Journal of Siberian Federal University. Chemistry 4 (2011 4) 350-355
~ ~ ~

УДК 543:585.2

Изучение химического состава нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны методом хромато-масс-спектрометрии

А.И. Чудина[а], В.И. Шарыпов[а], Б.Н. Кузнецов[а,б] *

[а] Институт химии и химической технологии СО РАН, Россия 660049, Красноярск, ул. К. Мар-кса, 42

[б] Сибирский федеральный университет, проспект Россия 660041, Красноярск, Свободный, 79 [1]

Received 2.12.2011, received in revised form 9.12.2011, accepted 16.12.2011

Методом хромато-масс-спектрометрии получены сведения о химическом составе гексанового экстракта коры сосны обыкновенной (Pinus sylvestris). Установлено, что основным компонентом нейтральной фракции экстракта является β-ситостерин (относительное содержание 56 %).

Ключевые слова: кора сосны, нейтральная фракция гексанового экстракта, состав, β-ситостерин.

Введение

Изучению химического состава экстрактивных веществ, выделяемых неполярными растворителями из коры хвойных пород деревьев (сосны, пихты, лиственницы, ели, кедра), посвящено значительное количество работ [1-6]. При экстракции неполярными растворителями (гексаном, бензином, петролейным эфиром, и т.п.) из коры извлекается большая группа веществ, обладающих биологической активностью и имеющих практическое применение. В группу веществ, извлекаемых из коры хвойных пород деревьев неполярными растворителями, входят различные группы терпеновых соединений, жирные и смоляные кислоты, воски. Данные вещества находят применение в медицине, парфюмерии, в лакокрасочной промышленности.

В работе [6] изучены различные варианты экстракционной переработки коры сосны с получением ассортимента востребованных продуктов. Первой стадией всех предложенных способов выступает экстракция гексаном с целью удаления смолистых веществ. Таким об-

* Corresponding author E-mail address: inm@icct.ru
1 © Siberian Federal University. All rights reserved

разом, детальное изучение состава гексанового экстракта коры сосны является актуальной задачей.

Использование метода хромато-масс-спектрометрии позволяет достичь разделения смолистых веществ на индивидуальные соединения и идентифицировать их с достаточно высокой точностью. Идентификация индивидуальных компонентов экстрактов существенно повышается после разделения смеси веществ на фракции. Смолистые вещества обычно обрабатывают водным раствором щелочи для разделения на кислые и нейтральные компоненты, которые далее исследуют отдельно.

Целью настоящей работы стало изучение химического состава нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны методом хромато-масс-спектрометрии.

Экспериментальная часть

В качестве исходного сырья использовали кору сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), высушенную при 105 ˚С в течение 8 ч. Кору измельчали, просеивали, отбирали фракцию 1-2 мм (табл. 1).

Экстракцию коры сосны проводили в аппарате Сокслета, растворитель – гексан, время экстракции 20 ч. Из 28,5 г коры после удаления растворителя получили 1,7 г экстракта в виде темно-зеленой вязкой массы со смолистым запахом. Выход экстракта 5,9 %.

Нейтральную фракцию гексанового экстракта получали следующим образом. Гексановый экстракт коры сосны (6,5 г) растворяли в 100 мл 0,5 н спиртового раствора едкого калия и нагревали на водяной бане в течение 1 ч. По окончании нагревания реакционную смесь разбавляли водой в четыре раза. Полученную смесь экстрагировали диэтиловым эфиром трижды в делительной воронке. Эфирную фракцию объединяли и сушили над Na_2SO_4. Эфир отгоняли, фракцию нейтральных веществ сушили до постоянного веса. Выход нейтральных веществ составил 1,9 г (29,2 %).

Для получения кислой фракции гексанового экстракта водную фракцию нейтрализовали разбавленной соляной кислотой до слабокислой среды (pH 4). Полученную смесь экстрагировали эфиром дважды, экстракт объединяли, сушили над Na_2SO_4, эфир отгоняли, остаток сушили до постоянного веса. Выход кислой фракции составил 4,6 г (70,7 %).

Нейтральная фракция гексанового экстракта коры сосны была разделена на две части (твердую и смолистую) методом вымораживания при минус 10 °С в течение 12 ч. Твердую и смолистую части растворяли в хлороформе (1 мг в 1 мл) для хроматографирования.

Таблица 1. Химический состав коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*)

Компоненты коры	Целлюлоза	Лигнин	Экстрактивные вещества	Полисахариды		Зольность
				легкогидролизуемые	трудногидролизуемые	
Содержание, % от массы абсолютно сухой коры	22,9	21,2	11,5	15,0	28,8	3,1

Анализ полученных фракций методом хромато–масс–спектрометрии проводили с использованием хроматографа Agilent 7890 A. Разделение продуктов осуществляли на капиллярной колонке длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм HP-5MS при программировании температуры в интервале 70-300 °С (скорость подъема температуры составляла 5 °С/мин) и последующей выдержке при 300 °С 25 мин. Идентификация веществ проводилась в автоматическом режиме методом сравнения экспериментальных масс-спектров с эталонными из базы данных NIST98.

Результаты и обсуждение

Гексановый экстракт коры сосны был получен в количестве 5,9 % от веса абсолютно сухой коры. Экстракт делили на нейтральную и кислую фракции. Выход нейтральной фракции составил 29,2 %, кислой фракции – 70,7 %. После вымораживания нейтральной фракции при минус 10 °С в течение 12 ч 16,8 % веществ выпало в осадок. Остальная часть нейтральных веществ (83,2 %) после вымораживания остается в растворе и при отгонке растворителя образует желтую вязкую массу.

На рисунке 1 приведен фрагмент хроматограммы твердой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны, растворенной в хлороформе. Время выхода основного компонента составило 55,718 мин. Данное соединение было идентифицировано как β-ситостерин, а относительное его содержание в смеси равно 76,97 %.

На рисунке 2 приведен фрагмент хроматограммы смолистой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны, растворенной в хлороформе. Время выхода основно-

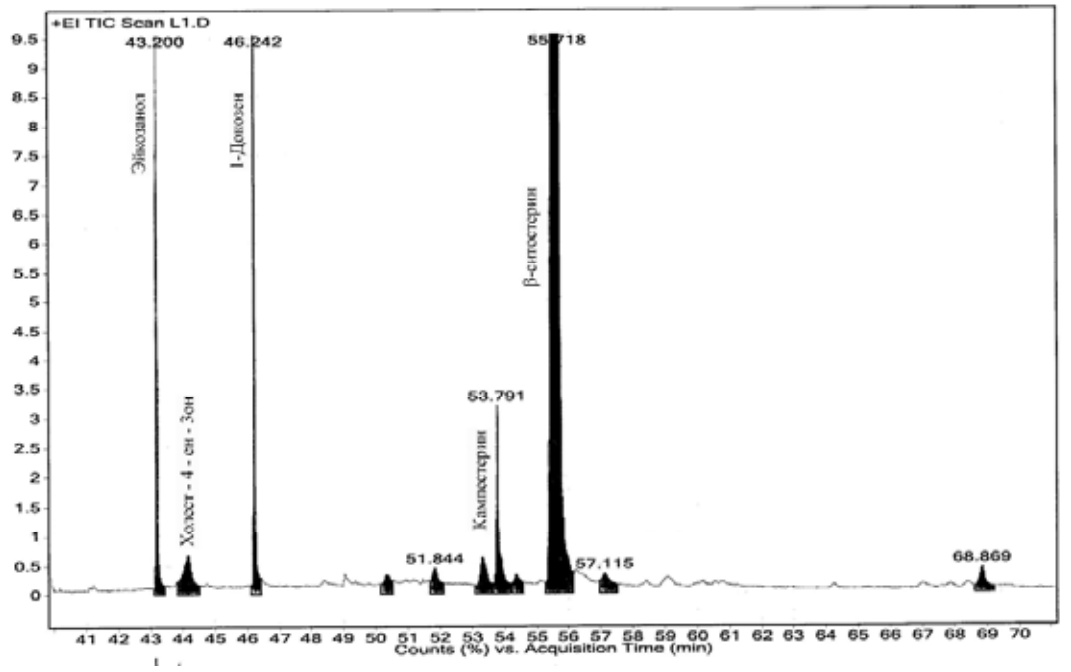


Рис. 1. Хроматограмма твердой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны, растворенной в хлороформе

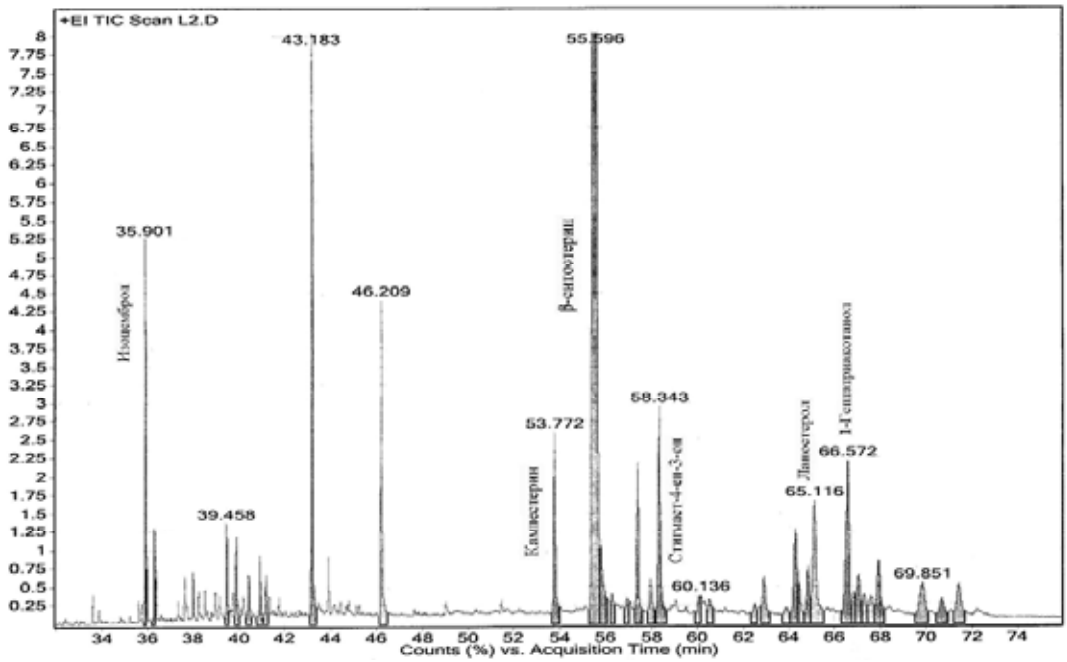


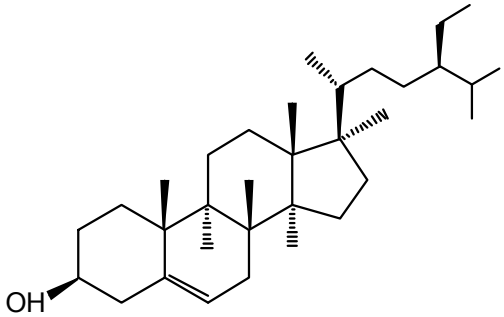
Рис. 2. Хроматограмма смолистой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны, растворенной в хлороформе

го компонента составило 55,596 мин. Данное соединение было также идентифицировано как β-ситостерин. Его относительное содержание в смолистой фракции 53,34 %.

В таблицах 2 и 3 приведены основные компоненты твердой и смолистой фракций нейтральных веществ, относительное содержание которых в данной фракции превосходит 1 % и которые удалось идентифицировать с достаточно высокой вероятностью.

Таким образом, хромато-масс-спектрометрическое исследование состава нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны показало, что относительное содержание β-ситостерина в ней достигает 56 %.

β-ситостерин имеет химическое строение, аналогичное холестерину. Он широко распространен в растительном мире и находится в авокадо, тыкве, кешью, фруктах, рисовых отрубях, зародышах пшеницы, масле кукурузы, соевых бобах.



β-ситостерин

Таблица 2. Основные компоненты твердой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны

Наименование компонента	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
Эйкозанол $C_{22}H_{46}O$	43,20	3,26
Холест-4-ен-3-он $C_{27}H_{44}O$	44,17	1,15
1-Докозен $C_{22}H_{44}$	46,24	3,35
Кампестерин $C_{28}H_{48}O$	53,79	1,67
β-ситостерин $C_{29}H_{50}O$	55,72	76,97

Таблица 3. Основные компоненты смолистой части нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны

Наименование компонента	Время удерживания, мин	Относительное содержание, %
Изоцемрол $C_{20}H_{34}O$	35,90	1,09
Неидентифицировано	43,18	2,22
Неидентифицировано	46,21	1,34
Кампестерин $C_{28}H_{48}O$	53,77	1,17
β-ситостерин $C_{29}H_{50}O$	55,59	53,34
Стигмаст-4-ен-3-он $C_{29}H_{48}O$	58,34	1,78
Ланостерол $C_{30}H_{50}O$	65,12	1,66
Гептатриакотанол $C_{37}H_{76}O$	66,57	1,96

β-ситостерин обладает гипохолестеринемической активностью и используется для лечения и профилактики атеросклероза [7]. По данным многих исследователей, β-ситостерин вызывает понижение уровня холестерина плазмы, ингибируя адсорбцию как эндогенного, так и экзогенного холестерина стенками кишечника. Широкое применение β-ситостерин находит для лечения и облегчения симптомов гиперплазии простаты [8], используется также для синтеза гормональных препаратов. β-ситостерин имеет перспективы применения в качестве профилактической биологически активной добавки в фармацевтической и пищевой промышленности [9]. Таким образом, гексановый экстракт коры сосны может стать перспективным источником для получения β-ситостерина.

Список литературы

1. Дейнеко И.П., Дейнеко И.В., Белов Л.П. Исследование химического состава коры сосны // Химия растительного сырья. 2007. № 1. С. 19-24.

2. Левданский В.А., Полежаева Н.И., Макиевская А.И., Кузнецов Б.Н. Безотходная переработка коры пихты // Химия растительного сырья. 2000. № 4. С. 21-28.

3. Черненко Г.Ф., Иванова Е.Е., Деменкова Л.И., Шмидт Э.Н. Экстрактивные вещества коры Larix Dahurica // Химия природных соединений. 1991. № 4. С. 580-582.

4. Черненко Г.Ф., Деменкова Л.И., Иванова Е.Е., Шмидт Э.Н. Экстрактивные вещества коры Picea ajanensis // Химия природных соединений. 1990. № 5. С. 645-649.

5. Бутылкина А.И., Левданский В.А., Калачева Г.С., Кузнецов Б.Н. Хромато-масс-спектрометрическое изучение химического состава гексанового экстракта коры кедра // Журнал СФУ. Химия. 2008. № 3. С. 293-300.

6. Бутылкина А.И., Левданский В.А., Кузнецов Б.Н. Изучение состава экстрактивных веществ, выделенных из коры сосны различными методами // Химия растительного сырья. 2011. № 2. С. 77-82.

7. Moghadasian M.H., Frohlich J.J. Effects of dietary phytosterols on choleaterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence // J. Amer. Med. 1999. Vol. 107. P. 588.

8. Wilt T.I. β-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review // BIU Int. – 1999. 83(9). P. 976–983.

9. Jones P.I.H. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agent in humans // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1997. 75(3). P. 217–227.

Study of Chemical Composition of Neutral Fraction of Pine Bark Hexane Extract by Chromatography-Mass-Spectrometry Method

Anna I. Chudina[a],
Victor I. Sharypov[a] and Boris N. Kuznetsov[a,b]
[a] Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS,
42 K.Markx st, Krasnoyarsk, 660049 Russia
[b] Siberian Federal University,
79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia

The information on chemical composition of neutral fraction of pine bark hexane extract was obtained with the use of chromatography-mass-spectrometry method. It was established, that the basic component of a neutral fraction is β-sitosterol (relative content 56 %).

Keywords: pine bark, neutral fraction of hexane extract, composition, β-sitosterol.