

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 301 038

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

**C07J 63/00** (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2007-36**  
(22) Přihlášeno: **15.01.2007**  
(40) Zveřejněno: **29.10.2008**  
(**Věstník č. 44/2008**)  
(47) Uděleno: **09.09.2009**  
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **21.10.2009**  
(**Věstník č. 42/2009**)

(56) Relevantní dokumenty:

RU 2 150 473 B; WO 98/55497 A.

Symon A. V., Veselova N. N., Kaplun A. P. a kol.: „Sintéz cyklopropanových prozvodnych betulinoj i betulinoj kislot i ich protivopucholěvaja aktivnost“, Bioorganičeskaja chimija, 2005, tom. 31, No3, s. 320-325; Kuzněcov B. N., Levdanskij B. A., Eskin A. N., Poležaeva N. M.: „Vydělenije betulina i suberina iz kory březzi, aktivirovanj v uslovijach „vzryvno avtogidroliza“, Chimija rastitel'no vo syrja, Barnaul, 1998, No1, s. 5-9.

(73) Majitel patentu:

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,  
Praha, CZ

I.Q.A., a. s., Praha, CZ

Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ

(72) Původce:

Šarek Jan RNDr. PhD., Praha, CZ

Svoboda Michal RNDr. CSc., Praha, CZ

Hajdúch Marian Doc. MUDr. PhD., Olomouc, CZ

(74) Zástupce:

Inventia s.r.o., Ing. Marta Gabrielová, patentový  
zástupce, Na Bělidle 3, Praha 5, 15000

(54) Název vynálezu:

**Způsob přípravy betulin-diacetátu z březové  
kůry z papíren**

(57) Anotace:

Řešení se týká způsobu přípravy betulin-diacetátu z březové kůry z papíren, při němž se březová kůra nanele, poté se smíchá s dvou- až dvacetinásobným objemem vody a zamíchá se tak, aby veškerá březová kůra byla smočena, potom se sesbírá podíl březové kůry, který plave na hladině, sesbíraný podíl březové kůry se vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 85 °C a poté se betulin obsažený ve vysušené březové kůře podrobí acetylaci, po acetylaci se březová kůra vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 100 °C a vzniklý betulin-diacetát se poté izoluje z březové kůry superkritickou extrakcí březové kůry oxidem uhličitým za tlaku 28 až 35 MPa a teploty 50 až 100 °C a následně se superkritický extrakt překrystalizuje pro přímé použití nebo další zpracování. Dalším zpracováním může být bazická hydrolyza překrystalovaného betulin-diacetátu na betulin.

**CZ 301038 B6**

## Způsob přípravy betulín–diacetátu z březové kůry z papíren

### Oblast techniky

5

Vynález se týká způsobu přípravy betulín–diacetátu z březové kůry z papíren.

### Dosavadní stav techniky

10

Betulin je přírodní pentacyklický triterpen, který je mimo jiné obsažen v proměnlivém množství také ve svrchních vrstvách kůry stromů břízy (*Betula sp.*). Betulin tvoří významnou komoditu zejména v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu pro své rozličné biologické účinky (Dzubak, P.; Hajduch, M.; Vydra, D.; Hustova, A.; Kvasnica, M.; Biedermann, D.; Markova, L.; Urban, M.; Sarek, J. Nat. Prod. Rep. 2006, 23, 394–411). Betulin je využíván buď samotný, nebo v podobě svých derivátů a sloučenin. Březová kůra je v obrovských množstvích velice dobře dostupná, protože tvoří odpad při výrobě papíru a celulosy v severských zemích, jelikož se zde zpracovávají téměř jen břízy (Jääskeläinen P.: Paperi- ja Puutavaralehti 1981, 10, 599–603). Denně je takto vyprodukováno na celém světě kolem 40 tun surové březové kůry, která je zatím využívána pouze jako levné topivo 5 až 7 USD/tuna, 7 až 11 MJ/kg (Krasutsky P.: Nat. Prod. Rep. 2006, 23, 919–942).

20

Rigidní skelet betulínu je složen z 30 atomů uhlíku a je substituovaný pouze dvěma hydroxylovými skupinami, a proto jako lipofilní organická sloučenina je téměř nerozpustný ve vodě a k jeho extrakci z přírodního materiálu je nutné použít jiná rozpouštědla. Nejčastěji jsou využívána různá organická rozpouštědla (např. butan–1–ol v RU2234936, toluen v RU2192879, petrolether v RU2194120, nebo nižší alkoholy – methanol, ethanol, isopropylalkohol v RU2674867), ve kterých je za horka betulín lépe rozpustný a po zahuštění extraktu z něj může vykristalovat. Při těchto rozpouštědlových extrakcích se nejčastěji mletá březová kůra extrahuje horkým rozpouštědlem, poté se extrakt zahustí a po ochlazení z něj vykristaluje surový betulín. Extrakce jsou často kombinovány s vypíráním louhy, aby se odstranily příměsi kyselin (US 2003 153 776, RU 2270202, RU 2270201). Pro přípravu různých derivátů betulínu je též využívána chemická modifikace březové kůry buď oxidačními činidly nebo kyselinami a vzniklé deriváty jsou přímo extrahovány rozpouštědly jako diethylether nebo dichlormethan a další přítomnými současně v reakční směsi s kůrou (US 6 280 778). Tato metoda především neumožňuje získat z březové kůry betulín a pak je velmi neekologická a neekonomická, protože využívá značné objemy toxických organických rozpouštědel a produkuje odpadní březovou kůru, která je kontaminovaná zplodinami oxidačních nebo jiných procesů. Další moderní možnosti, jak izolovat betulín z březové kůry, je její superkritická extrakce pomocí oxidu uhličitého nebo s příměsí methanolu, ethanolu nebo acetonu (CN1634972, US 2005 158 414), případně jsou tyto extrakční techniky kombinovány s aktivací kůry párou (RU 2074867) nebo přehřátou párou (Kuznetsov B. N., Levdanski V. A., Polezhaeva N. I.: Khim. Rastit. Syr'ya, 2004, 2, 21–24), případně v kombinaci s ultrazvukem (RU 2264411). Kromě extrakčních technik izolace betulínu je známa též metoda sublimační (Pakdel H., Murwanashyaka J. N., Roy C.: J. Wood Chem. Technol. 2002, 22, 174–155), vyznačující se použitím vysokého vakua a vysokých teplot, která poskytuje nízký výtěžek betulínu. Pouze jediný patent US 2005 158 414 se zabývá koncentrováním březové kůry o složku obsahující převážně vnější vrstvy kmene břízy a to na základě pneumatické separace stlačeným vzduchem nebo separace na sítu.

30

40

50

55

V současné době je na technologie obecně, ale na farmaceutické technologie zvláště, vyvíjen značný ekologický tlak, aby neohrožovaly životní prostředí, tzn. nepoužívaly toxické substance a neprodukovaly toxické odpady. Samozřejmě průmyslové technologie musí být současně ekologické a ekonomické. Právě zmiňované rozpouštědlové extrakční metody výroby betulínu z březové kůry nesplňují zejména ekologické parametry, tím že používají obrovské objemy toxických a hořlavých organických rozpouštědel, které nelze zcela regenerovat, takže vznikají také odpadní

rozpouštědla a současně kůra po extrakci je rovněž nasáklá těmito rozpouštědly. Navíc takto získávaný surový betulin má čistotu pouze 75 až 85 %, obsahuje velké množství balastních příměsí (triterpenoidy, mastné kyseliny, apod.), je zbarvený a je nutné ho před dalším použitím rafinovat, což je nákladné. Superkritické (SC) metody splňují vysoké ekologické nároky pouze částečně, neboť k dosažení uspokojivých extrakčních bilancí je nutné používat oxid uhličitý ve směsi s organickými rozpouštědly (např. ethanol, methanol; US 2005 158 414) a relativně vysoké extrakční časy. Tím je znesnadněna izolace betulinu z extraktu i recyklace organického rozpouštědla. SC extrakt má čistotu kolem 80 %, obsahuje značný podíl nízkomolekulárních látek – tuky, vosky, mastné kyseliny, suberinové kyseliny, triterpenoidy a též barviva. Vzhledem k vysokým provozním nákladům SC extrakce a skutečnosti, že SC extrakt je také nutné rafinovat, se stává tato metoda velmi nákladnou.

Z výše uvedených důvodů je zřejmé, že zmiňované technologie výroby důležitého triterpenu betulinu nejsou optimální, protože nespĺňují vysoké ekologické anebo ekonomické požadavky kladené na moderní technologické procesy. Uvedené nevýhody řeší předložené řešení, které spojuje superkritickou extrakci s chemickou modifikací výchozí suroviny.

### Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je způsob přípravy betulin–diacetátu z březové kůry z papíren a jeho případného zpracování na betulin, jehož podstata spočívá v tom, že se březová kůra namele, poté se smíchá s dvou– až dvacetinásobným objemem vody a zamíchá se tak, aby veškerá březová kůra byla smočena, potom se sesbírá podíl březové kůry, který plave na hladině, sesbíraný podíl březové kůry se vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 85 °C a poté se betulin obsažený ve vysušené březové kůře podrobí acetylaci, po acetylaci se březová kůra vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 100 °C a vzniklý betulin–diacetát se poté izoluje z březové kůry superkritickou extrakcí březové kůry oxidem uhličitým za tlaku 28 až 35 MPa a teploty 50 až 100 °C a následně se superkritický extrakt překrystaluje pro přímé použití nebo další zpracování.

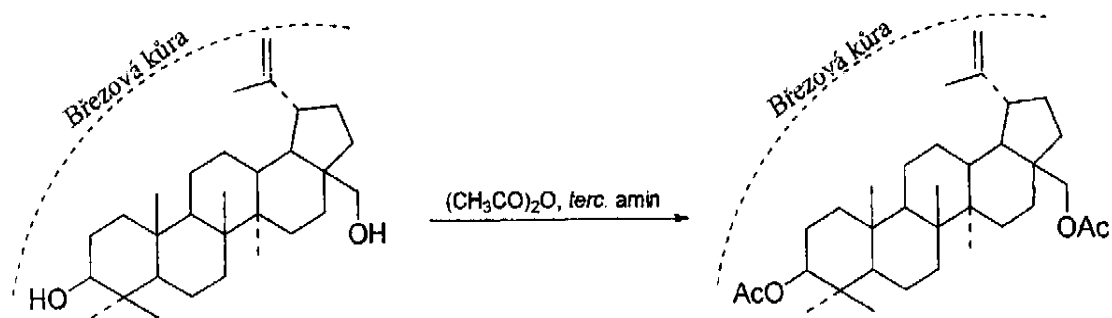
Znakem vynálezu je, že se březová kůra namele na částice o velikosti 5 až 10 mm, s výhodou na částice o velikosti 6 až 8 mm.

Znakem vynálezu dále je, že se březová kůra mele nožovým mlýnem se šikmým stříhem.

Ve výhodném provedení předloženého vynálezu se při smíchání namleté kůry s dvou– až dvacetinásobným objemem vody přidá 0,01 až 0,1 % obj. tenzidu.

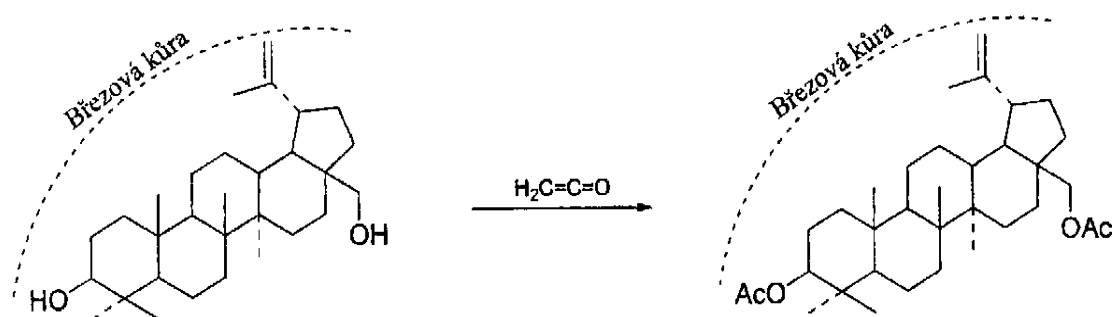
Březová kůra ze severských papíren obsahuje průměrně 4 až 6 % hmotn. betulinu, protože obsahuje značný podíl prachových částic, dřeva a větví. Před vlastním mletím březové kůry je proto nezbytné ji od těchto podílů vytrít. Poté se březová kůra musí namlít, s výhodou na částice o velikosti 5 až 10 mm, výhodněji na částice o velikosti 6 až 8 mm. Vzhledem k houževnatému a měkkému charakteru kůry se pro mletí nejlépe hodí nožové mlýny se šikmým stříhem, které kůru účinně semelou na požadovanou zrnitost. Naopak šrotovníky a kladívkové mlýny jsou nevhodné, protože mletí je velice pomalé. Takto semletá březová kůra má obsah betulinu průměrně 10 až 12 % hmotn., což je pro další zpracování velice málo a kůru je proto potřeba předtím rafinovat, aby se obsah betulinu zvýšil. Namletou březovou kůru lze rafinovat smícháním s dvou– až dvacetinásobným objemem vody, ve výhodném provedení s přídatkem 0,01 až 0,1 % obj. tenzidu, a dokonalým zamícháním tak, aby veškerá surovina byla smočena. Podíl, který plave na hladině, se sesbírá a po vysušení má obsah betulinu 21 až 24 % hmotn., kdežto podíl u dna nádoby obsahuje většinou do 3 až 4 % hmotn. betulinu. Touto plavící procedurou se získá přibližně 25 až 30 % březové kůry, která obsahuje už 21 až 24 % hmotn. betulinu a je vhodná pro další zpracování.

Znakem předloženého vynálezu je, že betulín obsažený v březové kůře se acetyluje na betulín-diacetát acetanhydridem v přítomnosti terciárního aminu (např. triethylaminu, pyridinu, aminopyridinu, dimethylaminopyridinu, *N,N*-dimethylanilinu nebo *N,N*-diethylanilinu):



5 Ve výhodném provedení je terciárním aminem pyridin.

Znakem jiného provedení předloženého vynálezu je, že betulín obsažený v březové kůře se acetyluje ketenem:



10 Acetylace podle předloženého vynálezu dojde k převedení betulínu přítomného v březové kůře na betulín-diacetát, který je díky své nižší polaritě mnohem snáze superkriticky extrahovatelný (nižší teplota a čas extrakce) a také velice snadno přečistitelný pouhou krystalizací. Navíc se tímto procesem získá přímo betulín-diacetát, který se pro účely chemických syntéz jinak musí  
15 připravovat z betulínu. Naopak pro potřeby farmaceutického a kosmetického průmyslu se volný betulín ve velmi čisté podobě snadno získá hydrolyzou betulín-diacetátu.

Znakem vynálezu je dále to, že superkritickou extrakci takto chemicky modifikované březové  
20 kůry oxidem uhličitým za tlaku 28 až 35 MPa a teploty 50 až 100 °C podle předloženého vynálezu je možno provést například v superkritickém extrakčním zařízení zobrazeném na obr. 1. Získaný superkritický extrakt obsahuje průměrně 85 až 87 % hmotn. betulín-diacetátu a jedná se o špinavě bílý prášek.

Znakem vynálezu je také krystalizace superkritického extraktu, kterou se získá betulín-diacetát  
25 jako bílý prášek o čistotě průměrně 95 až 97 %, což zcela dostačuje pro chemické syntézy nebo jeho hydrolyzu na betulín. Krystalizaci lze provést z rozpouštědla vybraného ze skupiny zahrnující chloroform,  $C_1$  až  $C_5$  alkoholy, butanon a jejich směsi, s výhodou z butanonu nebo ze směsi chloroformu a methanolu. Volný betulín je možné získat v čistotě >98 % pouhou bazickou hydrolyzou betulín-diacetátu. Hydrolyzu lze provést např. alkalickými hydroxidy, v  $C_1$  až  $C_5$  alkoholech nebo s výhodou v jejich směsích s alifatickými  $C_6$  až  $C_8$  nebo aromatickými  $C_6$  až  $C_8$   
30 uhlovodíky.



## Příklad 1

## Stupeň 1

## 5 Rafinace březové kůry

Do válcového kotlíku, opatřeného hřídelovým mícháním a vypouštěcím ventilem, bylo napuštěno 200 l vody o teplotě 40 až 50 °C, přidáno 40 ml kationaktivního nebo anionaktivního tenzidu. Poté bylo spuštěno míchání a byla zvolna přidáváno 40 kg mleté březové kůry (velikost zrna 6 až 8 mm) takovou rychlostí, jakou je kůra smáčena. Po přidání celého množství březové kůry bylo 10 mícháno ještě dalších 10 min, načež bylo míchadlo zastaveno. Po 15 min byl podíl kůry, který plave na hladině nádoby, stažen, separován a ponechán vykat. Rafinovaná kůra byla vysušena při 50 až 60 °C v horko vzdušné sušárně. Bylo získáno 10,9 kg (27,3 %) rafinované kůry, která obsahuje dle HPLC ethanolického extraktu 21 až 24 % hmotn. betulinu.

15

## Stupeň 2 – první provedení

## Chemická modifikace březové kůry acetanhydridem

20 Do válcového kotlíku s vypouštěcím ventilem, opatřeného uzavíratelným víkem, bylo nasypáno 20 kg rafinované březové kůry získané v příkladu 1 a přilito 55 l acetanhydridu obsahujícího 0,1 až 1,0 % obj. pyridinu tak, aby veškerá kůra byla ponořena pod hladinou. Obsah nádoby byl poté promíchán míchadlem a následně byla nádoba uzavřena. Acetylační reakce trvala 5 dní, přičemž 25 během prvních tří dnů se obsah reakční nádoby samovolně zahřívá na 30 až 35 °C. Po uvedené době byla veškerá kapalina z nádoby vypuštěna výpustným ventilem a do kotlíku bylo přidáno 60 l vody o teplotě 40 až 50 °C a směs byla dobře rozmíchána míchadlem a následně nádoba opět uzavřena víkem. Po dalších 5 dnech byla kapalina opět vypuštěna a kůra promyta ještě 50 l studené vody a následně vysušena v horkovzdušné sušárně při teplotě 60 až 80 °C. Bylo získáno celkem 19,3 kg acetylované březové kůry, která obsahuje dle HPLC analýzy superkritického 30 extraktu 15 až 18 % hmotn. betulin–diacetátu.

## Stupeň 2 – druhé provedení

## Chemická modifikace březové kůry ketenem

35

Do duplikovaného skleněného reaktoru s vtavenou fritou opatřeného zespona přívodem plynného média a nahoře odvodem plynných zplodin bylo nasypáno 400 g rafinované vysušené březové kůry z příkladu 1 a poté byla vsádka nepřímou vyhřátá parním ohřevem na teplotu 50 °C. Poté byl 40 zaváděn po dobu 30 min proud ketenu, generovaný z acetonu ketenovou lampou (Williams J. W., Hurd Ch.: J. Org. Chem. 1940, 5, 122–125). Po ukončení zavádění ketenu byla do reaktoru zaváděna vodní pára po dobu 10 min. Následně byl reaktor rozebrán a acetylovaná kůra byla na filtru promyta vodou a vysušena v horkovzdušné sušárně při teplotě 60 až 80 °C. Bylo získáno celkem 411 g acetylované březové kůry, která obsahuje dle HPLC analýzy superkritického extraktu 19 až 22 % hmotn. betulin–diacetátu.

45

## Stupeň 3

## Superkritická extrakce chemicky modifikované březové kůry

50

Nerezová extrakční vložka o objemu 100 ml byla naplněna chemicky modifikovanou březovou kůrou (23 g) a vložena do extraktoru 6 superkritického extrakčního zařízení podle obrázku 1. Po uzavření extraktoru 6 byl ze zásobníku 1 napuštěn kapalný oxid uhličitý na trasu ke kompresoru 2, ze kterého byl dopraven do vyrovnávací nádrže 3 a následně dalším kompresorem 21 dopraven až do ohříváče 4, kde byl ohřát na teplotu 75 °C při tlaku 29 až 30 MPa (měřeno tlakoměrem 5). Takto zahřátý a stlačený oxid uhličitý byl poté přiváděn do extraktoru 6, ve kterém je 55

uložena extrakční vložka. Po dosažení pracovního tlaku 29 až 30 MPa v extraktoru 6 (tlakoměr 51) je oxid uhličitý odváděn přes soustavu ventilů a chladiče 7 do separátoru 8, kde nastává jeho expanze (tlakoměr 53), přičemž v separátoru 8 se hromadí superkritický extrakt a oxid uhličitý je recyklován zpátečkou 10 do vyrovnávací nádrže 3. Tímto je uzavřen koloběh oxidu uhličitého v zařízení. Takto byla surovina extrahována v superkritické extrakční aparatuře oxidem uhličitým za tlaku 29 až 30 MPa, teploty 75 °C po dobu 3 h. Na konci extrakce byl v separátoru získán bílý práškovitý extrakt o hmotnosti 3,47 g (15,1 %), který podle HPLC analýzy obsahuje 81 až 86 % hmotn. betulin–diacetátu.

#### 10 Stupeň 4

##### Krystalizace surového superkritického extraktu

7,80 kg superkritického extraktu připraveného postupem podle příkladu 4 bylo ve skleněném duplikovaném reaktoru, opatřeném hřídelovým míchadlem, zpětným chladičem a výpustným ventilem, rozpuštěno za varu v celkem 37 l butanonu. Po rozpuštění všeho materiálu byl roztok za míchání zahustěn na celkový objem 28 l, přičemž bylo ukončeno zahřívání. Při teplotě roztoku 65 °C byla do roztoku přidána krystalizační očka betulin–diacetátu a při dosažení teploty 50 °C bylo míchání zastaveno. Po ochlazení na laboratorní teplotu byly vyloučené krystaly odsáty na procesní nuči a promyty 1 l butanonu. Po vysušení v horkovzdušné sušárně při teplotě 60 až 70 °C bylo získáno 5,54 kg (71 %) betulin–diacetátu o t.t. 222 až 223 °C,  $[\alpha]_D^{+22}$  (CHCl<sub>3</sub>; 0,4 g/100 ml), který má dle HPLC analýzy čistotu 97,5 až 98,1 %. <sup>1</sup>H NMR spektrum získaného betulin–diacetátu měřené v CDCl<sub>3</sub> je následující: 0,84 s, 0,84 s, 0,85 s, 0,97 s, 1,03 s, 1,68 s, 6 x 3H (6 x CH<sub>3</sub>); 2,04 s, 3 H, 2,07 s, 3 H (2x OAc); 2,44 ddd, 1 H (J' = 11,4, J'' = 10,9, J''' = 5,8, H–19); 3,85 d, 1 H (J = 11,1, H–28a); 4,25 dd, 1 H, (J' = 11,1, J'' = 1,4, H–28b); 4,47 m, 1 H (H–3α); 4,59 m, 1 H (I J = 3,4, H–29E); 4,69 m, 1 H (Σ J = 2,1, H–29Z). Zahuštěním matečného louhu na objem 10 l byl po naočkování a ochlazení získán druhý podíl krystalického betulin–diacetátu, který byl rovněž odsát na procesní nuči a promyt 0,5 l isopropylalkoholu. Po vysušení v horkovzdušné sušárně při teplotě 60 až 70 °C bylo získáno ještě 1,02 kg (13 %) betulin–diacetátu o t.t. 222 až 224 °C,  $[\alpha]_D^{+22}$  (CHCl<sub>3</sub>; 0,4 g/100 ml), který má dle HPLC analýzy čistotu 96,8 až 97,2 %. Celkový výtěžek krystalizace je tedy 6,56 kg betulin–diacetátu (84 %).

#### 35 Příklad 2

##### Příprava vysoce čistého betulinu z betulin–diacetátu

Ve skleněném duplikovaném reaktoru, opatřeném hřídelovým míchadlem, zpětným chladičem, vtokovou trubicí a výpustným ventilem, bylo za míchání rozpuštěno 2,00 kg betulin–diacetátu z příkladu 5 ve směsi 10 l toluenu a 8 l ethanolu obsahujícího 700 g hydroxidu draselného. Reakční směs byla refluxována 2 h, načež byla zahorka přefiltrována přes PP plachetku a filtrát byl naočkován krystaly čistého betulinu. Po úplném ochlazení byl vykrytalovaný betulin odsát na procesní nuči, promyt 3 l ethanolu, 3 l 50% ethanolu a 30 l vařící vody a na závěr 5 l vařící destilované vody. Krystalický betulin byl vysušen v horkovzdušné sušárně při teplotě 70 až 75 °C po dobu 48 h. Bylo získáno 1,12 kg (66 %) betulinu ve formě jemného krystalického prášku o t.t. 256 až 258 °C,  $[\alpha]_D^{+16}$  (10% obj. CH<sub>3</sub>OH v CHCl<sub>3</sub>; 0,35 g/100 ml), který má dle HPLC čistotu 98,9 až 99,1 %. <sup>1</sup>H NMR spektrum získaného betulinu měřené v CDCl<sub>3</sub> s přídavkem 10 % obj. CD<sub>3</sub>OD je následující: 0,76 s, 0,83 s, 0,97 s, 0,98 s, 1,02 s, 1,68 s, 6 x 3H (6 x CH<sub>3</sub>); 2,39 ddd, 1 H (J' = 10,98, J'' = 10,8, J''' = 5,8, H–19β); 3,19 dd, 1 H (J' = 11,1, J'' = 5,2, H–3α); 3,33 dd, 1 H (J' = 11,0, J'' = 1,2, H–28a); 3,80 dd, 1 H, (J' = 10,8, J'' = 1,8, H–28b); 4,58 m, 1 H (Σ J = 6,5, H–29E); 4,68 m, 1 H (Σ J = 2,9, H–29Z). <sup>13</sup>C NMR spektrum získaného betulinu měřené v CDCl<sub>3</sub> s přídavkem 10 % obj. CD<sub>3</sub>OD je následující: 14,74, 15,34, 15,96, 16,09, 18,28, 19,07, 20,81, 25,19, 27,02, 27,37, 27,97, 29,15, 29,73, 33,95, 34,21, 37,14, 37,29, 38,69, 38,84, 40,90, 42,70, 47,77, 47,77, 48,74, 50,38, 55,27, 60,53, 78,97, 109,68, 150,46. Zahuštěním mateč-

ného louhu na objem 8 l byl po naočkování a ochlazení získán druhý podíl krystalického betulinu, který byl rovněž odsát na procesní nuči a promyt stejně jako první podíl. Po vysušení v horkovzdušné sušárně při teplotě 70 až 75 °C po dobu 48 h bylo získáno ještě 0,46 kg (27 %) druhého podílu betulinu o t.t. 256 až 257 °C,  $[\alpha]_D + 16$  (10% obj. CH<sub>3</sub>OH v CHCl<sub>3</sub>; 0,35 g/100 ml), který má dle HPLC analýzy čistotu 98,7 až 99,0 %. Celkový výtěžek hydrolyzy je tedy 1,58 kg betulinu (93 %).

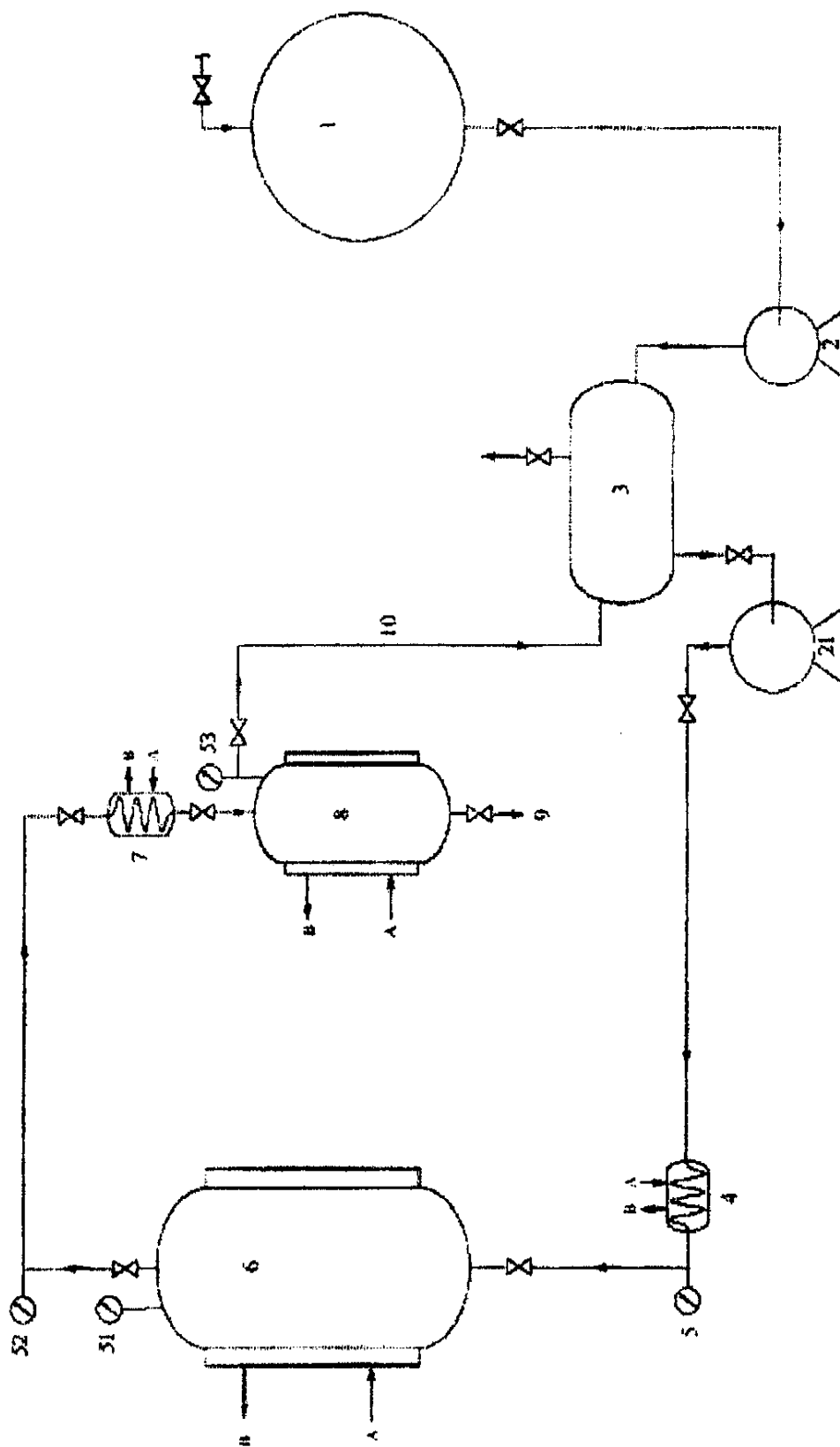
### Průmyslová využitelnost

Způsobem podle vynálezu lze z odpadní březové kůry z papíren v průmyslovém měřítku ekologicky a ekonomicky výhodně získat velmi čistý betulin-diacetát a jeho hydrolyzou pak vysoce čistý betulin pro použití ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu a v chemických syntézách.

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy betulin-diacetátu z březové kůry z papíren, **v y z n a ě n ý t í m**, že se březová kůra namele, poté se smíchá s dvou- až dvacetinásobným objemem vody a zamíchá se tak, aby veškerá březová kůra byla smočena, potom se sesbírá podíl březové kůry, který plave na hladině, sesbíraný podíl březové kůry se vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 85 °C a poté se betulin obsažený ve vysušené březové kůře podrobí acetylaci, po acetylaci se březová kůra vysuší při teplotě v rozmezí 50 až 100 °C a vzniklý betulin-diacetát se poté izoluje z březové kůry superkritickou extrakcí březové kůry oxidem uhličitým za tlaku 28 až 35 MPa a teploty 50 až 100 °C a následně se superkritický extrakt překrystaluje pro přímé použití nebo další zpracování.
2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že se březová kůra namele na částice o velikosti 5 až 10 mm.
3. Způsob podle nároku 2, **v y z n a ě n ý t í m**, že se březová kůra namele na částice o velikosti 6 až 8 mm.
4. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, **v y z n a ě n ý t í m**, že březová kůra se mele nožovým mlýnem se šikmým stříhem.
5. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, **v y z n a ě n ý t í m**, že při smíchání namleté kůry s dvou- až dvacetinásobným objemem vody se přidá 0,01 až 0,1 % obj. tenzidu.
6. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **v y z n a ě n ý t í m**, že betulin obsažený v sesbíraném podílu březové kůry se acetyluje acetanhydridem v přítomnosti terciárního aminu.
7. Způsob podle nároku 6, **v y z n a ě n ý t í m**, že terciárním aminem je pyridin.
8. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **v y z n a ě n ý t í m**, že betulin obsažený v sesbíraném podílu březové kůry se acetyluje ketenem.
9. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 8, **v y z n a ě n ý t í m**, že superkritický extrakt se překrystaluje z rozpouštědla vybraného ze skupiny zahrnující chloroform, C<sub>1</sub> až C<sub>5</sub> alkohol a butanon nebo jejich směsi.
10. Způsob podle nároku 9, **v y z n a ě n ý t í m**, že rozpouštědlo je vybráno ze skupiny zahrnující butanon a směs chloroformu a methanolu.





Obr. 1: Supercritické extrakční zařízení