

УДК 543.42:668.53:582.475

Е. Д. СКАКОВСКИЙ<sup>1</sup>, Л. Ю. ТЫЧИНСКАЯ<sup>1</sup>,  
О. А. МОЛЧАНОВА<sup>1</sup>, С. А. ЛАМОТКИН<sup>2</sup>, А. Г. ШУТОВА<sup>3</sup>**ЯМР-АНАЛИЗ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ХВОИ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ  
ABIES (PINACEAE)**<sup>1</sup>Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, e-mail: [spektr@ifoch.bas-net.by](mailto:spektr@ifoch.bas-net.by),<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск,<sup>3</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: [anna\\_shutova@mail.ru](mailto:anna_shutova@mail.ru)

(Поступила в редакцию 18.04.2013)

**Введение.** Хвоя пихты является источником природных биологически активных веществ. Эфирное масло (ЭМ) пихт находит широкое применение в производстве парфюмерно-косметических продуктов [1–4]. В медицине ЭМ пихты применяется как антисептическое, отхаркивающее и успокаивающее средство [2, 5]. За счет согревающего эффекта масло успокаивает мышечные, ревматические и артритные боли [2, 6]. Кроме того, оно действует как антисептик для мочевыводящих путей, благотворно влияет на интенсивность обменных процессов, стимулирует работу эндокринных желез и оказывает тонизирующее действие на кожу [2]. Известно, что различные виды пихты обладают разным составом ЭМ и соответственно имеют различную потребительскую и лекарственную ценность.

Для повышения продуктивности лесов и оптимизации окружающей среды средствами озеленения важное значение имеет интродукция древесных растений, позволяющая привлечь новые растения с наилучшими биологическими и хозяйственными свойствами. Наиболее ценным видом хвойных деревьев, интродуцированных в Республике Беларусь, являются различные виды пихты. Однако практически отсутствуют данные о составе ЭМ хвои пихты разных видов при их интродукции в Беларуси и о возможном влиянии на него различных факторов.

В настоящее время для контроля состава и качества ЭМ преимущественно используются хроматографические методы [7]. Несмотря на их универсальность, для получения достоверных результатов при анализе сложных смесей в хроматографии необходимо использовать колонки с различными наполнителями и иметь в наличии индивидуальные компоненты анализируемых смесей, что увеличивает время анализа. Кроме того, для разных классов соединений требуется специфическая пробоподготовка. Спектроскопия ЯМР высокого разрешения лишена этих недостатков. Современные спектрометры обладают высокой чувствительностью, позволяют анализировать сложные составы на разных ядрах за достаточно небольшой промежуток времени, давая достоверные результаты.

Цель настоящей работы – изучение компонентного состава ЭМ хвои интродуцированных видов пихт методом ЯМР и оценка возможности использования данного метода в экспрессном анализе состава ЭМ представителей рода *Abies* Hill.

**Объекты и методы исследования.** Образцы хвои пихты отбирали в осенне-зимние месяцы – период максимального содержания ЭМ в хвое на территории дендрария ботанического сада Белорусского государственного технологического университета, который располагается на территории Негорельского учебно-опытного лесхоза (Н) и в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси. Были проанализированы 7 видов пихты (*Abies*): бальзамическая (*A. balsamea* (L.) Mill.) (1), белая (*A. alba* Mill.) (2), Вича (*A. veitchii* Lindl.) (3), кавказская (*A. nordmanniana* (Steven) Spach.) (4), одноцветная (*A. concolor* Lindl.) (5), сибирская (*A. sibirica* Ledeb.) (6) и субальпийская (*A. lasiocarpa* (Hook.) Nutt.) (7). Кроме того, из Центрального ботанического сада были взяты образцы хвои следующих видов пихты: белокорой (*A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim.) (8), корейской (*A. koreana* E.H. Wils.) (9)

и равночешуйчатой (*A. homolepis* Sieb. et Zucc.) (10), а из Негорельского учебно-опытного лесхоза: Фразера (*A. fraseri* (Pursh.) Poir.) (11H) и цельнолистной (*A. holophylla* Maxim.) (12H).

ЭМ выделяли методом гидродистилляции [8]. Спектры ЯМР записывали на спектрометре AVANCE-500 (Bruker) с рабочей частотой 500 и 126 МГц для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соответственно. Использовали 10%-ные растворы в  $\text{CdCl}_2$ . Запись проводили при температуре 293 К, в качестве внутреннего стандарта в случае ядер  $^1\text{H}$  использовали сигнал  $\text{CHCl}_3$  ( $\delta = 7,27$  м.д.), для ядер  $^{13}\text{C}$  – сигнал растворителя ( $\delta = 77,7$  м.д.). Для отнесения сигналов в спектрах использовали методики корреляционной спектроскопии: COSY-45, NOESY, HSQC и HMBC. Все экспериментальные данные получены и обработаны с помощью программ XWIN-NMR 3.5.

Дополнительно состав ЭМ анализировали методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) на хроматографе Цвет-800 с использованием кварцевой капиллярной колонки длиной 70 м с жидкими фазами ПЭГ-2000 и SE-70. Идентификацию отдельных компонентов проводили с применением эталонных соединений, а также на основании известных литературных данных по индексам удерживания [9].

**Результаты и их обсуждение.** Для анализа спектров ЯМР ЭМ были записаны спектры различных терпеновых соединений, 11 из которых присутствовали в заметных количествах в исследуемых образцах. Количественное содержание компонентов ЭМ определяли по интегральным интенсивностям соответствующих линий в протонных спектрах, которые записаны в «количественном» режиме. Углеродные спектры записывали с целью обнаружения возможно скрытых в протонных спектрах сигналов, так как в спектрах  $^{13}\text{C}$  практически все сигналы наблюдаются индивидуально.

На рис. 1 представлены структурные формулы и пронумерованы углеродные атомы основных компонентов ЭМ пихты: пара-цимол (I), мирцен (II),  $\beta$ -фелландрен (III), лимонен (IV),  $\Delta^3$ -карен (V),  $\alpha$ -пинен (VI), борнилацетат (VII), камфен (VIII),  $\beta$ -пинен (IX), борнеол (X),  $\beta$ -кариофиллен (XI).

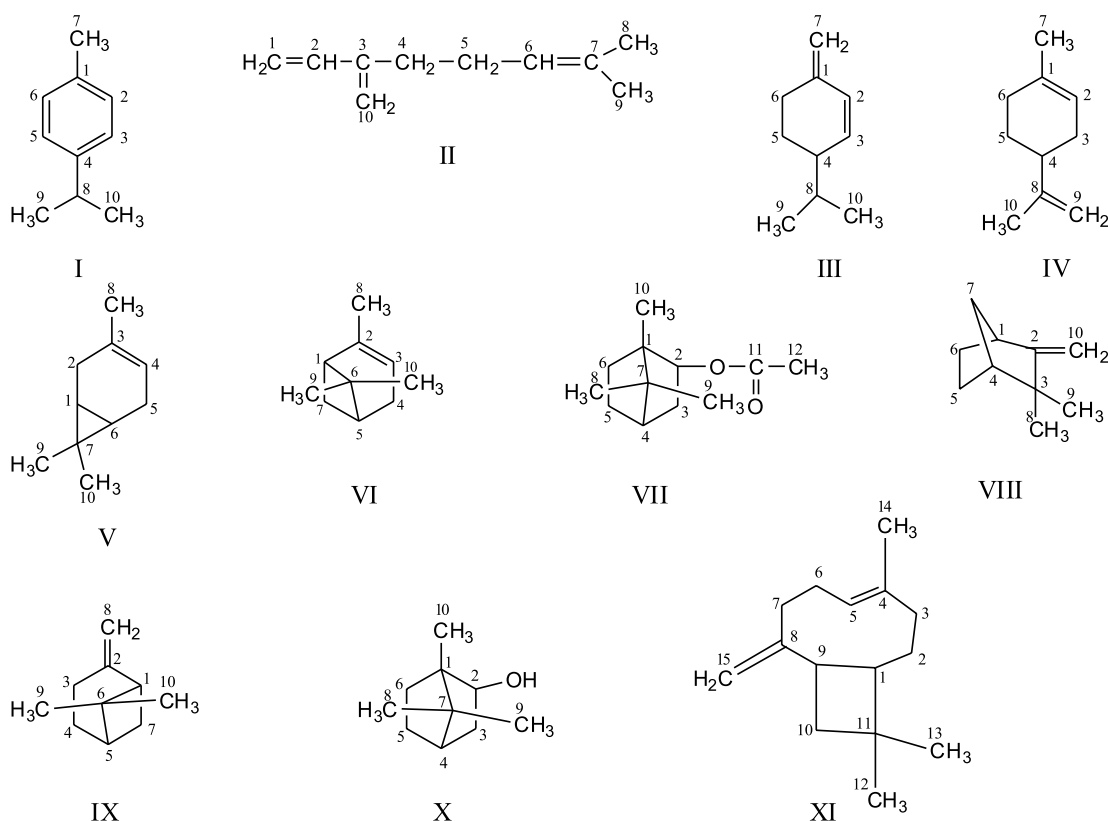


Рис. 1. Структурные формулы основных компонентов ЭМ пихты: пара-цимол (I), мирцен (II),  $\beta$ -фелландрен (III), лимонен (IV),  $\Delta^3$ -карен (V),  $\alpha$ -пинен (VI), борнилацетат (VII), камфен (VIII),  $\beta$ -пинен (IX), борнеол (X),  $\beta$ -кариофиллен (XI)

Поскольку все перечисленные соединения являются многоспиновыми системами и имеют достаточно сложные спектры ЯМР, было сделано полное отнесение сигналов. В табл. 1 и 2 приведены химические сдвиги для ядер  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  идентифицированных терпенов. Литературные данные по спектральным характеристикам некоторых соединений хорошо согласуются с нашими результатами.

Т а б л и ц а 1. Химические сдвиги  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.) компонентов эфирных масел хвой интродуцированных видов пихты

Соединение	Номер атома углерода														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I	—	7,13	7,15	—	7,15	7,13	2,34	2,89	1,26	1,26	—	—	—	—	—
II	5,27; 5,08	6,40	—	2,25	2,22	5,18	—	1,64	1,73	5,04; 5,03	—	—	—	—	—
III	—	6,16	5,76	—	1,42	2,46; 2,31	4,78; 4,76	—	0,94	0,93	—	—	—	—	—
IV	—	5,42	2,08; 1,91	2,11	1,81; 1,50	2,05; 1,97	1,67	—	4,73	1,75	—	—	—	—	—
V	0,64	2,36; 1,97	—	5,26	2,19; 1,81	0,74	—	1,62	1,05	0,79	—	—	—	—	—
VI	1,96	—	5,20	2,26; 2,19	2,10	—	2,37; 1,19	1,69	1,30	0,87	—	—	—	—	—
VII	—	4,82	2,30; 0,91	1,62	1,69; 1,19	1,89; 1,25	—	0,85	0,82	0,78	—	2,01	—	—	—
VIII	2,70	—	—	1,93	1,73; 1,42	1,67; 1,27	1,72; 1,23	1,09	1,06	4,75; 4,52	—	—	—	—	—
IX	2,48	—	2,55; 2,27	1,87; 1,84	2,00	—	2,34; 1,45	4,65; 4,59	1,27	0,75	—	—	—	—	—
X	—	3,98	2,25; 0,93	1,61	1,71; 1,23	1,88; 1,23	—	0,85	0,84	0,83	—	—	—	—	—
XI	1,68	1,51	2,07; 1,88	—	5,31	2,33; 1,97	2,20; 1,99	—	2,38	1,64	—	1,00	1,02	1,63	4,96; 4,84

Т а б л и ц а 2. Химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м.д.) компонентов эфирных масел хвой интродуцированных видов пихты

Соединение	Номер атома углерода														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
I	135,8	129,7	126,9	146,5	126,9	129,7	21,6	34,4	24,8	24,8	—	—	—	—	—
II	113,7	139,7	146,8	32,1	27,4	124,8	132,4	26,4	18,4	116,3	—	—	—	—	—
III	144,4	130,2	134,9	42,7	26,4	30,9	110,6	32,6	20,2	20,4	—	—	—	—	—
IV	134,3	121,3	31,5	41,8	28,6	31,3	24,1	150,8	109,1	21,5	—	—	—	—	—
V	17,4	21,5	132,0	120,1	25,5	19,2	17,4	24,3	29,0	13,9	—	—	—	—	—
VI	47,7	145,2	116,7	32,2	41,4	38,7	32,0	23,7	27,1	21,5	—	—	—	—	—
VII	49,2	80,4	37,3	45,4	28,6	27,6	48,3	20,3	19,4	14,0	171,9	21,8	—	—	—
VIII	47,6	166,9	42,5	48,8	24,5	29,6	38,1	30,1	26,6	99,8	—	—	—	—	—
IX	52,5	152,7	24,3	24,3	41,1	41,3	27,6	106,7	26,8	22,5	—	—	—	—	—
X	50,1	77,9	39,6	45,7	28,9	26,6	48,6	20,8	19,3	14,0	—	—	—	—	—
XI	54,2	29,1	40,6	136,2	125,0	30,0	35,5	155,4	49,2	41,0	33,7	30,8	23,3	17,0	112,3

На рис. 2 представлены  $^1\text{H}$  ЯМР спектры ЭМ хвой пихты субальпийской: *a* – произрастающей в Центральном ботаническом саду (7), *б* – в Негорельском учебно-опытном лесхозе (7Н). Из рисунков видно, что спектры ЭМ качественно подобны, но по количественному содержанию компонентов образцы сильно отличаются. Интерпретацию спектров можно провести, воспользовавшись табл. 1, где приведены химические сдвиги протонов компонентов этих ЭМ. По интегральным интенсивностям соответствующих линий был проведен количественный анализ. Спектры ЭМ других видов пихты подобны приведенным на рисунках.

Рис. 3 демонстрирует спектры  $^{13}\text{C}$  этих же образцов. Так же, как и для  $^1\text{H}$  ЯМР спектров, наблюдаются сильные отличия в интенсивностях линий, принадлежащих отдельным компонентам.

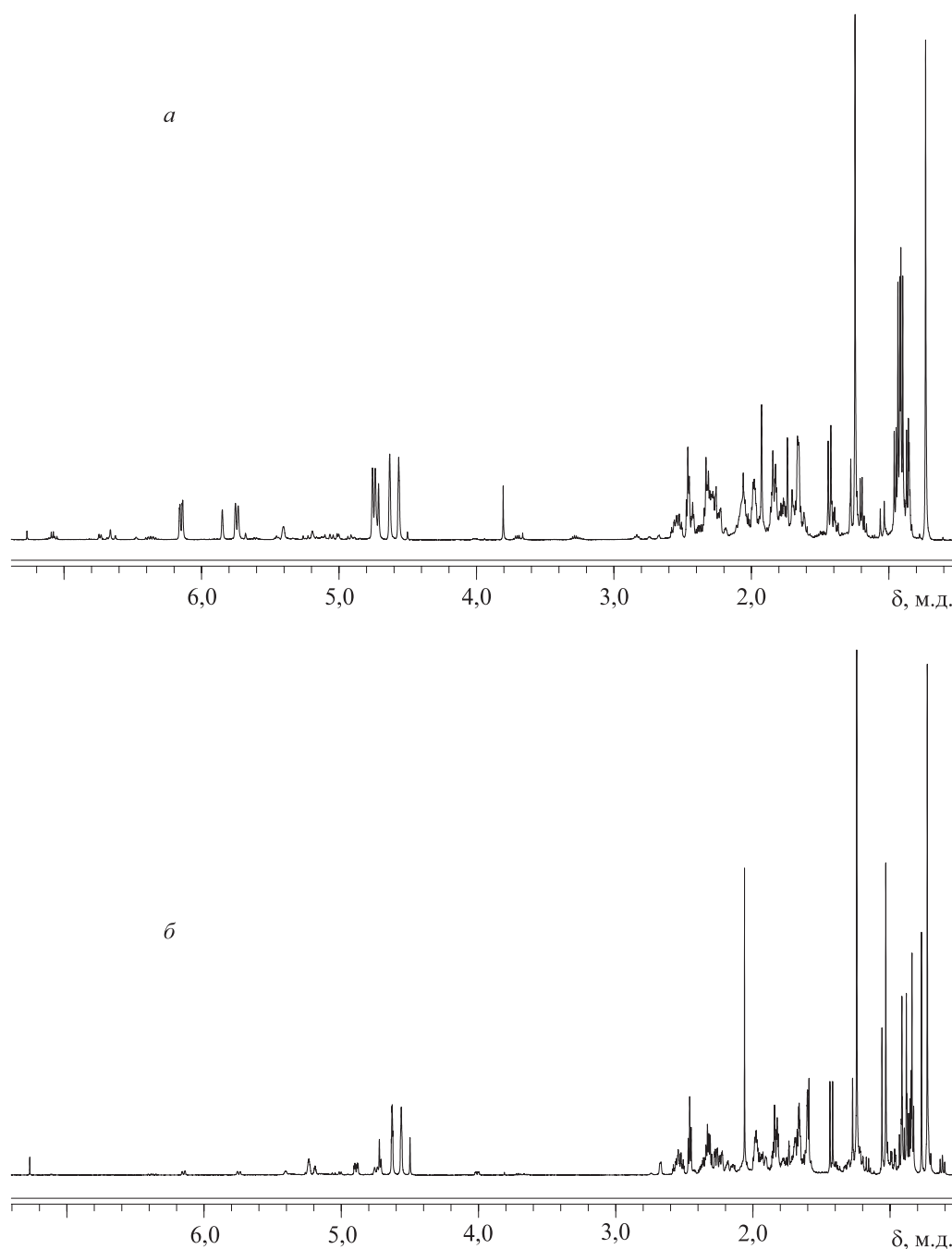


Рис. 2.  $^1\text{H}$  ЯМР спектры ЭМ хвой пихты субальпийской: *a* – ЦБС НАН Беларуси (7), *б* – Негорельский учебно-опытный лесхоз (7Н)

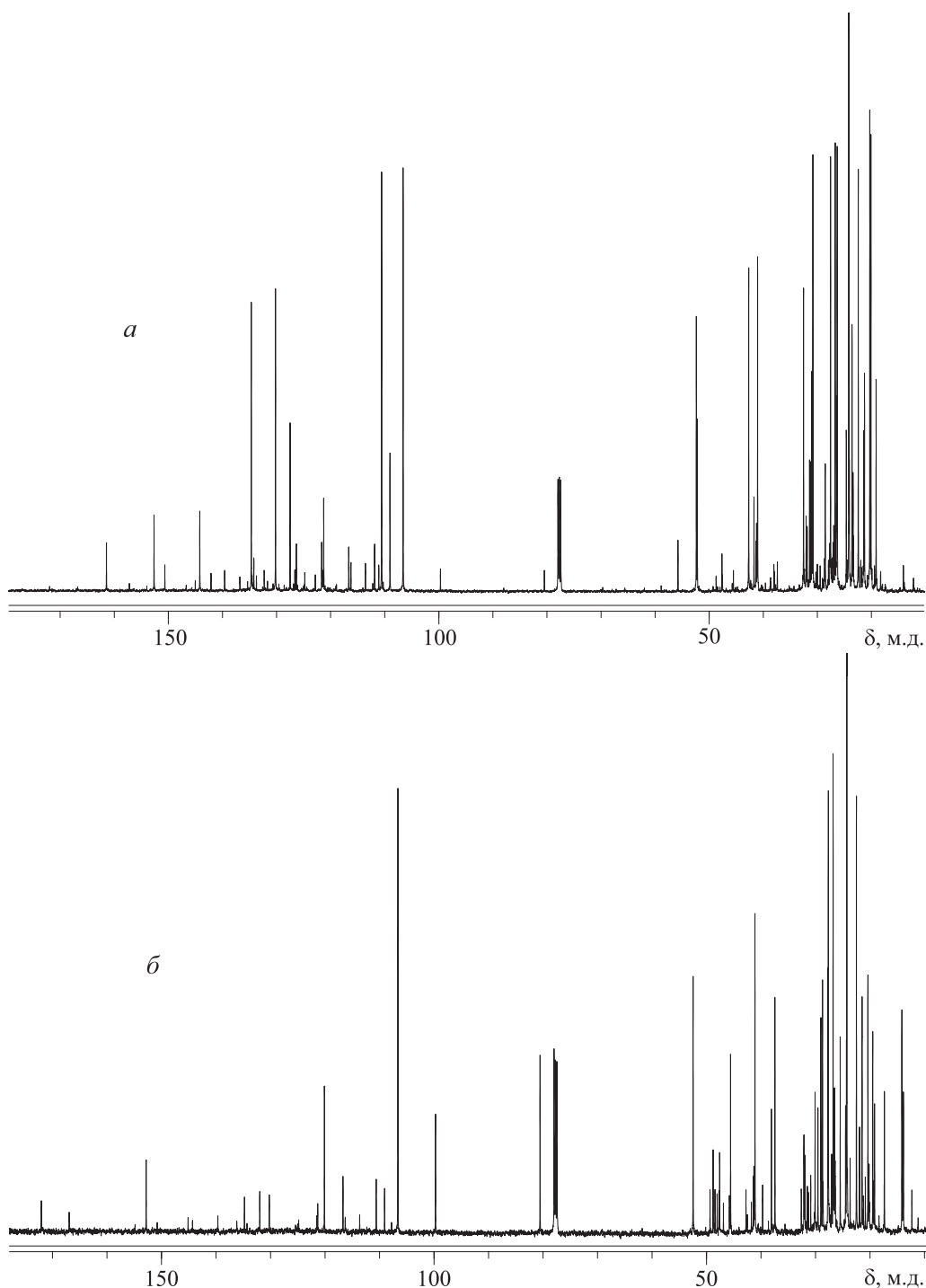


Рис. 3.  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры ЭМ хвои пихты субальпийской: *a* – ЦБС НАН Беларуси (7), *б* – Негорельский учебно-опытный лесхоз (7Н)

Состав ЭМ хвои интродуцированных видов пихты показан в табл. 3. Доминирующими компонентами являются борнилацетат (VII), камфен (VIII),  $\alpha$ -пинен (VI),  $\beta$ -пинен (IX) и лимонен (IV). Их суммарное содержание составляет  $\sim 75\%$ . Из таблицы видно, что состав ЭМ различных видов пихты имеет существенные отличия в накоплении отдельных терпеновых соединений как в зависимости от видовой принадлежности пихт, так и от их места произрастания. Преобладание  $\alpha$ -пинена над  $\beta$ -пиненом наблюдалось для ЭМ пихты Вича, кавказской, сибирской вне зависимости от места сбора растительного сырья, так же как доминирование  $\beta$ -пинена наблюдалось для пихты одноцветной и субальпийской. Однако для соотношения различных форм пиненов в ЭМ

Т а б л и ц а 3. Состав (мол.%) эфирных масел хвои интродуцированных видов пихты

Соединение	Вид и место произрастания пихты																		
	1	1Н	2	2Н	3	3Н	4	4Н	5	5Н	6	6Н	7	7Н	8	9	10	11Н	12Н
I	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,1	0,5	0,3	—	—	—	—	1,2	0,2	0,1	0,1	—	0,1	—
II	0,3	0,7	0,6	1,3	3,8	—	1,4	0,4	1,1	0,9	0,6	0,3	3,1	1,1	0,3	0,4	1,8	1,2	12,2
III	0,9	1,6	3,7	0,5	1,1	—	3,1	0,3	0,8	4,3	0,3	—	27,6	3,4	0,5	—	4,4	5,1	—
IV	5,6	7,7	7,4	33,8	3,6	3,9	1,5	11,1	6,1	3,7	5,4	4,7	9,1	3,8	11,6	10,6	25,7	23,8	13,1
V	0,8	18,6	—	1,8	7,2	—	26,9	0,8	0,4	0,4	7,1	3,3	0,5	12,9	0,5	—	14,3	8,2	—
VI	20,3	12,5	16,0	13,7	20,6	15,0	18,4	7,8	7,5	11,4	11,9	8,5	4,5	6,3	19,9	16,8	13,6	7,6	12,7
VII	31,4	16,7	12,1	7,5	24,0	21,8	2,3	28,9	25,7	18,7	27,0	38,2	2,0	13,3	21,7	29,9	15,0	17,1	24,9
VIII	24,6	10,6	16,9	21,6	19,2	22,2	7,7	11,8	14,5	12,7	27,4	16,9	1,6	9,4	21,5	19,3	11,2	11,5	15,2
IX	2,5	15,2	23,3	2,1	2,6	2,0	15,7	3,7	28,3	35,2	1,7	0,7	34,5	35,7	6,6	2,2	2,3	13,9	1,6
X	4,8	8,6	2,8	1,1	0,9	14,5	—	11,6	1,9	1,5	7,2	10,2	1,0	3,8	4,6	6,8	2,6	5,1	7,4
XI	2,8	1,0	2,1	8,2	5,1	2,6	7,1	3,3	0,5	0,9	1,3	3,2	—	0,3	0,6	1,9	2,1	0,6	2,9

пихт белой и бальзамической критичным было место произрастания растений.  $\beta$ -Кариофиллен во всех маслах присутствовал в количестве, не превышающем 10 %. Лишь для пихты цельнолистной показано присутствие значительного количества мирцена (12,2 мол.%), тогда как в остальных ЭМ количество этого ациклического монотерпена не превышало 3,8 мол.%. Основным терпеноидом, определяющим качество ЭМ пихты, является борнилацетат (VII). Наибольшее количество этого эфира выявлено в ЭМ пихты сибирской (Негорелое) (38,2 мол.%), а также в ЭМ пихты бальзамической из ЦБС НАН Беларуси (31,4 мол.%). В ЭМ пихт субальпийской и белой содержание борнилацетата было невысоким вне зависимости от места сбора образцов хвои. В то же время для пихты кавказской показаны значительные различия в накоплении борнилацетата в зависимости от места произрастания.

**Заключение.** Состав эфирных масел (ЭМ) хвои интродуцированных видов пихты является лабильной характеристикой, зависящей как от видовой принадлежности растений, так и от условий их культивирования. Использование метода ЯМР позволяет дать экспрессную оценку состава ЭМ пихт с определением количественного содержания отдельных соединений.

### Литература

1. Сидоро И. И. Технология натуральных эфирных масел и синтетических душистых веществ. М., 1984.
2. Селлар В. Энциклопедия эфирных масел. М., 2005. С. 268–269.
3. Хейфиц Л. А. Душистые вещества и другие продукты для парфюмерии. М., 1994. С. 185–222.
4. Ткаченко К. Г. // Вестн. Удмурдского ун-та. 2011. № 1. С. 88–100.
5. Ларионова А. Я. // Экол. генетика. 2005. Т. III, № 2. С. 22–27.
6. Атлас лекарственных растений СССР. М., 1962. С. 442–443.
7. Сотникова О. В., Степень Р. А. // Химия растительного сырья. 2001. Т. 3. С. 79–84.
8. Государственная Фармакопея РБ: Общие методы контроля качества лекарственных средств / Под общ. ред. Г. В. Годовальникова. Мн., 2006. С. 234.
9. Хейфман Э. Хроматография. М., 1986. С. 229–250.

*E. D. SKAKOVSKIY, L. U. TITCHINSKAYA, O. A. MOLTCHANOVA, S. A. LAMOTKIN, H. G. SHUTAVA*

### NMR ANALYSIS OF NEEDLES ESSENTIAL OILS OF SOME INTRODUCED *ABIES* (PINACEAE) SPECIES

#### Summary

It was shown the essential oils by a  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of 12 fir species introduced in Belarus are close to each other on the set of terpenes, but the content of each component varies.

Pinens, camphene, limonene and bornylacetate are the main components of the essential oils. The use of NMR spectroscopy allows to give an express assessment of fir essential oils composition with quantification of the content of selected compounds.