

УДК 615.322

ПРЕПАРАТИВНОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ГИДРОЛИЗУЕМЫХ ТАНИНОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ СВИДЫ ШЕЛКОВИСТОЙ (*CORNUS SERICEA* L.) НА ПРИМЕРЕ ТЕЛЛИМАГРАДИНА I

© Г.В. Адамов^{1*}, А.А. Аксёнов¹, В.Г. Васильев², Т.А. Кроль¹, С.В. Горяинов², Д.Н. Балеев¹,
В.И. Осипов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных
и ароматических растений, ул. Грина, 7, Москва, 117216, Россия,
grig.adamov@mail.ru

² Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 8/2,
Москва, 117198, Россия

Гидролизуемые танины являются перспективным классом природных соединений для медицинского применения. У них обнаружено множество фармакологических активностей, наиболее перспективная из которых – противовирусная. Одной из основных проблем, тормозящих исследования танинов, является сложность их получения в чистом виде ввиду того, что итогом биосинтеза их в растениях является сложная смесь высокомолекулярных гомологов и изомеров. Некоторые из танинов дополнительно значительно усложняют препаративное разделение, так как вследствие быстрой смены конформации на хроматографической колонке и в растворе имеют нестандартную широкую форму пика, чем загряжают ближайшие пики при попытке сбора элюатов.

В работе описан комплексный метод выделения гидролизуемых танинов из листьев свиды шелковистой (*Cornus sericea* L.), который включает получение экстракта из растительного сырья, его фракционирование на колонке Sephadex LH-20, выделение индивидуальных гидролизуемых танинов с помощью препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором на колонке Силасорб С18, последующую очистку на колонке Luna® С18. Для идентификации выделенных гидролизуемых танинов и оценки их чистоты использовали ультраэффективную жидкостную хроматографию с диодным и масс-спектрометрическим детектором, а также ¹H-ЯМР-спектроскопию. На примере выделенного теллимаграндина I показаны особенности хроматографического поведения гидролизуемых танинов с незамещенной гидроксильной группой при аномерном атоме углерода глюкозы, которые обусловлены существованием в виде равновесных α - и β -форм.

Ключевые слова: гидролизуемые танины, *Cornus sericea* L., теллимаграндин I, препаративная ВЭЖХ-УФ, УЭЖХ-ДД-МС, ¹H-ЯМР.

Для цитирования: Адамов Г.В., Аксёнов А.А., Васильев В.Г., Кроль Т.А., Горяинов С.В., Балеев Д.Н., Осипов В.И. Препаративное выделение гидролизуемых танинов из листьев свиды шелковистой (*Cornus sericea* L.) на примере теллимаграндина I // Химия растительного сырья. 2024. №2. С. 310–319. DOI: 10.14258/jcprm.20240212901.

Введение

Гидролизуемые танины – это класс фенольных соединений, широко распространенных в высших растениях [1]. Структурно они разделяются на три подкласса: галлоил-глюкозы, галлотанины и эллаготанины. В качестве центрального ядра гидролизуемые танины содержат полиол (глюкозу или хинную кислоту), образующий сложное эфиры связи с галловой кислотой [2]. Галлоил-глюкозы содержат от одной до пяти галлоильных групп, тогда как их число у галлотанинов обычно шесть и более. Эллаготанины включают также гексагидроксифеноильные группы, образующиеся при окислительном взаимодействии галлоильных групп. Структурное разнообразие гидролизуемых танинов увеличивается за счет олигомеризации мономеров, раскрытия полиольного ядра глюкозы, а также реакций окисления или гидратации гексагидроксифеноильных групп [2].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Гидролизуемые танины, особенно эллаготанины, обладают высокой биологической активностью. Растения, содержащие большие количества этих соединений, используются для получения препаратов, которые широко используются в традиционной медицине при лечении различных заболеваний [3–5]. Например, основой известного противовирусного препарата «Гипорамин» является очищенный экстракт листьев облепихи с высоким содержанием гидролизуемых танинов, таких как казауриктин, стриктинин, изостриктинин, казауринин, гипофенин В и др. [6, 7]. Клинические исследования свидетельствуют об эффективности и высокой безопасности «Гипорамина» при лечении и профилактике вирусных инфекций у взрослых и детей [8].

Перспективным является использование гидролизуемых танинов в сельском хозяйстве [9, 10]. Исследование на цыплятах бройлерах демонстрирует, что добавление «Гипорамина» в корм увеличивает прирост массы цыплят, улучшает их общее состояние и стимулирует иммунную систему [11]. Установлено также влияние танинов на пищеварение крупного рогатого скота [12]. В систематическом обзоре [13] показано, что танины у жвачных животных изменяют микрофлору рубца и модулируют его функцию, снижают потери энергии корма из-за ферментативного разрушения части питательных веществ до метана, а также увеличивают степень гидролиза клетчатки кормовых растений.

Существует большое число исследований, подтверждающих фармакологическую активность экстрактов или фракций, содержащих гидролизуемые танины, однако активность индивидуальных соединений менее изучена [14]. В результате возникает сложность в понимании механизма действия гидролизуемых танинов и увеличивается вероятность ошибки при интерпретации результатов исследований [15–17]. В связи с этим выделение индивидуальных гидролизуемых танинов из растительного сырья и изучение их фармакологической активности является актуальной задачей современной фитохимии.

При выделении индивидуальных гидролизуемых танинов важным фактором является выбор растительного объекта, содержащего большие количества этих соединений. Ранее, при сравнительном изучении содержания основных классов фенольных соединений в листьях 200 видов лекарственных растений, было установлено, что виды рода *Cornus* характеризуются наибольшим содержанием гидролизуемых танинов [18]. Состав и содержание галло- и эллаготанинов в листьях *Cornus sericea* L., *Cornus sanguinea* L., *Cornus alba* L. был изучен с использованием ультраэффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ) в комбинации с диодным и масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения [19].

В связи с этим целью исследования было выделение индивидуальных гидролизуемых танинов из листьев *C. sericea*, используя колоночную хроматографию на Sephadex LH-20 и препаративную высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) в комбинации с УФ-детектором (ВЭЖХ-ДД). Структуру выделенных соединений подтверждали с помощью УЭЖХ с диодным (ДД) и масс-спектрометрическим (МС) детектором и ¹H-ЯМР спектроскопии.

Материалы и методы

Объект исследования. Листья свиды шелковистой (*Cornus sericea* L.) были собраны в Ботаническом саду Института лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР, Москва) в 2021 году в фазу цветения, лиофильно высушены (FreeZone 2.5 L, Labconco, США) и измельчены до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0.5 мм. Порошок сухих листьев хранили в морозильной камере при температуре –18 °С.

Реактивы. Использованы следующие реактивы: ацетонитрил (Macron, HPLC Super Gradient, Италия), метанол (Химмед, ОСЧ для градиентной ВЭЖХ, Россия), вода очищенная тип I по ASTM D1193-06, муравьиная кислота (Sigma-Aldrich, Германия), ацетон (ЧДА, Химмед, Россия).

Экстракция. Образец измельченных листьев *C. sericea* весом 100 г экстрагировали в 500 мл 80%-ного водного раствора ацетона в течение 20 мин при постоянном перемешивании и при комнатной температуре. Надосадочную жидкость декантировали, а остаток сырья экстрагировали повторно при тех же условиях. Объединенный экстракт фильтровали через бумажный фильтр «Синяя лента», упаривали досуха под вакуумом (ротаторный испаритель RV 10 digital, IKA-WERKE, Германия) и растворяли в 20% водном метаноле (соотношение 1 : 5). Соединения нерастворимые в 20% метаноле отделяли центрифугированием.

Фракционирование гидролизуемых танинов. На первом этапе выделения индивидуальных гидролизуемых танинов экстракт фракционировали, используя колоночную хроматографию на Sephadex LH-20 (400×25 mm, Pharmacia, Швеция). Предварительно 10 г сорбента помещали в коническую колбу, прибавляли 200 мл 20% раствора метанола в воде и выдерживали 24 ч.

Затем суспензию сорбента переливали в колонку и промывали 100 мл того же раствора. Образец экстракта объемом 2 мл наносили на колонку и гидролизуютые танины элюировали водным раствором метанола, ступенчато увеличивая его концентрацию от 20 до 100% с шагом 10%. Объем раствора каждой концентрации составлял 50 мл. Последнюю фракцию танинов элюировали 200 мл 10% раствора ацетона в метаноле. Скорость элюции 2 мл/мин поддерживалась с помощью перистальтического насоса (Peristaltic pump P-3, Pharmacia, Швеция).

Фракции по 50 мл собирали и в каждой определяли состав гидролизуютых танинов методом аналитической ВЭЖХ-УФ (система Prominence-I LC2030C 3D, Shimadzu, Япония). Разделение соединений проводили на аналитической колонке Luna® C18 (4.6×250 mm, 100Å, 5µm). Подвижная фаза А – 0.1% раствор муравьиной кислоты в воде, Б – ацетонитрил. Программа градиента: 0–1 мин, 5% Б в А (изократический режим); 1–4 мин, 5–15% Б в А (линейный градиент); 4–16 мин, 15–40% Б в А (линейный градиент); 16–17 мин, 40–100% Б в А (линейный градиент). Скорость потока элюента – 1.2 мл/мин. Объем введенного образца – 10 µл. УФ-регистрация соединений при 280 нм. Фракции с концентрацией метанола 70–100%, а также фракцию, элюированную смесью метанола и ацетона, объединяли, упаривали на роторном испарителе, растворяли в 1 мл воды и использовали в первом этапе препаративной хроматографии.

Препаративная ВЭЖХ-УФ. Выделение индивидуального соединения проводили в два этапа. На первом этапе использовали жидкостный хроматограф формата моноблок Shimadzu Prominence-I LC-2030C 3D (Shimadzu, Япония) и препаративную колонку Силасорб С18 (250×25 мм, 5 µm, БиоХимМак, Россия). Подвижная фаза А – 0.02% раствор муравьиной кислоты в воде, Б – ацетонитрил. Программа градиента: 0–150 мин, 11–23% Б в А (линейный градиент). Скорость потока элюента – 8 мл/мин. Объем введенного образца – 100 µл. УФ-регистрация соединений при 280 нм. Фракции собирали вручную, контролируя оптическую плотность элюата с помощью УФ-детектора. Состав фракций определяли с использованием ВЭЖХ-УФ системы на колонке Luna® C18 (250×4.6 mm, 100Å, 5µm) и методом, описанным выше. Фракции с одинаковым составом гидролизуютых танинов объединяли, упаривали на роторном испарителе досуха, сухой остаток растворяли в 1 мл воды и переносили в виалу.

Заключительную очистку индивидуального гидролизуютого танина проводили с использованием той же ВЭЖХ-УФ системы на колонке Luna® C18 (100Å 250×10 mm, 5µm, Phenomenex, США). Подвижная фаза А – 0.02% раствор муравьиной кислоты в воде, Б – ацетонитрил. Хроматографию проводили в изократическом режиме, содержание компонента Б составляло 14%. Скорость потока элюента – 3 мл/мин. УФ-регистрация соединений при 280 нм.

УЭЖХ-МС анализ. Масс-спектрометрические данные для характеристики выделенного индивидуального соединения и оценки его чистоты были получены с использованием ультраэффективного жидкостного хроматографа Nexera, совмещенного с тройным квадрупольным масс-спектрометром LCMS-8045 (Shimadzu, Япония). Разделение проводили на колонке ACQUITY UPLC® BEH Shield RP18 (50×2.1 mm, 1.7 µm, Waters, Ирландия). Подвижная фаза А – 0.1% раствор муравьиной кислоты в воде, Б – ацетонитрил. Программа градиента: 0–0.5 мин – 1% Б в А, 0.5–2.2 мин, 1–30% Б в А, 2.2–7.5 мин, 30–35% Б в А. Скорость потока элюента – 0.3 мл/мин.

¹H-ЯМР анализ. Использовали спектрометр Bruker Avance NEO 700 (Bruker, США), оборудованный криодатчиком Prodigy. 500 мкг выделенного соединения растворяли в 1 мл ацетона-D₆ и помещали в ЯМР-пробирку 5 мм. Спектры регистрировали при 25 °С с невращающимся образцом и обрабатывали с помощью программы Mnova (Mestrelab Reserch, Испания). В качестве внутреннего стандарта использовали триметилсилан, сигнал которого имеет значение 0.00 ppm. Накопление проводили до приемлемого отношения сигнал/шум. В дополнение к обычным протонным спектрам использовали 2D-методы, такие как DQF-COSY (Double Quantum Filtered Correlation Spectroscopy) и HSQC (Heteronuclear multiple-quantum correlation).

Результаты и обсуждение

На первом этапе выделения индивидуальных эллаготанинов из экстракта листьев *C. sericea* использовали колоночную хроматографию на Sephadex LH-20. В результате была получена фракция, элюируемая 70–100%-ным метанолом, обогащенная гидролизуютыми танинами. По составу гидролизуютых танинов она мало отличалась от исходного экстракта, но в ней отсутствовали флавоноиды и коричневые кислоты. Это хорошо видно при сравнении хроматограмм, полученных при регистрации 280 нм (область поглощения гидролизуютых танинов) и 330 нм (область поглощения коричневых кислот и флавоноидов) (рис. 1 и 2).

Образец 70–100%-ной метанольной фракции рехроматографировали на колонке БиоХимМак 25×250 мм с сорбентом Силасорб С18 5 мкм в градиентном режиме, и фракции пиков соединений были собраны. Хроматограмма препаративного разделения танинов показана на рисунке 3. Все доминирующие пики были собраны, но оценка чистоты полученных фракций методом аналитической ВЭЖХ-УФ показала, что только два пика со временем удерживания 44 мин (Т-Ia) и 68 мин (Т-Iб) могут быть использованы для получения чистого соединения, остальные пики при аналитическом разделении оказались смесью сложноразделяемых родственных танинов.

Установлено, что при сборе и рехроматографировании пиков Т-Ia и Т-Iб на колонке Luna® C18 100Å 250×10 mm, они снова разделялись на два изомера в том же соотношении и на том же времени удерживания (рис. 4).

Учитывая специфичное хроматографическое поведение, а именно появление двух пиков при разделении чистого вещества, было предположено, что целевое вещество способно к рацемации, данными свойствами обладает теллимаграндин I. Для подтверждения структуры выделенного теллимаграндина I, использовали УЭЖХ-МС и ¹H-ЯМР спектроскопию. В результате установлено, что молекулярная масса теллимаграндина I – 786.2±0.5 Да (моноизотопная масса теллимаграндина I – 786.0937 Да), что соответствует значению из базы масс-спектрометрической базы данных метаболитов PubChem, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tellimagrandin-I>) (рис. 5). Полученный ¹H-ЯМР спектр также подтвердил подлинность: ¹H NMR (700 MHz, Acetone) δ 7.06 (s, 4H), 7.05 (s, 2H), 6.99 (s, 4H), 6.94 (s, 2H), 6.66 (s, J=3.6 Hz, 1H), 6.65 (s, 2H), 6.47 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 5.88 (t, J=10.0 Hz, 2H), 5.62 (t, J=9.8 Hz, 1H), 5.56 (d, J=3.7 Hz, 2H), 5.30 (td, J=13.1, 6.6 Hz, 3H), 5.25 (t, J=8.7 Hz, 1H), 5.14–5.09 (m, 5H), 5.08 (d, J=7.8 Hz, 1H), 4.67 (dd, J=9.8, 7.0 Hz, 2H), 4.27 (dd, J=9.9, 6.5 Hz, 1H), 3.87 (s, 6H).

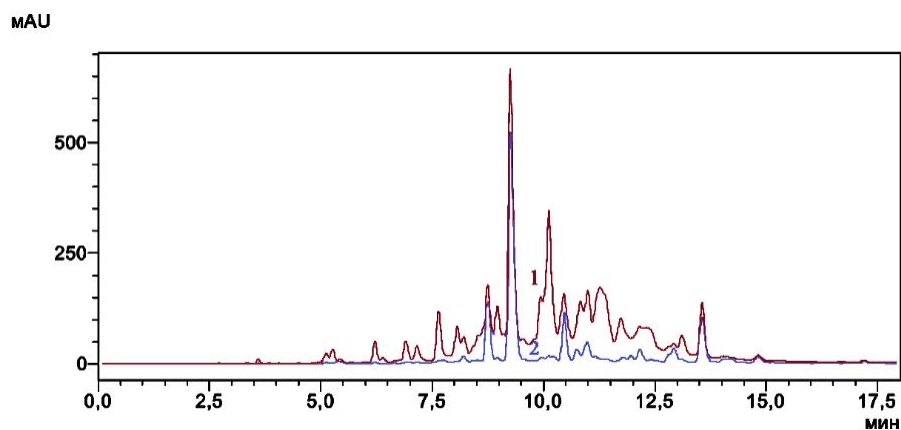


Рис. 1. ВЭЖХ-УФ хроматограмма экстракта при 280 нм (1) и 330 нм (2) до очистки

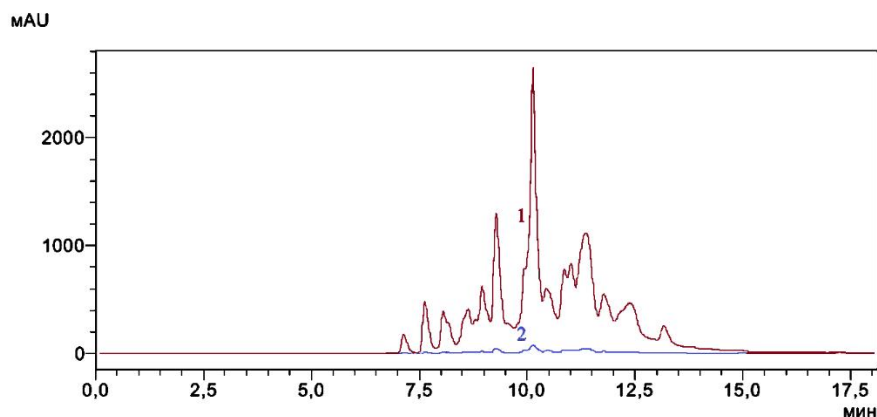


Рис. 2. ВЭЖХ-УФ хроматограмма очищенной фракций гидролизуемых танинов при 280 нм (1) и 330 нм (2)

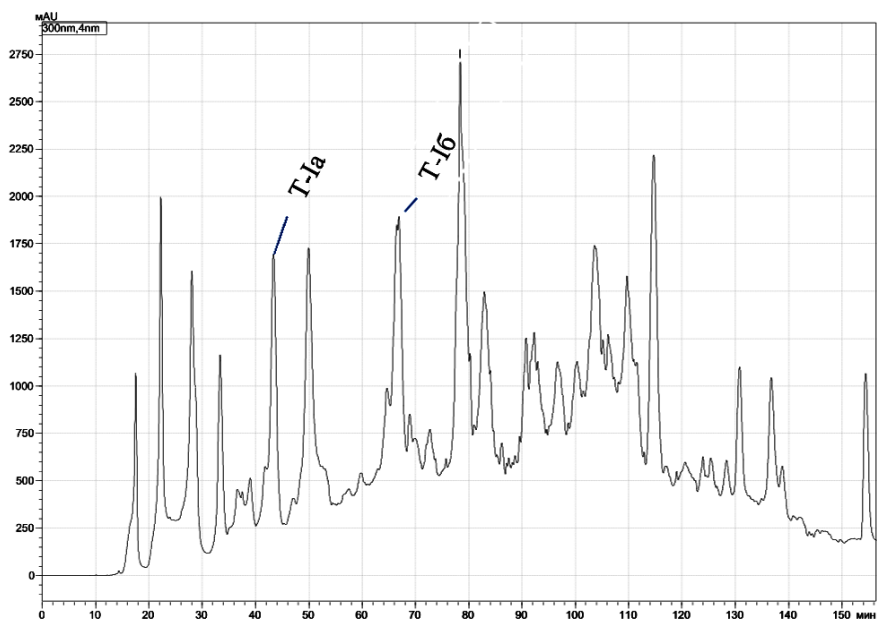


Рис. 3. ВЭЖХ-УФ хроматограмма препаративного разделения очищенной фракции гидролизующихся танинов на колонке Силасорб С18, целевые пики Т-1а и Т-1б

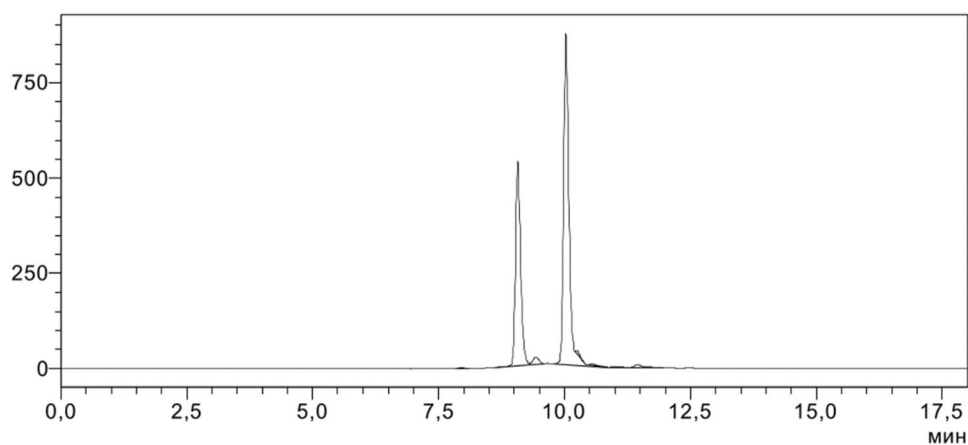


Рис. 4. ВЭЖХ-УФ хроматограмма фракции Т-1а, 280 нм

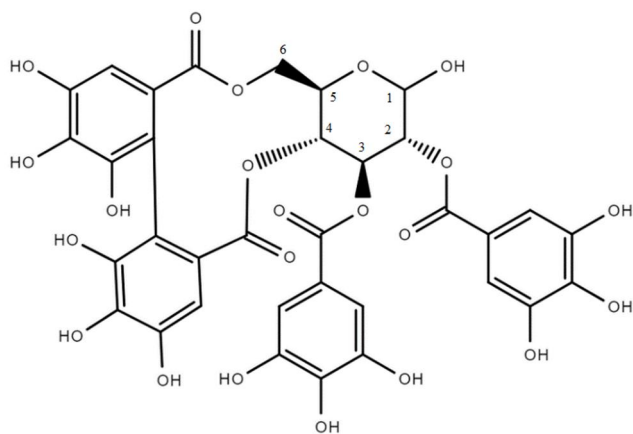


Рис. 5. Структурная формула теллимаграндина I

По данным ^1H -ЯМР спектра (рис. 6, 7 и 8), выделенное соединение существует в ацетоне D₆ в двух равновесных формах при соотношении интенсивности сигнала 2 : 1. Эксперимент HSQC позволил установить химические сдвиги протонов при углероде C₆, который единственный в молекуле имеет четное количество протонов, и подтвердить, что протоны H₆ и H_{6'} имеют существенные различия в химических сдвигах вследствие образования ротамеров (рис. 8). С помощью эксперимента HSQC определено положение H₁ протонов, так как углерод в положении C₁ находится в слабом поле относительно других атомов углерода в глюкозном остатке (рис. 8). Положение остальных протонов также установлено (рис. 7).

Ранее аналогичные результаты были получены для теллимаграндина I, выделенного из *Euphorbia thymifolia* L. [20].

Особенности хроматографического поведения и ЯМР-спектра теллимаграндина I, по-видимому, обусловлены свободной гидроксильной группой в первом положении глюкозной части. Как и глюкоза, теллимаграндин I образует два аномера: α и β . Аномерный протон α -глюкозы находится в более сильном поле и имеет меньшую константу спин-спинового взаимодействия. Поэтому, интерпретируя полученные спектры, можно сказать, что в ацетоне D₆ мы наблюдаем равновесную концентрацию аномеров α и β в соотношении 2 к 1.

Наряду с теллимаграндином I, были выделены 5 фракций других гидролизуемых танинов. Однако из-за относительно низкой чистоты основных соединений в настоящее время проводится их дополнительная очистка.

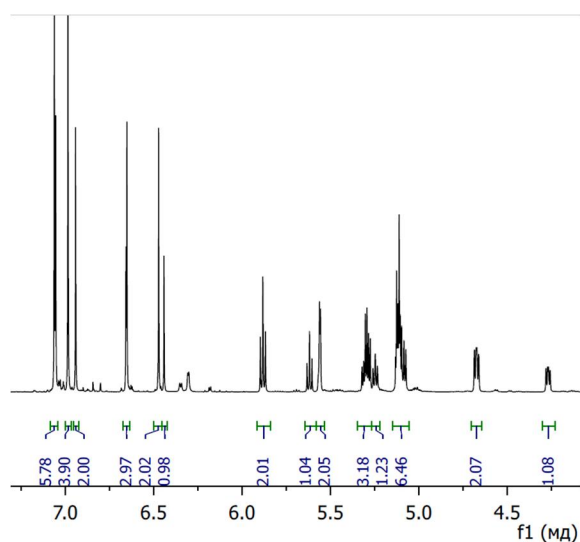


Рис. 6. ^1H -ЯМР спектр теллимаграндина I

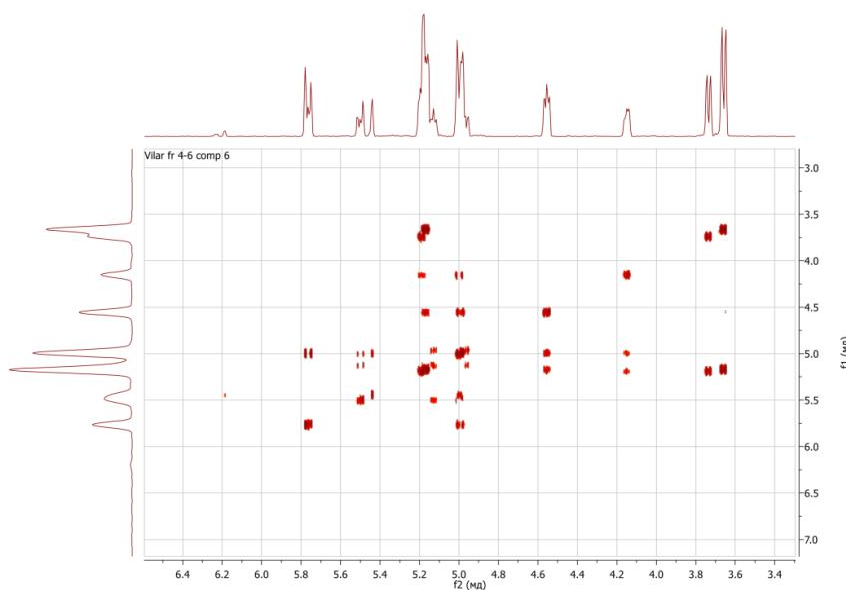


Рис. 7. COSY спектр теллимаграндина I

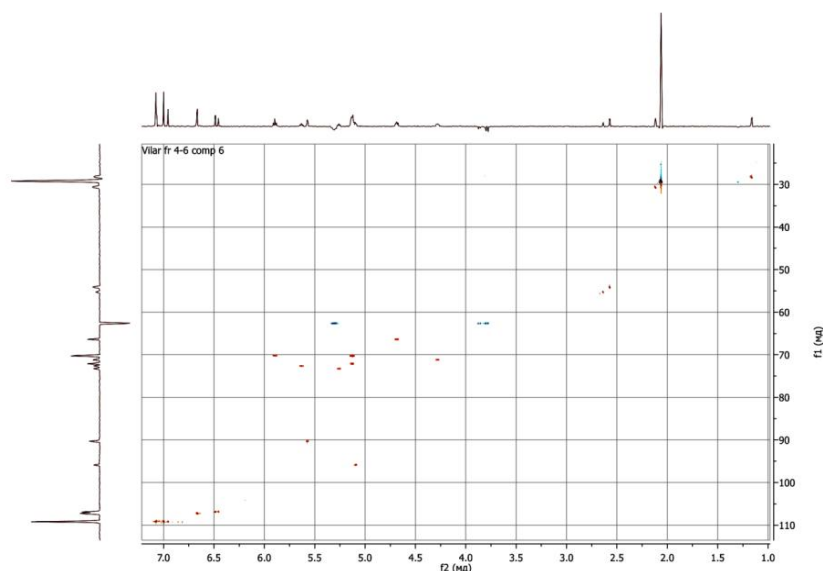


Рис. 8. HSQC спектр теллимаграндина I

Заключение

Таким образом, методами колоночной хроматографии и препаративной ВЭЖХ из экстракта листьев *C. sericea* был выделен в чистом виде эллаготанин теллимаграндин I. Методами масс-спектрометрии и ^1H -ЯМР-спектроскопии подтверждена структура теллимаграндина I, показаны особенности его хроматографического поведения и объяснена причина образования α - и β -форм у танинов с незамещенной гидроксильной группой при аномерном атоме углерода глюкозы.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений и Российского университета дружбы народов. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Moilanen J., Koskinen P., Salminen J.P. Distribution and content of ellagitannins in Finnish plant species // *Phytochemistry*. 2015. Vol. 116. Pp. 188–197. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.03.002.
2. Moilanen J., Sinkkonen J., Salminen J.P. Characterization of bioactive plant ellagitannins by chromatographic, spectroscopic and mass spectrometric methods // *Chemoecology*. 2013. Vol. 23, no. 3. Pp. 165–179. DOI: 10.1007/s00049-013-0132-3.
3. Aires A. Tannins: Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge. IntechOpen, 2020. 148 p. DOI: 10.5772/intechopen.80170.
4. Vilhelmova-Ilieva N., Galabov A.S., Mileva M. Tannins as antiviral agents // *Tannins-Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.86490.
5. Sieniawska E. Activities of tannins – From in vitro studies to clinical trials // *Natural Product Communications*. 2015. Vol. 10, no. 11. Pp. 1877–1884. DOI: 10.1177/1934578X1501001118.
6. Патент №2098111 (РФ). Способ получения противовирусного препарата «Гипорамин» / О.Н. Толкачев, О.П. Шейченко, И.И. Фадеева, В.И. Шейченко, Т.С. Семенова, Л.Д. Шипулина, С.А. Вичканова. – 1997.
7. Ферубко Е.В., Трумпе Т.Е., Курманова Е.Н., Колхир В.К., Сидельникова Г.Ф., Сидельников Н.И., Громова А.И. Использование фитопрепаратов ФГБНУ ВИЛАР в медицине // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2016. Т. 19, №6. С. 11–15.

8. Вичканова С.А., Крутикова Н.М. Клинические исследования гипорамина при вирусных инфекциях у взрослых и детей // Химия, технология, медицина. 2006. С. 384–391.
9. Caprarulo V., Giromini C., Rossi L. Chestnut and quebracho tannins in pig nutrition: The effects on performance and intestinal health // *Animal*. 2021. Vol. 15, no. 1. Article 100064. DOI: 10.1016/j.animal.2020.100064.
10. Miele S. et al. Hydrolysable tannins in agriculture // *Tannins—Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.86610.
11. Хмыров А.В., Горшков Г.И., Яковлева Е.Г. Фармако-токсикологические свойства гипорамина и перспектива его применения при выращивании цыплят-бройлеров // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2016 Т. 9, №143. С. 137–142.
12. Lotfi R. A commentary on methodological aspects of hydrolysable tannins metabolism in ruminant: A perspective view // *Letters in Applied Microbiology*. 2020. Vol. 71, no. 5. Pp. 466–478. DOI: 10.1111/lam.13346.
13. Baihaqi Z.A. et al. Alternative strategies of plant metabolite secondary “Tannin” for methane emissions reduction on ruminant livestock a reviews of the last 5 years literature // *Adv. Anim. Vet. Sci*. 2022. Vol. 10, no. 3. Pp. 599–606. DOI: 10.17582/journal.aavs/2022/10.3.599.606.
14. Dreger M. et al. Pharmacological properties of fireweed (*Epilobium angustifolium* L.) and bioavailability of ellagitannins. A review // *Herba Polonica*. 2020. Vol. 66, no. 1. Pp. 52–64. DOI: 10.2478/hepo-2020-0001.
15. Chen Y. et al. Identification of ellagitannins in the unripe fruit of *Rubus Chingii* Hu and evaluation of its potential antidiabetic activity // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2019. Vol. 67, no. 25. Pp. 7025–7039. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b02293.
16. Abid M., Yaich H., Cheikhrouhou S., Khemakhem I., Bouaziz M., Attia H., Ayadi M.A. Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC-MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels // *Journal of food science and technology*. 2017. Vol. 54, no. 9. Pp. 2890–2901. DOI: 10.1007/s13197-017-2727-0.
17. Granica S., Czerwińska M., Piwowarski J., Ziaja M., Kiss A. Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seeds cultivation // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013. Vol. 61, no. 4. Pp. 801–810. DOI: 10.1021/jf304002h.
18. Аксенов А.А., Кроль Т.А. Состав и содержание фенольных соединений в листьях трех видов *Cornus* // *Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сборник материалов IX Международная научная конференция молодых учёных*. М., 2021. С. 152–160. DOI: 10.52101/9785870191027_2021_152.
19. Аксенов А.А., Кроль Т.А., Балеев Д.Н., Осипов В.И. Содержание основных групп фенольных соединений в листьях 200 видов лекарственных растений // *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник материалов XI Международного симпозиума*. М., 202. С. 69.
20. Lee S.H. et al. Hydrolysable tannins from *Euphorbia thymifolia* // *Phytochemistry*. 1990. Vol. 29, no. 11. Pp. 3621–3625. DOI: 10.1016/0031-9422(90)85288-Q.

Поступила в редакцию 21 апреля 2023 г.

После переработки 5 сентября 2023 г.

Принята к публикации 6 сентября 2023 г.

Adamov G.V.^{1*}, Aksenov A.A.¹, Vasiliev V.G.², Krol T.A.¹, Goryainov S.V.², Baleev D.N.¹, Osipov V.I.¹ PREPARATIVE ISOLATION OF HYDROLYZABLE TANNINS FROM LEAVES OF *CORNUS SERICEA* L. USING TELLIMAGRAN DIN I AS AN EXAMPLE

¹ All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Grina st., 7, Moscow, 117216, Russia, grig.adamov@mail.ru

² Peoples' Friendship University of Russia, Miklukho-Maklaya st., 8/2, Moscow, 117198, Russia

Hydrolysable tannins are a promising class of natural compounds for medical applications. They have found many pharmacological activities, the most promising of which is antiviral. The difficulty of obtaining pure tannins is one of the main problems in their study. A complex mixture of high molecular weight homologues and isomers is obtained as a result of the biosynthesis of tannins. Some of the tannins additionally complicate the preparative separation significantly because they have a non-standard broad peak shape, which contaminates the nearest peaks when collecting eluates. The rapid change in conformation on the chromatographic column and in solution is the reason.

The paper describes a complex method for the isolation of hydrolyzable tannins from the leaves of *Cornus sericea* L. The method includes obtaining an extract from plant materials, its fractionation on a Sephadex LH-20 column, and isolation of individual hydrolyzable tannins using preparative high-performance liquid chromatography with a UV detector on a Silasorb C18 column. The second stage includes purification on a Luna® C18 column. Ultra-performance liquid chromatography with diode and mass spectrometric detector and 1H-NMR spectroscopy were used to identify the isolated hydrolysable tannins and evaluate their purity. Using isolated tellimagrandin I as an example, the features of the chromatographic behavior of hydrolysable tannins with a free hydroxyl group at the anomeric carbon atom of glucose are shown. This type of substances have two isomers and simultaneously exist in α - and β -forms.

Keywords: hydrolysable tannins, *Cornus sericea* L., tellimagrandin I, preparative HPLC-UV, UPLC-DD-MS, ¹H-NMR.

For citing: Adamov G.V., Aksenov A.A., Vasiliev V.G., Krol T.A., Goryainov S.V., Baleev D.N., Osipov V.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 2, pp. 310–319. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprn.20240212901.

References

1. Moilanen J., Koskinen P., Salminen J.P. *Phytochemistry*, 2015, vol. 116, pp. 188–197. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.03.002.
2. Moilanen J., Sinkkonen J., Salminen J.P. *Chemoecology*, 2013, vol. 23, no. 3, pp. 165–179. DOI: 10.1007/s00049-013-0132-3.
3. Aires A. *Tannins: Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. IntechOpen, 2020, 148 p. DOI: 10.5772/intechopen.80170.
4. Vilhelmova-Ilieva N., Galabov A.S., Mileva M. *Tannins-Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.86490.
5. Sieniawska E. *Natural Product Communications*, 2015, vol. 10, no. 11, pp. 1877–1884, DOI: 10.1177/1934578X1501001118.
6. Patent 2098111 (RU). 1997. (in Russ.).
7. Ferubko Ye.V., Trumpe T.Ye., Kurmanova Ye.N., Kolkhir V.K., Sidel'nikova G.F., Sidel'nikov N.I., Gromakova A.I. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*, 2016, vol. 19, no. 6, pp. 11–15. (in Russ.).
8. Vichkanova S.A., Krutikova N.M. *Khimiya, tekhnologiya, meditsina*, 2006, pp. 384–391. (in Russ.).
9. Caprarulo V., Giromini C., Rossi L. *Animal*, 2021, vol. 15, no. 1, article 100064. DOI: 10.1016/j.animal.2020.100064.
10. Miele S. et al. *Tannins-Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge*. IntechOpen, 2019, DOI: 10.5772/intechopen.86610.
11. Khmyrov A.V., Gorshkov G.I., Yakovleva Ye.G. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, vol. 9, no. 143, pp. 137–142. (in Russ.).
12. Lotfi R. *Letters in Applied Microbiology*, 2020, vol. 71, no. 5, pp. 466–478. DOI: 10.1111/lam.13346.
13. Baihaqi Z.A. et al. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 2022, vol. 10, no. 3, pp. 599–606. DOI: 10.17582/journal.aavs/2022/10.3.599.606.
14. Dreger M. et al. *Herba Polonica*, 2020, vol. 66, no. 1, pp. 52–64. DOI: 10.2478/hepo-2020-0001.
15. Chen Y. et al. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2019, vol. 67, no. 25, pp. 7025–7039. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b02293.
16. Abid M., Yaich H., Cheikhrouhou S., Khemakhem I., Bouaziz M., Attia H., Ayadi M.A. *Journal of food science and technology*, 2017, vol. 54, no. 9, pp. 2890–2901. DOI: 10.1007/s13197-017-2727-0.
17. Granica S., Czerwińska M., Piwowarski J., Ziaja M., Kiss A. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2013, vol. 61, no. 4, pp. 801–810. DOI: 10.1021/jf304002h.
18. Aksenov A.A., Krol' T.A. *Sovremennyye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'yesberezheniya: sbornik materialov IX Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya molodykh uchonykh*. [Modern trends in the development of health-saving technologies: Collection of materials IX International Scientific Conference of Young Scientists]. Moscow, 2021, pp. 152–160. DOI: 10.52101/9785870191027_2021_152. (in Russ.).

* Corresponding author.

19. Aksenov A.A., Krol' T.A., Baleev D.N., Osipov V.I. *Fenol'nyye soyedineniya: fundamental'nyye i prikladnyye aspekty: sbornik materialov XI Mezhdunarodnogo simpoziuma*. [Phenolic compounds: fundamental and applied aspects: Collection of materials of the XI International Symposium]. Moscow, 2022, p. 69. (in Russ.).
20. Lee S.H. et al. *Phytochemistry*, 1990, vol. 29, no. 11, pp. 3621–3625. DOI: 10.1016/0031-9422(90)85288-Q.

Received April 21, 2023

Revised September 5, 2023

Accepted September 6, 2023

Сведения об авторах

Адамов Григорий Васильевич – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник, grig.adamov@mail.ru

Аксёнов Андрей Алексович – научный сотрудник, Andrej.a.aksenov@gmail.com

Васильев Василий Геннадьевич – кандидат химических наук, заведующий лабораторией имени профессора Г.А. Калабина НОИЦ, vasilyev-vg@rudn.ru

Кроль Татьяна Анатольевна – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, tatianakroll1@gmail.com

Горяинов Сергей Владимирович – кандидат химических наук, начальник отдела ГХХМС и ЯМР НОИЦ «Фармация», goryainovs@list.ru

Балеев Дмитрий Николаевич – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, dbaleev@gmail.com

Осипов Владимир Ионович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, ossipov@utu.fi

Information about authors

Adamov Grigory Vasilievich – Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior researcher, grig.adamov@mail.ru

Aksenov Andrey Aleksovich – research fellow, Andrej.a.aksenov@gmail.com

Vasiliev Vasily Gennadievich – candidate of chemical sciences, head of the laboratory named after Professor G.A. Kalabin of the Scientific and Educational Resource Center, vasilyev-vg@rudn.ru

Krol Tatyana Anatolyevna – Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher, tatianakroll1@gmail.com

Goryainov Sergey Vladimirovich – candidate of chemical sciences, head of the department of GCMS and NMR of the Scientific and Educational Resource Center "Pharmacia", goryainovs@list.ru

Baleev Dmitry Nikolaevich – candidate of agricultural sciences, leading researcher, dbaleev@gmail.com

Osipov Vladimir Ionovich – Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, ossipov@utu.fi