

# ХЕМОЭНЗИМНЫЙ СИНТЕЗ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ ФЛАВОНОИДОВ

© 2022 г. С. В. Печинский<sup>а,\*</sup>, А. Г. Курегян<sup>а</sup>, Э. Т. Оганесян<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения России, пр. Калинина 11, Пятигорск, 357532 Россия  
\*e-mail: hplc@yandex.ru

Поступило в редакцию 27 апреля 2022 г.

После доработки 29 мая 2022 г.

Принято к печати 2 июня 2022 г.

Разработан региоселективный синтез сложных эфиров природных агликонов флавоноидов – нарингенина, кверцетина и гесперетина в присутствии липазы Novozyme 435. В реакции этерификации использовали бензойную, салициловую, никотиновую и коричную кислоты.

**Ключевые слова:** нарингенин, кверцетин, гесперетин, этерификация, сложные эфиры, фермент Новозим 435 (Novozyme 435)

**DOI:** 10.31857/S00444460X22080066, **EDN:** IOFQQO

Направленная химическая модификация структуры природных соединений – один из наиболее эффективных способов усиления их фармакологической активности и повышения биологической доступности [1]. Так как модифицируемые структуры, как правило, достаточно изучены и не несут потенциальной опасности, у продуктов модификации предполагается малая токсичность. Кардинальное изменение структуры природных соединений позволяет получить новые объекты для фармакологических исследований с позиции взаимосвязи структура–активность и расширить базу данных для теоретического изучения активности, токсичности и путей деструкции методами *in silico*.

Флавоноиды – группа природных биологически активных полифенолов, которые встречаются в виде гликозидов, агликонов и их метилпроизводных. Изучены их антиоксидантная, ангиопротекторная [2, 3], гепатопротекторная, антибактериальная, антимулагенная, противоопухолевая и противовирусная активности [4–8]. Несмотря на широкий спектр фармакологической активности,

применение флавоноидов в медицине и фармации в виде лекарственных препаратов ограничено их малым количеством в исходном сырье и экономическими затратами при получении индивидуальных соединений в препаративных целях. Флавоноиды легко окисляются и из-за низкой липофильности имеют невысокую биодоступность. Между числом гидроксигрупп и липофильностью флавоноидов существует обратная корреляция [9]. Один из путей увеличения липофильности – перевод гидроксильных групп в сложноэфирные [10] методом традиционной этерификации или в присутствии биокатализаторов [9, 11].

К недостаткам традиционных химических схем синтеза сложных эфиров относятся применение токсичных органических растворителей, длительность реакций, необходимость нагревания и невысокий выход продукта этерификации. Все это приводит к низким экологическим и экономическим показателям [12]. Получение сложных эфиров традиционными химическими методами предполагает использование большого количества органических растворителей, относящихся,

как правило, к 2 классу токсичности. Например, пентаацетилкверцетин получают при кипячении в среде пиридина с уксусным ангидридом в течение 5–48 ч, этерификацию флавоноидов проводят в среде пиридина, хлороформа, толуола или ацетона при 100°C [13–16]. В таких условиях отсутствует региоселективность этерификации, сложный эфир получается с выходом 10–60% с одновременным образованием побочных моно-, ди- и полиэфиров. При использовании полученных эфиров в производстве лекарственных средств требуется их дополнительная очистка с обязательной идентификацией и проверкой на примесь каждого из использованных растворителей.

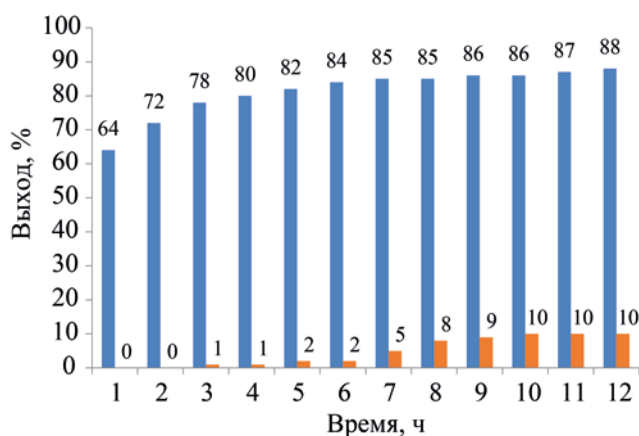
Учитывая возможность применения модифицированных флавоноидов в фармации, мы провели их этерификацию с использованием биокатализаторов. В этом способе полностью исключаются токсичные растворители и высокие температуры, существенно увеличивается выход сложных эфиров и обеспечивается регио- и стереоселективность реакции [1, 10]. Указанные факторы в отдельности или в совокупности создают очевидные преимущества при выборе биокатализа для синтеза новых органических молекул или модификации известных соединений, в том числе флавоноидов.

В растениях биосинтез эфиров флавоноидов катализируется ацилтрансферазами [17], однако их использование в лабораторных условиях неудобно, поскольку необходимо введение в реакционную смесь стехиометрических количеств соответствующего ацилкофермента А [18]. Более предпочтительно применение липаз в качестве катализаторов, так как в данном случае не требуется добавления кофермента. Липазы устойчивы в органических растворителях, а их иммобилизованные формы могут сохранять свою активность в течение нескольких десятков циклов реакций [19, 20].

Модификация флавоноидов в присутствии биокатализаторов в основном заключается в их этерификации по гидроксигруппам углеводного фрагмента в гликозидах [21–26]. Например, этерификация изокверцитрина и хризантемина кофейной и *n*-кумаровой кислотами приводит к эфирам флавоноидов по положению 6''-О в присутствии в качестве катализатора ферментативной реакционной системы из культивируемых клеток *Irpotomea*

*batatas* [22]. С использованием иммобилизованной липазы из *Candida antarctica* проведена этерификация нарингина в касторовом масле, основным компонентом которого является рицинолевая кислота, а также чистой рицинолевой кислотой [21]. В присутствии липазы В *Candida antarctica* (Новозим 435) флавоноидные гликозиды, в частности, нарингин и изокверцитрин, ацилировали пальмитиновой, 3-фенилпропановой, 3-(2-гидроксифенил)пропановой, 3-(3,4-дигидроксифенил)пропановой и *транс*-коричной кислотами, выход продуктов ацилирования – от 25 до 95% [23]. Ацилирование флавоноидов пальмитиновой кислотой значительно повышает их липофильность. Этерификацию рутина лауриновой кислотой в присутствии иммобилизованной липазы из *Candida Antarctica* (CAL-B) проводили в диапазоне температур от 20 до 55°C. В этих условиях получается эфир рутина по положению 4'''-О рамнозного остатка, побочные продукты реакции отсутствовали [25]. Давление в 200 мбар позволяет повысить выход продукта биокаталитического одностадийного ацилирования рутина и нарингина пальмитиновой кислотой в присутствии иммобилизованной липазы В из *Candida antarctica* до 85% по сравнению с выходом 32% при атмосферном давлении. Этерификация протекает региоспецифично по первичной гидроксильной группе углеводного остатка [26]. Этерификации рутина и нарингина олеиновой, линолевой и линоленовой кислотами в присутствии иммобилизованной липазы В из *Candida antarctica* (Novozym 4351) за 96 ч при 50°C приводит к сложным эфирам нарингина и рутина с выходами 85 и 70% соответственно [27]. Ферментативное ацилирование рутина и нарингина протекает региоселективно: в конечных продуктах реакции идентифицированы только моноэфиры этих флавоноидов. Сложные эфиры нарингина и рутина с октановой, декановой и додекановой кислотами получены в присутствии липазы В из *Candida antarctica* (Novozyme 435) при 45°C [28]. В качестве растворителей использовали воду и *трет*-бутиловый спирт с добавлением солей (хлорида лития, хлорида магния, хлорида кобальта, нитрата калия и нитрата натрия).

Описан способ синтеза сложного эфира агликона кверцетина винилацетатом [29]. По предварительному прогнозу *in silico*, конфигурация ак-



**Рис. 1.** Динамика образования главного (моноацилпроизводного) и побочного (диацилпроизводного) продуктов синтеза.

тивного центра катализатора липазы В из *Candida antarctica* должна обеспечить этерификацию по 3'-гидроксигруппе в фенильном заместителе. Однако по экспериментальным данным, кверцетин ацилируется региоселективно сначала по положению 4' с выходом 35%, а затем – по положению 3'.

По нашему мнению, этерификация агликонов флавоноидов более целесообразна, поскольку именно от них зависит фармакологическая активность, а этерификация должна усилить липофильность агликонов. Нарингенин проявляет антимикробные и противовирусные свойства, кверцетин – один из наиболее распространенных флавоноидов с хорошо изученными фармакологическими свойствами, с высокой скоростью метаболизма, гесперетин проявляет выраженные ангиопротекторные и вазодилатирующие свойства [11, 17]. Даже небольшие изменения в структуре флавоноидов приводят к проявлению новых свойств [30].

Мы предполагаем, что полученные сложные эфиры могут проявлять свойства исходного флавоноида и ацилирующего компонента, однако возможен и эффект усиления их фармакологических свойств. В качестве ацилирующих реагентов нами выбраны бензойная, салициловая, коричная и никотиновая кислоты. Поскольку все выбранные исходные соединения мало токсичны, прогнозировалась низкая токсичность их сложных эфиров.

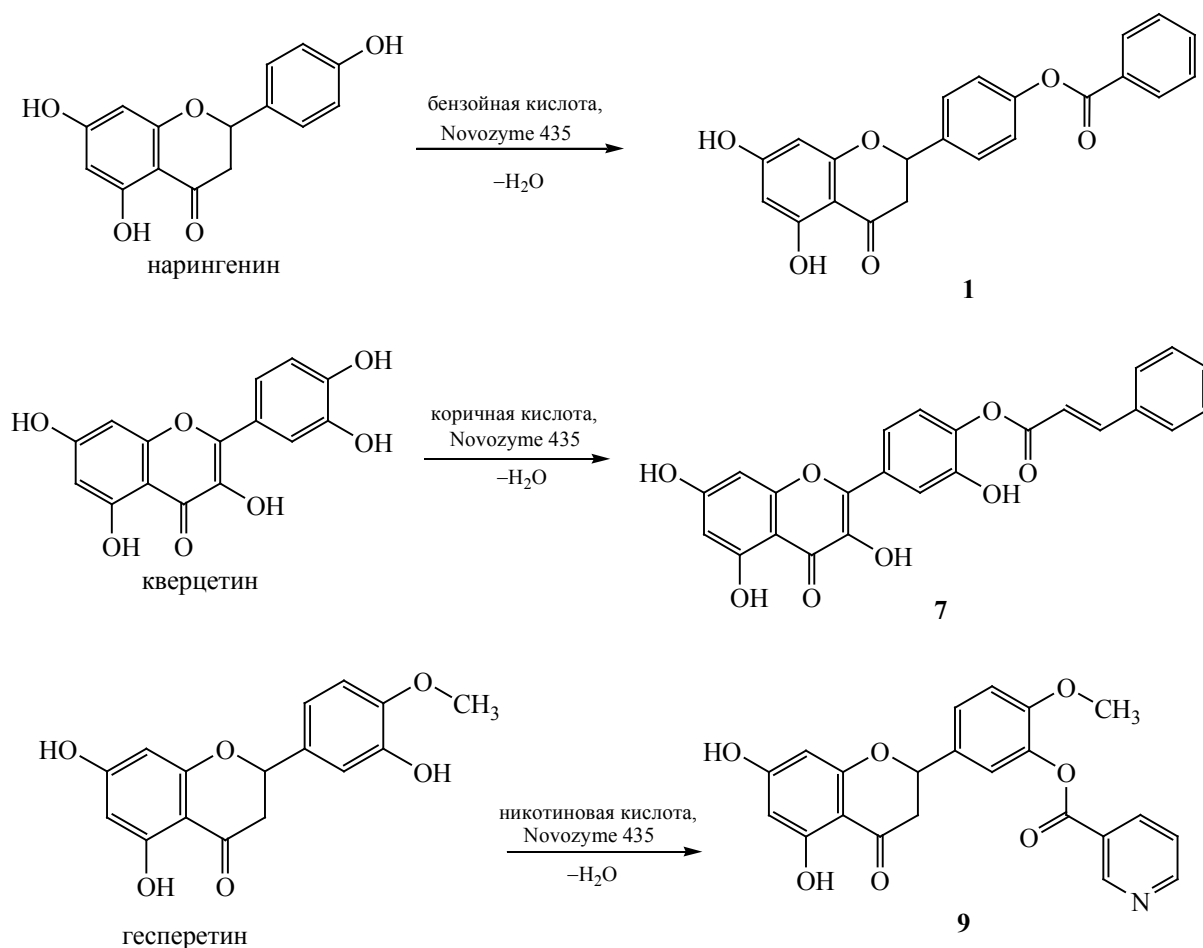
Нами проведены расчеты фармакологической активности и токсичности *in silico* с помощью

программы PASS [31]. Прогноз позволил провести выбор по антиоксидантному и мембранопротекторному действию, по активности в отношении свободных радикалов, по антигиперхолестеринемическому эффекту, острой токсичности, доступности и по стоимости реагентов. Эфиры коричной кислоты будут обладать более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с исходными флавоноидами; эфиры бензойной и салициловой кислот теоретически имеют более сильное мембранопротекторное действие и активность в отношении свободных радикалов; введение никотиновой кислоты должно приводить к появлению антигиперхолестеринемического эффекта, особенно у эфиров нарингенина и гесперетина. Острая токсичность, установленная с помощью компьютерного прогноза PASS, меньше или сопоставима с токсичностью исходных флавоноидов. Сложные эфиры флавоноидов перспективны для создания новых лекарственных средств, но достоверным подтверждением их активности и низкой токсичности могут быть только результаты дальнейших фармакологических исследований.

С учетом опубликованных результатов [29, 30], для получения сложных эфиров использованы агликоны флавоноидов – нарингенин, кверцетин, гесперетин, в качестве ацилирующих реагентов – бензойная, салициловая, коричная и никотиновая кислоты, в качестве катализатора – липаза В из *Candida antarctica*. Изучено влияние различных факторов на выход побочных продуктов этерификации – диацилпроизводных: временного фактора (продолжительность реакции от 0 до 12 ч), молярного соотношения агликон–кислота (3:1, 2:1; 2:2; 2:3), скорости перемешивания реакционной смеси (60, 120, 180 об/мин), температурного режима (30, 40, 50, 60°C). Наибольшее влияние оказывает продолжительность реакции (рис. 1), в меньшей степени – избыток кислоты, а также скорость перемешивания и температура.

Из представленных данных следует, что диацилпроизводные появляются только через 3 ч, их концентрация постепенно возрастает до 10% с увеличением длительности реакции до 10 ч и остается уровне 10% в течение последующих двух часов. Выход моноэфира возрастает в течение первых 6 ч синтеза. Максимальный выход 84% зафиксирован через 6 ч. В течение последующих 6 ч выход

Схема 1.



моноэфира увеличивается незначительно от 85 до 88%. Таким образом, оптимальное время реакции 6 ч, так как за это время образуется максимальное количество моноэфира с минимальной примесью продукта диацилирования.

Чистоту исходных соединений и продуктов реакции контролировали методом ВЭЖХ. Первую пробу отбирали после добавления всех реактивов, кроме фермента. Затем добавляли Novozyme 435 и последующие пробы отбирали через каждый час.

Реакции нарингенина с бензойной кислотой и кверцетина с коричной кислотой протекают региоселективно по положению 4' цикла В с образованием сложных эфиров **1** и **7** (схема 1). Гесперетин со всеми кислотами региоселективно образует слож-

ные эфиры по положению 3' (на схеме 1 – эфир **9** с никотиновой кислотой).

Строение синтезированных соединений подтверждено методами ЯМР  $^1\text{H}$  и масс-спектрометрии. Отсутствие сигнала при 9.58 м. д. для нарингенина, 9.65 м. д. для кверцетина и 9.14 м. д. для гесперетина указывает на образование сложноэфирной связи в положениях 4' нарингенина и кверцетина и 3' – в гесперетине.

Таким образом, проведен региоселективный синтез сложных эфиров нарингенина и кверцетина по положению 4', а гесперетина – по положению 3' при взаимодействии с четырьмя ароматическими кислотами в присутствии биокатализатора. Представляется перспективным дальнейшее исследо-

вание фармакологических свойств полученных сложных эфиров.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В эксперименте использованы флавоноиды: нарингенин (Sigma-Aldrich, кат. № 5893), кверцетин (Sigma-Aldrich, кат. № Q4951), гесперетин (Biosynth Carbosynth, кат. № FH23766), ароматические кислоты: бензойная кислота (Sigma-Aldrich, кат. № 242381), салициловая кислота (Sigma-Aldrich, кат. № 247588), никотиновая кислота (Sigma-Aldrich, кат. № N4126), коричневая кислота (Sigma-Aldrich, кат. № 8.00235), катализатор Novozyme 435 (Sigma-Aldrich, кат. № L4777).

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  регистрировали на спектрометре Bruker AMXIII-400 при 400 МГц в ДМСО- $d_6$ , внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры получали на масс-спектрометре Agilent 6420, сопряженном с ВЭЖХ-системой Agilent HPLC 1260, методом химической ионизации при атмосферном давлении (APCI), температура ионного источника 120°C, газ-носитель – гелий, энергия CID – 40 эВ. Параметры ВЭЖХ: колонка Phenomenex Luna C18 (250×4.6 мм × 5 мкм), температура колонки 30°C, УФ детектор 270 нм; подвижные фазы: тетрагидрофуран–раствор дигидрофосфата натрия, 15.6 г/л, доведенный фосфорной кислотой до pH 3.0 (фаза А), 5:95, и тетрагидрофуран–раствор дигидрофосфата натрия, 15.6 г/л, доведенный фосфорной кислотой до pH 3.0 (фаза Б), 40:60; линейный градиент: 0–15 мин, фазы А 50 + Б 50% → А 0 + Б 100%; 15–30 мин, фазы А 0 + Б 100% → А 50 + Б 50%; объем пробы 20 мкл, скорость подвижной фазы 1.0 мл/мин; объем пробы, автоматически вводимой в масс-детектор, 20 мкл. Время удерживания и порядок выхода пиков на хроматограмме на примере синтеза нарингенин-4'-бензоата: 7.32 мин – нарингенин 4'-бензоат, 17.08 мин – нарингенин, 26.57 мин – бензойная кислота. Аналогичный порядок наблюдался при хроматографировании других эфиров. Температуры плавления определены на приборе ПТП (М).

**Общая методика синтеза эфиров флавоноидов.** К раствору 2 ммоль нарингенина (0.544 г), кверцетина (0.604 г) или гесперетина (0.604 г) в 50 мл ацетона прибавляли 3 ммоль бензой-

ной (0.366 г), салициловой (0.414 г), коричневой (0.444 г) или никотиновой (0.369 г) кислоты и 0.5 г Novozyme 435. Реакционную смесь перемешивали 6 ч при 50°C со скоростью 120 об/мин, изменяя направление перемешивания через каждые 15 мин. После окончания реакции иммобилизованный фермент отфильтровывали. Полученный раствор очищали от избытка непрореагировавших кислот и диацилпроизводных методом твердофазной экстракции на картридже Agilent Bond Elut C18, 500 мг/6 мл, элюент – смесь 0.1%-ного раствора уксусной кислоты и ацетонитрила (8:2), скорость потока – 1 мл/мин. Чистоту собираемой фракции (первые 6 мл после введения пробы) контролировали методом ВЭЖХ. Полученную фракцию с эфиром нарингенина, кверцетина или гесперетина, сушили 2 ч при (50 мм рт. ст., 60°C). Полученное вещество запаивали в ампулы из темного стекла.

**Нарингенин-4'-бензоат [4-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)фенилбензоат, 1].** Выход 0.655 г (87%), т. пл. 229–232°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 2.9, 17.0), 3.25 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.1), 5.44 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.92 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.88 д (2H, H<sup>3',5'</sup>, *J* 8.8), 7.33 д (2H, H<sup>2',6'</sup>, *J* 8.4), 7.45 д (2H, H<sup>3'',5''</sup>, *J* 8.5), 7.58 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 8.07 д (2H, H<sup>2'',6''</sup>, *J* 2.0), 10.78 с (1H, C<sup>7</sup>-OH), 12.15 с (1H, C<sup>5</sup>-OH). Масс-спектр, *m/z*: 377.09 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>: 377.10).

**Нарингенин-4'-салицилат [4-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)фенил-2-гидроксибензоат, 2].** Выход 0.670 г (86%), т. пл. 251–253°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 2.9, 17.0), 3.25 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.1), 5.44 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.92 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.88 д (2H, H<sup>3',5'</sup>, *J* 8.8), 6.91 т (1H, H<sup>5''</sup>, *J* 7.4), 6.97 д (1H, H<sup>3''</sup>, *J* 7.5), 7.33 д (2H, H<sup>2',6'</sup>, *J* 8.4), 7.53 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 7.82 д (1H, H<sup>6''</sup>, *J* 7.7), 10.78 с (1H, C<sup>7</sup>-OH), 11.53 с (1H, C<sup>2''</sup>-OH), 12.15 с (1H, OH<sup>5</sup>). Масс-спектр, *m/z*: 393.08 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>: 393.09).

**Нарингенин-4'-циннамат [4-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)фенил-(2E)-3-(4-гидроксифенил)проп-2-еноат, 3].** Выход 0.685 г (85%), т. пл. 234–237°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 2.9, 17.0), 3.25 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.1), 5.44 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.92 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.45 д (1H, H<sup>2'''</sup>, *J* 15.9), 6.88 д (2H, H<sup>3',5'</sup>, *J* 8.8), 7.33 д (2H, H<sup>2',6'</sup>, *J* 8.4), 7.40 т (2H, H<sup>3'',5''</sup>, *J*

7.9), 7.45 д (1H, H<sup>4''</sup>, J 7.3), 7.55 д (2H, H<sup>2'',6''</sup>, J 16.0), 7.81 д (1H, H<sup>3'''</sup>, J 15.9), 10.78 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.15 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 403.09 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>: 403.11).

**Нарингенин-4'-никотиноат [4-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)фенилпиридин-3-карбоксилат, 4].** Выход 0.664 г (88%), т. пл. 245–247°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 2.9, 17.0), 3.25 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.1), 5.44 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.92 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.88 д (2H, H<sup>3',5'</sup>, *J* 8.8), 7.33 д (2H, H<sup>2',6'</sup>, *J* 8.4), 7.57 т (1H, H<sup>5''</sup>, *J* 8.0), 8.31 д (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.9), 8.81 д (1H, H<sup>6''</sup>, *J* 5.0), 9.11 с (1H, H<sup>2''</sup>), 10.78 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.15 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 378.07 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>6</sub><sup>+</sup>: 378.09).

**Кверцетин-4'-бензоат [2-гидрокси-4-(3,5,7-тригидрокси-4-оксо-4H-хромен-2-ил)фенилбензоат, 5].** Выход 0.715 г (88%), т. пл. 289–292°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 6.19 д (1H, H<sup>6</sup>, *J* 2.0), 6.41 д (1H, H<sup>8</sup>, *J* 2.0), 6.88 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.4), 7.45 д (2H, H<sup>3'',5''</sup>, *J* 8.5), 7.54 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 2.2, *J* 8.4), 7.58 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 7.67 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.0), 8.07 д (2H, H<sup>2'',6''</sup>, *J* 2.0), 9.35 с (1H, OH<sup>3</sup>), 9.55 с (1H, OH<sup>3</sup>), 10.76 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.48 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 407.04 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>: 407.07).

**Кверцетин-4'-салицилат [2-гидрокси-4-(3,5,7-тригидрокси-4-оксо-4H-хромен-2-ил)фенил-2-гидроксибензоат, 6].** Выход 0.717 г (85%), т. пл. 322–324°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 6.19 д (1H, H<sup>6</sup>, *J* 2.0), 6.41 д (1H, H<sup>8</sup>, *J* 2.0), 6.88 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.4), 6.91 т (1H, H<sup>5''</sup>, *J* 7.4), 6.97 д (1H, H<sup>3''</sup>, *J* 7.5), 7.54 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 2.2, *J* 8.4), 7.58 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 7.67 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.0), 8.01 д (1H, H<sup>6''</sup>, *J* 7.7), 9.35 с (1H, C<sup>3'</sup>-ОН), 9.55 с (1H, C<sup>3</sup>-ОН), 10.76 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 11.53 с (1H, C<sup>2''</sup>-ОН), 12.48 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 423.06 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>O<sub>9</sub><sup>+</sup>: 423.06).

**Кверцетин-4'-циннамат [2-гидрокси-4-(3,5,7-тригидрокси-4-оксо-4H-хромен-2-ил)фенил-(2E)-3-(4-гидроксифенил)проп-2-еноат, 7].** Выход 0.760 г (88%), т. пл. 297–299°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 6.19 д (1H, H<sup>6</sup>, *J* 2.0), 6.41 д (1H, H<sup>8</sup>, *J* 2.0), 6.45 д (1H, H<sup>2'''</sup>, *J* 15.9), 6.88 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.4), 7.45 д (2H, H<sup>3'',5''</sup>, *J* 8.5), 7.54 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 2.2, *J* 8.4), 7.58 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 7.67 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.0), 7.81 д (1H, H<sup>3'''</sup>, *J* 15.9), 8.07 д (2H, H<sup>2'',6''</sup>, *J*

2.0), 9.35 с (1H, C<sup>3'</sup>-ОН), 9.55 с (1H, C<sup>3</sup>-ОН), 10.76 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.48 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 433.07 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>: 433.09).

**Кверцетин-4'-никотиноат [2-гидрокси-4-(3,5,7-тригидрокси-4-оксо-4H-хромен-2-ил)фенилпиридин-3-карбоксилат, 8].** Выход 0.685 г (84%), т. пл. 308–310°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 6.19 д (1H, H<sup>6</sup>, *J* 2.0), 6.41 д (1H, H<sup>8</sup>, *J* 2.0), 6.88 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.4), 7.54 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 2.2, *J* 8.4), 7.57 т (1H, H<sup>5''</sup>, *J* 8.0), 7.67 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.0), 8.31 д (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.9), 8.81 д (1H, H<sup>6''</sup>, *J* 5.0), 9.11 с (1H, H<sup>2''</sup>), 9.35 с (1H, C<sup>3'</sup>-ОН), 9.55 с (1H, C<sup>3</sup>-ОН), 10.76 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.48 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 408.07 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>8</sub><sup>+</sup>: 408.06).

**Гесперетин-3'-бензоат [5-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)-2-метоксифенилбензоат, 9].** Выход 0.655 г (87%), т. пл. 229–232°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 3.0, 17.0), 3.24 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.2), 3.78 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 5.42 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.88 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.96 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.5), 7.02 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 8.3), 7.11 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.5), 7.45 д (2H, H<sup>3'',5''</sup>, *J* 8.5), 7.58 т (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.3), 8.05 д (2H, H<sup>2'',6''</sup>, *J* 2.0), 10.71 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.12 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 407.10 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>: 407.11).

**Гесперетин-3'-никотиноат [5-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)-2-метоксифенилпиридин-3-карбоксилат, 10].** Выход 0.694 г (85%), т. пл. 244–246°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 3.0, 17.0), 3.24 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.2), 3.78 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 5.42 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.88 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.96 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.5), 7.02 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 8.3), 7.11 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.5), 7.57 т (1H, H<sup>5''</sup>, *J* 8.0), 8.31 д (1H, H<sup>4''</sup>, *J* 7.9), 8.81 д (1H, H<sup>6''</sup>, *J* 5.0), 9.11 с (1H, H<sup>2''</sup>), 10.71 с (1H, C<sup>7</sup>-ОН), 12.12 с (1H, C<sup>5</sup>-ОН). Масс-спектр, *m/z*: 408.08 [*M* + H]<sup>+</sup> (вычислено для C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub><sup>+</sup>: 408.10).

**Гесперетин-3'-салицилат [5-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)-2-метоксифенил-2-гидроксибензоат, 11].** Выход 0.701 г (83%), т. пл. 251–253°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.69 д. д (1H, H<sup>3a</sup>, *J* 3.0, 17.0), 3.24 д. д (1H, H<sup>3e</sup>, *J* 12.9, 17.2), 3.78 с (3H, OCH<sub>3</sub>), 5.42 д. д (1H, H<sup>2</sup>, *J* 3.0, 12.7), 5.88 м (2H, H<sup>6,8</sup>), 6.96 д (1H, H<sup>5'</sup>, *J* 8.5), 7.02 д. д (1H, H<sup>6'</sup>, *J* 8.3), 7.11 д (1H, H<sup>2'</sup>, *J* 2.5), 7.45 д (2H,

$H^{3''}, 5''$ ,  $J$  8.5), 7.58 т ( $H$ ,  $H^{4''}$ ,  $J$  7.3), 7.79 д ( $H$ ,  $H^{6''}$ ,  $J$  7.7), 10.71 с ( $H$ ,  $C^7-OH$ ), 11.53 с ( $H$ ,  $C^{2''}-OH$ ), 12.12 с ( $H$ ,  $C^5-OH$ ). Масс-спектр,  $m/z$ : 423.07 [ $M + H$ ]<sup>+</sup> (вычислено для  $C_{23}H_{19}O_8^+$ : 423.10).

**Гесперетин-3'-циннамат [5-(5,7-дигидрокси-4-оксохроман-2-ил)-2-метоксифенил-(2E)-3-(4-гидроксифенил)проп-2-еноат, 12]**. Выход 0.727 г (84%), т. пл. 231–233°C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.69 д. д ( $H$ ,  $H^{3a}$ ,  $J$  3.0, 17.0), 3.24 д. д ( $H$ ,  $H^{3e}$ ,  $J$  12.9, 17.2), 3.78 с ( $3H$ ,  $OCH_3$ ), 5.42 д. д ( $H$ ,  $H^2$ ,  $J$  3.0, 12.7), 5.88 м ( $2H$ ,  $H^{6,8}$ ), 6.45 д ( $H$ ,  $H^{2''}$ ,  $J$  15.9), 6.96 д ( $H$ ,  $H^5$ ,  $J$  8.5), 7.02 д. д ( $H$ ,  $H^6$ ,  $J$  8.3), 7.11 д ( $H$ ,  $H^2$ ,  $J$  2.5), 7.45 д ( $2H$ ,  $H^{3''}, 5''$ ,  $J$  8.5), 7.58 т ( $H$ ,  $H^{4''}$ ,  $J$  7.3), 7.81 д ( $H$ ,  $H^{3''}$ ,  $J$  15.9), 8.07 д ( $2H$ ,  $H^{2''}, 6''$ ,  $J$  2.0), 10.71 с ( $H$ ,  $C^7-OH$ ), 12.12 с ( $H$ ,  $C^5-OH$ ). Масс-спектр,  $m/z$ : 433.11 [ $M + H$ ]<sup>+</sup> (вычислено для  $C_{25}H_{21}O_7^+$ : 433.12).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Курегян Анна Гургеновна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0698-8254>

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Milivojevi A., Corovic M., Carevic M., Banjanac K., Blagojevic S., Pjanovic R., Bezbradica D. // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019. Vol. 58. N 9. P. 3640. doi 10.1021/acs.iecr.8b06113
- Jovanovic S.V., Steeden S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.G. // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. Vol. 116. P. 4846. doi 10.1021/ja00090a032
- Белая Н.И., Белый А.В., Щербakov И.Н. // *Кинетика и катализ.* 2020. Т. 61. № 3. С. 334. doi 10.31857/S0453881120030053; Belaya N.I., Belyi A.V., Shcherbakov I.N. // *Kinetics and catalysis.* 2020. Vol. 61. N 3. P. 360. doi 10.1134/S0023158420030040
- Kumar S. Pandey A.K. // *Sci. World J.* 2013. 162750. doi 10.1155/2013/162750
- Jo S., Kim S., Kim D.-Y., Kim M.-S., Shin D.-H. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2020. Vol. 35. N 1. P. 1539. doi 10.1080/14756366.2020.1801672
- Байсаров Г.М., Жуматаева А.Р., Мукушева Г.К., Шульц Э.Э., Сейдахметова Р.Б., Адекенов С.М. // *Хим. раст. сырья.* 2018. № 3. С. 215. doi 10.14258/jcrpm.2018033766
- Pat. US 10765660 B2 (2017).
- Zou M., Liu H., Li J., Yao X., Chen Y., Ke C., Liu S. // *Biochem. Pharmacol.* 2020. Vol. 177. P. 113962. doi 10.1016/j.bcp.2020.113962
- van Dijk C., Driessen A.J., Recourt K. // *Biochem. Pharmacol.* 2000. Vol. 60. N 11. P.1593. doi 10.1016/S0006-2952(00)00488-3
- Viskupicova J., Ondrejovic M., Maliar T. // *Biochem.* 2011. doi 10.5772/34174
- Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications / Eds Ø.M. Andersen, K.R. Markham. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, 2006. 1212 p.
- Anastas P.T., Williamson T.C. // *ACS Symp. Ser.* 1996. Vol. 626. P. 1. doi 10.1021/bk-1996-0626.ch001
- Biasutto L., Marotta E., De Marchi U., Zoratti M., Paradisi C. // *J. Med. Chem.* 2007. Vol. 50. P. 241. doi 10.1021/jm060912x
- Pat. US 6235294 B1 (2001).
- Mohajeri M., Saghaei L., Ghanadian M., Saberi S., Pestechian N., Ostadhusseini E. // *Adv. Biomed. Res.* 2018. Vol. 7. N 64. P. 1. doi 10.4103/abr.abr\_76\_17
- Государственная фармакопея Российской Федерации. <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/>
- Grotewold E. *The Science of Flavonoids.* Ohio: The Ohio State University Columbus, 2006. 273 p.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. // *Life Sci.* 1999. Vol. 65. N 4. P. 337. doi 10.1016/S0024-3205(99)00120-4
- Chebil L., Humeau C., Falcimaigne A., Engasser J., Ghoul M. // *Proc. Biochem.* 2006. Vol. 41. P. 2237. doi 10.1021/jf071943j
- Jaeger K., Eggert T. // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002. Vol. 13. P. 390. doi 10.1016/S0958-1669(02)00341-5
- Almeida V.M., Branco C.R.C., Assis S.A., Vieira I.J.C., Braz-Filho R., Branco A. // *Chem. Central J.* 2012. Vol. 6. N 41. P. 2. doi 10.1186/1752-153X-6-41
- Nakajima N., Ishihara K., Hamada H., Kawabe S.-I., Furuya T. // *J. Biosci. Bioeng.* 2000. Vol. 90. N 3. P. 347. doi 10.1016/s1389-1723(00)80095-x
- Stevenson D.E., Wibisono R., Jensen D.J., Stanley R.A., Cooney J.M. // *Enzyme Microbial Technol.* 2006. N 39. P. 1236. doi 10.1016/j.enzmictec.2006.03.006
- Wu J.-Y., Wang T.-Y., Ding H.-Y., Zhang Y.-R., Lin S.-Y., Chang T.-S. // *Molecules.* 2021. N 26. P. 6274. doi 10.3390/molecules26206274
- Razak N.N.A., Annuar M.S.M. // *Indust. Eng. Chem. Res.* 2015. Vol. 54. N 21. P. 5604. doi 10.1021/acs.iecr.5b00996
- Passicos E., Santarelli X., Coulon D. // *Biotechnol. Lett.* 2004. N 26. P. 1073. doi 10.1023/B:BI LE.0000032967.23282.15
- Mellou F., Loutrari H., Stamatis H., Roussos C., Kolisis F.N. // *Proc. Biochem.* 2006. Vol. 41. P. 2029. doi 10.1016/j.procbio.2006.05.002

28. Kontogianni A., Skouridou V., Sereti V., Stamatis H., Kolisis F.N. // *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2001. N 103. P. 655. doi 10.1002/1438-9312(200110)103:10<655::AID-EJLT655>3.0.CO;2-X
29. de Araújo M.E.M.B., Franco Y.E.M., Messias M.C.F., Longato G.B., Pamphile J.A., de Carvalho P.O. // *Planta Med.* 2017. N 83. P. 7. doi 10.1055/s-0042-118883
30. Kyriakou E., Primikyri A., Charisiadis P., Katsoura M., Gerathanassis I.P., Stamatis H., Tzakos A.G. // *Org. Biomol. Chem.* 2012. N 10. P. 1739. doi 10.1039/c2ob06784f
31. PASS Online. <http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>

## Chemoenzyme Synthesis of Flavonoid Esters

S. V. Pechinskii<sup>a,\*</sup>, A. G. Kuregyan<sup>a</sup>, and E.T. Oganessian<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Medical Pharmaceutical Institute of Pyatigorsk Branch of Volgograd Medical State University, Pyatigorsk, 357532 Russia*  
*\*e-mail: hplc@yandex.ru*

Received April 27, 2022; revised May 29, 2022; accepted June 2, 2022

A method for the synthesis of esters of natural flavonoids – naringenin, quercetin and hesperetin – in the presence of regioselective Novozyme 435 lipase was developed. Benzoic, salicylic, nicotinic and cinnamic acids were used as acids participating in the esterification reaction. 12 new esters of naringenin, quercetin, hesperetin were obtained.

**Keywords:** naringenin, quercetin, hesperetin, esterification, esters, Novozyme 435