

УДК 54.05:547.972

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОАНТОЦИАНИДИНОВ КОРЫ СОСНЫ *PÍNUS SYLVÉSTRIS* L.

© В.А. Левданский^{1*}, И.В. Королькова¹, А.В. Левданский¹, Б.Н. Кузнецов^{1,2}

¹ Институт химии и химической технологии СО РАН, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Академгородок, 50/24, Красноярск, 660036 (Россия), e-mail: vlevdanskij@mail.ru

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

Впервые изучено выделение проантоцианидинов из коры сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. водой и 5, 10, 15, 20 и 25% водно-этанольными растворами. Выделение проантоцианидинов проводили из исходной и обессмоленной (проэкстрагированной гексаном) коры сосны. Показано, что по сравнению с экстракцией водой использование 15–25% водно-этанольных растворов позволяет увеличить их выход с 0.44 до 0.63%. Установлено, что предварительное извлечение смолистых веществ из коры сосны не оказывает существенного влияния на выход проантоцианидинов. Показано, что увеличение концентрации этанола в экстракционном растворе более 20% приводит к увеличению общего выхода экстрактивных веществ, при этом выход проантоцианидинов не увеличивается. Изучением проантоцианидинов методом УФ-спектроскопии после их превращения в красные антоцианидины установлено, что в основном они состоят из процианидина и продельфинидина, находящихся в концентрациях близких к одинаковым. Методами ИК- и ¹³C ЯМР-спектроскопии изучен состав полученных проантоцианидинов. Показано, что проантоцианидины коры сосны обыкновенной в отличие от выделяемых из других видов сосны содержат остатки галловой кислоты, что может повышать их антирадикальную активность.

Ключевые слова: кора сосны, вода, водно-этанольные растворы, экстракция, проантоцианидины, состав, процианидины, продельфинидины.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИХХТ СО РАН проект АААА-А17-117021310219-4 (V.46.4.2.) с использованием оборудования Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Введение

Проантоцианидины относятся к классу полифенольных соединений, которые являются олигомерами и полимерами флаван-3-ола. В основе строения соединений, входящих в эту группу, лежат две мономерные единицы катехин и (–)-эпикатехин, а также их галлоильные производные. Полимерные структуры из двух и более единиц образуют комплексы олигомерных проантоцианидинов [1, 2]. В проантоцианидинах типа «Б» структурные единицы флаван-3-ола соединены между собой через C4→C6' или C4→C8' атомы углерода, а проантоцианидины типа «А» имеют в молекуле дополнительную эфирную связь C2→O→C7' (рис. 1) [3].

В зависимости от числа и положения гидроксильных групп в структурных единицах флаван-3-ола проантоцианидины разделяют на шесть подклассов: процианидины, продельфинидины, профизетидины,

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

Королькова Ирина Владимировна – младший научный сотрудник, e-mail: ir-spectroscopy@yandex.ru

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

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

пропеларгонидины, проробинетидины и прогиу-бортинитидины [4]. Наиболее широко распространёнными являются процианидины и продельфинидины, которые образуются в результате реакции конденсации мономеров, соответственно, катехина и/или эпикатехина, и галлокатехина и/или эпигаллокатехина [5].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Проантоцианидины обладают широким спектром биологической активности. Они способны эффективно инактивировать радикалы, превосходя в этом в несколько раз витамины С и Е. Проантоцианидины способны улавливать активные формы кислорода и азота, образуя при этом феноксил-радикал, более стабильный, чем аналогичные радикалы из мономерных флавоноидов. Взаимодействие этого феноксил-радикала с другими свободными радикалами приводит к обрыву цепи свободно-радикального процесса [6]. Употребление проантоцианидинов и вин, богатых проантоцианидинами, снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, таких как повышенное кровяное давление и увеличенный уровень холестерина в крови [7]. Способность проантоцианидинов образовывать комплексы с алюминием снижает риск заболевания болезнью Альцгеймера [8].

Проантоцианидины присутствуют во многих растениях, однако их содержание не превышает 0.1–0.5% от массы исходного растительного сырья, поэтому конечный продукт имеет высокую цену [1, 9]. Это делает актуальным поиск новых дешевых и доступных источников сырья для получения проантоцианидинов.

Проантоцианидины представляют значительный интерес для медицины как группа биологически активных соединений, обладающих широким спектром фармакологической активности – антиоксидантной, противовоспалительной, антиаритмической и гипотензивной [10–12]. В настоящее время проантоцианидины получают в промышленных масштабах из косточек винограда (*Vitis vinifera*) и коры сосны лучистой (*Pinus radiata*) [10, 13, 14]. В США из коры сосны в промышленных масштабах выпускаются проантоцианидины 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 только водой с выходом 0.5% [14].

Исходя из данных, приведенных в работах [10, 13, 14], основным сырьем для получения лекарственных препаратов на основе проантоцианидинов является кора сосны различных видов (*Pinus maritima*) и (*Pinus radiata*).

В патенте [15] нами впервые предложено использовать в качестве сырья для получения проантоцианидинов кору сосны обыкновенной, а в качестве экстрагентов – 10 и 15% водные растворы этанола. Использование водно-этанольных растворов позволило увеличить выход проантоцианидинов из коры с 0.4 до 0.6%. В продолжение работы по изучению проантоцианидины проведено их выделение из обессмоленной и необессмоленной коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) водой и водно-этанольными растворами.

Цель работы – поиск оптимальных условий извлечения проантоцианидинов из коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и их идентификация.

Экспериментальная часть

В качестве исходного сырья использовали кору сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), заготовленную в декабре 2019 г. в Емельяновском районе Красноярского края. Образцы коры отбирали с однолетних (50–55 лет) сосен на расстоянии 1–2 м от колючей. Перед использованием кору высушивали при температуре 100 ± 5 °С в течение 5–6 ч, измельчали, после просеивания отбирали фракцию от 1 до 2 мм, досушивали ее до постоянного веса. Химический состав коры сосны определяли по общепринятым в химии древесины методикам [16]. Содержание основных компонентов коры сосны (% от массы а.с. коры): целлюлоза – 24.4, лигнин – 37.1, экстрактивные вещества – 17.9, легкогидролизуемые полисахариды – 16.9, трудногидролизуемые полисахариды – 23.9, зольность – 1.4.

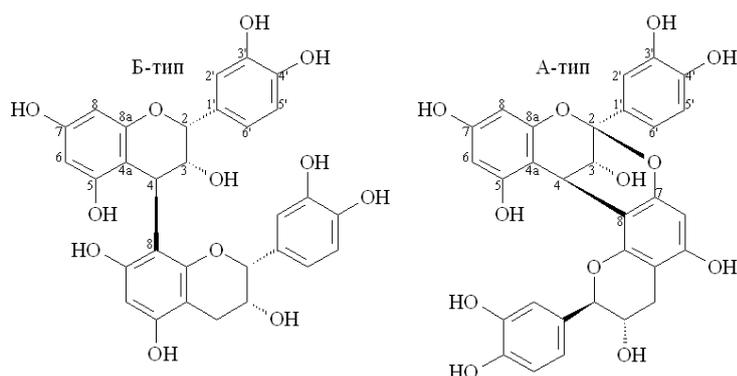


Рис. 1. Структурные различия между А- и Б-типами проантоцианидинов

Высушенную и измельченную кору экстрагировали гексаном в течение 24 ч в аппарате Сокслета емкостью 1 л для выделения смолистых веществ. Выход смолистых веществ – $3.4 \pm 0.2\%$ от массы а.с. коры.

Выделение проантоцианидинов проводили из необессмоленной и обессмоленной коры сосны.

Выделение проантоцианидинов. В круглодонную колбу объемом 2 л, снабженную мешалкой и обратным холодильником, загружали 100.0 г коры сосны, измельченной до частиц 1–2 мм, заливали 1.5 л дистиллированной воды и кипятили при интенсивном перемешивании в течение 1.0 ч, затем горячий водный раствор отделяли фильтрованием и получали 1.1–1.2 л экстракта. Экстракт концентрировали под вакуумом на ротационном испарителе до 350–400 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 белых хлопьев, их отделяли фильтрованием. Выход проантоцианидинов составил 0.46 г (0.46%) от массы исходной коры. В аналогичных условиях проводили извлечение проантоцианидинов из обессмоленной коры водой и водно-спиртовыми растворами, содержащими 5, 10, 15, 20 и 25% этанола.

Для изучения химического состава полученных проантоцианидинов их превращали в антоцианидины известным методом [13, 17] – 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 °C) проводили с помощью термостата Haake K15, оснащенного контроллером Haake DC10 при температуре 20 °C. 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 °C с использованием спектрометра Bruker Avance III 600 МГц с привязкой к дейтериевому резонансу растворителя.

Результаты и обсуждение

Определено влияние концентрации этанола в водно-этанольном растворе на выход проантоцианидинов, извлекаемых из исходной и обессмоленной коры сосны (табл.).

Можно было предположить, что предварительное извлечение из коры смолистых веществ откроет в коре дополнительные поры и увеличится выход проантоцианидинов. Однако как следует из полученных данных (табл.), низкое содержание смолистых веществ (3.2–3.6%) не оказывает существенного влияния на степень извлечения проантоцианидинов.

Увеличение концентрации этанола в водно-спиртовой смеси до 20% увеличивает выход проантоцианидинов с 0.40–0.46% до 0.62–0.64%. При дальнейшем повышении концентрации этанола происходит увеличение общего выхода фенольных веществ, а выход проантоцианидинов остается постоянным. Дополнительно извлекаемые из коры полифенольные вещества удаляются в процессе очистки проантоцианидинов при насыщении экстракционного раствора хлоридом натрия и не влияют на выход проантоцианидинов.

Строение полученных из коры сосны проантоцианидинов изучено методами УФ-, ИК- и ^{13}C ЯМР-спектроскопии.

На рисунке 2 приведены ИК-спектры проантоцианидинов, выделенных из исходной и обессмоленной коры сосны.

Влияние концентрации этанола в водно-этанольной смеси на выход проантоцианидинов из коры сосны

Концентрация этанола, % в водном растворе					
0	5	10	15	20	25
Выход проантоцианидинов, % от массы а.с. коры					
0.44–0.46	0.50–0.53	0.55–0.57	0.61–0.63	0.62–0.64	0.59–0.63
Выход проантоцианидинов, % от массы а.с. обессмоленной коры					
0.40–0.42	0.47–0.50	0.54–0.56	0.58–0.60	0.57–0.59	0.58–0.60

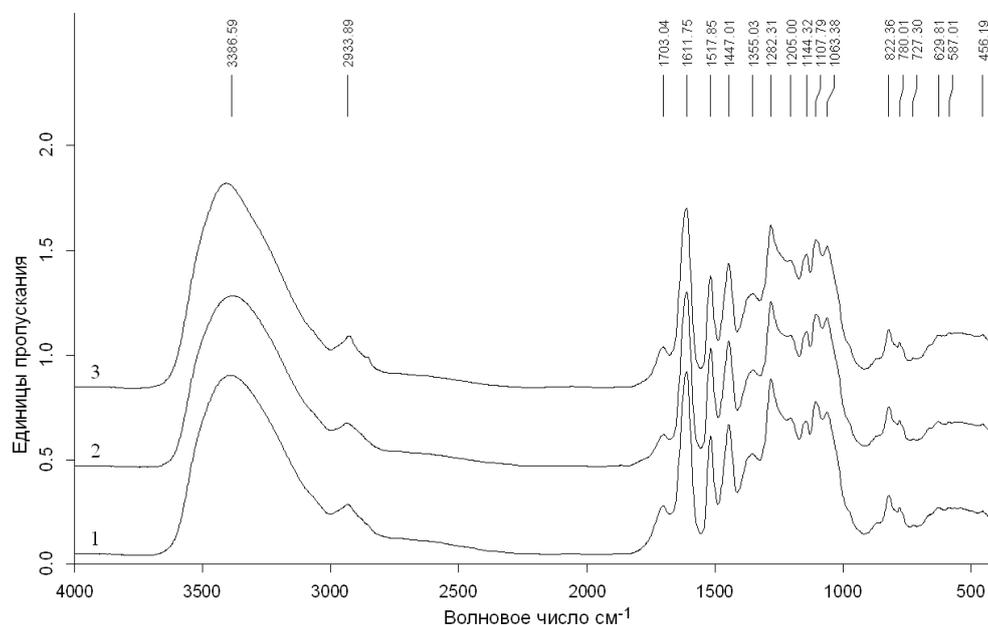


Рис. 2. ИК-спектры проантоцианидинов, выделенных из необессмоленной коры сосны водой (1), 20% водно-этанольным раствором (2) и из обессмоленной коры 15% водно-этанольным раствором (3)

Как следует из рисунка 2, ИК-спектры всех образцов проантоцианидинов, выделенных из коры сосны обыкновенной, идентичны. В них присутствуют полосы поглощения при 3386, 1703, 1612, 1518, 1447, 1355, 1282, 1107, 1063, 822, 780, 727 см^{-1} , характерные для проантоцианидинов. Аналогичные ИК-спектры для проантоцианидинов из коры сосны лучистой (*Pinus radiata*) приведены в работе [13], полосы поглощения находятся в области 3385, 1612, 1522, 1448, 1350, 1285, 1105, 1067, 818, 777 см^{-1} и ИК-спектр проантоцианидинов, выделенных из плодов диллени индийской (*Dillenia indica* L.) 3368, 1610, 1521, 1444, 1366, 1285, 1108, 1060, 822, 767 см^{-1} [18]. ИК-спектры (рис. 2) проантоцианидинов, выделенных из коры сосны обыкновенной, отличаются наличием полосы поглощения в области 1703 см^{-1} , принадлежащей С=О группе. Наличие полосы поглощения в области 1700–1710 см^{-1} характерно для ИК-спектров проантоцианидинов, выделяемых из чая. В работах [13, 18] показано, что полоса поглощения в области 1700–1710 см^{-1} принадлежит С=О группе остатка галловой кислоты, находящейся в положении 3 кольца С флавоноида. Это указывает на то, что проантоцианидины коры сосны обыкновенной выделяются в виде производных галловой кислоты. Известно, что присутствие галловой кислоты в составе проантоцианидинов увеличивает их антирадикальную активность [19].

В ИК-спектрах проантоцианидинов, выделенных из коры сосны обыкновенной (рис. 2), присутствуют две слабые полосы поглощения в области 780 см^{-1} и 727 см^{-1} . Согласно данным, приведенным в работах [13, 18], полоса при 780 см^{-1} принадлежит колебаниям СН групп кольца В процианидина, а при 727 см^{-1} – СН группам кольца В продельфинидина.

Присутствие процианидина и продельфинидина в проантоцианидинах также подтверждено методом УФ-спектроскопии. Известно, что проантоцианидины, обработанные соляной кислотой в спиртовой среде, превращаются в красные антоцианидины, в основном состоящие из цианидина и дельфинидина [13, 17]. Известно, что изменение максимумов поглощения в видимой области УФ-спектра при 540 и 550 нм обусловлено соотношением дельфинидин/цианидин. При одинаковой концентрации дельфинидина и цианидина

$\lambda_{\text{max}}=550$ нм, а уменьшение концентрации дельфинидина в смеси приводит к смещению максимума поглощения к 540 нм [17]. В УФ-спектре смеси антоцианидинов коры сосны обыкновенной максимум поглощения находится при 549–550 нм, следовательно, концентрация процианидина и продельфинидина в проантоцианидинах близка к одинаковой.

Интерпретацию ^{13}C ЯМР-спектров проантоцианидинов коры сосны обыкновенной проводили с использованием литературных данных для проантоцианидинов коры сосны лучистой (*Pinus radiata*) [13], ели черной (*Picea mariana*) [17] и плодов диллени индийской (*Dillenia indica* Linn.) [18].

В ^{13}C ЯМР-спектре проантоцианидинов коры сосны обыкновенной (рис. 3) присутствуют сигналы всех атомов углерода, входящих в структуру флавоноида.

В ^{13}C ЯМР-спектре проантоцианидинов, выделенных из сосны, положения сигналов атомов углерода соответствуют литературным данным [13, 17]. Сигналы атома углерода группы $\text{C}=\text{O}$ находятся в области 163–167 м.д. В области 154–156 м.д. сигналы атомов углерода $\text{C}5$, $\text{C}7$ кольца А. Сигналы при 116 м.д. ($\text{C}2'$, $\text{C}5'$), 119 м.д. ($\text{C}6'$) и при 144 м.д. ($\text{C}3'$, $\text{C}4'$) принадлежат кольцу В. Сигналы атомов углерода кольца В трудно различимы и находятся в спектре ^{13}C ЯМР в области 144–145 м.д. соответственно для процианидина и продельфинидина. В области 75–81 м.д. находятся сигналы атомов углерода 1,3-цис и 2,3-транс изомеров проантоцианидинов. По данным ^{13}C ЯМР-спектроскопии, приведенным в работе [17], сигналы в области 56 м.д. принадлежат атому углерода метоксильной группы ($-\text{OCH}_3$), и в области 61.7 м.д. – атому углерода $\text{C}6$ глюкозного остатка.

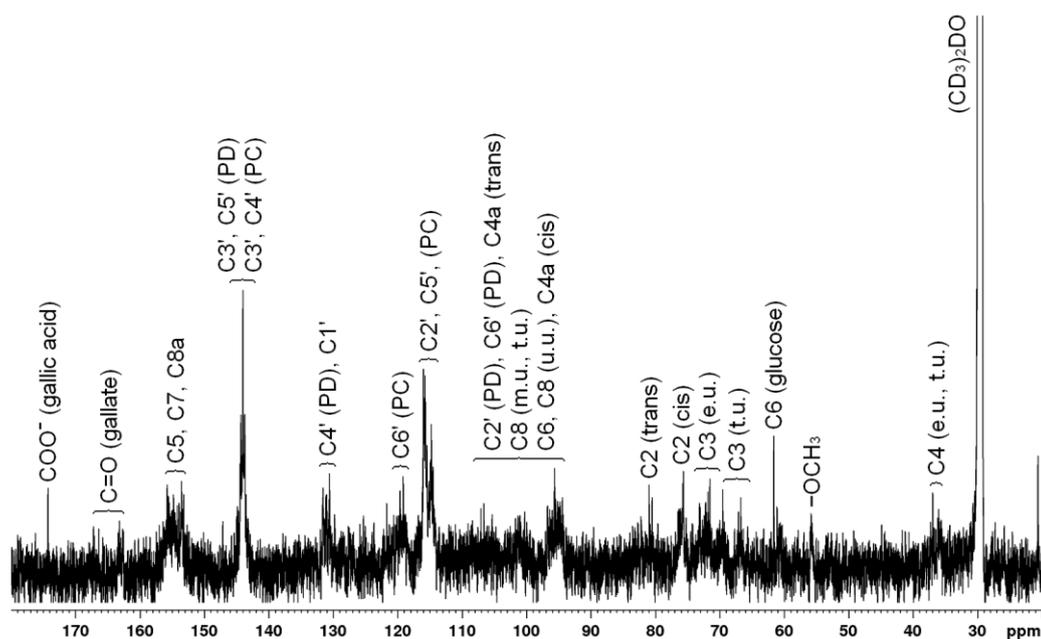


Рис. 3. ^{13}C ЯМР-спектр проантоцианидинов, выделенных из коры сосны (PC – процианидины, PD – продельфинидины, m.u. – среднее звено, t.u. – концевое звено, e.u. – удлиняющее звено, u.u. – верхнее звено)

Заключение

Изучено влияние состава водно-этанольных растворов на выход проантоцианидинов из коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Установлено, что содержащиеся в коре смолистые вещества не оказывают существенного влияния на выход проантоцианидинов. Показано, что оптимальная концентрация этанола в растворе, при которой достигается максимальный выход проантоцианидинов до 0.64%, составляет 15–20%. Методами УФ-, ИК- и ^{13}C ЯМР-спектроскопии установлено, что проантоцианидины состоят из проантоцианидина и дельфинидина, находящихся в близких концентрациях. Установлено, что выделенные из коры сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) проантоцианидины, в отличие от других видов сосен, описанных в литературе, содержат остатки галловой кислоты, что может повышать их антирадикальную активность.

Список литературы

1. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. Cranberry: a new source of oligomeric proanthocyanidins // *Pharm. Chem. J.* 2004. Vol. 38. N2. Pp. 100–104. DOI: 10.1023/B:PHAC.0000032489.09856.52.
2. Santos-Buelga C., Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health // *J. Sci. Food Agric.* 2000. Vol. 80. N7. Pp. 1094–1117. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1094::AID-JSFA569>3.0.CO;2-1.
3. Осипов В.И., Поляков Н.А., Сидельников А.Н., Хазиева Ф.М. Проантоцианидины корней и корневищ *Potentilla alba* (*Rosaceae*) // *Раст. ресурсы.* 2017. Т. 53. №1. С. 114–125.
4. Ossipova S., Ossipov V., Haukioja E., Loponen J., Pihlaja K. Proanthocyanidins of mountain birch leaves: quantification and properties // *Phytochem. Anal.* 2001. Vol. 12. N2. Pp. 128–133. DOI: 10.1002/pca.568.
5. Karonen M., Leikas A., Loponen J., Sinkkonen J., Ossipov V., Pihlaja K. Reversed-phase HPLC-ESI/MS analysis of birch leaf proanthocyanidins after their acidic degradation in the presence of nucleophiles // *Phytochem. Anal.* 2007. Vol. 18. N5. Pp. 378–386. DOI: 10.1002/pca.992.
6. 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.
7. Renaud S., Gueguen R. The French paradox and wine drinking // *Novartis Found. Symp.* 1998. Vol. 216. Pp. 208–217. DOI: 10.1002/9780470515549.ch13.
8. Orgogozo J.M., Dartigues J.F., Lafont S., Letenneur L., Commenges D., Salamon R., Renaud S., Breteler M.B. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area // *Rev. Neurol. (Paris).* 1997. Vol. 153. N3. Pp. 185–192.
9. Stabgler Herodež Š., Hadolin M., Škerget M., Perva A., Knez Ž., Bauman D. Isolation of proanthocyanidins from different natural sources // *Chem. Ing. Tech.* 2001. Vol. 73. N6. Pp. 731–731. DOI: 10.1002/1522-2640(200106)73:6<731::AID-CITE7313333>3.0.CO;2-O.
10. 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.
11. 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.
12. Kim S.H., Kang K.W., Kim K.W., Kim N.D. Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vaso-relaxation in rat aorta // *Life Sciences.* 2000. Vol. 67. N2. Pp. 121–131. DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00608-1.
13. 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.
14. 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.
15. Патент №2375070 (РФ). Способ получения проантоцианидинов из коры сосны обыкновенной / В.А. Левданский, А.И. Бутылкина, А.В. Левданский, Б.Н. Кузнецов. 2009.
16. Дейнеко И.П., Фаустова Н.М. Элементный и групповой химический состав коры и древесины осины // *Хим. растит. сырья.* 2015. №1. С. 51–62. DOI: 10.14258/jcprm.201501461.
17. Diouf P.N., Tibirna C.M., García-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.
18. 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.
19. 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.

Поступила в редакцию 14 мая 2020 г.

После переработки 2 июня 2020 г.

Принята к публикации 29 сентября 2020 г.

Для цитирования: Левданский В.А., Королькова И.В., Левданский А.В., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение проантоцианидинов коры сосны *Pinus sylvestris* L. // *Химия растительного сырья.* 2020. №4. С. 227–233. DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.

Levdanskiy V.A.^{1*}, Korol'kova I.V.¹, Levdanskiy A.V.¹, Kuznetsov B.N.^{1,2} ISOLATION AND STUDY OF PROANTHOCYANIDINS FROM BARK OF PINE *PINUS SYLVÉSTRIS* L.

¹ Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, Federal Research Center «Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS», Akademgorodok, 50/24, Krasnoyarsk, 660036 (Russia), e-mail: vlevdanskij@mail.ru

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

The isolation of proanthocyanidins from bark of Scotch pine *Pinus sylvestris* L. by water and water-alcohol solutions containing 5, 10, 15, 20 and 25% ethanol was studied for the first time. Isolation of proanthocyanidins was carried out from the initial and deresinified (extracted with hexane) pine bark. It was shown that, compared with water extraction, the use of 15–25% aqueous ethanol solutions allows one to increase the yield of proanthocyanidins from 0.44 to 0.63%. It was established that the preliminary extraction of resinous substances from the pine bark does not significantly affect the yield of proanthocyanidins. It was shown that an increase in ethanol concentration of more than 20% in the extraction solution leads to an increase in the total yield of extractives, while the yield of proanthocyanidins does not increase. A study of proanthocyanidins by UV spectroscopy after their conversion to red anthocyanidins showed that they mainly consist of procyanidin and prodelfinidine in close concentrations. The composition of the obtained proanthocyanidins mixtures was studied by IR and ¹³C NMR spectroscopy. It was shown that the proanthocyanidins obtained from the bark of pine *Pinus sylvestris* L., in contrast to isolated from other pine species, contains gallic acid residues which can increase their antiradical activity.

Keywords: pine bark, water, water-ethanol solutions, extraction, proanthocyanidins, composition, procyanidins, prodelfinidins.

References

1. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. *Pharm. Chem. J.*, 2004, vol. 38, no. 2, pp. 100–104. DOI: 10.1023/B:PHAC.0000032489.09856.52.
2. Santos-Buelga C., Scalbert A. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, vol. 80, no. 7, pp. 1094–1117. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1094::AID-JSFA569>3.0.CO;2-1.
3. Osipov V.I., Polyakov N.A., Sidel'nikov A.N., Khaziyeva F.M. *Rast. resursy*, 2017, vol. 53, no. 1, pp. 114–125. (in Russ.).
4. Ossipova S., Ossipov V., Haukioja E., Lopenen J., Pihlaja K. *Phytochem. Anal.*, 2001, vol. 12, no. 2, pp. 128–133. DOI: 10.1002/pca.568.
5. Karonen M., Leikas A., Lopenen J., Sinkkonen J., Ossipov V., Pihlaja K. *Phytochem. Anal.*, 2007, vol. 18, no. 5, pp. 378–386. DOI: 10.1002/pca.992.
6. Bors W., Michel C., Stettmaier K. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000, vol. 374, no. 2, pp. 347–355. DOI: 10.1006/abbi.1999.1606.
7. Renaud S., Gueguen R. *Novartis Found. Symp.*, 1998, vol. 216, pp. 208–217. DOI: 10.1002/9780470515549.ch13.
8. Orgogozo J.M., Dartigues J.F., Lafont S., Letenneur L., Commenges D., Salamon R., Renaud S., Breteler M.B. *Rev. Neurol. (Paris)*, 1997, vol. 153, no. 3, pp. 185–192.
9. Stabgler Herodež Š., Hadolin M., Škerget M., Perva A., Knez Ž., Bauman D. *Chem. Ing. Tech.*, 2001, vol. 73, no. 6, pp. 731–731. DOI: 10.1002/1522-2640(200106)73:6<731::AID-CITE7313333>3.0.CO;2-O.
10. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. *Pharm. Chem. J.*, 2002, vol. 36, no. 3, pp. 139–143. DOI: 10.1023/A:1019682311646.
11. 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.
12. 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.
13. Ku C.S., Mun S.P. *Wood Sci. Technol.*, 2007, vol. 41, no. 3, pp. 235–247. DOI: 10.1007/s00226-006-0103-8.
14. Yazaki Y. *Nat. Prod. Commun.*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 513–520. DOI: 10.1177/1934578X1501000333.
15. Patent 2375070 (RU). 2009. (in Russ.).
16. Deyneko I.P., Faustova N.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 1, pp. 51–62. DOI: 10.14258/jcprm.201501461. (in Russ.).
17. Diouf P.N., Tibirna C.M., García-Pérez M.-E., Royer M., Dubé P., Stevanovic T. *JBNB*, 2013, vol. 4, no. 3A, pp. 1–8. DOI: 10.4236/jbnb.2013.43A001.
18. 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.
19. 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.

Received May 14, 2020

Revised June 2, 2020

Accepted September 29, 2020

For citing: Levdanskiy V.A., Korol'kova I.V., Levdanskiy A.V., Kuznetsov B.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 227–233. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.

* Corresponding author.

