

УДК 543:585.2

Хромато-масс-спектрометрическое изучение химического состава гексанового экстракта коры кедр

Анна И. Бутылкина^а, Владимир А. Левданский^{а,б},
Галина С. Калачева^в, Борис Н. Кузнецов^{а,б*}

^а Институт химии и химической технологии СО РАН,
ул. К. Маркса, 42, Красноярск, 660049 Россия

^б Сибирский федеральный университет,
пр. Свободный, 79, Красноярск, 660041 Россия

^в Институт биофизики СО РАН
Академгородок, Красноярск, 660036 Россия¹

Received 4.08.2008, received in revised form 22.09.2008, accepted 29.09.2008

*Методом хромато-масс-спектрометрии получены сведения о химическом составе гексанового экстракта коры кедр сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour). Установлено, что основными компонентами нейтральной фракции экстракта являются изоцемброл (*thunbergol*) (30,1 %), β -ситостерол (16,5 %) и арахидиновый спирт (10 %), а кислой фракции – ламбертиановая кислота (40,2 %), пальмитиновая кислота (12,1 %) и этиловый эфир тетракозановой (лигноцериновой) кислоты (7,6 %).*

Ключевые слова: кора кедр, гексановый экстракт, кислая фракция гексанового экстракта, нейтральная фракция гексанового экстракта.

Введение

Изучению химического состава смолистых веществ коры хвойных пород деревьев посвящено значительное число работ. Подробно изучен химический состав эфирных масел и хвойных бальзамов коры пихты [1, 2], ели, сосны и лиственницы. Изучению живицы кедр сибирского посвящена работа [3], в которой методом колоночной хроматографии на окиси алюминия, импрегнированной азотнокислым серебром, из смеси смоляных кислот выделена ламбертиановая кислота, а из нейтральной части живицы – ее метиловый эфир.

Химический состав смолистых веществ коры кедр сибирского изучен не так подробно. В работе [4], с использованием хроматографии на силикагеле и последующим анализом фракции методом ГЖХ на приборе Хром-5, получены данные о составе эфирного экстракта обесхвоенных побегов кедр сибирского.

При хроматографировании эфирного экстракта коры кедр на полиамидном сорбенте, с последующим анализом полученных фракций методом хроматографии на бумаге, УФ- и ИК-спектроскопии обнаружено пять фенолкарбоновых кислот

* Corresponding author E-mail address: inm@icct.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

(п-кумаровая, кофейная, феруловая, протокатеховая и ванилиновая) и два стильбена: 4,4'-дигидроксистильбен и 3,5,4'-тригидроксистильбен (резвератрол) [5,6].

Целью работы являлось изучение химического состава гексанового экстракта коры кедр методом хромато-масс-спектрометрии.

Экспериментальная часть

В работе в качестве сырья использовали кору кедр сибирского (*Pinus sibirica Du Tour*), полученную со спичечной фабрики г. Томска, измельченную до размера 1,0 - 2,0 мм. Состав используемой коры приведен в табл. 1.

Получение экстракта. Экстракцию воздушно-сухой коры кедр проводили в аппарате Сокслета, растворитель – гексан, время экстракции – 20 ч. Из 110 г коры кедр после удаления растворителя получили 6,5 г экстракта в виде темно-зеленой вязкой массы со смолистым запахом. Выход экстракта 5,9 %.

Обработка экстракта. Разделение гексанового экстракта на кислую и нейтральную составляющую проводили следующим образом. Экстракт (6,5 г) растворили в 100 мл 0,5 н спиртового раствора едкого калия и нагревали в колбе с обратным холодильником на водяной бане в течение 1 ч. По окончании нагревания реакцию смесь разбавили водой в четыре раза. Полученную смесь экстрагировали диэтиловым эфиром трижды в делительной воронке. Эфирную фракцию объединяли и сушили на Na_2SO_4 . Эфир отгоняли, остаток сушили до постоянного веса.

Выход нейтральных веществ составил 1,7 г (26,1 %). Водную фракцию нейтрализовали разбавленной соляной кислотой до слабокислой среды (рН 4), полученную смесь экстрагировали эфиром дважды, экстракт объединяли, сушили над Na_2SO_4 , эфир отгоняли, остаток сушили до постоянного веса. Выход кислой фракции составил 4,2 г (64,6 %).

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводился на газовом хроматографе GCD Plus (Hewlett-Packard, USA) с квадрупольным масс-спектром (HP MSD). Использовали капиллярную колонку HP-5S длиной 30 м, внутренним диаметром – 0,25 мм. Условия хроматографирования: газ носитель – гелий; скорость потока 1 мл/мин; температура ввода образца 220 °С; начальная температура 50 °С, программа подъема температуры до 320 °С со скоростью 8 °С/мин; температура трансферной линии 230 °С; температура источника ионов 175 °С; режим электронного удара при 70 eV; детекция масс от 45 до 450 *m/z*. Качественный анализ основан на сравнении времен удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки масс-спектрометра.

Результаты и обсуждение

Известно, что смолистые вещества хвойных пород деревьев представляют собой сложную смесь терпеновых соединений, восков, жиров, насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, смоляных кислот. Перечисленные группы веществ извлекаются из

Таблица 1. Химический состав коры кедр сибирского

Компоненты	Целлюлоза	Лигнин	Экстрактивные вещества	Полисахариды		Зольность
				легко-гидролизуемые	трудно-гидролизуемые	
Состав, % мас. от массы абсолютно сухой коры	27,7	32,3	16,7	18,7	26,2	2,3

растительного сырья неполярными растворителями. Использование метода хромато-масс-спектрометрии позволяет достичь разделения смолистых веществ на индивидуальные соединения и идентифицировать их с достаточно высокой точностью. Идентификация индивидуальных компонентов существенно повышается после разделения смеси веществ на кислую и нейтральную фракции.

Гексановый экстракт коры кедрового после удаления растворителя был разделен на нейтральную и кислую фракции. Как показали результаты хромато-масс-спектрометрического исследования, кислая фракция гексанового экстракта содержит

смоляные и жирные кислоты состава C_{16} - C_{26} и их этиловые эфиры. Основными из них являются ламбертиановая кислота (40,2 %), пальмитиновая кислота (12,1 %) и этиловый эфир тетракозановой (лигноцериновой) кислоты (7,6 %). На рис. 1 показана хроматограмма кислой фракции гексанового экстракта, а на рис. 2 – ее масс-спектр. В табл. 2 указаны вещества кислой фракции, относительное содержание которых в данной фракции превышает 0,5 % и которые удалось идентифицировать с достаточной точностью (с вероятностью более 85 %).

Ламбертиановая кислота относится к классу лабдановых дитерпеноидов и является основным компонентом экстрактивных

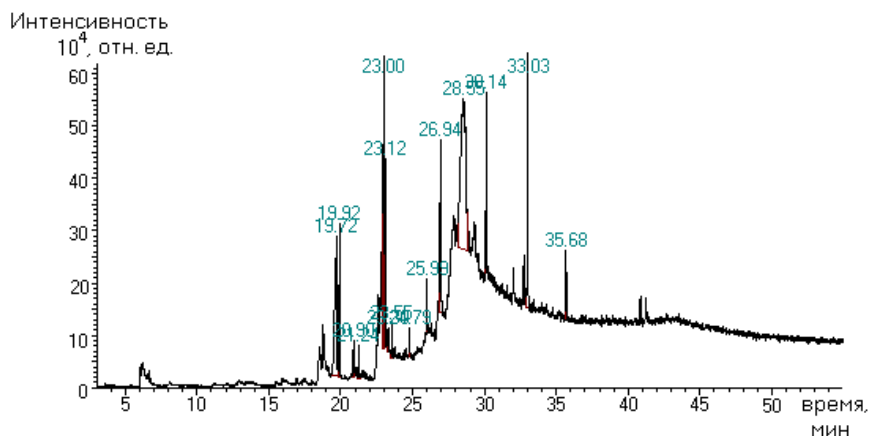


Рис. 1. Хроматограмма кислой фракции гексанового экстракта коры кедрового

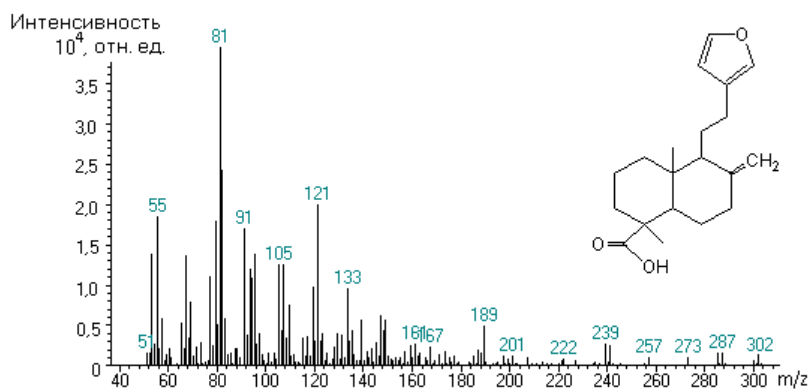


Рис. 2. Масс-спектр основного компонента кислой фракции гексанового экстракта коры кедрового – ламбертиановой кислоты

Таблица 2. Состав кислой фракции гексанового экстракта коры кедра

Компонент	Время удерживания, мин	M ⁺	Относительное содержание, %
Пальмитиновая (гексадекановая) кислота C ₁₅ H ₃₁ COOH	19,72	256	12,1
Этиловый эфир пальмитиновой (гексадекановой) кислоты C ₁₅ H ₃₁ CO ₂ C ₂ H ₅	19,92	284	4,2
Изогептадекановая кислота C ₁₆ H ₃₃ COOH	20,90	270	1,6
Этиловый эфир гептадекановой (маргариновой) кислоты C ₁₆ H ₃₃ COOC ₂ H ₅	21,24	298	0,9
Октадекадиеновая (линолевая) кислота C ₁₇ H ₂₉ COOH	23,00	280	6,9
Этиловый эфир олеиновой кислоты C ₁₇ H ₃₃ CO ₂ C ₂ H ₅	23,12	310	4,9
Октадекановая (стеариновая) кислота C ₁₇ H ₃₅ COOH	23,30	284	0,6
Этиловый эфир стеариновой (октадекановой) кислоты C ₁₇ H ₃₅ CO ₂ C ₂ H ₅	23,55	312	0,9
Этиловый эфир нонадекановой (нонадециловой) кислоты C ₁₈ H ₃₇ COOC ₂ H ₅	24,79	326	0,7
Этиловый эфир арахидиновой (эйкозановой) кислоты C ₁₉ H ₃₉ CO ₂ C ₂ H ₅	26,94	340	5,4
Ламбертиановая кислота	28,52	316	40,2
Этиловый эфир докозановой (бегеновой) кислоты C ₂₁ H ₄₃ CO ₂ C ₂ H ₅	30,14	368	5,4
Этиловый эфир тетракозановой (лигноцериновой) кислоты C ₂₃ H ₄₇ CO ₂ C ₂ H ₅	33,03	396	7,6
Этиловый эфир гексакозановой (церотиновой) кислоты C ₂₅ H ₅₁ COOC ₂ H ₅	35,68	424	1,9

веществ хвои и живицы [3] кедра, она также является основной составляющей фракции кислот эфирного экстракта обесхвоенных побегов кедра сибирского [4].

Биологические испытания выявили у ламбертиановой кислоты и метилламбертианата нейротропную активность [7]. Диеновый синтез с малеиновым ангидридом позволяет получать производные (кантаридин и паласонин), обладающие разнообразной биологической активностью, в том числе и противоопухолевым действием [8]. Получены производные ламбертиановой кислоты, обладающие антидепрессивным и антипсихотическим действием [9].

Нейтральная часть гексанового экстракта содержит различные изопреноиды и алифатические спирты. Основными компонентами нейтральной части гексанового экстракта коры кедра являются изоцеброл (thunbergol) (30,1 %), β-ситостерол (16,5 %) и арахидиновый спирт (10 %). На рис. 3 показана хроматограмма нейтральной фракции гексанового экстракта, а на рис. 4 – ее масс-спектр. В табл. 3 приведены компоненты нейтральной фракции, которые идентифицированы с вероятностью более 85 %, время их удерживания, молекулярная масса и относительное содержание.

Преобладающим компонентом нейтральной части гексанового экстракта является

Таблица 3. Состав нейтральной фракции гексанового экстракта коры кедра

Компонент	Время удерживания, мин	M ⁺	Относительное содержание, %
Борнеол	3,58	154	0,4
α-кубебен	12,99	204	2,2
α-бисаболол	13,81	222	1,6
3,7,11-триметил-1,3,6,10-циклотетрадекатетраен	18,87	272	9,6
Изоцеброл (thunbergol)	21,27	290	30,1
1-нонадеканол C ₁₉ H ₃₉ OH	28,51	284	5,0
1-эйкозанол (арахиновый спирт) C ₂₀ H ₄₁ OH	31,62	298	10,0
β-ситостерол	40,03	414	16,5
Стигмаста-3,5-диен-7-он	41,02	410	1,9
Стигмаст-4-ен-3-он	41,5	412	5,0

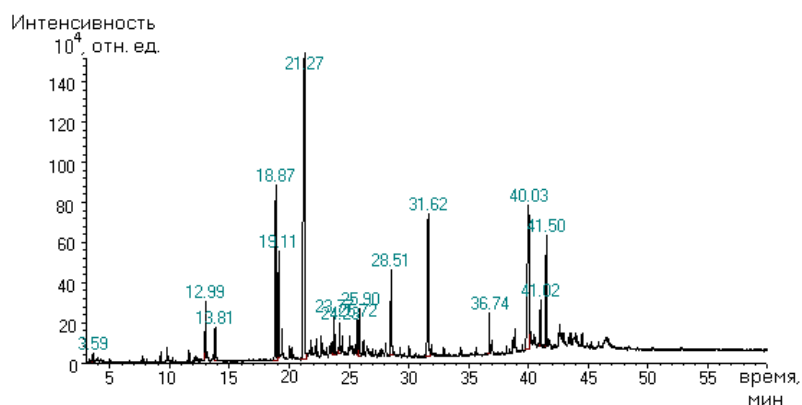


Рис. 3. Хроматограмма нейтральной фракции гексанового экстракта коры кедра

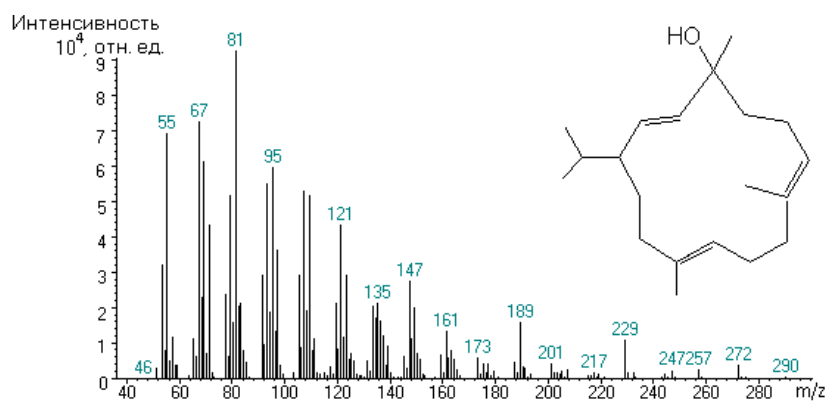


Рис. 4. Масс-спектр основного компонента нейтральной фракции гексанового экстракта коры кедра – изоцебрала (thunbergol)

моноциклический дитерпеновый спирт изоцеброл, содержащий четырнадцатичленный цикл, его относительное содержание составляет около 30 %. Впервые оно было найдено в коре пихты Дугласа (*Douglas fir*). Его название происходит от латинского наименования кедр европейского *Pinus cembra* [10], в иностранной литературе его называют thunbergol. Изоцеброл – основной нейтральный дитерпеноид живицы кедр сибирского [11], однако в хвое и молодых побегах он отсутствует [4]. Из изоцебрала получены производные, обладающие высокой цитотоксической активностью [12]. α -Бисаболол, обнаруженный в гексановом экстракте коры кедр, был ранее найден в обесхвоенных побегах [4] и живице [13] кедр сибирского. Это соединение также было найдено в живицах многих хвойных растений.

Общее содержание стеринов, обнаруженных в нейтральной части гексанового экстракта коры кедр, составило 23,4 %. Основными из них являются β -ситостерол (16,5 %), стигмаст-4-ен-3-он (5,0 %) и стигмаст-3,5-диен-7-он (1,9 %). β -Ситостерол содержится в количестве 5 % в нейтральной фракции петролейноэфирного экстракта коры лиственницы *Larix Decidua* [14]. Родственное соединение β -ситостерин является основным компонентом фракции полярных нейтральных соеди-

нений эфирного экстракта обесхвоенных побегов кедр [4]. β -Ситостерол используют в качестве гипохолестеринемического средства и для лечения и облегчения симптомов гиперплазии простаты (препарат Азупростат М).

Стигмаст-4-ен-3-он был обнаружен в составе гексанового и эфирного экстрактов корней копеечника чайного (*Hedysarum theinum Krasnob.*) [15].

В нейтральной части гексанового экстракта коры кедр обнаружено незначительное содержание производного кариофиллена - кариофиллен оксид (0,33 %). Кариофиллен известен тем, что он входит в состав живиц всех видов лиственниц, кедров, елей и пихт. Содержание его колеблется в зависимости от вида древесины. Уникальна в этом отношении живица пихты *Abies broxteata*, в которой доля этого углеводорода достигает 59 %.

Таким образом, с использованием метода хромато-масс-спектрометрии получены сведения о химическом составе кислой и нейтральной фракции гексанового экстракта коры кедр сибирского. Показано, что основными компонентами экстракта являются биологически активные соединения – ламбертиановая кислота, изоцеброл, β -ситостерол, которые могут найти применение в медицине и фармацевтической промышленности.

Список литературы

1. Левданский В.А., Полежаева Н.И., Макиевская А.И., Кузнецов Б.Н. Безотходная переработка коры пихты // Химия растительного сырья. – 2000. – № 4. – С. 21-28.
2. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Павленко Н.И., Полежаева Н.И., Шилкина Т.А., Еськин А.П. Экстракционная переработка активированной хвойной коры // Химия в интересах устойчивого развития. – 1997. – № 5. – С. 179-185.
3. Каштанова Н.К., Лисина А.И., Дзизенко А.К., Пентегова В.А. Ламбертиановая кислота и ее метиловый эфир в живице *Pinus sibirica* R. Mayr // Изв. Сиб. Отд. Акад. наук СССР. Сер. хим. наук. – 1967. – № 2. – С. 126-129.
4. Гришко В.В., Шевцов С.А., Деменкова Л.И., Ралдугин В.А, Ляндрес Г.В. Групповой химический состав и основные компоненты экстракта обесхвоенных побегов кедр сибирского // Сибирский хим. журн. – 1991. – Вып. 2. – С. 94-97.

5. Долгодворова С.Я. Фенольные кислоты коры *Pinus sibirica*. Изучение природы лесов Сибири. – Красноярск, 1972.
6. Долгодворова С.Я., Степень Р.А., Перышкина Г.И., Черняева Г.Н. Изучение свойств и структуры фенольных компонентов коры кедра. Исследования в области химии древесины. – Красноярск, 1973.
7. Толстикова Т.Г., Долгих М.П., Толстиков Г.А. Ламбертиановая кислота и ее аминокпроизводные – новая группа перспективных нейротропных агентов // Докл. АН. – 2000. – том 374, № 2. – С. 268-270.
8. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Толстикова Т.Г., Шульц Э.Э. Синтетические трансформации высших терпеноидов и алкалоидов // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. – 2002. – № 7. – С. 9-20.
9. Толстикова Т. Г., Воевода Т. В., Долгих М. П., Сорокина И. В. Нейротропная активность ламбертиановой кислоты и ее аминокпроизводных // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – № 2. – С. 9-11.
10. Семенов А.А. Очерк химии природных соединений. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 2000. – 664 с.
11. Ралдугин В.А., Деменкова Л.И., Пентегова В.А. Групповой состав живицы кедра сибирского // Химия природ. соедин. – 1984. – С. 677-678.
12. Салихов Ш.М. Изоцемброд и N-метилурокановая кислота в синтезе потенциальных цитотоксических биомиметиков: Автореф. дис. канд. хим. наук. – Уфа. – 2007.
13. Хан В.А., Панкрушина Н.А., Дубовенко Ж.В., Пентегова В.А. α -Бизаболол в хвойных семейства *Pinaceae* // Химия природ. соедин. – 1985. – № 4. – С. 575-576.
14. Torbjörn N., Björn W. Neutral constituents of *Larix Decidua* bark // Phytochemistry. – 1974. – V. 13. – P. 1290-1292.
15. Сальникова О.И., Покровский Л.М., Нечепуренко И.В., Нечепуренко С.Б., Половинка М.П., Салахутдинов Н.Ф. Изучение химического состава корней копеечника чайного с помощью хромато-масс-спектрометрии // Материалы Всерос. конф. «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул. – 2005. – С. 452-455.

Chromato-Mass-Spectrometric Investigation of Chemical Composition of Pinus Sibirica Bark Hexan Extract

**Anna I. Butylkina^a, Vladimir A. Levdanskii^{a, b},
Galina S. Kalacheva^c, Boris N. Kuznetsov^{a, b}**

^a *Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS,
42 K. Marx st., Krasnoyarsk, 660049 Russia*

^b *Siberian Federal University,
79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia*

^c *Institute of Physics, SB RAS,
Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

Using chromato-mass-spectrometry the information on chemical composition of pinus sibirica bark hexan extract was received. It was established, that the basic components of a neutral fraction of an extract are isocembrol (thunbergol) (30,1 %), β -sitosterol (16,5 %) and arachidyl alcohol (10 %), and acid fraction – lambertianic acid (40,2 %), palmitic acid (12,1 %) and ethyl ether of lignoceric acid (7,6 %).

Keywords: pinus sibirica bark, hexan extract, acid fraction of hexan extract, neutral fraction of hexan extract.
