

DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-28-33
© Коллектив авторов, 2021

К. С. Воронин^{1,*}, А. А. Фенин², А. К. Жевлакова¹, С. П. Завадский¹,
И. А. Селиванова¹

ПОЛИФЕНОЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ СУЧКОВОЙ ЗОНЫ ДРЕВЕСИНЫ ЛИСТВЕННИЦЫ

¹ ФГАОУ ВО “Первый МГМУ им. И. М. Сеченова” Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2.

² ФГБОУ ВО “РХТУ имени Д. И. Менделеева”, Россия, 125047, Москва, Миусская пл., д. 9.

* e-mail: voronin k s@staff.sechenov.ru

По результатам исследования полифенольного профиля сучковой зоны древесины лиственницы даурской *Larix dahurica* Turcz. методом хромато-масс-спектрометрии было установлено, что древесина сучковой зоны отличается от древесины комлевой части наличием лигнановой фракции. В качестве мажорных компонентов полифенольного экстракта сучковой зоны древесины лиственницы были выявлены флавоноиды дигидрокверцетин, кверцетин и лигнан секоизоларицирезинол, а в качестве минорных — флавоноиды аромадендрин, дигидроизорамнетин, эриодиктиол, и лигнаны изоларицирезинол и нортрахелогенин.

Ключевые слова: дигидрокверцетин; секоизоларицирезинол; полифенолы; сучковая зона древесины лиственницы; *Larix dahurica*; хромато-масс-спектрометрия.

Экстрактивные вещества древесины лиственницы даурской *Larix dahurica* Turcz. являются перспективными объектами для использования в области фитотерапии. Ранее было проведено комплексное изучение компонентного состава полифенольной фракции комлевой части древесины лиственницы. Её мажорный компонент флавоноид (2*R*,3*R*)-дигидрокверцетин (ДКВ) обладает выраженной антиоксидантной активностью, лежащей в основе его капилляропротекторного, гиполипидемического, гепатопротекторного, антитромбоцитарного, противовоспалительного, радиопротекторного действия [1–3]. На базе экстрактивных веществ комлевой части древесины лиственницы был разработан ряд фитопрепаратов, в том числе Диквертин [3]. Из литературных источников известно, что помимо флавоноидов в составе древесины лиственницы даурской найдены лигнаны, однако в комлевой зоне древесины лиственницы они не были обнаружены [4].

В настоящее время все большее применение для исследования многокомпонентных растительных экстрактов находят инструментальные методы анализа, в том числе хромато-масс-спектрометрия, введенная в Государственную фармакопею РФ XIV издания.

Цель исследования — провести сопоставительный анализ полифенольных профилей сучковой и комлевой частей древесины лиственницы, изученных методом хромато-масс-спектрометрии.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили полифенольный экстракт комлевой зоны древесины лиственницы и по-

лифенольный экстракт сучковой зоны древесины лиственницы (“Аметис”, г. Благовещенск). Компоненты экстрактов разделяли методом ВЭЖХ. В работе использовали хроматограф ACQUITY UPLC (Waters) с диодно-матричным детектором и тандемным квадрупольным масс-спектрометром Xevo TQD (Waters). Условия хроматографирования: колонка ACQUITY UPLC BEH Phenyl 1,7 мкм (2,1 × 100 мм) (Waters); подвижные фазы: А — 0,5 % водный раствор муравьиной кислоты, В — 0,5 % раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле; градиентный режим элюирования: 0 мин — 100 % А, 5 мин — 85 % А, 7,5 мин — 75 % А, 10 мин — 62,5 % А, 15 мин — 100 % В; скорость потока 0,2 мл/мин. Рабочие параметры масс-спектрометра: режим ионизации — отрицательный и положительный электроспрей; напряжение на капилляре — 3 кВ, напряжение на конусе — 30 В, напряжение в столкновительной ячейке — 20 В, температура газа-осушителя — 320° С, скорость потока газа-осушителя — 700 л/ч, поток на конусе 50 л/ч, температура источника 150° С.

Результаты и их обсуждение

Разделение компонентов. Для оптимизации условий хроматографического разделения компонентов исследуемых экстрактов в качестве элюентов были опробованы смеси воды с ацетонитрилом или метанолом. Для подавления диссоциации фенольных гидроксильных групп и улучшения десорбции полифенольных соединений в подвижную фазу добавляли муравьиную и уксусную кислоты. Испытаны изократический, градиентный и смешанный режимы элюирования. Хроматограммы, полученные в оптимальных условиях раз-

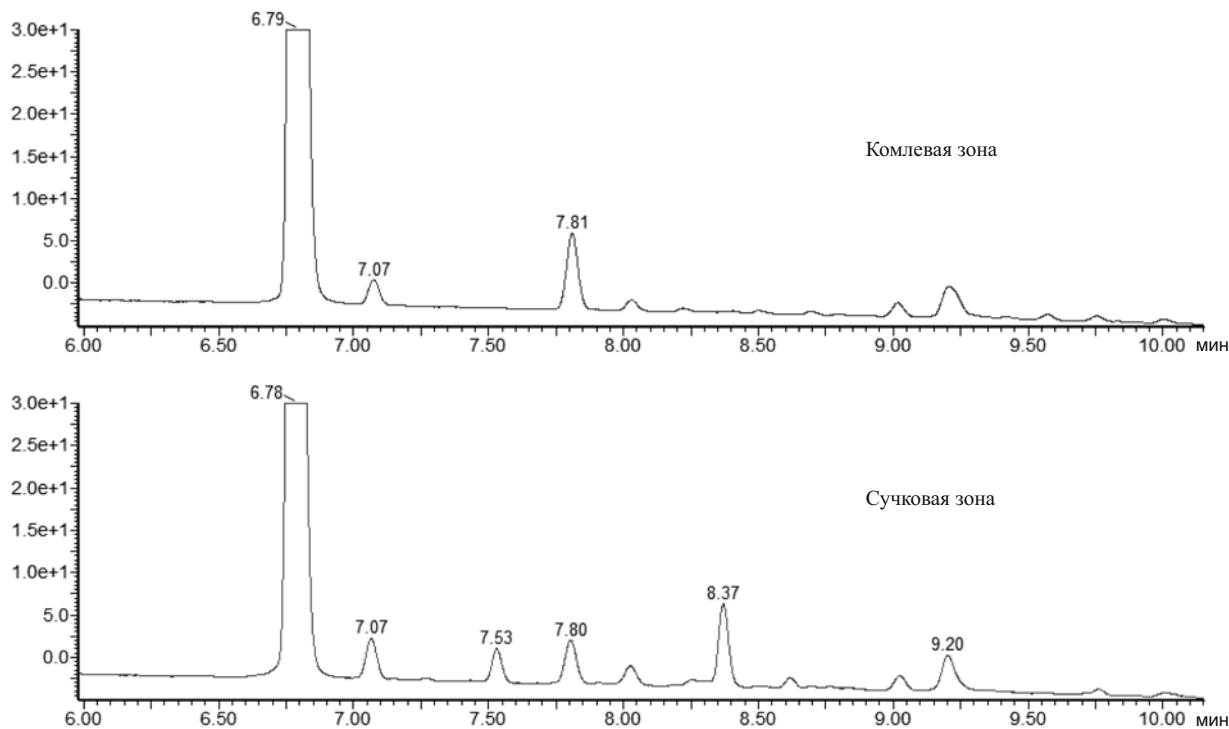


Рис. 1. Хроматограммы экстрактов комлевой и сучковой зон древесины лиственницы: условия разделения см. “Эксперимент. часть”, диодно-матричное детектирование.

деления компонентов экстрактов сучковой и комлевой зон древесины лиственницы приведены на рис. 1.

Идентификация компонентов. Идентификацию пиков на хроматограмме проводили путем сопоставительного анализа хроматографических и спектральных характеристик компонентов экстрактов с аутентичными образцами и литературными данными. Для идентификации использовали масс-спектры, записанные в режиме положительной и отрицательной ионизации.

В хроматограммах обоих экстрактов обнаруживается серия пиков со временем удерживания (ВУ) 6,79 (6,78); 7,07; 7,81 (7,80); 8,05; 9,02; 9,20 мин. Соединения, которым соответствуют пики на хроматограммах с ВУ 6,79 (6,78) и 7,07 мин, характеризуются одинаковыми масс- и УФ-спектрами. Пики с ВУ 6,79 (6,78) мин при сравнении со стандартным образцом были идентифицированы как (2*R*,3*R*)-ДКВ (рис. 2), абсолютная конфигурация которого ранее определена методом рентгено-структурного анализа [5]. Для

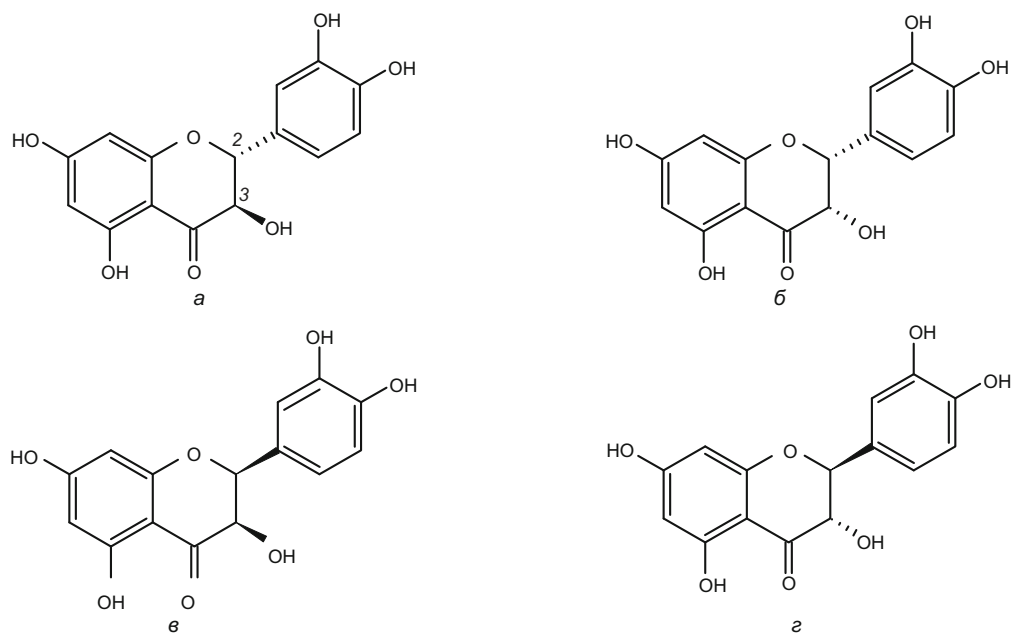


Рис. 2. Стереизомеры дигидрокверцетина: *a* — (2*R*,3*R*)-ДКВ, *б* — (2*R*,3*S*)-ДКВ, *в* — (2*S*,3*R*)-ДКВ, *г* — (2*S*,3*S*)-ДКВ.

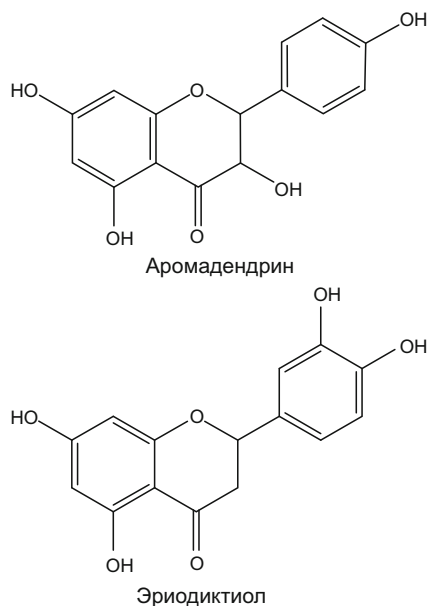


Рис. 3. Биогенетические родственники ДКВ.

(2*R*,3*R*)-ДКВ характерно диэкваториальное положение объемных заместителей: дигидроксифенильного кольца у атома С-2 и гидроксильной группы у атома С-3. По результатам молекулярного моделирования было установлено, что устойчивость стереоизомеров ДКВ уменьшается в ряду: (2*R*,3*R*)-ДКВ, (2*R*,3*S*)-ДКВ, (2*S*,3*R*)-ДКВ и (2*S*,3*S*)-ДКВ [6, 7]. В случае (2*R*,3*S*)-изомера гидроксильная группа у атома С-3 занимает аксиальное положение, что приводит к увеличению потенциальной энергии молекулы по сравнению с (2*R*,3*R*)-изомером. Таким образом, пики с ВУ 7,07 мин соответствуют стереоизомеру ДКВ, которому может быть приписана (2*R*,3*S*)-конфигурация центров хиральности.

В УФ-спектре компонента, которому соответствуют пики на хроматограммах с ВУ 9,20 мин, наблюдается характерное для флавонолов поглощение в области 370 нм. Масс- и УФ-спектры, а также ВУ этого соединения совпадают с таковыми аутентичного образца кверцетина (3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-1-бензопиранон-4; КВ). Компоненты с ВУ 7,81 (7,80) и 9,02 мин имеют аналогичные спектральные характеристики и одинаковую молекулярную массу (288), отличающуюся от массы ДКВ на 16 единиц, что означает потерю одной гидроксильной группы. Та-

ким образом, эти пики могут соответствовать биогенетически родственным ДКВ соединениям флаванону — эриодиктиолу или флаванолу — дигидрокемпферолу (аромадендрину) (рис. 3).

В спектре фрагментации пика молекулярного иона компонента с ВУ 7,81 (7,80) мин наблюдаются пики: в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов — m/z 269 $[M - H - H_2O]^-$, m/z 259 $[M - H - CO]^-$; в режиме регистрации положительно заряженных ионов — m/z 271 $[M + H - H_2O]^+$, m/z 243 $[M + H - H_2O - CO]^+$, что соответствует профилю фрагментации аромадендрина [8]. В свою очередь, в спектре компонента с ВУ 9,02 мин наблюдаются пики, характерные для фрагментации эриодиктиола в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов: m/z 151 и m/z 135, которые соответствуют частицам, образующимся при разрыве связей гетероциклического кольца [9]. Хроматографические исследования на модельных смесях флавоноидов и растительных экстрактах показали, что флаванол аромадендрин в условиях обращенно-фазовой хроматографии элюируется после флаванола ДКВ (в связи с меньшей полярностью, из-за отсутствия одной гидроксильной группы по сравнению с ДКВ), но перед флаванолом КВ, в то время как флаванон эриодиктиол характеризуется большим ВУ, чем аромадендрин, но меньшим, чем КВ [10, 11]. Таким образом, по сумме спектральных и хроматографических данных компонент с ВУ 7,81 (7,80) мин был идентифицирован как аромадендрин, а компонент с ВУ 9,02 мин — как эриодиктиол.

Компонент, которому соответствуют пики на хроматограммах с ВУ 8,05 мин, по масс- и УФ-спектрам может быть отнесен к одному из метокси-эфиров ДКВ. Для уточнения положения метокси-группы был проведен сопоставительный анализ фрагментации пика молекулярного иона неизвестного компонента в режиме регистрации положительно заряженных ионов с профилем фрагментации ДКВ, для которого характерно образование двух интенсивных пиков: m/z 153 (относительная интенсивность 100%), обусловленного потерей кольца В в виде нейтральной частицы, и m/z 123 (относительная интенсивность 90,35%), принадлежащего 3,4-дигидроксифенильному катиону [12]. В спектре исследуемого соединения обнаруживаются пики m/z 153 (относительная интенсивность 100%), m/z 137 (относительная интенсивность 93,45%), но отсутствует пик m/z 123, что может быть

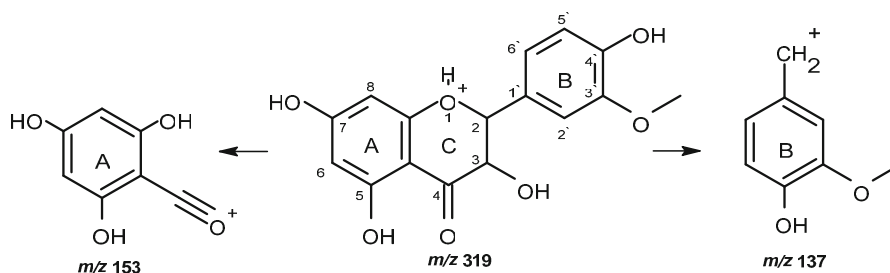


Рис. 4. Основные пути фрагментации дигидроизорамнетина.

Компоненты экстрактов комлевой и сучковой зон древесины лиственницы по данным хромато-масс-спектрометрии

Идентифицированный компонент	ВУ, мин	[M-H] ⁻	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	Комлевая зона	Сучковая зона
(2R,3R)-ДКВ	6,80	303	289	+	+
(2R,3S)-ДКВ	7,08	303	289	+	+
Изоларицирезинол	7,53	359	280	-	+
Аромадендрин	7,80	287	287	+	+
Дигидроизорамнетин	8,05	317	287	+	+
Секоизоларицирезинол	8,37	361	280	-	+
Нортрахелогенин	8,63	373	280	-	+
Эриодиктиол	9,04	287	286	+	+
Кверцетин	9,20	301	230; 368	+	+

зид секоизоларицирезинола обладает перспективными фармакологическими свойствами, в том числе противоопухолевым действием при гормонозависимых формах рака [15]. Его рассматривают в качестве потенциального лекарственного средства, и в литературе имеются сведения об изучении фармакокинетических показателей и основных путей его метаболизма [16].

В масс-спектре компонента с ВУ 7,53 мин, записанном в режиме регистрации положительно заряженных ионов, наблюдаются пики аддукта с натрием m/z 383 и димера m/z 721, а в УФ-спектре обнаруживается максимум поглощения в области 280 нм, что соответствует лигнанам ларицирезинолу и изоларицирезинолу (рис. 5).

Для ларицирезинола характерно образование интенсивного пика m/z 329 в спектре фрагментации в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов, обусловленного потерей одной гидроксиметильной группы в виде формальдегида, а для изоларицирезинола — пиков m/z 344 и m/z 313, образование которых связано с потерей метильного радикала и одновременной потерей метильного и метоксильного радикалов соответственно [17, 18]. В спектре фрагментации исследуемого компонента обнаруживаются пики m/z 344 и m/z 313, но отсутствует пик m/z 329. В условиях обращенно-фазовой хроматографии для изоларицирезинола наблюдается меньшее ВУ, чем у ларицирезинола и, в отличие от последнего, он элюируется раньше секоизоларицирезинола [17, 18]. Таким образом, по совокупности спектральных и хроматографических данных компонент с ВУ 7,53 мин был идентифицирован как изоларицирезинол.

В масс-спектре компонента с ВУ 8,63 мин, записанном в режиме регистрации положительно заряженных ионов, наблюдаются пики m/z 392 $[M + H_2O]^+$ и m/z 375 $[M + H]^+$, в УФ-спектре — максимум поглощения в области 280 нм, что соответствует одной из гидроксированных форм матаирезинола (рис. 6).

Сравнительный анализ масс-спектров гидроксипроизводных матаирезинола, записанных в режиме регистрации отрицательно заряженных ионов, свидетельствует о высокой аналитической значимости пути фрагментации лактонного цикла для установления положения гидроксильной группы. Для 7-гидроксиматаирезинола и изогидроксиматаирезинола характерно

образование минорных пиков m/z 311 $[M - H - H_2O - CO_2]^-$, в то время как для 8'-гидроксиматаирезинола — образование интенсивного пика m/z 327 $[M - H - H_2O - CO]^-$ [17]. В спектре фрагментации исследуемого компонента обнаруживается пик m/z 327 и отсутствует пик m/z 311. В условиях обращенно-фазовой хроматографии наблюдается следующий порядок выхода соединений: 7-гидроксиматаирезинол, изогидроксиматаирезинол, 8'-гидроксиматаирезинол, и только последний элюируется после секоизоларицирезинола [17]. Таким образом, по совокупности спектральных и хроматографических данных компонент с ВУ 8,63 мин был идентифицирован как 8'-гидроксиматаирезинол (нортрахелогенин), который ранее обнаруживался в древесине, коре и хвое лиственницы [19].

Времена удерживания (ВУ), данные УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии идентифицированных компонентов приведены в таблице.

Согласно полученным результатам, мажорными компонентами экстракта сучковой зоны являются флавоноиды дигидрокверцетин и кверцетин и лигнан секоизоларицирезинол, а минорными — флавоноиды аромадендрин, эриодиктиол, дигидроизорамнетин и лигнаны изоларицирезинол и нортрахелогенин. Исследованная композиция представляет интерес как перспективный объект для разработки на ее основе фитопрепарата, а использование сучковой зоны для его получения — с точки зрения более рационального использования древесины лиственницы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Y. O. Teselkin, I. V. Babenkova, N. A. Tjukavkina, in: *Frontiers in Antioxidants Research*, H. V. Panglossi (ed.), Nova Publishers, New York (2006), pp. 103 – 131.
2. M. B. Plotnikov, S. V. Logvinov, N. I. Suslov, et al., in: *New Trends in Brain Hypoxia Ischemia Research*, E. Härmäläinen (ed.), Nova Publishers, New York (2008), pp. 93 – 133.
3. М. Б. Плотников, Н. А. Тюкавкина, Т. М. Плотникова, *Лекарственные препараты на основе диквертина*, Изд-во Томского университета, Томск (2005).
4. Н. А. Тюкавкина, С. А. Медведева, С. Иванова и др., *Химия древесины*, № 6, 94 – 96 (1977).
5. И. А. Селиванова, Н. А. Тюкавкина, Ю. А. Колесник, *Хим.-фарм. журн.*, 73(4), 51 – 53 (1999).

6. И. А. Селиванова, Н. А. Тюкавкина, Р. П. Терехов и др., *Тез. докл. IV Всерос. науч.-практ. конф. с межд. уч. "Инновации в здоровье нации"*, Санкт-Петербург (2016), сс. 567 – 571.
7. Р. П. Терехов, И. А. Селиванова, *Фармация, Спец. выпуск*, 112 – 116 (2016).
8. N. Tawfeek, M. Sobeh, D. I. Hamdan, et al., *Molecules*, **24**(10), 1999 (2019).
9. S. G. Leitão, G. G. Leitão, D. K. Vicco, et al., *J. Chromatogr. A*, 1520, 83 – 90 (2017).
10. M. Sanz, B. F. de Simón, E. Cadahía, et al., *Anal. Chim. Acta*, **732**, 33 – 45 (2012).
11. P. E. Milbury, C. Y. Chen, G. G. Dolnikowski, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **54**(14), 5027 – 5033 (2006).
12. B. Abad-García, S. Garmón-Lobato, L. A. Berrueta, et al., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **23**, 2785 – 2792 (2009).
13. С. З. Иванова, Т. Е. Федорова, Н. В. Иванова и др., *Химия растит. сырья*, **4**, 5 – 17 (2002).
14. H. Wang, J. Wang, C. Qiu, et al., *Food Chem.*, **214**, 223 – 227 (2017).
15. H. Adlercreutz, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, **44**(5 – 6), 483 – 525 (2007).
16. K. D. Setchell, N. M. Brown, L. Zimmer-Nechemias, et al., *Food Funct.*, **5**(3), 491 – 501 (2014).
17. P. C. Eklund, M. J. Backman, L. Å. Kronberg, et al., *J. Mass Spectrom.*, **43**, 97 – 107 (2008).
18. I. E. Popova, C. Hall, A. Kubatova, *J. Chromatogr. A*, **1216**(2), 217 – 229 (2009).
19. Н. В. Транчук, В. И. Рощин, *Тез. докл. VII Всерос. науч.-практ. конф. с межд. уч. "Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья"*, Барнаул (2017), сс. 195 – 197.

Поступила 06.07.21

POLYPHENOLIC PROFILE OF THE LARCH KNOTWOOD

K. S. Voronin^{1,*}, A. A. Fenin², A. K. Zhevlakova¹, S. P. Zavadskii¹, and I. A. Selivanova¹

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

² D. I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125047 Russia

* e-mail: voronin k s@staff.sechenov.ru

While the larch butt-log portion is one of the main sources of active pharmaceutical ingredient dihydroquercetin, other zones of larch wood are also being considered as possible material for the production of bioactive polyphenols. In this study, we have compared the phenolic composition of the knotwood and butt-log portion of *Larix dahurica* Turcz. by using HPLC-DAD/ESI-MS/MS technique. It has been found that the polyphenolic knotwood extract differed from the butt-log portion extract by the presence of lignan fraction. The major components of the polyphenolic knotwood extract of *L. dahurica* are flavanol dihydroquercetin, flavanol quercetin, and lignan secoisolariciresinol. The minor components include flavonoids aromadendrin, eriodictyol, dihydroisorhamnetin and lignans isolariciresinol and nortrachelogenin.

Keywords: dihydroquercetin; secoisolariciresinol; polyphenols; larch knotwood; *Larix dahurica* Turcz.; HPLC-DAD/ESI-MS/MS.