

На правах рукописи

Транчук Наталия Владимировна

**КРОНА ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ — СЫРЬЕ ДЛЯ
БИОРЕФАЙНИНГА**

05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки
биомассы дерева; химия древесины.

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена на кафедре технологии лесохимических продуктов, химии древесины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С. М. Кирова».

Научный руководитель: **Рощин Виктор Иванович,**
доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой технологии лесохимических продуктов, химии древесины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С. М. Кирова»

Официальные оппоненты: **Красиков Валерий Дмитриевич,**
доктор химических наук,
заведующий аналитической лабораторией ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений» РАН

Курзин Александр Вячеславович,
кандидат химических наук,
доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна»

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится «21» ноября 2018 г. в 11 ч 00 мин на заседании диссертационного совета Д 212.236.08 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна» по адресу 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 4, А-231.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте «Санкт-Петербургского государственного университета промышленных технологий и дизайна» по адресу Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 4, А-231 (<https://gturp.spb.ru/>).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор технических наук

Л. Г. Махотина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Растительные ресурсы, в том числе биомасса дерева, являются регулярно возобновляемым источником ценных биологически активных веществ (БАВ), используемых в различных отраслях промышленности: лечебной и профилактической медицине, косметической и пищевой промышленности, ветеринарии, сельском хозяйстве. Комплексное использование древесного сырья и выделение из него ценных компонентов — одна из задач лесобиохимии. Для выполнения этих задач необходимо глубокое изучение состава компонентов биомассы дерева.

Лиственница является главной лесообразующей породой России. Древесина лиственницы в значительных количествах используется в деревообработке и целлюлозно-бумажном производстве. Крона лиственницы в промышленности не используется, отсутствуют разработанные технологические схемы ее переработки. Это, возможно, связано с сезонной сменой сырья: в летний вегетационный период сырьем являются охвоенные побеги, в осенний – побеги без хвои. БАВ кроны также изучены недостаточно. Изучение состава соединений БАВ кроны лиственницы является актуальной задачей на пути увеличения степени использования биомассы лиственницы.

Фенольные соединения привлекают внимание исследователей благодаря высокому уровню их биологической активности в клетках живых организмов. Биосинтез фенольных соединений осуществляется только микроорганизмами и растениями, животный организм синтезировать фенолы не способен, что делает растительное сырье привлекательным источником природных фенолов. В животном организме фенольные соединения участвуют в ряде метаболических процессов, защищают иммунитет от вредного воздействия окружающей среды и различных вирусов, способствуют процессам функционирования всех внутренних органов. Фенольные соединения являются ценными и незаменимыми участниками биохимических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность животных и человека.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является изучение компонентного состава и количественного соотношения эфирорастворимых фенольных соединений изопропанольного экстракта частей кроны лиственницы сибирской *Larix sibirica* (Led.) - отхода лесозаготовки, отобранной в разные вегетационные периоды, определение их биологической активности и, на этой основе, предложение варианта использования кроны лиственницы для получения биологически активных продуктов. Для достижения поставленных целей необходимо решить следующие задачи:

1 - охарактеризовать состав экстрактивных веществ частей кроны лиственницы сибирской - отхода лесозаготовки, отобранной в разные вегетационные периоды и определить групповой состав их экстрактивных веществ, что позволит количественно оценить их содержание, необходимое для выбора возможных технологических схем переработки;

2 - определить схему разделения экстракта изопропилового спирта на группы соединений, в том числе фенольных соединений, из разных частей кроны лиственницы сибирской;

3 - выделить и установить строение индивидуальных фенольных соединений из растворимой в диэтиловом эфире части изопропанольного экстракта разных видов сырья (древесная зелень и обесхвоенные побеги);

4 - определить специфические особенности накопления фенольных соединений в разных частях кроны лиственницы в различные периоды вегетации, что позволит прогнозировать выход биологически активных групп и индивидуальных соединений в разные периоды заготовки сырья;

5 - на основании полученных результатов предложить возможные направления использования кроны лиственницы, являющейся отходом лесозаготовки, для получения биологически активных продуктов.

Научная новизна. Впервые проведен сравнительный анализ содержания экстрактивных веществ, растворимых в различных органических растворителях, частей кроны лиственницы сибирской в летний и осенний периоды вегетации.

Установлены особенности накопления и расходования фенольных соединений в хвое и побегах в разные периоды вегетации. Определено, что состав фенольных компонентов в различных частях кроны лиственницы в разные вегетационные периоды имеет как сходства, так и различия. Выявлено, что в осенней хвое по сравнению с летней значительно выше доля фенолокислот и фенолоальдегидов, но ниже содержание лигнанов и значительно ниже доля флавоноидов. В осенней хвое идентифицированы фенолоспирты, не найденные в летней хвое. Летняя и осенняя хвоя имеют близкий компонентный состав фенолокислот. Количественное содержание кислот бензойного и фенилуксусного типов в летней хвое почти в 4 раза выше, чем в осенней. Фенилпропановые кислоты в процессе вегетации накапливаются в осенней хвое и в 3 раза превосходят содержание фенилпропановых кислот в летней хвое. Доминирующей кислотой является *n*-кумаровая, ее содержание в осенней хвое почти в 6 раз выше, чем в летней.

Расширены знания о составе фенолокетонов, флавоноидов и лигнанов в разных частях кроны: из хвои впервые выделены реозмин (4-(4-гидроксифенил)-бутанол-2), зингерон (4-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-бутанол-2), куматакенин (3,7-диметилкемпферол), из коры побегов впервые выделен дигидромирицетин. Из хвои лиственницы сибирской впервые выделена коричная кислота в *цис*- и *транс*-формах, а из осенних побегов - мальтол.

На основе установленного состава фенольных соединений предложена схема их биосинтеза в частях кроны лиственницы. Расширены представления о возможных путях биосинтеза в кроне таких фенольных соединений, как сиреневая кислота, реозмин, зингерон и дигидромирицетин.

Практическая и теоретическая значимость работы. Исследование носит преимущественно фундаментальный характер. Наряду с известными соединениями были выделены неизвестные ранее для данного вида лиственницы компоненты. На основе полученных результатов предложены возможные пути и специфические особенности биосинтеза фенольных соединений в лиственнице сибирской, сделаны предположения об их специфических функциях в исследованных органах растительного организма. Создана научная база для разработки технологической схемы переработки отходов лесозаготовки в разные периоды вегетации с получением фенольного комплекса, комплекса липофильных соединений и группы водорастворимых компонентов. Предлагаемый вариант принципиальной технологической схемы может применяться на предприятиях лесопромышленного комплекса и позволит увеличить степень использования биомассы дерева за счет переработки отходов лесозаготовок, к которым относится крона лиственницы, и получить практически значимые продукты: комплексы фенольных, липофильных и водорастворимых соединений.

Методология и методы исследования. Предложена методология исследования состава фенольных соединений в частях кроны лиственницы, основанная на экстракции изопропанолом (ИП), выделении фракции фенольных соединений, хроматографическом разделении на индивидуальные соединения и их идентификации спектральными методами анализа: ГХ-МС, ИК-, УФ-, ЯМР¹H и ¹³C-спектроскопии. Определены углы вращения плоскости поляризации выделенных соединений температуры плавления кристаллических соединений. Выделенные соединения с установленным строением из хвои и коры ветвей летнего сбора использовали в качестве эталонных соединений при изучении составов экстрактов из других частей кроны разных периодов вегетации.

Положения, выносимые на защиту.

- схема разделения экстрактивных веществ, растворимых в изопропиловом спирте из разных частей кроны лиственницы сибирской;
- компонентный состав и количественное соотношение фенольных соединений в кроне лиственницы в летний и осенний вегетационные периоды;
- специфические особенности биосинтеза фенольных соединений в частях кроны лиственницы в разные вегетационные периоды;
- рекомендации по переработке кроны лиственницы — отхода лесозаготовок.

Достоверность и обоснованность результатов обеспечены проведением параллельных испытаний при определении основных характеристик образцов частей кроны и групповых составов полученных экстрактов с использованием ИП и диэтилового эфира (ДЭ). Идентификацию и строение соединений осуществляли с использованием современного аналитического оборудования, сравнением полученных результатов с литературными данными и сведениями из банка данных, а также сравнением с данными эталонных образцов соединений.

Апробация результатов исследования. Основные результаты работы докладывались на международных конференциях «Актуальные проблемы лесного комплекса» (г. Брянск, 2014 г.), «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Москва, 2015 г.), «Инновации и технологии в лесном хозяйстве» (г. Санкт-Петербург, 2016 г.), «Леса России: политика, промышленность, наука, образование» (г. Санкт-Петербург, 2017 г.), «Renewable Plant Resources: Chemistry, Technology, Medicine» (г. Санкт-Петербург, 2017 г.). А также на Всероссийских конференциях «Химия и технология растительных веществ» (г. Москва, 2015 г.), «Леса России: политика, промышленность, наука, образование» (г. Санкт-Петербург, 2016 г.), «Актуальные проблемы химии, биотехнологии и сферы услуг» (г. Иркутск, 2017 г.), «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (г. Барнаул, 2017 г.).

Публикации. Основные результаты диссертации изложены в 12 научных публикациях, 3 из которых опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, выводов и списка используемой литературы из 231 источника. Работа изложена на 184 страницах машинописного текста, содержит 36 рисунков, 20 таблиц и 5 приложений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (задание № 2014/181 «Создание научной базы переработки кроны лиственницы – отхода лесозаготовительной промышленности»).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении диссертации обоснована актуальность работы, теоретическая и практическая значимость, определены цели и задачи исследования.

В первой главе «Литературный обзор» приведены краткие сведения о лиственнице сибирской, данные по биосинтезу фенольных соединений в растительном организме, способам их выделения и идентификации. Охарактеризованы способы технологической переработки древесной зелени хвойных с получением БАВ.

Во второй главе «Методическая часть» представлена схема разделения ИП экстракта на группы соединений, различающихся по способности растворяться в растворителях различной «полярности», схема разделения экстракта ДЭ на более узкие группы компонентов. Описаны методы выделения и установления структуры индивидуальных соединений. Приведены физико-химические характеристики выделенных компонентов и их спектральные данные. Также приведены основные характеристики приборов и условия проведения анализов, применяемых для установления строения индивидуальных соединений.

Третья глава «Экспериментальная часть» посвящена анализу полученных результатов исследования, приведены качественный и количественный составы фенольных соединений экстракта ДЭ разных частей кроны лиственницы сибирской летнего и осеннего сборов.

В четвертой главе «Биологическая активность фенольных соединений кроны лиственницы сибирской» представлены данные по исследованию антибактериальной и фунгицидной активности суммарного экстракта фенольных соединений, растворимых в ДЭ.

В пятой главе «Технологические аспекты переработки кроны лиственницы» изложены рекомендации по технологической переработке кроны лиственницы. По предлагаемому способу в качестве сырья для переработки могут использоваться не только охвоенные ветви, но и обесхвоенные. Продуктами переработки кроны лиственницы являются комплексы липофильных и фенольных соединений, группа водорастворимых компонентов.

1. Методы проведения эксперимента.

Объектом исследования являлась крона лиственницы сибирской *Larix sibirica* (Led.). Пробы сырья были отобраны в июле 2013 г в Турунтаевском лесничестве Томской области (летний сбор) и в октябре 2013 г в ботаническом саду Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета (осенний сбор). Сырье делили на несколько частей: летнее — хвоя, древесина, кора, осеннее — хвоя, собранная с почвы, желтая хвоя и обесхвоенные побеги, собранные с растущего дерева. Каждую часть сырья характеризовали по содержанию влаги, эфирных масел и экстрактивных веществ, растворимых в различных органических растворителях.

Экстракт ИП получали путем экстракции разных частей кроны в аппарате Сокслета. После удаления спирта экстракт последовательно экстрагировали петролейным эфиром (ПЭ), ДЭ и этилацетатом (ЭА). Результаты разделения экстракта ИП представлены в таблице 1. Вещества, растворимые в ДЭ, последовательно обрабатывали 1 %-ым водным раствором NaHCO_3 для извлечения группы, условно названной фенолокислотами, затем 2 %-ым водным раствором NaOH для извлечения условно названной группы фенолов. Вещества, не перешедшие в растворы NaHCO_3 и NaOH , названы нейтральными веществами. Для разделения групп фенолосилол и фенолов на индивидуальные компоненты использовали методы колоночной хроматографии и препаративной ТСХ на силикагеле. В качестве элюентов использовали сначала ПЭ, затем смесь ПЭ и ДЭ с градиентным увеличением доли ДЭ, хлороформ (ХФ) и смесь ХФ и этанола (ЭТ) с градиентным увеличением доли последнего. Строение выделенных соединений устанавливали с помощью методов ГХ-МС, УФ-, ИК-, ЯМР¹H и ¹³C-спектроскопии.

2. Состав соединений эфирорастворимой части изопропанольного экстракта.

Из летней хвои ИП извлекает 33% веществ, из осенней — 6.8%. Наименьший выход ИП экстракта из древесной части побегов — 6.3%. Из коры летних

побегов и осенних побегов ИП извлекает примерно одинаковое количество веществ — 21% и 25% соответственно. Результаты разделения ИП экстракта на группы соединений представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Групповой состав экстракта ИП, в % от массы экстракта

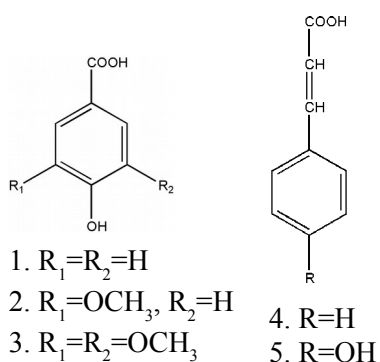
Исходное сырье	Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых:		
	ПЭ	ДЭ	ЭА
<i>Летний сбор</i> хвоя	21.0	3.2	4.7
древесная часть	36.1	2.7	9.4
кора	88.9	4.8	2.1
<i>Осенний сбор</i> хвоя (опавшая)	76.9	10.5	4.2
побеги	40.0	11.5	5.7

Из результатов, представленных в таблице 1, следует, что большую часть ИП экстракта составляют вещества, растворимые в ПЭ. Доля веществ, извлекаемых ДЭ из ИП экстракта, в частях осенней кроны и летней коры больше, чем доля веществ, растворимых в ЭА. Из осеннего сырья ДЭ извлекает в 2-4 раза больше веществ, чем из летнего.

Из результатов исследований группового состава ДЭ экстракта (таблица 2) следует, что наибольшую долю экстракта ДЭ каждой части кроны лиственницы, за исключением осенней хвои, составляет группа фенолоксилов, наименьшую — нейтральные вещества. В осенней хвое преобладает фракция фенолов, а фракция фенолоксилов составляет наименьшую долю экстракта.

Таблица 2 - Групповой состав веществ, растворимых в ДЭ, в % от массы экстракта

Исходное сырье	Группы фенольных соединений		
	фенолоксиловы	фенолы	нейтральные вещества
<i>Летний сбор</i> хвоя	57.8	28.8	4.4
древесная часть	82.1	6.3	1.1
кора	75.8	6.1	2.1
<i>Осенний сбор</i> хвоя (опавшая)	23.3	40.5	25.0
побеги	64.6	16.9	9.3

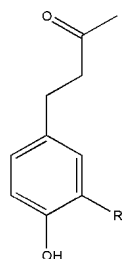


Согласно данным ТСХ и ГХ-МС в группе нейтральных соединений содержались преимущественно монотерпеновые (α -терпинеол, терпинен-4-ол) и дитерпеновые спирты (эпиманоол, эпиторуллозол, дегидроабетинол), в следовых количествах были идентифицированы ароматические спирты: *n*-цимен-7-ол и *n*-цимен-8-ол.

Фенолоксиловы. Выделены и идентифицированы производные бензойной кислоты:

n-гидроксibenзойная (1), ванилиновая (2) и сиреневая (3); производные коричной кислоты: *цис*- и *транс*-коричная (4) и *цис*- и *транс*-*n*-кумаровая (5). Сиреневая кислота найдена в летней и осенней хвое и древесной части летних побегов. Присутствие сиреневой и коричной кислот в кроне лиственницы является необычным, т.к. для фенольных соединений хвойных пород характерно *para*- и гваяцильное замещение в бензольном кольце, в то время как сирингильное замещение характерно для лиственных пород, а присутствие коричных кислот характерно для травянистых растений и злаков. Имеются сведения о нахождении сиреневой кислоты в ритидоме и лубе ствола *Larix sibirica* и *Larix dahurica*. О выделении коричной кислоты из хвои лиственницы сибирской и других хвойных пород ранее не сообщалось.

Феруловая и *n*-кумаровая кислоты найдены в каждой части кроны, коричная кислота — лишь в хвое и коре побегов. *П*-кумаровая кислота доминирует среди кислот в летней и осенней хвое, ее доля в экстракте ДЭ осенней хвои достигает 18%.

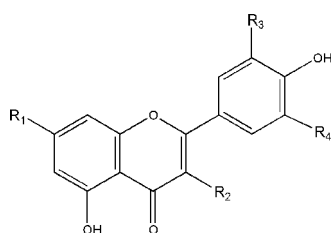


6. R=H
7. R=OCH₃

Кетоны. Из летней хвои были выделены два фенолокетона (6) и (7). Карбонильная группа подтверждается наличием синглета на ЯМР¹³С-спектрах обоих соединений в области 208 м.д., сигналы при 45 и 28 м.д. принадлежат атомам углерода метиленовых групп, при 30 м.д. - атомам углерода метильных групп. Наличие метильной группы,

связанной с карбонильной, подтверждается присутствием на ПМР-спектре синглета на 3H при 2.12 м.д. Сигналы протонов у атомов углерода метиленовых групп проявляются в виде двух мультиплетов в области 2.69-2.75 м.д. на 2H каждый. ПМР-спектры соединений отличаются распределением сигналов протонов в области 6.6-7.0 м.д., свидетельствующие о 1,4-замещении бензольного кольца соединения (6) и 1,3,4-замещении в бензольном кольце компонента (7). Синглет при 3.85 м.д. на 3H в ПМР-спектре компонента (7) соответствует сигналу протонов у атома углерода метоксильной группы.

Таким образом, компоненты (6) и (7) идентифицировали как 4-(4-гидроксифенил)-бутанон-2 (реозмин) и 4-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-бутанон-2 (зингерон) соответственно. Их присутствие в других частях кроны установлено методами хромато-масс-спектрометрии и ТСХ. Ранее реозмин и зингерон были найдены в хвое и эфирном масле сосны, сообщений о их выделении из частей кроны лиственницы нами не найдено.



8. R₁=R₂=OH, R₃=R₄=H
9. R₁=R₂=OCH₃, R₃=R₄=H
10. R₁=R₂=R₃=OH, R₄=H
11. R₁=R₂=R₃=R₄=OH

Флавонолы. Присутствие флавонолов было определено только в хвое. Наряду с известными ранее кемпферолом (8), кверцетином (10) и мирицетином (11) нами был выделен компонент (9), спектральные данные которого близки к таковым для кемпферола (8) (таблица 3).

ПМР-спектр соединения (9) отличается от спектра кемпферола наличием двух синглетов при 3.81 и 3.75 на 3H каждый, соответствующих сигналам протонов у атомов углерода двух метоксильных групп. Наличие данных группировок подтверждается массой базового пика $[M^+]=314$ (100), соответствующей молекулярной массе агликона кемпферола с двумя метоксильными группами. Масс-спектр компонента: $[M^+]=314$ (100), 295 (20.4), 285 (17.6), 271 (37.2), 255 (5.8), 228 (5.7), 167 (10.2), 143 (15.0), 131 (6.4), 121 (19.7).

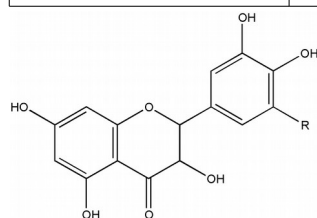
Таблица 3 - Данные ПМР-спектров компонентов (8) и (9)

	5-OH	H-2', H-6'	H-3', H-5'	H-8	H-6	-OCH ₃	-OCH ₃
(8)	с, 12.14	д, 8.12, J=8.9Гц	д, 6.98, J=8.9Гц	д, 6.50, J=1.9Гц	д, 6.23, J=1.9Гц	-	-
(9)	с, 12.63	д, 7.93, J=8.9Гц	д, 6.91, J=8.9Гц	д, 6.70, J=2.1Гц	д, 6.23, J=2.1Гц	с, 3.81	с, 3.75

Место присоединения заместителей устанавливали методом УФ-спектроскопии. Добавка $AlCl_3$ приводит к батохромному смещению максимума поглощения на 44 нм в длинноволновой области спектра (таблица 4), а добавление HCl к полученному раствору не приводит к изменениям в спектре, что говорит о наличии 5-окси-4-кето-группировки, которая образует комплекс с алюминием, и об отсутствии орто-диоксигруппировки в кольце Б в структуре соединения. Добавление ацетата Na к исходному раствору также не приводит к каким-либо изменениям в спектре, что также свидетельствует об отсутствии орто-диоксигруппировки и позволяет предположить наличие алкоксильного радикала у C-7 в кольце А флавоноида.

Таблица 4 - Сдвиги максимумов поглощения в УФ-спектре куматакенина при добавлении ионизирующих и комплексообразующих реагентов

λ_{max} , нм			
этанол	этанол+ $AlCl_3$	этанол+ $AlCl_3+HCl$	этанол+ CH_3COONa
268, 352, пл. 302	277, 347, 396, пл. 303	277, 348, пл. 396, 304	268, 354, пл. 303



12. R=H

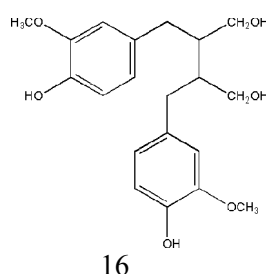
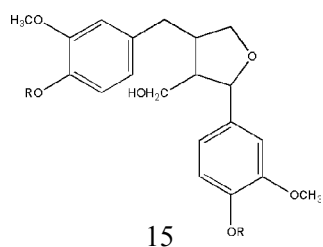
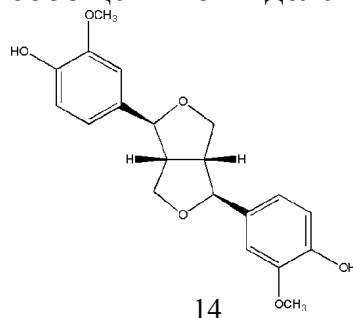
13. R=OH

Таким образом, соединение (9) идентифицировали как 3,7-диметилкемпферол (куматакенин). Нами не найдены сообщения в литературе о выделении куматакенина из лиственницы.

Дигидрофлавонолы были выделены только из коры побегов и составляют 31% от массы экстракта ДЭ коры. Дигидрокверцетин (12) является типичным соединением древесины и коры хвойных пород. Компонент (13) имеет схожие с дигидрокверцетином спектральные данные. В ПМР-спектре соединения (13) имеется сигнал при 11.69 м.д., характерный для сигнала протона ОН-группы при C-5, на наличие гидроксильной группы при C-3 указывает сдвиг сигнала протона у атома углерода C-3 в слабое поле и его проявление в виде дублета

дублетов с центром при 4.55 м.д. и $J=3.1$ Гц. Сигнал протона ОН-группы проявляется в виде дублета с центром при 4.70 на 1H и $J=3.7$ Гц. Величина КССВ равная 11.3 Гц говорит о *транс*-расположении протонов у атомов углерода С-2 и С-3. Два дублета с центрами при 5.92 и 5.95 м.д. принадлежат протонам при С-6 и С-8 кольца А соответственно. Интенсивный синглет при 6.60 м.д. на 2H соответствует сигналу эквивалентных протонов у атомов углерода С-2' и С-6' и указывает на 1',3',4',5'-замещение бензольного кольца Б. Таким образом, компонент (13) идентифицирован как дигидромирицетин.

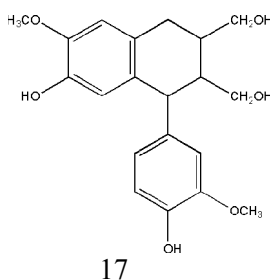
Выделенные дигидрофлавонолы имеют схожее распределение сигналов в ИК- и УФ-спектрах: в УФ-спектре дигидрокверцетина наблюдаются максимум поглощения при 289 нм и плечо при 324 нм, дигидромирицетина — 294 нм и 327 нм; в ИК-спектре компонентов имеются полосы в области 3310-3443 см^{-1} (колебания ОН-групп), 1614-1448 (колебания ароматич. С=C-связей), 1641 (С=О), 640-850 (колебания ароматич. С-H-связей). В литературе отсутствуют сообщения о выделении дигидромирицетина из лиственницы.



Лигнаны были идентифицированы в каждой части кроны обоих сборов. Группа лигнанов преобладает в древесной части летних побегов и осенних ветвей и составляет 60% и 40% соответственно от массы экстракта ДЭ. Все выделенные лигнаны имеют 1,3,5-замещение в бензольных кольцах, о чем свидетельствует типичное для данной структуры распределение сигналов протонов у атомов углерода бензольных ядер в ПМР-спектрах в области 6.2-7.0 м.д. Сигналы протонов алифатической цепочки располагаются в области 1.8-4.8 м.д. Атом кислорода и арильный радикал фуранового и фурофуранового циклов в структурах (14) и (15) создают высокое напряжение в фурановом кольце, что приводит к смещению сигналов протонов у α -углеродного атома в более слабую область спектра 3.8-4.8 м.д. и β -углеродного атома в область 2.3-3.0 м.д. В свою очередь в структурах (16) и (17) сигналы протонов α - и β -углеродных атомов проявляются в области 2.6-2.8 м.д. и 1.8-1.9 м.д. соответственно. Расположение сигналов протонов у γ -углеродного атома в области 3.4-3.9 м.д. обусловлено присутствием ОН-группы у данного атома углерода в структурах (15), (16) и (17).

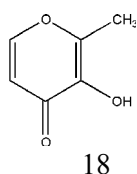
В УФ-спектрах наблюдаются схожие полосы поглощения с максимумами в области 281 нм и 230 нм. Установлено, что секоизоларицирезинол (16) является доминирующим компонентом ДЭ экстракта древесины, его доля составляет треть от экстракта древесинной части побегов. Секоизоларицирезинол оптически активен: $[\alpha]_D^{26} = -26.7$, в масс-спектре наблюдается молекулярный

ион $[M^+]=362$ (10.2), базовый пик 137 (100) и осколочные ионы m/e (%) 189 (7.1), 163 (3.2), 122 (9.3), 94 (5.1), 77 (2.9).



Из коры были выделены пинорезинол (14), $[\alpha]_D^{24} = +19.2$ и изоларицирезинол (17), $[\alpha]_D^{24} = +22.2$. Молекулярные ионы компонентов $[M^+]=358$ и $[M^+]=362$ соответственно отвечают молекулярным массам агликоновых структур выделенных лигнанов. Указанные лигнаны были идентифицированы в каждой части кроны лиственницы обоих сборов. Ларицирезинол (15) был

выделен только из коры.



Пироны. Из осенних ветвей выделили компонент (18), ПМР-спектр которого представлен тремя группами сигналов: два дублета на 1Н каждый при 7.68 и 6.40 м.д. и $J=5.5$ Гц, а также синглет на 3Н при 2.33 м.д. На спектре ЯМР¹³С наблюдается сигнал атома углерода карбонильной группы при 173.25 м.д., сигнал атома углерода метильной группы при 14.41 м.д. и 4 сигнала в области 113.3-154.3 м.д. характерны для атомов углерода при двойной связи. Масс-спектр соединения: $[M^+]=126$ (100), 97 (17.5), 71 (31.0), 69 (8.3), 55 (16.2), 53 (5.1). После метилирования молекулярная масса компонента увеличилась на 14 единиц, что свидетельствует о появлении метоксильной группы и подтверждает наличие в структуре ОН-группы. Таким образом, по данным спектрального анализа компонент является 3-гидрокси-2-метил-4-пироном (мальтол) (18). Мальтол идентифицировали в древесине и коре летних побегов методом ГХ-МС.

Результаты исследования показали (таблица 5), что экстракт ДЭ из каждой части кроны лиственницы в летний и осенний периоды содержат широкий набор фенольных компонентов. Были идентифицированы вещества, характерные только для одной из частей кроны или преобладающие в кроне в один вегетационный период.

Были идентифицированы флавоноидные соединения двух типов: флавонолы и дигидрофлавонолы, причем первые выделены только из хвои, вторые — из коры. Доминирующими соединениями являются кемпферол и дигидрокверцетин, их содержание достигает 0.07% и 0.11% от массы сухой хвои и коры соответственно. Нами выделены новые для лиственницы сибирской флавоноиды куматакенин и дигидромирицетин. Последний был ранее идентифицирован в коре *Larix occidentalis* методом ТСХ. В литературе описаны работы, подтверждающие присутствие дигидрокемпферола в коре и древесине разных видов лиственницы, но нам не удалось установить его присутствие в частях кроны.

В состав лигнановой фракции входят лигнаны четырех типов: фуранового (ларицирезинол, ангидросекоизоларицирезинол), фурофуранового (пинорезинол), дибензилбутанового (секоизоларицирезинол) и

арилтетралинового (изоларицирезинол). Лигнаны последних двух видов идентифицированы также в форме лактонов (матаирезинол, нор-трахелогенин и конидендрин соответственно). Лигнанные соединения доминируют в осеннем сырье и древесной части летних побегов. Основным компонентом древесины является секоизоларицирезинол, составляющий 34.4% от эфирного экстракта (до 0.06% от массы сухой древесины).

Таблица 5 - Состав основных фенольных компонентов, выделенных из частей кроны лиственницы сибирской в разные вегетационные периоды, % от массы эфирного экстракта

Соединения	Летний период			Осенний период	
	хвоя	древесина	кора	хвоя	побеги
Фенолокислоты, в т.ч.:	16.0	8.6	8.9	26.7	8.4
<i>n</i> -гидроксibenзойная	4.0	1.3	2.1	0.8	1.2
ванилиновая	2.2	3.8	2.8	0.6	0.9
сиреневая	1.2	0.3	-	0.3	-
фенилуксусная	0.1	0.1	0.3	0.2	0.7
<i>n</i> -гидроксифенилуксусная	0.2	0.1	-	0.2	1.6
коричная	2.1	-	0.3	6.0	-
<i>n</i> -кумаровая	4.7	1.0	2.1	17.8	1.7
феруловая	1.1	1.8	1.0	0.4	1.8
Фенолоальдегиды, в т.ч.:	0.2	1.2	1.3	1.4	1.8
<i>n</i> -гидроксibenзальдегид	0.1	0.5	0.5	0.4	0.4
ванилин	0.1	0.5	0.1	0.3	0.7
кониферилловый альдегид	-	0.2	0.7	0.7	0.7
Фенолокетоны, в т.ч.:	1.3	1.7	1.3	0.3	0.4
4-(4-гидроксифенил)-бутанон-2 (реозмин)	0.8	1.5	1.0	0.2	0.3
4-(4-гидро-3-метоксифенил)-бутанон-2 (зингерон)	0.5	0.2	0.2	0.1	0.1
Фенолоспирты, в т.ч.:	-	4.8	0.7	0.3	-
4-(4-гидроксифенил)-бутанол-2 (рододендрол)	-	2.0	0.6	0.1	-
кониферилловый спирт	-	2.8	0.1	0.2	-
Флавоноиды, в т.ч.:	22.5	-	31.5	4.7	-
<i>Флавонолы</i>					
кемпферол	11.2		-	3.6	
3,7-диметилкемпферол (куматакенин)	2.0		-	0.7	
кверцетин	6.5		-	-	
изорамнетин	1.1		-	0.4	
мирицетин	1.7		-	-	
<i>Дигидрофлавонолы</i>					
дигидрокверцетин	-		17.8	-	
дигидромирицетин	-		13.7	-	
Лигнаны, в т.ч.:	13.2	61.9	21.1	5.3	39.9
пинорезинол	1.7	14.6	7.3	0.2	9.1
секоизоларицирезинол	1.4	34.4	2.3	0.9	8.7

Продолжение таблицы 5

Соединения	Летний период			Осенний период	
	хвоя	древесина	кора	хвоя	побеги
ангидросекоизоларицирезинол	5.6	5.2	0.6	1.3	11.3
нор-трахелогенин	0.4	3.7	1.2	0.8	1.7
изоларицирезинол	1.9	3.0	8.5	0.3	6.8
ларицирезинол	-	-	0.7	1.2	-
ларицирезинол-3-ацетат	-	-	-	0.3	2.3
Пироны: мальтол	-	0.3	0.5	-	1.1

В летней и осенней хвое и осенних ветвях преобладает ангидросекоизоларицирезинол. Также преобладающими в кроне являются пинорезинол и изоларицирезинол. Последний преобладает в коре. В осеннем сырье идентифицирован ацетат ларицирезинола, отсутствующий в летней ДЗ.

Необходимо отметить присутствие мальтола в побегах. Ранее он был выделен из коры стволовой части лиственницы, нами он был обнаружен и в древесной части.

Кроме перечисленных соединений из лиственницы были впервые выделены кетоны реозмин, зингерон, из хвои выделены *цис*- и *транс*-формы коричной кислоты, а также идентифицирован ряд кислот и лигнанов, ранее в лиственнице не найденных. Все компоненты, идентифицированные нами в хвое, представлены агликоновыми структурами. Показано, что в осенней хвое по сравнению с летней значительно выше содержание кислот, идентифицированы спирты, не найденные в летней хвое, но ниже содержание флавоноидов и лигнанов. В частях кроны лиственницы в осенний период увеличивается доля альдегидов, но снижается доля кетонов.

Нейтральные соединения из каждой части сырья представлены трепеноидами с преобладанием эпитулозола.

ВЫВОДЫ

1. Впервые из частей кроны лиственницы сибирской выделены неизвестные ранее для данного вида соединения и установлено их строение: коричная кислота в *цис*- и *транс*-формах, фенолокетоны 4-(4-гидроксифенил)-бутанон-2 (реозмин) и 4-(4-гидро-3-метоксифенил)-бутанон-2 (зингерон), флавоноиды 3,7-диметилкемпферол (куматакенин) и дигидромирицетин, мальтол, а также идентифицированы фенилуксусная, *n*-гидроксифенилуксусная, дигидрокориичная, *n*-гидроксидигидрокориичная кислоты, рододендрол, нор-трахелогенин.

2. Определено, что экстракт ДЭ летней хвои почти на четверть состоит из флавоноидов, экстракт осенней хвои - из фенолокислот. Отмечается высокое содержание коричной и *n*-кумаровой кислот в осенней хвое, достигающее 23% от массы экстракта.

3. Флавоноидные соединения были выделены только из летней и осенней хвои и коры летних побегов. Флавоноиды хвои представлены флавоноловыми структурами с преобладанием кемпферола. В коре, в отличие от хвои, были идентифицированы только дигидрофлавонолы, составляющие 31% от экстракта.

4. Лигнанные соединения составляют основную долю экстракта древесной части летних побегов и осенних ветвей — по 62% и 40% соответственно. В летней древесине преобладает секоизоларицирезинол — его доля в экстракте достигает 34%, в летней коре преобладают пинорезинол и изоларицирезинол — по 7% и 8% соответственно. В летней и осенней хвое доминирует ангидроформа секоизоларицирезинола. Все перечисленные лигнаны найдены в осенних побегах, их содержание достигает 7-11%.

5. Показано, что в осенний период в частях кроны по сравнению с летней ДЗ в 3 раза выше доля коричных и гидроксикоричных кислот, выше доля альдегидов (в хвое в 7 раз), но ниже доля спиртов, кетонов, флавоноидов (в хвое в 4 раза) и лигнанов.

6. Полученные результаты исследования являются научной базой для разработки технологической схемы переработки отходов лесозаготовки в летний и осенний периоды. Предложены варианты технологической схемы переработки древесной зелени и обесхвоенных побегов с получением фенольного комплекса, комплекса липофильных соединений и водорастворимых компонентов. Данные продукты могут найти применение в медицине, косметологии, ветеринарии, сельском хозяйстве.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Транчук, Н. В. Групповой состав экстрактов из кроны лиственницы сибирской летнего и осеннего сборов / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Химия растительного сырья. - 2015. - № 4. - с. 63-70

2. Транчук, Н. В. Мономерные фенольные соединения хвои лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. - 2016. - Вып. 216. - с. 220-230

3. Транчук, Н. В. Дигидромирицетин коры побегов лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Химия растительного сырья. - 2017. - № 2. - с. 181-184

Материалы конференций:

4. Транчук, Н. В. Фенольные соединения древесной зелени лиственницы сибирской (*Larix sibirica* LEDEB.) / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Актуальные проблемы лесного комплекса: Сборник научных трудов по итогам

международной научно-технической конференции. - Брянск: БГИТА, 2014. - Вып. 38. - с. 132-134

5. Транчук, Н. В. Групповой состав и фенольные соединения экстрактивных веществ древесной зелени лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник материалов IX Международного (Москва, 20-25 апреля, 2015 г.). - М.: ИФР РАН, 2015. - с. 147-151

6. Транчук, Н. В. Состав фракции фенолокислот древесной зелени лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Химия и технология растительных веществ: Тезисы докладов IX Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых. - Сыктывкар-Москва, 2015. - с. 174

7. Транчук, Н. В. Фенолокислоты хвои лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Леса России: политика, промышленность, наука, образование: материалы научно-технической конференции. - СПб.: СПбГЛТУ, 2016. - Том 2. - с. 136-139

8. Транчук, Н. В. Флавоноды хвои лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // «Инновации и технологии в лесном хозяйстве» ITF-2016. Тезисы докладов V Международной научно-практической конференции (31 мая – 2 июня 2016 г.). - СПб: СПбНИИЛХ, 2016. – с. 135

9. Транчук, Н. В. 5,4'-дигидрокси-3,7-диметоксифлавоноид хвои лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Актуальные проблемы химии, биотехнологии и сферы услуг: мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. с межд. участием (Иркутск, 26–28 апреля, 2017 г.). – Иркутск: Изд-во ИРНТУ, 2017. – с. 97-101

10. Транчук, Н. В. Лигнаны кроны лиственницы сибирской / Н. В. Транчук, В. И. Роцин // Н 766 Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы VI Всероссийской конференции (24–28 апреля 2017 г.) – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2017. – с.195-197

11. Транчук, Н. В. Фенольные соединения кроны лиственницы сибирской / Н.В. Транчук, В.И. Роцин // Леса России: политика, промышленность, наука, образование: материалы второй международной научно-технической конференции. - СПб.: СПбГЛТУ, 2017. - Том 3. – с. 192-194

12. Tranchuk, N. V. Phenolics From *Larix sibirica* Crown / N. V. Tranchuk, V. I. Roshchin // International Conference “Renewable Plant Resources: Chemistry, Technology, Medicine” (Saint Petersburg, Russia, September 18-22, 2017). - Saint Petersburg: VVM Publishing Ltd., 2017. – p. 158