

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КОРЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ

© С.З. Иванова, Т.Е. Федорова, Н.В. Иванова, Л.А. Остроухова, Ю.А. Малков, В.А. Бабкин УДК 547.587
Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Россия, г. Иркутск

Работа выполнена при финансовой поддержке Минпромнауки России в рамках подпрограммы «Комплексное использование древесного сырья»

Исследован состав фенольных соединений коры лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.). Показано, что в коре присутствуют широкий набор фенолокислот и их эфиров и представители практически всех классов флавоноидов, начиная от флаванона нарингенина до бифлавоноидов, проантоцианидинов и конденсированных танинов. Отмечено, что фенольные соединения можно отнести к двум основным группам, исходя из типа гидроксирования ароматического кольца у фенолокислот и кольца В у флавоноидов - *p*-гидроксифенильному (мономещенному) и пирокатехиновому (дизамещенному). Установлено, что бифлавоноиды спиро-типа присутствуют в олиго- и полимерных флавоноидных соединениях, очевидно, как структурные звенья.

The phenolic compounds of *Larix sibirica* Ledeb. bark are investigated. It is shown, that there are representatives phenolic acids in the bark with esters and practically all flavonoids classes, beginning from flavanone naringenin up to biflavonoids, proanthocyanidins and condensed tannins. It is marked, that the phenolic compounds can be attributed to two basic groups, proceeding from a type of hydroxylation of the phenolic acids aromatic ring and ring B of the flavonoids - *p*-hydroxyphenyl (monoreplaced) and catechol (direplaced). It is established, that biflavonoids of a spiro-type are present in oligo- and polymeric flavonoid compounds, obviously as structural parts.

Введение

Фенольные соединения - одна из самых многочисленных и широко распространенных групп природных соединений, привлекающих внимание, особенно в последние годы, благодаря необычайно широкому спектру их биологической активности.

Кора лиственницы является неиспользуемым отходом деревоперерабатывающих предприятий, но может быть богатым источником биологически активных фенольных соединений, содержание которых достигает 15-18% от веса сухой коры.

Экспериментальная часть

Этилацетатный экстракт коры лиственницы сибирской (8 г), полученный по схеме, описанной в работе [4], фракционировался методом флэш-хроматографии с использованием в качестве сорбента силикагеля, в качестве элюента - смеси хлороформ-метанол с увеличением доли последнего. При этом были получены следующие фракции, содержащие: I - фенолокислоты и их эфиры (0-4% CH_3OH в CHCl_3 , 0,99 г.); II - мономерные флавоноиды (6-10% CH_3OH в CHCl_3 , 1,2 г); III - спиробифлавоноиды и проантоцианидины (15-20% CH_3OH в CHCl_3 , 2,9 г), IV - олигомеры (30% CH_3OH в CHCl_3 , 1,7 г), V - полимеры (100% CH_3OH в CHCl_3 , 1,02 г). Рехроматографией этих фракций выделялись индивидуальные соединения или субстанции, обогащенные определенными компонентами, которые анализировались методами ТСХ и ВЭЖХ. Методы выделения и идентификации фенолокислот и их эфиров описаны в работах [4, 12].

Анализ флавоноидных соединений методом ТСХ осуществляли на пластинках Silufol в системах: бензол - ацетон (4:1; 2:1, 1:1), гексан - этилацетат (3:1; 3:2, 1:1; 2:3), проявитель -

диазотированная сульфаниловая кислота, AlCl_3 , раствор ванилина в конц. HCl . ВЭЖХ-анализ флавоноидных фракций проводили на приборе Милихром-4 с УФ-детектором при следующих условиях:

Колонка	- 64 мм x 2,0 мм
Сорбент	- Сепарон C_{18}
Аналитическая длина волны	- 280 нм
Подвижная фаза	- ацетонитрил в 2%-ной уксусной кислоте (градиент от 3:7 до 1:1, об.)
Скорость потока подвижной фазы	- 100 мкл/мин

Идентификацию известных соединений осуществляли хроматографическими методами сравнением с аутентичными образцами. Неизвестные соединения выделяли либо в нативном (фенольном) виде, либо в виде ацетатов. Ацетилирование фракций и соединений проводили как описано в [5]. Установление строения соединений осуществляли с использованием методов УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии.

УФ-спектры растворов соединений в метаноле получены на приборе Specord UV VIS.

ИК спектры снимали на приборе Specord 751R в таблетке с KBr (2,5 мг/300мг KBr).

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C образцов регистрировали на приборе Bruker DPX 400 с рабочей частотой 400 и 100 МГц, соответственно, в CDCl_3 , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ и в CD_3OD . Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C осуществлено с использованием двумерной спектроскопии: методик HMQC, HMBC, COSY, NOESY и многоимпульсной последовательности JMOD.

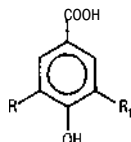
Обсуждение результатов

Фенольные соединения коры лиственницы, идентифицированные нами и обнаруженные ранее другими исследователями [4, 7-16], рассматриваются, начиная от фенолкарбоновых и

оксикоричных кислот до конденсированных танинов.

Фенолокислоты

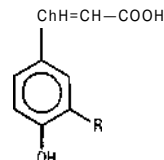
Среди растительных фенольных соединений оксикоричные кислоты занимают особое положение. Они широко распространены в растениях и являются биогенетическими предшественниками большинства других фенольных соединений [3]. В коре хвойных растений фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты входят в состав фенольного воска и



R=Ri=H - и-оксибензойная
R=H, Ri=OH протокатеховая
R=H, Ri=OCH₃-ванилиновая
R= Ri= OCH₃-сиреневая

представлены как в свободном состоянии, так и в виде сложных эфиров с алифатическими спиртами. [2,8,12,13,15].

В этилацетатном экстракте коры лиственницы сибирской нами было установлено наличие следующих кислот: фенолкарбоновых - и-оксибензойной, протокатеховой, ванилиновой кислот и, впервые, сиреневой кислоты, а также оксикоричных - и-кумаровой (цис-, транс-формы), феруловой (цис-, транс-формы) и кофейной кислот [4].



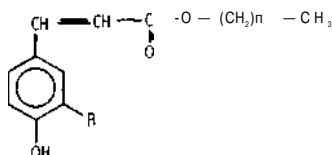
R=H - я-кумаровая
R=OH- кофейная
R=OCH₃ - феруловая

Сложные эфиры фенолокислот

В литературе имеются сообщения о выделении из коры лиственницы сибирской алкилферулатов [7, 15]. Спиртовая часть эфиров представлена рядом высших «-алифатических спиртов C₂₀ - C₂₄, среди которых доминируют эйкозanol и докозanol.

Нами при изучении этилацетатного экстракта коры

лиственницы сибирской наряду с фракцией алкилферулатов была выделена фракция алкилкумаратов. Комплексом физико-химических методов анализа (УФ-, ИК-спектроскопии, спектроскопии ЯМР ¹³C, хроматомасс-спектрометрии) установлено, что в состав сложных эфиров входит /яранс-я-кумаровая кислота и высшие н-алифатические спирты с доминирующим содержанием н-эйкозанола [12].

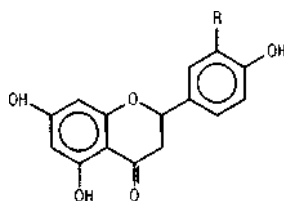


R=H, n=18 - эйкозанилкумарат
R=OCH₃, n=18 - эйкозанилферулат
R=OCH₃, n=20 - докозанилферулат

Флавоноидные соединения коры лиственницы обсуждаются в последовательности, соответствующей их возможной биогенетической взаимосвязи, начиная от флаванона

нарингенина, который считается предшественником всех флавоноидов [3].

Флаваноны. В коре лиственницы обнаружен только один представитель флаванонов - нарингенин [4].



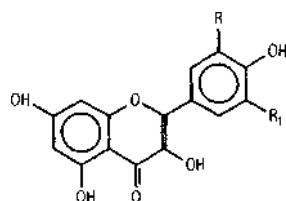
R=H-NapHreHHH

Флавонолы и дигидрофлавонолы. В коре идентифицирован ряд флавонолов: кемпферол, кверцетин, мирицетин,

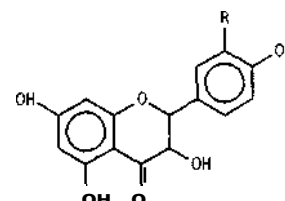
изорамнетин, и два дигидрофлавонола - дигидрокемпферол (аромадендрин) и

дигидрокверцетин (таксифолин) [4], причем доминирующим является дигидрокверцетин. Кроме этого, в коре обнаружены три гликозида кверцетина: 3-а- L-рамнофуранозид, 3-а- L-

арабинофуранозид,, 3-се-В-арабинопиранозид [8].



R=R₁=H -кемпферол
R=OH, R₁=H -кверцетин
K=K₁=OH-мирицетин
R=OCH₃, R₁=H -изорамнетин

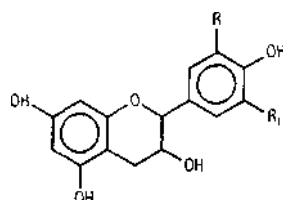


R=H -дигидрокемпферол
R¹OH-дигидрокверцетин

Флаван-3-олы. Об обнаружении флаван-3-олов в коре лиственницы сообщается в ряде работ [8, 9, 13]. Идентифицированы (-)-эпиафцелехин, (-)-эпикатехин, (+)-катехин [8, 9] и (+)-галлокатехин, 7-О-β-глюкопиранозид (-

эпикатехина, 7-О-Р-глюкопиранозид (+)-катехина и рамнозид (+)-катехина [13].

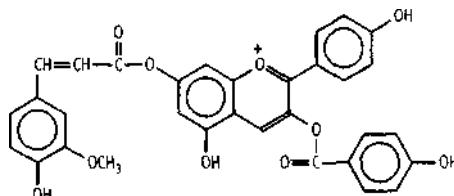
Следует отметить, что галлоильный тип замещения кольца В и гликозидирование отмечаются только для флаван-3-олов и флавонолов.



R=R₁=H - (-)-
эпиафцелехин
R=OH, R₁=H -
(+)-катехин,
(-)-эпикатехин
R=R₁=OH - (+)-
галлокатехин

Антоцианидин. В коре лиственницы, по имеющимся у нас данным, обнаружен один антоцианидин, названный авторами ливстинидином [8]. Ливстинидин представляет

собой пеларгонидин, ацилированный двумя ароматическими кислотами: и-гидроксibenзойной по положению 3 гетерокольца С и феруловой кислотой по положению 7 кольца А.



Ливстинидин

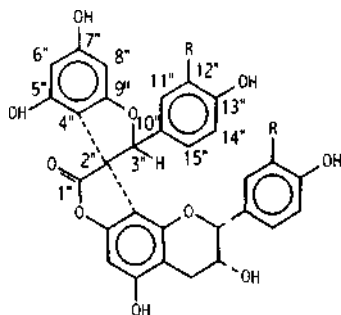
Бифлавоноиды и процианидины.

В 1973 году было опубликовано сообщение об идентификации в коре лиственницы сибирской

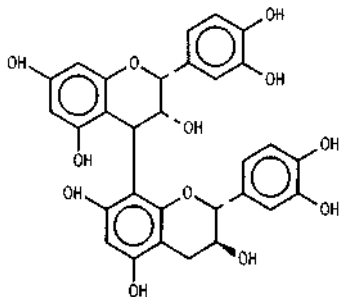
нового бифлавоноидного соединения ливстенола [Ю]. Структура этого соединения была определена более корректно в 1985 году Шеном

3. и сотр, выделившими этот бифлавоноид, названный авторами лариксинолом, из коры

лиственницы Гмелина [18,19.]. Использование авторами более совершенных методов анализа позволило установить, что данное соединение является представителем нового класса флавоноидных соединений спиробифлавоноидов, причем спирановая система



Димерные диастереоизомерные процианидины В-1, В-2, В-3, В-4, образующиеся на основе (-)-эпикатехина и (+)-катехина, были обнаружены нами во фракциях, содержащих



Олигомеры и конденсированные танины

Анализ олигомерных и полимерных фракций этилацетатного экстракта коры лиственницы сибирской (фракции IV и V, соответственно) методами ИК спектроскопии и спектроскопии ЯМР ^{13}C показал наличие диагностических сигналов спиробифлавоноидов с у-бутиролактонным циклом в спирановой системе ($\nu_{\text{C=O}} = 1793,5$ и $1789,9 \text{ см}^{-1}$ в ИК спектрах и сигналы с химическими сдвигами (ХС) 61,6, 91,7 и 176,9 м.д. в спектрах ЯМР ^{13}C) [18-20], которые, вероятно, также входят в состав этих соединений.

Данные метода количественной спектроскопии ЯМР ^{13}C позволили оценить стереохимию заместителей в цикле С мономерных единиц олигомерных и полимерных фракций и определить соотношение 2,3-цис- и 2,3-транс-изомеров [1, 6]. Было показано, что в состав фракции IV входят блоки как с 2,3-транс- (ХС С-2 82,1 м.д.), так и 2,3-цис- стереохимией (ХС С-2 79,4 м.д.). Для установления количественного соотношения 2,3- транс- и 2,3- цис-блоков использовали измерение интегральных интенсивностей сигналов с указанными ХС. Это соотношение для фракции IV составило 0,7:1.

представлена двумя бензофурановыми циклами, один из которых является у-лактонным.

Интересно, что из семян винограда *Vitis amurens* Rupr. [20] выделен спиробифлавоноид витизинол, являющийся аналогом лариксинола., отличающийся только степенью гидроксирования колец В.

R=H -лариксинол

11=OH-витизинол

спиробифлавоноиды, но так как они уже были описаны ранее Шеном и соавт. [19], мы не выделяли их в индивидуальном виде.

Процианидин В-1

Анализ ХС сигналов в области атомов углерода кольца В мономерных единиц фракции IV показал, что олигомерная фракция состоит из процианидиновых (РС) (пирокатехиновый тип замещения кольца В) и пропеларгонидиновых (РР) модулей (п-гидроксифенильный тип замещения кольца В). В работе [17] для количественных измерений соотношения процианидиновых (РС) и продельфинидиновых модулей (РД) в проантоцианидинах были использованы интегральные интенсивности сигналов С-3' и С-4' РС-модулей (ХС 145 м.д.) и С-3' и С-5' РД-модулей (ХС 146 м.д.). Однако в нашем случае сигнал С-4' РР-модулей не является показательным (ХС 157 м.д.), так как в этой области спектра проявляются также сигналы атомов углерода Саp-0 колец А мономерных блоков.

Поэтому для оценки РР:РС соотношения были использованы сигналы атомов углерода при 128,5 м.д. (С-2' и С-6' РР-модулей) и при 119,6 м.д. (С-6' РС модулей). Интегрирование этих сигналов показало, что соотношение флавоноидных модулей с п-гидроксифенильным типом замещения в кольцо В к модулям пирокатехинового типа равно 3:1. Отсутствие

сигналов четвертичных атомов углерода в области 128.5 м.д. спектра ЯМР ^{13}C фракции IV было подтверждено с помощью методики JMOD

Следовательно, можно предположить, что олигомерные и полимерные флавоноиды коры лиственницы сибирской являются продуктом конденсации димеров спиро-типа (лариксинол), флаван-3-олов и процианидинов (В1-В4).

Таким образом, фенольные соединения коры лиственницы сибирской можно отнести к двум основным группам, исходя из типа гидроксирования ароматического кольца у фенолокислот и кольца В у флавоноидов - п-гидроксифенильному (монозамещенному) и пирокатехиновому (дизамещенному).

Выводы

Исследован состав фенольных соединений, экстрагируемых этилацетатом из коры лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.). Показано, что в коре присутствует широкий набор фенолокислот и их эфиров, а также представители практически всех классов флавоноидов, начиная от флаванона нарингенина до бифлавоноидов, проантоцианидинов и конденсированных танинов. Отмечено, что фенольные соединения можно отнести к двум основным группам, соответствующих типу гидроксирования ароматического кольца у фенолокислот и кольца В у флавоноидов - п-гидроксифенильному (монозамещенному) и пирокатехиновому (дизамещенному). Показано, что олигомерная фракция состоит из процианидиновых (РС) (пирокатехиновый тип замещения кольца В) и пропеларгонидиновых (РР) модулей (п-гидроксифенильный тип замещения кольца В). Установлено, что бифлавоноиды спиро-типа присутствуют в олиго- и полимерных флавоноидных соединениях, очевидно, как структурные звенья. Проведена оценка стереохимии заместителей в цикле С мономерных единиц олигомерных и полимерных фракций и определено соотношение 2,3 - транс- и 2,3 - цис-изомеров.

Наличие в коре лиственницы сибирской такого большого набора биологически активных фенольных соединений дает основание считать кору ценным сырьем для получения практически значимых продуктов различного назначения: для медицины, пищевой, парфюмерно-косметической промышленности и др.

Библиографический список

1. Вдовин А.Д., Кулиев З.А., Абдуллаев Н.Д. Спектроскопия ЯМР ^1H и ^{13}C в изучении флаван-3-олов, проантоцианидинов и их производных. III. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса ^{13}C флаван-3-олов и проантоцианидинов // Химия природн. соедин. - 1997. - №4. С. 545-568.
2. Громова А.С., Луцкий В.И., Тюкавкина Н.А. Фенолокислоты и их производные из коры некоторых видов пихты, ели и сосны // Химия природн. соедин. - 1978. - № 4. - С. 99-102.

3. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. - М.: Наука, 1993. - 272 с.

Комплекс мономерных фенольных соединений коры лиственницы / Н.В. Иванова, Л.А. Остроухова, В.А. Бабкин, С.З. Иванова, О.А. Попова // Химия растительного сырья. - 1999. - № 4. - С. 5-7.

4. Полимер дигидрокверцетина из древесины лиственницы / С.З. Иванова, Т.Е. Федорова, Л.А. Остроухова, С.В. Федоров, Н.А. Онучина, В.А. Бабкин // Химия растительного сырья. - 2001. - № 4. - С. 21-24

5. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарв Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. - М.: Химия, 2000. - 408 с.

6. Лаптева К.И., Тюкавкина Н.А., Остроухова Л.А. Некоторые экстрактивные фенольные вещества коры лиственницы // Изв. СО АН СССР, сер. хим. - 1974. - Вып. 4. - С. 163.

7. Лейман З.А. Изучение полифенолов коры лиственницы сибирской: Автореф. канд. дис. - Алма-Ата, 1974.

8. Пашина Л.Т., Чумбалов Т.К., Лейман З.А. Катехины коры *Larix sibirica* // Химия природн. соедин. - 1970. - № 4. - С. 478.

9. Пашина Л.Т., Чумбалов Т.К., Лейман З.А. Лиственол - новый флавоноид коры *Larix sibirica* // Химия природн. соедин. - 1973. - № 4. 5. - С. 623-629.

10. Тюкавкина Н.А., Лаптева К.И., Медведева С.А. Фенольные экстрактивные вещества рода *Larix* // Химия древесины. - 1973. - № 13. - С. 3-17.

11. Алкилкумараты коры лиственницы сибирской и даурской / Т.Е. Федорова, С.З. Иванова, Н.В. Иванова, Л.А. Остроухова, С.В. Федоров, В.А. Бабкин // Химия растительного сырья. - 2002. - № 2. - С. 89-91.

12. Черняева Г.Н., Пермякова Г.В. Фенолкарбоновые кислоты и мономерные флаваны коры *Larix sibirica* Ledeb. // Растительные ресурсы. - 2000. - Т. 36, № 3. - С. 47-51.

13. Чумбалов Т.К., Пашина Л.Т. Флавонолы коры *Larix sibirica* // Химия природн. соедин. - 1967. - №3, - С. 216.

14. Чумбалов Т.К., Пашина Л.Т., Лейман З.А. Полифенолы коры *Larix sibirica* // Химия природн. соедин. - 1973. - № 2. - С. 284-285.

15. Чумбалов Т.К., Пашина Л.Т., Лейман З.А. Флавоноиды коры *Larix sibirica* // Химия природн. соедин. - 1970. - № 6. - С. 763-764.

16. Polymeric proanthocyanidins. Stereochemistry, structural units, and molecular weight / Z. Czochanska, L. Y. Foo, R. H. Newman, L. J. Porter // J. Chem. Soc. Perkin Trans I. - 1980. - № 10. - P. 2278-2286.

17. A Novel Spiro-Biflavonoid from *Larix gmelini* / Z. Shen, C.P. Falshaw, E. Haslam, M.J. Begley // J. Chem. Soc. Chem. Commun. - 1985. - N 16. - P. 1135-1137.

18. Procyanidins and Polyphenols of *Larix gmelini* Bark / Z. Shen, E. Haslam, C.P. Falshaw,

M.J. Begley // *Phytochemistry*. - 1986. -V.25. - P. 2629-2635.

19. Procyanidins from the seeds of *Vitis amurensis* / J.-N. Wang, Y. Hano, T. Nomura, Y.-J.

Chen // *Phytochemistry*. - 2000. - V. 53. - P. 1097-1102.

Поступило в редакцию 26 мая 2003 г.