

ШУТОВА А.Г.^{1✉}, КОВАЛЕНКО Н.А.², СУПИЧЕНКО Г.Н.², ГАРАНОВИЧ И.М.¹, СПИРИДОВИЧ Е.В.¹

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси,

Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2в, e-mail: anna_shutova@mail.ru

²Белорусский государственный технологический университет,

Беларусь, 220013, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, e-mail: chembstu@rambler.ru

✉anna_shutova@mail.ru, (017) 284-14-64, (029) 63-55-668

ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ИЗОМЕРЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PINUS*
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ХЕМОСИСТЕМАТИКЕ

Состав и распределение энантиомеров терпеновых соединений в ряде случаев могут служить удобными хемомаркерами при анализе и оценке генетических ресурсов ботанических коллекций, а также при установлении качества и подлинности эфирных масел. Наиболее часто используемые среди хвойных растений в качестве источника монотерпеноидов представители рода *Pinus* содержат в составе эфирных масел большое количество оптически активных соединений. Целью данной работы было изучение возможности использования состава энантиомеров эфирных масел представителей рода *Pinus* в качестве таких хемомаркеров.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы образцы эфирного масла, выделенные из охвоенных концов ветвей представителей рода *Pinus*, собранных на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси: *Pinus mugo* Turra (сосна горная), *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная), относящиеся к подроду *Pinus*, *Pinus strobus* L. (сосна Веймутова), *Pinus peuce* Griseb. (сосна румелийская), относящиеся к подроду *Strobus*, *Pinus sibirica* Du Tour (сосна кедровая сибирская), *Pinus koraiensis* Sieb. Et Zucc. (сосна кедровая корей-

ская), *Pinus cembra* L. (сосна кедровая европейская), относящиеся к секции *Cembra* подрода *Strobus*. Образцы эфирного масла получали методом перегонки с водяным паром [1]. Образцы подвергались обезвоживанию с помощью сульфата натрия и далее хранились при температуре 4–8°C. Эфирные масла анализировали методом газожидкостной хроматографии на приборе «Цвет 800», оснащенном пламенно-ионизационным детектором, оборудованным капиллярной колонкой Cyclosil В длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и неподвижной фазой β-циклодекстрин (0,25 мкм), при следующем температурном режиме: от 60°C (выдержка в течение 5 минут) до 200°C (выдержка в течение 10 минут) со скоростью 2°C/мин в токе газа-носителя азота. Линейная скорость газаносителя (азот) 16,2 см/с, величина сброса 1:26.

Качественный анализ проводили сравнением рассчитанных обобщенных индексов удерживания (GI) со справочными данными [2]. Идентификацию оптических изомеров проводили сравнением времен удерживания компонентов с временами удерживания эталонных соединений.

В условиях линейного градиента температуры расчет GI основных компонентов ЭМ производили по формуле

$$GI = 100 \left\{ \frac{[t'_{R(x)} + q \lg t'_{R(x)}] - [t'_{R(n)} + q \lg t'_{R(n)}]}{[t'_{R(n+1)} + q \lg t'_{R(n+1)}] - [t'_{R(n)} + q \lg t'_{R(n)}]} + n \right\},$$

где $t'_{R(x)}$, $t'_{R(n)}$, $t'_{R(n+1)}$ – приведенные времена удерживания компонента, n-алкана ($C_{n+1}H_{2n+4}$) соответственно, причем $t'_{R(x)} < t'_{R(n)} < t'_{R(n+1)}$ [3].

Значение q определяли с использованием времен удерживания трех последовательно выходящих n -алканов по формуле

$$q = \frac{t'_{R(n)} + t'_{R(n+2)} - 2t'_{R(n+1)}}{\lg \frac{t'^2_{R(n+1)}}{t'_{R(n)} \cdot t'_{R(n+2)}}}$$

Содержание компонентов вычисляли по площадям газохроматографических пиков без использования корректирующих коэффициентов по формуле

$$w_i = \frac{S_i \cdot 100}{S_i}$$

где w_i – содержание i -го компонента в смеси, %; S_i – площадь пика i -го компонента [3].

Энантиомерный избыток рассчитывали по формуле

$$E = \frac{(X_r - X_s) \cdot 100}{X_r + X_s}$$

где X_r и X_s – массовые доли энантиомеров.

Результаты и обсуждение

С целью установления распределения энантиомеров реперных компонентов образцов эфирных масел представителей рода *Pinus* из коллекции ЦБС было проведено хроматографическое разделение стандартных оптически активных изомеров, присутствие которых по литературным данным возможно в исследованных образцах эфирных масел.

На основании данных хроматографического разделения стандартных образцов установлена определенная зависимость выхода пиков оптических изомеров реперных компонентов и рассчитаны их хроматографические параметры удерживания (табл. 1).

Таблица 1. Хроматографические параметры удерживания энантиомеров стандартной смеси

Стандартные вещества	$t_{\text{удерж}}$	GI
(1S)-(-)- α -пинен	14,56	980,3
(1R)-(+)- α -пинен	15,02	986,7
(-)-камфен	16,44	1002,6
(+)-камфен	16,84	1008,2
мирцен	17,09	1011,6
(+)- β -пинен	17,92	1026,5
(-)- β -пинен	18,11	1025,6
Δ^3 -карен	18,91	1039,8
(S)-(-)-лимонен	21,05	1067,8
(R)-(+)-лимонен	21,61	1075,1
γ -терпинен	24,06	1103,6
(-)-линалоол	32,74	1223,1
(+)-линалоол	32,78	1223,8
туйон	33,67	1235,9
(+)-ментон	34,14	1242,3
(1R)-(+)-камфора	35,62	1259,8
(1S)-(-)-камфора	35,67	1260,4
(-)-терпинен-4-ол	38,55	1300,5
(1S)-(-)-борнеол	41,00	1336,1
(-)- α -терпинеол	42,31	1357,8

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что, в зависимости от природы, для оптических изомеров каждого соединения характерно определенное время удерживания. Установлено, что первыми выходят пики левовращающих изомеров α -пинена, камфена, лимонена, линалоола, терпинен-4-ола и α -терпинеола.

Вместе с тем показано, что правовращающие формы β -пинена, Δ^3 -карена и камфоры имеют меньшие времена удерживания по сравнению с их левовращающими изомерами.

Данные по содержанию оптических изомеров в образцах эфирных масел приведены в таблице 2.

Таблица 2. Содержание оптических изомеров в эфирных маслах представителей рода *Pinus*

Наименование компонентов	Сосна кедровая сибирская	Сосна Веймутова	Сосна румелийская	Сосна горная	Сосна обыкновенная	Сосна кедровая корейская	Сосна кедровая европейская
	мас %						
(-)- α -пинен	2,13	10,18	18,93	7,02	8,61	13,38	11,12
(+)- α -пинен	67,73	61,10	25,59	22,91	15,89	3,60	44,14
(-)-камфен	0,34	1,47	7,59	2,72	5,56	6,50	0,21
(+)-камфен	0,69	1,88	1,24	3,86	2,22	2,84	0,80
(+)- β -пинен	0,65	0,71	0,44	0,94	1,22	0,47	0,71
(-)- β -пинен	1,44	9,19	5,02	5,91	4,53	2,54	2,35
(+)- Δ^3 -карен	1,05	0,63	1,01	3,04	14,41	18,86	0,26
(-)- Δ^3 -карен	-	0,06	-	0,31	0,19	-	-
(-)-лимонен	3,89	4,25	3,53	3,10	1,26	14,56	7,85
(+)-лимонен	1,15	3,16	2,15	3,17	1,63	3,66	0,35
γ -терпинен	0,06	-	-	0,19	-	0,22	-
(-)-линалоол	-	0,07	0,40	-	0,34	-	-
(+)-линалоол	-	-	-	0,07	-	-	-
(+)-ментон	0,31	0,11	0,18	0,13	0,07	0,05	0,66
(+)-камфора	-	0,71	3,51	0,12	0,03	-	-
(-)-терпинен-4-ол	-	0,05	0,20	0,05	0,02	-	-
(-)-борнеол	0,26	0,05	0,43	0,33	0,15	0,07	-
(-)- α -терпинеол	0,10	0,06	0,20	0,11	0,46	0,10	0,01
(+)- α -терпинеол	0,08	0,21	0,41	0,34	0,12	0,17	0,34

Из представленных данных видно, что наиболее обогащенными α -пиненом являются эфирные масла сосны Веймутова (71,28 %), кедровой сибирской (69,86 %) и сосны кедровой европейской (55,26 %). Меньше всего α -пинена содержится в эфирном масле сосны обыкновенной и кедровой корейской (24,5 % и 16,98 %).

Важным является характер распределения энантиомеров α -пинена. Общим является преобладание правовращающих форм α -пинена над левовращающими. Исключением является эфирное масло сосны кедровой корейской. Здесь обнаружен избыток (-)-энантиомера. Од-

ной из возможных причин повышенного содержания (-)- α -пинена может быть инфекционное поражение сосны, из охвоенных побегов которой получено эфирное масло. В эфирном масле здоровых деревьев наблюдается избыток (+)-энантиомера. Такие выводы делают авторы работы [4].

Общим характерным признаком исследованных образцов является значительное преобладание (+)- Δ^3 -карена над (-)-формой. В образцах эфирных масел кедровых сосен наблюдается полное отсутствие левовращающего изомера Δ^3 -карена. Обнаружена обратная кор-

реляция содержания α -пинена и Δ^3 -карена ($r = -0,8$).

На основании представленных данных все образцы можно разделить на две группы. В первую группу входят эфирные масла с высоким содержанием Δ^3 -карена и относительно низким содержанием α -пинена. К ним относятся масла сосны обыкновенной и сосны кедровой корейской. Ко второй группе относятся эфирные масла с низким содержанием Δ^3 -карена и высоким содержанием α -пинена (с массовой долей Δ^3 -карена 0,26–3,04 % и α -пинена 29,93–71,28 %). К ним относятся масла сосны Веймутовой, кедровой сибирской, кедровой европейской, румелийской и горной.

В эфирных маслах сосны румелийской, кедровой корейской, обыкновенной наблюдается энантиомерный избыток левовращающей формы камфена. В эфирных маслах сосны горной, сосны Веймутова, кедровой сибирской, кедровой европейской доминирует (+)-энантиомер.

Общей чертой всех исследованных образцов эфирных масел является преобладание левовращающего изомера β -пинена над правовращающим. Наиболее ярко в количественном содержании это выражено в эфирном масле сосны Веймутова (энантиомерный избыток 85,66 %). Энантиомерный избыток (-)-формы во всех образцах составлял более 37,8 %.

Все исследованные образцы эфирных масел кедровых сосен содержат избыток левовращающего изомера лимонена, составляющий более 54 %, в то время как для остальных сосен отмечено присутствие обоих энантиомеров лимонена в относительно равных количествах. Также для кедровых сосен характерно отсутствие в эфирных маслах (+)-камфоры, тогда как в других образцах содержание этого соединения составляет 0,03–3,51 %.

Выводы

На основании анализа полученных хроматографических данных были установлены реперные оптически активные компоненты эфирных масел представителей рода *Pinus* из коллекции ЦБС НАН Беларуси. К ним отнесли α -пинен, камфен, β -пинен, Δ^3 -карен, лимонен, камфору. Одновременное присутствие на хроматограмме пиков этих веществ, а также определенное соотношение интенсивностей хроматографических пиков энантиомеров этих соединений позволяет провести идентификацию эфирных масел и может быть использовано в хемосистематике рода *Pinus*. Общим характерным признаком для исследованных видов рода *Pinus* является значительное преобладание (+)- Δ^3 -карена над (-)-формой, левовращающего изомера β -пинена. В качестве хемомаркера для секции *Cembra* может быть использован показатель энантиомерного избытка (-)-лимонена.

Литература

1. Государственная Фармакопея РБ: Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Годовальникова Г.В. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – С. 242.
2. Davies N.W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases // J. Chromatography. – 1990. – V. 503. – P. 1–24.
3. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии: Учебное пособие для вузов. – Л.: Химия, 1988. – 336 с.
4. Persson M. Chemodiversity and functions of monoterpene hydrocarbons in conifers. – Stockholm: Universitetservice AB, 2003. – 52 p.

SHUTAVA H.G.¹, KAVALENKA N.A.², SUPICHENKA H.N.², GARANOVICH I.M.¹, SPIRIDOVICH E.V.¹

¹ Central Botanical Garden of NAS of Belarus,

Minsk, 220012, Belarus, Sarganova str., 2v, e-mail: anna_shutova@mail.ru

² Belarusian State Technological University,

Minsk, 220013, Belarus, Sverdlova str., 13a, e-mail: chembstu@rambler.ru

OPTICALLY ACTIVE ISOMERS OF THE GENUS *PINUS* AND THEIR APPLICATION IN CHEMOSYSTEMATIC

Aim. The aim of this work was the possibility of using the composition of essential oils enantiomers as chemomarkers for the genus *Pinus*. **Methods.** The plant materials were subjected to hydrodistillation in a Ginsburg type apparatus (0.2 kg each loading) for 1 h. The collected samples of essential oils were dried with anhydrous Na₂SO₄ and stored

at 4–8°C until analyzed. The enantioselective capillary GC analysis was conducted on a Cyclosil B capillary column (30 m x 0.32 mm, film thickness 0.25 μm , 30 % hepatic (2,3-di-O-methyl-6-O-t-butyl-dimethylsilyl)- β -cyclodextrin in DB-1701). The relative amounts of individual components (in %) were calculated on the basis of GC peak areas without using correction factors. **Results.** The composition and enantiomeric terpene distribution of essential oils from the *Pinus* plants cultivated in the Central Botanical Gardens of Belarus is reported. **Conclusions.** The obtained experimental data indicate the presence of individual enantiomer composition features of essential oils of various representatives of the pine trees that can be used in chemosystematics of the genus *Pinus*. A common feature for the studied species of the genus *Pinus* is a significant predominance of (+)- Δ^3 -carene over (-)-form, the levorotatory isomer of β -pinene over (+)-form. As chemomarker for the section *Cembra* can be used enantiomeric excess (-)-limonene.

Keywords: *Pinus*, essential oil, enantiomer, chemomarker.