



## ЭРДЭМ ШИНЖИЛГЭЭНИЙ БҮТЭЭЛ

## Хусны үйснээс бетулин гарган авах технологийн судалгаа

Л. Энх-Амгалан, Л. Мөнхгэрэл, Б. Баярмаа\*

*Хими, химийн технологийн хүрээлэн, Шинжлэх ухааны академи, Улаанбаатар 13330, Монгол улс.*

\*E-mail: bbayarmaa@mas.ac.mn

Хүлээн авсан: 01.10.2020

Хянасан: 25.11.2020

Хэвлэлтэнд авсан: 27.11.2020

**Хураангуй:** Энэхүү судалгааны ажилд Хавтаг навчит хус (*Betula platyphylla*) модны үйснээс гарц өндөртэй, цэвэршил сайтай бетулиныг ялган авах өртөг багатай, цаг хугацаа хэмнэсэн арга зүйг сонгох зорилт тавьж ажилласан болно. Бетулиныг, хусны үйсийг тосгүйжүүлсэний дараа 96%-ийн этанолаар хандлах; шүлтжүүлсэн 96%-ийн этанолаар хандлах; шүлтийн гидролизэд оруулсны дараагаар 96%-ийн этанолаар хандлах гэсэн гурван хувилбараар хандалж гарган авсан. Туршсан гурван хувилбараас хусны үйсийг шүлтийн гидролизэд оруулсны дараагаар 96%-ийн этанолаар хандлах нь хамгийн тохиромжтой болохыг тогтоов. Дээрх хувилбараар 27%-ийн гарцтай бетулиныг ялган авч, цэвэршилтийг нь стандарт бетулинтэй харьцуулан нимгэн үеийн хроматографи, хайлах температур болон нил улаан туяаны спектрометрийн аргаар тодорхойлов. Шүлтийн гидролиз явуулсны дараагаар 96%-ийн этанолаар хандлах арга нь цаг хугацаа хэмнэсэн, өртөг багатай тул цаашид бетулиныг их хэмжээгээр ялган авч, хүнс, гоо сайхны үйлдвэрлэлд нэвтрүүлэхэд илүү тохиромжтой гэж үзлээ.

**Түлхүүр үг:** *Хавтаг навчит хус (Betula platyphylla), нимгэн үеийн хроматографи, хайлах температур, нил улаан туяаны спектрометр*

**ОРШИЛ**

Монгол оронд 12 зүйлийн хус мод ургадаг бөгөөд навчит модны дотроос хамгийн их тархацтай нь Хавтаг навчит хус мод (*Betula platyphylla*) юм. Хавтаг навчит хус мод нь Хэнтийн нурууны баруун хэсэг, Хангай нурууны зүүн өмнөд хэсэг, Ерөө голын сав газраар элбэг тохиолддог [1]. Монголчууд эрт дээр үеэс хус модоор гэрийн тавилга, мод, модон эдлэл, сав суулга, бэлэг дурсгалын зүйл хийхээс гадна уламжлалт анагаах ухаанд үе мөч, тулай, хомхой зэрэг өвчнийг эмчлэхэд өргөнөөр хэрэглэж байсан [2]. Хавтаг навчит хус модыг “Азийн цагаан хус” гэж нэрлэдэг ба Япон, Солонгос, Хятад, Дорнод Сибирьт өргөн тархсан бөгөөд БНХАУ-ын уламжлалт анагаах ухаанд үйсийг уушигны хатгалгаа, элэг цөсний үйл ажиллагаа муудах, бөөрний үрэвсэл, архаг бронхит зэрэг үрэвсэлт өвчнийг эмчлэхэд хэрэглэдэг [3]. Бетулин нь лупаны бүтэцтэй, тритерпеноидын ангилалд хамаардаг, хус модны үйсний гаднах цагаан өнгийг бүрдүүлэгч гол нэгдэл юм. Бетулины хэмжээ нь хусны төрөл зүйл, хөрсний найрлага, модны насжилт, бүс нутгийн байршил зэргээс хамаарч хуурай үйсний 10-35% орчим хувийг эзэлдэг байна [4]. Бетулины биологийн идэвхт шинж чанарыг үндэслэн хүнс, гоо сайхан болон эмнэлгийн салбарт өргөнөөр хэрэглэдэг. Тухайлбал, ариутгагч шинж чанар дээр нь тулгуурлан арьс, үс (шампунь), шүд арчилгаанд болон загатнааг багасгах ариутгалын

наалт, бинт, шархны лент хийхэд ашигладаг байна. Бетулин нь мөөгөнцрийн, бактерийн, вирусийн, үрэвслийн болон хорт хавдрын эсрэг үйлдэлтэй бөгөөд олон эмэнд тэсвэртэй хорт хавдрын эсийн (КВ -С2 эсвэл К562/Аdr) эсрэг идэвх үзүүлдэг болохыг эрдэмтэд тогтоосон байна [5]. Бетулин нь дархлаа дэмжих, холестерол болон тосны хүчлүүдийн биосинтезийг зохицуулах үйлчлэлтэй ба инсулины мэдрэг чадварыг дэмжих замаар чихрийн шижингийн II хэлбэрийн эмчилгээнд эерэг нөлөө үзүүлдэг [6-8]. Бид энэхүү судалгаандаа Хавтаг навчит хус модны үйснээс гарц өндөртэй, цэвэршил сайтай бетулиныг ялган авах өртөг багатай, цаг хугацаа хэмнэсэн арга зүйг сонгох зорилт тавьсан болно.

**СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ**

Хавтаг навчит хус (*Betula platyphylla*)-ны үйсний (газар унасан хусны үйс) дээжийг Төв аймгийн Дуган хаднаас түүж бэлтгэн судалгаанд ашигласан. Харьцуулах стандартаар бетулиныг (Bomei, purity  $\geq$  96%) ашигласан ба бусад ашигласан химийн бодис х.ц. ангиллынх байв.

**Судалгааны ажлын арга зүй:** Хусны үйсний химийн ерөнхий найрлагыг дараах аргуудаар тодорхойлов. Үүнд: чийглэг, үнслэг-жингийн, эслэгийг хүчил-шүлтийн хоёрлосон гидролизын, тос, тосонцор бодисыг Сокслетын, нийт нүүрс усыг Бертраны аргаар тодорхойлсон [9-10]. Бид судалгаандаа бетулиныг Н. Joshi [11] нарын тос, тосонцор бодисоос

салгасны дараа 96%-ийн этаноолоор, S.A. Kuznetsova [5] нарын шүлтгийн орчинд 96%-ийн этаноолоор, В.А.Левданский [12] нарын шүлтгийн гидролиз явуулсны дараагаар 96%-ийн этаноолоор тус тус хандалж гарган авсан. Үүнд:

*Тосгүйжүүлж, 96%-ийн этаноолоор хандлах.* 15 г хатааж нунтагласан хусны үйсийг Сокслетын аппаратанд петролейный эфирээр хандалж тос, тосонцор бодисоос салгана. Тосгүйжүүлсэн хусны үйсийг дахин Сокслетын аппаратанд 96%-ийн этаноолоор 40°C-д 72 цаг хандалж бетулин бүхий хандыг гарган авна. Цааш нь вакуум ууршуулагчаар өтгөрүүлсний дараа тасалгааны температурт хатаана.

*Шүлтжүүлсэн 96%-ийн этаноолоор хандлах.* 10 г хатааж нунтагласан хусны үйсийг жигнэж аваад 200 мл 96%-ийн этилийн спирт болон шүлтгийн уусмал (9 г КОН-ийг 35 мл нэрмэл ус)-ыг нэмж 6 цаг буцалгана. Цааш нь халуунаар нь Бюхнерийн шүүлтүүрээр шүүж авна. Шүүгдсийг 24 цаг тасалгааны температурт тавьж хонуулахад тунадас бууна. Тунадасыг угааж авсны дараа шүүгдсийг 2/3 хүртэл өтгөрүүлж саармаг болтол усаар угааж бетулиныг талсжуулж хатаана.

*Шүлтгийн гидролизэд оруулж 96%-ийн этаноолоор хандлах.* 1-3 мм хэмжээтэй жижиглэсэн хусны үйснээс 6 г жигнэж аваад 40 мл 25% -ийн калийн гидроксид нэмж 90 мин буцалгана. Цааш нь 70-75°C хүртэл хөргөөд 200 мл 96%-ийн этанол нэмж 15 минут буцалгана. Уусмалыг халуунаар нь шүүгээд, тасалгааны температурт бетулиныг талсжуулна. Бетулины талстыг ялгаж авсны шүүгдсийг өтгөрүүлэн нэрмэл усаар саармагжуулж бетулиныг тунадасжуулна. Дээрх гурван хувилбараар гарган авсан бетулиныг 96%-ийн этаноолоор дахин талсжуулж цэвэршил сайтай бетулиныг гарган авсан. Бетулины цэвэршилтийг стандарт бетулинтэй харьцуулан силуфол F<sub>254</sub> (QOCEC) ялтас дээр гексан:атилацетат (5:1, 2:1, 1:2 V/V) уусгагчийн систем бүхий нимгэн үеийн хроматографи (НҮХ) тавьж 5%-ийн H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, иодын уураар бетулины толбыг илрүүлж шалгасан. Хайлах температурыг Герман улсын МРМ-Н2 маркийн багажаар, функциональ бүлгийг ШУА-ийн ХХТХ-ийн Багажит анализын лабораторийн Врукер компанийн Alpha II нил улаан туяаны спектрометрийн багажаар стандарт бетулинтэй харьцуулж тодорхойлсон болно.

## ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Хавтаг навчит хусны модны үйсний химийн ерөнхий найрлагыг уламжлалт аргуудаар тодорхойлоход чийглэг 7.9%, үнслэг 6.4%, тос, тосонцор бодис 4.8%, эслэг 44.0%, нийт нүүрс ус 4.9%, уураг 7.9%-ийг тус тус эзэлж байсан. Хусны үйсний химийн ерөнхий найрлагын дүнгээс харахад бидний туршилтанд авсан дээжинд бетулин ойролцоогоор 35%-ийг эзлэх боломжтой гэж үзсэн. Зарим судлаачид модны төрөл зүйл, бүс нутгийн байршлаас хамаарч бетулин 45% [13] хүртэл агуулагддаг болохыг тогтоосон байдаг бөгөөд бид хусны үйсэнд зонхилох хувийг эзэлдэг бетулин 35% орчим нь бетулин байж болох юм гэж үзсэн.

Хусны үйсийг тостой болон тосгүйжүүлсэн байдлаар 96%-ийн этанол болон 10-25%-ийн шүлтгийн уусмалд гидролизэд оруулах замаар бетулиныг ялгадаг. Эдгээрийн зэрэгцээ хусны үйсийг шүлтжүүлсэн спиртийн уусмалд хандлах аргыг мөн хэрэглэдэг. Энэ нь түүхий эд дэх тос, давирхайг саванжуулахын хамтаар хандлагдсан фенол болон полифенолуудыг уусамтгай хэлбэрт шилжүүлдэг давуу талтай юм. Бид судалгаандаа дээрх үндсэн аргуудыг ашигласан ба ялгасан бетулины гарц болон цэвэршилтийн үзүүлэлтийг *Хүснэгт 1*-д үзүүлэв.

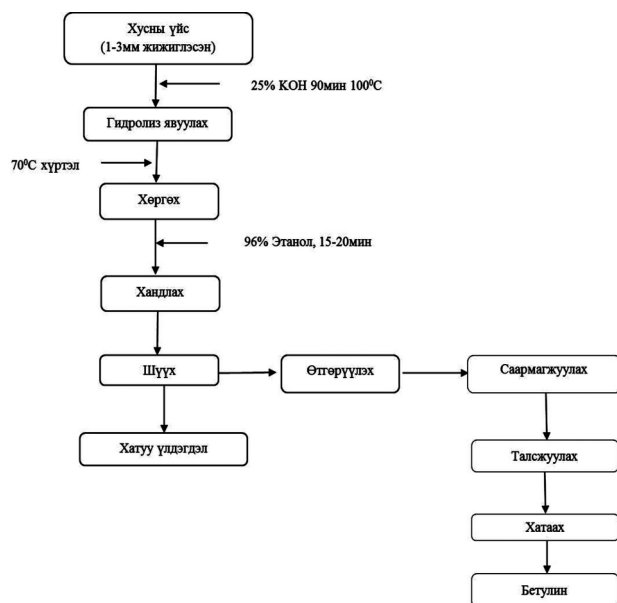
Манай орны хувьд Ч. Отгонбаяр [14] нарын судлаачид унасан Хавтаг навчит хус (*Betula platyphylla*) модны үйсийг шүлтжүүлсэн этанолын орчинд 5 цагийн турш хандалж, бетулин 25%, лупеол 5% агуулагдаж байгааг тус тус тодорхойлсон. Бид судалгаандаа дээрх аргыг ашиглан бетулиныг ялгахад гарц нь харьцангуй бага буюу 18.7% (*Хүснэгт 1*) байв. Энэ нь ашигласан түүхий эдийн чанартай холбоотой гэж үзэж байна. *Хүснэгт 1*-ээс харахад хусны үйсийг 25%-ийн калийн шүлтээр гидролизэд оруулсаны дараа 96%-ийн этилийн спиртээр хандлахад бусад аргатай харьцуулахад бетулины гарц хамгийн өндөр байна. Гарц өндөр байхын зэрэгцээ энэхүү арга нь шүлтжүүлсэн этанолын орчинд хандлах аргатай харьцуулахад хугацаа бага шаардсан, технологийн хувьд хялбар тул цаашид хусны үйснээс бетулиныг ялгахад тохиромжтой гэж үзлээ (*Зураг 1*).

Дээрх аргуудаар ялган авч цэвэршүүлсэн бетулиныг стандарт бетулинтэй (Bomei, purity≥96%)

*Хүснэгт 1. Бетулины гарц болон цэвэршилтийн үзүүлэлтүүд*

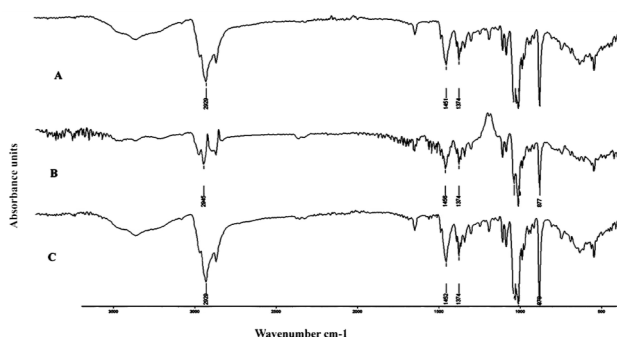
№	Гарган авсан арга	Гарц, %	Хайлах температур, °C	Rf, см
1	Тосгүйжүүлж 96 %-ийн этаноолоор хандлах	23	-	0.48
2	Шүлтжүүлсэн 96 %-ийн этаноолоор хандлах	18.7	256-258	0.46
3	Шүлтгийн гидролизэд оруулж 96 %-ийн этаноолоор хандлах	20-27	-	0.47
4	Бетулин (стандарт)	-	256-257	0.47

харьцуулан нимгэн үеийн хроматографи тавихад хэт ягаан туяаны (254/365 нм) гэрэлд флюоресценц өгөөгүй боловч оношлуур урвалж (иодын уур, 5 % хүхрийн хүчлийн уусмал)-аар үйлчлэхэд бетулины толбо илэрсэн. Ялган авсан бетулины Rf-ийг



Зураг 1. Шүлтийн гидролизэд оруулж 96%-ийн этанолаар бетулиныг ялгах аргын бүдүүвч

Хүснэгт 1-д үзүүлэв. Хэвлэлийн тоймд дурьдсанаар гексан:этилацетат (1:2 V/V) уусгагчийн системд бетулины Rf 0.47 см [11] гэж тэмдэглэсэн байдаг бөгөөд шүлтийн гидролизэд оруулан 96%-ийн этанолаар хандалж гарган авсан бетулин болон стандарт бетулин адил 0.47 см байгаа нь цэвэр нэгдэл болохыг харуулж байна. Бодисын цэвэршилтийг хайлах температураар тодорхойлдог. Цэвэр бетулин 256-257°C-ийн хэмд хайлдаг байхад бидний ялгасан бетулин 256-258°C-ийн хэмд бүрэн хайлж байгаа нь цэвэршилт сайтай болохыг илтгэж байна (Хүснэгт 1). Хусны үйснээс шүлтийн орчинд 96%-ийн этанолаар болон шүлтийн гидролизэд



Зураг 2. Ялган авсан бетулиныг стандарттай харьцуулсан нил улаан туяаны спектр

- A - Шүлтжүүлсэн 96%-ийн этанолаар хандалж авсан бетулин,  
 B - Стандарт бетулин,  
 C - Шүлтийн гидролизэд оруулж, 96%-ийн этанолаар хандалж авсан бетулин.

оруулсны дараагаар 96%-ийн этанолаар хандалж гарган авсан бетулин ба стандарт бетулины нил улаан туяаны спектрийн дүнг харьцуулан Зураг 2-т үзүүлэв. Нил улаан туяаны спектр (Зураг 2) дээр 700-900  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад органик цагирагт нэгдлүүдийн сул эрчмийн шингээлт, 1000-1200  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад ароматик -CH бүлгийн дундаж эрчмийн шингээлт, 1300-1400  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад алифатик -CH, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub> бүлгүүд, 1652  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад ароматик цагирагтай холбогдсон (C=C) бүлэг илэрсэн. Дан алифатик =CH<sub>2</sub> бүлэг нь 2929  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад эрчим сайтай шингээлтээр илэрсэн ба харин ассоциацлагдсан -OH гидроксильн бүлгүүдийн 3361  $\text{cm}^{-1}$  долгионы уртад шингээлт өгсөн нь стандарт бетулинтэй адил байна.

## ДҮГНЭЛТ

Хусны үйснээс бетулиныг гурван хувилбараар ялгахад түүхий эдийг шүлтийн гидролизэд оруулсны дараа 96%-ийн этанолаар хандалж хувилбар хамгийн тохиромжтой байсан. Бид хусны үйснээс цаг хугацаа хэмнэсэн, өртөг багатай энэхүү аргаар 27% хүртэл гарцтай, цэвэршил сайтай бетулиныг ялган авах боломжтойг тогтоосон бөгөөд цаашид хүнс, гоо сайхны үйлдвэрлэлд нэвтрүүлэх боломжтой гэж үзэв.

## АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

1. В.И. Грубов. (2008) *Монголын гуурст ургамал таних бичиг*, УБ, х.91-93.
2. Ц. Володя. (2014) *Монгол орны эмийн ургамлыг эмнэлэгт хэрэглэх аргачлал*. УБ. х.390-393.
3. Jiangsu New medical college. (1977) *Dictionary of Chinese Materia medica*, Shanghai People's Publishing House, p.1744-1786.
4. G.A. Tolstikov, O.B. Flekhter, E.E. Shultz et al. (2005) Betulin and Its derivatives. Chemistry and biological activity, *Chemistry for sustainable development*.13. p.1-29.
5. H.J. Eom, H.R. Kang, H.K. Kim et al. (2016) Bioactivity-guided isolation of antioxidant triterpenoids from *Betula platyphylla* var. japonica bark. *Bioorganic chemistry*. 66. p.97-101.
6. S.A. Kuznetsova, G.P. Skvortsova, Iu.N. Maliar et al. (2014) Extraction of betulin from birch bark and study of its physic-chemical and pharmacological properties. *Russian journal of bioorganic chemistry*. 40(7). p.742-747.
7. P.A. Krasutsky. (2006) Birch bark research and development. *Natural product reports*. 23. p.919-942.
8. P. Šiman, A. Filipov, A. Ticha et al. (2016) Effective method of purification of betulin from birch bark the importance of its purity for scientific and medicinal use. *PLOS ONE*. 11(5). p.1-14.

9. Д. Бадгаа, О. Батмөнх, Я. Жамъянсан, А. Чимидцогзол. (1975) *Ургамлын биохимийн шинжилгээний арга*. ШУА-ийн хэвлэл. УБ.
10. Д. Банзрагч, Ч. Баасанжамц. (2006) *Тосны химийн шинжилгээний аргууд*. Жинст харгана ХХК. УБ. х.7-15.
11. Н. Joshi, G.K. Saxena, V. Singh et al. (2013) Phytochemical investigation, isolation and characterization of betulin from bark of Betula Utilis. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 2(1). p.145-151.
12. В.А. Левданский, А.В. Левданский, Б.Н. Кузнецов. (2007) *Способ получения бетулина*. RU Patent 2340624 C1.
13. S.A. Kuznetsova, B.N. Kuznetsov, G.P. Skvortova et al. (2010) Development of the method of obtaining betulin diacetate and dipropionate from birch bark. *Chemistry for sustainable development*. 18. p.265-272.
14. Ч. Отгонбаяр, А. Чимэдцогзол, Р. Чук. (2017) Монгол орны хусны үйснээс бетулин, лупеол, ялгасан судалгааны дүн. *Proceedings of the Mongolian academy of sciences*. 57(03). х.67-74.

## Chemical and technological investigation on the isolation of betulin from birch bark

L. Enkh-Amgalan, L. Munkgerel, B. Bayarmaa\*

*Institute of Chemistry and Chemical Technology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar 13330, Mongolia.*

\*E-mail: bbayarmaa@mas.ac.mn

---

Received: 01.10.2020

Revised: 25.11.2020

Accepted: 27.11.2020

---

**Abstract:** The main objective of this work was to choose an effective, low-cost, and time-saving method for high-purity and high-yield betulin from the bark of the deciduous birch (*Betula platyphylla*). Betulin was extracted in three different variants, which including extracting birch bark with 96% ethanol after degreasing, extracting 96% ethanol with alkali, and extracting 96% ethanol after alkaline hydrolysis. From the three tested variants, it was found that the birch bark was extracted by 96% ethanol after alkaline hydrolysis, which can be to produce 27% yield and high-purity betulin. The purification of the extracted betulin was determined by thin-layer chromatography, melting point, and IR spectra compared with standard betulin. Extracting the 96% ethanol, after the alkaline hydrolysis method is more efficient and economical, therefore, this method is suitable for mass production and introduce into the food and cosmetic industries.

**Keywords:** *Betula platyphylla, thin layer chromatography, melting point, infrared spectroscopy*

---

© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

DOI: <https://doi.org/10.5564/bicct.v0i8.1476>