(29)$ – ен – 3 – он – 28 – овой), бетулиновой кислот, их амидов, оксимов, эфиров, альдегидов и др. является его окисление. Сложность окисления бетулина обусловлена наличием в молекуле трех реакционных центров: первичной гидроксильной группы при С-28, вторичной спиртовой группы при С-3 и кратной связи в положении С-20 – С-29, трудностью регулирования глубины протекания окисления и лабильностью структуры бетулина.

Наиболее часто используемыми окислителями являются соединения Cr(VI) в сильно кислой среде, например, реактив Джонса. Несмотря на многочисленные исследования окисления бетулина реактивом Джонса, получение оксо-производных является достаточно сложным и малорентабельным процессом, характеризующимся низким выходом целевых продуктов (50 – 65 %), низкой температурой (-5°C – $+10^{\circ}\text{C}$) и длительностью синтеза (до 24 ч), низкой селективностью окисления, приводящего к смеси продуктов: бетулону, бетулоновому альдегиду, бетулоновой кислоте, продуктам окисления по изопропенильному фрагменту, а также сложностью утилизации токсичного Cr(III). Соответственно, выделение чистого продукта – бетулоновой кислоты, требует сложной очистки (многочисленные перекристаллизации, экстракции, колоночная хроматография), использования большого количества разных видов органических растворителей и различных приемов для удаления Cr(III). Примерами экологического синтеза оксо – производных являются получение бетулинового альдегида как прекурсора бетулиновой кислоты с использованием щелочного окисления бетулина в условиях меж-

фазного катализа¹ или твердого носителя с импрегнированным окислителем², которые являются неприемлемыми для получения бетулонового альдегида и бетулоновой кислоты.

По этим причинам оксо – производные бетулина до сих пор не имеют статус лекарственного вещества, а используются в виде биологически активных добавок к пище (например, «Cornelon», US Ph – смесь бетулина, бетулона, бетулонового альдегида и бетулоновой кислоты).

Цель работы. Изучение возможности высокоселективного окисления бетулина в присутствии кислот Льюиса для создания препаративной методики синтеза бетулоновой кислоты и бетулонового альдегида.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

1. Исследование селективности окисления бетулина твердыми окислителями таким как пероксидом никеля в слабощелочной среде.
2. Выявление условий высокоселективного мягкого окисления бетулина системой Cr(VI) – H₂SO₄ до бетулоновой кислоты в присутствии кислот Льюиса, содержащих элемент в d⁰ – конфигурации.
3. Разработка препаративного способа получения бетулоновой кислоты и бетулонового альдегида на твердой подложке окислением бетулина соединениями Cr(VI), приводящего к снижению токсичности промывных вод.

Научная новизна:

1) Впервые разработан препаративный синтез бетулонового альдегида с выходом 97 % окислением бетулина на силикагеле системой K₂Cr₂O₇ – H₂SO₄ в водно-ацетоновой среде при комнатной температуре.

2) Разработан высокоселективный синтез бетулоновой кислоты с выходом 93 – 98 % окислением бетулина K₂Cr₂O₇ – H₂SO₄ на влажном оксиде алюминия, позволяющий выделять сырец бетулоновой кислоты, который

¹ Csuk, R. A practical synthesis of betulinic acid / R. Csuk, K. Schmuck, R. Schafer // Tetrahedron Lett. – 2006. – Vol. 47. – P. 8769 – 8770.

² Synthesis of betulin derivatives with solid supported reagents / S. Lavoie, A. Pichette, F.-X. Garneau, M. Girard, D. Gaudet // Synth. Commun. – 2001. – Vol. 31, N 10. – P.1565 – 1571.

можно использовать без дополнительной очистки для получения бетулиновой кислоты.

3) Впервые предложено использовать гетерополиокислоты, такие как $H_3PW_{12}O_{40}$, $H_7[P(Mo_2O_7)_6]$, $H_4[SiMo_{12}O_{40}]$ и $Al_2(SO_4)_3$, $ZnSO_4$ для высокоселективного окисления соединениями Cr(VI) спиртовых групп бетулина до бетулоновой кислоты.

4) Установлено, что взаимодействие бетулина с пероксидами никеля и кобальта в среде основного характера (щелочная водно-ацетоновая, пиридиновая) приводит к продуктам окисления по кратной связи.

Практическая значимость. Разработанные препаративные методики высокоселективных синтезов бетулонового альдегида и бетулоновой кислоты с количественными выходами могут быть использованы как для широкомасштабного получения этих веществ, так и для синтеза других производных на их основе.

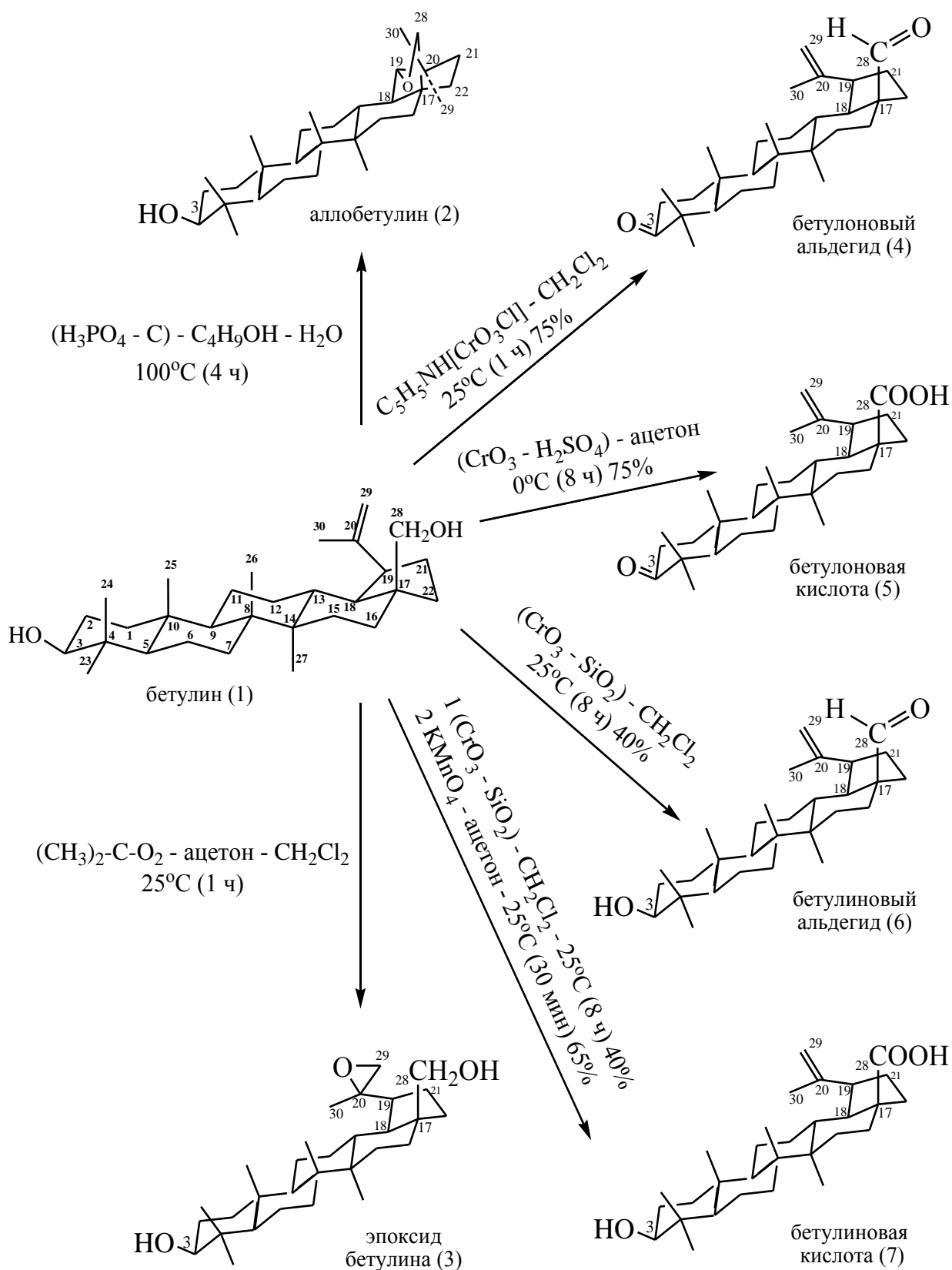
Бетулоновый альдегид и бетулоновая кислота могут быть использованы как фармацевтические субстанции для изготовления лекарственных средств, и как компоненты биологически активных добавок к пище для профилактики и лечения заболеваний печени, желудочно-кишечного тракта, коррекции метаболических процессов.

На защиту выносятся положения, сформулированные в выводах.

Объекты исследования. Бетулин получен экстракцией из бересты березы *Betula Pendula Roth.*³ Аллобетулин, эпоксид бетулина, бетулоновый и бетулиновый альдегиды, бетулоновая и бетулиновая кислоты получены в лаборатории кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НижГМА по литературным методикам и использовались как стандартные вещества с чистотой не менее 99.5 % по данным ВЭЖХ.

³ Пат. 2270202 Российская Федерация, МПК C07J53/00, C07J63/00. Способ получения бетулина и лупеола / Институт органической химии Уфимского научного центра РАН (RU); заявитель и патентообладатель. М.С. Юнусов, Н.Г. Комиссарова, Н.Г. Беленкова; авторы. – № 2004122279/04; заяв. 19.07.04; опубл. 20.02.06, Бюл. № 25. – 7 с.: ил.

Схема синтеза объектов исследования и стандартов для анализа состава реакционной смеси (для ТСХ – и ВЭЖХ – мониторинга)



Методы исследования и приборы. В работе использовались традиционные методы органического синтеза, физико – химические методы исследования, включая ИК, ЯМР спектроскопию и масс – спектрометрию, а также высокоэффективная жидкостная хроматография и тонкослойная хроматография на силикагеле, элементный анализ.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на Межвузовской студенческой научно-практической конференции (Нижний Новгород, 2010), IX юбилейной сессии молодых ученых и студентов, посвященной 90 – летию Нижегородской медицинской академии (Нижний Новгород, 2010), XV Нижегородской сессии молодых ученых (естественнонаучные дисциплины) (Нижний Новгород, 2010), Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи (Казань, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 1 патент, 3 статьи в ведущих рецензируемых журналах и тезисы 4 докладов на всероссийских научных конференциях.

Личный вклад автора. Автор участвовал в постановке задач исследования; сборе и анализе литературных данных; выполнении эксперимента; анализе, обработке и интерпретации полученных данных; написании материалов для публикаций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав (литературный обзор, результаты работы и их обсуждение, экспериментальная часть). Работа изложена на 142 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу, 26 рисунков, 6 схем. Список цитируемой литературы включает 141 работу отечественных и зарубежных авторов.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертационная работа по своим целям, задачам, содержанию, научной новизне и методам исследования соответствует п.3 «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул» паспорта специальности 02.00.03 – органическая химия и решает основную задачу органической химии – направленный синтез соединений с полезными свойствами, а именно лекарственных веществ.

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю, доктору химических наук Мельниковой Нине Борисовне и коллективу кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НижГМА за поддержку и помощь при выполнении работы.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью поиска условий высокоэффективного селективного окисления бетулина с минимально токсическим воздействием окислителя на окружающую среду проведена серия исследований реакций окисления на различных твердых подложках, способных выступать в роли непосредственного окислителя, либо проявлять окислительную функцию в иммобилизованном состоянии в твердой матрице, а также изучена возможность контроля процесса окисления традиционными окислителями в присутствии кислот Льюиса.

1. Окисление бетулина твердыми пероксидами никеля и кобальта

В качестве окислителей использовали нестехиометрический пероксид никеля $[\text{NiOOH}] (\text{Ni}_x\text{O}_y \cdot \text{Ni}(\text{OH})_2)$ в виде порошка, а также пероксид, полученный *in situ* при взаимодействии водных растворов гипохлорита натрия с солями никеля в слабощелочной среде. Выбор в качестве окислителя данного пероксида обусловлен, в первую очередь, его окисляющей способностью по отношению к первичным и вторичным спиртовым группам, а также кратной связи⁴. Во-вторых, применение этого реагента позволяет осуществить экологически безопасный синтез оксо – производных бетулина, поскольку продуктами разложения пероксида никеля и гипохлорита натрия являются преимущественно такие соединения, как кислород и хлораты.

Окисление бетулина пероксидом никеля в щелочной водно-ацетоновой среде проводили, изменяя время проведения реакции (1 – 3 часа), температуру процесса (20 – 40 °С), молярное соотношение субстрат/окислитель (1:2 до 1:6) и условия обработки реакционной смеси (вода, растворы кислот) после

⁴ Oxidation with nickel peroxide. I. Oxidation of alcohols / K. Nakagawa, R. Konaka, T. Nakata // J. Org. Chem. 1962. – Vol. 27. – N 5. - P. 1597 – 1601.

окончания реакции. Максимальный выход продукта реакции был достигнут при четырёхкратном мольном избытке окислителя при 20 ± 5 °С в щелочной водно-ацетоновой среде.

Продукты окисления бетулина порошкообразным пероксидом никеля или пероксидом, образующимися *in situ*, идентичны и принципиально отличаются от исходного бетулина. Основным продуктом реакции (80 %, ВЭЖХ) выделен колоночной хроматографией и имел т.пл. 170 – 175 °С. ВЭЖХ и ТСХ анализ показал, что сырец не содержит продуктов окисления по первичной и вторичной спиртовым группам (бетулинового и бетулонового альдегидов, бетулиновой и бетулоновой кислот, бетулоне), а также эпоксида бетулина и аллобетулина.

В ^{13}C ЯМР – спектре продукта отмечалось отсутствие одного атома углерода в области 40 – 50 м.д., и наблюдались изменения в ПМР – спектре: пять сигналов метильных групп вместо шести в исходном бетулине, что характерно для производных норбетулина. Кроме того в ПМР спектре появляется новый мультиплет в области 2.97 м.д., который по литературным данным соответствует гидрокснор – бетулину по положению С-20 – С-29.

В ИК – спектрах полоса 3363 см^{-1} (валентные колебания гидроксила спиртовых групп) трансформируется до четырёх полос – 3446, 3423, 3385, 3242 см^{-1} , вместо узкой интенсивной полосы 1028 см^{-1} (валентные колебания спиртовой С – О связи при С-28) появляются три полосы средней интенсивности 1035, 1008, 983 см^{-1} . Контрольный опыт с гипохлоритом натрия в отсутствие твердых пероксидов приводил к продукту, имеющему близкий ИК – и ЯМР – спектры. Полученные данные согласуются со схемой окисления тритерпеноидов лупанового ряда с кратной связью в циклопентановом кольце, в соответствии с которой окисление бетулина происходит через первичное эпоксидирование кратной связи с дальнейшим раскрытием эпоксидного цикла в щелочной среде до диолов и образованием нор – продуктов⁵.

⁵ Mayo, P.de Terpenoids: I. The constitution and stereochemistry of ceanothic acid / P.de Mayo, A.N. Starratt // Canadian Journal of Chemistry. – 1962. – Vol. 40, N 4. – P. 788 – 795.

В ИК – спектре продукта реакции бетулина с пероксидом никеля в щелочной водно-ацетоновой среде в присутствии гетерополикислот (ГПК) $H_3PW_{12}O_{40}$ и $H_7[P(Mo_2O_7)_6]$ сохраняются полосы валентных колебаний гидроксильных групп бетулина (3370 см^{-1}) и полоса, присущая валентным колебаниям C – O – спиртовой группы ($\nu_{C-O} = 1028\text{ см}^{-1}$). Полоса колебаний терминальной метиленовой группы ($\delta_{CH_2} = 881\text{ см}^{-1}$) практически полностью исчезает, но появляются интенсивные полосы в области $1697 - 1720\text{ см}^{-1}$. В ^{13}C ЯМР спектре появляется сигнал 216.0 м.д., при этом сигналы 109.4 м.д. (C-29) и 150.4 м.д. (C-20) практически исчезают, что характерно для норкетона при C-20.

Импрегнирование пероксида никеля в твердую подложку оксида алюминия или цеолитов приводило к образованию не только нор – кетона при C-20, но и нескольким (ВЭЖХ) неидентифицированным карбонилсодержащим продуктам по данным ИК ($1720, 1705, 1697\text{ см}^{-1}$), ^{13}C ЯМР (206, 216, 218 м.д.).

Таким образом, окисление бетулина порошкообразным пероксидом никеля приводит к неселективному окислению кратной связи в положении C-20 – C-29, не позволяя осуществить препаративный синтез 3 – кето – производных бетулина.

2. Влияние кислот Льюиса на окисление бетулина системой $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в водно-ацетоновой среде

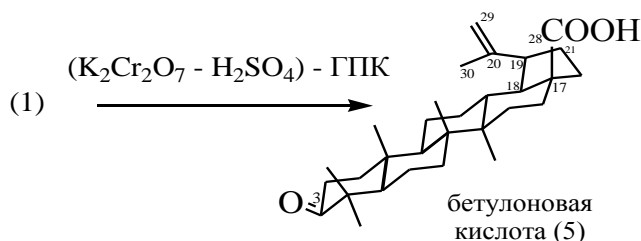
Нами показано, что конверсия бетулина при окислении системой $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в водно-ацетоновой среде при комнатной температуре не превышала 50 %, продуктами реакции в основном являлись бетулоновый (до 20 %) и бетулиновый (до 1 – 5 %) альдегиды, а также продукты окисления по кратной связи в положении C-20 – C-29 (до 30 %) (таблица 1).

Таблица 1. Окисление бетулина $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в отсутствие кислот Льюиса в водно - ацетоновой среде при комнатной температуре

Время, мин	Конверсия бетулина, %	Продукты реакционной смеси, % (контроль методами ВЭЖХ, ИК и ЯМР – спектроскопии)			
		Бетулиновый альдегид	Бетулоновый альдегид	Бетулоновая кислота	Другие продукты окисления
5	7	15	50 – 60	–	20 – 25
10	12	5	60	10	25
20	17	–	60	10	30
65	25	–	50	20	30
80	30	–	40	30	30
160	37	–	35	35	30
300	40	–	20	50	30
400	50	–	–	70	30

С целью повышения эффективности синтеза бетулоновой кислоты и его альдегида изучалось окисление бетулина системой $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в водно-ацетоновом растворе в присутствии кислот Льюиса ($ГПК, Al^{3+}, Zn^{2+}$), которые, как известно, повышают селективность и играют каталитическую роль при окислении простых спиртов.

Показано, что основным продуктом реакции в присутствии $ГПК - H_3PW_{12}O_{40}, H_7[P(Mo_2O_7)_6], H_4[SiMo_{12}O_{40}]$ в интервале концентраций $5 \cdot 10^{-9} - 5 \cdot 10^{-8}$ моль/л и в присутствии солей $Al_2(SO_4)_3$ и $ZnSO_4$ в интервале концентраций $10^{-6} - 10^{-4}$ моль/л, проводящейся в течение 3 ч при комнатной температуре является, бетулоновая кислота (чистота по ВЭЖХ 95 %).



Структура бетулоновой кислоты подтверждена ИК – (интенсивная полоса валентных колебаний $C = O$ группы 1705 см^{-1}) и ЯМР – спектрами (таблица 2).

Таблица 2. Фрагменты ^1H и ^{13}C ЯМР – спектров продуктов окисления бетулина смесью $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ в водно-ацетоновой среде в присутствии гетерополиоксидов

А. ^1H ЯМР-спектры

Кислота Льюиса	Химический сдвиг δ , м.д. избранных протонов в бетулине и продукте его окисления (бетулоновой кислоте)				
	30-Н	19-Н	3-Н	28-Н	29-Н
Бетулин	1.67 (с)	2.48 (м)	3.18 (дд)	3.33 (д), 3.79 (д)	4.58(с), 4.70 (с)
$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$	1.64 (с)	2.97 (м)	–	–	4.57 (с), 4.70 (с)
$\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$					
$\text{H}_4[\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}]$					
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$					
ZnSO_4					

Б. ^{13}C ЯМР-спектры

Кислота Льюиса	Химический сдвиг δ , м.д.			
	C-3	C-28	C-20	C-29
Бетулин	79.1	60.6	150.4	109.4
$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$	216.5	177.,3	150.3	109.8
$\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$				
$\text{H}_4[\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}]$				
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$				
ZnSO_4				

В мягких условиях (0°C , ГПК, бетулин : окислитель = 1 : 1.5) и при малом времени синтеза (30 мин) реакционная смесь содержит бетулиновый (6) и бетулоновый (4) альдегиды (20 – 30 %), бетулиновую (7) (30 %) и бетулоновую (5) кислоты (50 %). Продукты окисления по кратной связи в положении C-20 – C-29 бетулина отсутствуют. В процессе дальнейшего окисления (1.5 – 2 ч) реакционная смесь преимущественно содержит бетулоновую кислоту с примесью бетулиновой (ВЭЖХ – мониторинг).

Особенностью окисления бетулина системой $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ в присутствии используемых кислот Льюиса является моментальная гомогенизация молочно-белой суспензии бетулина в ацетоне и полное растворение бетулина до образования прозрачных растворов с усилением окраски раствора, которые не зависят от порядка добавления окислителя.

Растворение бетулина в ацетоне в присутствии ГПК и солей $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ и ZnSO_4 сопровождается появлением новой интенсивной полосы в области 300 – 330 нм, в отличие от бетулина и его оксо – производных, поглощающих

в области 190 – 220 нм (этанол). Характер растворения, форма и положение полосы поглощения раствора бетулина в присутствии ГПК в УФ – спектре практически не зависит от природы ГПК, а также от добавления в раствор небольших количеств H_2SO_4 . В качестве примера на рисунке 1 представлен спектр раствора бетулина с $H_7[P(Mo_2O_7)_6]$.

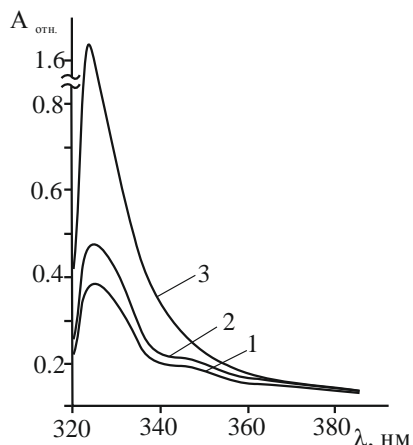


Рисунок 1. УФ – спектры растворов $4.4 \cdot 10^{-5}$ М бетулина в ацетоне:

№ кривой	H_2SO_4	$Al_2(SO_4)_3$	$H_7[P(Mo_2O_7)_6]$
1	$1.0 \cdot 10^{-3}$ М	–	–
2	–	$7.0 \cdot 10^{-6}$ М	–
3	–	–	$3.3 \cdot 10^{-6}$ М

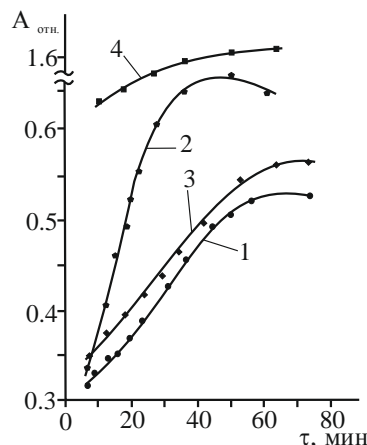


Рисунок 2. Изменение оптической плотности A_{330} в течение времени $A=f(\tau)$ $4.4 \cdot 10^{-5}$ М растворов бетулина в ацетоне:

№ кривой	H_2SO_4	$Al_2(SO_4)_3$	$H_7[P(Mo_2O_7)_6]$
1	$1.0 \cdot 10^{-3}$ М	–	–
2	–	$7.0 \cdot 10^{-6}$ М	–
3	$1.0 \cdot 10^{-3}$ М	$7.0 \cdot 10^{-6}$ М	–
4	–	–	$3.3 \cdot 10^{-6}$ М

Оптическая плотность растворов бетулина с H_2SO_4 и $Al_2(SO_4)_3$ существенно ниже (кривые 1 и 2, рисунок 1) и значительно увеличивается во времени (рисунок 2).

Появление новой интенсивной полосы в области 300 – 330 нм в спектрах растворов бетулина в присутствии изучаемых кислот Льюиса, вероятно, свидетельствует об образовании комплексных соединений в растворе. В отличие от этого, бетулин в ацетоновых растворах в присутствии H_2SO_4 способен не только образовывать комплексы, но и дополнительно окисляться. Данные ИК-спектров твердого продукта рыжего цвета, выделенного из ацетонового раствора бетулина с H_2SO_4 , демонстрируют изменение структуры бетулина: полоса 883 см^{-1} преобразуется в две полосы 881 см^{-1} и 832 см^{-1} , исчезает ха-

ракетная для спиртовых групп полоса при 1028 см^{-1} , появляются полосы в области $1740 - 1640\text{ см}^{-1}$ ($\nu_{\text{C=O}}$, $\nu_{\text{C=C}}$). По данным ВЭЖХ анализа раствор содержит аллобетулин (2), эпоксид бетулина (3) и несколько неидентифицированных соединений, вероятно, карбонильных.

ИК-спектр твердого продукта, выделенного из раствора бетулина с $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ отличался от спектра исходного бетулина в области деформационных колебаний терминальной метиленовой группы. Влияние $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ в присутствии H_2SO_4 проявляется в существенном уменьшении доли окисленных продуктов (уменьшение интенсивности полос в области 1700 см^{-1} , незначительном изменении интенсивности полос в области 881 см^{-1} и 1640 см^{-1} ИК-спектра), что должно обеспечивать протекторное действие ионов Al^{3+} по отношению к кратной связи за счет образования комплексов в процессе окисления $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (рисунок 3).

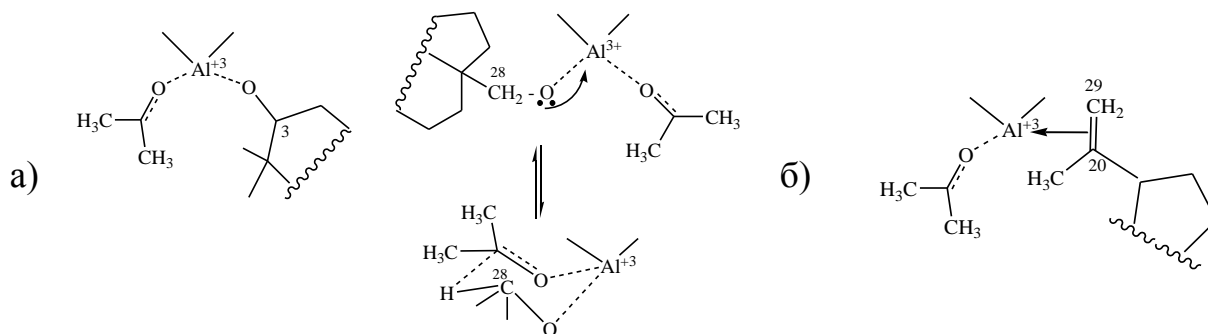


Рисунок 3. Иллюстрация взаимодействия Al^{3+} с реакционными центрами бетулина: а) со спиртовыми группами, б) с кратной связью

Сопоставление УФ – спектров реакционных смесей «бетулин – окислитель ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$) – $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ » (рисунок 4) и «бетулин – окислитель ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$) – $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ » (рисунок 5) в начальный период времени показало изменение соотношения оптической плотности при 250 и 280 нм: $K_{\text{ГПК}} = A_{250}/A_{280} = 1.95 \pm 0.05$, $K_{\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3} = A_{250}/A_{280} = 1.35 \pm 0.05$. В конце реакции окисления при достижении конверсии бетулина 100 % $K_{\text{ГПК}}$ возрастает до 3.30 ± 0.05 (рисунок 4), а $K_{\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3}$ изменяется не значительно.

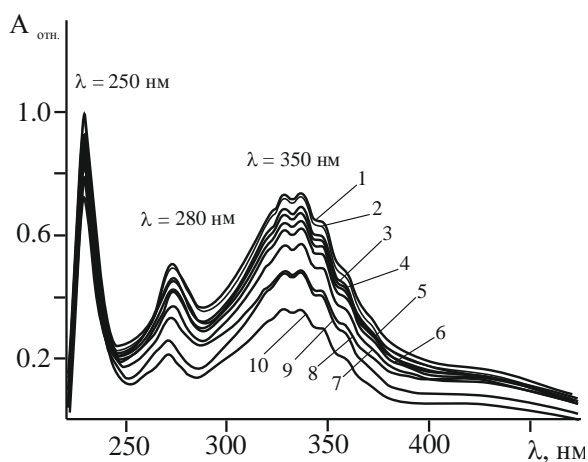


Рисунок 4. Динамика изменения УФ – спектров реакционных смесей «бетулин – окислитель ($K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$) – $H_3PW_{12}O_{40}$ »

N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
τ, мин	5	9	15	23	34	43	73	110	165	225

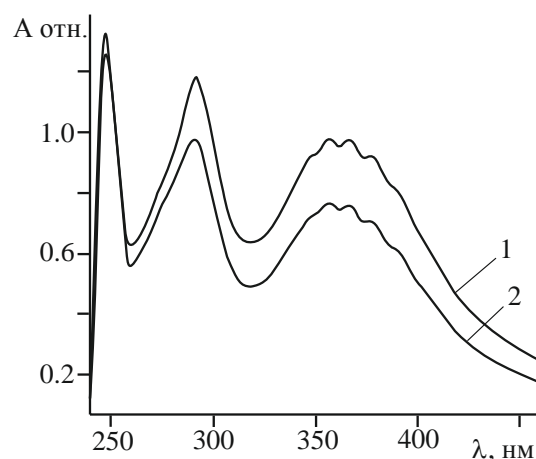


Рисунок 5. УФ – спектры смесей: кривая 1 – «бетулин – окислитель ($K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$) – $Al_2(SO_4)_3$ – ацетон», $\tau = 5$ мин; кривая 2 – «окислитель ($K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$) – $Al_2(SO_4)_3$ – ацетон», $\tau = 5$ мин

Отношение $K_{ГПК} / K_{Al_2(SO_4)_3} \approx 1.5$ характеризует большой вклад в способность орбиталей металла и кислорода перекрываться с образованием π – связи $M = O$ в реакции с ГПК по сравнению с $Al_2(SO_4)_3$, что позволяет предположить образование полиоксометаллатов как промежуточных структур в реакциях ГПК в соответствии со схемой 1.

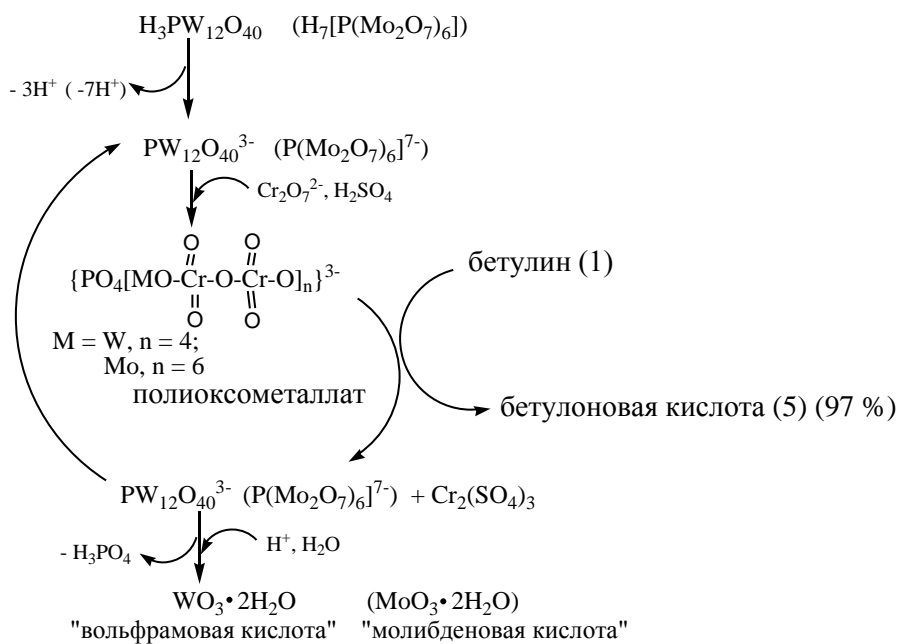


Схема 1. Окисление бетулина $K_2Cr_2O_7$ водно-ацетоновой среде в присутствии ГПК

По мере протекания окисления в реакционной смеси появляются хорошо растворимые в воде хлопья неорганической природы, состав которых соответствует общей формуле $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot y\text{H}_2\text{O}$. Примеси элементов Р, Мо, W или Si в хлопьевидном осадке не обнаружено (атомная абсорбционная спектроскопия).

Гетерополикислоты после добавления воды образуют «вольфрамовую» или «молибденовую» кислоты, способные регенерироваться под действием H_3PO_4 (УФ – мониторинг) в соответствии со схемой 1.

Повышение селективности окисления в присутствии $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ и ZnSO_4 , также как и в присутствии ГПК, вероятно, обусловлено увеличением гомогенности реакционной зоны.

Таким образом, использование ГПК и солей $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ и ZnSO_4 в окислении бетулина реагентом $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ в водно-ацетоновой среде позволяет обеспечить высокую селективность процесса (97 %). Главным преимуществом этого синтеза бетулоновой кислоты в водно-ацетоновой среде в присутствии H_2SO_4 является проведение процесса при комнатной температуре, в отличие от реакции с реагентом Джонса, протекающей при низких температурах, и возможность получения последней с высоким выходом.

3. Окисление бетулина $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ в водно-ацетоновой среде на твердых сорбентах кислотного характера

Окисление бетулина $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в водно-ацетоновой среде на силикагеле в течение 30 мин при комнатной температуре приводит к единственному продукту – бетулоновому альдегиду (т.пл., ВЭЖХ, ТСХ, ИК – и ЯМР – спектры) – при высокой конверсии бетулина.

Проведение окисления в аналогичных условиях, но при 0 °С приводило к резкому ускорению процесса: через 2 – 3 мин конверсия бетулина достигала 100 %, а продуктами реакции являлись бетулиновый и бетулоновый альдегиды при массовом соотношении 5 : 95 (схема 2).

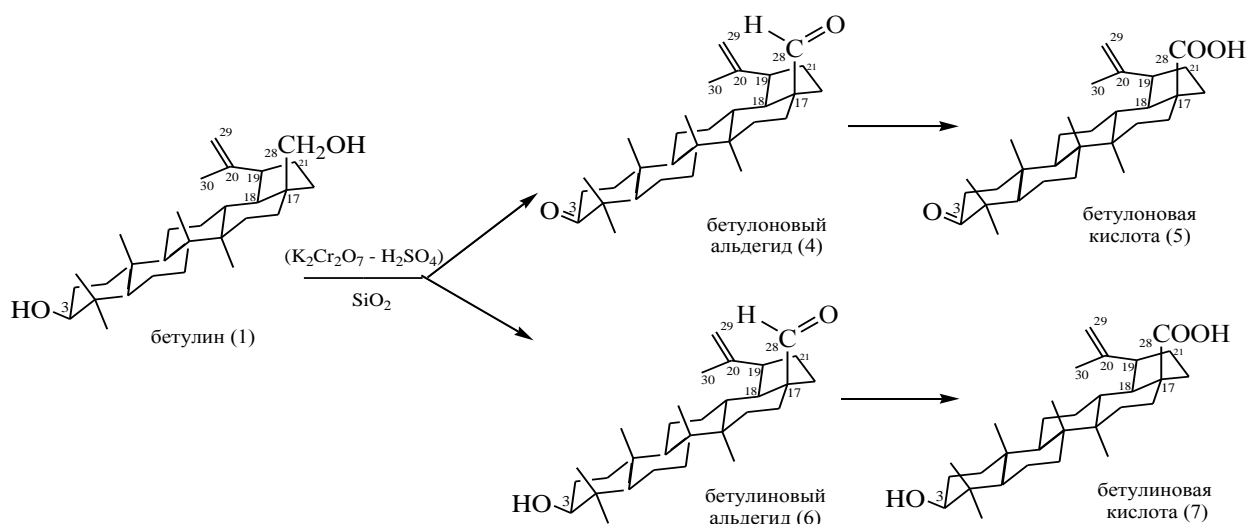


Схема 2. Окисление бетулина $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в водно - ацетоновой среде на силикагеле

При увеличении времени реакции до 1 ч содержание бетулонового альдегида практически не менялось (таблица 3).

Использование цеолитов ($\text{M}_x\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot y\text{SiO}_2 \cdot z\text{H}_2\text{O}$) в качестве твердой подложки, содержащих в своем составе ионы Al^{3+} , при окислении бетулина также обуславливало высокую селективность реакции. Основным продуктом реакции (ИК – и ЯМР – спектры, ВЭЖХ) является бетулоновый альдегид.

Таблица 3. Окисление бетулина $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в водно-ацетоновой среде на силикагеле в течение 1 – 160 мин при 0 °С (ВЭЖХ – мониторинг)

№ примера	Время реакции, мин	Конверсия бетулина, %	Продукты, масс. %		
			Бетулоновый альдегид	Бетулиновый альдегид	Бетулоновая/ Бетулиновая кислоты
1	2	98	95	5	–
2	5	100	93	7	–
3	10	100	93	4	0 / 3
4	20	100	93	4	0 / 3
5	65	100	93	4	0 / 3
6	80	100	85	4	8 / 3
7	160	100	70	-	20 / 10

При проведении реакции окисления бетулина на гранулах Al_2O_3 образуются два основных продукта – бетулоновой альдегид и бетулоновая кислота. Реакционная смесь содержит незначительные количества бетулинового альдегида и бетулиновой кислоты. Вероятно, окисление бетулина на гранулах

оксида алюминия протекает в две стадии. Вначале образуется бетулоновый альдегид, который со временем окисляется до бетулоновой кислоты. Данные эксперимента при низкой температуре методом ВЭЖХ позволяют зафиксировать динамику образования бетулонового альдегида и бетулоновой кислоты (рисунок 6).

Представленные данные свидетельствуют о возможности контроля глубины окисления изменением температурного и временного режимов.

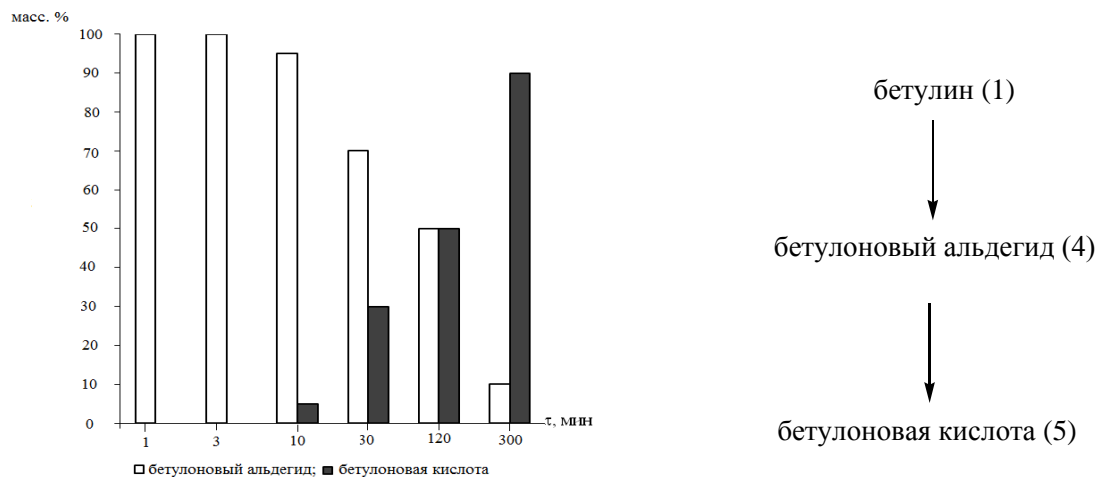


Рисунок 6. Динамика образования бетулонового альдегида и бетулоновой кислоты в реакционной смеси при окисления бетулина $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в водно-ацетоновой среде в присутствии Al_2O_3 при $0\text{ }^\circ C$

Сопоставление результатов по окислению бетулина на гранулах оксида алюминия, силикагеле и цеолитах, свидетельствует о стабилизирующем влиянии SiO_2 на окисление бетулина до альдегидов и об усилении глубины окисления до бетулоновой кислоты под действием ионов Al^{3+} .

Показано, что 98 – 100 % – ная селективность окисления с образованием единственного продукта – бетулоновой кислоты при 100 % конверсии бетулина достигается в условиях примера 2 таблицы 5. Гранулы Al_2O_3 с плотно прилипшим слоем зеленого цвета, отделенные декантированием, подвергали регенерации. Прибавление воды к гранулам Al_2O_3 после реакции приводило к образованию раствора $Cr_2(SO_4)_3$, не содержащего органической компоненты. Такой способ позволяет отделить соединения Cr (III) и регенерировать в дальнейшем гранулы Al_2O_3 . Вероятно, сорбирующая способность гранул

Al_2O_3 соединений хрома обусловлена высоким сродством их к кристаллической решётке оксида алюминия.

Таблица 5. Окисление бетулина соединениями Cr (VI) на оксиде алюминия в водно-ацетоновой среде при 15 – 25 °С в течение 1.5 – 3 ч

Пример	Окислитель			Конверсия бетулина, %	Соотношение бетулоновая кислота : бетулоновый альдегид
	Cr^{6+}	$\frac{v_{\text{Cr}^{6+}}}{V_{\text{бетулин}}}$	$\frac{m_{\text{твердая подложка}}}{m_{\text{бетулин}}}$		
1	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7^*$	3 : 1	–	40	1 : 1
2a	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	3 : 1	6 : 1	100	100 : 1
2b	K_2CrO_4				
2c	CrO_3				
3	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	1,5 : 1	6 : 1	100	3 : 1
4	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	1,5 : 1	3 : 1	80	1 : 1

* – в отсутствие Al_2O_3

Можно предположить, что высокая селективность реакции окисления бетулина обусловлена, главным образом, природой твердой подложки, в том числе ионизованным состоянием частиц алюминия в изучаемой среде. На поверхности гранул Al_2O_3 в среде ацетона при малом содержании воды, наряду с Al^{3+} , существуют сольватированные и гидратированные ионы, главным образом $[\text{Al}(\text{OH})_2]^+6$.

На поверхности влажного оксида алюминия возможно существование различных типов ионов алюминия, способных выступать не только в качестве адсорбционных и реакционных центров, но и переходить в раствор в виде Al^{3+} , который способен защищать кратную связь при C-20 – C-29 от окисления за счёт образования π – комплекса (рисунок 3).

Таким образом, окисление бетулина в водно-ацетоновой среде системой $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ на твердой подложке влажного оксида алюминия, также, как и в присутствии $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, при 15 – 25 °С позволяет получить бетулоновую кислоту с выходом 93 – 98 %. Сорбция соединений Cr (III) гранулированным оксидом алюминия в процессе синтеза бетулоновой кислоты позволяет рационально удалять из реакционной смеси токсичные соединения Cr (III).

⁶ Greenwood, N.N. Chemistry of Elements. Vol. 1 / N.N. Greenwood, A. Ernschaw. – Binom : Moscow. Russia, 2008. – 601 p.

Контроль реакции окисления бетулина системой $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ в водно-ацетоновой среде в присутствии ионов алюминия осуществляли также с использованием УФ – спектрофотометрии по поглощению бихромат - ионов в области $\lambda_{max} = 350 - 370$ нм. Установлено, что для данных реакционных смесей оптическая плотность (A) при фиксированной длине волны подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера. Учитывая тот факт, что молекула бетулина не поглощает в этой области длин волн, значения оптической плотности характеризуют свободную концентрацию бихромат - ионов, не вовлеченных в реакцию с бетулином. Соответственно, изменения оптической плотности отражают концентрацию промежуточных соединений, образованных бетулином с бихромат ионами, например, хромсодержащих эфиров⁷.

Изменения поглощения бихромат - ионов во времени изучали в исходном растворе при $\tau = 2 - 4$ мин и из отобранных проб реакционной смеси в процессе синтеза (рисунок 7).

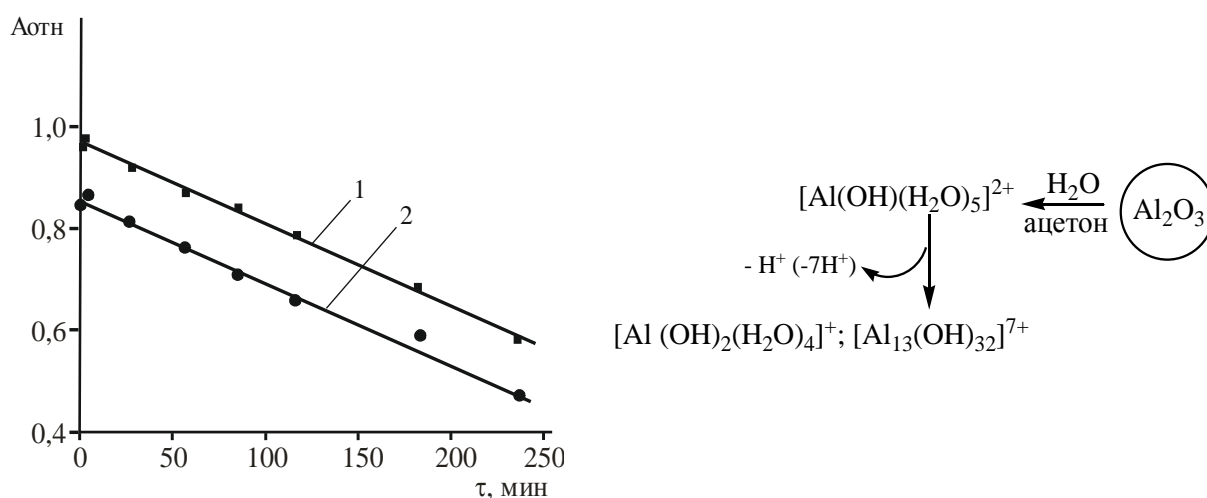


Рисунок 7. Динамика изменения оптической плотности $A = f(\tau)$ при 360 нм в реакционной смеси при условиях: 1 – гранулы Al_2O_3 ; $C^0_{\text{бетулина}} = 2.86$ ммоль/л, $v_{Cr^{6+}}/v_{\text{бетулина}} = 3$, $m_{Al_2O_3}/m_{\text{бетулина}} = 6$; 2 – в присутствии $Al_2(SO_4)_3$; $C^0_{\text{бетулина}} = 2.01$ ммоль/л; $v_{Cr^{6+}}/v_{\text{бетулин}} = 3$; $m_{\text{бетулин}}/m_{Al_2(SO_4)_3} = 10$

⁷ Lee, D.G. Kinetics of the chromic acid oxidation of alcohols in aqueous acetone solutions / D.G. Lee, W.L. Downey, R.M. Maass // Canadian Journal of chemistry. – 1968. – Vol. 46. – P.441 – 449.

В реальных условиях синтеза при отборе проб интенсивность поглощения этой полосы уменьшается вдвое за 1.5 – 2 ч (рисунок 7). При этом конверсия бетулина составляла 100 %, а образующийся осадок представлял собой бетулоновую кислоту.

Концентрационную зависимость $A = f(C_{\text{бетулин}})$ изучали при постоянной концентрации окислительной системы ($K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$) и $Al_2(SO_4)_3$. Оптическая плотность при $\lambda_{\text{max}} = 350$ нм линейно уменьшается при увеличении концентрации бетулина (рисунок 8) в течение 1 – 2 минут после добавления бетулина, тогда как продукты реакции еще не образуются (ВЭЖХ контроль).

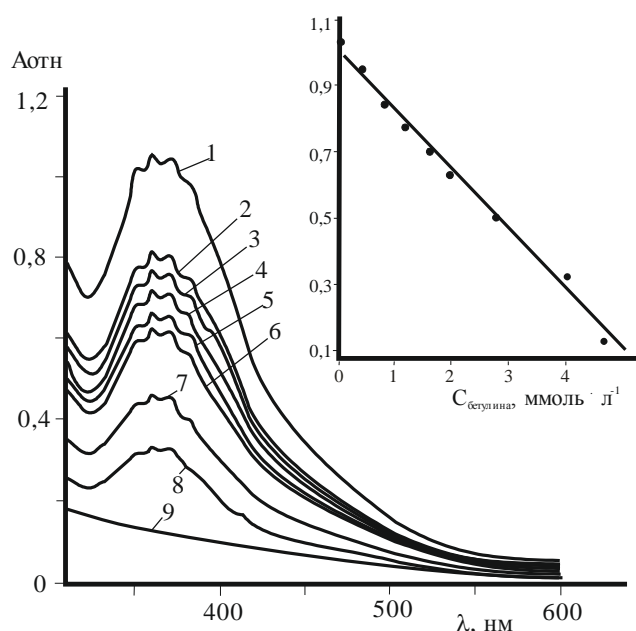


Рисунок 8. УФ – спектр реакционной смеси: $C_{K_2Cr_2O_7} = \text{const} = 6.05$ ммоль/л; $C_{Al_2(SO_4)_3} = \text{const} = 0.27$ ммоль/л. Исходной концентрации бетулина соответствуют кривые (ммоль/л) 1 – 0, 2 – 0.40, 3 – 0.80, 4 – 1.21, 5 – 1.61, 6 – 2.01, 7 – 2.82, 8 – 4.03, 9 – 6.01. На врезке изображено увеличение оптической плотности (A): $A = f(C_{\text{бетулин}})$

Уменьшение оптической плотности, означающее снижение концентрации бихромат - ионов в системе в условиях отсутствия продуктов реакции, можно объяснить быстрым первоначальным образованием эфиров дихромо-

вой кислоты с бетулином (а, б) и затем диспропорционированием эфиров с образованием промежуточных соединений, содержащих Cr^{4+} и Cr^{5+} 8,9:

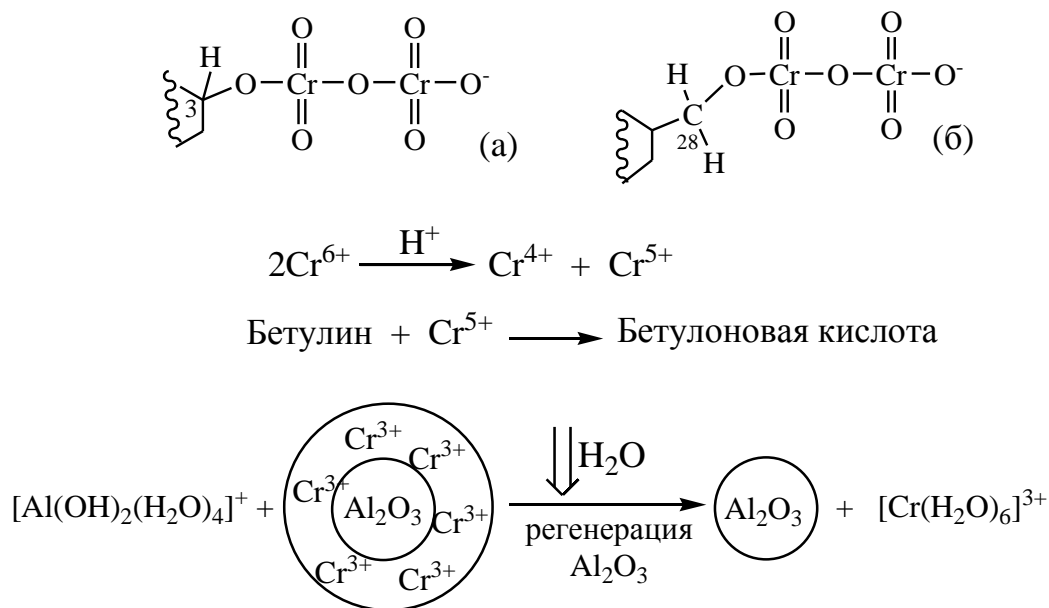


Схема 3. Схема удаления ионов Cr^{3+}

Сорбция токсичных соединений $\text{Cr}(\text{III})$ на поверхности гранул оксида алюминия, позволяет использовать сырец бетулоновой кислоты без дополнительной очистки для получения бетулиновой кислоты.

ВЫВОДЫ

1. Разработан препаративный синтез бетулоновой кислоты селективным окислением бетулина системой $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{H}_2\text{SO}_4$ (трёхкратный мольный избыток окислителя к субстрату) в водно-ацетоновой среде (соотношение ацетона и воды 6 : 1) в присутствии кислот Льюиса: Al^{3+} и Zn^{2+} или $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$, $\text{H}_4[\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}]$ ($5 \cdot 10^{-9} - 5 \cdot 10^{-8}$ моль/л) при температуре 15 – 25 °С. Выход бетулоновой кислоты 93 – 98 % в течение 1.5 – 3 ч.

⁸ Oxidation of aliphatic primary alcohols by tetrakis(pyridine) silver dichromate – a kinetic and mechanistic approach / A. Daiya, D. Sharma, M. Baghmar, P. Mishra, S. Sharma, V. Sharma // Eur. Chem. Bull. – 2012. – 1(3-4). P.75 – 80.

⁹ Kinetic and mechanistic study of oxidation of ester by $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ / S. Hussaina, B.R. Agrawalb, S.B. Pakharec, M. Farooquic // International Journal of Chemistry Research. – 2011. – Vol 2. – Issue 2. – P. 810.

2. Выявлены условия высокоселективного (100 %) окисления бетулина $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ до бетулонового альдегида на силикагеле: молярный избыток окислителя по отношению к субстрату не должен превышать 1.5; процесс необходимо проводить на влажном силикагеле в водно-ацетоновой (1 : 2) среде при комнатной температуре в течение 10 – 30 мин.

3. Впервые предложен экологичный высокоселективный синтез бетулоновой кислоты с выходом 93 – 98 % окислением бетулина $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ на влажном оксиде алюминия, позволяющий утилизировать токсичный Cr(III).

4. Окисление бетулина порошкообразным пероксидом никеля в щелочной среде протекает преимущественно по кратной связи в положении C-20 – C-29 с последующим гидролизом продуктов окисления.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Контролируемый синтез бетулонового альдегида окислением бетулина на силикагеле / И.В. Бурлова, Н.Б. Мельникова, И.Н. Клабукова, А.Н. Кислицын // Известия вузов. Химия и Химическая технология. – 2011. – Т. 54, № 11. – С. 46–49.

2. A Practical Synthesis of Betulonic Acid Using Selective Oxidation of Betulin on Aluminium Solid Support / N. Melnikova, I. Burlova, T. Kiseleva, I. Klavukova, M. Gulenova, A. Kislitsin, V. Vasin, B. Tanaseichuk // Molecules. – 2012. – Vol. 17. – P. 11849 – 11863.

3. Роль кислот Льюиса в регулировании селективности окисления бетулина в кислой и щелочной водно-ацетоновой среде / И.В. Бурлова, Т.М. Киселева, И.Н. Клабукова, М.В. Гуленова, Н.Б. Мельникова // Известия вузов. Химия и Химическая технология – 2012. – Т. 55, № 12. – С. 28–32.

4. Способ получения бетулиновой кислоты: пат. 2428426 Рос. Федерация: МПК51 С 07 J 53/00 / С 07 J 63/00 / Н.Б. Мельникова, И.В. Бурлова, А.Н. Кислицын, И.Н. Клабукова; заявитель и патентообладатель Н.Б. Мельнико-

ва, И.В. Бурлова, А.Н. Кислицын, И.Н. Клабукова. – № 2010109112/04; заявл. 11.03.2010; опубл. 10.09.2011, Бюл. № 25. – 9 с.

5. Бурлова, И.В. Особенности синтеза новых эффективных БАД пищевого назначения на основе бетулина и его производных / И.В. Бурлова, Н.Б. Мельникова // Труды IV Межвузовской студенческой научно-практической конференции «Актуальные проблемы инновационного развития промышленности: перспективы, стратегии, задачи». – Нижний Новгород. – 2010. – 272 с.

6. Жильцова, О.Е. Синтез и оценка проницаемости через липидную мембрану гиполипидемического и гепатопротекторного вещества – бетулоновой кислоты / О.Е. Жильцова, И.В. Бурлова // Тезисы докладов «Современное решение актуальных научных проблем в медицине. IX Юбилейная сессия молодых ученых и студентов, посвященная 90 – летию Нижегородской медицинской академии». – Нижний Новгород. – 2010. – 284 с.

7. Бурлова, И.В. Синтез производных бетулина на твердой подложке и прогнозирование их биодоступности / И.В. Бурлова, О.Е. Жильцова // Труды молодых ученых по естественнонаучным дисциплинам «Нижегородская сессия молодых ученых». – Нижний Новгород. – 2010. – 153 с.

8. Бурлова, И.В. Синтез производных бетулина гетерогенным окислением на оксиде алюминия / И.В. Бурлова // Сборник материалов Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Актуальные проблемы органической химии». – Казань. – 2010. – 276 с.