

УДК 547.973

ФЛАВОНОИДЫ ПОЧЕК ТОПОЛЯ БАЛЬЗАМИЧЕСКОГО *POPULUS BALSAMIFERA* L. И СПОСОБЫ ИХ ВЫДЕЛЕНИЯ

© С.М. Адекенов, Г.М. Байсаров*, И.А. Хабаров, В.В. Поляков

Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»,
ул. М. Газалиева, 4, Караганда, 100009 (Казахстан),
e-mail: Info@phyto.kz

Почки тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) являются источником биологически активных соединений, среди которых мажорными считаются флавоноиды. Целью нашего исследования является определение оптимального способа извлечения баротермическим способом, этанолом и сверхкритическим диоксидом углерода, выделение и очистка флавоноидных компонентов почек тополя бальзамического. В статье приведены результаты изучения баротермического, спиртового извлечения и экстракции сверхкритическим диоксидом углерода сырья почек тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.). Все три метода позволяют извлекать биологически активные флавоноиды. При этом полнота извлечения флавоноидов почек тополя бальзамического достигается баротермическим способом. В свою очередь, экстракция сверхкритическим диоксидом углерода позволяет направленно извлекать пиностробин с высоким содержанием в сумме веществ почек тополя бальзамического. При хроматографическом разделении, используя в качестве элюентов петролейный эфир: этилацетат, получают выход флавоноидов пиностробина, тектохризина, пиноцембрина и хризина сравнительно выше, чем при использовании других систем в качестве элюентов. Таким образом, для препаративного производства биологически активных флавоноидов пиностробина, тектохризина, пиноцембрина и хризина нами определены оптимальные условия извлечения баротермическим методом и хроматографического разделения суммы веществ почек тополя бальзамического.

Ключевые слова: *Populus balsamifera* L., пиностробин, пиноцембрин, тектохрезин, хрезин, баротермический способ, спиртовая экстракция, извлечение сверхкритическим диоксидом углерода.

Введение

Перспективными источниками многих биологически активных веществ, в том числе флавоноидов, являются растения семейства *Salicaceae* (Ивовые), в частности, рода *Populus* L. (тополь). Химическое изучение растений данного рода свидетельствует о перспективности поиска новых лекарственных веществ на основе полифенольных соединений из видов *Populus* [1–4].

В почках тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) установлено содержание фенольных соединений: пиностробина (1), тектохризина (2), пиноцембрина (3), хризина (4), апигенина, кемпферола, кверцетина, мирицетина, галангина, изальпинина, изорамнетина, рамнетина, 2,6-дигидрокси-4'-метоксихалкона и 4',6'-дигидроксиалкона. В экстракте почек тополя обнаружены также протокатеховая, галловая, транс-коричная, п-кумаровая, феруловая и кофейная кислоты. Доминирующими флавоноидами почек то-

поля бальзамического являются пиностробин (1) и пиноцембрин (3) [5, 6].

Среди методов выделения флавоноидов из почек тополя бальзамического следует отметить известные способы [7–10], где в качестве экстрагента используют этиловый спирт. При этом доля спирторастворимых веществ составляет в среднем 35–45% от массы сырья в зависимости от фазы развития дерева [7].

Адекенов Сергазы Мынжасарович – доктор химических наук, профессор, генеральный директор,
e-mail: arglabin@phyto.kz

Байсаров Габиден Маратович – магистр технических наук, заведующий лабораторией химии фенольных соединений, e-mail: g.baisarov@phyto.kz

Хабаров Илья Анатольевич – кандидат фармацевтических наук, заведующий лабораторией технологии фитопрепаратов, e-mail: i.khabarov@phyto.kz

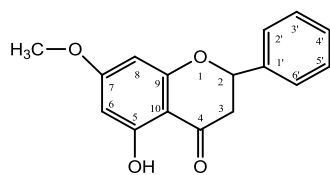
Поляков Владислав Васильевич – доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории химии фенольных соединений,
e-mail: Vpolyakov44@rambler.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

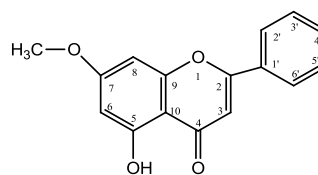
Выбор растворителя для экстракции, как правило, зависит от полярности флавоноида. Более полярные растворители используются для экстракции гликозидов и антоцианов, менее полярные – для агликонов. Изофлавоны, флаваноны, дигидрофлаванолы, сильно метилированные флавоны или флавонолы экстрагируют бензолом, хлороформом или этилацетатом. Гликозиды, сильно гидроксильированные флавоноиды, ауруны, халконы легко переходят в спирты различной концентрации или в ацетон [11].

Большинство флавоноидов – твердые кристаллические вещества, окрашенные в желтый цвет. Все флавоноиды оптически активны, способны флуоресцировать в УФ-свете. Гликозилированные формы, как правило, хорошо растворимы в воде, нерастворимы или малорастворимы в органических растворителях [12]. Агликоны флавоноидов, как правило, растворяются в ацетоне, спиртах и практически нерастворимы в воде. Многие метоксилированные флавоноиды (например, пиностробин) растворяются в хлороформе [13].

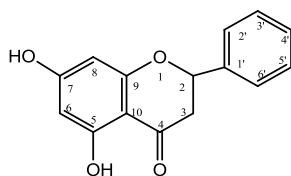
Флавоноиды пиностробин (1), тектохризин (2), пиноцембрин (3) и хризин (4) имеют аналогичный скелет, отличающийся содержанием гидроксильных и метоксильных групп в различных сочетаниях и наличием или отсутствием двойной связи при атомах C_2-C_3 . Электрический дипольный момент молекулы тектохризина составляет $\mu=6.6209$ D, а дипольный момент молекулы пиностробина составляет $\mu=2.1581$ D, что в сравнении с тектохризином уменьшилось практически в три раза. Наблюдаемое изменение объясняется отсутствием двойной связи при атомах C_2-C_3 , что приводит к делокализации электронной плотности по всей молекуле. Высокие дипольные моменты флавоноидов свидетельствуют об их растворимости в полярных растворителях (этанол, хлороформ, этилацетат), однако практически не растворимы в воде [14].



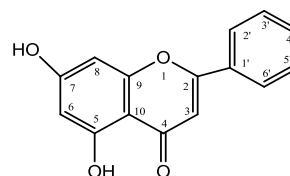
1



2



3



4

Описан способ, где почки тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) настаивают 65–96% этиловым спиртом в условиях дробной мацерации, сочетающей в себе настаивание при комнатной температуре 24 ч с последующим извлечением целевых веществ при нагревании не выше 80 °С в течение 1 ч и объединением первого и второго извлечений. Последовательно хроматографируют на различных сорбентах, используя в качестве элюентов петролейный эфир и хлороформ, при этом выделены пиностробин (1), тектохризин (2) пиноцембрин (3), хризин (4) и апигенин [15].

При химическом исследовании почек *Populus balsamifera* L. выделено шесть новых дигидрохалконов в виде пар рацематов и один в виде рацемической смеси. Структуры дигидрохалконов установлены на основе рентгеноструктурного анализа. Антибактериальную активность энантиомеров оценивали *in vitro* в отношении клеток стафилококков [16–18].

В сумме веществ *Populus balsamifera* L. содержится высокий уровень дигидрохалконов. Халконы могут превращены в флавоноиды, если присутствует изомераза. Однако если этот фермент отсутствует, то халконы могут накапливаться, и из них могут образовываться дигидрохалконы путем восстановления двойной связи халкона [19].

Состав гексановых и эфирных экстрактов почек двух видов тополя (*Populus balsamifera* и *Populus nigra*) исследовали методом ГХ-МС. В гексановых экстрактах зарегистрировано 54 соединения. Наибольшее их количество составляют сесквитерпены. Среди 56 компонентов эфирных экстрактов было обнаружено много алифатических кислот и гидроксикислот. Однако основная фракция состоит из фенолкарбоновых

кислот и их сложных эфиров. Было установлено, что хемотаксономические различия между *Populus balsamifera* и *P. nigra* наблюдаются в случае гексановых экстрактов, так и эфирных экстрактов почек [20].

Цель нашего исследования – определение оптимального способа извлечения (баротермический, экстракция этанолом и сверхкритическим диоксидом углерода), выделение и очистка флавоноидных компонентов почек тополя бальзамического.

Экспериментальная часть

Почки тополя бальзамического собраны в марте–апреле 2018 г. в окрестностях поселка Прибрежное, Северо-Казахстанская область, Республика Казахстан.

Основным критерием определения оптимального способа извлечения является количественный выход целевых веществ (пиностробин, тектохризин, пиноцембрин и хризин).

Извлечение суммы веществ из почек тополя баротермическим способом проводили при температуре 140 °С под вакуумом 10–15 мм ртутного столба в течение одного часа. Аппарат состоит из реактора (круглодонной колбы на 500 мл), сборника (двугорлой круглодонной колбы на 100–200 мл со встроенной в одно горло сеткой-фильтром), верхнего и нижнего термоэлементов (колбонагревателей) [2, 3].

Этанольную экстракцию проводили на аппарате Сокслета 96% этиловым спиртом.

Сверхкритическую флюидную экстракцию почек тополя бальзамического проводили с изменением давления в диапазоне от 15 до 35 МПа, температура – 60, 65 °С, продолжительность экстракции составляла 180 мин на установке УСФЭ 5/2 (ГОРО, Ростов-на-Дону, Россия).

Для выделения флавоноидов использовали силикагель марки КСК, используя различные системы растворителей (петролейный эфир – этилацетат, нефрас – этилацетат, петролейный эфир – бензол, бензол – этилацетат).

Количественное определение флавоноидов в полученных экстрактах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Hewlett Packard Agilent 1100 Series в изократическом режиме, используя в качестве подвижной фазы ацетонитрил–кислота уксусная в соотношении 50 : 50. Скорость подачи элюента – 0.5 мл/мин. Стальная колонка 150×4.6 мм. Сорбент – Zorbax SB-C₁₈, размер частиц – 5 мкм. Температура колонки – комнатная. Объем вводимой пробы – 20 мкл, детектирование образцов осуществляли УФ-детектором при 254, 289 нм.

Температуры плавления определяли на приборе «Hund Wetzlar». ИК-спектр снимают на приборе «Avatar 360 ESP». УФ-спектры – на «Cary 60 UV-Vis».

Контроль разделения и выделения соединений осуществляли методом ТСХ на пластинках Silufol (элюент петролейный эфир : этилацетат 4 : 2; проявление – опрыскивание 3%-ным раствором FeCl₃). Спектры ЯМР ¹H и ¹³C получены на спектрометре «JNM-ECA 500» с рабочей частотой – 500.13 МГц.

Обсуждение результатов

Основным ареалом произрастания в Республике Казахстан тополя бальзамического является Северо-Казахстанская область. Общая площадь лесов в Северо-Казахстанской области составляет 542.7 тыс. га (5.5% от общей площади территории), из них 504.16 тыс. га – посадки тополя бальзамического. В среднем с одного дерева можно заготовить 1–1.5 кг почек тополя бальзамического.

При рекогносцировочном обследовании по Северо-Казахстанской области выявлен лесочасток тополя бальзамического – 2.5 га вблизи поселка Прибрежное в экологически чистой зоне. Эксплуатационный запас сырья почек тополя составляет более 4 тонны в год, а годовой прирост тополиных насаждений – 15–20 м³/га.

Проведено сравнительное изучение выделения суммы экстрактивных веществ почек тополя бальзамического тремя способами: баротермическим, экстракцией этанолом и сверхкритическим диоксидом углерода.

Оптимальными условиями извлечения суммы веществ почек тополя баротермическим способом является температура 140 °С в течение одного часа. Понижение температуры приводит к снижению выхода суммы веществ и увеличению продолжительности его извлечения. Повышение температуры свыше 140 °С приводит к частичному пригоранию почек тополя и уменьшению выхода суммы веществ. Поэтому сумму веществ почек тополя получали баротермическим способом при температуре 140 °С под вакуумом 10–15 мм ртутного столба в течение 1 ч.

Экстракцию 96% этиловым спиртом почек тополя бальзамического проводили на аппарате Сокслета, позволяющем вести непрерывное извлечение сравнительно небольшими количествами экстрагента.

Оптимальными условиями экстракции сверхкритическим диоксидом углерода является следующий режим: давление – 25–30 МПа, температура – 60 °С, продолжительность экстракции – 180 мин.

Для сравнения эффективности методов выделения суммы экстрактивных веществ почек тополя проводили экстракцию 100 г сырья баротермическим способом, извлечением этанолом и экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода. Данные по содержанию пиностробина в экстрактах почек тополя бальзамического приведены в таблице 1.

Из таблицы 1 следует, что баротермический способ позволяет получить сумму веществ с содержанием пиностробина 9.9%, что выше, чем этанольное извлечение с содержанием пиностробина 8.3%. Однако экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода достигается сравнительно высокое содержание пиностробина (16.3%), чем в других методах.

Для дальнейшего изучения флавоноидов отобраны суммы веществ, выделенные баротермическим способом и извлечением сверхкритическим диоксидом углерода. Для определения содержания флавоноидов в сумме веществ почек тополя бальзамического использовали метод ВЭЖХ. Результаты представлены в таблице 2.

Как следует из таблицы 2, содержание флавоноидов тектохризина (2) и пиноцембрин (3), выделенных баротермическим методом, сравнительно выше, чем экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода. Также в CO₂-экстракте отсутствуют флавоноиды хризин (4) и апигенин, которые присутствуют в экстракте выделенных баротермическим методом. Такое качественное отличие связано с тем, что экстракция сверхкритическим диоксидом углерода позволяет выделять менее полярные соединения, такие как пиностробин (1), тектохризин (2) и пиноцембрин (3), при этом более полярные соединения полностью не извлекаются. Из этого следует, что полнота извлечения флавоноидов достигается баротермическим способом, и для препаративной наработки флавоноидов проведено разделение методом колоночной хроматографии суммы веществ почек тополя баротермического извлечения.

Проведено сравнительное изучение зависимости выхода целевых компонентов от растворителя при хроматографическом разделении и очистке суммы экстрактивных веществ почек тополя бальзамического.

Сумму экстрактивных веществ (500 г), выделенных баротермическим способом, хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК в соотношении сумма-носитель по массе (1 : 20), используя в качестве элюентов смесь петролейный эфир-этилацетат (2, 5, 10, 15%).

При элюировании смесью петролейный эфир–этилацетат (98 : 2) выделено вещество (I) массой 17.12 г. Выход составил 3.4%. Кристаллическое вещество состава C₁₆H₁₄O₄, с T_{пл} 96–99 °С (этилацетат). R_f 0.72 (система ТСХ петролейный эфир : этилацетат 4 : 2). Молекулярная масса 270.28 г/моль. Хорошо растворяется в диэтиловом эфире, хлороформе, этилацетате и ацетоне. Не растворимо в воде.

Таблица 1. Содержание пиностробина в сумме экстрактивных веществ почек тополя, выделенных баротермическим способом, этанолом и экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода

Способы выделения	Масса почек тополя, г	Масса суммы веществ, г	Содержание пиностробина, %	Среднее содержание пиностробина, %
Этанольное извлечение	100	30	8.8	8.3
	100	30	7.8	
	100	30	8.3	
Баротермический способ	100	25	10.3	9.9
	100	25	9.9	
	100	25	9.6	
Экстракция сверхкритическим диоксидом углерода	100	18.3	16.3	16.3

Таблица 2. Количественное содержание флавоноидов в сумме веществ из почек тополя бальзамического, выделенных баротермическим способом и экстракцией сверхкритическим диоксидом углерода

	Количественное содержание флавоноидов, %				
	Пиностробин	Тектохризин	Пиноцембрин	Хризин	Апигенин
Баротермический способ	9.9	2.89	4.85	3.46	1.21
Экстракция сверхкритическим диоксидом углерода	16.3	0.31	3.28	–	–

УФ-спектр (λ , нм, Ige, EtOH): 213 (4.64); 288 (4.48). ИК-спектр (ν , cm^{-1} , KBr): 3091 (ОН), 2981 (OCH_3), 2926, 2867 (валентные колебания CH , CH_2), 1650 ($\text{C}=\text{O}$), 1622, 1574, 1435 (ароматические кольца).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ , м.д., J/Гц): 2.82 (1H, дд, $J=4.0$, 16.0 Гц, H-3a), 3.08 (1H, дд, $J=12.0$, 16.0 Гц, H-3б), 3.80 (3H, с, OMe), 5.41 (1H, дд, $J=12.0$, 3.0 Гц, H-2), 6.06 (1H, с, H-6), 6.07 (1H, с, H-8), 7.40 (1H, м, H-4'), 7.37–7.47 (5H, м, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6') 12.15 (1H, с, OH).

Спектр ЯМР ^{13}C (125.76 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 43.47 (C-3), 55.79 (OMe), 79.32 (C-2), 94.37 (C-8), 95.24 (C-6), 103.24 (C-10), 126.24 (C-2', C-6'), 128.98 (C-3', C-5'), 138.48 (C-1'), 162.88 (C-5), 164.24 (C-10), 168.08 (C-7), 195.87 (C-4).

По данным ИК-, УФ-, ЯМР ^1H , ^{13}C спектров и физико-химическим константам и сравнением их с литературными данными [8], выделенное вещество (I) идентифицировано как флавоноид пиностробин (1).

При элюировании смесью петролейный эфир : этилацетат (95 : 5) выделено вещество II массой 2.5 г с $T_{\text{пл}}$ 176–178 °С (этилацетат). R_f 0.62 (система ТСХ петролейный эфир : этилацетат 4 : 2). Выход составил 0.5%. Молекулярная масса 268.26 г/моль. Хорошо растворяется в диэтиловом эфире, хлороформе, этилацетате и ацетоне. Не растворимо в воде.

УФ-спектр (λ , нм, Ige, EtOH): 212 (4.75), 269 (4.63). ИК-спектр (ν , cm^{-1} , KBr): 3069 (ОН), 2978 (OCH_3), 2921, 2844, (валентные колебания CH , CH_2), 1667 ($\text{C}=\text{O}$), 1609 ($\text{C}=\text{C}$), 1494, 1451, 1435 (ароматические кольца).

Масс-спектр (m/z , I (%)) 268 $[\text{M}]^+$ (3): (100), 239 (34), 225 (12), 138 (9), 120 (8), 95 (11), 69 (9), 51 (5).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ , (м.д.), J/Гц): 3.88 (3H, с, OCH_3), 6.37 (с, H-6) 6.50 (с, H-3), 6.66 (с, H-8), 7.49–7.56 (м, H-3', H-4', H-5'), 7.87–7.91 (м, H-2', H-6'). 12.73 (ОН при C-5).

Спектр ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 125.76 МГц, δ (м.д.): 92.78 (C-8), 98.29 (C-6), 105.81 (C-9), 105.97 (C-3), 126.39 (C-2', C-6'), 127.69 (C-4'); 129.19 (C-3', C-5'), 131.95 (C-1'), 157.89 (C-10), 162.27 (C-5), 164.08 (C-2), 165.69 (C-7), 182.61 (C-4). 55.93 (OMe).

По данным ИК-, УФ-, ЯМР ^1H , ^{13}C спектров и физико-химическим константам и сравнением их с литературными данными [8], выделенное вещество (II) идентифицировано как флавоноид тектохризин (2).

При элюировании смесью петролейный эфир : этилацетат (90 : 10) выделено вещество III массой 9.47 г с $T_{\text{пл}}$ 196–199 °С (этилацетат). R_f 0.56 (система ТСХ петролейный эфир : этилацетат 4 : 2). Выход составил 1.8%. Молекулярная масса 254.24 г/моль. Хорошо растворяется в диэтиловом эфире, хлороформе, этилацетате и ацетоне. Нерастворим в воде, гексане. УФ-спектр (λ , нм, Ige, EtOH): 211 (4.77), 290 (4.55). ИК-спектр (ν , cm^{-1} , KBr): 3091 (ОН), 1631 ($\text{C}=\text{O}$), 1584 ($\text{C}=\text{C}$), 1487, 1466 (ароматические кольца).

Масс-спектр (m/z , I (%)) 256 $[\text{M}]^+$ (100.0), 238 (6.3), 179 (73.3), 152 (67.2), 124 (29.5), 104 (14.5), 78 (11.2), 69 (14.3), 55 (2.9), 51 (5.5).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3 , δ , (м.д.), J/Гц): 2.82 (дд, $J=17.0$, 3.0 Гц, H-3б), 3.09 (дд, $J=17.0$, 13.0 Гц, H-3а), 5.42 (дд, $J=13.0$, 3.0 Гц, H-2), 6.00 (с, H-6), 6.01 (с, H-8), 7.40–7.47 (5H, м, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 12.00 (ОН при C-5).

ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 125.76 МГц, δ (м.д.): 43.40 (C-3), 79.34 (C-2), 95.62 (C-6), 96.86 (C-8), 103.31 (C-10), 126.26 (C-2', C-6'), 129.01 (C-4'), 129.06 (C-3', C-5'), 138.30 (C-1'), 163.28 (C-7), 164.41 (C-9), 164.67 (C-5), 196.02 (C-4).

По данным ИК-, УФ-, ЯМР ^1H , ^{13}C спектров и физико-химическим константам и сравнением их с литературными данными [8], выделенное вещество (III) идентифицировано как флавоноид пиноцембрин (3).

При элюировании смесью петролейный эфир : этилацетат (85 : 15) выделено вещество IV массой 1.02 г. R_f 0.35 (система ТСХ петролейный эфир : этилацетат 4 : 2). Выход составил 0.2%. Кристаллическое вещество состава – $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ с $T_{\text{пл}}$ 276–278 °С (этилацетат). Выход составил 0.43%. Молекулярная масса – 254.24 г/моль. Хорошо растворяется в этиловом спирте, этилацетате. Не растворимо в воде, гексане.

УФ-спектр (λ , нм, Ige, EtOH): 211 (4.52), 268 (4.67), 312 (4.53). ИК-спектр (ν , cm^{-1} , KBr): 3552, 3504 (ОН), 2920 (валентные колебания CH , CH_2), 1657 ($\text{C}=\text{O}$), 1576, 1499, 1449 (ароматические кольца).

Масс-спектр (m/z , I (%)) 254 $[\text{M}]^+$ (100), 226 (22), 152 (22), 124 (17), 113 (12), 96 (7), 77 (7), 69 (11), 45 (6), 31 (10).

Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , (м.д.), J/Гц): 6.19 (1H, с, H-3), 6.48 (1H, с, H-6), 6.91 (1H, с, H-8), 7.5–7.6 (м, H-3', H-4', H-5'), 8.0–8.6 (м, H-2', H-6').

ЯМР ^{13}C (CDCl_3 , 125.76 МГц, δ (м.д.): 94.67 (C-6), 99.59 (C-8), 104.54 (C-10), 126.95 (C-2', C-6'), 129.01 (C-4'), 129.67 (C-3', C-5'), 131.29 (C-1'), 158.03 (C-7), 162.02 (C-9), 163.75 (C-2), 165.00 (C-5), 182.40 (C-4).

По данным ИК-, УФ-, ЯМР ^1H , ^{13}C спектров и физико-химическим константам и сравнением их с литературными данными [8], выделенное вещество (IV) идентифицировано как флавоноид хризин (4).

При сопоставлении строения флавоноидов пиностробина (1), тектохризина (2), пиноцембрина (3) и хризина (4) и величин удерживания выявлен ряд закономерностей, устанавливающих зависимость между строением и хроматографическим поведением флавоноидов. Так, величина удерживания снижается с увеличением гидроксильных групп, а метилирование гидроксильных групп вызывает повышение величины удерживания агликонов. Кроме того, отсутствие двойной связи $\text{C}_2\text{--C}_3$ увеличивает подвижность молекулы и вызывает повышение величины удерживания. Так, пиностробин (1) и тектохризин (2) содержат в своей структуре по одной метокси-, гидроксигрупп, однако у пиностробина (1) отсутствует двойная связь при $\text{C}_2\text{--C}_3$, вследствие чего пиностробин (1) сравнительно быстро перемещается по фронту растворителя, чем тектохризин (2), пиноцембрин (3) и хризин (4). Такая же закономерность относится и к молекулам пиноцембрина (3) и хризина (4), которые содержат две гидроксильные группы и отличаются наличием или отсутствием двойной связи $\text{C}_2\text{--C}_3$.

Сумму экстрактивных веществ (500 г), выделенных баротермическим способом, хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК в соотношении сумма-носитель (1 : 20), используя в качестве элюентов смесь нефрас–этилацетат (2%, 5%, 8%, 10%).

При элюировании смесью нефрас–этилацетат (98 : 2) выделен флавоноид пиностробин (1) массой 7.7 г с $T_{\text{пл}}$ 96–99 °С (этилацетат). Выход составил 1.54%.

При элюировании смесью нефрас–этилацетат (95 : 5) выделен флавоноид тектохризин (2) массой 2.2 г с $T_{\text{пл}}$ 175–178 °С (этилацетат). Выход составил 0.44%.

При элюировании смесью нефрас–этилацетат (92 : 8) выделен флавоноид пиноцембрин (3) массой 4.86 г с $T_{\text{пл}}$ 199–201 °С (этанол). Выход составил 0.97%.

При элюировании смесью нефрас–этилацетат (90 : 10) выделен флавоноид хризин (4) массой 0.54 г с $T_{\text{пл}}$ 276–279 °С (этанол). Выход составил 0.1%.

Сумму экстрактивных веществ (500 г), выделенных баротермическим способом, хроматографировали на колонке с силикагелем марки КСК в соотношении сумма-носитель (1 : 20), используя в качестве элюентов смеси: петролейный эфир–бензол (7 : 3; 9 : 1) и бензол–этилацетат (8 : 2; 4 : 6).

При элюировании смесью петролейный эфир : бензол (7 : 3) выделен флавоноид пиностробин (1) с выходом 2.8%.

При элюировании смесью петролейный эфир : бензол (1 : 9) выделен флавоноид тектохризин (2) с выходом 0.09%.

При элюировании смесью бензол–этилацетат (8 : 2) выделен флавоноид пиноцембрин (3) с выходом 0.04%.

При элюировании смесью бензол–этилацетат (4 : 6) выделен флавоноид хризин (4) с выходом 0.1%.

Таким образом, выход флавоноидов при хроматографическом разделении существенно изменяется в зависимости от элюентов. Так, при использовании в качестве элюентов системы петролейный эфир : этилацетат (98 : 2; 95 : 5; 92 : 8; 85 : 15) выход флавоноидов пиностробина (1), тектохризина (2), пиноцембрина (3) и хризина (4) сравнительно выше, чем при использовании других систем в качестве элюентов.

Выводы

Таким образом, проведено сравнительное изучение баротермического, спиртового извлечения и экстракции сверхкритическим диоксидом углерода сырья почек тополя бальзамического. Установлено, что количественное выделение флавоноидов достигается баротермической обработкой почек тополя бальзамического. В свою очередь, экстракция сверхкритическим диоксидом углерода позволяет селективно извлекать пиностробин с высоким содержанием в экстракте.

При сопоставлении строения молекул флавоноидов пиностробина (1), тектохризина (2), пиноцембрина (3) и хризина (4) с растворимостью и полярностью важную роль играет наличие метокси-, гидроксигрупп, а также присутствие или отсутствие двойной связи при $\text{C}_2\text{--C}_3$. Так, пиностробин (1) и тектохризин (2) содержат в своей структуре по одной метокси-, гидроксигрупп, однако у пиностробина отсутствует двойная связь при $\text{C}_2\text{--C}_3$, вследствие чего пиностробин менее полярный флавоноид, чем тектохризин (2), пиноцембрин (3) и хризин (4). Пиноцембрин (3) и хризин (4) содержат в своей структуре две гидроксигруппы, при

этом в молекуле пиноцембринина отсутствует двойная связь при C₂–C₃, из-за чего пиноцембрин (3) сравнительно полярней чем тектохризин (2) и менее полярен чем хризин (4). Выделенные флавоноиды хорошо растворяются в этиловом спирте, этилацетате, хлороформе.

Таким образом, для препаративного производства биологически активных флавоноидов пиностробина (1), тектохризина (2), пиноцембринина (3) и хризина (4) нами определены оптимальные условия извлечения из почек тополя бальзамического баротермическим методом и хроматографического разделения выделенной суммы веществ на колонке с силикагелем марки КСК, используя в качестве элюентов петролейный эфир–этилацетат (98 : 2; 95 : 5; 92 : 8; 85 : 15).

Список литературы

1. Поляков В.В., Адекенов С.М. Биологически активные соединения растений рода *Populus* L. и препараты на их основе. Алматы, 1999. 160 с.
2. Патент № 022691 (KZ). Способ получения гепатопротекторного средства на основе пиностробина из почек тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) / С.М. Адекенов. 29.02.2016.
3. Поляков В.В. Масло тополя бальзамического (*Populus balsamifera*) и производные мирицетина, обладающие биологической активностью: дис. ... докт. хим. наук. Караганда, 1999. 279 с.
4. Поляков В.В., Альжанов А.Е., Адекенов С.М. Препараты из тополя бальзамического, содержащие фенольные соединения и опыт их применения // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты. М., 2012. С. 634–638.
5. Wollenweber E., Asarawa U., Scnillo D. A novel caffeic acid derivatives and other constituents of *Populus bud's* excretion and propolis (bee-glue) // Z. Naturforschung. 1987. Vol. 42. N9/10. Pp. 1030–1034. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97307-2.
6. Сенцов М.Ф., Браславский В.Б., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Бакулин В.Т., Правдивцева О.Е. Сравнительное исследование компонентного состава почек некоторых видов *Populus* L. методом ВЭЖХ // Растительные ресурсы. 1997. Т. 33, вып. 2. С. 51–56.
7. Исаева Е.В., Рейсер Г.В., Бурдейная Т.М. К вопросу о комплексном использовании вегетативной части тополя // Химия и химическая технология. 2007. Т. 50, вып. 6. С. 53–55.
8. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Браславский В.Б. Флавоноиды почек *Populus balsamifera* L. // Химия природных соединений. 1990. №2. С. 272–273.
9. Куркин В.А., Браславский В.Б., Запесочная Г.Г. Исследование химического состава *Populus balsamifera* L. методом ВЭЖХ // Растительные ресурсы. 1993. Т. 29, вып. 3. С. 85–90.
10. Irwin A.P., Stephen F.D. Phenolic extractives of the leaves of *Populus balsamifera* and of *P. trichocarpa* // Phytochemistry. 1971. Vol. 10. Pp. 2844–2847. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97307-2.
11. Seshadri T.R. Isolation of flavonoid compounds from plant materials // The Chemistry of flavonoid compounds. London, 1962. Pp. 184–186.
12. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М., 1977. 240 с.
13. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск, 2007. 232 с.
14. Хасенов Б.Б., Ямовой В.И., Турдыбеков К.М., Тулеуов Б.И. Квантово-химическое исследование реакционной способности флавоноидов тектохризина, артемизетина и пиностробина // Химический журнал Казахстана. 2005. №3. С. 237–245.
15. Патент №2135201 (РФ). Способ получения настойки тополя бальзамического для лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей / В.Б. Браславский, В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, И.П. Жданов. 1998.
16. Lavoie S., Legault J., Simard F., Chiasson E., Pichette A. New antibacterial dihydrochalcone derivatives from buds of *Populus balsamifera* // Tetrahedron Letters. 2013. Vol. 54. Pp. 1631–1633. DOI: 10.1016/j.tetlet.2012.12.012.
17. Simard F., Legault J., Lavoie S., Pichette A. Balsacones D-I, dihydrocinnamoyl flavans from *Populus balsamifera* buds // Phytochemistry. 2014. Vol. 100. Pp. 141–149. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.12.018.
18. Simard F., Gauthier C., Chiasson E., Lavoie S., Mshvildadze V., Legault J., Pichette A. Antibacterial balsacones J–M, hydroxycinnamoylated dihydrochalcones from *Populus balsamifera* buds // Journal of Natural Products. 2015. Vol. 78(5). Pp. 1147–1153. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00155.
19. Greenaway W., May J., Whatley F.R. Flavonoid aglycones identified by gas chromatography-mass spectrometry in bud exudate of *Populus balsamifera* // Journal of Chromatography. 1989. Vol. 472. Pp. 393–400. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)94139-6.
20. Isidorov V.A., Vinogorova V.T. GC-MS Analysis of Compounds Extracted from Buds of *Populus balsamifera* and *Populus nigra* // Z. Naturforschung. 2003. Vol. 58. Pp. 355–360. DOI: 10.1515/znc-2003-5-612.

Поступила в редакцию 2 апреля 2020 г.

После переработки 8 апреля 2020 г.

Принята к публикации 11 апреля 2020 г.

Для цитирования: Адекенов С.М., Байсаров Г.М., Хабаров И.А., Поляков В.В. Флавоноиды почек тополя бальзамического *Populus balsamifera* L. и способы их выделения // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 181–188. DOI: 10.14258/jcrpm.2020027602.

Adekenov S.M., Baysarov G.M., Khabarov I.A., Polyakov V.V. FLAVONOIDS OF POPULUS BALSAMIFERA L. BUDS AND METHODS FOR THEIR ISOLATION*

International research and production holding «Phytochemistry», ul. M. Gazalieva, 4, Karaganda, 100009 (Kazakhstan), e-mail: BaisarovG@mail.ru

The buds of *Populus balsamifera* L. are a source of biologically active compounds, among which flavonoids are considered major. The aim of our study is to determine the optimal method for extraction by barothermal method, ethanol and supercritical carbon dioxide, isolation and purification of flavonoid components of *Populus balsamifera* L. buds. The article presents the results of a study of barothermic, alcohol extraction and extraction by liquid carbon dioxide of the raw materials of the *Populus balsamifera* L. buds. All three methods allow the extraction of biologically active flavonoids. Moreover, the completeness of the extraction of the flavonoids of the *Populus balsamifera* L. buds is achieved by the barothermic method. In turn, the extraction by liquid carbon dioxide allows the targeted extraction of pinostrobin with a high content in sum of *Populus balsamifera* L. buds substances. During chromatographic separation using petroleum ether : ethyl acetate as eluents, yield of flavonoids pinostrobin, tectochrysin, pinocembrin and chrysin is comparatively higher than when using other systems as eluents. Thus, for the preparative production of biologically active flavonoids pinostrobin, tectochrysin, pinocembrin and chrysin, we have determined the optimal conditions for extraction by the barothermic method and chromatographic separation of the sum of substances of *Populus balsamifera* L. buds.

Keywords: *Populus balsamifera* L., pinostrobin, pinocembrin, tectochrysin, chrysin, barothermic method, alcohol extraction, isolation by supercritical carbon dioxide.

References

1. Polyakov V.V., Adekenov S.M. *Biologicheski aktivnyye soyedineniya rasteniy roda Populus L. i preparaty na ikh osnove*. [Biologically active compounds of plants of the genus *Populus* L. and preparations based on them]. Almaty, 1999, 160 p. (in Russ.).
2. Patent 022691 (KZ) 29.02.2016. (in Russ.).
3. Polyakov V.V. *Maslo topolya bal'zamicheskogo (Populus balsamifera) i proizvodnyye miritsetina, obladayushchiye biologicheskoy aktivnost'yu: dis. ... dokt. khim. nauk*. [Balsamic poplar oil (*Populus balsamifera*) and myricetin derivatives with biological activity: dis. ... doctor. Chem. sciences]. Karaganda, 1999, 279 p. (in Russ.).
4. Polyakov V.V., Al'zhanov A.Ye., Adekenov S.M. *Fenol'nyye soyedineniya: fundamental'nyye i prikladnyye aspekty*. [Phenolic compounds: fundamental and applied aspects]. M., 2012, pp. 634–638. (in Russ.).
5. Wollenweber E., Asarawa U., Scnillo D. *Z. Naturforschung*, 1987, vol. 42, no. 9/10, pp. 1030–1034. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97307-2.
6. Sentsov M.F., Braslavskiy V.B., Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Bakulin V.T., Pravdivtseva O.Ye. *Rastitel'nyye resursy*, 1997, vol. 33, no. 2, pp. 51–56. (in Russ.).
7. Isayeva Ye.V., Reyser G.V., Burdeynaya T.M. *Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya*, 2007, vol. 50, no. 6, pp. 53–55. (in Russ.).
8. Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Braslavskiy V.B. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 1990, no. 2, pp. 272–273. (in Russ.).
9. Kurkin V.A., Braslavskiy V.B., Zapesochnaya G.G. *Rastitel'nyye resursy*, 1993, vol. 29, no. 3, pp. 85–90. (in Russ.).
10. Irwin A.P., Stephen F.D. *Phytochemistry*, 1971, vol. 10, pp. 2844–2847. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)97307-2.
11. Seshadri T.R. *The Chemistry of flavonoid compounds*. London, 1962, pp. 184–186.
12. Blazhey A., Shutyy L. *Fenol'nyye soyedineniya rastitel'nogo proiskhozhdeniya*. [Phenolic compounds of plant origin]. M., 1977, 240 p. (in Russ.).
13. Korul'kin D.Yu., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. *Prirodnyye flavonoidy*. [Natural flavonoids]. Novosibirsk, 2007, 232 p. (in Russ.).
14. Khasenov B.B., Yamovoy V.I., Turdybekov K.M., Tuleuov B.I. *Khimicheskij zhurnal Kazakhstana*, 2005, no. 3, pp. 237–245. (in Russ.).
15. Patent 2135201 (RU). 1998. (in Russ.).
16. Lavoie S., Legault J., Simard F., Chiasson E., Pichette A. *Tetrahedron Letters*, 2013, vol. 54, pp. 1631–1633. DOI: 10.1016/j.tetlet.2012.12.012.
17. Simard F., Legault J., Lavoie S., Pichette A. *Phytochemistry*, 2014, vol. 100, pp. 141–149. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.12.018.
18. Simard F., Gauthier C., Chiasson E., Lavoie S., Mshvildadze V., Legault J., Pichette A. *Journal of Natural Products*, 2015, vol. 78(5), pp. 1147–1153. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00155.
19. Greenaway W., May J., Whatley F.R. *Journal of Chromatography*, 1989, vol. 472, pp. 393–400. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)94139-6.
20. Isidorov V.A., Vinogorova V.T. *Z. Naturforschung*, 2003, vol. 58, pp. 355–360. DOI: 10.1515/znc-2003-5-612.

Received April 2, 2020

Revised April 8, 2020

Accepted April 11, 2020

For citing: Adekenov S.M., Baysarov G.M., Khabarov I.A., Polyakov V.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 181–188. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020027602.

* Corresponding author.