

**ЎЗБЕКИСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ЖОҚАРЫ ҲӘМ ОРТА
АРНАЎЛЫ БИЛИМЛЕНДИРИЎ МИНИСТРЛИГИ**

ҚАРАҚАЛПАҚ МӘМЛЕКЕТЛИК УНИВЕРСИТЕТИ

Химия-технология факультети

«Физикалық ҳәм коллоидлық химия» кафедрасы

Назаров Нураддинниң

5440400 – Химия бағдары бойынша бакалавр дәрежесин алыў ушын
«Проантоцианидинлердиң структураларын физика-химиялық усыллар
жәрдемінде идентификациялаў» темасындағы

ПИТКЕРИЎ ҚӘНИГЕЛИК ЖУМЫСЫ

Басшы: «Физикалық ҳәм коллоид
химия» кафедрасы доценти,
х.и.к.

А.Пирниязов

Кафедра баслығы: х.и.к.

А.Пирниязов

НӨКИС – 2014

МАЗМУНЫ

Кирисиў	3
1. I-БАП. ӘДЕБИЯТЛАРҒА ШОЛЫЎ	6
1.1. Улыўма мағлыўматлар	
1.2. Катехинлер ҳәм лейкоантоцианидинлер	8
1.3. Димер проантоцианидинлер	14
1.4. Проантоцианидинлерди изертлеўдиң химиялық усыллары	19
1.5 Изертлеўдиң спектрал усыллары	
1.5.1 УФ, ИҚ-спектроскопия, масс-спектрометрия	23
2. II-БАП. Алынған нәтийжелерди талықылаў	27
2.1. Олигомер проантоцианидин SP1 диң қурылысы	29
3. III-БАП. Тәжирийбе бөлими	32
3.1. Улыўма мағлыўматлар	32
3.2. Проантоцианидинлерди экстракциялаў ҳәм ажыратыў	33
3.3. Бутанол фракциясын ажыратыў	33
3.4. Проантоцианидинлерди силтили гидролизлеў	34
3.5. Проантоцианидинлерди кислоталы гидролизлеў	34
3.6. Проантоцианидинлерди тиолитик гидролизлеў	35
3.7. Гликозидлердиң ферментатив гидролизи	35
3.8. Гликозидлерди метиллеў	36
Жуўмақ	37
Қолланылған әдебиятлар	38

Кирисиў.

Жумыстың актуаллығы. Мәденийлестирилген жүзим – Саперави сорты тийкарынан декоратив хәм мийўели өсимликлер сыпатында егиледи. Көплеген бөлимлери полифенол бирикпелерге жататуғын бирикпелерге жүдә бай болып есапланады. Олардан алынған бирикпелер бояўшы затлар, халық медицинасында ревматизм, сидик жүргизиўши сыпатында қолланылған. Өсимликлерден биологиялық активликке ийе полифенол қурамын, жаңа бирикпелерди табыў, кейиншелік перспективалық болатуғын бирикпелерди излеп табыў актуал болып табылады.

Медицина әмелиятында өсимликлерден алынатуғын дәри-дәрмақлар жүдә кең хәм көп қолланылмақта. Оларды қолланыўдың абзаллығы кең спектрли биологиялық активлиги хәм синтетикалық аналогларына салыстырғанда зәхәрлилиги аз болыўында. Сонлықтан жабайы хәм мәденийлестирилген өсимликлер көплеген дәрилик затлардың дереги болып табылады. Дәрилик затлардың арасында фенол тәбиятына ийе болған дәрилик затлар көп қолланылады. Оларды қолланыў әмелияты олардың аз дозада кем захарлигин көрсетти. Хәзирги ўақытта проантоцианидинлер байлаўшы [1], антигипоксик [2,3], спазмолитик, бактерицид тәсирге ийе препаратлар сыпатында кең қолланылады. Сондай-ақ, бундай класс бирикпелер асқазан жарасын, он еки ели ишек жарасын емлеўде өзлериниң күшли қәсийетлерин көрсетти. Сонлықтан, полифенол бирикпелерди мәденийлестрилген хәм жабайы өсимликлерден излеў, олардың қурылысын, стереохимиясын хәм фармакологиялық активлиги үйрениў заман талабы болып есапланады.

Қоршаған орталықтағы стресс жағдайлар (дузлылық, суўсызлық, жоқары температура ыссылық хәм суўық х.т.б.) өсимликлерде өсиўинде хәр қыйлы кери тәсирлерди пайда етеди, сондай-ақ, еркин радикалларды пайда етеди, өз гезегинде өсимлик клеткаларының бузылыўына, зат алмасыў хәм

картайыуға алып келеди [3]. Хакыйқаттанда, еркин радикаллар протеинлер ямаса липидлер усаған биологиялық молекулалар менен тәсирлесип мембраналардың бузылыуы хәм мутациясын келтирип шығаратуғын, ал ол болса өз гезегинде клеткалардың бузылыуына алып келетуғын қәсийетлерге ийе [4].

Қоршаған орталықтың стресс жағдайларында синтезленетуғын екилемши метаболитлер клетка қурылысын окислениуши эффектлерден қорғауы сақлауы болжанады [5]. Тәбий антиоксидантлар өсимликлердің дерлик барлық болимлеринде ушырасады хәм фенол тәбиятына ийе бирикпелер болып есапланады [6]. Хәр қыйлы тәбий антиоксидантлар арасында полифенол бирикпелер фармацевтикада, косметикада, азық-ауқат өндирисинде хәм медицинада қолланылатуғын бирикпелерди қурайды [7]. Структуралық көз-қарастан полифенол бирикпелер өзінде бир ямаса көплеген гидроксил топарларды тутыушы ароматикалық халқаны услайды хәм олардың түрлери әпиуайы мономер жағдайынан полимерленген бирикпелер да бар болады [8]. Сондай-ақ, антиоксидант активлигине қосымша, бул бирикпелер кең спектрли медициналық активликти, атап айтқанда, антиаллергиялық, антимикроблық, антитромбоцитлик, кардиоваскуляр активликлерди көрсетеди [9].

Өсимликлерде полифеноллар тийкарынан дузлылық сыяқлы [11], биотик хәм абиотик стресслерге [10] жууап бериуши ретинде синтезленеди, хәм бул олардың хәр қыйлы шараятларға адаптациясына алып келиуши екилемши метаболитлердің пайда болыуына алып келеди [12].

Жумыстың мақсети. Бул жумыстың мақсети Қарақалпақстан Республикасы территориясында өсетуғын жүзим сортының (Саперави) өсимлигиниң дәнешелеринде проантоцианидин қурамын, муғдарын оларды бөлип алып ажыратыу ұсылларын үйрениу болып есапланады.

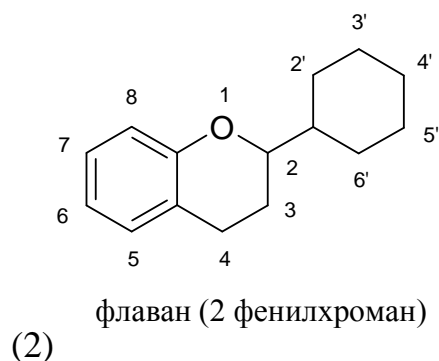
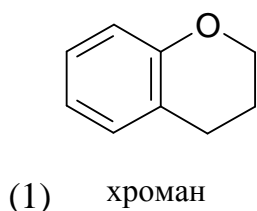
Бул мақсетке ерисиу хәм әмелге асыруу ушын төмендеги ұазыйпалар қойылды:

- Полифеноллар суммасын ажыратып алыў хэм оларды компонентлерге бөлиў;
- Ажыратып алынған бирикпелерди хроматографиялық үйрениў хэм олардың химиялық қурылысын химиялық жоллар менен үйрениў;

I-БАП. ӘДЕБИЯТЛАРҒА ШОЛЫҰ

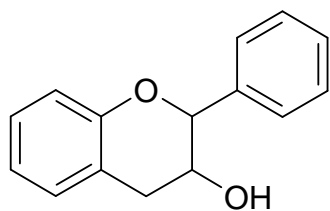
1.1. Улыұмалық мағлыұматлар.

Тийкарғы қурамы $C_6-C_3-C_6$ болған еки ароматикалық халқаларға ийе фенол бирикпелер тәбий бирикпелердиң ишинде флавоноидлар деген ат пенен үлкен топарын қурайды. Флавоноидларды хроман (1) ямаса флаван (2) бирикпелериниң туұындылары деп қараўға болады:

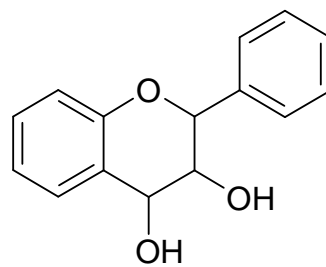


Алдынғы жыллары флавоноидларды үшуглеродлы фрагменттиң окислениў дәрежесине байланыслы тийкарғы 10 топарға бөлиў усынылған еди. Кейинги ўақытта бул топарға және бир топар: пиран циклында орынбасар тутпаған флаванниң (2) қәлпине келген формасын қосыў усынылды. Қалған барлық флавоноидлар катехинлерге (флаван-3-ол) (3), лейкоантоцианидинлерге (флаван-3,4-диол) (4), флаванон (5), дигидрохалкон (6), халкон (7), антоцианидин (8), флавононол (дигидрофлавоноллар) (9), флавонолар (10), флавонол (11) хәм ауронлар (12) жатады.

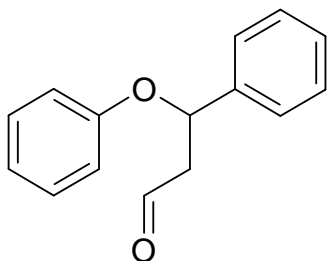
Флавоноидлардың көп түрлилиги, сондай-ақ, пиран халқасындағы хираль углерод атомы менен түсиндириледі (катехинлар, лейкоантоцианидинлар, флаванон хәм флавононол). Буннан тысқары, олардың тийкарғы түрлери гидроксиллениў, метиллениў, ациллениў, О- хәм С-гликозиллениўдиң хәр қыйлы жайласыўы хәм дәрежесине ийе болыўы мүмкин.



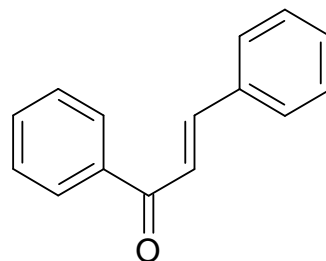
3.



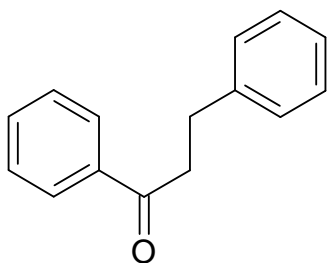
4.



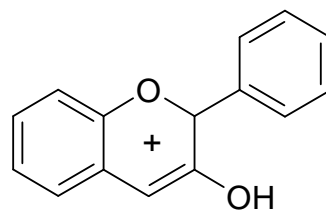
5.



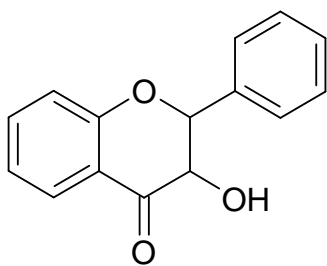
6.



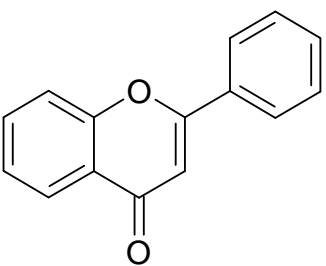
7.



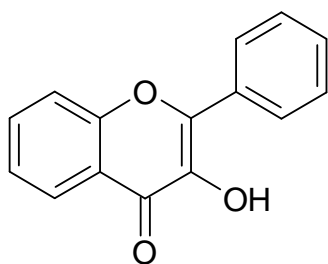
8.



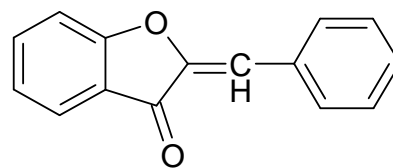
9.



10.



11.



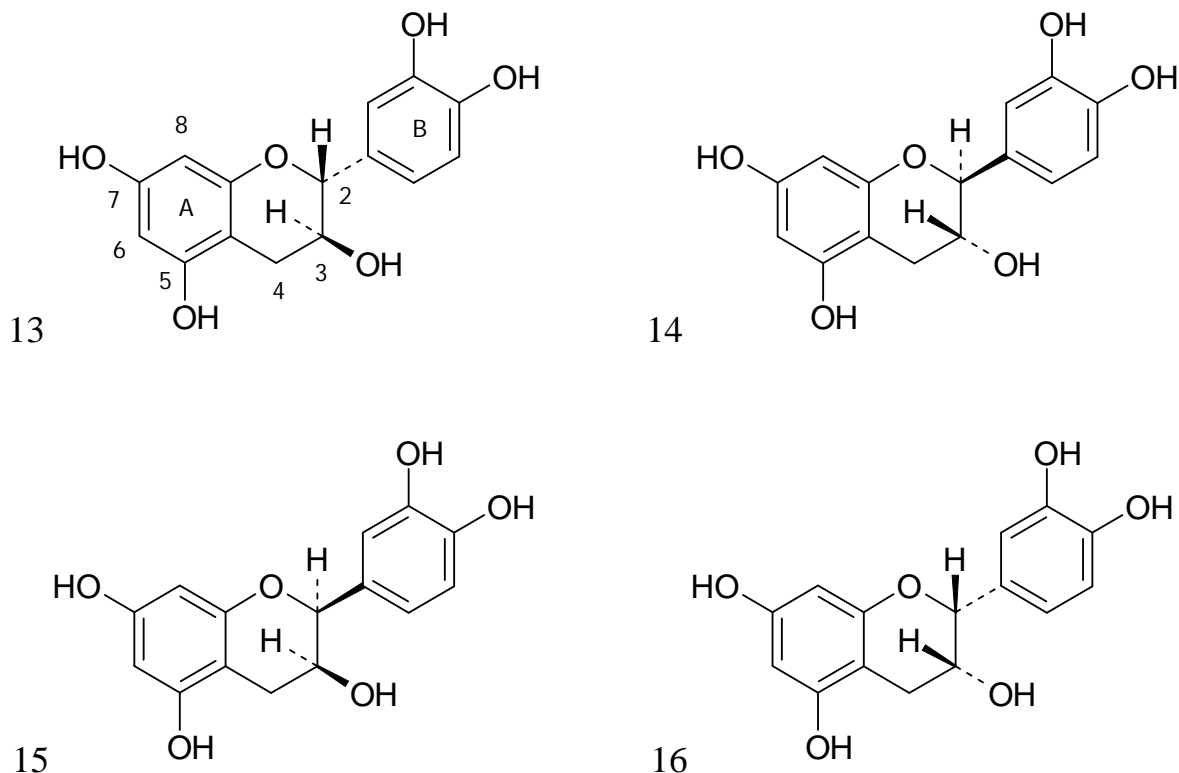
12

Катехинлер хэм лейкоантоцианлардың олигомер туўындыларын улыўма ат пенен проантоцианидинлер (минерал кислоталар менен қыздырылғанда, лейкоантоцианидинлер сыяқлы боялған антоцианидинлерди пайда етеди). Сол ушын проантоцианидинлердің қурылысын анықлаў ушын,

проантоцианидинлерди химиялық ыдыратқандағы пайда болатуғын катехин хәм лейкоантоцианидинлерди уғраслаў зәрүр.

1.2. Катехинлер хәм лейкоантоцианидинлер

Катехинлер – булар реңсиз бирикпелер, өзінде еки ассиметрик углерод атомын (С-2 хәм С-3) тутады, сонлықтан катехинлердиң хәр бири төрт оптик изомер менен көрсетилиўи мүмкин: (+)- катехин (13), (-)-катехин (14), (+)-эпикатехин (15), (-)-эпикатехин (16) хәм еки рацемат түринде болады.



Бир-биринен изомерлер тек ғана физикалық қәйетлери бойынша емес, ал биологиялық тәсири, өсимликлерде ушырасыўы менен өзгешеленеди.

Өсимликлерде еки изомер түри көп тарқалған: (+)-катехин хәм (-)-эпикатехин, сондай-ақ олардың галлоил эфирлери (17-21), метилленген (22-26), гликозилленген (27-31) тәбийй туўындылары.

Кейинги жылларда өсимликлерде басқаша эфирлери де ушырасқан. Өсимликлердиң изертленген барлық бөлимлеринен катехинлер табылған: жапырақларда, пақалында, тамырының хәм пақалының қабығында, гүллеринде, туқымы хәм мийўелеринде [14]. Өсимликлердиң

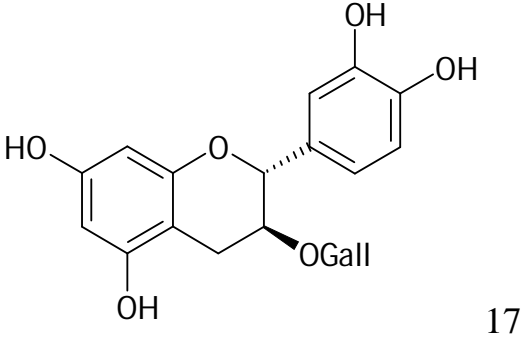
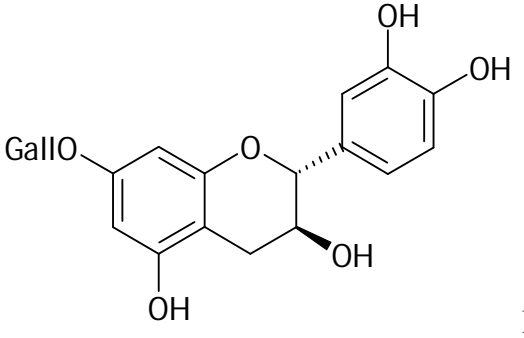
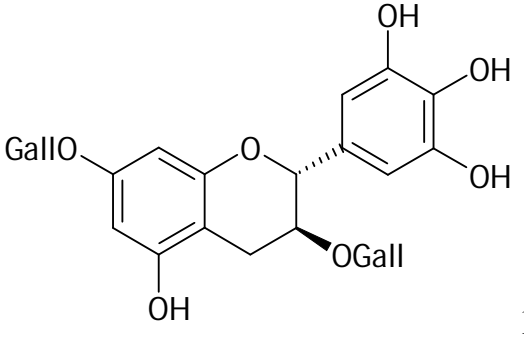
раўажланыўының басланғыш фазасында олардың бөлимлерінде флаван-3-оллар көп болады. Кейинги өсиўиниң фазасында олардың мугдары пәсейеди, ал проантоцианидинлердиң муғдары өсип барады. Катехинлар белоклар менен водород байланыслар дүзиўге укыплы, соның менен бирге белоктың β -формасын стабиллейди [17]. Олар буннан тыскары антикоагулянт сыпатында [15] биологиялық активлик көрсетиўи мүмкин. Баска флавоноидлар менен бир қатарда катехин витамин Р қәсийетлерин көрсетеди [16].

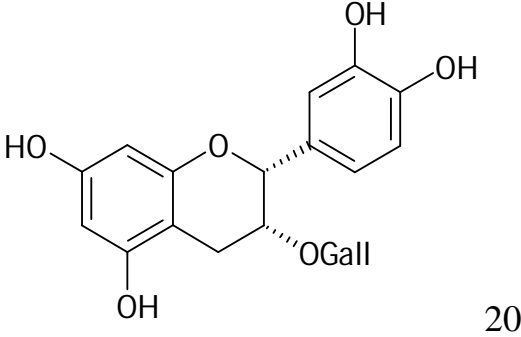
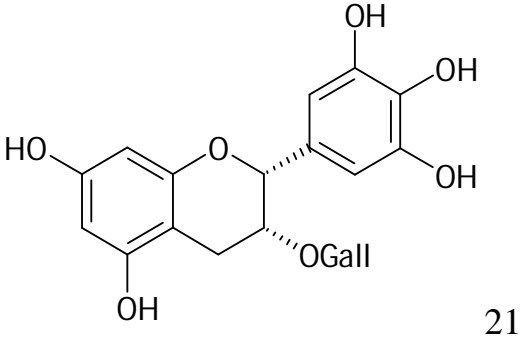
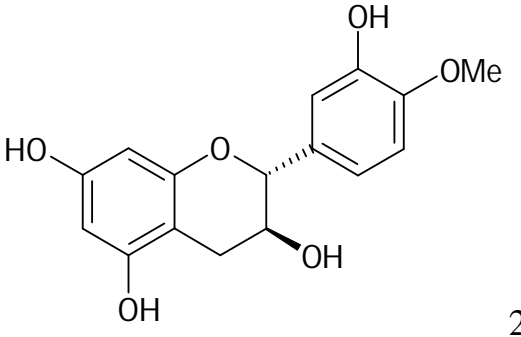
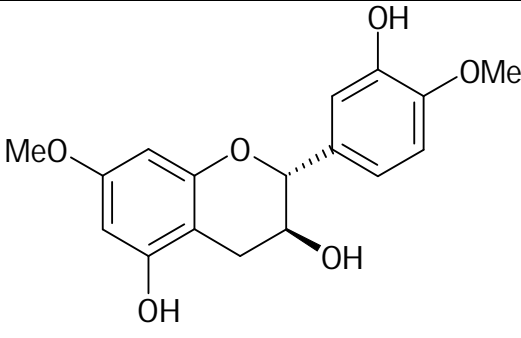
Катехинлер күн жақтысы хәм қыздырғанда аңсат окисленеди. Әсиресе, катехинлердиң окислениўи силтили орталықта хәм окислеўши ферментлердиң тәсиринде (фенолоксидаза хәм пероксидаза) тез өтеди.

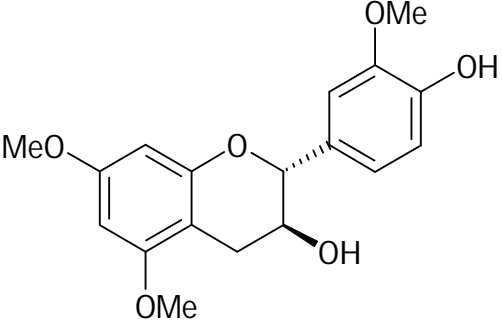
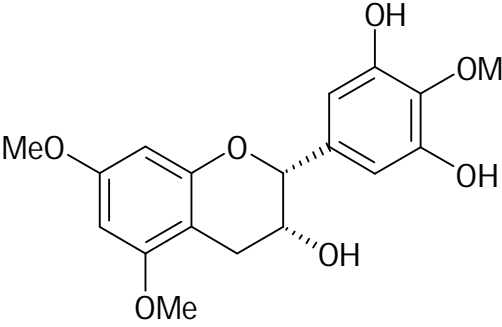
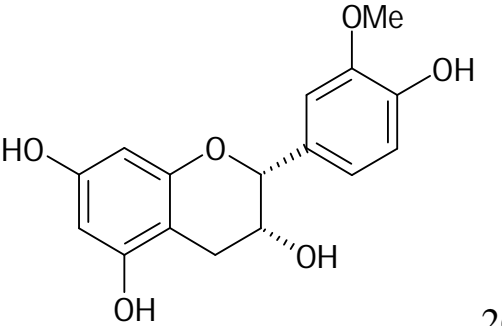
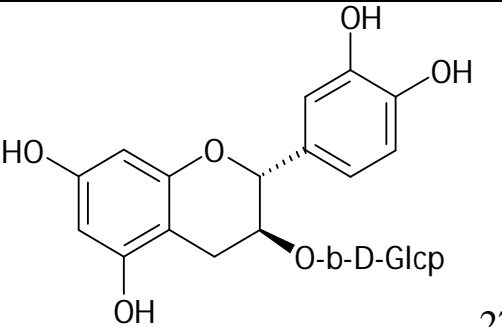
Лейкоантоцианидин молекуласы үш ассиметрик углерод атомын өзинде тутады (C-2, C-3 хәм -4), сонлықтан лейкоантоцианидинлердиң хәр бири сегиз изомер хәм төрт рацемат көринисинде болыўы мүмкин. Лейкоантоцианидинлер реңсиз, әдетте аморф бирикпелер. Суйылтырылған минерал кислоталар менен қыздырылғанда ашық реңли антоцианидинлерди пайда етеди. Лейкоантоцианидинлер суўда, этанол, ацетонда жақсы, этилацетата аз ерийди, катехинлерден тыскары диэтилэфирде еримейди.

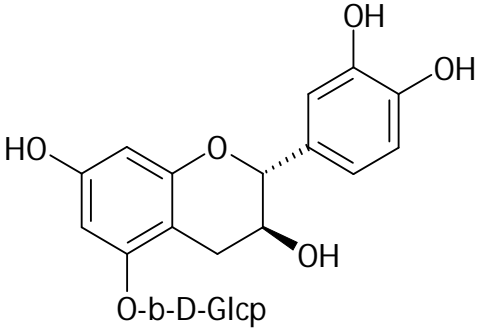
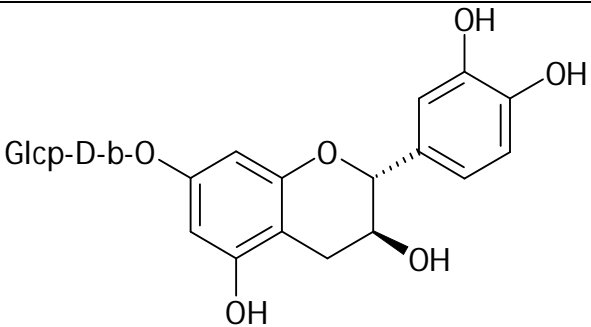
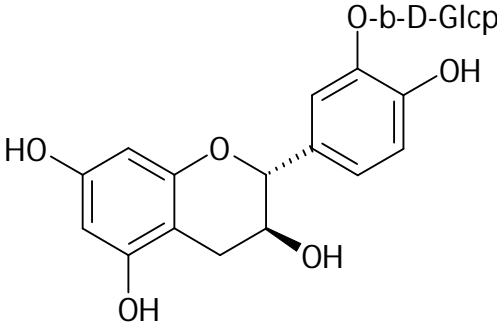
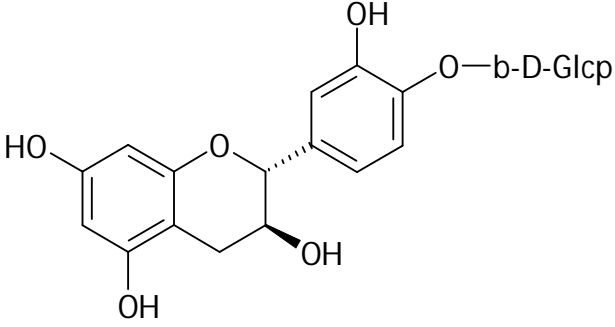
Таблица 1

Мономер катехинлердің формулалары хәм физикалық константалары

Бирикпе қурылысы	Атамасы, константалары, дереги	Адебият
 <p style="text-align: right;">17</p>	(+)-катехингаллат, $[\alpha]_D^{20} +56$ (EtOH), <i>Bergenia Species</i>	17
 <p style="text-align: right;">18</p>	(+)-катехин-7-О-галлат, $[\alpha]_D^{27} +38,9$ (Me ₂ CO), <i>Sanguisorba officinalis</i>	18
 <p style="text-align: right;">19</p>	(+)-галлокатехин-3-О-галлат, $[\alpha]_D^{25} +33$ (CH ₃ Cl ₃), <i>Cistus incanus</i>	19

Бирикпе курылысы	Атамасы, константалары, дереги	Адебият
 <p style="text-align: right;">20</p>	(+)-эпикатехин-3-О-галлат, $[\alpha]_D^{25}$ -186,1 (MeOH), <i>Myrica rubra</i>	20
 <p style="text-align: right;">21</p>	(+)-эпигаллокатехин-3-О-галлат, $[\alpha]_D^{25}$ -135,4 (MeOH), <i>Myrica esculenta bark</i>	21
 <p style="text-align: right;">22</p>	4'-О-метил-(+)-катехин, $[\alpha]_D^{25}$ +6,7 (ацетон), <i>Cinnamomum obtusifolium</i>	22
 <p style="text-align: right;">23</p>	4',7-О-метил-(+)-катехин, $[\alpha]_D^{25}$ +3,8 (MeOH), <i>Lindera umbellata</i>	22

Бирикпе курылысы	Атамасы, константалары, дереги	Адебият
 <p>24</p>	<p>3',5,7-три-О-метил-(+)- катехин, $[\alpha]_D^{25}$ -8,2 (ацетон), <i>Lindera umbellata</i></p>	23
 <p>25</p>	<p>(-)-4'-О-метил- эпигаллокатехин, $[\alpha]_D^{25}$ -60 (EtOH), <i>Elolldendron balae</i></p>	23
 <p>26</p>	<p>3'-О-метил-эпикатехин, $[\alpha]_D^{25}$ -56,1 (ацетон), <i>Cinnamomum obtusifolium</i></p>	24
 <p>27</p>	<p>(+)-катехин-3-О-β-D- глюкопиранозид, $[\alpha]_D^{15}$ -13,3 (Me₂CO-H₂O), <i>Potentula viscosa</i></p>	25

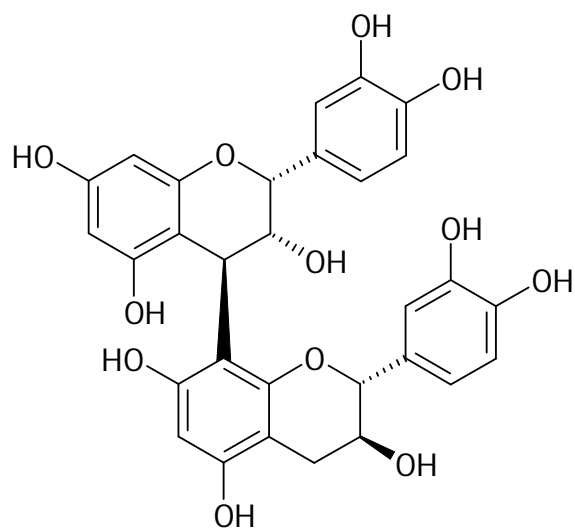
 <p style="text-align: center;">28</p>	<p>(+)-катехин-5-О-β-D- глюкопиранозид, $[\alpha]_D^{25}$ -28,8 (MeOH), <i>Rhaphiolepis umbrellata</i></p>	<p style="text-align: center;">26</p>
 <p style="text-align: center;">29</p>	<p>(+)-катехин-7-О-β-D- глюкопиранозид, $[\alpha]_D^{32}$ -33,4 (MeOH), <i>Schizandra nigra</i> Max</p>	<p style="text-align: center;">27</p>
 <p style="text-align: center;">30</p>	<p>(+)-катехин-3'-О-β-D- глюкопиранозид, $[\alpha]_D^{25}$ -39,3 (MeOH), <i>Rheum</i></p>	<p style="text-align: center;">28</p>
 <p style="text-align: center;">31</p>	<p>(+)-катехин-4'-О-β-D- глюкопиранозид, $[\alpha]_D^{25}$ -34,0 (MeOH), <i>Rheum</i></p>	<p style="text-align: center;">28</p>

1.3. Димер проантоцианидинлер

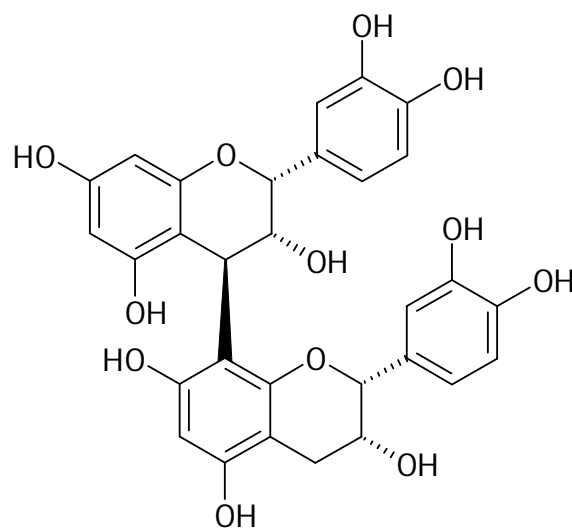
Димер проантоцианидинлерди катехинлердин димерлери сыпатында, ямаса бир катехин молекуласының флаван-3,4-диолдың екінші молекуласы менен конденсацияланған өними сыпатында қарау мүмкін. Өсимликтерде димер проантоцианидинлер кең тарқалған болып, терини ийлеу қасиеті аз болған бирикпелер. Хәзирги ўақытта тәжірийбелік мағлыұматларға қарағанда димер проантоцианидинлер еки тийқарғы топарға бөлінген: бирнші топар В топар болып, суммар формуласы $C_{30}H_{26}O_{12}$, хәм екінші топары – бул А топары болып, суммар формуласы $C_{30}H_{24}O_{12}$ [29-32 21-24]. А топарына «жоқарғы» хәм «төменги» блоқлар бир-бири менен көпир байланыслар менен байланыскан болады. Бул топар проантоцианидинлери өсимликте В-топар бирикпелерине қарағанда аз муғдарда болады. Димер хәм олигомер проантоцианидинлер өсимликлердин дерлік барлық бөлімлеринде кең тарқалған. Бул класс бирикпелер хаўа кислороды тәсиринде женил дегидрлененди, хәм бул процесс нәтийжесинде кызыл реңли полимерге айланады. Бундай реңге зыянланған мийўелер хаўада өзгереди [33 25]. Проантоцианидинлер вирусларға карсы активликке ийе [35-36 26,27]. В-топар бирикпелеринде флаван аралық байланыс бир байланыс болады хәм әдетте ол «жоқары» блоқтың С-4 менен «төменги» блоқтың С-8 ямаса С-6 углерод атомлары арасында болады. Димер проантоцианидинлердин характерли үлгилери сыпатында (-)-эпикатехин хәм (+)-катехин тийқарында пайда болған В-1 (32), В-2 (33), В-3 (34), В-4 (35), В-5 (36), В-6 (37), В-7 (38), В-8 (39) процианидинлерин айтып өтсек болады. Процианидинлердин еритпелерин қышқыл орталықта қыздырғанда «жоқарғы» блоқтан цианидин, ал «төменги» блоқтан (+)-катехин хәм (-)-эпикатехин ажыралып шығады.

Димер процианидинлерден тысқары димер продельфинидинлер белгили. Мәселен, галлокатехин-(4 α -8)-галлокатехин, галлокатехин-(4 α -8)-эпигаллокатехин [37 28], галлокатехин-(4 α -6)-галлокатехин [38 29]. Бул жағдайда, кислоталы гидролиз нәтийжесинде проантоцианидин «жоқарғы» бөлегинен дельфинидин, ал «төменги» бөлегинен – сәйкес галлокатехин

пайда болады. Димер проантоцианидинлер бес хираль орыға ийе, соның салдарынан 32 диастереомер форма түрінде болыуы мүмкин, солардан 8 түри тәбиятта табылған.



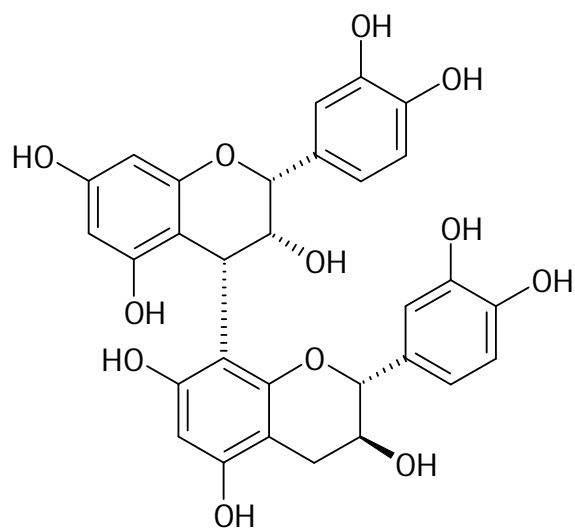
2



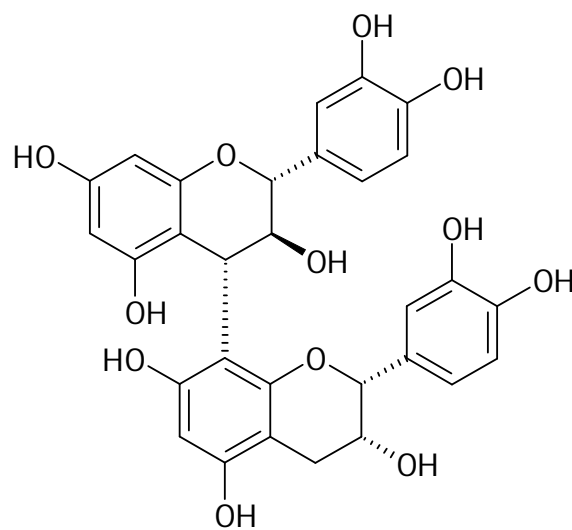
3

3

3



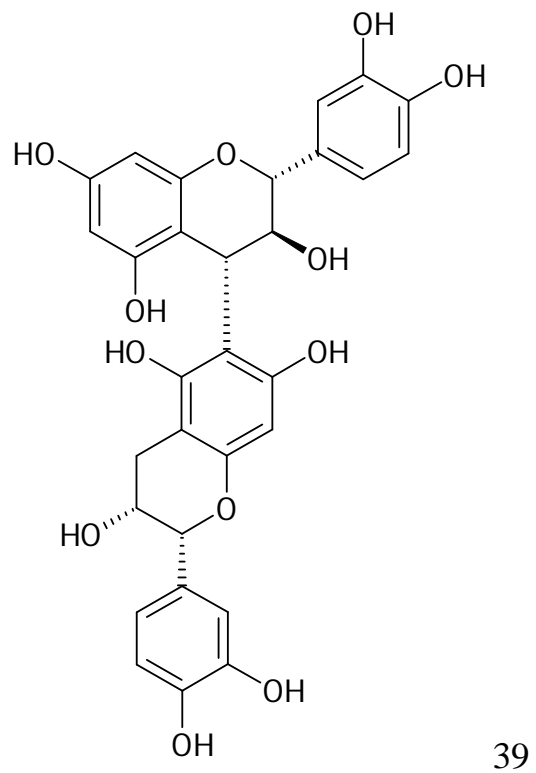
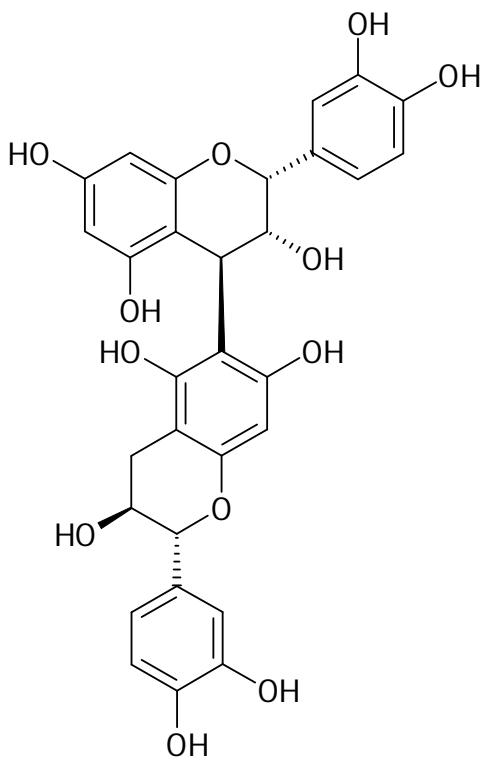
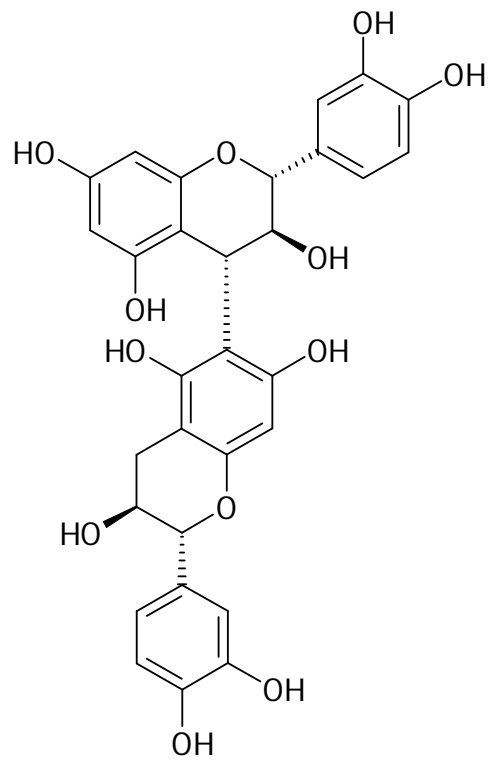
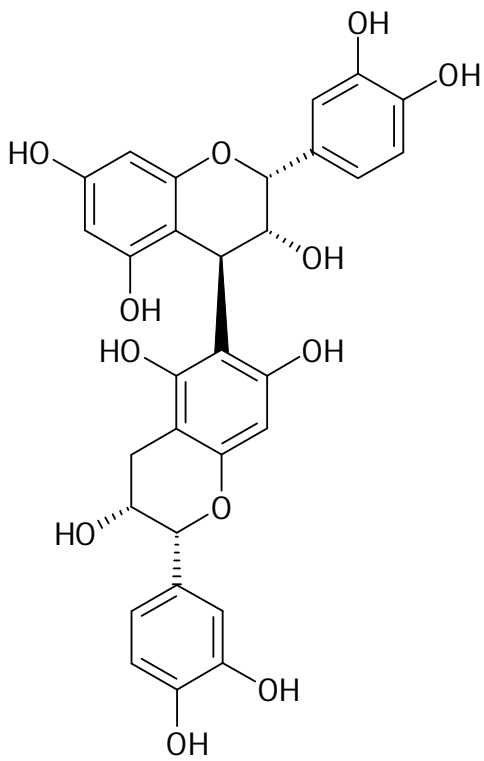
4



3

3

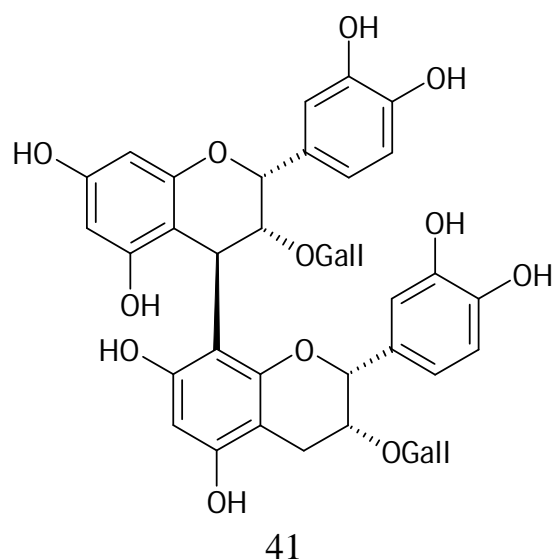
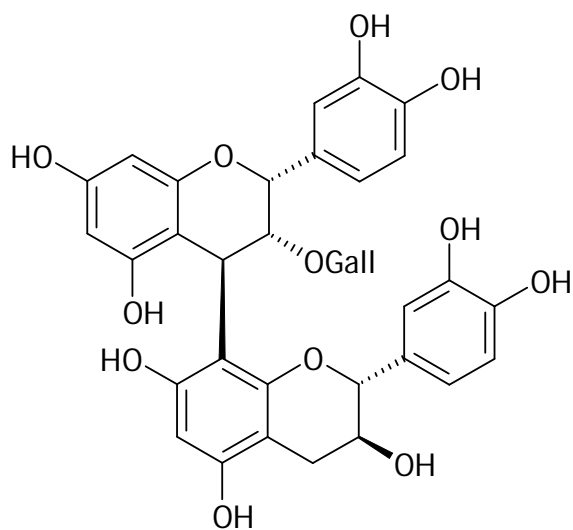
5

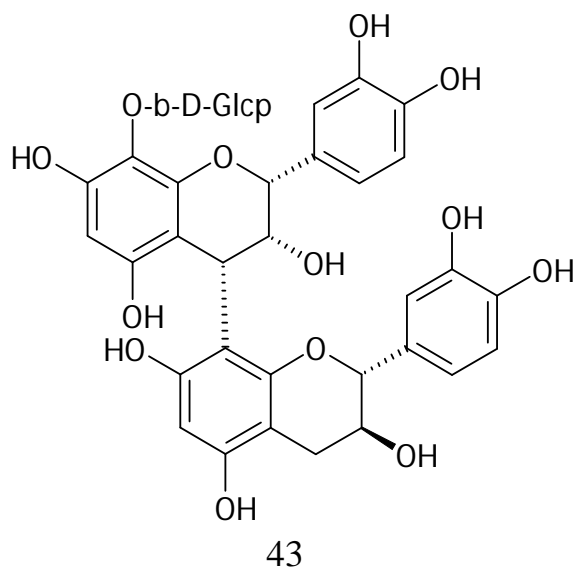
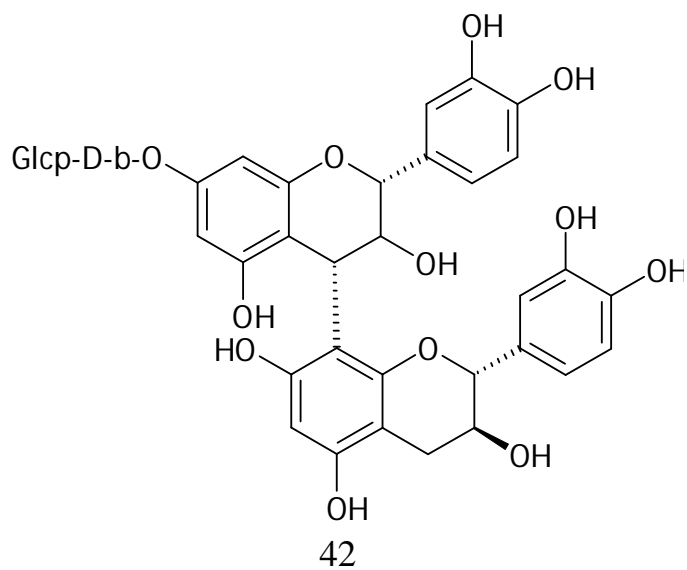


Димер проантоцианидинлердің құрылысын анықлау үшін тийкарығы 3 критерия бар болып табылады:

1. Гетероцикллардың стереохимиясын анықлау;
2. Ақырғы блоктың құрылысын орнату;
3. Молекуляр массасын анықлау;

С циклындағы орынбасарлардың стереохимиясын ЯМР ^1H спектрларында Н-2, Н-3 хәм Н-4 протонларының спин-спин тәсирлесіуінің константалар жардеминде хәм ЯМР ^{13}C спектрларында С-2 хәм С-4 углерод атомларының химиялық жылжыуын мәніси менен анықласа болады. Бул усыллар жәрдеминде «төменги» ақырғы блоклардың структурасын анықлауға болады. Проантоцианидиннің мономер құрамын сондай-ак химиялық усыллар жәрдеминде анықлауға болады: кислоталық хәм тиолитик ыдыратыу. Димер проантоцианидинлердің молекуляр массасы масс-спектрометрия жәрдеминде анықланады. Мономерлер сыяқлы, тәбиятта димер проантоцианидинлердің галоирленген (40-41) хәм гликозирленген (42-43) тууындылары ушырасады.



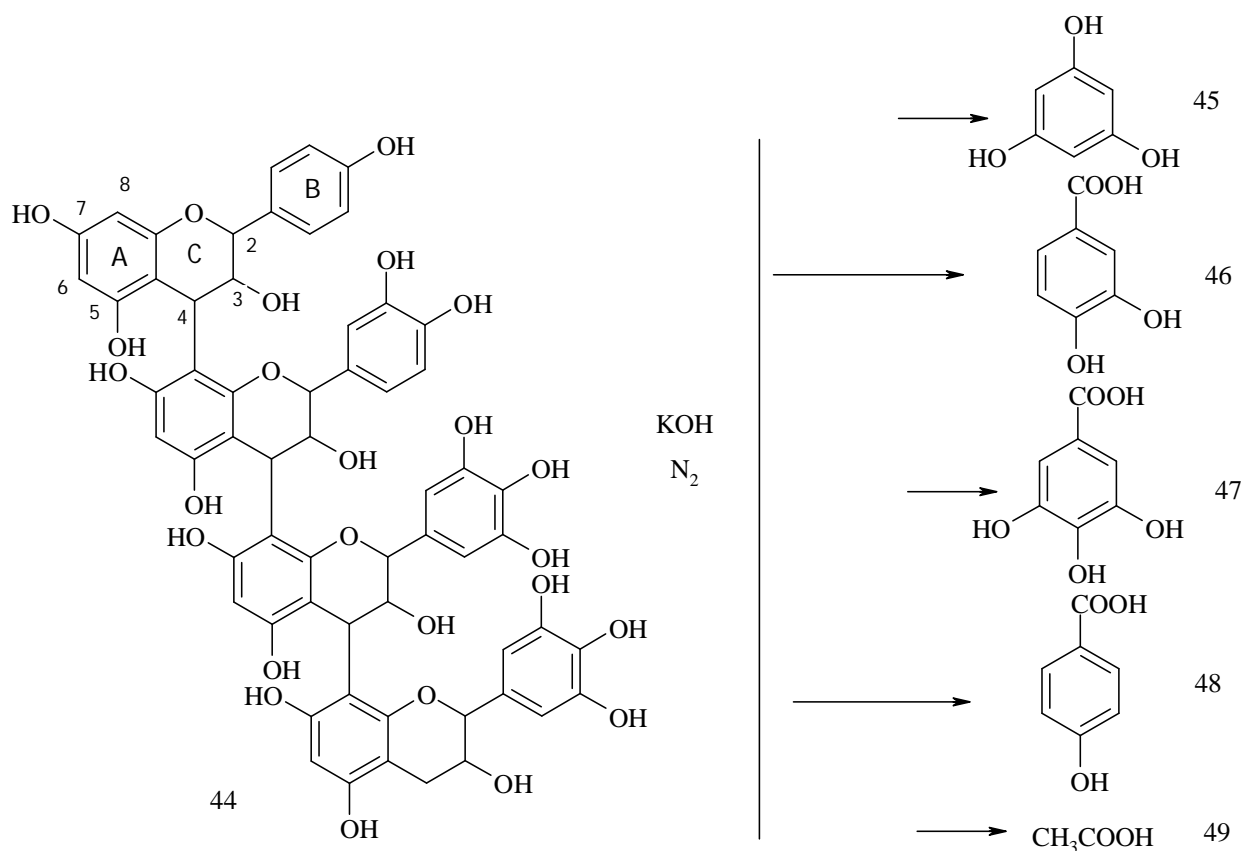


1.4. Проантоцианидинлерди изертлеудің химиялық усыллары

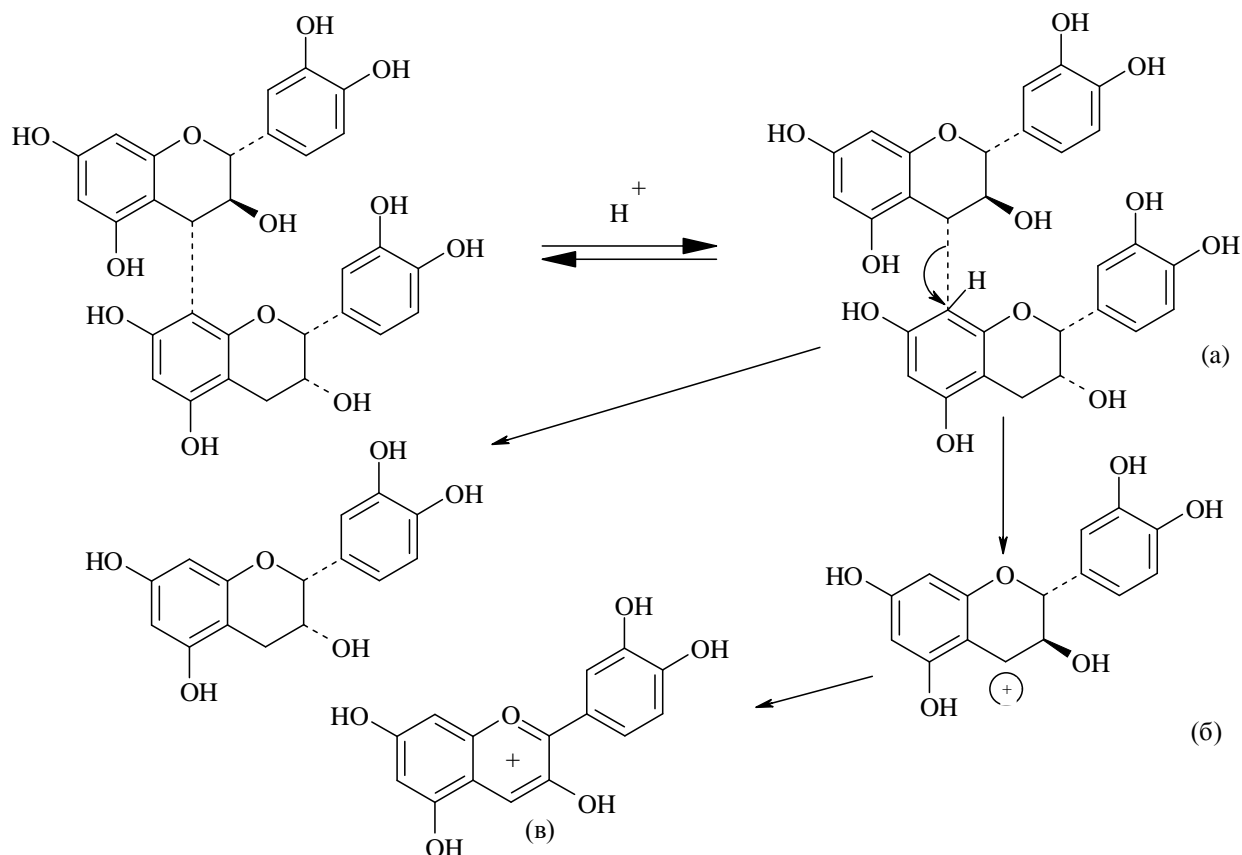
Проантоцианидинлердің қурылысын химиялық изертлегенде, тийкарынан, ароматикалық халқаларда кислородлы орынбасарлардың жайласуыын хәм олардың муғдарын анықлағанда, кең қолланылатуғын усыллардың бири бул силтили гидролиз болып табылады. Силтили гидролиз реакциясы азот атмосферасында бес еселік калий гидроксиди менен өткериледи. Бул фенолокислота хәм фенолдың пайда болуына алып келеди. «А» халқасынан флороглюцин (45), «В» халқасынан фенолокислоталар: пара-оксибензой (46), протокатех (47) галл кислоталар (48) пайда болады.

«С» халқасының тарқалыуынан (C₃-C₄ фрагменти) уксус кислотасы (49) пайда болады [39, 40, 41, 42 35, 36, 37, 34] (1 схемаға қараң).

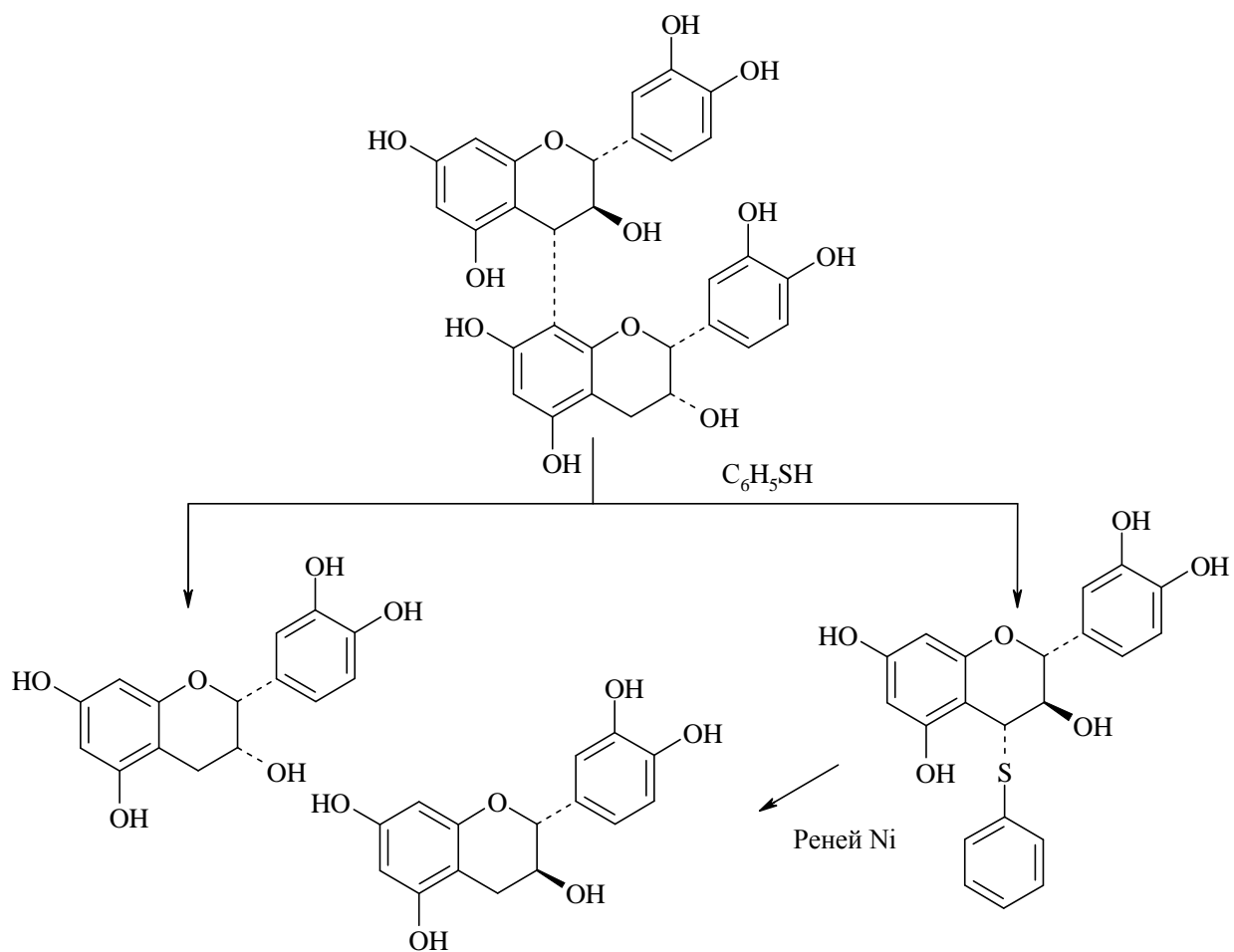
1 схема



Проантоцианидиннің мономер құрамын үйреніуі үшін хәм төменги жағдайда тұрған флаван-3-олды анықлауі үшін кислоталық гидролизди қолланады. Проантоцианидинди суйылтырылған неорганик кислоталардың еритпелеринде әсте қыздырғанда флаван аралық байланыслыр үзиледи. Егерде «жоқарғы» хәм «ортанғы» блоклар эпиафзелехин молекуласын тутса, онда бул реакция нәтийжесинде пеларгонидин пайда болады, ал эпикатехин ямаса катехин болса, онда цианидин пайда болады.»Жоқарғы» блокта галлокатехин ямаса эпигаллокатехин болса, гидролиз өнімлеринде дельфинидин, ал «төменги» блокта өзгермеген халды флаван-3-ол пайда болады. Мәселен, В-4 проантоцианидини (35) ыдыратыуда молекуланың жоқарғы бөлегинен цианидин пайда болады. Бул реакция механизми төмендегиден ибарат: проантоцианидинлердің молекуласында флаван аралық углеро-углерод байланысы болғаны үшін, димердің «төменги» бөлегинің «А» халқасының протонланыуы «а» карбоний ионына алып келеди. Флаван аралық байланыстың электронларының жылжыуы хәм С-4-С-8 ямаса С-4-С-6 байланыстың гетероген тарқалыуы проантоцианидин молекуласының «жоқарғы» бөлегинен «б» карбкатионының пайда болыуына, ал «төменги» бөлегинен (-)-эпикатехиннің пайда болыуына алып келеди. Соң «б» карбкатионы қышқыл орталықта окисленіуі салдарынан флавий-катионға айланады (2 схеманы қараң).



Проантоцианидинлерди тиолитик ыдыратыў молекуланың «жоқарғы» бөлегинен тиоэфирдиң пайда болыўына алып келеди, соң оны Реней никели жәрдемінде флава-3-олга шекем қалпине келтириледі. «Томенги» катехин ямаса галлокатехин блоklar реакция нәтийжесинде өзгермес халда шығады. Тиолиз ушын бензилмеркаптан, фенилмеркаптан хәм толуол-2-тиолдың уксус кислотадағы реакциясы ислетиледи. Бул реакцияда тиогликол кислотасын да қолланған жұмыслар исленген [43-46, 47 38-41, 32] (3 схеманы караң).



1.5.1 УФ, ИҚ-спектроскопия, масс-спектрометрия

УФ-спектроскопия. Полимер проантоцианидинлер сондай УФ-областында специфик спектрларды береді, оларды бундай бирикпелер классын идентификациялау үшін қолланыу мүмкін. Сууда алынған полимерлер спектрлерінде 205 нм де максимум жутылыу байқалады. Полимерлердің күшли суйылтырылған еритпелерінде 240 нм де хәм жоқары концентрациядағы еритпелерінде 270-280 нм де характерли сыныу байқалады. Бундай өзгешеликлер ароматикалық циклдың еки хромофоры болыуынан: дерлик барлық проантоцианидинлерде ушырасатуғын А хәм В халкасының болыуынан жүзеге келеді. Бул циклдың жутылыу полосасы дельфинидиннің (жоқары концентрацияда) спектрларындағы интенсивлиги дерлик үш есе көп болады процианидинлерге қарағанда [45].

Егерде полимер продельфинидин болса, яғный дельфинидин молекулаларынан ибарат болса, онда УФ-спектрдың узын толқынлы областы тарқалады хәм еки максимум пайда етеді: 278 нм деги интенсивлиги аз полоса А цикл хромофорына жууап береді. Ал егерде, полимер тек ғана процианидин системаны өзінде тутса, онда УФ-спектрда 279 нм де тек ғана бир симметриялық полоса байқалады. А хәм В циклы хромофорлары байланыспаған осциляторлар болып табылса, онда λ_{\max} 270 хәм 280 нм аралығында айқынланады. Бул дегени, процианидин хәм продельфинидин қатнасынан келип шығады.

ИҚ-спектроскопия. Оптик спектроскопияның бул турин қолланыу проантоцианидин құрамындағы көплеген функциональ топарлар хәм фрагменлерин анықлауға мүмкиншилик жаратады. Молекулалар аралык водород байланысты пайда етиуши гидроксил топарлардың валентлик тербелислери 3500-3200 см^{-1} областында енли интенсив полосаны көрсетеді. 2935 см^{-1} шамасында жутылыуға алифатикалық углеводород бөлимлери жууап береді, ал метилен топарларының деформацион тербелислери 1495

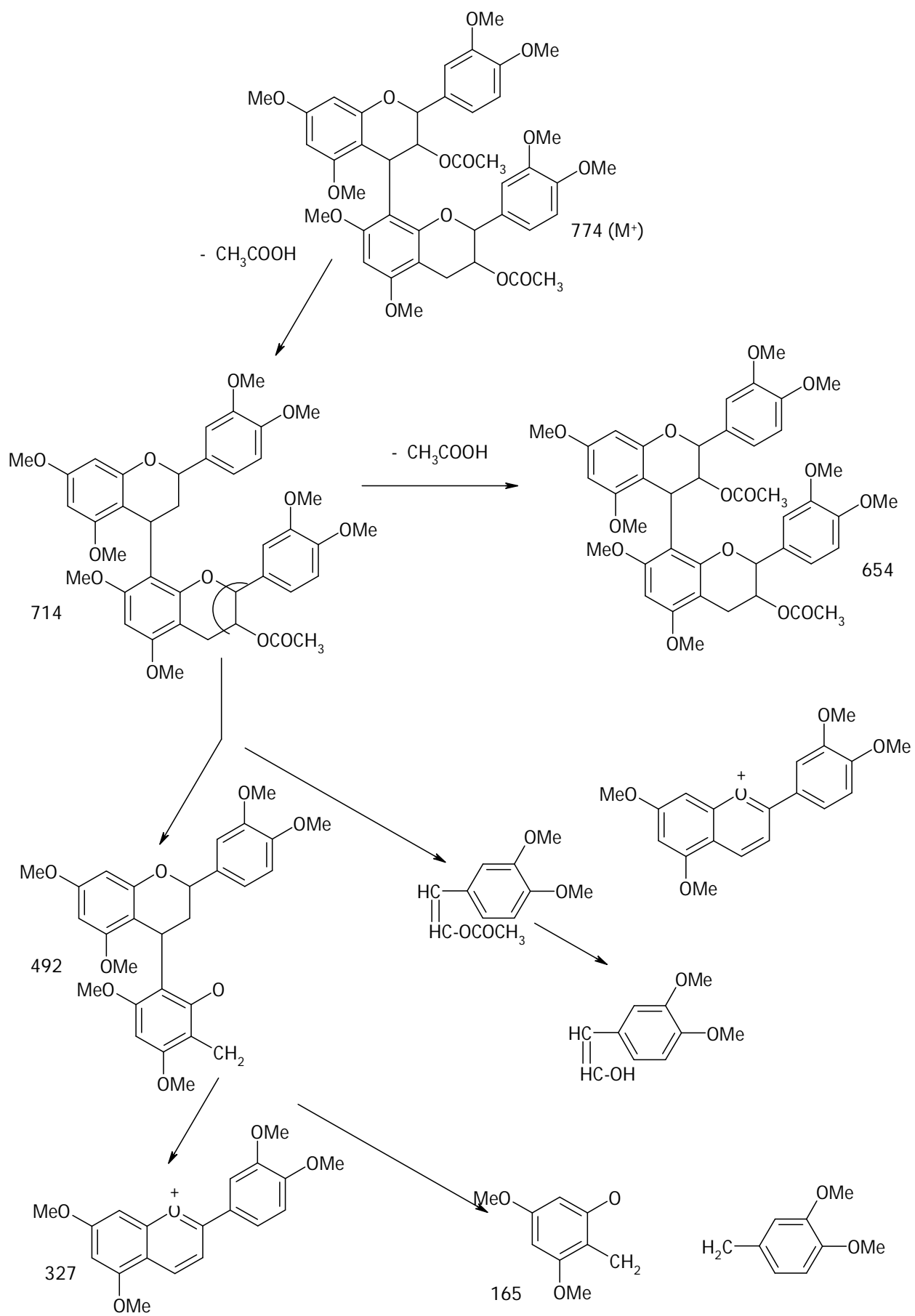
cm^{-1} де айқынланады [101, 102,103]. 1250 cm^{-1} областындағы жутылыу ArCOOR топарының қурамалы эфир топарына сәйкес болады [103,104]. 1033 cm^{-1} областындағы жутылыу полосасы екилемши гидроксил топарының С-О байланысларының валентлик тербеліслерине жууап береді. Екилемши углерод атомындағы қурамалы эфир топарының С-О-С байланысынаң деформациялық тербеліслері 1105 хәм 1050 cm^{-1} де полосалар береді [103,105]. Егерде проантоцианидин қурамында галлокатехинлер бар болса, онда $1540\text{-}1520 \text{ cm}^{-1}$ де ароматикалық циклдың скелет тербеліслериниң полосалары жүзеге келеді. Бул ароматикалық цикллар 1535 хәм 1520 cm^{-1} де еки шоққы береді, ал катехин тутыушы полимерлер спектрлерінде тек ғана 1520 cm^{-1} де бир жутылыу полосасы көринеді. Бундай өзгешеликлер полимер проантоцианидинлердиң спектрларында да көринеді, хәм олардың қурылысын үйрениуде колланылады. Ароматикалық водород атомларының $780\text{-}730 \text{ cm}^{-1}$ деги деформациялық тербеліслері бул циклдағы орынбасарлардың орналасыуын анықлауға мүмкиншилик береді [101-103] сондай ақ, процианидин менен продельфинидинлерди бир-биринен айырыуға имканият жаратады. 1675 cm^{-1} жийилиги областында қурамалы эфир байланысын пайда етиуши аромат кислотаның карбонил топарының жутылыу интенсив полосасы көринеді.

ИҚ-спектрде карбонил топар 1610cm^{-1} енлилеу жолақ түрінде көринеді. Таннинлердиң конденсирленген структурасына 1510cm^{-1} де интенсивлиги күшейиуи тән [105]. 1535 , 1515 , 1150 , хәм 1040 cm^{-1} жийиликтеги коринетуғын жолақлар $1,3,4$ -орын басқан аромат циклдериниң деформацион тербеліслерине тән болады [101-103]. Феноллардағы гидроксил топардағы О-Н байланыслары, сондай-ақ $=\text{C-O}$ байланысларының валентлик тербеліслері 1320 хәм 1200 cm^{-1} областларында интенсив енли жутылыулар корсетеді [104-106]. Әдетте О-Н-байланыслар $780\text{-}770 \text{ cm}^{-1}$ областында, ал $=\text{C-O}$ байланыслар 730 cm^{-1} областында жутылыулар көрсетеді. Бул жолақлардың жутылыу интенсивлигин салыстырып полимер бирикпедеги катехин хәм галлокатехин бириклерин (санларын) анықлауға болады [107].

В аромат халқаның аралас түрдеги окислениў болған проантоцианидинниң ИҚ-спектриндеги 1535, 1515 см^{-1} , хәм 770-730 см^{-1} еки екилик шоққының бар болыўы полимердиң 60% ти проделфинидин блокларынан ибарат екенлиги аңлатады. 800-795 см^{-1} интервалындағы жутылыў катехин хәм галлокатехин бирликлериниң 2,3-цис хәм 2,3-транс конфигурациясын анықлаўға мүмкиншилик жаратады [107].

Масс-спектроскопия. С-4-С-6 хәм С-4-С-8 димер проантоцианидинлериниң метил эфирлери ацетатлары ушын масс-спектрлер алыўға болады. m/z 774 те шоққы молекуляр ион береді. Соң электрон соққы жағдайында сирке кислотасының еки молекуласы ажыралады хәм избытке 714 m/z ийе флаван хәм 654 m/z дифлаван пайда болады. 714 m/z болған иондың ретродиен тарқалыўы массасы 492 m/z болған фрагмент пайда етеді. Соң, массасы 327 хәм 165 болған фрагментлер пайда болады. Бул 4-8 байланыстың үзилгенлигин билдиреди (3 схема).

Олигомер хәм полимер проантоцианидинлер ушын масс-спектроскопия қолланылғанда олардың массасы үлкенлигинен ионға тарқалыў хәм массасы киши болған фрагментлер алыў қыйын болады.

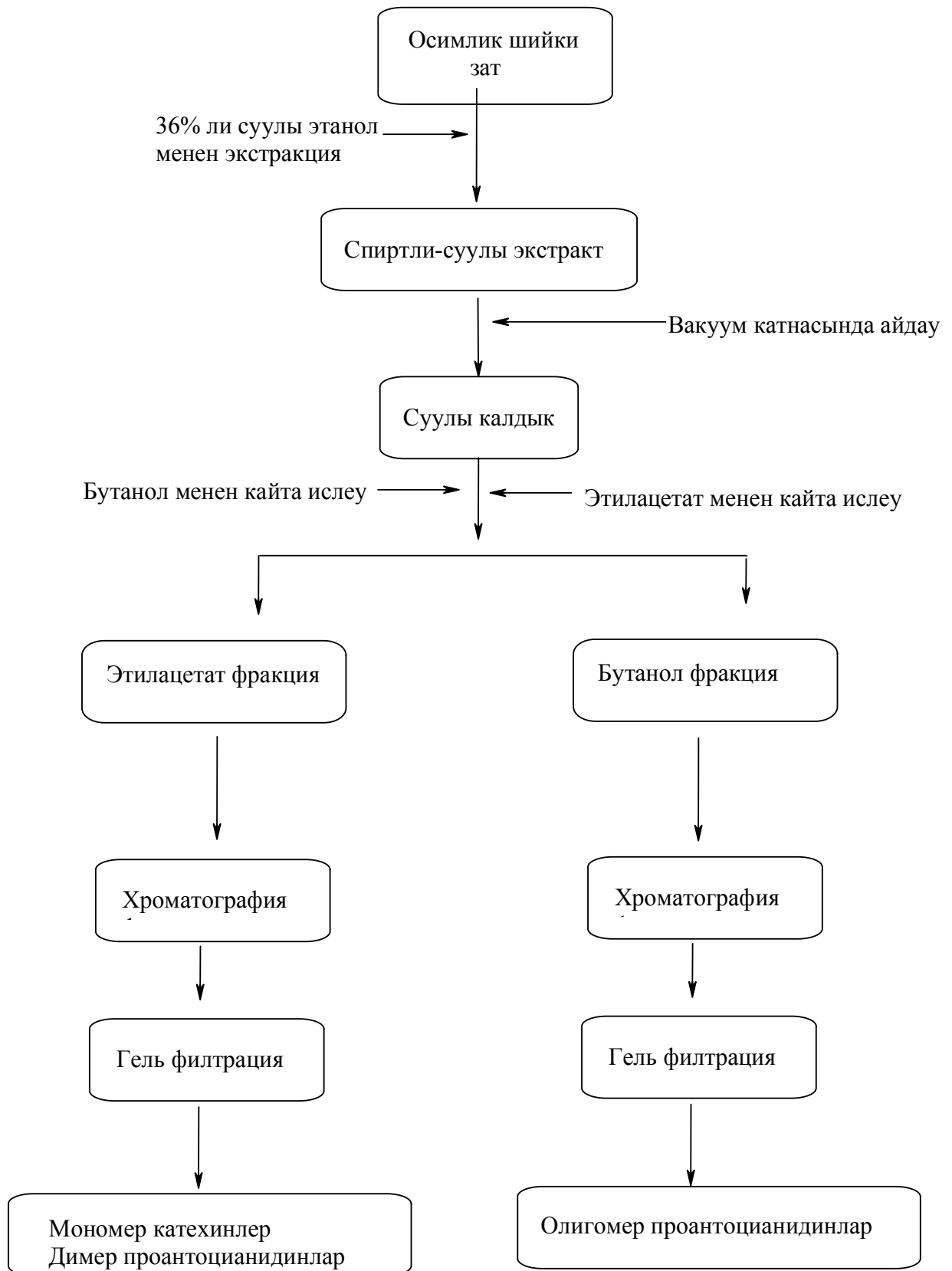


2. Алынған нәтижелерди талқылау

Саперави сортлы жүзим түри Өзбекстанның дерлик барлық жеринде ушырасады. Бул өсимликтің органларындығы химиялық бирикпелер полифенол тәбиятқа ийе болып дәнелеринде, солкымында, қабығында коп ушырасады. Силикагель хәм сефадексте колонкалы хроматография усылында суўлы-спиртли экстракттан төмендеги схема жәрдемінде олигомер проантоцианидин ажыратып алынды. Ажыратып алынған бутанол фракциясында хроматография жәрдемінде ашық қызғыш реңге боялған бирикпениң бар екенлиги анықланды.

Бул болса сол бирикпениң жоқары молекуляр аўырлыққа ийе екенлиги хаққында дәлийл болады. Проантоцианидин бирикпесин ажыратып алыўда гель хроматография усылы қолланылды.

Полифенол бирикпелерди ажыратыў схемасы



2.1 Олигомер проантоцианидин SP-1 диң қурылысы

Проантоцианидин SP-1 ашық қоңыр реңли аморф порошок. Қурамы $C_{125}H_{130}O_{69}$, $[\alpha]_D^{26} +80.3^0$ (C 0.32, этанол), молекуляр массасы (M) 2734, 290-300⁰C да балқымай тарқалады.

Проантоцианидин УФ-спектрында жутылыу интенсивлиги 209 нм максимумнан 255 нм минимумга пәсейеди. Минимумнан соң 274 нм де характерли максимум көринеди.

ИК-спектрда гидроксил топардың (3310 cm^{-1}), ароматик кислотаның α -карбонилиниң (1698 cm^{-1}), конденсирленген аромат халқалардың (1610, 1541, 1517, 1456 cm^{-1}), 1340 (=C-OH), 1230, 1032 cm^{-1} (=C-O-C) характерли жутылыу сызықлары байқалады.

Азот атмосферасында SP-1 бирикпесин силтили ыдыратыу нәтийжесинде үш бирикпе анықланды. Оларды физико-химиялық изертлеулер нәтийжесинде флороглюцин (19), протокатех кислота (20) хам галл кислота (7) менен идентификацияладық. Ал кислоталық гидролиз нәтийжесинде (+)-катехин (1), цианидин (17), дельфинидин (18), глюкоза (15) хәм глюкогаллат молекулалары анықланды. Бос шараятта тиолитик гидролиз қылғанымызды, «төменги» блоктан (+)-катехин (1), «жоқарғы» блоктан – үш тиоэфир араласпасы (21,22,23) алынды хәм Реней никели жәрдемінде каталитик деструкция қылынды. Нәтийжеде алынған бирикпелерди (+)0катехин (1), (-)-эпикатехин (3) хәм (+)-галлокатехин (2) менен идентификацияладық.

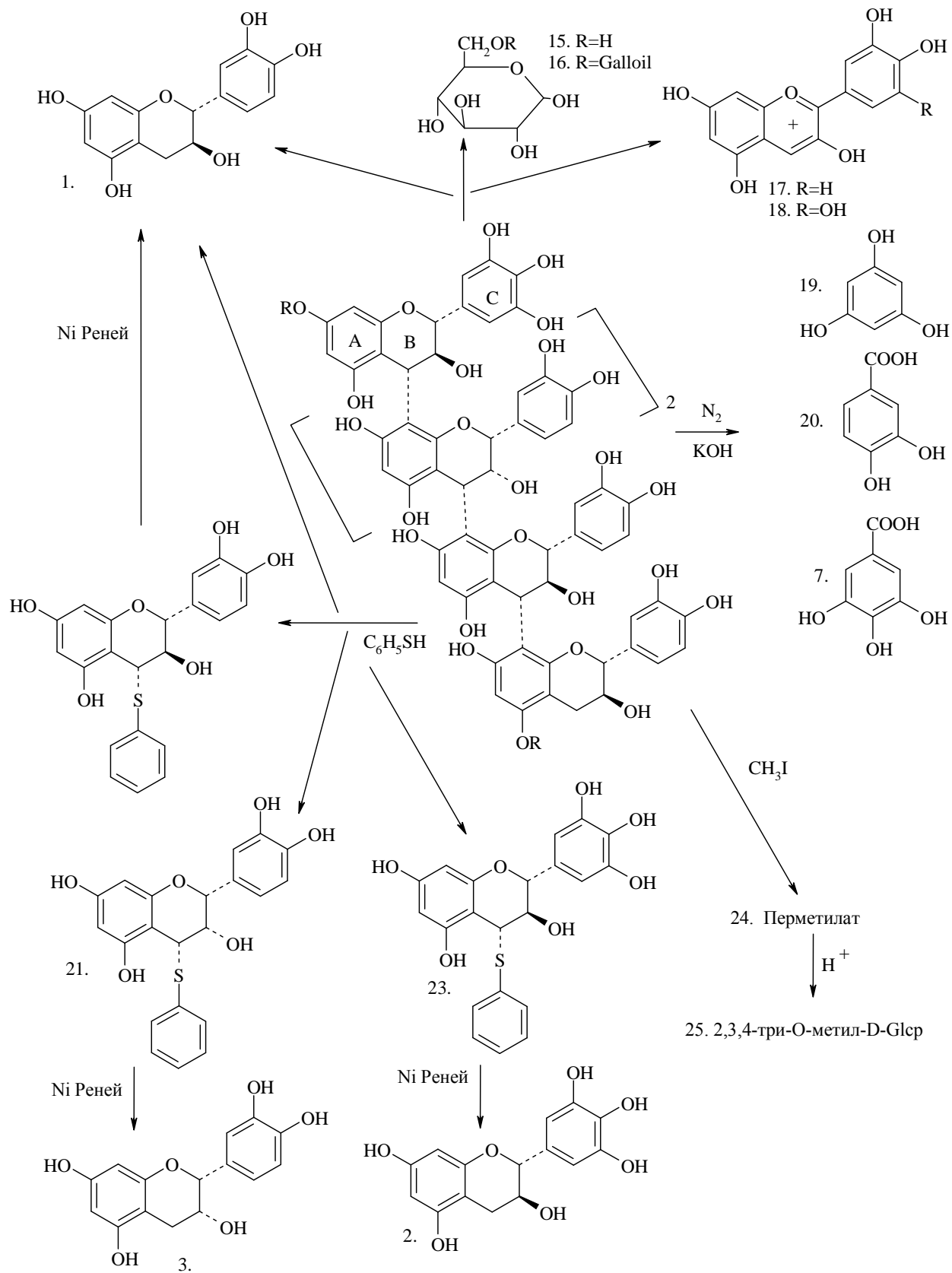
β -гликозидаза ферменти жәрдемінде ферментатив гидролиз өткизгенимизде, глюкоза қалдықлары агликон менен хәм өз-ара β -гликозид байланыс аркалы байланысканын көрсетти.

Углевод болегиниң структурасын үйрениу үшін метиллеу усылын колланып бирикпе перметилатын (24) алдық. Перметилатты кислоталық гидролиз нәтийжесинде 2,3,4-три-О-метил-D-глюкозаны (25) ажыратып алдық хәм идентификацияладық. Идентификацияладық. 2,3,4-три-О-метил-D-глюкозаның анықланыуы гликозид калдықлардын өз-ара 1-6

байланысканын корсетеди. Проантоцианидинлерде әдетте углевод бөлеги агликонға А халканың 5 ямаса 6 углеродына байланысады. Стереохимиялық қыйыншылықлар салдарынан глюкозаның байланыскан орны «жоқарғы» блоктың С-7 хәм «төменги» блоктың С-5 углероды болыўы мүмкин деген пикирге келдик.

Спектрал изертлеўлердиң (УФ-, ИК-, ЯМР¹³С) хәм химиялық өзгерислер усылларынан алынған нәтийжелерге тийкарланып бул бирикпеге томендеги қурылыс формуласын усиндық – (+)-галлокатехин-7-О-β-D-Glcp←-O-β-D-Glcp←-O-β-D-Glcp←Galloil-(4α-8)-(-)-эпикатехин-(4β-8)-(-)-эпикатехин-(4β-8)-(+)-катехин-(4β-8)-(+)-катехин-5-О-β-D-Glcp←-O-β-D-Glcp←-O-β-D-Glcp← Galloil.

3 схема



3. Тәжірийбе бөлими

3.1. Улыўма мағлыўматлар

Проантоцианидин бирикпесиниң УФ-спектрлерин спиртли еритпесинде Lambda-16, әсбабында, ИК-спектрлерин Perkin Elmer-System 200 BT IR бромлы калий таблеткаларында түсирдик.

Бирикпениң оптик тығызлығын анықлаў ушын JASCO J-20 әсбабын қолландық. Бирикпелерди ажыратыўда колонкалы хроматография усылы қолланылды. Адсорбент сыпатында микрокристалл целлюлоза қолланылды. Бирикпелердиң биргелкилигин хәм тазалығын анықлаў ушын жука қабатлы хроматография усылы қолланылды. Бунда Silufol UV-254 маркалы пластинкалар қолланылды хәм төмендеги ериткишлер системасы қолланылды:

1. н-бутанол-уксус кислота-суў 40:12:28
2. н-бутанол-уксус кислота-суў 4:1:5
3. хлороформ-н-бутано-ацетон-кумырыска кислотасы-суў 3.5:13:10:10:8
4. хлороформ-н-бутано-ацетон-кумырыска кислотасы-суў 3.5:11:15:8:8
5. бн. HCl

Айқынластырыўшы сыпатында төмендегилер қолланылды:

1. Сульфат кислотаның 5%ли спиртли еритпесиндеги 1%ли ванилин еритпеси
2. 1%ли FeCl_3 хәм $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ суўлы еритпеси араласпасы (1:1 катнаста)

3.2. Проантоцианидинлерди ажыратыў

Жүзим дәнешелери (3кг) 36% ли суўлы спирт пенен 6 мәрте экстракцияладық. Алынған экстрактлар бириктирилип, 40-50⁰С да 30 мм.сынап бағанасында басымда 3 литрге шекем көлемин пуўландырдық. Қалған қойыў экстрактты 1:3 қатнаста диэтил эфир, этилацетат, н-бутанол менен қайта иследик. Соң, алынған ериткиш экстрактларын пуўландырып, 110, 216 хәм 330 г порошок алдық.

3.3. Бутанол фракциясын ажыратыў

Бутанолдан алынған порошоктан (70г) целлюлоза менен (70г) аралатырып, микрокристаллы целлюлоза менен толтырылған (d-6, h-140, 1680 г.) колонкаға жайғастырамыз. Соң, хлороформ-метанол, метанол, сетанол-суў араласпалары менен элюирлеймиз. Фракцияларды 100 мл көлемнен жыйнадық. Жуқа қабатлы хроматография жәрдемінде 4 хәм 5 ериткишлер системасын қолланып контроль алып бардық. Биргелки фракцияларды бириктири сефадекс пенен толтырылған колонкада (d-5, h-160 см) қайта хроматографияладық.

SP-1. 80-89 шы фракциялар қалдығын (1,30 г) сефадекс толтырылған (d-5, h-160 см) колонкаға салып, 70%ли этанол менен элюирледик. 1,20 гр. ашық қоңыр реңли аморф порошок бөлип алдық. Мм.-2734, 290-300⁰С та тарқалады, $[\alpha]_D^{26} +80,3^0$ (с.0.32, этанол).

УФ-спектр: λ_{\max} 209, 244, 274 нм, λ_{\min} 255нм. ИК-спектр: $\lambda_{\max}^{\text{KBr}}$ 3310, 1698, 1610, 1541, 1517, 1456, 1340, 1230, 1101, 1032, 825, 805, 773, 734 cm^{-1} .

3.4. Проантоцианидинлерди силтили гидролизлеў

20 мл лик төрт аўызлы думалақ түпли колбаға 50мг бирикпени салып, эсте азот жибердик. Соң 5 мл 50%ли калий гидроксидиниң еритпесин салдық. Араластырыў даўамында колбаның түбин ериўшеңлиги 150-160⁰С болған ериген металл банясына батырамыз. Баня температурасын 5 минут даўамында 230⁰С ға жоқарылатамыз, соң реакцион араласпаны тез суўытамыз. Колбаның ишиндегини суў менен суйылтырып этилацетат пенен экстракциялаймыз. Этилацетатлы экстрактты суўсыз натрий менен қурғатып, ериткишти айдап аламыз. Қалған қалдықты полиамид пенен толтырылған колонкада хроматографиялаймыз. Үш бирикпе алынады. Алынған бирикпелер физико-химиялық хәм спектрал мағлыўатларына тийкарланып флороглюцин (19), протокатех (20) хәм галл килота (21) екенлиги анықланды.

3.5. Проантоцианидинлерди кислоталы гидролизлеў

Бирикпеден 0,08гр алып 4 мл этанолда еритемиз, үстине 1,5 мл 2н хлорид кислотасын куйылады, суў банямында қайтымлы холодильник пенен 2 саат даўамында қыздырылады. Реакцион араласпаны суў менен суўылтып, этилацетат пенен экстракциялаймыз. Суўсыз натрий сульфат пенен қурытып, ериткишти айдап аламыз. Қалған қалдықты сефадексли колонкада хроматографиялаймыз. 5 мг (+)-катехин алынды, C₁₅H₁₄O₆, Мм. 290, балқыў температурасы 178-180⁰С, $[\alpha]_D^{22} +21^0$ (с.0.51, ацетон:суў 1:1), λ_{\max} 280нм, Rf 0.65 (система 1). D-глюкоза (система бутанол-1-пиридин-суў, 6:4:3, Rf 0.50; айқынластырыўшы анилинфталат) хәм глюкоза-6-О-галлат, C₁₃P₁₆O₁₀, б.т. 137-138⁰С, $[\alpha]_D^{23} +22^0$ (с.0.32, ацетон). Қағаз хроматографиясы жәрдеминде цианидин хәм дельфинидин анықланды.

3.6. Проантоцианидинлерди тиолитик гидролизлеў

360 г бирикпе хәм 5 мл фенилмеркаптан араластырылып, үстине 3мл уксус кислота хәм 10мл этанол қосылады, араласпаны хана температурасында 48 с қалдырылады. Бирнши 10 саат ишинде реакцияны жуқа қабатлы хроматография менен байқап барылды. Реакцион араласпаны қойылтып май тәризли қалдық алынады. Қалдықты сефадекс толтырылған колонкада хроматографиялаймыз, этанол менен элюирленеди. 14мг (+)-катехни хәм 132мг аморф зат – тиоэфирлер араласпасы алынады.

Тиоэфирлерди тарқатыў. Тиоэфирлерди (132г) менен этанол-уксус кислота араласпасын 4 мл (9:1 қатнаста) араластырып, үстине Реней никели катализаторын саламыз хәм 50⁰С температурада 1 саат даўамында ушлап турамыз. Соң, реакцион араласпаны фильтрлеп, қойылтып сефадекс толтырылған колонкада хроматографиялаймыз Элюент сыпатында 80%ли этанолды колланамыз. Үш бирикпе алынды: (-)-эпикатехин, (+)-катехин хәм (+)-галлокатехин.

3.7. Гликозидлердиң ферментатив гидролизи

10 мл суўда 0,130 г проантоцианидин салып, үстине β-гликозидаза ферментин қостық (*Amygdalis communis* тан алынған фермент уннанн 0,1 г). Реакцион араласпаны термостатқа салып, 30⁰С да 6 саат ушлап турылды. Полифенолларды қорғасын ацетаты жәрдемінде шөктирип, қағаз хроматографиясы жардемінде глюкозаны анықладық.

3.8. Гликозидлерди метиллеу

Диметилсульфоксидтиң 20 мл инее 0,181 г. гликозид салып, үстине 0,2 г натрий гидридин салып 1 саат даўамында хана температурасында араластырдық. Соң, йодлы метил еритпесинен 5 мл тамшылатып қуйып 4 саат даўамында араластырдық. Реакцион араласпаны суўық суўға қуйып (50 мл) этилацетат хәм хлороформ менен экстракцияладық. Экстрактты натрий тиосульфаты менен қайта ислеп, суў менен жуўып, суўсыз натрий сульфаты менен қурғаттық. Ериткишти айдап алған соң, қалдықты бес мәрте усы тақылетте метилледик. Алынған реакция өнімлерин колонкалы хроматография арқалы бөлип, 0,06 г аморф күкин алдық.

Перметилаттың гидролизи. 5 %ли сульфат килотасы бар 10 мл (1:1) суўлы метанолда 0,06г перметилат салынды, хәм суў банясында 8 саат даўамында қыздырылды, соң реакцион араласпаны барий карбонаты менен нейтрализациялап, шөкпени фильтрлеп қурғаттық. Қалдықты хроматографиялық колонкада тазалап, 0,010 г метилленген углеводларды алынды. Жуқа қабатлы хроматография жәрдемінде 2,3,4-үш-О-метил-Д-глюкопираноза екенлигин анықладық.

Жуўмақ.

1. Жүзим дәнесиниң полифенол бирикпелери химиялық үйренілгенде 1 олигомер проантоцианидин ажыратып алынды.
2. Алынған бирикпениң физикалық (УФ-, ИК-, ПМР-спектрлери) анализи ажыратып алынған бирикпе жаңа екенлигин тастыйықлады.
3. Алынған проантоцианидин бирикпе (+)- катехин, (-)-эпикатехин, (+)-галлокатехин бирикпелериниң туўындысы хәм бирикпениң флаван аралық байланыслары С-4-С-8 екенлиги анықланды.
4. SP-1 бирикпеси пентамер екенлиги анықланды хәм оның структурасы томендегише усынылды: (+)-галлокатехин-7-О-β-D-Glcp←-О-β-D-Glcp←-О-β-D-Glcp←-Galloil-(4α-8)-(-)-эпикатехин-(4β-8)-(-)-эпикатехин-(4β-8)-(+)-катехин-(4β-8)-(+)-катехин-5-О-β-D-Glcp←-О-β-D-Glcp←-О-β-D-Glcp← Galloil

Пайдаланылган әдебиятлар.

1. M. El Shaer, Potential of halophytes as animal fodder in Egypt, in: H. Lieth, M. Mochtchenko (Eds.), Part II: Chemical Contents. Cash Crop Halophytes: Recent Studies, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 2003, pp. 111–120.
2. R. Tipirdamaz, D. Gagneul, C. Duhaze, A. Añhouche, C. Monnier, D. Zkuma, F. Larher, Clustering of halophytes from an inland salt marsh in Turkey according to their ability to accumulate sodium and nitrogenous osmolytes, *Environmental and Experimental Botany* 57 (2006) 139–153.
3. B. Wang, U. Lüttge, R. Ratajczak, Specific regulation of SOD isoforms by NaCl and osmotic stress in leaves of the C3 halophyte *Suaeda salsa* L., *Journal of Plant Physiology* 161 (2004) 285–293.
4. S. Abdi, A. Ali, Role of ROS modified human DNA in the pathogenesis and ethiology of cancer, *Cancer Lett.* 142 (1999) 1–9.
5. C.A. Jaleel, R. Gopi, P. Manivannan, R. Panneerselvam, Antioxidative potentials as a protective mechanism in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Plants under Salinity Stress, *Turk J. Bot.* 31 (2007) 245–251.
6. A.Chanwitheesuk, A. Teerawutgulrag, N. Rakariyatham, Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand, *Food Chem.* 92 (2005) 491–497.
7. P. Maisuthisakul, M. Suttajit, R. Pongsawatmanit, Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants, *Food Chem.* 4 (2007) 1409–1418.
8. L. Bravo, Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutr. Rev.* 56 (1998) 317–333.
9. N. Balasundram, K. Sundram, S. Sammar, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chem.* 1 (2006) 191–203.

10. M. Naczki, F. Shahidi, Extraction and analysis of phenolics in food, J. Chromatography 1054 (2004) 95–111.
11. J.M. Navarro, P. Flores, C. Garrido, V. Martinez, Changes in the contents of antioxidants compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity, Food Chem. 96 (2006) 66–73.
12. R. Ksouri, W. Megdiche, A. Debez, H. Falleh, C. Grignon, C. Abdelly, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*, Plant Physiol. Biochem. 45 (2007) 244–249.
13. М.Н. Запрометов Биохимия катехинов, // М., Наука, 1964, С.29-39.
14. Kasuge T., Ishida H., Studies on active substances in the herbs used from Oketsu (@Stagnant Blood@) in Chinese Medicine. IV On the anticoagulative principle in *Rhei Rhizoma*., Chem.Pharm.Bull., 1985, V.33, p.1503
15. 6 Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия, Москва 1988
16. Haslam E., (+)-catechin-3-gallat and polymeric proanthocyanidin from *Bergenia* species., J.Chem.Soc. (C), 1969, p.1824-1828
17. Tanaka T., Nonaka G., Nishioka I., 7-O-Galloyl-(+)-catechin and 3-O-galloyl procyanidin B-3 from *Sanguisoba officinalis*, Phytochemistry, 1983, 22, P.2575-2578
18. Petereit F., Kplpdzji H., Nahrshedt A. Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus Incanus*, Phytochemistry, 1991, V.30, P.981-985
19. Nonaka G., Muta M., Nishioka I. Myricatin galloyl sulphate and prodelfhinidin gallates from *Myrica rubra*, Phytochemistry, 1983, V. 22, P.237-241
20. Sun D., Zhao Z., Wong H., Foo L.Y. Tannins and other phenolics from *Myrica esculenta* Bark, Phytochemistry, 1988, V.27, P.579-583
21. Coxon D.T., Holmes A., Ollis W.D., Vora V.C., Grant M.S., Tee J.L. Flavonol digallates in green tea, Tetrahedron, 1972, V.28, p.2819-2826
22. Morimoto S., Nonaka G., Nishioka I., Ezaki N., Takizawa N. Tannins and related compounds. Seven new methyl derivatives of flavan-3-ols and 1,3-

- dyarylpropan-2-ol from *Cinnamomum cassia*, *C. obtusifolium* and *Lindella umbellata*, *Chem. Pharm. Bull.*, 1985, V.33, p.2281-2286
23. Weeratunga G., Bohein L., Verpoorte R., Kumar V. Flavonoids from *Elaeodendron Balae* root bark, *Phytochemistry*, 1985, V.24, P.2093-2095
24. Zhang B., Nonaka G., Nishioka I. Potentillannin, a biflavonoid and a procyanidin glucoside from *Potentilla viscosa* *Phytochemistry*, 1988, V.27, P.3277-3280
25. Nonaka G., Ezaki E., Hayashi K., Nishioka I. Flavonol glycosides from *Rhapiolepis umbellata*, *Phytochemistry*, 1983, V.22, P.1659-1661
26. Takani M., Nakano M., Studies on constituents of medicinal plants XIX¹⁾ Constituents of *Schizandra nigra* Max. (3)., *Chem. Pharm. Bull.*, 1977, V.25, p.3388-3390
27. Kashiwada Y., Nonaka G., Nishioka I. Tannins and related compounds XLV. *Rhubarb* (5). Isolation and characterization of flavan-3-ol and procyanidin glycosides., *Chem. Pharm. Bull.*, 1986, V.34, p.3208-3222