



Оригинальная статья / Research article

Гепатопротекторная активность экстракта сосны обыкновенной шишек

Д. К. Гуляев✉, С. С. Зыкова, В. Д. Белоногова, Д. О. Семакин, Н. А. Бузмакова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Гуляев Дмитрий Константинович. E-mail: dkg2014@mail.ru

ORCID: Д. К. Гуляев – <https://orcid.org/0000-0001-9464-1869>; С. С. Зыкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
В. Д. Белоногова – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; Д. О. Семакин – <https://orcid.org/0000-0001-9898-3479>;
Н. А. Бузмакова – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 19.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Жировой гепатоз является широко распространенным метаболическим заболеванием. Происходит ежегодное увеличение случаев выявления жирового гепатоза как в России, так и по все миру. Актуальной задачей является поиск новых лекарственных средств для лечения и профилактики развития жирового гепатоза.

Цель. Исследование состава процианидинов и биологической активности экстракта сосны обыкновенной шишек на модели жирового гепатоза *in vivo*.

Материалы и методы. Для получения экстракта использовали шишки сосны обыкновенной, заготовленные на территории Пермского края в декабре. Экстракт получали путем обработки сырья горячей водой. Компонентный состав процианидинов в экстракте определяли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс селективным детектором. Гепатопротекторную активность изучали на модели жирового гепатоза, индуцируемого введением тетрахлорметана *in vivo* на белых беспородных крысах. В качестве эталона сравнения использовали силимарин.

Результаты и обсуждение. В результате хроматографического исследования в сухом водном экстракте сосны обыкновенной шишек были идентифицированы следующие процианидины – В2, В3, С1, С2, D1. В результате гепатопротекторной активности установлено, что в контрольной (интактной) группе при патогистологическом исследовании печени изменений не обнаружено. Индекс (степень) стеатоза: 0. В опытной группе, животным которой вводили тетрахлорметан без последующего лечения обнаружено, что порядка 50 % гепатоцитов гистологического среза в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии. Индекс стеатоза равен 2. В группе животных, которым вводили тетрахлорметан и проводили лечение препаратом Карсил®, гепатоциты нормального размера с единичными жировыми микровезикулами в цитоплазме. Индекс стеатоза равен 0. В группе животных, которым вводили тетрахлорметан и проводили лечение экстрактом шишек сосны, гепатоциты нормальных размеров с зухромным ядром, в центральных отделах в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии (около 20–25 % всех гепатоцитов гистологического среза). Индекс стеатоза равен 1.

Заключение. Экстракт шишек сосны обыкновенной способствует умеренному снижению распространенности белковой, мелкоочаговой мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Для увеличения гепатопротекторной активности необходимо исследовать действие экстракта в дозе 30 мг/кг и выше.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, шишки, водный экстракт, процианидины, гепатопротекторное действие

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Д. К. Гуляев – получение экстракта и его анализ, написание статьи. С. С. Зыкова – определение биологической активности, обсуждение результатов. В. Д. Белоногова – планирование эксперимента, обсуждение результатов. Н. А. Бузмакова, Д. О. Семакин – литературный обзор, написание статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Гуляев Д. К., Зыкова С. С., Белоногова В. Д., Семакин Д. О., Бузмакова Н. А. Гепатопротекторная активность экстракта сосны обыкновенной шишек. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(4–1):128–133. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1613](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1613)

Hepatoprotective Activity of Pine cones Extract

D. K. Gulyaev✉, S. S. Zykova, V. D. Belonogova, D. O. Semakin, N. A. Buzmakova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Dmitry K. Gulyaev. E-mail: dkg2014@mail.ru

ORCID: D. K. Gulyaev – <https://orcid.org/0000-0001-9464-1869>; S. S. Zykova – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>;
V. D. Belonogova – <https://orcid.org/0000-0001-5193-3976>; D. O. Semakin – <https://orcid.org/0000-0001-9898-3479>;
N. A. Buzmakova – <https://orcid.org/0000-0003-3171-0438>.

Received: 16.10.2023

Revised: 19.12.2023

Published: 27.12.2023

© Гуляев Д. К., Зыкова С. С., Белоногова В. Д., Семакин Д. О., Бузмакова Н. А., 2023
© Gulyaev D. K., Zykova S. S., Belonogova V. D., Semakin D. O., Buzmakova N. A., 2023

Abstract

Introduction. Fatty hepatitis is a widespread metabolic disease. There is an annual increase in cases of detection of fatty hepatitis both in Russia and around the world. An urgent task is to search for new medicines for the treatment and prevention of the development of fatty hepatitis.

Aim. Investigation of the composition of procyanidins and the biological activity of pine cones extract on a model of fatty hepatitis *in vivo*.

Materials and methods. To obtain the extract, cones of pine harvested on the territory of the Perm Region in December were used. The extract was obtained by processing raw materials with hot water. The component composition of procyanidins in the extract was determined using ultra-efficient liquid chromatography with a mass selective detector. Hepatoprotective activity was studied on a model of fatty hepatitis induced by the introduction of carbon tetrachloride *in vivo* on white mongrel rats. Silymarin was used as a reference for comparison.

Results and discussion. As a result of chromatographic examination, the following procyanidins were identified in a dry aqueous extract of pine cones – B2, B3, C1, C2, D1. As a result of hepatoprotective activity, it was found that no changes were detected in the control (intact) group during the pathohistological examination of the liver. Index (degree) of steatosis: 0. In the experimental group, whose animals were injected with carbon tetrachloride without subsequent treatment, it was found that about 50 % of hepatocytes of the histological section were in a state of macro- and microvesicular fatty dystrophy. The steatosis index is 2. In the group of animals injected with carbon tetrachloride and treated with Karsil®, normal-sized hepatocytes with single fatty microvesicles in the cytoplasm. The steatosis index is 0. In the group of animals injected with carbon tetrachloride and treated with pine cones extract, hepatocytes of normal size with an euchromic nucleus, in the central parts in a state of macro- and microvesicular fatty dystrophy (about 20-25 % of all hepatocytes of the histological section). The steatosis index is 1.

Conclusion. The extract of pine cones contributes to a moderate decrease in the prevalence of protein, small-focal small-droplet fatty dystrophy of hepatocytes. To increase hepatoprotective activity, it is necessary to investigate the effect of the extract at a dose of 30 mg/kg and above.

Keywords: common pine, cones, aqueous extract, procyanidins, hepatoprotective effect

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. D. K. Gulyaev – extract preparation and analysis, writing an article. S. S. Zykova – determination of biological activity, discussion of results. V. D. Belonogova – experiment planning, discussion of results. N. A. Buzmakova, D. O. Semakin – literary review, writing an article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Gulyaev D. K., Zykova S. S., Belonogova V. D., Semakin D. O., Buzmakova N. A. Hepatoprotective activity of pine cones extract. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):128–133. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1613](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1613)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной задачей является поиск новых лекарственных средств для лечения и профилактики развития жирового гепатоза. Одним из путей поиска является изучение биологически активных веществ растений для создания фитопрепаратов. На фармацевтическом рынке представлено небольшое количество растительных гепатопротекторов (Карсил, Легалон, Силимар, Бонджигар, Ропрен, Дипана, Кедростат)¹.

Сосна обыкновенная – *Pinus sylvestris* L. семейства сосновые – *Pinaceae*, является широко распространенным растением на территории многих регионов Российской Федерации. Несмотря на огромные ресурсы сосны обыкновенной, необходимо проводить мероприятия по лесовосстановлению. Ежегодно лесничествами проводятся мероприятия по заготовке шишек хвойных растений с получением семян.

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <http://grls.rosminzdrav.ru>. Ссылка активна на 16.10.2023

После получения семян, шишки в огромных количествах остаются в виде отходов, которые можно использовать в медицине.

Одной из перспективных групп биологически активных веществ с которой часто связывают развитие гепатопротекторного действия являются процианидины. Процианидин В2 показал свою эффективность при лечении неалкогольной жировой болезни печени [1]. Гепатопротекторная активность процианидина В2 показана при остром отравлении афлотоксином [2]. Процианидины обладают выраженной антиоксидантной активностью, в 20 раз большей чем у витамина С [3, 4]. Сообщается о главенствующей роли кишечной микробиоты для развития фармакологического действия процианидинов [5].

При изучении процианидинов рода *Pinus* чаще всего в качестве объекта исследования выбирают кору сосны [6, 7]. Однако, водные и спиртовые экстракты шишек растений рода *Pinus* содержат процианидины и проявляют выраженную антиоксидантную активность, что обуславливает перспективу развития гепатопротекторного действия [8–11]. Процианиди-

ны шишек сосны обыкновенной могут представлять интерес для создания гепатопротектора и нуждаются в изучении.

Цель – исследование состава процианидинов и биологической активности экстракта сосны обыкновенной шишек на модели жирового гепатоза *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве сырья для получения экстракта использовали сосны обыкновенной шишки, заготовленные на территории Ильинского района Пермского края в декабре. Сосны обыкновенной шишек экстракт сухой получали путем экстракции измельченных шишек водой при нагревании, с последующим отстаиванием, упариванием и сушкой.

Компонентный состав процианидинов в экстракте определяли с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии / МС на хроматографе Waters Acquity с диодно-матричным УФ-детектором и тандемным квадрупольным МС-детектором TQD (Waters Corporation, США).

Подвижная фаза А: смесь вода : ацетонитрил (95:5) с муравьиной кислотой.

Хроматографировали испытуемый раствор и растворы стандартов в следующих условиях: объем пробы 2 мкл; колонка 0,21 × 15,0 см Acquity UPLC BEH C18 (1,7 мкм); температура колонки 35 °С; скорость потока 0,25 мл/мин; УФ-детекция при 220 250 нм.

Гепатопротекторную активность изучали на модели жирового гепатоза, индуцируемого введением тетрахлорметана (ТХМ) *in vivo* на белых беспородных крысах массой от 180 до 420 грамм.

В качестве эталона сравнения использовали препарат «Карсил®» производства Софарма АО, Болгария.

Было сформировано несколько групп: контрольная (8 крыс) – (интактная), 1 группа (8 крыс) – введение ТХМ, 2 группа (8 крыс) – введение ТХМ + «Карсил», 3 группа (8 крыс) – введение ТХМ + экстракт шишек сосны.

Экспериментальный жировой гепатоз вызывали введением перорально крысам тетрахлорметана в дозе 2 г/кг, а через час вводили исследуемые вещества в дозах эквивалентных терапевтическим дозам: для Карсил® – 105 мг/кг, для экстракта шишек сосны – 15 мг/кг согласно схеме эксперимента. Повторное введение ТХМ и экстракта осуществляли на четвертые сутки. В течении 14 дней животные находились на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Через 14 дней крыс подвергли эвтаназии в CO₂-камере и извлекали печень для изучения морфометрических показателей и гистологии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гепатопротекторное действие растительных экстрактов часто связывают с процианидинами. На первом этапе исследования проведен эксперимент по

обнаружению в экстракте процианидинов. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Состав процианидинов экстракта сосны обыкновенной шишек

Table 1. Composition of procyanidins of pine cones extract

Вещество Substance	Время удерживания (t _R) Retention time (t _R)	Длина волны Wavelength	Молекулярный вес Molecular weight
Процианидин В2 Procyanidin B2	3.37	280	578
Процианидин В3 Procyanidin B3	3.86	280	578
Процианидин С1 Procyanidin C1	4,0	280	866
Процианидин С2 Procyanidin C2	5,37	280	866
Процианидин D1 Procyanidin D1	4,79	280	1154

В результате исследования в сухом водном экстракте сосны обыкновенной шишек были идентифицированы несколько процианидинов – В2, В3, С1, С2, D1 (таблица 1).

Следующим этапом исследования являлось определение гепатопротекторной активности на модели жирового гепатоза.

Интактная группа: Весь период опыта крысы контрольной группы (интактные) были активными, хорошо поедали корм, упитанность животных была средняя. Печень – архитектура сохранена. Портальные тракты неравномерного кровенаполнения, со слабой лимфоцитарной инфильтрацией. Желчные протоки не изменены. Пограничная пластинка сохранена. Дольки имеют типичное балочное строение. Синусоидные капилляры со слабой активацией клеток Купфера. Пространства Диссе расширены. Гепатоциты не увеличены, в состоянии микровезикулярного стеатоза преимущественно в центральной зоне долек (рисунки 1, 2). **Индекс (степень) стеатоза: 0** (менее 5% гепатоцитов гистологического среза в состоянии жировой дистрофии).

Опытная группа (ТХМ): Крысы получавшие ТХМ без лечения были активные, хорошо поедали корм, имели среднюю упитанность. Гистоархитектура сохранена. Гепатоциты в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии во всех отделах долек равномерно (порядка 50% гепатоцитов гистологического среза). Пространства Диссе и синусоидные капилляры выражено расширены. Центральные вены запустевшие. В портальных трактах слабая инфильтрация мононуклеарами, желчные капилляры сохраненного строения (рисунок 3, 4). **Индекс стеатоза равен 2.**

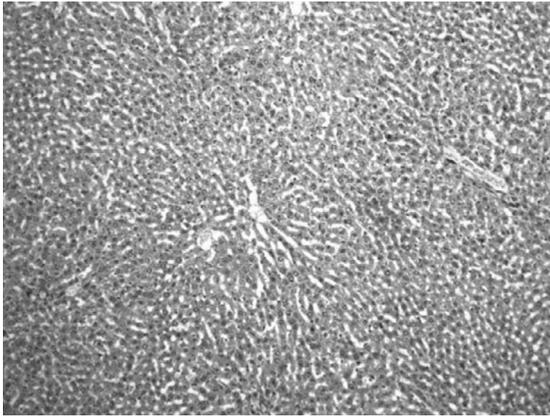


Рисунок 1. Печень, x10

Figure 1. Liver, x10

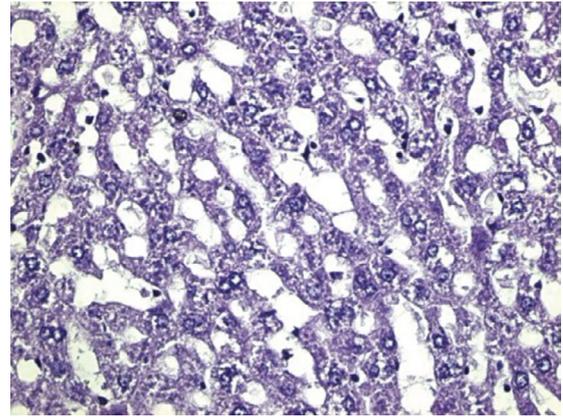


Рисунок 4. Печень, x40

Figure 4. Liver, x40

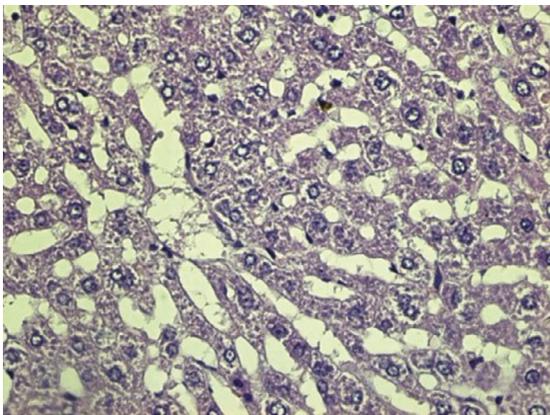


Рисунок 2. Печень, x40

Figure 2. Liver, x40

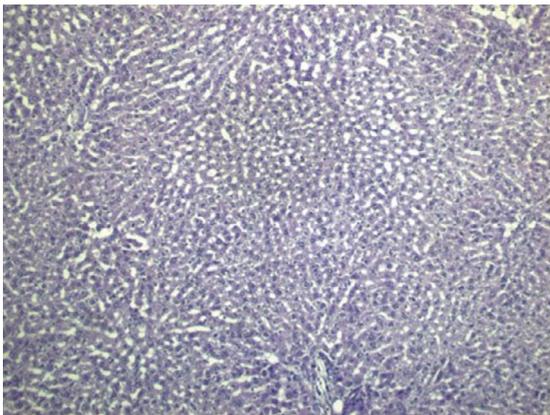


Рисунок 3. Печень, x10

Figure 3. Liver, x10

2 опытная группа (ТХМ + Карсил®): Крысы получавшие ТХМ и «Карсил®» были активные, хорошо поедали корм, имели среднюю упитанность. Балочная структура сохранена. Гепатоциты нормального размера с единичными жировыми микровезикулами в цитоплазме. Пространства Диссе расширены.

Синусоидные капилляры с неравномерным полнокровием. В портальных трактах лимфоциты в малом количестве, желчные протоки не изменены. Центральные вены полнокровные с паравазальными очаговыми кровоизлияниями (рисунки 5, 6). **Индекс стеатоза – 0.**

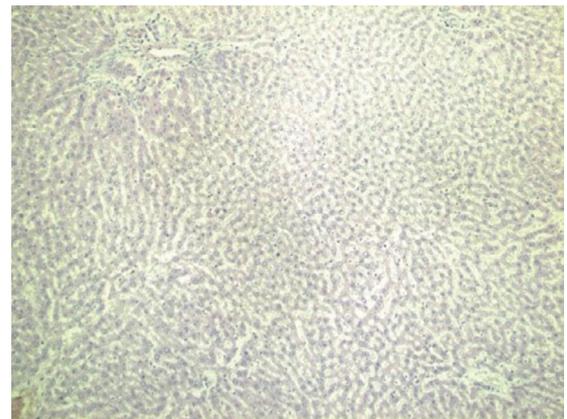


Рисунок 5. Печень, x10

Figure 5. Liver, x10

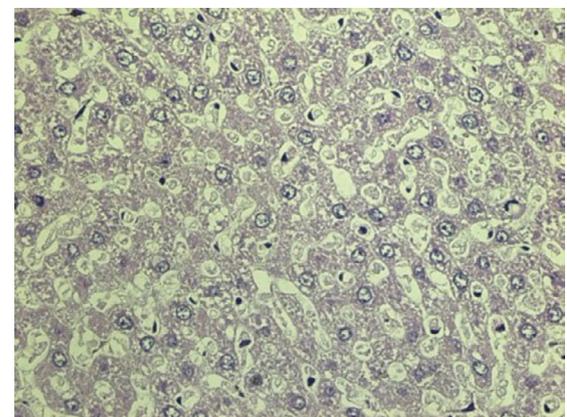


Рисунок 6. Печень, x40

Figure 6. Liver, x40

3 опытная группа (ТХМ + экстракт шишек сосны): Крысы получавшие ТХМ и лечение экстрактом шишек сосны, были активными, хорошо поедали корм, были средней упитанности. Печень – дольковая структура сохранена. Гепатоциты нормальных размеров с эухромным ядром, в центральных отделах в состоянии макро- и микровезикулярной жировой дистрофии (около 20–25 % всех гепатоцитов гистологического среза). Синусоидные капилляры расширены, неравномерного кровенаполнения – более выражено в центральных отделах долек. Центральные венулы полнокровные. Пространства Диссе расширены. В портальных трактах слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация без выхода за пределы пограничной пластинки (рисунки 7, 8). **Индекс стеатоза равен 1.**

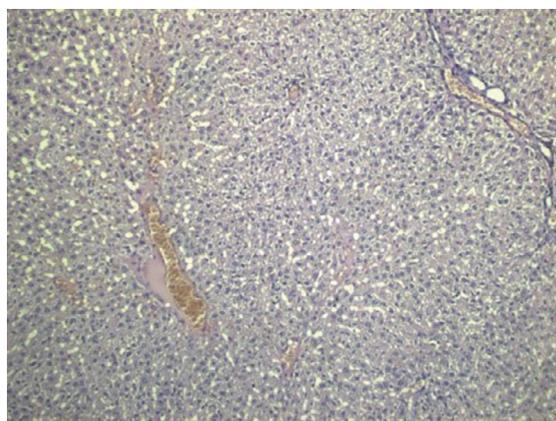


Рисунок 7. Печень x10

Figure 7. Liver, x10

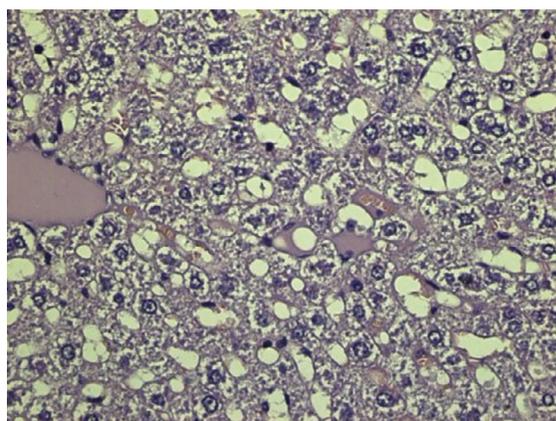


Рисунок 8. Печень x40

Figure 8. Liver, x40

Гистоморфологическая картина гепатоза животных, получавших ТХМ сопровождается выраженной продуктивной воспалительной реакцией и выраженным портальным фиброзом; распространенная бел-

ковая, крупноочаговая среднекапельная жировая дистрофия гепатоцитов; фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

В гистоморфологической картине гепатоза в печени животных, получавших ТХМ и Карсил® сопровождается умеренно выраженной продуктивной воспалительной реакцией и слабо выраженным портальным фиброзом; распространенная белковая, мелкоочаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов; мелкие фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

Гистоморфологическая картина гепатоза в печени животных, получавших ТХМ и экстракт шишек сосны обыкновенной сопровождается слабо выраженной продуктивной воспалительной реакцией и слабо выраженным портальным фиброзом; средняя по распространенности белковая, мелкоочаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов; отдельные мелкие фокусы коагуляционного некроза гепатоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено хроматографическое исследование сухого водного экстракта сосны обыкновенной шишек в результате которого были идентифицированы несколько процианидинов – В2, В3, С1, С2, D1.

Обнажено, что экстракт шишек сосны обыкновенной способствует умеренному снижению распространенности белковой, мелкоочаговой мелкокапельной жировой дистрофия гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Feng J., Wang C., Liu T., Li T., Wu L., Yu Q., Li S., Zhou Y., Zhang J., Ji J. Procyanidin B2 inhibits the activation of hepatic stellate cells and angiogenesis via the Hedgehog pathway during liver fibrosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019;23:6479–6493. DOI: 10.1111/jcmm.14543.
2. Jie D.Z., Fang Z.J., Feng H., Li S. G., Wei G., Li L., Qiang X. D. Protective effect of procyanidin B2 on acute liver injury induced by aflatoxin B1 in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2020;33(4):238–247. DOI: 10.3967/bes2020.033.
3. Dasiman R., Nor N. M., Eshak Z., Mutalip S. S., Suwandi N. R., Bidin H. A Review of procyanidin: updates on current bioactivities and potential health benefits. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022;12(5):5918–5940. DOI: 10.33263/BRIAC125.59185940.
4. Zhu X., Tian X., Yang M., Yu Y., Zhou Y., Gao Y., Zhang L., Li Z., Xiao Y., Moses R. E., Li X., Zhang B. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mouse. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2019;35(2):75–92. DOI: 10.1089/ars.2019.7911.
5. Tao W., Zhang Y., Shen X., Cao Y., Shi J., Ye X., Chen S. Rethinking the mechanism of the health benefits of proanthocyanidins: absorption, metabolism, and interaction with gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(4):971–985. DOI: 10.1111/1541-4337.12444.
6. Athanasiadou S., Almvik M., Hellstrom J., Madland E., Simic N. Steinshamn H. Chemical analysis and anthelmintic activity against *Teladorsagia circumcincta* of Nordic bark extracts in vitro. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:666924. DOI: 10.3389/fvets.2021.666924.
7. 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):227–233. DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.

8. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules*. 2019;126:385–391. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145.
9. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszczak D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants*. 2021;10(11):1723–1737. DOI: 10.3390/antiox10111723.
10. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products*. 2019;145(3):111935–111942. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111935.
11. Topal M. Secondary metabolites of ethanol extracts of *Pinus sylvestris* cones from Eastern Anatolia and their antioxidant, cholinesterase and α -glucosidase activities. *Records of Natural Products*. 2019;14(2):129–138. DOI: 10.25135/rnp.155.19.06.1326.
5. Tao W., Zhang Y., Shen X., Cao Y., Shi J., Ye X., Chen S. Rethinking the mechanism of the health benefits of proanthocyanidins: absorption, metabolism, and interaction with gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(4):971–985. DOI: 10.1111/1541-4337.12444.
6. Athanasiadou S., Almvik M., Hellstrom J., Madland E., Simic N., Steinshamn H. Chemical analysis and anthelmintic activity against *Teladorsagia circumcincta* of Nordic bark extracts in vitro. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:666924. DOI: 10.3389/fvets.2021.666924.
7. Levдansky V. A., Korolkova I. V., Levдansky A. V., Kuznetsov B. N. Isolation and study of proanthocyanidins in the bark of pine *Pinus sylvestris* L. *Chemistry of plant raw material*. 2020;4(4):227–233. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2020047749.
8. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules*. 2019;126:385–391. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145.
9. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszczak D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants*. 2021;10(11):1723–1737. DOI: 10.3390/antiox10111723.
10. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products*. 2019;145(3):111935–111942. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111935.
11. Topal M. Secondary metabolites of ethanol extracts of *Pinus sylvestris* cones from Eastern Anatolia and their antioxidant, cholinesterase and α -glucosidase activities. *Records of Natural Products*. 2019;14(2):129–138. DOI: 10.25135/rnp.155.19.06.1326.

REFERENCES

1. Feng J., Wang C., Liu T., Li T., Wu L., Yu Q., Li S., Zhou Y., Zhang J., Ji J. Procyanidin B2 inhibits the activation of hepatic stellate cells and angiogenesis via the Hedgehog pathway during liver fibrosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019;23:6479–6493. DOI: 10.1111/jcmm.14543.
2. Jie D. Z., Fang Z. J., Feng H., Li S. G., Wei G., Li L., Qiang X. D. Protective effect of procyanidin B2 on acute liver injury induced by aflatoxin B1 in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2020;33(4):238–247. DOI: 10.3967/bes2020.033.
3. Dasiman R., Nor N. M., Eshak Z., Mutalip S. S., Suwandi N. R., Bidin H. A Review of procyanidin: updates on current bioactivities and potential health benefits. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022;12(5):5918–5940. DOI: 10.33263/BRIAC125.59185940.
4. Zhu X., Tian X., Yang M., Yu Y., Zhou Y., Gao Y., Zhang L., Li Z., Xiao Y., Moses R. E., Li X., Zhang B. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mouse. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2019;35(2):75–92. DOI: 10.1089/ars.2019.7911.