

УДК 54.05:547.972

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ КОРЫ КЕДРА *PÍNUS SIBÍRICA*

© *В.А. Левданский¹, А.В. Левданский¹, Б.Н. Кузнецов^{1,2*}*

¹ *Институт химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН,
ул. Академгородок, 50/24, Красноярск, 660036 (Россия), e-mail: bnk@icct.ru*

² *Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, Красноярск,
660041 (Россия)*

Сопоставлены выходы проантоцианидинов, выделенных из исходной и обессмоленной (проэкстрагированной гексаном) коры кедрового (*Pinus sibirica*) водой, 15% водно-этанольным раствором и этилацетатом в аппарате Сокслета. Показано, что предварительное удаление смолистых веществ из коры кедрового не влияет на выход проантоцианидинов при ее экстракции водой и 15% водно-этанольным раствором (составляет для исходной коры 0.44% (вес.) и 0.57% (вес.) и обессмоленной коры 0.43% (вес.) и 0.57% (вес.) соответственно). Установлено, что экстракция обессмоленной коры этилацетатом позволяет увеличить выход проантоцианидинов примерно в 2 раза до 1.04% (вес.). Методами УФ-, ИК- и ¹³C ЯМР-спектроскопии охарактеризован состав выделенных из коры кедрового проантоцианидинов. Путем превращения проантоцианидинов в антоцианидины в их составе идентифицированы флавоноиды цианидин и дельфинидин. Проантоцианидины коры кедрового, в основном состоят из процианидина и продельфинидина, вне зависимости от способа их выделения – экстракцией водой, 15% водно-этанольным раствором или этилацетатом. Установлено, что проантоцианидины из коры кедрового, в отличие от выделенных из коры сосны (*Pinus maritima*) и (*Pinus radiata*), содержат остатки галловой кислоты.

Ключевые слова: кора кедрового, экстракция, этилацетат, проантоцианидины, процианидин, продельфинидин, галловая кислота, цианидин, дельфинидин.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИХХТ СО РАН проект 0287-2021-0017 с использованием оборудования Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Введение

Проантоцианидины – одни из самых важных для жизнедеятельности организма человека представителей растительных полифенольных соединений. Они широко распространены в растительном мире и составляют основную часть потребляемых человеком флавоноидов [1]. Проантоцианидины относятся к классу полифенольных соединений, которые являются олигомерами и полимерами флаван-3-ола и имеют С6–С3–С6–флавоноидный скелет. В проантоцианидинах типа «Б» структурные единицы флаван-3-ола соединены между собой через С4→С6' или С4→С8' атомы углерода (рис. 1). Наиболее широко распространенными структурными единицами флаван-3-ола являются процианидины и продельфинидины, которые образуются в результате реакции конденсации мономеров, соответственно катехина и/или эпикатехина, и галлокатехина и/или эпигаллокатехина [2, 3].

*Левданский Владимир Александрович – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник,
e-mail: vlevdanskij@mail.ru*

*Левданский Александр Владимирович – кандидат химических наук, научный сотрудник,
e-mail: alexsander.l@mail.ru*

*Кузнецов Борис Николаевич – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией,
e-mail: bnk@icct.ru*

Проантоцианидины существуют в виде растворимых в воде олигомеров, содержащих от 2 до 6 катехиновых единиц, а также в виде нерастворимых в воде полимеров со степенью полимеризации от 7 и выше, которые представляют собой основную часть проантоцианидиновых комплексов [4].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Источником промышленного получения проантоцианидинов под названием «Пикногенол» и «Энзогенол» служат косточки винограда (*Vitis vinifera*) и кора сосен (*Pinus maritima*) и (*Pinus radiata*) [5–7].

Проантоцианидины представляют значительный интерес для современной медицины как группа биологически активных веществ, обладающих разнообразной фармакологической активностью: антиоксидантной, противовоспалительной, антиаритмической, гипотензивной и антирадикальной [5, 8, 9]. Они способны эффективно инактивировать радикалы, превосходя в этом в несколько раз витамины С и Е [10].

Цель работы – поиск оптимальных условий экстракционного извлечения проантоцианидинов из коры кедра сибирского (*Pinus sibirica*) и изучение их состава.

Экспериментальная часть

В качестве исходного сырья использовали кору кедра сибирского (*Pinus sibirica*), заготовленную в мае 2020 г. в Шушенском районе Красноярского края. Образцы коры отбирали с одновозрастных (95–100 лет) кедров на расстоянии 1–2 м от комля. Перед использованием кору высушивали при температуре 100 ± 5 °С в течение 5–6 ч, измельчали, после просеивания отбирали фракцию от 1 до 3 мм, досушивали ее до постоянного веса. Химический состав коры кедра определяли по общепринятым в химии древесины методикам [11]. Содержание основных компонентов коры кедра (% от массы а.с. коры): целлюлоза – 26.3, лигнин – 36.1, экстрактивные вещества – 18.7, легкогидролизуемые полисахариды – 17.5, трудногидролизуемые полисахариды – 24.1, зольность – 1.0.

Обессмолевание коры кедр. Высушенную и измельченную кору экстрагировали гексаном в течение 24 ч в аппарате Сокслета емкостью 1 л. Выход смолистых веществ $3.2 \pm 0.2\%$ от массы а.с. коры.

Выделение проантоцианидинов из необессмоленной и обессмоленной коры кедр проводили двумя способами. Первый способ – выделение проантоцианидинов экстракцией коры водой и 15% водно-этанольным раствором. Второй способ выделения проантоцианидинов – экстрагированием коры этилацетатом в аппарате Сокслета.

1. Выделение проантоцианидинов экстракцией коры водой и 15% водно-этанольным раствором. В круглодонную колбу объемом 2 л, снабженную мешалкой и обратным холодильником, загружали 100.0 г коры кедр, измельченной до частиц 1–3 мм, заливали 1.5 л дистиллированной воды или 1.5 л 15% водно-этанольного раствора и кипятили при интенсивном перемешивании в течение 1.0 ч, затем горячий раствор отделяли фильтрованием и получали 1.2–1.3 л экстракта. Экстракт концентрировали под вакуумом при температуре 50–55 °С на ротационном испарителе до 350–370 мл и насыщали хлоридом натрия. Образующийся осадок полифенольных веществ отделяли фильтрованием. Фильтрат трижды экстрагировали, используя по 200 мл этилацетата, сушили над безводным сульфатом натрия. Затем этилацетатный раствор концентрировали под вакуумом до объема 50–60 мл и разбавляли в 7–8 раз хлороформом, при этом проантоцианидины выпадали в осадок в виде хлопьев кремового цвета, их отделяли фильтрованием. Эксперимент проводили 3 раза.

Выход проантоцианидинов из необессмоленной коры кедр при экстракции водой составил 0.43, 0.45 и 0.44%, средний выход – 0.44%, а 15% водно-этанольным раствором – 0.56, 0.59, 0.57%, средний выход – 0.57%. Из обессмоленной коры при экстракции водой – 0.42, 0.43, 0.44%, средний выход – 0.43% и 15% водно-этанольным раствором – 0.55, 0.57, 0.59%, средний выход – 0.57%.

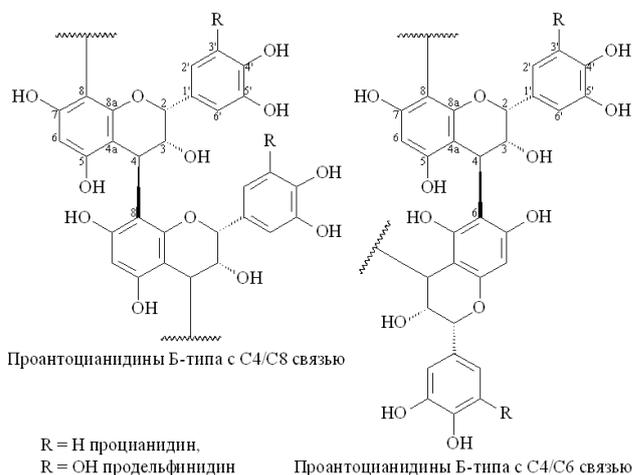


Рис. 1. Структурные различия проантоцианидинов-димеров флаван-3-ола Б-типа [3]

2. *Выделение проантоцианидинов экстракцией коры этилацетатом в аппарате Сокслета.* Извлечение проантоцианидинов проводили этилацетатом из коры в аппарате Сокслета объемом 300 мл (приемная колба объемом 1000 мл). Во всех экспериментах объем этилацетата составлял 500 мл, а количество коры составляло 50.0 г, продолжительность экстракции – 12 ч. После экстракции раствор экстрактивных веществ концентрировали под вакуумом на ротационном испарителе при температуре водяной бани 40–45 °С до полного удаления этилацетата. Затем в колбу с сухим остатком добавляли 50–60 мл хлороформа, тщательно перемешивали и полученный осадок – светло-кремового цвета отделяли фильтрованием. Эксперимент проводили 3 раза. Выход проантоцианидинов из обессмоленной коры составил 0.98, 1.05 и 1.09%, средний выход – 1.04%. Из необессмоленной коры составил 0.60, 0.63 и 0.66%, средний выход – 0.63%.

Для изучения химического состава полученных проантоцианидинов их превращали в антоцианидины известным методом [3, 6] – нагреванием в этаноле в присутствии соляной кислоты. Для разделения смеси антоцианидинов применяли колоночную хроматографию на полиамидном сорбенте. Элюирование проводили 96% этанолом, содержащим 0.01 соляной кислоты. По ходу движения элюента по колонке наблюдали две четко выраженные зоны окрашивания. После отбора фракций и концентрирования под вакуумом их анализировали методом УФ-спектроскопии.

Электронные спектры поглощения полученных антоцианидинов записаны на сканирующем УФ-спектрометре Leki SS2109-UV (Leki Instruments, Финляндия) в 1 см кварцевой кювете в диапазоне длин волн 600–450 нм. Термостатирование (± 0.1 °С) проводили с помощью термостата Haake K15, оснащенного контроллером Haake DC10, при температуре 20 °С. Спектры образцов были сняты одновременно при выделении из колонки без дополнительной очистки. Все спектры образцов были получены в этаноле с содержанием воды не более 10%.

ИК-спектры проантоцианидинов снимали с использованием ИК-Фурье спектрометра IR Tracer-100 (Shimadzu, Япония) в области длин волн 400–4000 cm^{-1} . Обработку спектральной информации проводили по программе OPUS (версия 5.0). Твердые образцы для анализа готовили в виде таблеток в матрице KBr (2 мг образца / 1000 мг KBr).

ЯМР ^{13}C -спектры проантоцианидинов сняты в $(\text{CD}_3)_2\text{DO}$ при температуре 25 °С с использованием спектрометра Bruker Avance III 600 МГц с привязкой к дейтериевому резонансу растворителя.

Результаты и обсуждение

В настоящее время кора сосны (*Pinus radiata*) является основным источником получения проантоцианидинов. Они выпускаются под названием «Пикногенол» и «Энзогенол». Пикногенол получают экстракцией коры сосны водой и последующей очисткой водного экстракта органическими растворителями с выходом 0.2–0.3%, а энзогенол – экстракцией коры сосны только водой с выходом 0.5% [7].

В работе [12] нами было показано, что экстракция коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) 15% водно-этанольным раствором позволяет увеличить выход проантоцианидинов с 0.44–0.46% до 0.61–0.63% от массы а.с. коры по сравнению с ее экстракцией водой. Широкий спектр биологической активности проантоцианидинов стимулирует разработку эффективных способов их выделения и поиск новых источников сырья. В продолжение работ по выделению и изучению проантоцианидинов из коры сибирских хвойных пород деревьев, мы изучили проантоцианидины коры кедр сибирского (*Pinus sibirica*). В таблице приведены данные о выходе проантоцианидинов из необессмоленной и обессмоленной коры кедр при экстракции водой, 15% водно-этанольным раствором и этилацетатом в аппарате Сокслета.

Как следует из полученных данных, (табл.), низкое содержание смолистых веществ ($3.4 \pm 0.2\%$) не оказывает существенного влияния на степень извлечения проантоцианидинов из коры кедр при экстракции водой и 15% водно-этанольным раствором. Однако при экстракции необессмоленной коры кедр этилацетатом в аппарате Сокслета, вместе с проантоцианидинами извлекаются и смолистые вещества. В результате после отгонки растворителя получается смолообразная масса, из которой достаточно сложно выделить проантоцианидины. Требуется длительный процесс очистки, что резко снижает выход проантоцианидинов. Установлено, что предварительное удаление смолистых веществ из коры кедр позволяет достичь высокой степени извлечения из нее проантоцианидинов (до 1.04%) при последующей экстракции этилацетатом в аппарате Сокслета. Строение полученных из коры кедр проантоцианидинов изучено методами УФ-, ИК- и ^{13}C ЯМР-спектроскопии. Проведен сравнительный анализ ИК-спектров проантоцианидинов, выделенных

из коры кедрa и проантоцианидинов из коры сосны обыкновенной [6] и спектров проантоцианидинов, описанных в работах [13, 14]. В ИК-спектрах проантоцианидинов, выделенных из коры кедрa (рис. 2) независимо от способа их выделения, присутствуют все полосы поглощения, характерные для проантоцианидинов приведенных в работах [6, 13, 14], в области 3400–3385, 1612–1605; 1522–1514; 1452–1448; 1350–1340; 1285–1269; 1159–1105; 1074–1067; 823–818, 780–755 см^{-1} . На рисунке 2 приведены ИК-спектры проантоцианидинов, выделенных из коры кедрa, 15% водно-этанольным раствором и экстракцией обессмоленной коры этилацетатом в аппарате Сокслета.

Отличие ИК-спектров проантоцианидинов из коры кедрa от проантоцианидинов описанных в работе [6] – это появление полосы поглощения в области 1701 см^{-1} , принадлежащей С=О группе. В работах [13, 14] посвященных изучению проантоцианидинов чая, косточек винограда и плодов диллени индийской (*Dillenia indica* Linn), показано, что выделяемые проантоцианидины в положении 3 кольца С содержат остаток галловой кислоты. Поэтому в ИК-спектрах этих проантоцианидинов присутствует сильная полоса поглощения в области 1700–1710 см^{-1} . В работах [12, 15] посвященных изучению проантоцианидинов коры сосны и пихты нами также обнаружено присутствие галловой кислоты. Известно, что присутствие галловой кислоты в составе проантоцианидинов увеличивает их антирадикальную активность [16].

Анализ ^{13}C ЯМР-спектров проантоцианидинов коры кедрa (*Pinus sibirica*) проводили с использованием известных данных для проантоцианидинов коры сосны лучистой (*Pinus radiata*) [6], ели черной (*Picea mariana*) [3] и плодов диллени индийской (*Dillenia indica* Linn.) [13]. В ^{13}C ЯМР спектрах проантоцианидинов коры кедрa (рис. 3) присутствуют сигналы всех атомов углерода, характеризующих основную структуру флаваноида.

Положение сигналов атомов углерода в ^{13}C ЯМР-спектрах (рис. 3) проантоцианидинов, выделенных из коры кедрa экстракцией водой и этилацетатом в аппарате Сокслета, соответствуют литературным данным [3, 6, 13], что говорит о идентичности проантоцианидинов полученных разными методами.

Данные о выходе проантоцианидинов при экстракции необессмоленной и обессмоленной коры кедрa водой, 15% водно-этанольным раствором и этилацетатом в аппарате Сокслета

Экстракция необессмоленной коры			Экстракции обессмоленной коры		
вода	15% водно-этанольный раствор	этилацетат в аппарате Сокслета	вода	15% водно-этанольный раствор	этилацетат в аппарате Сокслета
Выход проантоцианидинов в % от массы а.с. коры					
0.44±0.03	0.57±0.04	0.63±0.08	0.43±0.03	0.57±0.05	1.04±0.14

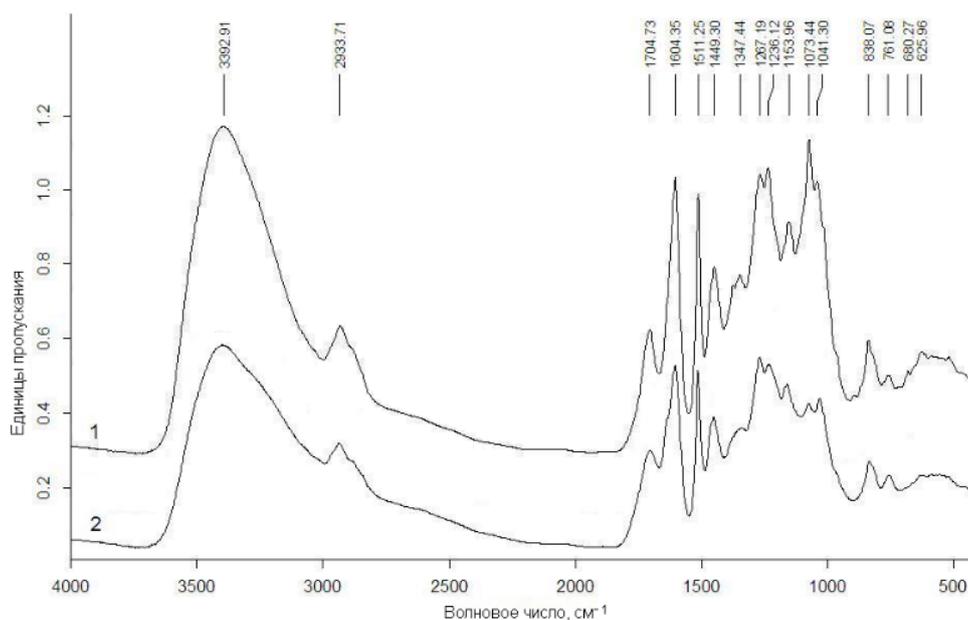


Рис. 2. ИК-спектры проантоцианидинов, выделенных из коры кедрa, 15% водно-этанольным раствором (1) и из обессмоленной коры кедрa этилацетатом в аппарате Сокслета (2)

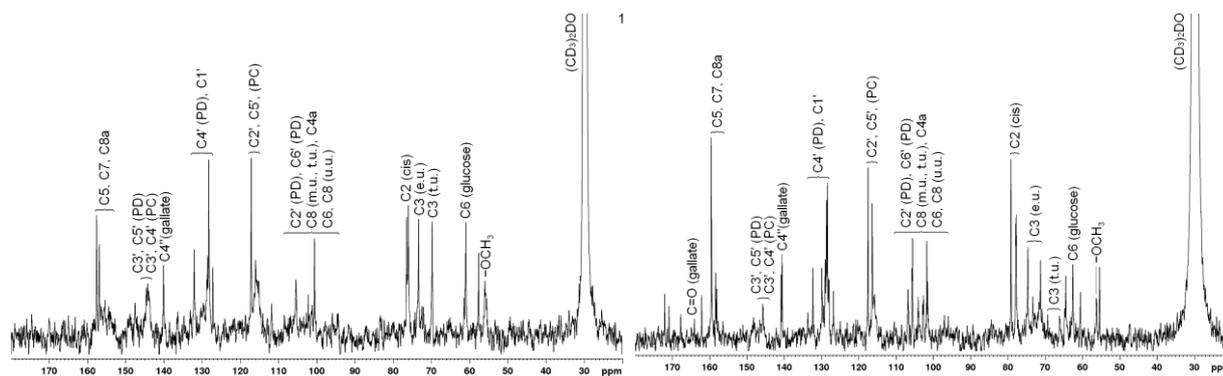


Рис. 3. ^{13}C ЯМР-спектр проантоцианидинов, выделенных из коры кедр 15 % водно-этанольным раствором (1) и из обессмоленной коры кедр этилацетатом в аппарате Сокслета (2) (PC – процианидины, PD – прodelьфинидины, m.u. – среднее звено, t.u. – концевое звено, e.u. – удлиняющее звено, u.u. – верхнее звено)

В области 170.0–172.0 м.д. присутствует сигнал атома углерода сложноэфирной группы ($-\text{O}-\text{C}=\text{O}$) галлокатехина. В области 156.0–158.0 м.д. сигналы атомов углерода C5, C7 кольца А. Сигналы атомов углерода кольца В трудноразличимы и находятся в ^{13}C ЯМР-спектре в области 144.3 м.д. для процианидина и в области 144.6 м.д. для прodelьфинидина. Сигналы при 117.0 м.д. (C2', C5'), 117–119 м.д. (C6') и 144 м.д. (C3', C4') принадлежат кольцу В. Известно [3], что область 70–90 м.д. чувствительна к стереохимии кольца С флавоноидов поэтому сигнал в области 76.0–79.0 м.д. относят к C2 цис (эпикатехин/эпигаллокатехин) стереоизомерам, а сигнал при 82.0–84.0 м.д. к C2 транс (катехин/галлокатехин) стереоизомерам. Как видно из ^{13}C ЯМР-спектров (рис. 3) интенсивный сигнал в области 76.0–79.0 м.д. указывает на то, что в проантоцианидинах коры кедр присутствуют цис-стереоизомер, состоящий в основном из звеньев эпикатехина и производных. По данным работы [3], сигнал атома углерода в области 56.0–57.0 м.д. принадлежит атому углерода метоксильной группы ($-\text{OCH}_3$), а в области 61.0–63.0 м.д. – атому углерода C6 гликозидного остатка.

Известно, что проантоцианидины при нагревании в спиртовой среде в присутствии соляной кислоты превращаются в красные антоцианидины [3, 6]. В коре хвойных пород древесины наиболее распространенными типами проантоцианидинов являются процианидины и прodelьфинидины. В работе [3] показано, что изменение максимумов поглощения в УФ-спектре между 540 и 550 нм обусловлено изменением соотношения концентрации цианидин / дельфинидин. При одинаковой концентрации цианидина и дельфинидина в растворе максимум поглощения составляет 550 нм, при уменьшении концентрации дельфинидина в смеси максимум поглощения смещается к 540 нм. В УФ-спектре антоцианидинов коры кедр максимум поглощения наблюдается при 549 нм, что указывает на то, что процианидины и прodelьфинидины находятся в соотношении близком к 1 : 1. Известно [17], что антоцианидины, содержащие в орто-положениях фенольного кольца гидроксильные группы, способны давать устойчивые комплексы с Fe^{3+} , Al^{3+} , Sn^{4+} с углублением окраски, при этом максимум поглощения в видимой области перемещается bathochromно на 16–35 нм. Методом колоночной хроматографии антоцианидины коры кедр разделены на цианидины и дельфинидины. УФ-спектр цианидина имеет максимум поглощения в видимой области $\lambda_{\text{max}}=547$ нм, а дельфинидина – $\lambda_{\text{max}}=556$ нм, при взаимодействии в растворе этанола с хлоридом алюминия их максимумы поглощения смещаются в более длинноволновую область для цианидина к 569 нм, а дельфинидина к 581 нм. Полученные данные показывают, что основными проантоцианидинами коры кедр являются процианидин и прodelьфинидин.

Заключение

Сопоставлен выход проантоцианидинов, выделенных из исходной и обессмоленной коры кедр сибирского водой, 15% водно-этанольным раствором и этилацетатом в аппарате Сокслета. Показано, что присутствие смолистых веществ в коре не влияет на выход проантоцианидинов при ее экстракции водой и 15% водно-этанольным раствором, их выход соответственно составляет 0.44 и 0.57%. Установлено, что при экстракции обессмоленной коры этилацетатом в аппарате Сокслета выход проантоцианидинов достигает 1.04%. Методами УФ-, ИК- и ^{13}C ЯМР-спектроскопии установлено, что полученные проантоцианидины в основном состоят из процианидина и прodelьфинидина и их состав не зависит от способа выделения.

Список литературы

1. Кузьмичева Н.А., Бузук Г.Н., Курлюк О.В. Содержание проантоцианидинов в коре ив в зависимости от проточности увлажнения почвы // Вестник фармации. 2016. Т. 71. №1. С. 72–75.
2. Осипов В.И., Поляков Н.А., Сидельников А.Н., Хазиева Ф.М. Проантоцианидины корней и корневищ *Potentilla alba* (Rosaceae) // Растительные ресурсы. 2017. Т. 53. №1. С. 114–125.
3. Diouf P.N., Tibirna C.M., Garcia-Pérez M.-E., Royer M., Dubé P., Stevanovic T. Structural elucidation of condensed tannin from *Picea mariana* bark. // JBNB. 2013. Vol. 4. N3A. Pp. 1–8. DOI: 10.4236/jbnb.2013.43A001.
4. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action // J. Nat. Prod. 1996. Vol. 59. N2. Pp. 205–215. DOI: 10.1021/np960040+.
5. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. A method for evaluation and standardization of oligomeric proanthocyanidin complexes isolated from various raw plant materials // Pharm. Chem. J. 2002. Vol. 36. N3. Pp. 139–143. DOI: 10.1023/A:1019682311646.
6. Ku C.S., Mun S.P. Characterization of proanthocyanidin in hot water extract isolated from *Pinus radiata* bark. // Wood Sci. Technol. 2007. Vol. 41. N3. Pp. 235–247. DOI: 10.1007/s00226-006-0103-8.
7. Yazaki Y. Utilization of flavonoid compounds from bark and wood: a review // Nat. Prod. Commun. 2015. Vol. 10. N3. Pp. 513–520. DOI: 10.1177/1934578X1501000333.
8. Chang Q., Zhu M., Zuo Z., Chow M., Ho W.K.K. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of Hawthorn active components in rat plasma // J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 2001. Vol. 760. N2. Pp. 227–235. DOI: 10.1016/S0378-4347(01)00273-0.
9. Kim S.H., Kang K.W., Kim K.W., Kim N.D. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta // Life Sciences. 2000. Vol. 67. N2. Pp. 121–131. DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00608-1.
10. Bors W., Michel C., Stettmaier K. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters // Arch. Biochem. Biophys. 2000. Vol. 374. N2. Pp. 347–355. DOI: 10.1006/abbi.1999.1606.
11. Дейнеко И.П., Фаустова Н.М. Элементный и групповой химический состав коры и древесины осины // Химия растительного сырья. 2015. №1. С. 51–62. DOI: 10.14258/jcrpm.201501461.
12. Levdanskiy V.A., Korol'kova I.V., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. Isolation and study of proanthocyanidins from bark of pine *Pinus sylvestris* L. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2021. Vol. 47. N7. Pp. 1445–1450. DOI: 10.1134/S1068162021070098.
13. Fu C., Yang D., Peh W.Y.E., Lai S., Feng X., Yang H. Structure and antioxidant activities of proanthocyanidins from Elephant apple (*Dillenia indica* Linn.) // J. Food Sci. 2015. Vol. 80. N10. Pp. C2191–C2199. DOI: 10.1111/1750-3841.13005.
14. Takahashi T., Nagatoishi S., Kuroda D., Tsumoto K. Thermodynamic and computational analyses reveal the functional roles of the galloyl group of tea catechins in molecular recognition // PLoS One. 2018. Vol. 13. N10. 0204856. DOI: 10.1371/journal.pone.0204856.
15. Левданский В.А., Кондрасенко А.А., Левданский А.В., Лутошкин М.А. Выделение и изучение проантоцианидинов коры пихты // Журнал СФУ. Химия. 2019. Т. 12. №4. С. 604–613. DOI: 10.17516/1998-2836-0155.
16. Plumb G.W., De Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Cheynier V., Williamson G. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: effect of polymerisation, galloylation and glycosylation // Free Radical Research. 1998. Vol. 29. N4. Pp. 351–358. DOI: 10.1080/10715769800300391.
17. Левданский В.А., Полежаева Н.И., Макиевская А.И., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение состава антоцианидинов коры пихты // Химия в интересах устойчивого развития. 2000. Т. 8. №6. С. 823–827.

Поступила в редакцию 6 июня 2022 г.

После переработки 21 июня 2022 г.

Принята к публикации 20 октября 2022 г.

Для цитирования: Левданский В.А., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение проантоцианидинов коры кедр *Pinus sibirica* // Химия растительного сырья. 2022. №4. С. 99–105. DOI: 10.14258/jcrpm.20220411490.

Levdanskiy V.A.¹, Levdanskiy A.V.¹, Kuznetsov B.N.^{1,2*} ISOLATION AND STUDY OF PROANTHOCYANIDINS FROM BARK OF CEDAR *PINUS SIBIRICA*

¹ Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, FRC KSC SB RAS, ul. Akademgorodok, 50/24, Krasnoyarsk, 660036 (Russia), e-mail: bnk@icct.ru

² Siberian Federal University, pr. Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041 (Russia)

The yields of proanthocyanidins isolated from the initial and deresinated (extracted with hexane) bark of the Siberian cedar (*Pinus sibirica*) by water, 15% water-ethanol solution and ethyl acetate in a Soxhlet apparatus were compared. It was shown, that the preliminary removal of resinous substances from the cedar bark does not affect the yields of proanthocyanidins extracted with water and 15% water-ethanol solution (for the initial bark is 0.44% (wt.) and 0.57% (wt.) and for the deresinated bark is 0.43% (wt.) and 0.57% (wt.), respectively). It was established that the extraction of deresinated bark with ethyl acetate makes it possible to increase the yield of proanthocyanidins about 2 times to 1.04% (wt.). The composition of the proanthocyanidins isolated from the cedar bark was characterized by UV, FTIR, and ¹³C NMR spectroscopy methods. The flavonoids cyanidin and delphinidin were identified using the conversion proanthocyanidins to anthocyanidins. The proanthocyanidins isolated from cedar bark mainly consist of procyanidin and prodelphinidin, regardless of the method of their isolation – extraction by water, 15% aqueous ethanol solution or ethyl acetate. It was established that the proanthocyanidins isolated from the bark of cedar, in contrast to those isolated from the bark of pine (*Pinus maritima*) and (*Pinus radiata*), contain gallic acid residues.

Keywords: cedar bark, extraction, ethylacetate, proanthocyanidins, procyanidin, prodelphinidin, gallic acid, cyanidin, delphinidin.

References

1. Kuz'micheva N.A., Buzuk G.N., Kurlyuk O.V. *Vestnik farmatsii*, 2016, vol. 71, no. 1, pp. 72–75. (in Russ.).
2. Osipov V.I., Polyakov N.A., Sidel'nikov A.N., Khaziyeva F.M. *Rastitel'nyye resursy*, 2017, vol. 53, no. 1, pp. 114–125. (in Russ.).
3. Diouf P.N., Tibirna C.M., Garcia-Pérez M.-E., Royer M., Dubé P., Stevanovic T. *JBNB*, 2013, vol. 4, no. 3A, pp. 1–8. DOI: 10.4236/jbnb.2013.43A001.
4. Haslam E. *J. Nat. Prod.*, 1996, vol. 59, no. 2, pp. 205–215. DOI: 10.1021/np960040+.
5. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. *Pharm. Chem. J.*, 2002, vol. 36, no. 3, pp. 139–143. DOI: 10.1023/A:1019682311646.
6. Ku C.S., Mun S.P. *Wood Sci. Technol.*, 2007, vol. 41, no. 3, pp. 235–247. DOI: 10.1007/s00226-006-0103-8.
7. Yazaki Y. *Nat. Prod. Commun.*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 513–520. DOI: 10.1177/1934578X1501000333.
8. Chang Q., Zhu M., Zuo Z., Chow M., Ho W.K.K. *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.*, 2001, vol. 760, no. 2, pp. 227–235. DOI: 10.1016/S0378-4347(01)00273-0.
9. Kim S.H., Kang K.W., Kim K.W., Kim N.D. *Life Sciences*, 2000, vol. 67, no. 2, pp. 121–131. DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00608-1.
10. Bors W., Michel C., Stettmaier K. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000, vol. 374, no. 2, pp. 347–355. DOI: 10.1006/abbi.1999.1606.
11. Deyneko I.P., Faustova N.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2015, no. 1, pp. 51–62. DOI: 10.14258/jcprm.201501461. (in Russ.).
12. Levdanskiy V.A., Korol'kova I.V., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2021, vol. 47, no. 7, pp. 1445–1450. DOI: 10.1134/S1068162021070098.
13. Fu C., Yang D., Peh W.Y.E., Lai S., Feng X., Yang H. *J. Food Sci.*, 2015, vol. 80, no. 10, pp. C2191–C2199. DOI: 10.1111/1750-3841.13005.
14. Takahashi T., Nagatoishi S., Kuroda D., Tsumoto K. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 10, 0204856. DOI: 10.1371/journal.pone.0204856.
15. Levdanskiy V.A., Kondrasenko A.A., Levdanskiy A.V., Lutoshkin M.A. *Zhurnal SFU. Khimiya*, 2019, vol. 12, no. 4, pp. 604–613. DOI: 10.17516/1998-2836-0155. (in Russ.).
16. Plumb G.W., De Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Cheynier V., Williamson G. *Free Radical Research*, 1998, vol. 29, no. 4, pp. 351–358. DOI: 10.1080/10715769800300391.
17. Levdanskiy V.A., Polezhayeva N.I., Makiyevskaya A.I., Kuznetsov B.N. *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*, 2000, vol. 8, no. 6, pp. 823–827. (in Russ.).

Received June 6, 2022

Revised June 21, 2022

Accepted October 20, 2022

For citing: Levdanskiy V.A., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 99–105. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220411490.

* Corresponding author.

