

УДК 547.587:574.24

## СОСТАВ ПОЛИФЕНОЛОВ В БИОМАТЕРИАЛАХ РОССИЙСКИХ ХВОЙНЫХ ПОРОД

© А.Б. Гаврилов<sup>1</sup>, С.И. Горяинов<sup>2</sup>, А.А. Мариничев<sup>3</sup>, Н.Н. Гесслер<sup>4</sup>, О.И. Кляйн<sup>4</sup>, Е.П. Исакова<sup>4</sup>, Ю.И. Дерябина<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Институт биологического приборостроения РАН, ул. Институтская, 7, Пущино, 142290 (Россия)

<sup>2</sup> Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198 (Россия)

<sup>3</sup> Московский политехнический университет, ул. Большая Семеновская, 38, Москва, 107023 (Россия)

<sup>4</sup> Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Ленинский проспект, 33/2, Москва, 119071 (Россия), e-mail: yul\_der@mail.ru

Проведено исследование общего содержания полифенолов и суммарной антиоксидантной активности в экстрактах образцов древесины и коры хвойных пород деревьев: ели обыкновенной (*Picea abies*), сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), сосны кедровой (*Pinus sibirica*), лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) из 7 регионов европейской части Российской Федерации. Экстракция полифенолов проводилась 20% раствором этилового спирта с помощью экстрактора ВЭР-200. Общее содержание полифенолов проводили спектрофотометрически с реактивом Фолина-Чокальтеу. Определение суммарного содержания антиоксидантов проводили на жидкостном хроматографе «Цвет-Яуза -01-АА» по оценке окисления экстракта на поверхности рабочего электрода. В качестве стандарта использовали галловую кислоту. Идентификация полифенольных компонентов проводилась методом хроматомасс-спектрологии с использованием 42 стандартных образцов фенольных и полифенольных соединений. В полученных экстрактах было идентифицировано 15 соединений фенольной природы: салициловая и феруловая кислоты, стильбены ресвератрол и изорапонтигенин, флавоноиды катехин, катехол, дигидрокверцетин, кверцетин, дигидрокемпферол, кемпферол, дигидромирицетин, лютеолин, апигенин, хризин, пиноцембрин. Наиболее богатыми полифенолами были идентифицированы биоматериалы ели обыкновенной, сосны обыкновенной и сосны кедровой из северных регионов РФ – Пермского края и Вологодской области. Сделано заключение о перспективности применения биоматериалов российских хвойных пород в качестве доступного источника биологически активных полифенолов.

*Ключевые слова:* полифенолы, природные антиоксиданты, хроматомасс-спектрометрия, хвойные породы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Соглашения № 14.574.21.0031 от «17» июня 2014 г. Уникальный идентификатор соглашения RFMEFI57414X0031.*

### Введение

Биосинтез вторичных соединений, к которым относятся фенольные компоненты, можно рассматривать как экофизиологический ответ растения на действие различных абиотических факторов [1]. Содержание фенольных соединений в растительных объектах является неспецифическим индикатором стресса, что связывают с их антиоксидантными свойствами. Их содержание повышается при действии таких стрессорных факторов, как высушивание, засоление, повышение уровня тяжелых металлов, действие ультрафиолетового излучения, низкие температуры, механические повреждения, нападение насекомых, действие патогенных организмов [2, 3]. В настоя-

Гаврилов Анатолий Брониславович – кандидат технических наук, заведующий отделом, e-mail: ibrabg@yandex.ru

Горяинов Сергей Владимирович – заведующий лабораторией, e-mail: goryinovs@list.ru

Окончание на С. 52.

\* Автор, с которым следует вести переписку.

шее время роль фенольных и полифенольных соединений в обеспечении резистентности к низким температурам интенсивно изучается [4]. Акклиматизация к холоду у растений сопровождается повышением уровня флавоноидов, что было показано на различных культурах [5, 6].

У представителей хвойных деревьев также отмечено изменение уровня фенольных и полифенольных соединений в ответ на изменения температурного режима. При наступлении ранней зимы акклиматизация сибирской ели *Picea obovata* происходила на фоне изменения метаболизма углеводов, липидов, аминокислот, а также повышения содержания катехинов и лютеолина [7]. При осенней акклиматизации в хвое 4-летних сеянцев ситхинской ели (*Picea sitchensis*), растущих на разной широте (от Калифорнии до Аляски), повышалось содержание катехинов и антоцианов, причем наиболее значительное (в 2–5 раз) изменение уровня катехинов наблюдалось в популяциях южной и умеренной зон, менее приспособленных к морозам. Содержание флавоноидов (кверцетина, кемпферола и мирицитина) повышалось незначительно на фоне снижения транскриптов соответствующих ферментов, однако исходное содержание этих соединений в хвое растений, растущих на Аляске, было в несколько раз выше, чем у растений более южных широт [8]. При деакклиматизации, напротив, происходило снижение уровня полифенолов [9, 10].

Различные производные стильбена (пиносильвин, пицеатанол, астрингин) характерны для представителей хвойных пород родов *Pinus* и *Picea* [11–13]. Хорошим источником транс-ресвератрола (104 мкг/г сухого веса) и других полифенолов признана кора черной ели *Picea mariana*, ареал которой распространяется от Аляски до острова Ньюфаундленд [14]. В Норвегии исследовали содержание биоактивных стильбеновых гликозидов в коре и древесине ели *Picea abies* (астрингин, изорапонтин, писеид) после их экстракции ацетоном. В коре 37-летних деревьев содержание стильбеновых гликозидов было на 10–60% выше, чем в коре 18-летних елей. Внутренние слои коры содержали до 4.8% гликозидов ресвератрола в расчете на сухой вес [15]. Значительные количества транс-ресвератрола обнаружены в коре черной ели *Picea mariana*, растущей на Севере Канады и на Аляске. Экстракция горячей водой позволила получить до 104 мкг/г сухого веса этого соединения [14].

Полифенолы растительного происхождения являются одним из наиболее активно используемых в фармацевтике и парафармацевтике типов антиоксидантов [16, 17]. Эти соединения успешно применяются для лечения заболеваний, имеющих сложносоставную этиологию: нейродегенеративных расстройств различного происхождения, аутоиммунных, аллергических, онкологических и прионных [18]. Хвойные деревья уже используются для получения биологически активных полифенолов, в частности, препараты дигидрокверцетина и дигидрокемпферола из лиственницы, пикногинол из коры сосны приморской *Pinus maritima* [19, 20]. Эти препараты проявляют высокую биологическую активность и показаны при целом ряде заболеваний (кардиоваскулярных, нейродегенеративных, диабете, печеночной дисфункции и т.д.) [21]. Состав полифенолов в препаратах определяется широким спектром факторов: происхождением растения, условиями выращивания, наличием экологических факторов, способом извлечения полифенольных соединений. Наличие хвойных лесов на территории РФ делает перспективным использование отходов деревоперерабатывающей промышленности в качестве доступных источников полифенолов.

Целью представленной работы является тестирование широкого спектра биоматериалов хвойных пород, доступных на территории РФ, на содержание в них биологически активных полифенолов для выявления потенциальных источников этих соединений.

### Экспериментальная часть

Сбор образцов коры и древесины хвойных пород (сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), сосны кедровой (*Pinus sibirica*), ели обыкновенной (*Picea abies*), лиственницы сибирской (*Larix sibirica*), можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*)) был произведен в семи различных регионах РФ: Воронежской, Тамбовской, Липецкой, Вологодской, Владимирской областях, Пермском крае и Республике Крым. Образцы заготавливали в разрешенных для этого местах – санитарных рубках и лесных хозяйствах. Для сбора образцов использовались растения старше 25 лет (примерный диаметр ствола не менее 30 см), за исключением растений можжевельника, возраст которых

---

Мариничев Антон Алексеевич – студент,  
e-mail: anton1796@mail.ru

Гесслер Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,  
e-mail: gessler51@mail.ru

Кляйн Ольга Ивановна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной инженерии, e-mail: klein\_olga@list.ru

Исакова Елена Павловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической и эволюционной биохимии, e-mail: elen\_iss@mail.ru

Дерябина Юлия Ивановна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экологической и эволюционной биохимии, e-mail: yul\_der@mail.ru

В Воронежской, Тамбовской, Липецкой, Вологодской, Владимирской областях, Пермском крае и Республике Крым. Образцы заготавливали в разрешенных для этого местах – санитарных рубках и лесных хозяйствах. Для сбора образцов использовались растения старше 25 лет (примерный диаметр ствола не менее 30 см), за исключением растений можжевельника, возраст которых

определялся не менее 15 лет. Образцы древесины собирали путем изготовления спилов стволов и (или) нижних ветвей деревьев. Образцы коры получали путем срезания верхней части коры острым топориком или ножом, не повреждая нижние слои коры и древесины растения. Собранные образцы хранили в темноте при температуре не выше +6 °С.

Образцы древесины и коры, используемые для тестирования, были измельчены до состояния пульпы и высушены до воздушно-сухого состояния при температуре +50–55 °С. Влажность образцов определялась в соответствии со стандартной методикой для растительного сырья [22]. Затем измельченные биоматериалы подвергались троекратной экстракции 20% раствором этилового спирта из расчета 10 кг материала на 40 л раствора с рециклингом в течение 10 мин. Экстракцию проводили с помощью экстрактора ВЭР-200. После центрифугирования смеси полученные экстракты упаривали в дистилляторной установке Formeco Professional Distatic 60 до объема 0.3 л.

Дополнительная очистка полученных экстрактов проводилась путем выстаивания образцов сначала при комнатной температуре, затем при 2 °С, что позволяло удалить смолы. Далее образцы выдерживали при -20 °С для кристаллизации полифенолов. Высушенные экстракты полученных образцов полифенолов (10 г) помещали в емкость для экстракции, заливали 20% водным раствором этилового спирта (100 мл), закрывали крышкой и встряхивали в течение 2 ч при комнатной температуре в шейкере со скоростью 65 об./мин. Далее экстракт фильтровали через сухой бумажный фильтр (черная лента) в сухой флакон и использовали для дальнейшего анализа.

В полученных экстрактах общее содержание полифенолов (ОПФ) проводили спектрофотометрически с реактивом Фолина-Чокальтеу по методике, рекомендованной для контроля качества и безопасности пищевых добавок [23].

Определение суммарного содержания антиоксидантов (ССА) проводили на жидкостном хроматографе «Цвет-Яуза-01-АА» (производство ОАО НПО «Химавтоматика»). Принцип определения ССА основан на оценке окисления исследуемого вещества на поверхности рабочего электрода и возрастании электрического тока, протекающего между двумя электродами. Рабочий электрод выполнен из стеклогуглерода – наиболее универсального материала для определения полифенольных соединений. Элюентом служил 0.0022 М раствор ортофосфорной кислоты. При определении ССА в качестве стандарта использовали галловую кислоту (производство Panreac, Испания) в концентрации 0.1 г/л. Измерение выходного сигнала (площади пика) анализируемого образца производили в соответствии с методикой к хроматографу «Цвет-Яуза-01-АА».

Идентификация полифенольных компонентов проводилась методом масс-спектропии с использованием 42 стандартных образцов фенольных и полифенольных соединений. В работе использовали жидкостный хроматограф Agilent Infinity 1290 с входящими в его комплектацию насосом, автосемплером, термостатом, диодно-матричным детектором и масс-детектором Triple Quad Agilent 6460 Agilent Technologies США 2014. Регистрацию масс-спектров осуществляли в режиме ионизации распылением в электрическом поле (регистрация положительных и отрицательных ионов), поток газа-осушителя – 10 л/мин, температура газа-осушителя – 320 °С, напряжение на фрагменторе – 135 В, на капилляре – 4000 В.

Управление сбором и обработкой масс-спектральных данных на всех этапах работы осуществлялось с помощью стандартного программного обеспечения масс-спектрометров фирмы Agilent, а именно программного обеспечения «Mass Hunter». Данная система позволяет полностью автоматизировать настройку масс-детектора, задание и контроль режимных параметров, регистрацию выходных сигналов, обработку экспериментальных данных, включая идентификацию веществ и выдачу результатов анализа.

### **Обсуждение результатов**

Общее количество образцов, собранных в 7 регионах РФ, составило 38, из них 19 образцов коры и 19 образцов древесины. Результаты исследований показали, что ОПФ в полученных образцах имело некоторую корреляцию с влажностью биоматериалов. Так, самое высокое содержание полифенолов, найденное в коре ели обыкновенной (*Picea abies*), собранной в регионе Пермского края (табл. 1), коре этого растения из Вологодской области и еловой древесине из Владимирской области наблюдалось в биоматериалах, имеющих влажность от 33 до 44%. В преимущественном большинстве проверенных вариантов как пониженная (ниже 25%), так и высокая (выше 45%) влажность образцов древесины соответствовала низкому ОПФ (табл. 1). В случае образцов коры такой закономерности обнаружено не было, однако, следует подчеркнуть, что образцы коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) и сосны кедровой (*Pinus sibirica*), собранные в Республике Крым и имеющие влажность ниже 15%, обладали чрезвычайно низкими (ниже 0.1 мг/мл) величинами ОПФ и ССА (не показано). ССА в большинстве проанализированных образцов коррелировала с ОПФ (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика экстрактов биоматериалов хвойных пород

Порода дерева	Образец	Влажность, %	Общее содержание полифенолов, мг/мл	Суммарное содержание антиоксидантов, мг/мл
Образцы из Пермского края				
Сосна обыкновенная	кора	40.68±4.1	0.264±0.03	0.496±0.05
Сосна обыкновенная	древесина	48.32±4.5	0.051±0.048	0.099±0.011
Ель обыкновенная	кора	34.99±3.7	1.861±0.2	0.551±0.046
Ель обыкновенная	древесина	60.93±6.2	0.026±0.03	0.080±0.007
Сосна кедровая	кора	32.75±3.0	0.103±0.009	0.194±0.021
Сосна кедровая	древесина	53.15±5.1	0.044±0.005	0.045±0.005
Можжевельник обыкновенный	кора	28.20±2.8	0.143±0.014	0.086±0.009
Можжевельник обыкновенный	древесина	29.40±2.5	0.028±0.003	0.055±0.006
Лиственница сибирская	кора	22.03±1.9	0.368±0.041	0.198±0.022
Лиственница сибирская	древесина	52.03±5.4	0.141±0.015	0.202±0.018
Образцы из зоны Центрального Черноземья				
Лиственница сибирская	кора	14.61±1.3	0.460±0.05	0.418±0.039
Лиственница сибирская	древесина	14.52±4.0	0.197±0.001	0.189±0.08
Сосна обыкновенная	кора	12.73±1.0	0.353±0.13	0.190±0.1
Сосна обыкновенная	древесина	25.45±7.4	0.139±0.13	0.101±0.083
Образцы из Вологодской области				
Можжевельник обыкновенный	древесина	36.03±3.2	0.128±0.011	0.097±0.1
Сосна обыкновенная	кора	51.14±5.1	0.552±0.101	0.248±0.04
Сосна обыкновенная	древесина	61.48±4.6	0.034±0.010	0.082±0.003
Ель обыкновенная	кора	44.33±7.9	0.865±0.040	0.551±0.11
Ель обыкновенная	древесина	35.19±4.3	0.071±0.050	0.072±0.002
Сосна кедровая	древесина	58.02±5.0	0.122±0.041	0.070±0.05
Образцы из Владимирской области				
Ель обыкновенная	кора	13.74±0.7	0.378±0.037	0.071±0.006
Ель обыкновенная	древесина	33.51±1.8	1.184±0.08	0.350±0.023
Сосна обыкновенная	кора	17.14±0.7	0.042±0.03	0.0695±0.001
Сосна обыкновенная	древесина	52.47±4.9	0.010±0.001	0.078±0.006

Анализ ОПФ и ССА в образцах коры исследованных древесных пород продемонстрировал более высокие базовые показатели по сравнению с найденными в древесине (табл. 1). Так, сравнительный анализ ОПФ показал, что этот параметр для коры превышал аналогичный показатель, вычисленный для древесины, в 2–71, 2.3–2.5, 12–16 и 4.2 раза для Пермского края, Центрального Черноземья, Вологодской и Владимирской областей соответственно. Единственным исключением этой закономерности послужили образцы древесины и коры ели обыкновенной (*Picea abies*) из Владимирской области, где ОПФ в древесине в 3.12 раза превышало параметр, полученный для коры (табл. 1).

Анализ зависимости ОПФ и ССА от вида исследованных растений показал, что абсолютными лидерами как в содержании полифенолов, так и в антиоксидантной активности были признаны образцы ели обыкновенной (*Picea abies*) из трех регионов – Пермского края, Вологодской и Владимирской областей. Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*) и лиственница сибирская (*Larix sibirica*) также отличались достаточно высокими, по отношению к другим изученным видам, показателями ОПФ и ССА. Результаты исследований также показали, что образцы биоматериалов хвойных пород из северных регионов РФ – Пермского края и Вологодской области – отличались высоким содержанием полифенолов (табл. 1).

В таблице 2 представлены результаты масс-спектрометрического анализа полифенолов в экстрактах 26 образцов деревьев хвойных пород (сосны обыкновенной и ели обыкновенной), собранных в разных регионах территории РФ. В ходе идентификации качественного состава полифенолов по масс-спектральным характеристикам было выявлено наличие в образцах 15 соединений фенольной природы (табл. 2). Из фенольных кислот салициловая кислота в коре сосны и ели обнаруживалась в 20–25% образцов, а в древесине – в 50%. Из оксикоричных кислот была идентифицирована феруловая кислота. Стильбеноиды были представлены ресвератролом и реже встречающимся изорапигенином. Из флавоноидов в образцах наиболее часто встречающимися были выявлены катехин, катехол, дигидрокверцетин, дигидрокемпферол, тогда как кверцетин был идентифицирован только в образцах сосны обыкновенной в 12–20% случаев, а кемпферол оказался характерен для образцов ели. Флаваноиды были представлены также лютеолином (кора ели и древе-

сина сосны), апигенином, хризином и пиноцембрином. Дигидромирицетин был обнаружен в 20–25% образцов сосны обыкновенной (табл. 2). Следует отметить, что из коры ели сибирской после удаления смолистых веществ гексаном экстракция этилацетатом позволила извлечь дигидрокверцетин, а также гликозиды стильбеноидов – изорапонтина и астрингина [13].

Экстракты коры и древесины кедровой сосны не отличались высоким общим содержанием полифенолов и антиоксидантов (табл. 1), однако масс-спектрометрическим методом в их составе было выявлено наличие стильбеновых производных – ресвератрола и изорапнтигенина (кора), а также флавоноидов апигенина, хризина и пиноцембрина (в коре и древесине). В экстрактах коры сосны кедровой присутствовали также другие полифенольные соединения, характерные для хвойных пород: катехол, катехин, дигидрокверцетин, кверцетин, кемпферол. Масс-спектрометрический анализ экстрактов коры лиственницы показал присутствие в них катехола, катехина, дигидрокверцетина, кверцетина, кемферола, дигидромирицитина и ресвератрола. В экстрактах древесины лиственницы наряду с катехолом, катехином и дигидрокверцетином были идентифицированы дигидрокемпферол, лютеолин и пиноцембрин, не обнаруженные в экстрактах коры.

Таким образом, исследование качественного состава водно-спиртовых экстрактов коры и древесины хвойных пород, произрастающих на территории России, свидетельствует о высокой антиоксидантной активности и значительном содержании полифенолов в образцах хвойных пород деревьев. Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее высокие показатели содержания полифенолов принадлежат образцам из северных регионов – Пермского края и Вологодской области, по сравнению с более южными регионами (табл. 1). Кора также дает более высокий выход полифенолов и показывает большее их разнообразие (табл. 2).

Таблица 2. Качественный состав полифенольных и фенольных соединений экстрактов образцов сосны и ели

Фенольное соединение	Встречаемость соединения в образцах, %			
	Сосна обыкновенная		Ель обыкновенная	
	Кора	Древесина	Кора	Древесина
Салициловая кислота M[-H]- = 137.1; M[+H]+ = 139.0	20	50	25	50
Феруловая кислота M[-H]- = 177.1; M[+H]+ = 178.0	60	75	100	50
Катехол M[-H]- = 109.1; M[+H]+ = 111.0	70	75	100	100
Катехин M[-H]- = 289.1; M[+H]+ = 291.0	80	62	100	100
Кверцетин M[-H]- = 301.0; M[+H]+ = 303.0	20	37	Не обн.	Не обн.
Дигидрокверцетин M[-H]- = 303.1; M[+H]+ = 305.0	100	75	75	100
Кемпферол M[-H]- = 285.1; M[+H]+ = 287.0	20	12	75	75
Дигидрокемпферол M[-H]- = 287.0; M[+H]+ = 289.1	100	87	75	75
Лютеолин M[-H]- = 285.0; M[+H]+ = 287.0	20	62	100	Не обн.
Апигенин M[-H]- = 269.0; M[+H]+ = 271.0	20	50	50	25
Хризин M[-H]- = 253.0; M[+H]+ = 255.0	10	12	25	Не обн.
Пиноцембрин M[-H]- = 255.1; M[+H]+ = 257.1	50	62	50	50
Дигидромирицетин M[-H]- = 319.0; M[+H]+ = 321.0	20	25	Не обн.	Не обн.
Ресвератрол M[-H]- = 227.0; M[+H]+ = 229.1	50	50	75	50
Изорапонтигенин M[-H]- = 257.1; M[+H]+ = 259.1	10	50	25	Не обн.

Из присутствующих в образцах экстрактов полифенолов дигидрокверцетин и дигидрокемпферол, получаемый из комля лиственницы сибирской и даурской, нашел применение как антиоксидантный препарат. Наличие в образцах ресвератрола, наиболее широко используемого в медицине стильбена [20], подтверждает возможность использования коры хвойных деревьев, наряду с кожей и косточками винограда, как альтернативного источника этого соединения. Выявленные в образцах хвойных другие полифенолы также представляют большой интерес. Так, лютеолин, обнаруживаемый в брокколи, сельдерее, мяте, розмарине, а также в широко используемом в Индии растении харитаки (*Terminalia chebula*), интенсивно изучается в связи с его способностью тормозить пролиферацию раковых клеток [21]. Малоизученный апигенин, также проявляющий противораковую активность, содержится в петрушке, шпинате, пряных растениях. Хризин, выделенный из американского растения пассифлоры голубой (*Passiflora caerulea*), приобрел известность как соединение, повышающее уровень тестостерона в крови и позволяющее быстрее наращивать мышечную массу спортсменам. Пиноцембрин содержится в лекарственном растении солодке голой (*Glycyrrhiza glabra*), меде, прополисе [24]. Этот флавоноид обладает выраженным противомикробным действием.

Таким образом, проведенные в нашей работе исследования демонстрируют, что биоматериалы российских хвойных пород могут служить богатым источником широкого числа важнейших полифенольных соединений, применяемых в качестве компонентов потенциальных фармацевтических субстанций для коррекции целого ряда социально значимых заболеваний. Обнаружение биологически активных полифенольных соединений в коре и древесине хвойных растений, растущих на территории России, позволяет рассматривать их в качестве перспективного и доступного сырья для получения этих соединений.

### Список литературы

1. Kliebenstein D.J., Osbourn A. Making new molecules – evolution of pathways for novel metabolites in plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2012. Vol. 15. N4. Pp. 415–423. DOI: 10.1016/j.pbi.2012.05.005.
2. Ramakrishna A., Ravishankar G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants // *Plant Signal Behav.* 2011. Vol. 6. N11. Pp. 1720–1731. DOI: 10.4161/psb.6.11.17613.
3. Chalker-Scott L., Fuchigami L.H. The role of phenolic compounds in plant stress responses // *Low temperature stress physiology in crops*. Boca Raton: CRC Press, 1989. Pp. 68–76.
4. Strimbeck G.R., Schaberg P.G., Fossdal C.G., Schröder W.P., Kjellsen T.D. Extreme low temperature tolerance in woody plants // *Front. Plant Sci.* 2015. Vol. 6. e884. DOI: 10.3389/fpls.2015.00884.
5. Schulz E., Tohge T., Zuther E., Fernie A.R., Hincha D.K. Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Science*. 2001. Vol. 160. Pp. 315–321. DOI: 10.1038/srep34027.
6. Jones C.G., Hartley S.E. Global change and plant phenolic concentrations: species level predictions using protein competition model // *Responses of plant metabolism to air pollution and global change*. Leiden: Backhuys Publishers, 1998. Pp. 23–50.
7. Angelcheva L., Mishra Y., Antti H., Kjellsen T.D., Funk C., Strimbeck R.G., Schröder W.P. Metabolomic analysis of extreme freezing tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*) // *New Phytol.* 2014. Vol. 204. N3. Pp. 545–555. DOI: 10.1111/nph.12950.
8. Dauwe R., Holliday J.A., Aitken S.N., Mansfield S.D. Metabolic dynamics during autumn cold acclimation within and among populations of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) // *New Phytol.* 2012. Vol. 194. N1. Pp. 192–205. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.04027.x.
9. Pukacki P.M., Kamińska-Rozek E. Reactive species, antioxidants and cold tolerance during deacclimation of *Picea abies* populations // *Acta Physiol. Plant.* 2013. Vol. 35. N1. Pp. 129–138. DOI: 10.1007/s11738-012-1055-2.
10. Dhuli P., Rohloff J., Strimbeck G.R. Metabolite changes in conifer buds and needles during forced bud break in Norway spruce (*Picea abies*) and European silver fir (*Abies alba*) // *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5. e706. DOI: 10.3389/fpls.2014.00706.
11. Chong J., Poutaraud A., Huguency P. Metabolism and roles of stilbenes in plants // *Plant Science*. 2009. Vol. 177. N3. Pp. 143–155. DOI: 10.1016/j.plantsci.2009.05.012.
12. Gabastona J., Richarda T., Biaisa B., Waffo-Teguoa P., Pedrota E., Jourdesa M., et al. Stilbenes from common spruce (*Picea abies*) bark as natural antifungal agent against downy mildew (*Plasmopara viticola*) // *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 103. N2. Pp. 267–273. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.04.009.
13. Федорова Т.Е., Федоров С.В., Бабкин В.А. Фенольные соединения коры *Picea obovata* Ledeb // *Химия растительного сырья*. 2018. №1. С. 89–95. DOI: 10.14258/jcprm.2018012683.
14. Garcia-Perez M.E., Royer M., Herbette G., Desjardins Y., Pouliot R., Stevanovic T. *Picea mariana* bark: A new source of trans-resveratrol and other bioactive polyphenols // *Food Chem.* 2012. Vol. 135. N3. Pp. 1173–1182. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.050.
15. Jyske T., Laakso T., Latva-Mäenpää H., Tapanioli T., Saranpää P. Yield of stilbene glucosides from the bark of young and old Norway spruce stems // *Biomass and Bioenergy*. 2014. Vol. 71. N2. Pp. 216–227. DOI: 10.1016/j.biombioe.2014.10.005.

16. Simioni C., Zauli G., Martelli A.M., Vitale M., Sacchetti G., Gonelli A., Neri L.M. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adult hood and aging // *Oncotarget*. 2018. Vol. 30. N9. Pp. 17181–17198. DOI: 10.18632/oncotarget.24729.
17. Perez-Vizcaino F., Fraga C.G. Research trends in flavonoids and health // *Arch. Biochem. Biophys.* 2018. Vol. 646. Pp. 107–112. doi: 10.1016/j.abb.2018.03.022.
18. Akinwumi B.C., Bordun K.M., Anderson H.D. Biological activities of stilbenoids // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19. N3. e792. DOI: 10.3390/ijms19030792.
19. Пермякова Г.В., Лоскутов С.Р., Семенович А.В. Экстракция коры хвойных водно-органическими экстрагентами // *Химия растительного сырья*. 2008. №2. С. 43–46.
20. Теплова В.В., Исакова Е.П., Кляйн О.И., Дергачева Д.И., Гесслер Н.Н., Дерябина Ю.И. Природные полифенолы: биологическая активность, фармакологический потенциал, пути метаболической инженерии // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2018. Т. 54. №3. С. 215–235. DOI: 10.7868/S0555109918030017.
21. Kim J.S., Jobin C. The flavonoid luteolin prevents lipopolysaccharide-induced NF- $\kappa$ B signalling and gene expression by blocking I $\kappa$ B kinase activity in intestinal epithelial cells and bone-marrow derived dendritic cells // *Immunology*. 2005. Vol. 115. N3. Pp. 375–387. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02156.x.
22. Шарков В.И., Куйбина Н.И., Соловьева Ю.П. Количественный химический анализ растительного сырья. М.: Лесная промышленность, 1968. С. 6.
23. Руководство Р4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М., 2003.
24. Маматханова М.А., Абдурахманов Б.А., Нигматуллаев Б.А., Сотимов Г.Б., Халилов Р.М., Маматханов У. Изучение надземной части *Glusythiza glabrata* в качестве перспективного сырья для производства препаратов на основе флаваноидов // *Химия растительного сырья*. 2016. №1. С. 171–176. DOI: 10.14258/jcrpm.201601685.

Поступила в редакцию 6 июля 2018 г.

После переработки 11 октября 2018 г.

Принята к публикации 28 октября 2018 г.

**Для цитирования:** Гаврилов А.Б., Горяинов С.И., Мариничев А.А., Гесслер Н.Н., Кляйн О.И., Исакова Е.П., Дерябина Ю.И. Состав полифенолов в биоматериалах российских хвойных пород // *Химия растительного сырья*. 2019. №2. С. 51–58. DOI: 10.14258/jcrpm.2019024260.

*Gavrilov A.B.<sup>1</sup>, Goryainov S.I.<sup>2</sup>, Marinichev A.A.<sup>3</sup>, Gessler N.N.<sup>4</sup>, Klyayn O.I.<sup>4</sup>, Isakova Ye.P.<sup>4</sup>, Deryabina Yu.I.<sup>4\*</sup>* POLYPHENOL COMPOSITION IN THE SAMPLES FROM RUSSIAN CONIFERS

<sup>1</sup> Institute for Biological Instrument Engineering, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya, 7, Pushchino, 142290 (Russia)

<sup>2</sup> Peoples' Friendship University of Russia, ul. Miklukho-Maklaya, 6, Moscow, 117198 (Russia)

<sup>3</sup> Moscow Polytechnic University, ul. Bolshaya Semenovskaya, 38, Moscow, 107023 (Russia)

<sup>4</sup> Institute of Biochemistry A.N. Bach RAS, Leninsky Prospect, 33/2, Moscow, 119071 (Russia), e-mail: yul\_der@mail.ru

A total polyphenol content and total antioxidant activity in the extracts isolated from coniferous wood and bark, namely common spruce (*Picea abies*), common pine (*Pinus sylvestris*), cedar pine (*Pinus sibirica*), siberian larch (*Larix sibirica*), juniper (*Juniperus communis*) from 7 regions of the European Russia were under study. Extraction of polyphenols was performed using a 20% ethyl alcoholic solution with a VER-200 extractor. The total polyphenol content was performed spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu reagent. The total antioxidants capacity was assayed with a Tsvet-Yauza-01-AA liquid chromatograph to assess the extract oxidation on the working electrode surface. Gallic acid served as the standard. For polyphenolic components identification we used the gas chromatography-mass spectroscopy with 42 standard samples of phenolic and polyphenolic compounds as the standards. 15 compounds of phenolic nature, namely salicylic and ferulic acids, stilbenes of resveratrol and isoranthigenin, flavonoids of catechin, catechol, dihydroquercetin, quercetin, dihydrokempferol, kempferol, dihydromyrcetin, luteolin, apigenin, chrysin, pinocembrin. The extracts from common spruce (*Picea abies*), common pine (*Pinus sylvestris*), and cedar pine (*Pinus sibirica*) from the Eastern Russian regions, namely Perm and Vologda regions. The application of Russian conifers bark and wood is concluded to be a promising source of biologically active polyphenols.

**Keywords:** polyphenols, natural antioxidants, reactive oxygen species, conifers.

\* Corresponding author.

**References**

1. Kliebenstein D.J., Osbourn A. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2012, vol. 15, no. 4, pp. 415–423, DOI: 10.1016/j.pbi.2012.05.005.
2. Ramakrishna A., Ravishankar G.A. *Plant Signal Behav.*, 2011, vol. 6, no. 11, pp. 1720–1731, DOI: 10.4161/psb.6.11.17613.
3. Chalker-Scott L., Fuchigami L.H. *Low temperature stress physiology in crops*, Boca Raton: CRC Press, 1989, pp. 68–76.
4. Strimbeck G.R., Schaberg P.G., Fossdal C.G., Schröder W.P., Kjellsen T.D. *Front. Plant Sci.*, 2015, vol. 6, e884, DOI: 10.3389/fpls.2015.00884.
5. Schulz E., Tohge T., Zuther E., Fernie A.R., Hinch D.K. *Plant Science*, 2001, vol. 160, pp. 315–321, DOI: 10.1038/srep34027.
6. Jones C.G., Hartley S.E. *Responses of plant metabolism to air pollution and global change*, Leiden: Backhuys Publishers, 1998, pp. 23–50.
7. Angelcheva L., Mishra Y., Antti H., Kjellsen T.D., Funk C., Strimbeck R.G., Schröder W.P. *New Phytol.*, 2014, vol. 204, no. 3, pp. 545–555, DOI: 10.1111/nph.12950
8. Dauwe R., Holliday J.A., Aitken S.N., Mansfield S.D. *New Phytol.*, 2012, vol. 194, N1, pp. 192–205, DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.04027.x.
9. Pukacki P.M., Kamińska-Rożek E. *Acta Physiol. Plant*, 2013, vol. 35, no. 1, pp. 129–138, DOI: 10.1007/s11738-012-1055-2.
10. Dhuli P., Rohloff J., Strimbeck G.R. *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5, e706, DOI: 10.3389/fpls.2014.00706.
11. Chong J., Poutaraud A., Huguency P. *Plant Science*, 2009, vol. 177, no. 3, pp. 143–155, DOI: 10.1016/j.plantsci.2009.05.012.
12. Gabastona J., Richarda T., Biaisa B., Waffo-Teguoa P., Pedrotta E., Jourdesa M., et al. *Industrial Crops and Products*, 2017, vol. 103, no. 2, pp. 267–273, DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.04.009.
13. Fedorova T.Ye., Fedorov S.V., Babkin V.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2018, no. 1, pp. 89–95, DOI: 10.14258/jcprm.2018012683. (in Russ.).
14. Garcia-Perez M.E., Royer M., Herbertte G., Desjardins Y., Pouliot R., Stevanovic T. *Food Chem.*, 2012, vol. 135, no. 3, pp. 1173–1182, DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.050.
15. Jyske T., Laakso T., Latva-Mäenpää H., Tapaniola T., Saranpää P. *Biomass and Bioenergy*, 2014, vol. 71, no. 2, pp. 216–227, DOI: 10.1016/j.biombioe.2014.10.005.
16. Simioni C., Zauli G., Martelli A.M., Vitale M., Sacchetti G., Gonelli A., Neri L.M. *Oncotarget*, 2018, vol. 30, no. 9, pp. 17181–17198, DOI: 10.18632/oncotarget.24729.
17. Perez-Vizcaino F., Fraga C.G. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2018, vol. 646, pp. 107–112. DOI: 10.1016/j.abb.2018.03.022.
18. Akinwumi B.C., Bordun K.M., Anderson H.D. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, no. 3, e792, DOI: 10.3390/ijms19030792.
19. Permyakova G.V., Loskutov S.R., Semenovich A.V. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2008, no. 2, pp. 43–46. (in Russ.).
20. Teplova V.V., Isakova Ye.P., Klyayn O.I., Dergacheva D.I., Gessler N.N., Deryabina Yu.I. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2018, vol. 54, no. 3, pp. 215–235, DOI: 10.7868/S0555109918030017. (in Russ.).
21. Kim J.S., Jobin C. *Immunology*, 2005, vol. 115, no. 3, pp. 375–387, DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02156.x.
22. Sharkov V.I., Kuybina N.I., Solov'yeva Yu.P. *Kolichestvennyy khimicheskiy analiz rastitel'nogo syr'ya*. [Quantitative chemical analysis of plant materials]. Moskva, 1968, p. 6. (in Russ.).
23. *Rukovodstvo R4.1.1672-03. Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheskii aktivnykh do-bavok k pishche*. [Management R4.1.1672-03. Guidelines for quality control and safety of dietary supplements.]. Moscow, 2003. (in Russ.).
24. Mamatkhanova M.A., Abdurakhmanov B.A., Nigmatullayev B.A., Sotimov G.B., Khalilov R.M. Mamatkhanov U. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2016, no. 1, pp. 171–176, DOI: 10.14258/jcprm.201601685. (in Russ.).

Received July 6, 2018

Revised October 11, 2018

Accepted October 28, 2018

**For citing:** Gavrillov A.B., Goryainov S.I., Marinichev A.A., Gessler N.N., Klyayn O.I., Isakova Ye.P., Deryabina Yu.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 51–58. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019024260.