

УДК 543.429.23 : 665.944.54

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЖИВИЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.), ИЗМЕРЕННЫЕ МЕТОДОМ ЯМР

© *Е.Д. Скаковский*^{1*}, *Л.Ю. Тычинская*¹, *Е.И. Гапанькова*¹, *И.А. Латышевич*¹, *Е.Г. Попов*², *С.А. Ламоткин*³

¹ Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, ул. Сурганова, 13, Минск, 220072 (Республика Беларусь), e-mail: sed@ifoch.bas-net.by

² Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, ул. Сурганова, 2в, Минск, 220072 (Республика Беларусь)

³ Белорусский государственный технологический университет, ул. Свердлова, 13а, Минск, 220006 (Республика Беларусь)

Проведен анализ сезонных изменений состава живицы сосны обыкновенной методом ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии. Благодаря благоприятным погодным условиям (положительные температуры в дни отбора образцов в течение года) получены и исследованы образцы для каждого из 12 месяцев. Исследовали хлороформенные (CDCl₃) растворы живицы. Идентифицированы и количественно определены 8 смоляных кислот: абиетиновая, дегидроабиетиновая, изопимаровая, левопимаровая, неоабиетиновая, палюстровая, пимаровая и сандаракопимаровая, а также 6 монотерпенов: камфен, лимонен, мирцен, α-пинен, β-пинен и терпинолен. Установлено, что в период низких температур уменьшается количество выделившейся живицы и содержащегося в ней α-пинена. Другие монотерпены в это же время в пределах ошибки измерения не обнаружены. Предполагается, что в борьбе с насекомыми-вредителями хвойных главным образом играют монотерпены, которые образуются в меньших количествах в период анабиоза вредителей. Установлено, что содержание дегидроабиетиновой, изопимаровой, неоабиетиновой, пимаровой и сандаракопимаровой кислот в течение года изменяется незначительно. Обнаружена связь между количеством абиетиновой, левопимаровой и палюстровой кислот в составе живицы. Предполагается, что наблюдающаяся связь обусловлена низкотемпературными каталитическими реакциями изомеризации левопимаровой кислоты с образованием, главным образом, абиетиновой кислоты. Высказано предположение о необходимости учитывать эти процессы для исключения ошибок при определении содержания указанных кислот в живице даже в случае статистического анализа.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., живица, монотерпены, смоляные кислоты, спектры ЯМР.

Сокращения: ЯМР – ядерный магнитный резонанс, ГЖХ – газожидкостная хроматография, МТ – монотерпены, СК – смоляные кислоты.

Введение

Лес – одно из самых значимых природных богатств Беларуси и занимает 39.8% ее территории. Среди лесных культур лидирует сосна обыкновенная (*P. sylvestris* L.), вырастающая до 40 м в высоту и до

Скаковский Евгений Доминикович – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования, e-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Тычинская Людмила Юльевна – кандидат химических наук, заведующий лабораторией физико-химических методов исследования, e-mail: sed@ifoch.bas-net.by

Гапанькова Елена Игоревна – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории мембранных процессов, e-mail: elenagapankova@gmail.com

Окончание на С. 194.

1.2 м в диаметре у основания ствола. Древесина сосны смолиста и прочна, используется в жилищном и техническом строительстве, в столярных и плотницких работах. Смола – живица образуется в смоляных ходах и в результате механических повреждений коры и древесины, например, при подпочке, вытекает наружу, так как находится под давлением 120–200 кПа. Она применяется в медицине, является ценным сырьем для химической

* Автор, с которым следует вести переписку.

промышленности и может содержать по объему $\leq 25\%$ эфирного масла, которое отделяют перегонкой с водяным паром и называют живичным скипидаром. После отгонки эфирного масла остается твердая смола – канифоль. Из скипидара получают лаки, растворители, ароматизаторы, клеящие вещества и другие продукты. Канифоль применяется в мыловарении, бумажной, резинотехнической и лакокрасочной промышленности.

В обзоре [1] подробно описаны химические реакции компонентов живицы – монотерпенов (МТ) и смоляных кислот (СК). МТ и СК одновременно находятся в различных тканях сосны. Содержание компонентов изучено в иголках сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) при помощи газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ/МС) [2]. Экстракты шишек сосны аллепской (*P. halepensis*), сосны бруттейской (*P. brutia*), пинии (*P. pinea*), сосны обыкновенной и сосны черной (*P. nigra*) проанализированы методом ГХ/МС [3]. Нелетучие компоненты экстрактов иголок, побегов и наружной коры исследованы этим же методом для сосны густоцветной (*P. densiflora*) [4] и сосны Тунберга (*P. thunbergii*) [5]. Живицу сосны скрученной (*P. contorta*) изучили методом ГХ [6].

Анализ кислых и нейтральных дитерпенов живицы сосны черной был проведен методом ^{13}C ЯМР в CDCl_3 [7, 8]. ^1H и ^{13}C ЯМР спектральное отнесение дитерпенов абиегана сосны гелдрейха (*P. heldreichii*) и сосны черной было сделано в разных растворителях: CDCl_3 , C_6D_6 , CD_3OD и $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ [9].

Количественное определение СК в живице сосны приморской (*P. pinaster*) осуществлено при помощи ^{13}C ЯМР в CDCl_3 [10]. Дитерпены абиегана были синтезированы и при помощи корреляционной спектроскопии отнесены линии в спектрах ^1H и ^{13}C ЯМР [11].

Метод ^1H и ^{13}C ЯМР был применен нами для анализа бальзамов живицы сосны обыкновенной [12], самой живицы [13, 14] и канифоли из нее [14].

В работах [15, 16] при помощи ГЖХ и ЯМР изучено влияние промышленных загрязнений, радиоактивных и токсичных элементов на химический состав живицы сосны обыкновенной.

Изучение влияния различных добавок к коммерческой пасте для увеличения выделения живицы из сосны обыкновенной показало, что оно зависит от сезона подсочки [17]. Наибольшее количество живицы выделяется из подсоченных деревьев в летний период. Таким образом, состав живицы сосны подробно изучался, но сезонные его изменения проанализированы недостаточно [18]. В работе [19] были, однако, отслежены изменения, происходящие в течение года в содержании терпенов, выделяемых хвоей сосны – анализ проведен методами ЯМР и ГЖХ. При этом исследована динамика содержания пиненов, карена, камфена, лимонена, борнилацетата, кариофиллена и кадинена. Поскольку эфирное масло хвои по составу отличается от эфирного масла (скипидара) живицы, интерес представляет провести такое исследование в отношении именно живицы.

Сезонные и географические вариации в содержании терпенов, СК и фенолов в хвое сеянцев сосны обыкновенной, выращенных в питомниках, описаны в работе [20]. Было установлено, что весной в хвое побегов было больше МТ, в т.ч. 3-карена, α -пинена, β -пинена и сабинена, но количество мирцена и трициклена уменьшалось по сравнению с осенью. Осенью концентрации левопимаровой и дегидроабиегиновой кислот были выше, а концентрации палюстровой, абиегиновой и неоабиегиновой ниже.

Проведено исследование состава и физико-химических свойств живицы сосны обыкновенной, произрастающей в Польше [21]. Анализу подверглись 343 образца живицы, отобранных ежемесячно с мая по сентябрь в 1976–1979 гг. на участках подсочки в 5 лесных районах. Установлено, что содержание скипидара в живице уменьшается с 19.7 до 16.5% при переходе от майских к сентябрьским образцам. Главным компонентом скипидара является α -пинен, содержание которого соответственно 55.6 и 49.7% для южного и северного районов. Содержание СК в канифоли не зависит от места сбора живицы и возрастает от 92.0 до 93.2% при переходе от майских к сентябрьским образцам.

Латышев Ирина Александровна – научный сотрудник лаборатории мембранных процессов, e-mail: irinalatyshovich@gmail.com

Попов Евгений Германович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разнообразия растительных ресурсов, e-mail: ehporoff@mail.ru

Ламоткин Сергей Александрович – кандидат химических наук, доцент кафедры физико-химических методов сертификации продукции, e-mail: jossby@rambler.ru

Литературный поиск показал, что сведения о помесечных изменениях компонентов живицы сосны практически отсутствуют, тем не менее такой анализ представляет интерес для уточнения механизмов биохимического синтеза у сосны обыкновенной и установления времени преобладания в ее составе соединений, имеющих потребительскую значимость.

В связи с вышеизложенным целью данной работы было изучение сезонных изменений состава живицы сосны обыкновенной в течение года, взятой из одного дерева (для исключения статистического выравнивания количественных характеристик, которое может нивелировать различия). Исследования проведены методом ЯМР-спектроскопии высокого разрешения, который обеспечил достижение поставленной цели.

Экспериментальная часть

Образцы живицы отбирали у 40-летней сосны *P. sylvestris* L, растущей в северном лесопарке Минска. Отбор производился 12 числа каждого месяца, начиная с августа 2019 г. по август 2020 г. включительно. Для выделения живицы удалили кору дерева с площади ~4 см². Перед отбором выделенное место очищали и собирали живицу, выделившуюся в течение суток. В зависимости от времени года количество образца варьировалось от 0.01 г зимой до 0.50 г летом. Погодные условия сбора образцов живицы сосны представлены в таблице 1.

Таким образом, в течение года в дни отбора образцов температура имела положительные значения, что способствовало выделению живицы. Максимальное значение (+27 °С) наблюдалось в июне, а минимальное (+1 °С) – в декабре. Для проведения анализа методом ЯМР были приготовлены растворы живицы в CDCl₃. Количество растворенного образца зимой составляло ~10 мг в 0.5 мл растворителя, летом – ~80 мг.

Спектры ЯМР были записаны на спектрометре AVANCE-500 с рабочими частотами 500 и 125 МГц для ядер ¹H и ¹³C, соответственно, при температуре 20 °С. Протонные спектры регистрировали в «количественном» режиме, при этом использовали 30°-й импульс, при записи углеродных спектров – 60°-й. Релаксационная задержка между импульсами составляла 5 сек в обоих случаях. Для идентификации соединений в идентичных условиях предварительно были записаны ¹H и ¹³C спектры предполагаемых СК и МТ. Поскольку интегральные интенсивности сигналов в спектрах ¹H индивидуальных соединений относились стехиометрически, это свидетельствовало о выполнении условий «количественной» записи спектров. В зависимости от концентрации количество накоплений для ¹H спектров составляло 128 или 512, для ¹³C-спектров (регистрировали с подавлением протонного взаимодействия), соответственно, – ~1000 или 15000. При накоплении спектров использовали память 64 К, при обработке – 128 К. Постоянная времени при обработке ¹H спектров составляла 0 Гц, ¹³C – 1 Гц, использовали лоренцевскую форму линий. Перед интегрированием производилась ручная регулировка фазы и базовой линии. Спектры на ядрах ¹³C были необходимы для более полной идентификации компонентов живицы.

Химические сдвиги присутствующих в смеси соединений для ядер ¹H определяли с использованием сигнала примеси растворителя – CHCl₃ (δ=7.27 м.д.), а ¹³C – самого растворителя (δ=77.7 м.д.). Все экспериментальные данные получены и обработаны при помощи пакета программ XWIN-NMR 3.5.

Количественные расчеты проводили на основании интегральных интенсивностей групп сигналов соответствующих соединений в протонных спектрах.

Таблица 1. Погодные условия сбора образцов живицы

Дата	Температура, °С	Примечание
12 августа 2019 г.	+25	пасмурно, дождь
12 сентября 2019 г.	+24	облачно с прояснениями
12 октября 2019 г.	+15	пасмурно
12 ноября 2019 г.	+6	облачно с прояснениями
12 декабря 2019 г.	+1	дождь
12 января 2020 г.	+2	пасмурно
12 февраля 2020 г.	+2	пасмурно
12 марта 2020 г.	+6	ясно
12 апреля 2020 г.	+8	облачно с прояснениями
12 мая 2020 г.	+7	дождь
12 июня 2020 г.	+27	ясно
12 июля 2020 г.	+13	пасмурно, дождь
12 августа 2020 г.	+18	ясно

Обсуждение результатов

На рисунке 1 показаны спектры ЯМР растворов живицы, взятой в сентябре (IX) 2019 года. Были обнаружены восемь СК: абиетиновая (1), дегидроабиетиновая (2), изопимаровая (3), левопимаровая (4), неоабиетиновая (5), палюстровая (6), пимаровая (7) и сандаракопимаровая (8), а также пять МТ: камфен (9), лимонен (10), α -пинен (12), β -пинен (13) и терпинолен (14). Кроме того, в некоторых образцах присутствовал мирцен (11).

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР дано в работах [12, 13, 22–24]. Практически все идентифицированные соединения, за исключением терпинолена, имеют индивидуальные неперекрывающиеся сигналы в области двойных связей и ароматики, что представлено на рисунке 2 с соответствующей нумерацией сигналов. Это позволило провести количественные расчеты с использованием интегральных интенсивностей линий. Индивидуальный сигнал терпинолена для этих целей присутствует в спектре при $\delta=2.77$ м.д. Анализ спектров показал, что главными СК в сентябрьском образце были левопимаровая (24.7%), палюстровая (12.5%) и пимаровая (10.6%) кислоты. Меньше всего наблюдалось сандаракопимаровой кислоты (1.1%). Из МТ доминировал α -пинен (15.1%), остальных было меньше 1%.

Спектры ЯМР, отображающие февральский (II) образец, приведены на рисунке 3. В этом случае обнаружено семь СК: абиетиновая (1), дегидроабиетиновая (2), изопимаровая (3), неоабиетиновая (5), палюстровая (6), пимаровая (7) и сандаракопимаровая (8). В отличие от образца (IX), абиетиновая кислота является главной (57.8%), второй по значимости является пимаровая (10.4%). Левопимаровая кислота в пределах ошибки измерения не была обнаружена. Из МТ детектирован только α -пинен (7.0%), что примерно вдвое меньше, чем в сентябрьском образце.

Полученные данные о сезонных изменениях состава живицы (табл. 2) свидетельствуют о том, что с января по апрель из МТ наблюдается только α -пинен, содержание которого уменьшается с 8.5 до 4.2%. В остальные месяцы доля α -пинена в живице достаточно высокая (достигает 30.9%), за исключением октября 2019 г. (8.5%).

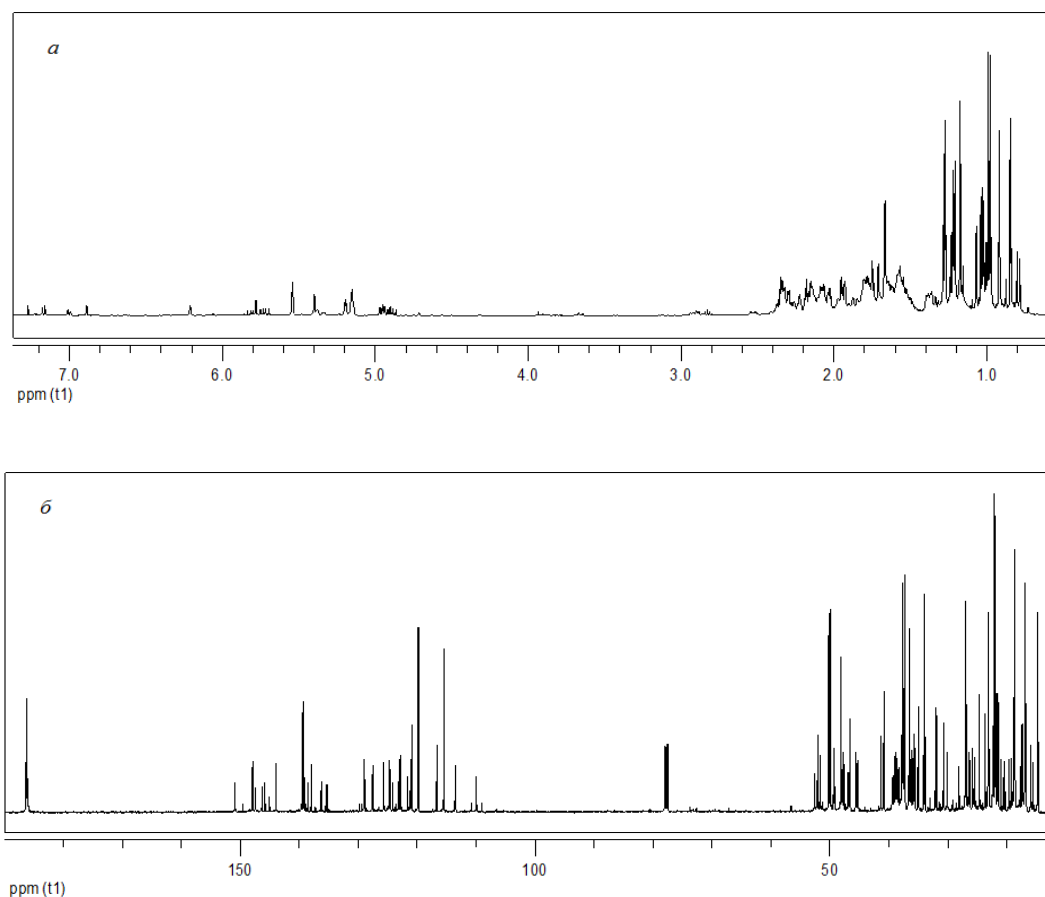


Рис. 1. Спектры ЯМР раствора живицы сосны (сентябрь) в CDCl_3 : а – ^1H , б – ^{13}C

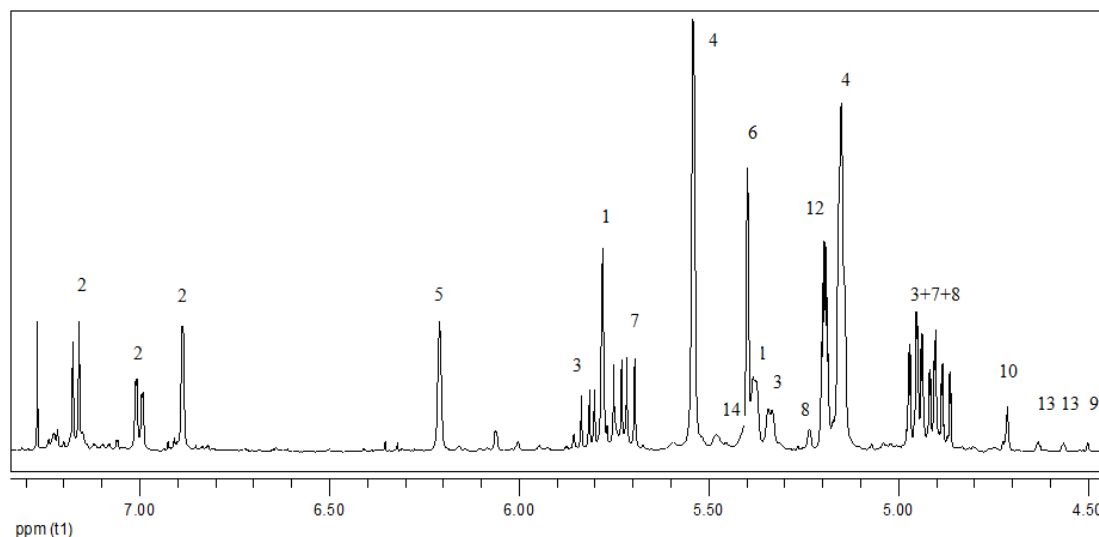


Рис. 2. Спектр ^1H ЯМР раствора живицы сосны (сентябрь) в CDCl_3 , область двойных связей и ароматики

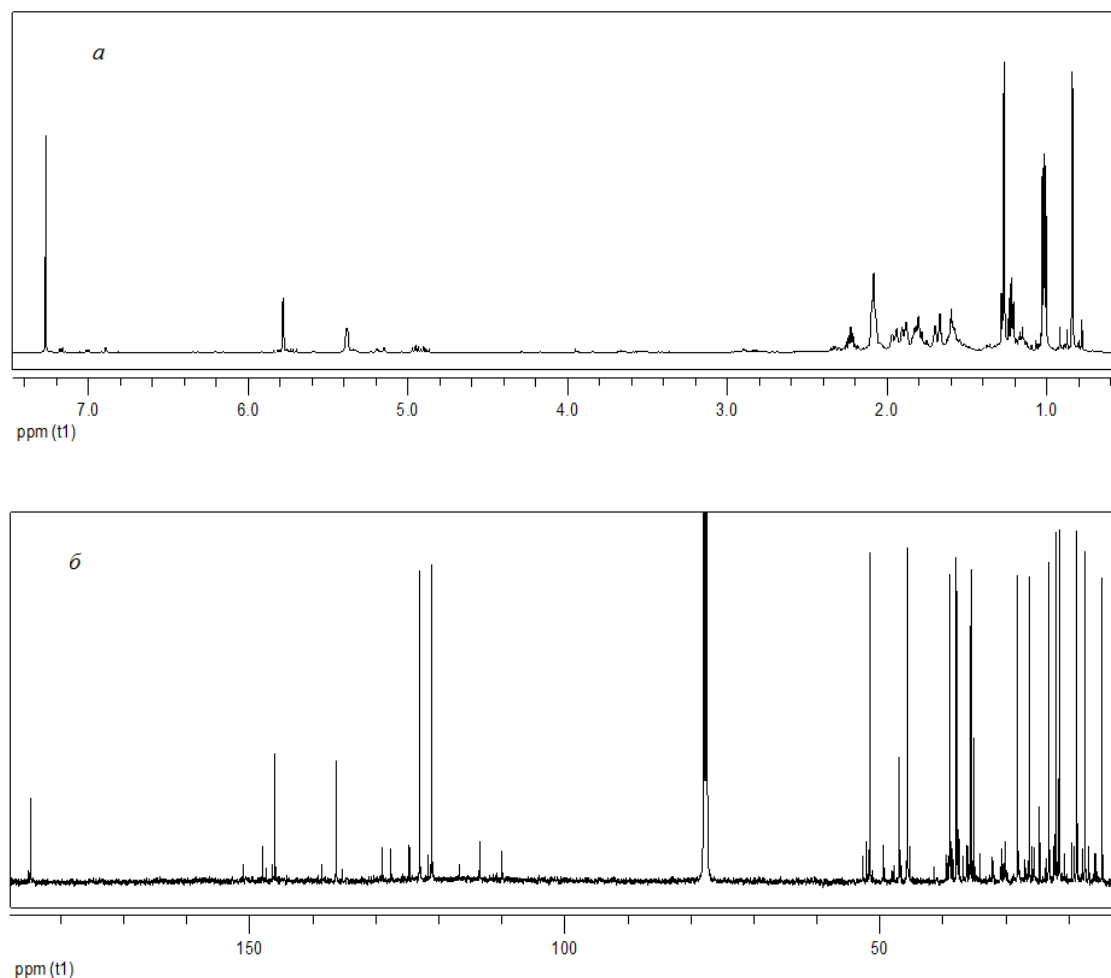


Рис. 3. Спектры ЯМР раствора живицы сосны (февраль) в CDCl_3 : *a* – ^1H , *б* – ^{13}C

Вторым по значимости в содержании МТ является лимонен, доля которого в живице достигает в летние месяцы 3.0%. Камфен, кроме интервала с января по апрель, присутствовал практически в одинаковом количестве – 0.3%. Мирцен не был обнаружен в течение семи месяцев, а среднее содержание в остальные месяцы составило 0.7%. Терпинолен из тринадцати образцов был обнаружен только в четырех случаях при среднем содержании 0.8%.

Таблица 2. Изменения состава живицы сосны обыкновенной в течение года (мол. %)

Смоляные кислоты / Монотерпены	2019					2020								
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VII*	VIII
Абиетиновая	21.0	8.1	26.6	5.0	48.2	39.7	57.8	49.7	18.2	20.2	8.7	8.9	27.4	17.8
Дегидроабиетиновая	3.1	6.6	4.2	2.8	9.5	5.8	5.9	4.8	11.6	3.4	3.2	2.4	2.9	2.7
Изопимаровая	5.0	5.5	6.5	4.6	7.7	6.8	7.5	6.9	8.2	4.1	4.8	4.9	4.4	3.9
Левопимаровая	–	24.7	–	21.9	–	–	–	–	4.8	–	20.7	14.3	–	–
Неоабиетиновая	9.7	7.6	10.5	6.6	1.0	9.0	1.7	8.6	8.1	9.2	8.4	7.1	6.6	8.2
Палюстровая	22.4	12.5	24.6	10.9	1.1	11.7	2.2	7.2	21.9	21.9	13.8	14.4	11.4	21.2
Пимаровая	7.6	10.6	9.9	7.2	10.0	10.3	10.4	9.5	13.6	6.3	7.9	6.8	6.5	5.9
Сандаракопимаровая	1.4	1.1	1.7	0.7	1.5	2.3	1.5	1.8	2.4	1.6	1.3	0.9	1.7	2.6
Камфен	0.4	0.2	0.3	0.4	1.3	–	–	–	–	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Лимонен	1.9	0.8	0.8	2.4	0.3	–	–	–	–	2.3	2.6	3.0	3.0	2.7
Мирцен	0.3	–	–	0.4	–	–	–	–	–	0.5	1.3	0.9	1.1	0.5
α -пинен	19.2	15.1	8.5	30.9	11.5	8.5	7.0	6.5	4.2	23.4	21.0	28.4	29.1	26.6
β -пинен	0.7	0.3	0.6	1.1	–	–	–	–	–	0.7	0.8	0.9	0.6	0.8
Терпинолен	1.0	0.8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.8	0.6	0.7

* Образец VII для записи спектра разбавлен в 10 раз.

Таким образом, в холодный период уменьшается не только общее количество выделяющейся живицы, но и количество МТ по отношению к составу ее компонентов. Считается, что синтез терпенов живицы развился в процессе эволюции хвойных для заживления лопин, защиты от поедания и инфекций [25]. МТ в своем большинстве в условиях эксперимента представляют собой жидкости и при температурах, близких к нулю, им легче выделиться из древесины, чем СК. Наблюдающийся эффект, по-видимому, указывает на преобладающую роль МТ по сравнению с СК в защите от древоточцев. Вероятно, в зимний период, когда насекомые впадают в анабиоз, МТ не так важны и их синтез замедляется.

Идентифицированные СК относятся к разным типам структурных скелетов: пимаровая, изопимаровая и сандаракопимаровая имеют пимарановый и изопимарановый типы скелета, а абиетиновая, левопимаровая, неоабиетиновая и палюстровая – абиетановый. Кроме того, в живице присутствует ароматическая дегидроабиетиновая СК, связанная с последним типом скелета [1].

Анализируя данные таблицы 2, можно утверждать, что содержание СК с пимарановым и изопимарановым скелетом в течение года практически не изменяется. В поведении дегидроабиетиновой кислоты не наблюдается каких-либо сезонных изменений. Неоабиетиновая кислота, имеющая абиетановый тип скелета, за время проведения исследований также практически не меняла количественное содержание (6.6–10.5%), за исключением декабря и февраля месяцев (1.0–1.7%).

Поведение абиетиновой и левопимаровой кислот носит сложный характер. Очевидно, что их количественный состав взаимосвязан. Отсутствие или малое количество левопимаровой кислоты приводит к увеличению содержания абиетиновой кислоты в живице. Так, в зимний период доля абиетиновой кислоты составляет $\sim 1/2$ в живице при полном отсутствии левопимаровой кислоты. Сезонные изменения содержания палюстровой кислоты сложно объяснить.

В июле 2020 г., когда состав компонентов живицы был наиболее полным, была проведена запись спектров ^1H и ^{13}C ЯМР концентрированного раствора и разбавленного в 10 раз (^1H). Результат эксперимента приведен в таблице 2 и на рисунке 4.

Из таблицы 2 и рисунка 4 следует, что количественный состав раствора живицы в этом случае отличается тем, что в разбавленном растворе отсутствует левопимаровая кислота, а содержание абиетиновой выросло в ~ 3 раза. Такие изменения логично объяснить тем, что при разбавлении при комнатной температуре, вероятно, происходит низкотемпературная каталитическая реакция изомеризации.

Следовательно, сезонные изменения в содержании СК абиетанового типа связаны, главным образом, не с внешними условиями, а с протеканием каталитических реакций. Поэтому для получения достоверных результатов синтеза СК сосной обыкновенной необходимо либо изменить условия записи спектров ЯМР, чтобы каталитические реакции не влияли на количественный состав компонентов живицы, либо каким-то образом их учитывать.

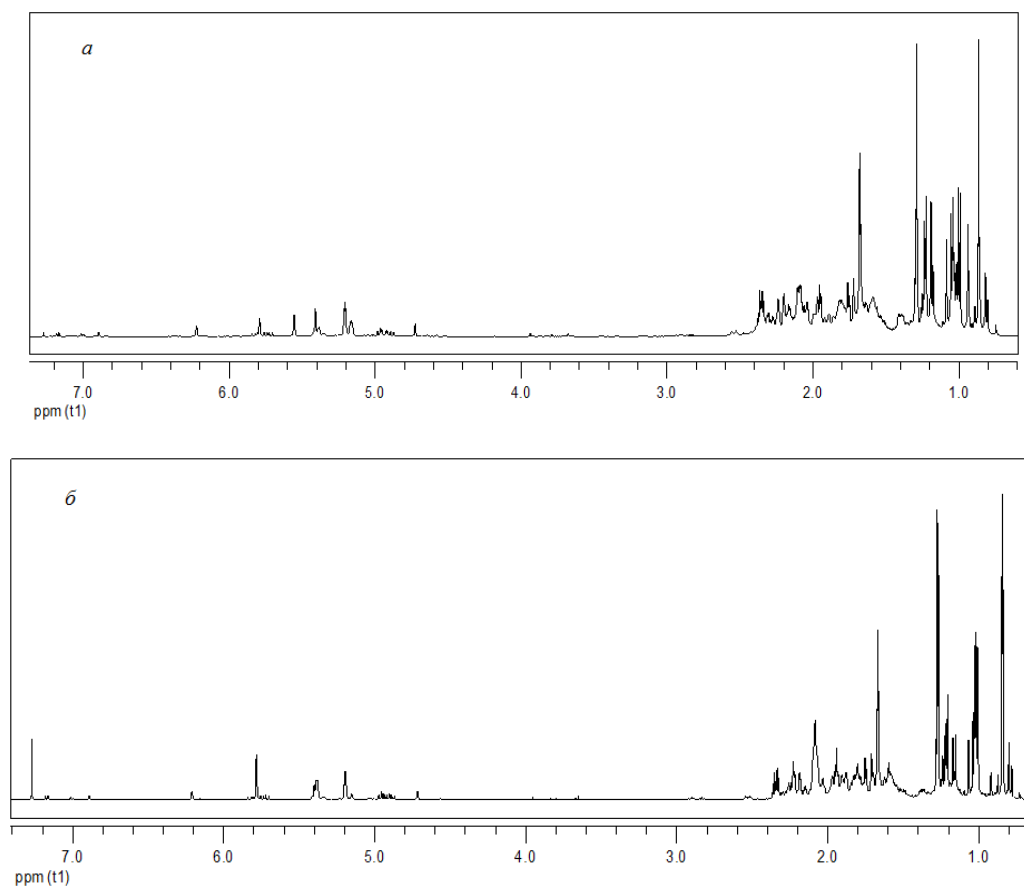


Рис. 4. Спектры ^1H ЯМР концентрированного (а) и разбавленного (б) растворов живицы сосны (июль) в CDCl_3

Выводы

Методом ЯМР ^1H , ^{13}C изучены сезонные изменения состава живицы сосны обыкновенной. Установлено, что в зимний период уменьшается количество выделившейся живицы и содержащихся в ней МТ, и увеличивается доля абиединовой кислоты. Обнаружена связь между количеством абиединовой, левопимаровой и палюстровой кислот в составе живицы. Показано, что наблюдаемая связь обусловлена быстротекающими реакциями, вероятно, каталитическими. Это указывает на то, что в результате определения количественного содержания этих кислот, даже в случае статистического анализа, можно получить завышенные значения доли абиединовой и палюстровой кислот и, соответственно, заниженное – левопимаровой.

Список литературы

1. El-Sayed Abdel-Raouf M., Abdul-Raheim M. Rosin: chemistry, derivatives and applications // BAOJ Chem. 2018. Vol. 4. N1. Pp. 1–16.
2. Semiz G., Hejjari J., Isik K., Holopainen J.K. Variation in needle terpenoids among *Pinus sylvestris* L. (Pinaceae) provenances from Turkey // Biochem. Syst. Ecol. 2007. Vol. 35. N10. Pp. 652–661. DOI: 10.1016/j.bse.2007.05.013.
3. Kilic A., Hafizoglu H., Dönmez I. E., Tümen I., Sivrikaya H., Reunanen M., Hemming J. Extractives in the cones of *Pinus* species // Eur. J. Wood. Prod. 2011. Vol. 69. Pp. 37–40. DOI: 10.1007/s00107-010-0421-2.
4. Khokhrina E.A., Shpatov A.V., Popov S.A., Sal'nikova O.I., Shmidt E.N., Um B.H. Non-volatile compounds of needles, trimmed saplings and other bark of *Pinus densiflora* // Chemistry of Natural Compounds. 2013. Vol. 49. N3. Pp. 561–565. DOI: 10.1007/s10600-013-0673-2.
5. Shpatov A.V., Popov S.A., Salnikova O.I., Khokhrina E.A., Shmidt E.N., Um B.H. Low-volatile lipophilic compounds in needles, defoliated twigs and outer bark of *Pinus thunbergii* // Natural product communications. 2013. Vol. 8. N12. Pp. 1759–1762. DOI: 10.1177/1934578X1300801227.
6. Lewinsohn E., Savage T.J., Gijzen M., Croteau R. Simultaneous analysis of monoterpenes and diterpenoids of conifer oleoresin // Phytochemical Analysis. 1993. Vol. 4. Pp. 220–225. DOI: 10.1002/pca.2800040506.

7. Rezzi S., Bighelli A., Castova V., Casanova J. Direct identification and quantitative determination of acidic and neutral terpenes using ^{13}C -NMR spectroscopy. Application to the analysis of oleoresin of *Pinus nigra* // *Appl. Spectrosc.* 2002. Vol. 56. N3. Pp. 312–317.
8. Rezzi S., Bighelli A., Castova V., Casanova J. Composition and chemical variability of the oleoresin of *Pinus nigra* ssp. *laricio* from Corsica // *Ind. Crops Prod.* 2005. Vol. 21. Pp. 772–778. DOI: 10.1016/j.indcrop.2003.12.008.
9. Koutsaviti A., Ioannou E., Couladis M., Tzakou O., Roussis V. ^1H and ^{13}C NMR spectral assignments of abietane terpenes from *Pinus heldreichii* and *Pinus nigra* subsp. *nigra* // *Magn. Reson. Chem.* 2017. Vol. 55. Pp. 772–778. DOI: 10.1002/mrc.4585.
10. Ottavioli J., Paoli M., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. Identification and quantitative determination of resin acids from Corsican *Pinus pinaster aiton* oleoresin using ^{13}C NMR spectroscopy // *Chem. Biodiversity.* 2019. Vol. 16. e1800482. DOI: 10.1002/cbdv.201800482.
11. Lee H.-J., Ravn M.M., Coates R.M. Synthesis and characterization of abietadiene, levipimaradiene, palustradiene and neoabietadiene: hydrocarbon precursors of the abietane diterpene resin acids // *Tetrahedron.* 2001. Vol. 57. N29. Pp. 6155–6167. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)00605-6.
12. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Гайдукевич О.А., Козлов Н.Г., Клюев А.Ю., Ламоткин С.А., Шпак С.И., Рыков С.В. Определение методом ЯМР состава бальзамов живицы сосны обыкновенной // *Журнал прикладной спектроскопии.* 2008. Т. 75. №3. С. 411–415.
13. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Гайдукевич О.А., Клюев А.Ю., Ламоткин С.А., Шпак С.И., Рыков С.В. Анализ состава живицы сосны обыкновенной методом ЯМР // *Сборник статей XV Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем».* Яльчик, 2008. Т. 3. С. 172–175.
14. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Клюев А.Ю., Латышевич И.А., Гапанькова Е.И., Козлов Н.Г. Исследование состава природной смолы методом ЯМР-спектроскопии // *Полимерные материалы и технологии.* 2018. Т. 4, №3. С. 84–88.
15. Шпак С.И., Ламоткин С.А., Ламоткин А.И., Скаковский Е.Д. Влияние промышленных загрязнений на химический состав живицы сосны // *Сборник статей XIII Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем».* Яльчик, 2006. Т. 2. С. 445–458.
16. Шпак С.И., Ламоткин С.А., Ламоткин А.И., Скаковский Е.Д. Влияние радиоактивных и токсичных элементов на химический состав живицы сосны // *Труды БГТУ. Серия IV. Химия и технология органических веществ.* 2006. Вып. XIV. С. 165–169.
17. Rodrigues-Corrêa K.C.S., Fett-Neto A.G. Seasonality and chemical elicitation of defense oleoresin production in field-grown slash pine under subtropical climate // *Theoretical and Experimental Plant Physiology.* 2013. Vol. 25. N1. Pp. 56–61. DOI: 10.1590/S2197-00252013000100007.
18. Азаров В.И., Буров А.В., Оболенская А.В. Химия древесины и синтетических полимеров: уч. для вузов. СПб., 1999. 628 с.
19. Ламоткин С.А., Скаковский Е.Д., Механикова Е.Г., Гиль Е.В., Романюк Л.И. Сезонная динамика терпеновых углеводов эфирного масла сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // *Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология.* 2019. №1 (217). С. 17–24.
20. Nerg A., Kainulainen P., Vuorinen M., Hanso M., Holopainen J.K., Kurkela T. Seasonal and geographical variation of terpenes, resin acids and total phenolics in nursery grown seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // *New Phytologist.* 1994. Vol. 128. N4. Pp. 703–713. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb04034.x.
21. Sadłowska J. Skład i właściwości fizykochemiczne polskie żywicy sosnowe oraz produktów jejdesty lacji // *Pr. Inst. Badlesn.* 1987. Vol. 662–665. Pp. 53–71.
22. Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Гайдукевич О.А., Клюев А.Ю., Козлов Н.Г., Барановский А.В., Рыков С.В. Термическая изомеризация левопимаровой кислоты, изученная методом ЯМР // *Сборник статей XIV Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем».* Яльчик, 2007. Т. 1. С. 545–548.
23. Muto N., Tomokuni T., Haramoto M., Tatemoto H., Nakanishi T., Inatomi Y., Murata H., Inada A. Isolation of apoptosis and differentiation-inducing substances toward human promyelocytic leukemia HL-60 cells from leaves of *Juniperus taxifolia* // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2008. Vol. 72. N2. Pp. 477–484. DOI: 10.1271/bbb.70570.
24. Скаковский Е.Д., Ламоткин С.А., Тычинская Л.Ю., Молчанова О.А., Матвейчук С.В., Сорокина Ю.М. ЯМР анализ состава эфирного масла ели в процессе его испарения // *Труды БГТУ. Химия, технология органических веществ и биотехнология.* 2014. №4. С. 211–215.
25. Celedon J.M., Bohlmann J. Oleoresin defenses in conifers: chemical diversity, terpene synthases and limitations of oleoresin defense under climate change // *New Phytologist.* 2019. Vol. 224. N4. Pp. 1444–1463. DOI: 10.1111/nph.15984.

Поступила в редакцию 1 июня 2021 г.

После переработки 30 сентября 2021 г.

Принята к публикации 9 декабря 2021 г.

Для цитирования: Скаковский Е.Д., Тычинская Л.Ю., Гапанькова Е.И., Латышевич И.А., Попов Е.Г., Ламоткин С.А. Сезонные изменения состава живицы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), измеренные методом ЯМР // *Химия растительного сырья.* 2022. №1. С. 193–202. DOI: 10.14258/jcprm.2022019680.

Skakovskii E.D.^{1*}, Tychinskaya L.Yu.¹, Hapankova A.I.¹, Latyshevich I.A.¹, Popov E.G.², Lamotkin S.A.³ SEASONAL CHANGES IN THE COMPOSITION OF SCOTS PINE (PINUS SYVESTRIS L.) OLEORESIN MEASURED BY THE NMR METHOD

¹ Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, ul. Surganova, 13, Minsk, 220072 (Republic of Belarus), e-mail: sed@ifoch.bas-net.by

² Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, ul. Surganova, 2v, Minsk, 220072 (Republic of Belarus)

³ Belarusian State Technological University, ul. Sverdlova, 13a, Minsk, 220006 (Republic of Belarus)

Analysis of seasonal changes in the composition of Scots pine oleoresin by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy was carried out. Due to favorable weather conditions (positive temperatures on the days of sampling throughout the year) samples for each of the 12 months were obtained and studied. Chloroform (CDCl₃) solutions of oleoresin were studied. Eight resin acids were identified and quantified: abietic, dehydroabietic, isopimaric, levopimaric, neoabietic, palustric, pimaric and sandaracopymaric, and also 6 monoterpenes: camphene, limonene, myrcene, α-pinene, β-pinene and terpinolene. It was found that the amount of oleoresin and α-pinene contained in it decreased at low temperatures. At the same time other monoterpenes were not detected within the measurement error. It was supposed that monoterpenes formed in smaller amounts during the period of pests' anabiosis, play the main role in the control of coniferous insect pests. It was found that the content of dehydroabietic, isopimaric, neoabietic, pimaric, and sandaracopymaric acids varied insignificantly during the year. The relationship between the amounts of abietic, levopimaric and palustric acids in the composition of oleoresin was found. It was supposed that the observed relationship was caused by low-temperature catalytic reactions of levopimaric acid isomerization with formation of abietic acid mainly. It was suggested that these processes should be taken into account to exclude errors in determining the content of the above acids in oleoresin even in case of statistical analysis.

Keywords: Pinus sylvestris L., oleoresin, monoterpenes, resinous acids, NMR, spectrum.

References

1. El-Sayed Abdel-Raouf M., Abdul-Raheim M. *BAOJ Chem.*, 2018, vol. 4, no. 1, pp. 1–16.
2. Semiz G., Heijari J., Isik K., Holopainen J.K. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2007, vol. 35, no. 10, pp. 652–661. DOI: 10.1016/j.bse.2007.05.013.
3. Kilic A., Hafizoglu H., Dönmez I. E., Tümen I., Sivrikaya H., Reunanen M., Hemming J. *Eur. J. Wood. Prod.*, 2011, vol. 69, pp. 37–40. DOI: 10.1007/s00107-010-0421-2.
4. Khokhrina E.A., Shpatov A.V., Popov S.A., Sal'nikova O.I., Shmidt E.N., Um B.H. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, vol. 49, no. 3, pp. 561–565. DOI: 10.1007/s10600-013-0673-2.
5. Shpatov A.V., Popov S.A., Salnikova O.I., Khokhrina E.A., Shmidt E.N., Um B.H. *Natural product communications*, 2013, vol. 8, no. 12, pp. 1759–1762. DOI: 10.1177/1934578X1300801227.
6. Lewinsohn E., Savage T.J., Gijzen M., Croteau R. *Phytochemical Analysis*, 1993, vol. 4, pp. 220–225. DOI: 10.1002/pca.2800040506.
7. Rezzi S., Bighelli A., Castova V., Casanova J. *Appl. Spectrosc.*, 2002, vol. 56, no. 3, pp. 312–317.
8. Rezzi S., Bighelli A., Castova V., Casanova J. *Ind. Crops Prod.*, 2005, vol. 21, pp. 772–778. DOI: 10.1016/j.indcrop.2003.12.008.
9. Koutsaviti A., Ioannou E., Couladis M., Tzakou O., Roussis V. *Magn. Reson. Chem.*, 2017, vol. 55, pp. 772–778. DOI: 10.1002/mrc.4585.
10. Ottavioli J., Paoli M., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. *Chem. Biodiversity.*, 2019, vol. 16, e1800482. DOI: 10.1002/cbdv.201800482.
11. Lee H.-J., Ravn M.M., Coates R.M. *Tetrahedron*, 2001, vol. 57, no. 29, pp. 6155–6167. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)00605-6.
12. Skakovskiy Ye.D., Tychinskaya L.Yu., Gaydukevich O.A., Kozlov N.G., Klyuyev A.Yu., Lamotkin S.A., Shpak S.I., Rykov S.V. *Zhurnal prikladnoy spektroskopii*, 2008, vol. 75, no. 3, pp. 411–415. (in Russ.).
13. Skakovskiy Ye.D., Tychinskaya L.Yu., Gaydukevich O.A., Klyuyev A.Yu., Lamotkin S.A., Shpak S.I., Rykov S.V. *Sbornik statey XV Vserossiyskoy konferen-tsii «Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem»*. [Collection of articles of the XV All-Russian conference "Structure and dynamics of molecular systems"]. Yal'chik, 2008, vol. 3, pp. 172–175. (in Russ.).
14. Skakovskiy Ye.D., Tychinskaya L.Yu., Klyuyev A.Yu., Latyshevich I.A., Gapan'kova Ye.I., Kozlov N.G. *Polimernyye materialy i tekhnologii*, 2018, vol. 4, no. 3, pp. 84–88. (in Russ.).
15. Shpak S.I., Lamotkin S.A., Lamotkin A.I., Skakovskiy Ye.D. *Sbornik statey XIII Vserossiyskoy konferentsii «Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem»*. [Collection of articles of the XIII All-Russian Conference "Structure and Dynamics of Molecular Systems"]. Yal'chik, 2006, vol. 2, pp. 445–458. (in Russ.).
16. Shpak S.I., Lamotkin S.A., Lamotkin A.I., Skakovskiy Ye.D. *Trudy BGTU. Seriya IV. Khimiya i tekhnologiya organicheskikh veshchestv*, 2006, vol. XIV, pp. 165–169. (in Russ.).
17. Rodrigues-Corrêa K.C.S., Fett-Neto A.G. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 2013, vol. 25, no. 1, pp. 56–61. DOI: 10.1590/S2197-00252013000100007.
18. Azarov V.I., Burov A.V., Obolenskaya A.V. *Khimiya drevesiny i sinteticheskikh polimerov: uch. dlya VUZov*. [Chemistry of wood and synthetic polymers: textbook. for universities]. St.-Petersburg, 1999, 628 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

19. Lamotkin S.A., Skakovskiy Ye.D., Mekhanikova Ye.G., Gil' Ye.V., Romanyuk L.I. *Trudy BGTU. Seriya 2: Khimiche-skiye tekhnologii, biotekhnologiya, geokologiya*, 2019, no. 1 (217), pp. 17–24. (in Russ.).
20. Nerg A., Kainulainen P., Vuorinen M., Hanso M., Holopainen J.K., Kurkela T. *New Phytologist*, 1994, vol. 128, no. 4, pp. 703–713. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb04034.x.
21. Sadlovcka J. *Pr. Inst. Badlesn.*, 1987, vol. 662–665, pp. 53–71.
22. Skakovskiy Ye.D., Tychinskaya L.Yu., Gaydukevich O.A., Klyuyev A.Yu., Kozlov N.G., Baranovskiy A.V., Rykov S.V. *Sbornik statey XIV Vserossiyskoy konferentsii «Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem»*. [Collection of articles of the XIV All-Russian Conference "Structure and Dynamics of Molecular Systems"]. Yal'chik, 2007, vol. 1, pp. 545–548. (in Russ.).
23. Muto N., Tomokuni T., Haramoto M., Tatemoto H., Nakanishi T., Inatomi Y., Murata H., Inada A. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2008, vol. 72, no. 2, pp. 477–484. DOI: 10.1271/bbb.70570.
24. Skakovskiy Ye.D., Lamotkin S.A., Tychinskaya L.Yu., Molchanova O.A., Matveychuk S.V., Sorokina Yu.M. *Trudy BGTU. Khimiya, tekhnologiya organicheskikh veshchestv i biotekhnologiya*, 2014, no. 4, pp. 211–215. (in Russ.).
25. Celedon J.M., Bohlmann J. *New Phytologist*, 2019, vol. 224, no. 4, pp. 1444–1463. DOI: 10.1111/nph.15984.

Received June 1, 2021

Revised September 30, 2021

Accepted December 9, 2021

For citing: Skakovskii E.D., Tychinskaya L.Yu., Hapankova A.I., Latyshevich I.A., Popov E.G., Lamotkin S.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 193–202. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022019680.