

УДК 582.477:577.19

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА КИПАРИСА ГИМАЛАЙСКОГО**Надежда Юрьевна Марчук, Анфиса Евгеньевна Палий**

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр
298648, Республика Крым, г.Ялта, пгт Никита
marchuk_n@i.ua

Приведены результаты изучения биологически активных веществ в хвое и шишках *Cupressus torulosa* D. Don в условиях Южного берега Крыма. В эфирном масле из хвои преобладал сабинен (23%), терпинен-4-ол (15%), α -пинен (8%). В составе эфирного масла, экстрагированного из шишек, основная доля приходится на терпинен-4-ол (42%), сабинен (11%) и γ -терпинен (8%).

Ключевые слова: кипарис гималайский; эфирное масло; терпинен-4-ол; сабинен

Введение

Эфирные масла представляют собой сложную смесь терпеноидов и других компонентов, выделенных из различных частей растений, и широко используются в пищевой, ароматической и фармацевтической промышленности. В связи с повышением осознания опасности для здоровья синтетических химических веществ, постепенно увеличивается использование природных эфирных масел, что приводит к дальнейшему исследованию растительного мира [10].

Кипарис гималайский (*Cupressus torulosa* D. Don, sin. *Cupressus tonkinensis* Silba, Himalayan Cypress) – вечнозеленое дерево до 40 м высотой [8]. Предпочитает известняковые почвы. Не страдает от морозов. В Крыму кипарис гималайский интродуцирован Никитским ботаническим садом (НБС) семенами из Гамбурга в 1842 г. Отсюда в конце XX века завезен на Черноморское побережье Кавказа. Как парковое дерево распространен в районах, обеспеченных достаточным количеством осадков – на юге Франции, в Португалии, Испании, на севере Италии [3].

Целью наших исследований явилось изучение биологически активных веществ кипариса гималайского для возможного последующего медицинского использования. Для этого изучена динамика содержания суммы эфирных масел, фенольных соединений и аскорбиновой кислоты в хвое и шишках в процессе годичного цикла вегетации, а также компонентный состав эфирного масла при максимальном содержании.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в лаборатории биохимии, биотехнологии и вирусологии растений НБС – ННЦ в 2013 г. Материалом для анализов служила хвоя и шишки кипариса гималайского, собранные на территории арборетума НБС – ННЦ.

Определение массовой доли эфирного масла проводили путем его перегонки с водяным паром из растительного сырья с последующим измерением объема. Содержание масла выражали в объемно-весовых процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье [2]. Состав эфирного масла определяли с помощью хроматографа Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973. Колонка НР-1 длиной – 30 м; внутренний диаметр – 0,25 мм. Температура термостата программировалась от 50°C до 250°C со скоростью 4°C/мин. Температура инжектора – 250°C. Газ-носитель – гелий, скорость

потока 1 см³/мин. Перенос от газового хроматографа к масс-спектрометрическому детектору прогревался до 230°C. Температура источника поддерживалась на уровне 200°C. Электронная ионизация проводилась при 70 eV в ранжировке масс m/z от 29 до 450. Идентификация выполнялась на основе сравнения полученных масс-спектров с данными библиотеки NIST05-WILEY (около 500000 масс-спектров).

Содержание аскорбиновой кислоты определяли йодометрическим титрованием [2].

Сумму фенольных соединений определяли колориметрическим методом с использованием реактива Фолина – Чокальтеу (толщина кюветы 10 мм, красный светофильтр (560 нм)). Концентрацию рассчитывали по графику, построенному по рутину [4].

Результаты и обсуждение

Установлено, что минимальное количество эфирного масла в хвое кипариса приходится на весенние месяцы: в июне массовая доля эфирного масла достигает 0,37% (к сухой массе) со следующим понижением в июле (0,22%). Второй максимум содержания эфирного масла наблюдается в осенний период: ноябрь (0,4%). Для шишек в течение вегетации наблюдается только один максимум – в январе (0,1%), тогда как минимум характерен в летние периоды (0,02%) (рис. 1).

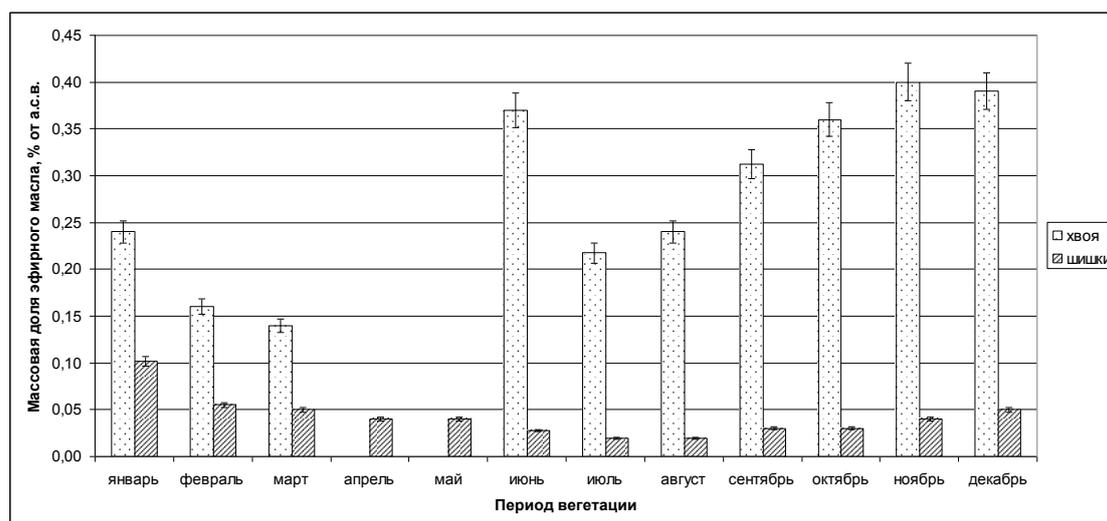


Рис. 1 Массовая доля эфирного масла в хвое и шишках кипариса гималайского

Максимальная массовая доля эфирного масла из хвои была получена в Индии – 1,3% [9]. Во Вьетнаме выход эфирного масла из воздушно-сухих листьев составил 0,13% [14].

Изучен состав индивидуальных компонентов эфирного масла хвои и шишек кипариса гималайского (рис. 2 и 3, табл. 1). Основными компонентами эфирного масла из хвои являлись сабинен (23,39%), терпинен-4-ол (14,96%), α -пинен (7,99%), γ -терпинен (5,90%).

Основными компонентами эфирного масла из хвои кипариса гималайского в Индии были α -пинен (30,30-34,25%), Δ^3 карен (6,52-18,67%), лимонен (8,54-23,79%) и сабинен (4,60-19,23%) [9], во Вьетнаме – сабинен (29,34%), α -пинен (25,4%), 4-терпинеол (13,91%) и γ -терпинен (5,5%) [14]. Наиболее близкое по количественному и качественному составу эфирное масло, полученное в Аргентине – α -пинен (25,8%), сабинен (22,3%), терпинен-4-ол (9,3%) [11]. Таким образом, наши данные совпадают с другими исследованиями, проведенными в разных странах, а имеющееся различие

связано с географической, популяционной и сезонной изменчивостью.

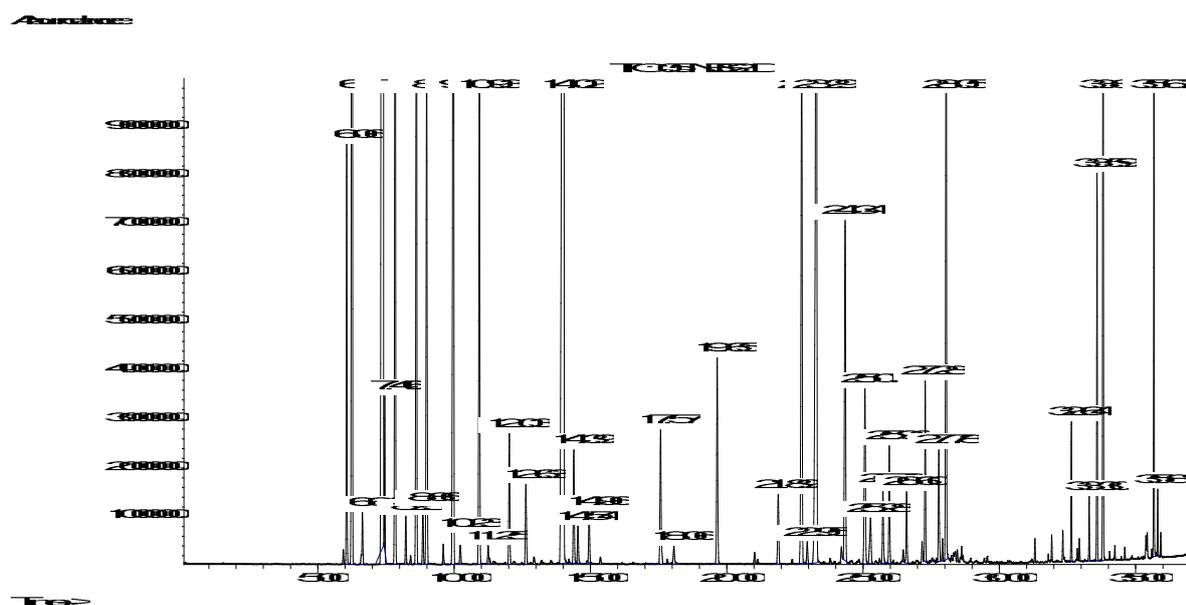


Рис. 2 Хроматограмма эфирного масла хвои кипариса гималайского

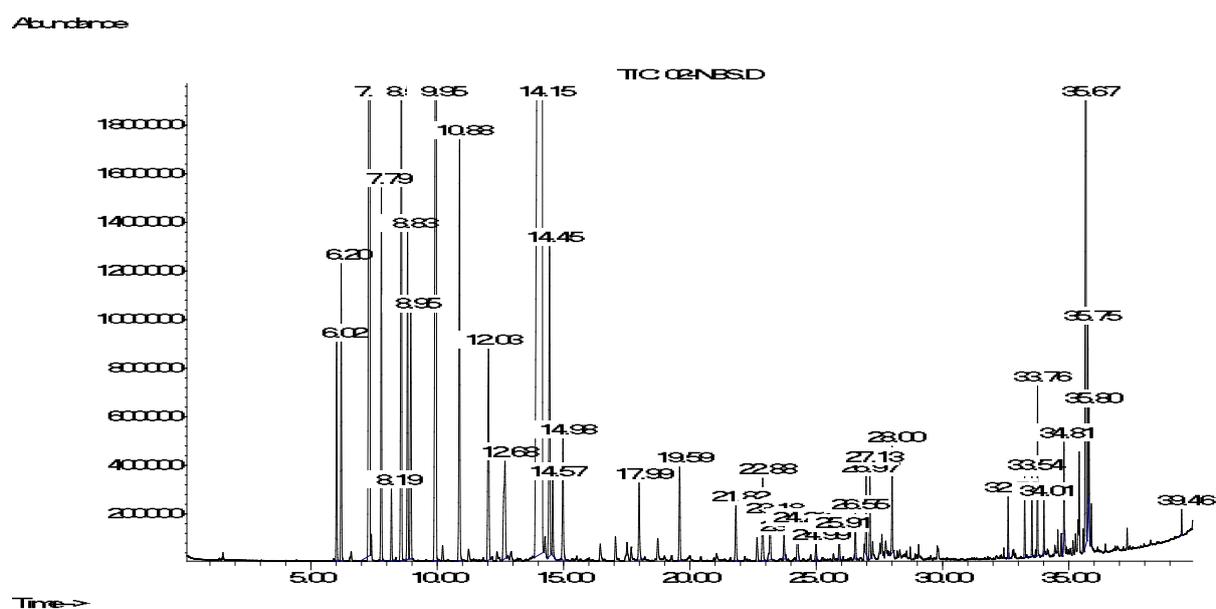


Рис. 3 Хроматограмма эфирного масла шишек кипариса гималайского

В составе эфирного масла, экстрагированного из шишек, основная доля приходится на терпинен-4-ол (41,95%), сабинен (11,08%) и γ -терпинен (8,12%). Несмотря на низкую массовую долю эфирное масло шишек интересно высоким содержанием терпинен-4-ола. Считается, что именно этот компонент обеспечивает антисептическое действие эфирного масла чайного дерева [6]. Терпинен-4-ол обладает противовирусной, антибактериальной, противогрибковой и инсектицидной активностью, а также антиоксидантным, противоопухолевым и противовоспалительным воздействием [7]. Поэтому при минимальном нанесении вреда дереву эфирное масло шишек кипариса гималайского является перспективным для создания медицинских препаратов.

Наши данные подтверждаются данными из Индии [12, 13], где основным компонентом эфирного масла из шишек также был терпинен-4-ол (до 26%). В

индийских испытаниях против грамположительных микроорганизмов (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*), грамотрицательных микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*), противогрибковых исследований (*Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma lignorum*, *Cryptococcus neoformans*) отмечена высокая активность против грибов, чем против бактерии. В связи с этим предлагалось использовать крем с добавлением эфирного масла из шишек кипариса гималайского в качестве противомикробного средства для лечения кожных заболеваний [13].

Таблица 1

Компонентный состав эфирного масла кипариса гималайского

№	Время удержания	Компонент	Массовая доля в эфирном масле хвои, %	Массовая доля в эфирном масле шишек, %
1	2	3	4	5
1	6.06	α -туйен	1,71	1,29
2	6.26	α -пинен	7,99	1,75
3	6.64	камфен	0,25	
4	7.39	сабинен	23,39	11,08
5	7.45	β -пинен	0,48	
6	7.84	мирцен	3,90	2,25
7	8.22	α -фелландрен	0,21	0,45
8	8.62	α -терпинен	3,58	4,50
9	8.85	<i>n</i> -цимен	0,27	2,14
10	8.99	лимонен	2,69	1,79
11	9.97	γ -терпинен	5,90	8,12
12	10.22	<i>транс</i> -сабиненгидрат	0,15	
13	10.92	терпинолен	2,76	3,03
14	11.24	<i>цис</i> -сабиненгидрат	0,09	
15	12.02	<i>транс</i> - <i>n</i> -мент-2-ен-1-ол	0,68	1,88
16	12.63	<i>цис</i> - <i>n</i> -мент-2-ен-1-ол	0,44	1,34
17	14.01	терпинен-4-ол	14,96	41,95
18	14.39	α -терпинеол	0,60	2,48
19	14.54	<i>цис</i> -пиперитол	0,21	0,50
20	14.95	<i>транс</i> -пиперитол	0,27	0,97
21	17.57	борнилацетат	0,82	
22	18.06	терпинен-4-ол ацетат	0,13	0,61
23	19.65	α -терпинилацетат	1,14	0,69
24	21.88	кариофиллен	0,41	0,43
25	22.95	гумулен	0,13	0,64
26	23.29	эпи-бициклосесквивелландрен	6,76	0,38
27	23.72	гермакрен D		0,18
28	24.25	изоледен		0,29
29	24.34	эпизонарен	1,99	
30	24.99	δ -кадинен		0,13
31	25.06	<i>цис</i> -каламенен	1,11	
32	26.59	кариофилленоксид	0,35	0,29
33	26.97	α -кедрол		0,46
34	27.12	гумуленоксид		0,56
35	27.28	эпи-кубенол	0,79	
36	27.77	γ -кадинол	0,58	
37	28.05	α -кадинол	3,16	0,59
38	32.59	маноилоксид		0,29
39	32.64	эпи-маноилоксид	0,48	
40	33.25	абиета-8(14),9(11),12-триен		0,37

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
41	33.29	абиетан	0,23	
42	33.58	филлокладен	1,27	
43	33.81	13(16),14-лабдиен-8-ол	3,45	0,75
44	34.01	8-β-окси-сандаракопимарен (незукол)		0,24
45	35.67	тотарол	1,80	0,39
46	35.67	тотарол ацетат		5,44
47	35.81	ферругенол	0,22	0,36
Сумма индетифицированных компонентов			95,31	98,58

Содержание аскорбиновой кислоты в хвое кипариса гималайского составляло 66-95 мг/ 100 г, в шишках – 40-48 мг/100 г. Наиболее высокое содержание витамина С в хвое наблюдалось зимой (январь), далее снижалось к лету (июль), а осенью вновь повышалось. Получение продуктов с аскорбиновой кислотой из хвои и шишек кипариса гималайского неэффективно, т.к. в хвое сосны обыкновенной витамина С содержится значительно больше (374-506 мг%) [1].

Содержание фенольных веществ в хвое кипариса гималайского варьировало в пределах 3000-3600 мг/100 г сухого вещества, немного ниже содержание в шишках – 2800-3400 мг/100 г. Для кипариса гималайского максимум содержания фенольных веществ отмечен зимой (январь) и летом (июль), минимум – весной (май).

По сравнению с другими хвойными растениями (сосна обыкновенная – 1800 мг/100 г сухого вещества, кедр сибирский – 2000 мг/100 г [5]) содержание фенольных веществ в хвое кипариса гималайского превышает 1,5-2 раза. Поэтому хвоя кипариса гималайского может являться перспективным источником фенольных соединений, но в связи с отсутствием данных об их качественном составе требуется дополнительные исследования в этом направлении.

Выводы

Изучен состав эфирного масла из хвои и шишек кипариса гималайского. Основными компонентами эфирного масла из хвои были: сабинен (23%), терпинен-4-ол (15%), α-пинен (8%). В составе эфирного масла, экстрагированного из шишек, основная доля приходится на терпинен-4-ол (42%), сабинен (11%) и γ-терпинен (8%). Несмотря на низкую массовую долю (максимально 0,1%) эфирное масло шишек является перспективным для создания медицинских препаратов.

Экстракты из хвои и шишек кипариса гималайского являются перспективными источниками фенольных соединений, однако требуется более детальное изучение их качественного состава.

Список литературы

1. Войцекковская С.А., Юмагулова Э.Р., Сурнина Е.Н., Астафурова Т.П. Исследование физиолого-биохимических показателей хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) болотных и лесных популяций // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2013. – Т. 23, № 3. – С. 111 – 119.
2. Государственная фармакопея СССР. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 334 с.
3. Захаренко Г.С. Биологические основы интродукции и культуры видов рода кипарис (*Cupressus* L.). – К.: Аграрна наука, 2006. – 256 с.
4. Методы теххимического контроля в виноделии / Под ред. В.Г. Гержиковой. – Симферополь: Таврида, 2002. – 259 с.
5. Плаксина И.В., Судацкова Н.Е., Романова Л.И., Милютин И.Л. Сезонная динамика фенольных соединений в лубе и хвое сосны обыкновенной и кедра

сибирского в посадках различной густоты // Химия растительного сырья. – 2009. – Т. 13, № 1. – С. 103 – 108.

6. Carson C.F., Hammer K.A., Riley T.V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties // Clinical microbiology reviews. – 2006. – Vol. 19, № 1. – P. 50 – 62.

7. Chieh-Shan Wu, Yun-Ju Chen, Jeremy J. W. Chen, Jeng-Jer Shieh, Chia-Hsin Huang, Pei-Shan Lin, Gee-Chen Chang, JingHua-Tsai Chang, Chi-Chen Lin. Terpinen-4-ol Induces Apoptosis in Human Non-small Cell Lung Cancer In Vitro and In Vivo // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2012. – Vol. 2012. – <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/818261/> – Received 18 February 2011; April 2011.

8. Farjon A.A. Handbook of the World's Conifers. Vol.2. – Leiden: BRILL, 2010. – 1111 p.

9. Lohani H., Gwari G., Andola H.Ch., Bhandari U., Chauhan N. α -Pinene Rich Volatile Constituents of *Cupressus torulosa* D. Don from Uttarakhand Himalaya // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 74, № 3. – P. 278 – 280.

10. Lohani H., Nirpendra Kumar C., Andola H.Ch. Is a *Cupressus torulosa* is a Good Substitute of Two Selected *Juniperus* Species for Aroma Potentials? // Medicinal & Aromatic Plants. – 2013. – Vol. 2, № 2. – P. 122.

11. Malizia R.A., Cardell D.A., Molli J.S., González S., Guerra P.E., Grau R.J. Volatile constituents of leaf oils from the Cupressaceae family: part I. *Cupressus macrocarpa* Hartw., *C. arizonica* Greene and *C. torulosa* Don species growing in Argentina // Journal of Essential Oil Research. – 2000. – Vol. 12, № 1. – P. 59 – 63.

12. Padalia R.C., Verma R.S., Chauhan A., Chanotiya Ch.S. Essential oil compositions of branchlets and cones of *Cupressus torulosa* D. Don // Journal of Essential Oil Research. – 2013. – Vol. 25, № 4. – P. 251 – 256.

13. Sellappan M., Palanisamy Dh., Joghee N., Bhojraj S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile Oil of the Cones of *Cupressus torulosa* D. Don from Nilgiris, India // Asian Journal of Traditional Medicines. – 2007. – Vol. 2, № 6. – P. 206 – 211.

14. Tran Huy Thai, Nguyen Thi Hien, Do Thi Minh, Pham Van The. Chemical composition of leaf oil of *Cupressus tonkinensis* Silba in Huu Lien, Lang Son province // Journal of Biology. – 2009. – Vol. 31, № 1. – P. 74 – 76. (Vietnamese)

Статья поступила в редакцию 13.11.2014 г.

Marchuk N.Yu., Paliy A.E. The biologically active substances of *Cupressus torulosa* D. Don // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. – 2015. – № 114. – P. 25-31.

The article presents study results of biologically active substances in needles and cones of *Cupressus torulosa* D. Don growing under conditions of South Coast of the Crimea. Prevailed substances in an essential oil of needles were sabinene (33%), terpinene-4-ol (15%), α -pinene (8%). Essential oil composition of cones for the most part contained terpinene-4-ol (42%), sabinene (11%) and γ -terpinene (8%).

Key words: *Cupressus torulosa* D. Don; essential oil; terpinene-4-ol; sabinene.