# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ (14.04.02)

УДК 547.9

https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.128-134

# ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛИСТЬЕВ ТОПОЛЯ ЧЕРНОГО

#### Е.А. Куприянова, В.А. Куркин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Для цитирования: Куприянова Е.А., Куркин В.А. Изучение состава фенольных соединений листьев тополя черного // Аспирантский вестник Поволжья. — 2019. — № 5-6. — С. 128-134. https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.128-134

Поступила: 20.05.2019 Одобрена: 08.07.2019 Принята: 09.09.2019

- В настоящей работе приведены результаты исследований состава фенольных соединений листьев тополя черного (*Populus nigra* L.). Методами экстракции и последующей адсорбционной колоночной хроматографии на силикагеле и на полиамидном сорбенте из листьев тополя черного впервые выделены такие флавоноидные соединения, как календофлавобиозид (кверцетин-3-*O*-неогесперидозид), рутин (кверцетин-3-*O*-рутинозид), а также феруловая кислота (фенилпропаноид). Полученные вещества были охарактеризованы с использованием УФ-, <sup>1</sup>Н ЯМР-, <sup>13</sup>С ЯМР-спектроскопий и масс-спектрометрии, а также результатов кислотного гидролиза. Флавоноиды являются доминирующими фенольными компонентами сырья исследуемого растения.
- **Ключевые слова:** тополь черный; *Populus nigra* L.; листья; флавоноиды; рутин; календофлавобиозид; фенилпропаноиды; феруловая кислота.

# THE STUDY OF THE COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF THE *POPULUS NIGRA* LEAVES

## E.A. Kupriyanova, V.A. Kurkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

For citation: Kupriyanova EA, Kurkin VA. The study of the composition of phenolic compounds of the *Populus nigra* leaves. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2019;(5-6):128-134. https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.128-134

Received: 20.05.2019 Revised: 08.07.2019 Accepted: 09.09.2019

- This paper presents the findings of the study of the composition of phenolic compounds in black poplar leaves (*Populus nigra* L.). For the first time flavonoid compounds such as calendoflavobioside (quercetin-3-*O*-neohesperidoside), rutin (quercetin-3-*O*-rutinoside), and ferulic acid (phenylpropanoid) have been extracted from the leaves of the black poplar by the methods of extraction and the following adsorption column chromatography on silica gel and on polyamide sorbent. The obtained substances were characterized with the use of UV-, <sup>1</sup>H-NMR-, <sup>13</sup>C-NMR-spectroscopy and mass spectrometry and also by means of the results of acid hydrolysis. The flavonoids are the dominant phenolic components of the raw material of this plant.
- **Keywords:** poplar black; *Populus nigra* L.; leaves; flavonoids; rutin; calendoflavobioside; phenylpropanoids; ferulic acid.

#### Введение

В настоящее время на территории Российской Федерации почки тополя являются фармакопейным сырьем и используются в официнальной медицине в качестве средства, обладающего антибактериальным, противовоспалительным, противогрибковым и ранозаживляющим действием [2, 4, 5, 7].

Известно, что сок свежих листьев тополя черного применяют в народной медицине

при зубной боли и для успокаивающих ванн, а также в качестве антибактериального средства [5]. Поэтому наряду с почками тополя черного перспективным источником биологически активных соединений являются листья.

В литературе имеются данные о содержании в листьях тополя черного простых фенолов (салицин, саликортин, ниграцин, популин), фенилпропаноидов (3-О-β-D-глюкопиранозид кофейной кислоты, лигнаны), дубильных ве-

ществ, витаминов (С, Е), каротиноидов (неоксантин, виолаксантин, лютеин), органических кислот — муравьиной, щавелевой, малоновой, глицериновой, янтарной, фумаровой, яблочной, винной, а-кетоглутаровой, лимонной, хинной [2, 5]. Несмотря на имеющиеся литературные данные относительно компонентного состава листьев тополя черного, представляется актуальным дальнейшее изучение химического состава данного сырья как перспективного отечественного источника лекарственных препаратов [1, 2].

**Целью** настоящей работы является изучение состава фенольных соединений листьев тополя черного.

#### Результаты и их обсуждение

В июне 2018 г. в Самарской области были собраны и высушены образцы листьев тополя черного (*Populus nigra* L.). 100 г воздушносухого сырья экстрагировали 70 % этиловым спиртом, осуществляя вначале две экстракции при комнатной температуре в течение 24 ч, а затем при нагревании на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Объединенное водноспиртовое извлечение упаривали под вакуумом до объема 50 мл, смешивали с 30 г силикагеля L 40/100 и высушивали. Высушенный порошок (сухой экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля (диаметр — 8 см, высота — 5 см), сформированный в виде взвеси в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ – этанол в различных соотношениях (97: 3; 95: 5; 93: 7; 90: 10; 85: 15; 80: 20; 75: 25; 70: 30; 60: 40). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью тонкослойного хроматографического анализа (ТСХ) на пластинках Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ в системах хлороформ - этанол - вода (26:16:3), а также н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2). Фракции, содержащие вещество 1, были объединены, выпавший из них осадок был отделен и перекристаллизован из водного спирта. При этом получено соединение (1) с выходом 0,4 % массы воздушносухого сырья. Фракции, содержащие вещество 2, были объединены, выпавший из них осадок был отделен и перекристаллизован из водного спирта. При этом получено соединение (2) с выходом 0,5 % массы воздушносухого сырья. Фракции, содержащие соединения (4), наносили на полиамид Wolem с целью дальнейшей очистки. Сухой порошок (экстракт + полиамид) переносили в хроматографическую колонку (высота сорбента — 5,0 см, диаметр — 4 см). Соответствующую хрома-

**Рис. 1.** Структурная формула 3-О-неогесперидозид кверцетина (календофлавобиозид) (1)

**Fig. 1.** Structural formula of quercetin-3-*O*-neohesperidoside (calendoflavobioside) (1)

тографическую колонку элюировали водой и водным раствором спирта этилового (20, 40, 70, 96%). В результате проведенной очистки на колонках с полиамидом было получено вещество 4 с выходом 0,05% от массы воздушно-сухого сырья (элюент — 40% этиловый спирт), дополнительную очистку которых удалось провести путем перекристаллизации из водного спирта. Вещества и соединения (1 — каледнофлавобиозид, 2 — рутин, 3 — кверцетин, 4 — феруловая кислота) указаны в тексте и далее, при описании спектральных характеристик, в круглых скобках; на рис. 1–4 представлены структурные формулы каждого соединения.

Спектры ЯМР  $^{1}$ Н получали на приборе Bruker AM 300 (300 МГц), спектры ЯМР  $^{13}$ С — на приборе Bruker DRX 500 (126,76 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30, регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena).

**Рис. 2.** Структурная формула 3-О-рутинозид кверцетина (рутин) (2)

**Fig. 2.** Structural formula of quercetin-3-*O*-rutinoside (rutin) (2)

Рис. 3. Структурная формула кверцетина (3)

Fig. 3. Structural formula of quercetin (3)

Рис. 4. Структурная формула феруловой кислоты (4)

Fig. 4. Structural formula of ferulic acid (4)

Кислотный гидролиз флавоноидов 1 и 2 осуществляли в 2 % растворе хлористоводородной кислоты при нагревании на кипящей водяной бане в течение 2 часов, в результате чего из веществ 1 и 2 получено и идентифицировано вещество 3 — кверцетин.

3-О-Гесперидозид кверцетина (календофлавобиозид) (1) (рис. 1). Кристаллическое вещество желтого цвета.  $C_{27}H_{30}O_{16}$ . Т. пл. 194–196 °C

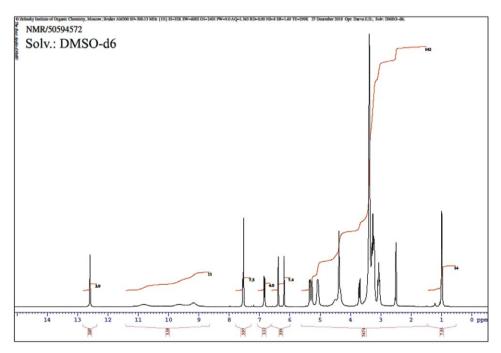
(водный спирт). УФ-спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , EtOH: 257, 266 пл, 363 нм; + NaOAc 270, 303, 372 нм; + NaOAc + +  $H_3BO_3$  271, 304, 385 нм; + AlCl<sub>3</sub> 273, 304, 360, 416 нм; + AlCl<sub>3</sub> + HCl 273, 304, 360, 404 нм; + NaOMe 275, 420 нм.

Спектр ЯМР  $^{1}$ Н (300 МГц, ДМСО- $d_{6}$ ,  $\delta$ , м. д.): 12,59 (1H, с, 5-ОН-группа), 10,75 (1H, с, 7-ОН), 9,60 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9,17 (1H, с, 3'-ОН-группа), 7,52 (1H, дд, J 2,5 и 9 Гц, H-6'), 7,50 (1H, д, J 9 Гц, H-2'), 6,83 (д, J 9 Гц, H-5'), 6,38 (д, J 2,5 Гц, H-8), 6,19 (д, J 2,5 Гц, H-6), 5,32 (1H, д, J 7 Гц, H-1" глюкозы), 4,37 (1H, д, уш. с, H-1" рамнозы), 4,3–3,0 (10H, м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 0,98 (1H, д, J 6 Гц, 3H, CH<sub>3</sub> рамнозы).

Спектр ЯМР  $^{13}$ С (126,76 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta_{\rm C}$ , м. д.): 156,57 (C-2), 133,28 (C-3), 177,34 (C-4), 161,19 (C-5), 98,65 (C-6), 164,06 (C-7), 93,55 (C-8), 156,40 (C-9), 103,64 (C-10), 116,24 (C-1'), 121,15 (C-2'), 144,72 (C-3'), 148,39 (C-4'), 115,29 (C-5'), 121,56 (C-6'), 100,72 (C-1" глюкозы), 72,36 (C-2"), 77,89 (C-3"), 71,83 (C-4"), 76,83 (C-5"), 61,07 (C-6"), 101,16 (C-1"" рамнозы), 70,75 (C-2""), 71,94 (C-3""), 74,05 (C-4""), 68,21 (C-5""), 17,70 (C-6"", CH<sub>3</sub> рамнозы) (рис. 7).

Масс-спектр (ESI-MS, 180 °C, m/z):  $M^+$  611 (610 + H),  $M^+$  633 (610 + Na),  $M^+$  649 (610 + K) (рис. 9).

3-О-Рутинозид кверцетина (рутин) (2) (рис. 2). Кристаллическое вещество желтого цвета.  $C_{27}H_{30}O_{16}$ . Т. пл. 192–194 °C (водный спирт). УФ-спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , EtOH: 258, 266 (пл), 362 нм; + NaOAc 270, 303, 370 нм; + NaOAc +



**Рис. 5.** Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н рутина (2)

Fig. 5. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of rutin (2)

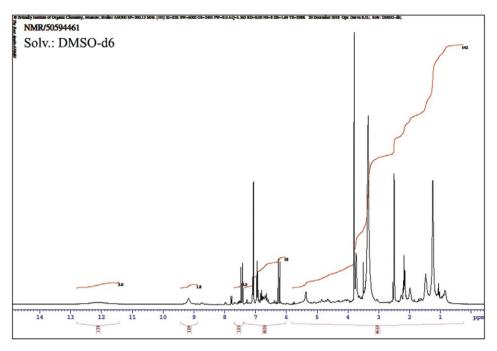


Рис. 6. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н феруловой кислоты (4)

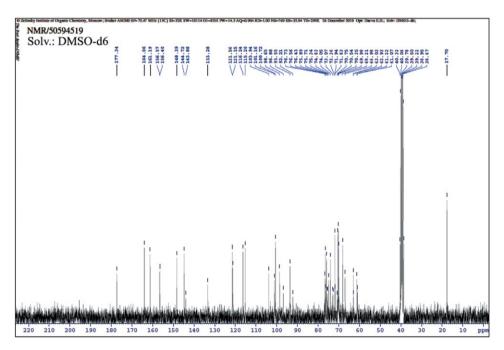
Fig. 6. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of ferulic acid (4)

+ H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 270, 303, 384 нм; + AlCl<sub>3</sub> 273, 304, 360, 418 нм; + AlCl<sub>3</sub> + HCl 273, 304, 360, 403 нм; + NaOMe 275, 419 нм.

Спектр ЯМР  $^{1}$ Н (300 МГц, ДМСО- $d_{6}$ ,  $\delta$ , м. д.): 12,59 (1H, с, 5-ОН-группа), 10,80 (1H, с, 7-ОН-группа), 9,65 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9,15 (1H, с, 3'-ОН-группа), 7,52 (1H, дд, J 2,5 и 9 Гц, H-6'), 7,50 (1H, д, J 9 Гц, H-2'), 6,82 (д, J 9 Гц, H-5'), 6,38 (д, J 2,5 Гц, H-8), 6,18 (д, J 2,5 Гц,

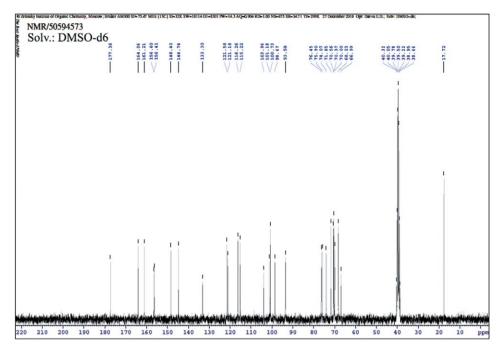
H-6), 5,35 (1H, д, J 7 Гц, H-1" глюкозы), 4,35 (1H, д, уш. с, H-1" рамнозы), 5,2–3,0 (10H, м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 0,98 (3H, д, J 6 Гц, CH<sub>3</sub> рамнозы) (рис. 5).

Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (126,76 МГц, ДМСО- $d_6$ ,  $\delta_{\rm C}$ , м.д.): 156,60 (C-2), 133,30 (C-3), 177,36 (C-4), 161,21 (C-5), 98,67 (C-6), 164,06 (C-7), 93,58 (C-8), 156,41 (C-9), 103,96 (C-10), 116,26 (C-1'), 121,18 (C-2'), 144,77 (C-3'), 148,40



**Рис. 7.** Спектр ЯМР  $^{13}$ С календофлавобиозида (1)

Fig. 7. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of calendoflavobioside (1)



**Рис. 8.** Спектр ЯМР <sup>13</sup>С рутина (2)

Fig. 8. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of rutin (2)

(С-4′), 115,22 (С-5′), 121,58 (С-6′), 100,72 (С-1″ глюкозы), 71,25 (С-2″), 75,90 (С-3″), 70,56 (С-4″), 76,45 (С-5″), 66,89 (С-6″), 101,16 (С-1‴ рамнозы), 70,56 (С-2‴), 70,37 (С-3‴), 74,07 (С-4‴), 68,23 (С-5‴), 17,72 (С-6‴,  $\mathrm{CH_3}$  рамнозы) (рис. 8).

Масс-спектр (ESI-MS, 180 °C, m/z):  $M^+$  611 (610 + H),  $M^+$  633 (610 + Na),  $M^+$  649 (610 + K) (рис. 9).

Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавон) (3) (рис. 3). Кристаллическое вещество ярко желтого цвета. С $_{15}$ Н $_{10}$ О $_{7}$ . Т. пл. 310–313 °C (водный спирт). УФ-спектр,  $\lambda_{\rm max}$ , EtOH: 256, 267 (пл), 372 нм; + NaOAc 270, 303, 380 нм;

+ NaOAc + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 271, 304, 385 нм; + AlCl<sub>3</sub> 275, 304, 360, 435 нм; + AlCl<sub>3</sub> + HCl 275, 304, 360, 415 нм; + NaOMe 275, 430 нм.

Феруловая кислота (4) (рис. 4). Кристаллическое вещество белого цвета.  $C_{10}H_{10}O_4$ . Т. пл. 168–170 °C (водный спирт). УФ-спектр,  $\lambda_{\text{max}}$ , EtOH: 217, 242, 290 (пл), 322 нм.

Спектр ЯМР  $^{1}$ Н (300 МГц, ДМСО- $d_{6}$ ,  $\delta$ , м. д.): 9,18 (1H, с, 4-ОН-группа), 7,45 (д, J 16 Гц, H-7), 7,08 (1H, дд, J 2.5 и 9 Гц, H-6), 7,03 (д, J 2,5 Гц, H-2), 6,93 (д, J 9 Гц, H-5), 6,24 (1H, д, J 16 Гц, H-8), 3,80 (3H, c, CH<sub>3</sub>O-группа) (рис. 6).

Масс-спектр (ESI-MS, 180 °C, m/z):  $M^+$  195 (194 + H).

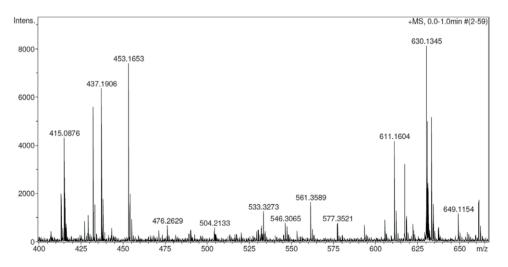


Рис. 9. Масс-спектр календофлавобиозида (1)

Fig. 9. Mass-spectrum of calendoflavobioside (1)

В результате проведенных исследований из листьев тополя черного выделены соединения 1 и 2 (флавоноиды) (рис. 1, 2), а также феруловая кислота (4) (рис. 4).

 $\ddot{B}$  спектре ЯМР  $^{1}$ Н соединений (1) и (2) (спектры идентичны) обнаружены сигналы ароматических протонов, характерные для замещения молекулы флавоноида в положениях С-5 и С-7 (кольцо А), а также в положениях С-3' и С-4' (кольцо В) (рис. 1, 2). Наличие свободной гидроксильной группы при С-5 в соединениях (1) и (2) подтверждается данными спектров ЯМР <sup>1</sup>Н: однопротонные синглетные сигналы при 12,59 м.д. (рис. 5). Свободная группа 7-ОН подтверждается реакцией с ацетатом натрия (батохромный сдвиг в УФ-спектре коротковолновой полосы более чем на 10 нм) [10]. О наличии свободной орто-дигидроксигруппировки при С-3' и С-4' свидетельствует батохромный сдвиг в УФ-спектре длинноволновой полосы на 22 нм при добавлении раствора борной кислоты [10].

В результате кислотного гидролиза соединений 1 и 2 образуется агликон, идентифицированный как кверцетин (3,5,7,3',4'-пентгидроксифлавон) (3), который, в отличие от исходных гликозидов, в присутствии раствора алюминия хлорида дает больший батохромный сдвиг в УФ-спектре длинноволновой полосы — с 372 до 435 нм.

Следовательно, соединения (1) и (2) гликозилированы по группе 3-ОН. В кислотном гидролизате обоих соединений обнаруживаются моносахариды — глюкоза и рамноза. Принципиальным различием соединений (1) и (2) является то обстоятельство, что в их спектрах ЯМР <sup>13</sup>С имеют место различные значения химсдвигов С-6" глюкозы: 61,07 и 66,89 м.д., что свидетельствует о присоединении рамнозы соответственно к группе 2"-ОН глюкозы в соединении (1) (биоза — неогесперидоза), а в соединении (2) — к СН<sub>2</sub>ОН глюкозы (биоза — рутиноза) (рис. 7, 8).

Следовательно, соединение (1) имеет строение кверцетин-3-O-(2''- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозида (календофлавобиозида), а соединение (2) — кверцетин-3-O-(6''- $\alpha$ -L-рамнопиранозил)- $\beta$ -D-глюкопиранозида (рутина).

#### Заключение

Соединения (1), (2) и (4), идентифицированные нами на основании данных УФ, ЯМР  $^{1}$ Н, ЯМР  $^{13}$ С и масс-спектров, а также результатов кислотного гидролиза как календофлавобиозид (1) [3, 9], рутин (2) [8] и феруловая кисло-

та (4), впервые выделены из листьев тополя черного. Календофлавобиозид (1) был ранее выделен из соцветий календулы лекарственной [3, 9]. Феруловая кислота (4) описана для почек тополя черного, листьев и коры тополя дрожащего [2, 6].

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Литература

- 1. Азнагулова А.В. Особенности стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья травы одуванчика лекарственного (Тагахасит officinale Wigg.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2014. № 5-6. С. 150—151. [Aznagulova AV. Special features of standardization of new raw material dandelion herb (Taraxacum officinale Wigg). Aspirantskiy vestnik Povolzhiya. 2014;(5-6):150-151. (In Russ.)]
- Браславский В.Б. Ива, тополь и прополис в медицине и фармации: монография. Самара: Офорт, 2012. 116 с. [Braslavskiy VB. Iva, topol' i propolis v meditsine i farmatsii: monografiya. Samara: Ofort; 2012. 116 p. (In Russ.)]
- 3. Комиссаренко Н.Ф., Чернобай В.Т, Деркач А.И. Флавоноиды соцветий Calendula officinalis // Химия природных соединений. 1988. № 6. С. 795—800. [Komissarenko NF, Chernobai VT, Derkach Al. Flavonoids of inflorescences of Calendula officinalis. Khimiya prirodnykh soedineniy. 1988;(6):795—800. (In Russ.)]
- 4. Правдивцева О.Е. Фармакогностическое исследование по созданию антимикробных и противовоспалительных средств на основе некоторых видов рода Populus L: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. - М., 2001. - 24 с. [Pravdivceva OE. Farmakognosticheskoe issledovanie po sozdaniyu antimikrobnyh i protivovospaliteľnyh sredstv na osnove nekotoryh vidov roda Populus L. [dissertation abstract] Moscow; 2001. 24 р. (In Russ.)]. Доступно по: http:// webirbis.spsl.nsc.ru/irbis64r\_01\_agro/cgi/cgiirbis\_64. exe?Z21ID=&I21DBN=BI\_PRINT&P21DBN=BI&S21ST N=1&S21REF=&S21FMT=FULLW\_print&C21COM=S& S21CNR=555&S21P01=0&S21P02=1&S21P03=A=&S 21STR=%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B 4%D0%B8%D0%B2%D1%86%D0%B5%D0%B2%D0 %В0.%20%D0%9Е.%20%D0%95. Ссылка активна на 23.09.2019.
- Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Paeoniaceae Thymelaeaceae. Л.: Наука, 1986. С. 105–114. [Plant resources of the USSR. Flowering plants, their chemical composition, use. Family Paeoniaceae Thymelaeaceae. Leningrad: Nauka; 1986. Pp. 105-114. (In Russ.)]

- 6. Турецкова В.Ф., Лобанова И.Ю., Рассыпнова С.С., Талыкова Н.М. Осина обыкновенная как перспективный источник получения препаратов противоязвенного и противовоспалительного действия // Бюллетень сибирской медицины. 2011. № 5. С. 106—111. [Tureckova VF, Lobanova IYu, Rassypnova SS, Talykova NM. Populus tremula L. as a perspective source of preparations antiulcerous and anti-inflammatory activity. Bulletin of Siberian Medicine. 2011;(5):106-111. (In Russ.)]
- 7. Флора СССР. Ивовые, березовые, гречишные и др. Т. 5. / Под ред. В.Л. Комарова. М.; Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1936. 762 с. [Flora SSSR. Ivovye,

- berezovye, grechishnye i dr. Vol. 5. Ed. by V.L. Komarov. Moscow; Leningrad: Izd-vo Akademii nauk SSSR; 1936. 762 p. (In Russ.)]
- 8. Akkola EK, Süntara I, Keleşb H, et al. Bioassayguided isolation and characterization of wound healer compounds from *Morusnigra* L. (Moraceae). *Rec Nat Prod*. 2015;9(4):484-495.
- Komissarenko NF, Chernobai VT, Derkach AI. Flavonoids of inflorescences of Calendula officinalis. *Chemistry of Natural Compounds*. 1988;24(6):675-680. https://doi. org/10.1007/bf00598181.
- Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag: 1970. 354 p.

#### • Информация об авторах

Елена Александровна Куприянова — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: lenoka-09@mail.ru.

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru.

## Information about the authors

Elena A. Kupriyanova — Postgraduate student, Department of the Pharmacognosy with Botany and the Basics of Phytotherapy, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: lenoka-09@mail.ru.

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru.