



(51) МПК
A61K 31/015 (2006.01)
C07J 63/00 (2006.01)
C07J 53/00 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2011118847/15, 10.05.2011**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
10.05.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **10.05.2011**

(45) Опубликовано: **10.10.2012** Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: **RU 2269541 C1, 10.02.2008. RU 2246500**
C1, 20.02.2005. US 5804575 A, 08.09.1998.

Адрес для переписки:

**603005, г.Нижний Новгород, ул.
 Алексеевская, 1, зав. патентно-лицензионным
 отделом ГОУ ВПО НижГМА
 Минздравсоцразвития России Е.К. Павловой**

(72) Автор(ы):

**Мельникова Нина Борисовна (RU),
 Ушкова Татьяна Михайловна (RU),
 Кислицин Алексей Николаевич (RU),
 Клабукова Ирина Николаевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ
 ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
 ОБРАЗОВАНИЯ "НИЖЕГОРОДСКАЯ
 ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ
 АКАДЕМИЯ" МИНИСТЕРСТВА
 ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И
 СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
 РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (ГОУ ВПО
 НИЖГМА МИНЗДРАВСОЦРАЗВИТИЯ
 РОССИИ) (RU)**

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, в частности к способу получения бетулиновой кислоты. Способ получения бетулиновой кислоты, включающий диспергирование бетулина в донорном координирующем растворителе, окисление бетулина соединением хрома (VI) в

присутствии сульфата алюминия при определенных условиях, очистку полученной бетулоновой кислоты и ее восстановление борогидридом натрия в изопропиловом спирте до бетулиновой кислоты. Вышеописанный способ позволяет повысить выход целевого продукта. 4 з.п. ф-лы, 1 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/015 (2006.01)
C07J 63/00 (2006.01)
C07J 53/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2011118847/15, 10.05.2011**

(24) Effective date for property rights:
10.05.2011

Priority:

(22) Date of filing: **10.05.2011**

(45) Date of publication: **10.10.2012 Bull. 28**

Mail address:

**603005, g.Nizhnij Novgorod, ul. Alekseevskaja, 1,
zav. patentno-litsenziionnym otdelom GOU VPO
NizhGMA Minzdravsotsrazvitija Rossii E.K.
Pavlovoj**

(72) Inventor(s):

**Mel'nikova Nina Borisovna (RU),
Ushkova Tat'jana Mikhajlovna (RU),
Kislitsin Aleksej Nikolaevich (RU),
Klabukova Irina Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**GOSUDARSTVENNOE OBRAZOVATEL'NOE
UChREZhDENIE VYSShEGO
PROFESSIONAL'NOGO OBRAZOVANIJa
"NIZhEGORODSKAJa GOSUDARSTVENNAJa
MEDITsINSKAJa AKADEMIJa"
MINISTERSTVA ZDRAVOOKhRANENIJa I
SOTsIAL'NOGO RAZVITIJa ROSSIJSKOJ
FEDERATsII (GOU VPO NIZhGMA
MINZDRAVSOTsRAZVITIJa ROSSII) (RU)**

(54) METHOD OF OBTAINING BETULINIC ACID

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical industry, in particular to method of obtaining betulonic acid. Method of obtaining betulonic acid, including betulin dispersing in donor coordinating solution, oxidation of betulin by chrome

(IV) compound in presence of aluminium sulfate under specified conditions, purification of obtained betulonic acid and its reduction by sodium borohydride in isopropyl alcohol to betulonic acid.

EFFECT: method makes it possible to increase target product output.

5 cl, 1 tbl, 4 ex

RU 2 463 041 C1

RU 2 463 041 C1

Предлагаемый способ относится к области органической химии, а именно к получению природных биологических активных веществ, и может быть использован для получения бетулиновой кислоты.

5 Бетулиновая кислота представляет интерес для медицины и фармации как анти-ВИЧ-1 и противоопухолевое действующее вещество, а также тем, что ее производные обладают иммуностимулирующим, антиоксидантным, гепатопротекторным и противоязвенным действием (1). Бетулиновая кислота является природным биологическим активным веществом, содержащимся в коре и листьях многих
10 растений, но ее выделение из них малорентабельно из-за низкого содержания (около 0,1% от массы сухого сырья).

В настоящее время известны способы получения бетулиновой кислоты из бетулина - основного продукта переработки внешнего слоя коры берез *Betula* (бересты) и представляющего собой тритерпеновый спирт природного происхождения. При этом
15 большинство из известных способов являются достаточно сложными, включают использование большого количества разных видов органических растворителей, характеризуются длительностью отдельных стадий и относительно невысоким выходом бетулиновой кислоты по отношению к бетулину. Известен двухстадийный способ получения бетулиновой кислоты из бетулина, включающий на первой стадии окисление бетулина до бетулоновой кислоты хромовым ангидридом в уксусной
20 кислоте при 15-20°C в течение 10 минут, очистку полученной бетулоновой кислоты - основного продукта реакции окисления, от побочных продуктов, а именно экстракцию диэтиловым эфиром, промывку экстракта 10% раствором хлорида
25 натрия (NaCl), обработку экстракта последовательно гидроксидом натрия до образования натриевой соли бетулоновой кислоты и соляной кислотой для получения бетулоновой кислоты, удаление растворителя и перекристаллизацию бетулоновой кислоты, с последующим восстановлением бетулоновой кислоты до бетулиновой (2).

30 В результате выход бетулиновой кислоты составляет менее 50% (в расчете на исходный бетулин).

Недостатками данного способа являются низкий выход целевого продукта, а также сложность и продолжительность процесса, т.к. каждая стадия включает большой набор различных видов обработки и использование большого количества
35 органических растворителей (уксусной кислоты, диэтилового эфира, метилового спирта, тетрагидрофурана).

Наиболее близким к предлагаемому способу по совокупности существенных признаков и достигаемому техническому результату является известный способ
40 получения бетулиновой кислоты, выбранный авторами в качестве прототипа.

Данный способ осуществляют путем окисления бетулина, предварительно растворенного в ледяной уксусной кислоте, оксидом хрома (VI) в растворе уксусной кислоты в бетулоновую кислоту, очистку бетулоновой кислоты через натриевую соль путем разбавления реакционной смеси водным раствором NaCl, двойной экстракции
45 реакционной смеси диэтиловым эфиром, промывки эфирного экстракта водным раствором NaCl, обработки экстракта раствором, содержащим гидроксид натрия (NaOH), перевода натриевой соли бетулоновой кислоты в свободную бетулоновую кислоту, затем образовавшуюся натриевую соль бетулоновой кислоты в
50 растворе диэтилового эфира переводят в свободную бетулоновую кислоту и ее перекристаллизовывают, после чего бетулоновую кислоту восстанавливают борогидридом натрия в растворе диэтилового эфира до бетулиновой кислоты (3).

При этом выход целевого продукта составляет ~65% по отношению к исходному

бетулину.

Недостатком данного способа является невысокий выход целевого продукта, многостадийность и продолжительность процесса, а также использование большого количества органических растворителей на всех стадиях процесса.

Задачей предлагаемого изобретения является разработка способа получения бетулиновой кислоты, позволяющего достичь высокого выхода целевого продукта, простого по исполнению и не требующего использования большого количества органических растворителей.

Поставленная задача решается предлагаемым способом получения бетулиновой кислоты, включающем окисление предварительно подготовленного бетулина соединением хрома (VI), в частности оксидом хрома (VI), в растворе, очистку полученной бетулоновой кислоты и ее восстановление борогидридом натрия в органическом растворителе до бетулиновой кислоты, согласно изобретению перед окислением бетулин диспергируют в донорном координирующем растворителе, окисление бетулина осуществляют при температуре 15-35°C в течение 60-180 минут в присутствии сульфата алюминия ($Al_2(SO_4)_3$) при содержании его в реакционной смеси $0,4 \cdot 10^{-4}$ - $0,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л, для очистки полученной бетулоновой кислоты, жидкую фазу, содержащую бетулоновую кислоту, отделяют от осадка и разбавляют ее водой до образования дисперсии, затем полученную дисперсию фильтруют, осадок, представляющий собой бетулоновую кислоту, промывают водой, после чего бетулоновую кислоту восстанавливают борогидридом натрия в изопропиловом спирте до бетулиновой кислоты.

Предпочтительно, что в качестве донорного координирующего растворителя берут растворитель, который не подвергается окислению, а именно: ацетон, пиридин, диметилформамид, диэтиловый эфир.

Предпочтительно, что диспергирование бетулина в донорном координирующем растворителе осуществляют при воздействии ультразвука с частотой 20-50 кГц в течение 0,5-5 мин.

Предпочтительно, что в качестве соединения хрома (VI), наряду с оксидом хрома (CrO_3), используют или дихромат калия ($K_2Cr_2O_7$), или хромат калия (K_2CrO_4), или пиридиновый дихромат ($((C_5H_5NH)_2 Cr_2O_7^{2-})$), или хлорпиридиновый хромат ($((C_5H_5NH)^+ ClCrO_3^-)$).

Предпочтительно, что жидкую фазу разбавляют водой в 5-10 раз при комнатной температуре.

Новым техническим результатом предлагаемого способа является повышение выхода целевого продукта до 90-95% по сравнению с 65% у прототипа, сокращение числа операций, что упрощает способ получения и приводит к сокращению сроков его реализации, а также сокращение объемов использования органических растворителей и, как следствие, снижение загрязнения окружающей среды.

Данный технический результат обусловлен тем, что перед окислением бетулин диспергируют в донорном координирующем растворителе, окисление бетулина осуществляют при температуре 15-35°C в течение 60-180 минут в присутствии сульфата алюминия ($Al_2(SO_4)_3$) при содержании его в реакционной смеси $0,4 \cdot 10^{-4}$ - $0,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л, для очистки полученной бетулоновой кислоты жидкую фазу, содержащую бетулоновую кислоту, отделяют от осадка и разбавляют ее водой до образования дисперсии, затем полученную дисперсию фильтруют, осадок, представляющий собой бетулоновую кислоту, промывают водой, после чего

бетулоновую кислоту восстанавливают борогидридом натрия в изопропиловом спирте до бетулиновой кислоты.

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом.

Предварительно перед проведением реакции окисления бетулина его диспергируют в донорном координирующем растворителе, а именно ацетоне, или пиридине, или диметилформамиде, или диэтиловом эфире, предпочтительно при воздействии ультразвука с частотой 20-50 кГц в течение 0,5-5 мин, и затем к раствору бетулина добавляют водный раствор сульфата алюминия $Al_2(SO_4)_3$ при содержании его в реакционной смеси от $0,4 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹ до $0,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л и раствор соединения хрома (VI), а именно оксид хрома (CrO_3), или дихромат калия ($K_2Cr_2O_7$), или хромат калия (K_2CrO_4), или пиридиновый дихромат $((C_5H_5NH)_2 Cr_2O_7^{2-})$, или хлорпиридиновый хромат $((C_5H_5NH)^+ ClCrO_3^-)$, окисление бетулина осуществляют при температуре 15-35°C в течение 60-180 мин и по окончании реакции окисления полученную бетулоновую кислоту очищают путем отделения жидкой фазы, содержащей бетулоновую кислоту, от осадка и разбавления ее водой до образования дисперсии, после чего полученную дисперсию фильтруют, осадок, представляющий собой бетулоновую кислоту, промывают водой, после чего бетулоновую кислоту восстанавливают борогидридом натрия в изопропиловом спирте до бетулиновой кислоты.

При этом выход целевого продукта - бетулиновой кислоты - составляет 90-95%.

Примеры конкретного использования предлагаемого способа.

Пример 1.

Предварительно перед проведением реакции окисления бетулина 1 г бетулина диспергировали в 92 мл ацетона, при воздействии ультразвука с частотой 20 кГц в течение 5 мин, и затем к раствору бетулина добавляли водный раствор сульфата алюминия $Al_2(SO_4)_3$, при содержании его в реакционной смеси $0,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л, и раствор соединения хрома (VI), а именно оксида хрома (CrO_3), окисление бетулина осуществляли при температуре 15°C в течение 180 мин и по окончании реакции окисления полученную бетулоновую кислоту очищали путем отделения жидкой фазы, содержащей бетулоновую кислоту, от осадка и разбавления ее водой в 5 раз при комнатной температуре до образования дисперсии, после чего полученную дисперсию фильтровали, а осадок, представляющий собой бетулоновую кислоту, промывали водой и бетулоновую кислоту восстанавливали борогидридом натрия в изопропиловом спирте до бетулиновой кислоты.

При этом выход целевого продукта - бетулиновой кислоты - составил 93%. Селективность, выход и характеристика целевого продукта - бетулиновой кислоты - представлены в таблице.

Характеристики полученной бетулиновой кислоты:

ИК-спектр: 3419 (ш. ср.) ν O-H; 3070 (узк. сл.) ν =C-H; 2941 (ср. инт.), 2870 (узк. инт.) ν C-H_{as,s} углеродного скелета; 1697 (узк. инт.) ν C=O от COOH; 1641 (узк. ср.) ν C=C; 1454 (узк. инт.) δ O-H, 1375 (узк. инт.) δ CH_{3sy}; 1043 (узк. инт.), 1029, ν CH₂OH; 883 (узк. инт.) δ C=CH₂.

Спектр ЯМР ¹³C:

-CH₃: 27,21 (C23); 14,0 (C24); 14,2 (C25); 14,2 (C26); 12,7 (C27); 17,4 (C30);
-CH, -CH₂ (углеродного скелета): 38,54 (C1); 26,71 (C2); 39,06 (C4); 55,45 (C5); 16,41 (C6); 33,9 (C7); 40,3 42,25 (C8); 49,99 (C9); 38,32 (C10); 18,99 (C11); 24,87 (C12); 37,63 (C13); 42,04 (C14); 25,5 (C15); 28,14 (C16); 54,96 (C17); 46,65 (C18); 48,59 (C19); 150,38

(C20); 30,15 (C21); 31,76 (C22);
 -COOH: 177,2 (C28); C=O: 76,8 (C3); =CH₂: 109,2 (C29).

Спектр ПМР:

0,80 (с.) 24 - CH₃; 0,85 (с.) 23 - CH₃; 0,98 (с.) 27 - CH₃; 1,00 (с.) 25 - CH₃; 1,02 (с.) 26 -
 5 CH₃; 1,02-2,00 комплекс CH, CH₂; 1,68 (с.) 30 - CH₃; 2,28 (м.) 19 - H; 3,00 (2 д.) 3α - H;
 4,50 (с.) и 4,62 (с.) 29 - H.

t_{пл}=302-303°C.

Пример 2 осуществляли аналогично примеру 1, при этом бетулин диспергировали в
 10 диметилформамиде, при воздействии ультразвука с частотой 50 кГц в течение 0,5 мин,
 а окисление проводили дихроматом калия (K₂Cr₂O₇), при температуре 35°C в
 течение 60 мин, при содержании в реакционной смеси сульфата алюминия Al₂(SO₄)₃
 0,4·10⁻⁴ моль/л, а жидкую фазу разбавляли водой в 10 раз.

15 Выход и характеристика целевого продукта - бетулиновой кислоты представлены в
 таблице.

Пример 3 осуществляли аналогично примеру 1, при этом бетулин диспергировали в
 пиридине без воздействия ультразвука, а окисление проводили хроматом калия
 (K₂CrO₄), при температуре 35°C. Выход и характеристика целевого продукта -
 20 бетулиновой кислоты - представлены в таблице.

Пример 4 осуществляли аналогично примеру 1, при этом бетулин диспергировали в
 диэтиловом эфире без воздействия ультразвука, окисление проводили пиридиновым
 дихроматом калия ((C₅H₅NH)₂ Cr₂O₇²⁻), и концентрация сульфата алюминия
 25 Al₂(SO₄)₃ в реакционной смеси 0,4·10⁻⁴ моль/л, а жидкую фазу разбавляли водой в 10
 раз.

Выход и характеристика целевого продукта - бетулиновой кислоты представлены в
 таблице.

30

Данные о селективности и выходе целевого продукта в примерах 1-4				
№ примера	Характеристика полученной бетулиновой кислоты			
	Селективность, %	Выход, %	t _{пл} , °C	Спектр ЯМР ¹³ C
1	98	93	302-303	76,8 (C3); 150,38 (C20); 177,2 (C28); 109,6 (C29)
2	95	90	299-301	76,8 (C3); 150,3 (C20); 177,2 (C28); 109,6 (C29)
35 3	97	92	301-302	76,8 (C3); 150,3 (C20); 177,2 (C28); 109,6 (C29)
4	98	95	304-306	76,8 (C3); 150,3 (C20); 177,2 (C28); 109,6 (C29)

40 Как видно из полученных результатов, предлагаемый способ позволяет достичь
 выхода целевого продукта - бетулиновой кислоты - 90-95% по отношению к
 исходному бетулину, при простоте его исполнения и непродолжительном времени
 реализации, а также при незначительных объемах использования органических
 растворителей, и, как следствие, реализация предлагаемого способа практически не
 приводит к загрязнению окружающей среды.

45 Источники информации

1. Г.А.Толстикова, О.Б.Флехтер, Э.Э.Шульц и др. Бетулин и его производные. Химия
 и биологическая активность. Химия в интересах устойчивого развития, 2005, 13, с.1.
2. Ле Банг Шон, А.П.Каплун, А.А.Шпилевский. Синтез бетулиновой кислоты из
 бетулина и исследование ее солюбилизации с помощью липосом. Биоорганическая
 50 химия, 1998, т.24, №10, с.787-793.
3. Прототип. Патент РФ №2269541, заявка №2004137442/04, от 21.12.2004, на
 «Способ получения бетулиновой кислоты».

Формула изобретения

1. Способ получения бетулиновой кислоты, включающий окисление предварительно подготовленного бетулина соединением хрома (VI), в частности оксидом хрома (VI), в растворе, очистку полученной бетулоновой кислоты и ее восстановление борогидридом натрия в органическом растворителе до бетулиновой кислоты, отличающийся тем, что перед окислением бетулин диспергируют в донорном координирующем растворителе, окисление бетулина осуществляют при температуре 15-35°C в течение 60-180 мин в присутствии сульфата алюминия ($Al_2(SO_4)_3$) при содержании его в реакционной смеси $0,4 \cdot 10^{-4}$ - $0,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л, для очистки полученной бетулоновой кислоты, жидкую фазу, содержащую бетулоновую кислоту, отделяют от осадка и разбавляют ее водой до образования дисперсии, затем полученную дисперсию фильтруют, осадок, представляющий собой бетулоновую кислоту, промывают водой, после чего бетулоновую кислоту восстанавливают борогидридом натрия в органическом растворителе до бетулиновой кислоты.
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве донорного координирующего растворителя берут растворитель, который не подвергается окислению, а именно: ацетон, пиридин, диметилформамид, диэтиловый эфир.
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что диспергирование бетулина в донорном координирующем растворителе осуществляют при воздействии ультразвука с частотой 20-50 кГц в течение 0,5-5 мин.
4. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве соединения хрома (VI), наряду с оксидом хрома (CrO_3), используют или дихромат калия ($K_2Cr_2O_7$), или хромат калия (K_2CrO_4), или пиридиновый дихромат ($((C_5H_5NH)_2Cr_2O_7^{2-})$), или хлорпиридиновый хромат ($((C_5H_5NH)^+ ClCrO_3^-)$).
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что жидкую фазу разбавляют водой в 5-10 раз при комнатной температуре.

35

40

45

50