

УДК 634.0.813.2

DOI: 10.37482/0536-1036-2021-3-170-185

## УГЛЕВОДОРОДЫ И СЛОЖНЫЕ ЭФИРЫ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ХВОИ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ

*Д.С. Миксон, ассистент; ResearcherID: [AAK-1624-2020](https://orcid.org/0000-0001-7828-2966).*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7828-2966>*

*В.И. Роцин, д-р хим. наук, проф.; ResearcherID: [AAK-4435-2020](https://orcid.org/0000-0002-5410-9496).*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5410-9496>*

Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, Институтский пер., д. 5, Санкт-Петербург, Россия, 194021; e-mail: ms.mikson@mail.ru, kaf.chemdrev@mail.ru

**Аннотация.** Лиственница сибирская (*Larix sibirica* L.) – одна из основных промышленных пород хвойных древесных растений России. В настоящее время древесная зелень лиственницы – отход лесозаготовительного производства – используется недостаточно. Это связано с неполной изученностью состава соединений и изменчивости самого сырьевого источника в связи с опадением хвои. Цель исследования – установление состава соединений углеводов и сложных эфиров, содержащихся в хвое лиственницы сибирской летнего и осеннего сборов. Экстрактивные вещества извлекали из древесной зелени пропанолом-2, затем, после отгонки растворителя, выделяли вещества, растворимые в петролейном эфире (40–70 °С). Последние разделили на свободные кислоты (31,5% для зеленой хвои и 28,0% для желтой) и нейтральные вещества (59,8% для зеленой и 48,1% для желтой). Далее нейтральные вещества хроматографировали на силикагеле: углеводороды (2,43 и 3,02 %, здесь и далее процент от нейтральных веществ зеленой и желтой хвои соответственно), сложные эфиры (31,3 и 33,8 %) и триглицериды (11,70 и 6,44 %). Фракции сложных эфиров и триглицеридов подвергли щелочному гидролизу и получили кислотные составляющие сложных эфиров (9,12 и 24,80 %) и триацилглицеринов (17,43 и 26,15 %). Фракции неомыляемых соединений кроме спиртов содержали неомыляемые вещества с неизменными значениями  $R_f$  на тонкослойной хроматографии. Фракции неомыляемых веществ хроматографировали на силикагеле, а затем дополнительно – на силикагеле с нитратом серебра. Выделенные соединения фитостероинов и некоторых углеводов идентифицировали методом ЯМР-спектроскопии. В кислотной составляющей сложных эфиров главные компоненты линолевая и линоленовая кислоты. Группа углеводов представлена сесквитерпенами в обоих сборах хвои. Идентифицирован новый для хвойных растений ароматический углеводород – геранил-*n*-цимен. Впервые из зелени лиственницы сибирской выделены полипренолы, структура которых по данным ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии EMS отличается от полипренолов ели и сосны длиной цепи. Содержат изопренологи от 14 до 20 изопреновых звеньев в цепи молекул с преобладанием пренола-17. Выход полипренолов составил 12,8–14,9 % от нейтральных веществ желтой и зеленой хвои соответственно. Из зеленой выделены тетрациклические тритерпеновые спирты и стерин. Тритерпеновые спирты в желтой хвое не найдены.

**Для цитирования:** Миксон Д.С., Роцин В.И. Углеводороды и сложные эфиры экстрактивных веществ хвои лиственницы сибирской // Изв. вузов. Лесн. журн. 2021. № 3. С. 170–185. DOI: 10.37482/0536-1036-2021-3-170-185

**Ключевые слова:** *Larix sibirica*, древесная зелень, хвоя, углеводороды, сложные эфиры, жирные кислоты, геранил-*n*-цимен, полипренолы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare that there is no conflict of interest

### Введение

Российская Федерация на своей территории имеет более  $\frac{1}{3}$  всех мировых запасов леса – неисчерпаемого ресурса биосферы [2, 11]. Одной из основных лесообразующих и значимых для целлюлозно-бумажной промышленности и деревообработки пород в нашей стране является лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ldb.) [3]. Однако значительная часть, практически более половины биомассы древесного растения, остается неиспользуемой (в виде древесной зелени и пней – отходов лесозаготовки – а также опилок, стружки, коры) при получении продукции из древесины. В промышленном масштабе древесная зелень лиственницы не применяется для выделения биологически активных веществ в отличие от зелени сосны, ели и пихты. Данные о терпеноидной части кроны лиственницы практически отсутствуют. Вероятно, недостаточная изученность состава экстрактивных веществ древесной зелени этого растения, изменчивость состава сырья, отсутствие хвои в осенне-зимний период года могут служить причиной того, что интереса к разработке технологий переработки кроны лиственницы нет.

Древесная зелень хвойных пород является ценным сырьем для получения биологически активных продуктов и препаратов, которые применяются в лечебной и профилактической медицине, сельском хозяйстве и других отраслях промышленности [13]. Благодаря комплексному подходу можно увеличить степень использования биомассы лиственницы при переработке отходов лесозаготовок.

Цель исследования – изучить состав углеводов и сложных эфиров нейтральных веществ зеленой и опадающей (желтой) хвои лиственницы сибирской.

### Объекты и методы исследования

Древесную зелень лиственницы заготавливали в Томской области. Использовали хвою лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ldb.) разного периода вегетации. Зеленая хвоя была отобрана в июле, а желтая – в октябре. Характеристика образцов, методика наработки экстрактивных веществ и групповой состав представлены в работе [6]. Хвою экстрагировали пропан-2-олом (ИП) в аппарате Сокслета, после отгонки растворителя извлекали петролейным эфиром (ПЭ) экстрактивные вещества, которые водным гидроксидом натрия разделяли на нейтральные вещества и свободные кислоты [10]. Полученные нейтральные вещества методом колоночной хроматографии разделяли на фракции, различающиеся по полярности соединений. Хроматографическую колонку заполняли сорбентом – силикагелем фирмы «Merck» с размером зерен 40–60 мкм, элюировали соединения ПЭ, ПЭ с добавкой диэтилового эфира (ДЭ) от 2 до 50 %, затем ДЭ и этанолом.

Для контроля и качественного отбора фракций использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). В качестве эталонных соединений «метчиков» на ТСХ применяли сквален, триглицериды растительного масла,  $\alpha$ -терпинеол, изоабиенол, полипренолы ели европейской и стерины. Хроматографические пластины проявляли парами йода в стеклянной камере, в отдельных случаях пластину дополнительно обрабатывали концентрированной серной кислотой с последующим выдерживанием в сушильном шкафу при температуре 120 °С.

Фракцию сложных эфиров, имеющую значение  $R_f$  на ТСХ меньше, чем у сквалена, и выше, чем у триглицеридов, и фракцию триглицеридов с  $R_f$ , соответствующим  $R_f$ -триглицеридов растительного масла, гидролизировали спиртовым раствором щелочи (0,5М КОН в этаноле) при температуре 55–60 °С в течение 30 мин. Полученный гидролизат упаривали на  $\frac{3}{4}$  от спирта, содержащегося в колбе, и разделяли по кислотнo-щелочной схеме [10] на неомыляемые вещества и «связанные» кислоты.

Неомыляемые вещества сложных эфиров и триглицеридов хроматографировали на колонке с силикагелем (элюенты – ПЭ, ПЭ с градиентным увеличением ДЭ от 1 до 50 %, ДЭ, ИП) для выделения спиртов – продуктов щелочного гидролиза сложных эфиров – и компонентов, которые не изменили значение  $R_f$  на ТСХ после проведения гидролиза. Отдельные фракции, обогащенные основными соединениями, такие как тритерпеновые спирты, перевели в ацетаты для качественного их разделения при повторной хроматографии. Для ацетилирования использовали смесь пиридина и уксусного ангидрида в пропорции 2:1 соответственно [1]. После ацетилирования фракции на ТСХ были видны пятна ацетатов, значения  $R_f$  которых оказались близки по отношению друг к другу. Ацетаты хроматографировали на колонке с силикагелем, импрегнированным 10 %-й добавкой  $\text{AgNO}_3$ .

Кислотную составляющую сложных эфиров и триглицеридов – связанные кислоты – метилировали диазометаном и анализировали с помощью хроматомасс-спектрометрии.

Для идентификации соединений применяли инструментальные методы анализа. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  индивидуальных соединений записывали на приборе JEOL JNM – ECX 400A (для  $^1\text{H}$  – 399,9 МГц,  $^{13}\text{C}$  – 100,0 МГц) в растворе  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  шкала. Исследуя фракции, использовали хроматомасс-спектрометр с газовым хроматографом Agilent Technologies 6850A и квадрупольным масс-спектрометром Agilent Technologies 5973N, стандартную кварцевую капиллярную колонку HP-5MS длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм, толщина пленки неподвижной фазы – 0,25 мкм. Разделение потока 1:100. Температурный режим колонки: программирование температуры со скоростью 5 °С/мин от 60 до 280 °С для фракций углеводородов; для метиловых эфиров кислот – от 150 до 280 °С, для фракций неомыляемых веществ – от 100 до 280 °С. Дозируемый объем пробы – 0,1 мкл. Идентификацию соединений проводили сравнением масс-спектров, полученных на хроматограмме пиков, с масс-спектрами известных соединений по сведениям баз данных WILLEY, NIST и [12]. Для анализа полипренолов использовали масс-спектрометрию высокого разрешения MS TOF HR (EIS).

*Полипренолы:* вязкое нелетучее вещество, светло-желтого цвета, спектр ПМР,  $\delta$  шкала,  $\text{CDCl}_3$ : 1,5930 м.д. и 1,6060 м.д. – синглеты на 3H и 6H, метил концевой изопропиледеновой группы в *транс*-конфигурации и метилы двух внутренних изопреновых звеньев у атома углерода трехзамещенных двойных связей в *транс*-конфигурации соответственно; 1,6761 м.д. – синглет на 44H, 14-15 метильных групп у атомов углерода внутренних трехзамещенных двойных связей и концевой изопропиледеновой метильной группы в *цис*-конфигурации; 1,7427 м.д. – синглет на 3H, метильная группа у атома углеро-

да трехзамещенной двойной связи изопентинильного звена с ОН-группой; 2,0366 м.д. – синглет на  $69\text{H}$  –  $\text{CH}_2$ -группы изопентинильных звеньев цепи молекулы; 4,0922 м.д. – дублет дублетов  $J = 2,0$  и  $J = 8,0$  Гц на  $2\text{H}$ , протоны у атома  $\text{C}$ , связанного с ОН-группой; 5,1194 м.д. – широкий синглет на  $17\text{H}$ , протоны у атомов углерода трехзамещенных двойных связей изопентинильных звеньев; 5,443 м.д. – триплет дублетов  $J = 2,0$  и  $J = 8,0$  Гц,  $1\text{H}$ , протон у атома углерода трехзамещенной двойной связи изопентинильной группы –  $\text{C}(\text{CH}_3) = \text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$ .

*3-Карен:* спектр ПМР,  $\delta$  шкала,  $\text{CDCl}_3$ : 0,7588 м.д. и 1,0206 м.д., по  $3\text{H}$  каждый, протоны метильных групп у атома углерода циклопропанового кольца; 1,5962 м.д.,  $3\text{H}$  – синглет, протоны метильной группы у атома углерода трехзамещенной двойной связи циклогексенового кольца; триплет дублетов с центром 0,6084 м.д. ( $J = 8,0 : J = 4,0 : J = 0,4$  Гц) на  $1\text{H}$  и 0,7134 м.д. триплет дублетов ( $J = 8,0 : J = 4,0$  и  $J = 0,4$  Гц) на  $1\text{H}$  – протоны у атомов углерода сочленения циклопропанового и циклогексенового колец; дублет с центром 1,7890 м.д. на  $1\text{H}$  и дублет дублетов с центром 2,1620 м.д. на  $1\text{H}$  – протоны метиленовой группы у атома углерода, находящегося между атомом углерода сочленения циклопропанового кольца и атомом углерода трехзамещенной двойной связи с метилом; 2 дублета с центрами 1,9381 м.д. и 2,3450 м.д. на  $1\text{H}$  каждый – протоны метиленовой группы у атома углерода, находящегося между атомом углерода сочленения циклопропанового кольца и атомом углерода с протоном трехзамещенной двойной связи; протон у атома углерода трехзамещенной двойной связи проявляется в виде широкого синглета с центром 5,2302 м.д. на  $1\text{H}$ .

*Сквален:* спектр ПМР,  $\delta$  шкала,  $\text{CDCl}_3$ : 1,6064 м.д. – синглет на  $18\text{H}$ , протоны метильных групп у атомов углерода трехзамещенных двойных связей в *транс*-конфигурации; 1,6832 м.д. – синглет на  $6\text{H}$ , метильные группы у атомов углерода трехзамещенных двойных связей в *цис*-конфигурации; 1,9580 м.д. и 2,1115 м.д. – мультиплет на  $20\text{H}$ , внутренние метиленовые группы; мультиплет с центром 5,1214 м.д. на  $6\text{H}$  – протоны у атомов углерода трехзамещенных двойных связей.

*Циклоартенол ацетат:* спектр ПМР,  $\delta$  шкала,  $\text{CDCl}_3$ : сигналы циклопропанового кольца проявлялись в виде дублетов на  $1\text{H}$  каждый с центрами 0,55 и 0,68 м.д., метильные группы в боковой цепи в виде синглетов с центрами 1,57 и 1,68 м.д. на  $3\text{H}$  каждый; 4,05 м.д. –  $1\text{H}$ , триплет, протон у атома углерода с вторичной ацетатной группой, имеющий у соседнего атома углерода  $\text{C}-4$  замещение метильными группами. Протон у атома углерода  $\text{C}-24$  трехзамещенной двойной связи проявляется на спектре в виде триплета на  $1\text{H}$  в области 5,25 м.д.

#### *Результаты исследования и их обсуждение*

Результаты разделения методом колоночной хроматографии нейтральных веществ зеленой (81,4 г) и желтой (14,9 г) хвои представлены в табл. 1. Содержание углеводов и сложных эфиров практически одинаково в обоих сборах, а уровень триглицеридов меньше в 2 раза в желтой хвое.

Таблица 1

**Результаты разделения нейтральных веществ хвои лиственницы методом  
колоночной хроматографии**

№ п/п	Элюент	Группа веществ	Содержание*	
			г	%
1	ПЭ	Углеводороды	1,98/0,45	2,43/3,02
2	ПЭ:ДЭ 99:1–96:4	Сложные эфиры	25,55/5,10	31,30/33,80
3	ПЭ:ДЭ 95:5–85:15	Триглицериды	9,50/0,96	11,70/6,44
4	ПЭ:ДЭ 85:15–75:25	Спирты	15,18/4,16	12,40/27,90
5	ПЭ:ДЭ 75:25	Стерины	6,28/1,50	7,70/10,06
6	ДЭ, этанол	Полиоксисоединения	21,90/2,53	26,90/16,90
<i>Получено</i>			80,39/14,70	98,75/98,65
<i>Взято на разделение</i>			81,40/14,90	100,00/100,00
<i>Потери</i>			1,01/0,20	1,25/1,35

\* Здесь и далее, в табл. 3, 5, 8, в числителе данные по зеленой хвое, в знаменателе – по желтой.

Первой из хроматографической колонки была элюирована фракция углеводородов [5]. В нее отбирались соединения, значения  $R_f$  которых выше или равны значению  $R_f$  сквалена на ТСХ. Состав соединений устанавливали методом хроматомасс-спектрометрии. Компонентный состав углеводородов нейтральных веществ хвои лиственницы сибирской приведен в табл. 2.

Таблица 2

**Компонентный состав углеводородов нейтральных веществ хвои**

Компонент	Содержание, % от массы фракции углеводородов	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
$\alpha$ -Пинен	0,40	–
$\beta$ -Пинен	3,21	–
3-Карен	3,90	–
<i>n</i> -Цимен	Следы*	–
$\alpha$ -Иланген	Следы	3,93
$\beta$ -Бурбонен	1,49	5,23
$\beta$ -Кубебен	Следы	2,95
Лонгифолен	1,64	Следы
Кариофиллен	2,16	5,62
Изокариофиллен	2,47	–
$\beta$ -Фарнезен	Следы	–
Гумулен	0,80	–
$\gamma$ -Муrolен	17,20	15,86
Гермакрен-D	Следы	9,13
$\beta$ -Селинен	0,90	–

Окончание табл. 2

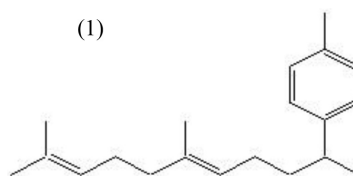
Компонент	Содержание, % от массы фракции углеводов	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
<i>цис,транс</i> - $\alpha$ -Фарнезен	Следы	–
$\alpha$ -Муrolен	Следы	6,02
$\beta$ -Бизаболен	0,05	–
$\gamma$ -Кадинен	13,90	13,60
$\delta$ -Кадинен	Следы	10,30
$\alpha$ -Кадинен	7,90	3,06
$\alpha$ -Калокарен	–	7,30
Кариофиллен оксид	2,43	2,55
Сандаракопимарадиен	1,30	–
18-Норабиета-8,11,13-триен	2,10	–
Дегидроабиетан	0,80	–
Изопимарадиен	Следы	2,05
Геранил- <i>n</i> -цимен	0,40	–
Эйкозан	0,01	Следы
Доэйкозан	Следы	–
Триэйкозан	Следы	3,82
Тетраэйкозан	Следы	2,61
Сквален	9,10	Следы

\* Здесь и далее, в табл. 4, следы – содержание компонента от массы фракции составляет менее 0,01 %.

Полученные данные свидетельствуют о том, что зеленая хвоя существенно отличается от желтой по составу соединений углеводородной фракции. В первой были идентифицированы монотерпены, из них доминирующий компонент – 3-карен, что является отличительной особенностью лиственницы сибирской. Высокое содержание данного компонента было отмечено ранее в работах [7, 14, 19], где сообщалось о преобладании 3-карена в коре ветвей, живице и эфирном масле лиственницы. Монотерпены в желтой хвое не идентифицированы, на хроматограмме отсутствовали.

Основная группа углеводов относится к сесквитерпенам, содержание которых в зеленой хвое составило 50,6 % от суммы фракции углеводов, что на 30 % ниже, чем в аналогичной группе углеводов в желтой хвое (85,7 %).

В зеленой хвое идентифицирован неизвестный ранее для хвойных растений ароматический дитерпеновый углеводород – геранил-*n*-цимен (1). Масс-спектр,  $m/z$  (%):  $M^+$ – 270 (2), 227 (10), 185 (2), 159 (10), 145 (49), 132 (75), 119 (100), 105 (30). Его содержание составило всего 0,4 % от массы фракции углеводов зеленой хвои, поэтому спектральные характеристики не определялись. Можно высказать предположение об образовании данного соединения путем циклизации и последующей ароматизации биогенетического предшественника всех дитерпеноидов – геранилгеранилпирофосфата [8].





В литературных источниках найдены данные об идентификации (выделении) геранил-*n*-цимена из эфирных масел листьев тропических пород (*Calaminta pamphyliа*, *Montanoа guatemalensis*) [15, 17] и листьев канадского бука [20]. Масс-спектр выделенного геранил-*n*-цимена из канадского бука [20] и масс-спектр идентифицированного углеводорода в хвое лиственницы тождественны. Сообщений о наличии данного углеводорода в других частях биомассы лиственницы или других хвойных деревьях не обнаружено.

Дитерпеновые углеводороды в зеленой хвое были представлены также 18-норабиекта-8,11,13-триеном, сандаракимарадиеном, дегидроабиектаном и изопимарадиеном. В желтой хвое группы дитерпенов идентифицирован только изопимарадиен в количестве 2,05 % от массы фракции.

Хвою от других частей кроны лиственницы сибирской отличает отсутствие в составе углеводородов цембрановых соединений [9]. Их высокое содержание определено в коре [14] лиственницы. Тритерпеновые углеводороды представлены скваленом только в составе зеленой хвои, в желтой сквален найден в следовых количествах.

Фракция сложных эфиров элиюрована из хроматографической колонки после фракции углеводородов и включает наибольшую часть от нейтральных веществ: 31,3 % – в зеленой хвое, 33,8 % – в желтой. Как правило, сложные эфиры древесной зелени содержат в себе наименее полярные кислородсодержащие компоненты, такие как ацетаты полипренолов, эфиры, состоящие из высших жирных кислот и тритерпеновых спиртов, стеринов.

Анализ группового состава фракции сложных эфиров (табл. 3) зеленой и желтой хвои показал, что в зеленой хвое больше неомыляемых веществ (86,1 % от массы фракции сложных эфиров) в сравнении с желтой (63,5 %), но меньше доля связанных кислот – в 2,7 раза.

Таблица 3

#### Групповой состав фракции сложных эфиров хвои лиственницы

Группа веществ	Выход, г	Содержание, % от фракции сложных эфиров
Неомыляемые вещества	21,99/3,23	86,09/63,50
Связанные кислоты	2,33/1,26	9,12/24,80
<i>Суммарный выход</i>	24,30/4,50	95,20/88,30
<i>Взято на разделение</i>	25,55/5,09	100,00/100,00
<i>Потери</i>	1,20/0,60	4,80/11,70

Связанные кислоты после метилирования анализировали методом хромато-масс-спектрометрии. Состав представлен в табл. 4.

Таблица 4

#### Состав связанных кислот сложных эфиров зеленой и желтой хвои

Кислота	Содержание, % от фракции связанных кислот	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
Додекановая	Следы	Следы
Тетрадекановая	4,40	4,24
7,10,13-Гексадекатриеновая	–	2,39
Пальмитиновая	14,62	15,02
14-Метилпальмитиновая	Следы	1,47

Окончание табл. 4

Кислота	Содержание, % от фракции связанных кислот	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
5,9,12-Октадекатриеновая	5,80	–
6,9,12,15-Октадекатетраеновая	4,97	–
Линолевая	25,47	4,23
Линоленовая	36,72	26,14
Стеариновая	1,85	3,07
5,11,14-Эйкозатриеновая	2,81	3,69
5,11,14,17-Эйкозатетраеновая	–	2,57
Эйкозановая	Следы	5,27
Дегидроабиетиновая	Следы	–
Бегеновая	Следы	4,78
Трикозановая	Следы	2,61
Тетракозановая	2,02	5,25
Гексакозановая	–	2,97

Зеленая хвоя лиственницы сибирской содержит больше ненасыщенных высших жирных кислот, чем желтая (более 75 % и около 40 % от суммы фракции кислот соответственно). Среди них пальмитиновая кислота (14–15 % в обоих сборах) – основная. Линолевая и линоленовая кислоты, составляющие свыше 60 % в зеленой и около 31 % в желтой хвое, являются незаменимыми полиненасыщенными жирными кислотами основного обмена, компонентами плазматических мембран клеток и внутриклеточных органелл [16]. Эйкозановые кислоты [4, 18] – предшественники групп простагландинов и лейкотриенов – это, в свою очередь, предшественники арахидонового каскада и регуляторы клеточного метаболизма и иммунитета организма млекопитающих.

Неомыляемые вещества по данным ТСХ состояли из нескольких групп спиртовой составляющей сложных эфиров – спиртов и соединений, которые не изменили значения  $R_f$  на ТСХ после проведения гидролиза.

Неомыляемые вещества (21,99 г из зеленой хвои и 3,23 г из желтой) разделили методом колоночной хроматографии (табл. 5) на 4 основные фракции. Фракция А состояла из соединений, которые после омыления не изменили значения  $R_f$  на ТСХ, и включала в себя альдегиды, метиловые эфиры смоляных кислот, спирты. Анализировали фракцию методом хроматомасс-спектрометрии.

Таблица 5

#### Результаты разделения неомыляемых веществ сложных эфиров

Фракция	Элюент ПЭ:ДЭ	Содержание, % от		Метод идентификации
		неомыляемых веществ	нейтральных веществ	
А	95:5–90:10	25,90/11,12	6,75/2,33	ГХ-ХМ
Б(1)	90:10	1,08/–	0,28/–	–*
Б	88:12–86:14	55,07/60,80	14,90/12,82	ЯМР
В	88:12–86:14	–/12,80	–/2,61	ЯМР
Г	80:20–70:30	16,98/13,68	2,47/2,88	ГХ-ХМ, ЯМР

\* Анализ не проводился.



На хроматограмме неомыляемых веществ фракции А желтой хвой присутствовало 13 пиков, 6 из них удалось идентифицировать с вероятностью выше 95 %: метилдегидроабиеат – 0,08 % (здесь и далее процент от неомыляемых веществ), дегидроабиеиналь – 0,08 %, 2-пентакозанон-10 – 0,06 %, 1-метокси-24-метилгептакозан – 0,16 %, нонакозанон-10 – 0,28 %,  $\alpha$ -токоферол (витамин Е) – 0,34 %. Около 60 % веществ данной фракции осталось не определено. По характеру распада молекул и осколочным ионам предполагается, что это альдегиды и алифатические спирты. Состав аналогичной фракции зеленой хвой отличается от состава желтой (табл. 6) наличием оксидов – эпиманоилоксида и маноилюксида. Токоферол, вероятно, находился в данной фракции в виде ацетата.

Таблица 6

Состав неомыляемых веществ фракции А сложных эфиров зеленой хвой

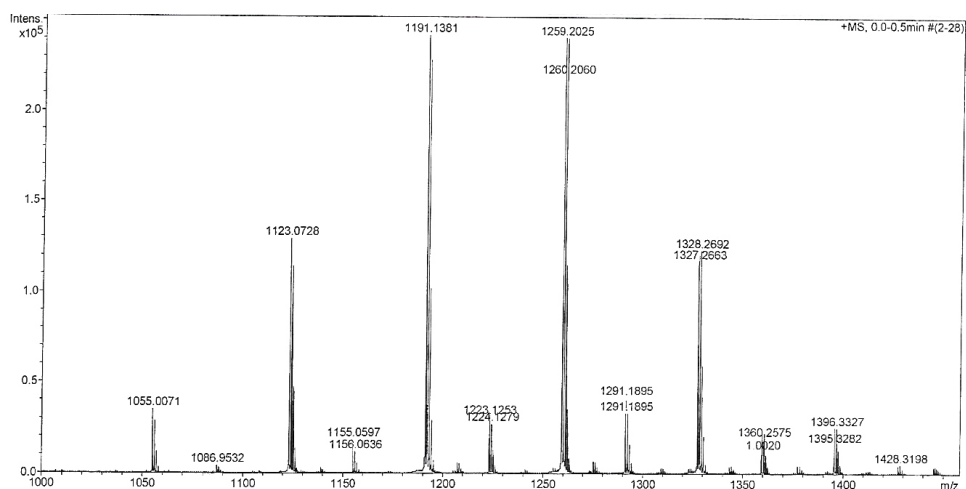
Компонент	Содержание, % от неомыляемых веществ
$\alpha$ -Ионон	0,06
$\beta$ -Ионон	0,07
Маноилюксид	0,55
Эпиманоилоксид	0,20
Т-муролол	0,15
Пимариналь	0,72
Сандаракотимариналь	0,56
Дегидроабиеиналь	0,50
3-Кето-изопимарадиен	0,80
Октакозанол	1,01
Эйкозанол	0,33
Метилдегидроабиеат	2,50
Метилабиеат	1,43
Неидентифицированные компоненты	17,40

Фракция Б по данным ТСХ состояла из одного компонента, значение  $R_f$  которого совпадало со значением  $R_f$ -полипренолов из ели. Строение полипренолов лиственницы устанавливали методами ЯМР-спектроскопии и TOF-EMS-спектрометрии (в качестве «метчиков» использовали полипренолы из ели известного состава).

Исходя из данных, полученных по ЯМР-спектру и соотношению интегральных кривых сигналов при 5,4430 и 5,1194 м.д., можно предположить, что основными пренолами являются соединения с 16–18 изопреновыми звеньями, в то время как полипренолы ели состоят из 10–17 изопреновых звеньев в цепи молекулы с преобладанием 14–16 изопреновых звеньев в цепи молекул: пренол-14, пренол-15, пренол-16, – составляющих более 70 % от массы полипренолов. В литературе не найдено сведений о полипренолах хвой лиственницы сибирской.

Результаты анализа методом масс-спектрометрии высокого разрешения фракций полипренолов из известного препарата «Ропрен» и фракции полипре-

нолов лиственницы сибирской (см. рисунок) в виде их триэтиламинных производных показали близкие массовые числа соответствующих пренолов с шагом 68,040–68,068 м.е. между соседними компонентами фракций. На масс-спектре между сигналами основных компонентов фракции есть сигналы с массовыми числами на 31,987 выше, чем у основных компонентов, и шагом, одинаковым с шагом между основными компонентами – около 68,066 м.е. Так как анализ фракций полипренолов в виде триэтиламинных производных проводился с присадкой метанола, можно предположить, что увеличение сигнала с массовыми числами на 31,987 по сравнению с основными компонентами, связано с образованием комплекса – производные полипренолов с метанолом.



Масс-спектр производных полипренолов, выделенных из хвои лиственницы сибирской  
Mass-spectrum of derivatives of polyprrenols isolated from Siberian larch needles

Суммируя данные ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, результаты ТСХ с ацетатами и свободными полипренолами из ели, можно утверждать, что полипренолы хвои лиственницы сибирской состоят из ацетатов, как и в других видах хвойных (ель, сосна, пихта), и содержат изопренологи – 14...20 изопреновых звеньев в цепи молекул с преобладанием пренола-17 (31,6 %), пренола-16 (29,6 %), составляющих более половины фракции. Треть ее представляют пренолы-15 (15,8 %) и -18 (14,6 %); пренолы-14 (4,4 %), -19 (3,2 %) и -20 (1,0 %) в сумме составляют менее 10 %. Содержание изопренологов во фракции полипренолов рассчитано методом нормализации по соотношению высот сигналов соответствующих компонентов.

Пренолы хвои лиственницы сибирской, как и известные пренолы других хвойных России, содержат 2 концевых внутренних изопреновых звена с *транс*-конфигурацией двойных связей, концевое звено с гемдиметильной группой у атома углерода трехзамещенной двойной связи, остальные изопреновые звенья – от 11-го (пренол-14) до 17-го (пренол-20) – имеют *цис*-конфигурацию двойных связей.

Фракция Г зеленой хвои, по данным масс-спектров, состояла из тритерпеновых спиртов и стеринов. Тритерпеновые спирты ацетилировали и хроматографировали на колонке с серебром. Были выделены как индивиду-

альные соединения, так и фракции, обогащенные основным соединением (табл. 7). Фракцию стеринов перекристаллизовали в этилацетате. В кристаллической части, по данным масс- и ЯМР-спектроскопии, содержался чистый ситостерин, а в маточнике – остатки ситостерина с кампестерином. Структуры всех выделенных фитостериновых соединений подтверждены ЯМР-спектрами.

Таблица 7

## Выделенные тритерпеновые спирты и стеринны фракции Г зеленой хвои

Компонент	Содержание, % от фракции Г	Метод идентификации
Циклоартенол	6,82	ГХ-МС, ЯМР
Циклоэвкалинол	0,09	ЯМР
Обтузифолиоол	0,01	ЯМР
24-Метиленициклоартанол	6,75	ГХ-МС, ЯМР
Цитрастодиенол	7,69	ЯМР
Метиллофенол	1,84	ЯМР
24-Метиллофенол	0,10	ЯМР
Кампестерин	0,33	ГХ-МС, ЯМР
$\beta$ -Ситостерин	7,18	ГХ-МС, ЯМР
<i>Сумма</i>	30,81	–

Хроматограмма фракции Г желтой хвои показала пики, соответствующие стериновым спиртам: кампестерин (2,31 %, здесь и далее процент от массы фракции Г желтой хвои) и  $\beta$ -ситостерин (88,2 %) в качестве основных компонентов фракции. Также идентифицированы транс-геранилгераниол – 1,87 %, фитол – 6,36 % и наокозанол-10 – 1,26 %. Тритерпеновые спирты не были обнаружены. Возможно, это связано с тем, что хвоя в период апоптоза прекращает биосинтез тритерпеноидов – предшественников стеринов. Эту гипотезу можно объяснить наличием в побегах обычных для растений стеринов – кампестерина и ситостерина.

Фракцию триглицеридов аналогично фракции сложных эфиров омылили, разделили на неомыляемые веществ и связанные кислоты. Результаты представлены в табл. 8. Доля кислот в триглицеридах составляет около 90 %, а глицерин при щелочном гидролизе переходит в водную часть гидролизата и не выделяется, что подтверждается данными по выходам после проведения анализа группового состава фракции.

Таблица 8

## Групповой состав фракции триглицеридов зеленой и желтой хвои

Группа веществ	Выход, г	Содержание, % от фракции триглицеридов
Неомыляемые вещества	5,17/0,58	49,23/60,01
Связанные кислоты	1,83/0,25	17,43/26,15
<i>Суммарный выход</i>	6,99/0,83	66,66/86,16
<i>Взято на разделение</i>	10,50/0,96	100,00/100,00
<i>Потери</i>	3,50/0,13	33,33/13,84

Кислотная составляющая (табл. 9) фракции триглицеридов зеленой и желтой хвои различна.

Таблица 9

**Состав кислот триглицеридов зеленой и желтой хвои**

Кислота	Содержание, % от фракции триглицеридов	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
Нонадекановая	–	1,12
Додекановая	–	Следы
Тетрадекановая	–	4,80
7,10,13-Гексадекатриеновая	3,41	2,17
Гексадекановая	8,65	7,80
6,9,12-Октадекатриеновая	1,37	2,65
Линолевая	18,96	7,01
Линоленовая	32,31	16,24
Олеиновая	27,15	48,12
Стеариновая	0,02	0,82
5,11,14-Эйкозатриеновая	1,33	–
5,8,11,14,17-Эйкозапентаеновая	–	3,60
Эйкозановая	0,36	3,22
Докозановая	0,43	1,01
Тетракозановая	0,78	0,64
Не идентифицирована	0,90	0,20
Гексакозановая	0,61	0,66
Не идентифицирована	0,50	–
Октакозановая	0,55	–
Триэйконтановая	1,61	–

Преобладающими кислотами в зеленой хвое являются линолевая, линоленовая и олеиновая, которые в сумме составляют 78,5 % от массы связанных кислот. При этом содержание олеиновой кислоты возрастает в 2 раза в желтой хвое по сравнению с зеленой, но падают уровни линолевой и линоленовой кислот в аналогичной зависимости.

Состав неомыляемых веществ фракции триглицеридов зеленой хвои представлен в табл. 10.

Таблица 10

**Состав неомыляемых веществ фракции триглицеридов зеленой и желтой хвои**

Компонент	Содержание, % от неомыляемых веществ	
	Зеленая хвоя	Желтая хвоя
Г-муролол	0,90	1,00
Изолонгифолол	3,40	3,00
Фитол	1,70	11,70
Гептакозанол-10	5,50	4,50
Нонакозанол-10	62,40	31,30
$\alpha$ -Токоферол	16,60	7,70
$\beta$ -Ситостерин	10,40	3,04

Состав неомыляемой части триглицеридов зеленой хвои идентичен составу желтой, за исключением соотношения компонентов. Так, в зеленой хвое преобладающими компонентами являются наонакозанол-10, токоферол и ситостерин, содержание которых уменьшается практически в 2 раза в желтой. В ней в 7 раз по сравнению с зеленой хвоей увеличивается уровень фитола.

#### Заключение

Изучен состав фракций углеводов и сложных эфиров нейтральной части экстрактивных веществ, растворимых в петролейном эфире, зеленой и желтой хвои лиственницы сибирской. Фракция углеводов представлена в основном сесквитерпеновыми углеводородами кадинанового и муrolанового типов, которые составили 50,6 % (зеленая) и 85,7 % (желтая хвоя) от суммы углеводов соответствующих сборов. В группе монотерпенов зеленой хвои основные компоненты 3-карен (3,91 %) и  $\beta$ -пинен (3,21 %), в желтой монотерпены не выявлены.

Идентифицирован новый дитерпеновый ароматический углеводород – геранил-*n*-цимен, о наличии которого в хвойных древесных растениях ранее не сообщалось. Вероятнее всего, он образуется из геранилгеранилпирофосфата и является вторым типом ароматических дитерпенов после известных дегидроабиепанов хвойных.

Состав сложных эфиров зеленой и желтой хвои различен. Впервые выделена группа полипренолов, которая составляет 12–14 % от нейтральных веществ. Структура полипренолов и состав изопренологов установлены с использованием инструментальных методов анализа, основные изопренологи – пренол-17 (31,6 %) и пренол-16 (29,6 %). Выделены ситостерин и кампестерин – стеринны преобладающие в хвойных растениях. В зеленой хвое идентифицированы тритерпеновые соединения – промежуточные метаболиты в биосинтезе стериннов.

В составе связанных кислот фракций триглицеридов зеленой и желтой хвои основными кислотами являются олеиновая, линолевая и линоленовые кислоты. Содержание первой в желтой хвое практически в 2 раза выше, чем в зеленой; второй и третьей – в 2 раза меньше. Неомыляемая часть триглицеридов представлена алифатическими спиртами: наонакозанол-10 и гептакозанол-10. Суммарно они составляют 68 % от неомыляемых веществ в зеленой хвое и 35,8 % в желтой.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беккер Х., Беккерт Р., Бергер В. Органикум: в 2 т. Т. 1. М.: Мир: БИНОМ, 2008. 504 с.  
Bekker H., Bekkert R., Berger W. *Organicum*: In 2 Vol. Vol. 1. Moscow, Mir Publ., 2008. 504 p.
2. Бобров Е.Г. Лесообразующие хвойные СССР. Л.: Наука, 1978. 189 с.  
Bobrov E.G. *Forest-Forming Conifers of the USSR*. Leningrad, Nauka Publ., 1978. 189 p.
3. Дылис Н.В. Сибирская лиственница: Материалы к систематике, географии и истории. М.: Изд. МОИП, 1947. 137 с.

Dylis N.V. *Siberian Larch: Materials on Systematics, Geography and History*. Moscow, MOIP Publ., 1947. 137p.

4. Караман Ю.К., Лобанова Е.Г. Эндоканнабиноиды и эйкозаноиды: биосинтез, механизмы их взаимосвязи, роль в иммунных процессах // Медицинская иммунология. 2013. Т. 15, № 2. С. 119–130.

Karaman Yu.K., Lobanova E.G. Endocannabinoids and Eicosamoids: Biosynthesis and Interactions with Immune Response. *Meditsinskaya immunologiya* [Medical Immunology], 2013, vol. 15, no. 2, pp. 119–130. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2013-2-119-130>

5. Миксон Д.С., Роцин В.И. Углеводороды нейтральных веществ хвои лиственницы сибирской разного периода вегетации // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы VII Всерос. конф. с междунар. участием Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2017. С. 223–224.

Mikson D.S., Roshchin V.I. Hydrocarbons of Neutral Substances of Siberian Larch Needles of Different Vegetation Periods. *New Advances in Chemistry and Chemical Technology of Plant Raw Materials: Proceedings of the VII All-Russian Conference with International Participation*. Barnaul, ASU Publ., 2017, pp. 223–224.

6. Миксон Д.С., Роцин В.И. Групповой состав и кислоты хвои лиственницы сибирской разного периода вегетации // Химия растительного сырья. 2019. № 4. С. 207–214.

Mikson D.S., Roshchin V.I. The Siberian Larch Group Composition and Acid Needles at Different Vegetation Periods. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja* [Chemistry of plant raw material], 2019, no. 4, pp. 207–214. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019045477>

7. Пентегова В.А., Дубовенко Ж.В., Ралдугин В.А., Шмидт Э.Н. Терпеноиды хвойных растений. Новосибирск: Наука, 1987. 97 с.

Pentegova V.A., Dubovenko Zh.V., Raldugin V.A., Shmidt E.N. *Terpenoids of Coniferous Plants*. Novosibirsk, Nauka Publ., 1987. 97p.

8. Племенков В.В. Введение в химию природных соединений. Казань, 2001. 376 с.

Plemenkov V.V. *Introduction to the Chemistry of Natural Compounds*. Kazan, 2001. 376 p.

9. Ралдугин В.А., Коротких Л.Я., Ярошенко Н.И., Пентегова В.А. Регио- и стереоселективное окисление цеменгена двуокисью селена // Химия природных соединений. 1978. № 3. С. 410–411.

Raldugin V.A., Korotkikh L.Ya., Yaroshenko N.I., Pentegova V.A. Regio- and Stereo-Selective Oxidation of Cementene with Selenium Dioxide. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* [Chemistry of Natural Compounds], 1978, no. 3, pp. 410–411.

10. Роцин В.И., Баранова Р.А., Белозерских О.А., Соловьев В.А. Состав экстрактивных веществ хвои и побегов ели европейской // Химия древесины. 1983. № 4. С. 56–61.

Roshchin V.I., Baranova R.A., Beloozerskikh O.A., Solov'yev V.A. Composition of Extractive Substances of Needles and Shoots of Norway Spruce. *Wood chemistry*, 1983, no. 4, pp. 56–61.

11. Рысин Л.П. Хвойные леса России // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. 2012. Т. 14, № 1(4). С. 1106–1109.

Rysin L.P. Conifer Forests of Russia. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk* [Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences], 2012, vol. 14, no. 1(4), pp. 1106–1109.

12. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск: Офсет, 2008. 969 с.

Tkachev A.V. *Study of Volatile Substances of Plants*. Novosibirsk, Ofset Publ., 2008. 969 p.



13. Томчук Р.И., Томчук Г.Н. Древесная зелень и ее использование в народном хозяйстве. М.: Лесн. пром-сть, 1973. 360 с.  
Tomchuk R.I., Tomchuk G.N. *Woody Greens and Their Use in the National Economy*. Moscow, Lesnaya promyshlennost' Publ., 1973. 360 p.
14. Трошина А.В., Рошин В.И. Углеводороды нейтральных веществ коры ветвей лиственницы сибирской // Изв. РАН. Сер.: Химическая. 2014. № 9. С. 2160–2168.  
Troshina A.V., Roshchin V.I. Hydrocarbons of Neutral Substances from the Branch Bark of Siberian Larch. *Izvestiya akademii nauk. Seriya khimicheskaya* [Russian Chemical Bulletin], 2014, no. 9, pp. 2160–2168. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11172-014-0714-4>
15. Alan S., Kürkcüoğlu M., Başer K.H.C. The Composition of the Essential Oils of *Calamintha pamphylica* Subspecies. *Turkish Journal of Biology*, 2011, vol. 35, no. 2, pp. 259–265. DOI: <https://doi.org/10.3906/biy-0806-12>
16. Calder P.C. Very Long-Chain n-3 Fatty Acids and Human Health: Fact, Fiction and the Future. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2018, vol. 77, iss. 1, pp. 52–72. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0029665117003950>
17. Flatt V.D., Campos C.R., Kraemer M.P., Bailey B.A., Satyal P., Setzer W.N. Compositional Variation and Bioactivity of the Leaf Essential Oil of *Montanoa guatemalensis* from Monteverde, Costa Rica: A Preliminary Investigation. *Medicines*, 2015, vol. 2(4), pp. 331–339. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines2040331>
18. Layé S., Nadjar A., Joffre C., Bazinet R.P. Anti-Inflammatory Effects of Omega-3 Fatty Acids in the Brain: Physiological Mechanisms and Relevance to Pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 2018, vol. 70(1), pp. 12–38. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.117.014092>
19. Salem M., Zeidler A., Böhm M. GC/MS Analysis of Oil Extractives from Wood and Bark of *Pinus sylvestris*, *Abies alba*, *Picea abies* and *Larix decidua*. *Bioresources*, 2016, vol. 10, no. 4, pp. 7725–7737. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.10.4.7725-7737>
20. Silk P.J., Mayo P.D., LeClair G., Brophy M., Pawlowski S., MacKay K., Hillier N.K., Hughes C., Sweeney J.D. Semiochemical Attractants for the Beech Leaf-Mining Weevil, *Orchestes fagi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2015, vol. 164, iss. 2, pp. 102–112. DOI: <https://doi.org/10.1111/eea.12603>

## HYDROCARBONS AND ETHERS OF EXTRACTIVE SUBSTANCES OF SIBERIAN LARCH NEEDLES

**Darya S. Mikson**, Assistant; ResearcherID: [AAK-1624-2020](https://orcid.org/0000-0001-7828-2966),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7828-2966>

**Viktor I. Roshchin**, Doctor of Chemistry, Prof.; ResearcherID: [AAK-4435-2020](https://orcid.org/0000-0002-5410-9496),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5410-9496>

Saint Petersburg State Forest Technical University, Institutskiy per., 5, Saint Petersburg, 194021, Russian Federation; e-mail: ms.mikson@mail.ru, kaf.chemdrev@mail.ru

**Abstract.** Siberian larch (*Larix sibirica* L.) is the main commercial species in Russia. Currently, larch woody greens are underutilized. They are considered a waste product from logging. This is due to the lack of knowledge on the composition of compounds and the variability of the raw material source itself as a result of the fall of the needles. The research purpose is to study the composition of hydrocarbons and esters from Siberian larch needles in summer and autumn collection from the Tomsk region. The shredded needles were extracted with propan-2-ol; then, after distillation of the solvent, substances soluble in petroleum ether (PE, 40–70 °C) were isolated. The latter were divided into free acids (31.5 % for green needles and 28.0 % for yellow needles) and neutral substances (59.8 and 48.1 %, respectively). Then, neutral

substances were chromatographed on silica gel: hydrocarbons (2.43 and 3.02 %, hereinafter from neutral substances of green and yellow needles, respectively), esters (31.30 and 33.80 %) and triglycerides (11.70 % and 6.44 %). The ester and triglyceride fractions were exposed to alkaline hydrolysis and the acidic components of esters (9.12 and 24.80 %) and triacylglycerols (17.43 and 26.15 %) were produced. Fractions of unsaponifiable compounds, in addition to alcohols, contained unsaponifiables with unchanged  $R_f$  values on thin-layer chromatography (TLC). Fractions of unsaponifiables were chromatographed on silica gel, and then the isolated fractions were additionally chromatographed on silica gel with silver nitrate. The isolated compounds were identified by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. In the acidic component of esters, the main components are linoleic and linolenic acids. Hydrocarbons are represented by sesquiterpenes in both collections of needles. A new aromatic hydrocarbon for coniferous plants, geranyl-*p*-cymene, has been identified. For the first time, polyprenols were isolated from Siberian larch greens, the structure of which differs from spruce and pine polyprenols by chain length according to NMR spectroscopy and mass spectrometry data. They contain from 14 to 20 isoprene links in the chain of molecules with predominance of prenol-17. The yield of polyprenols was 12.8–14.9 % of neutral substances of yellow and green needles, respectively. Tetracyclic triterpene alcohols and sterols were isolated from green needles. Triterpene alcohols were not found in yellow needles.

**For citation:** Mikson D.S., Roshchin V.I. Hydrocarbons and Ethers of Extractive Substances of Siberian Larch Needles. *Lesnoy Zhurnal* [Russian Forestry Journal], 2021, no. 3, pp. 170–185. DOI: 10.37482/0536-1036-2021-3-170-185

**Keywords:** *Larix sibirica*, woody greens, needles, hydrocarbons, esters, fatty acids, geranyl-*p*-cymen, polyprenols.