

ЭНОХИМИЯ РЕЗВЕРАТРОЛА. АНАЛИЗ ВОЗМОЖНЫХ ПУТЕЙ ЕГО БИОСИНТЕЗА

О. О. Новиков, Г. В. Васильев, В. И. Кочкаров, М. В. Покровский,
М. Ю. Новикова, Т. С. Киселева, Д. А. Фадеева

Белгородский государственный университет

В статье представлен анализ возможных путей биосинтеза резвератрола — вещество из класса флавоноидов. Предложена схема, показывающая пути превращений некоторых групп фенольных соединений при созревании и старении вина. Отмечено, что в эту схему логично укладываются и флавоноиды, в том числе резвератрол, который обнаруживается лишь в молодом вине.

С развитием химических и биологических методов исследований постоянно совершенствуется и аналитическая химия вина. Широкое распространение в этом направлении нашли хроматографические методы анализа (бумажная, тонкослойная, газожидкостная хроматография), электрофорез, гелефильтрация, фотометрия, полярография. В ряде исследований применяются ядерно-магнитный резонанс, радиоактивные изотопы и др. Как результат, значительно расширились представления о химическом составе винограда и вина. В настоящее время в них обнаружено и идентифицировано более 350 химических соединений различных классов.

Химический состав винограда и вина включает соединения различных классов: углеводы, органические кислоты, фенольные, азотистые, минеральные и др. В виноградной грозди эти соединения распределены неравномерно. Так, сахара в большей степени сосредоточены в соке ягоды; фенольные соединения — в кожице винограда, гребнях и семенах; ароматические соединения — в кожице [1].

Большинство из химических соединений винограда и вина обладают определенной биологической и фармакологической активностью. Например, содержащиеся в красном вине полифенолы (флавоноиды: катехины, антоцианы, лейкоантоцианидины, флавоны, флавонолы и др.) в целом значительно снижают вероятность тромбообразования. Кроме того, у них зарегистрировано выраженное антиоксидантное действие.

Однако обилие флавоноидов в красном вине не полностью объясняет факт «французского парадокса»¹, т.к. существуют продукты с большим содержанием

природных антиоксидантов (в т.ч. флавоноидов), например, зелень салата, ягоды черники, мед, миндаль, чай. И эти продукты более употребляемы в других странах, нежели во Франции.

В этой связи, внимание ученых привлекло вещество из класса флавоноидов — резвератрол (рис. 1) [2—8].

Резвератрол в природе существует в виде гликозида и двух *цис*- и *транс*-стереоизомеров агликона. Стереоизомер (*транс*-форма) обнаружен в плодах винограда (*Vitis vinifera* L.), сосне и в арахисе. Обе стерео формы (*цис*- и *транс*-) содержатся в корне горца гребенчатого (*Polygonum cuspidatum*).

До настоящего времени биохимия резвератрола полностью не изучена, хотя уже осуществлен его лабораторный синтез [9].

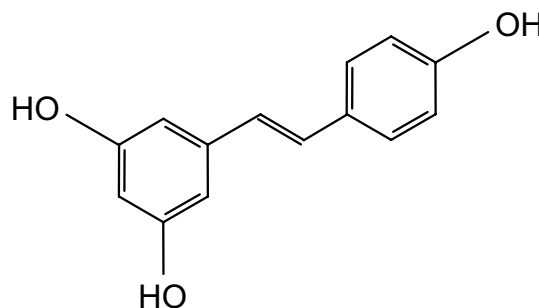


Рис. 1. 3,5,4'-тригидрокси-*транс*-стильбен (резвератрол)

и Х. Демроу из Мэдисонского университета (штат Висконсин) обратили внимание на интересную статистику, опубликованную в международном медицинском журнале «Lancet». Их заинтересовал тот факт, что во Франции, где население отдает предпочтение продуктам с высоким содержанием жиров, уровень сердечно-сосудистых заболеваний намного ниже, чем в других развитых странах. В результате длительных исследований было установлено, что благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему человека оказывает красное вино. Но механизм этого действия ими до конца изучен не был.

© Новиков О. О., Васильев Г. В., Кочкаров В. И., Покровский М. В., Новикова М. Ю., Киселева Т. С., Фадеева Д. А., 2007

¹ В начале 90-х годов мир заговорил о так называемом «французском парадоксе». Тогда ученые-кардиологи Д. Д. Фолтс

Таблица 1

Содержание основных групп фенольных соединений в винограде и вине [1]

№ п/п	Фенольные соединения	Содержание, мг/л			
		в винограде		в вине	
		белом	красном	белом	красном
1.	Катехины	500—2000	500—4000	До 300	До 500
2.	Антоцианы	—	300—2000	—	До 500
3.	Лейкоантоцианидины	20—100	20—1000	До 100	10—200
4.	Флавонолы	10—40	100—200	5—10	5—40
5.	Флавоны	1—10	1—20	1—5	1—10
6.	Танины и другие продукты полимеризации флавоноидов	50—300	50—1000	100—1500	1000—5000

Считается, что резвератрол синтезируется в некоторых растениях в результате стрессорного воздействия каких-либо неблагоприятных условий их произрастания, как-то: заморозки, атаки насекомых, грибковая контаминация, УФ-излучение, ранения и др. Содержание резвератрола в красном вине почти в 2 раза больше, чем в виноградном соке [10].

Известно, что в процессе переработки винограда многие биологически активные соединения переходят в вино, а также претерпевают сложные превращения и служат источником образования новых соединений. Эти превращения зависят от технологии винодельческого производства, поэтому различные типы вин, полученные из одного и того же сорта винограда, будут различаться по своему химическому составу [1].

Для того чтобы представить себе возможные пути образования резвератрола, надо обратиться к биохимии других известных фенольных соединений растительного происхождения.

Вещества фенольной природы достаточно разнообразны (табл. 1) и встречаются в растениях в виде мономерных, олигомерных и полимерных соединений. Результаты целевых исследований фенольных соединений винограда позволили значительно расширить представление о составе и свойствах этой чрезвычайно важной группы веществ, характеризовавшейся ранее суммарно как дубильные (таниды или танины) и красящие вещества (антоцианы).

Рассмотрим подробнее некоторые вопросы превращений флавоноидных соединений винограда и вина.

Общее содержание *катехинов* (флаван-3-олов) (водно- и щелочнорастворимых) увеличивается в винограде по мере его созревания и достигает максимума к началу созревания. Впоследствии в результате действия оксидаз (*о*-дифенолоксидазы, пероксидазы) происходит их частичное окисление с последующей конденсацией. Об этом свидетельствует увеличение молекулярной массы суммарных препаратов катехинов (от 350—400 в начале созревания до 500—550 при физиологической зрелости). Количество конденсированных катехинов достигает в момент созревания 30% от общего их количества. При перезревании оно еще больше увеличивается. Содержание катехинов в сусле и вине зависит от способа переработки винограда, точнее, от времени и условий контакта сусла с твердыми частями ягоды и грозди. В результате в вино может перейти до 50% катехинов ягоды или грозди [1].

При выдержке вина количество катехинов уменьшается и в старых винах оно равно нулю [11]. Во французских красных и белых винах свободные катехины не обнаруживаются уже через 3—4 года выдержки [12].

Катехины и некоторые продукты конденсации катехинов, обладают заметным Р-витаминным действием [11].

В винограде красных сортов присутствуют *антоцианы* (производные флавилия — 2-фенилбензопирилия).

Антоцианы являются красящими веществами растений. Образование антоцианов связано с продуктами гликолитического распада сахаров, и их содержание зависит от энергии фотосинтеза. При созревании винограда количество антоцианов постоянно увеличивается. В винограде некоторых сортов антоцианы накапливаются как в кожице, так и в мякоти (сорта-красители), у большинства же сортов они содержатся только в кожице. Содержание антоцианов в кожице может достичь при полном созревании винограда в зависимости от сорта от 3% (Каберне) до 6% (Саперави) на сухую массу кожицы, в мякоти — от 0 до 500 мг/л [1].

При брожении виноградного сока протекает два противоположных процесса. С одной стороны в связи с повышением спиртуозности усиливается экстракция антоцианов. С другой стороны, образующийся ацетальдегид конденсируется с антоцианами, что вызывает их осаждение. Обычно второй процесс преобладает во второй половине брожения. Поэтому наиболее часто максимум содержания антоцианов наблюдается после сбраживания суслу до содержания спирта 3—6 объемных %. При выдержке вин содержание антоцианов уменьшается. Основная причина — полимеризация их с образованием нерастворимых осадков бурого цвета. Эта реакция протекает в отсутствие кислорода, хотя кислород ее ускоряет. Часть антоцианов конденсируется с альдегидами. Уже через 2—3 года в вине практически свободных антоцианов не обнаруживается [1].

У антоцианов зарегистрирована высокая антиоксидантная активность.

В винограде и вине представлена также группа конденсированных дубильных веществ. Этой группой являются *танины*.

Согласно существующему представлению, танины винограда и вина состоят из смеси полимеров, образующихся конденсацией от 2 до 10 элементарных молекул флавоноидов (катехинов и лейкоантоцианидинов). Структура танинов меняется в процессе выдержки вин. Она не идентична также у танинов, экстрагированных из кожицы винограда на холоде и при нагревании. Молекулярная масса танинов молодых вин составляет 500—800; вин, полученных из суслу прессовых фракций — 1000—1500; выдержанных вин — 3000—4000. Молекулярная масса танинов старых вин умень-

шается вследствие выпадения в осадок наиболее конденсированных форм танинов [12].

Танины играют важную роль в окраске красных вин. Их фармакологическая значимость не выявлена.

Существовавшие ранее представления о том, что различные типы флавоноидных соединений в растениях возникают путем взаимного перехода, оказались неправильными. Экспериментально доказано, что все они, как правило, синтезируются из одних и тех же предшественников [1].

В вине непрерывно совершаются сложные физико-химические и биохимические процессы, характеризующиеся тем или иным направлением на определенных этапах его изготовления. С момента возникновения вина и до его разрушения различают пять таких стадий: образование, формирование, созревание, старение, отмирание [13]. Важная роль в этих стадиях отводится процессам окисления-восстановления.

Окисление полифенолов может происходить под действием фермента пероксидазы. Оно наступает в более поздний период, когда в результате активности флавопротеиновых и других ферментативных окислительных систем, появляется перекись водорода. С ее образованием проявляется и активность каталазы, защищающей клетку от вредного действия H_2O_2 [1].

Установлено, что каталаза обладает также пероксидазным действием и способна окислять этиловый и метиловый спирты в присутствии перекиси водорода, образующейся при действии флавиновых дегидрогеназ. Пероксидаза окисляет полифенолы суслу в продукты, окрашенные в соломенно-желтый цвет [14].

Такое окисление происходит как при дроблении винограда, так и в мезге при прессовании и в сусле при его отстаивании. Особенно энергично проходят окислительно-восстановительные процессы в момент раздавливания винограда. В этот период наблюдается наибольшее поглощение суслу кислорода воздуха. В первые 5—10 минут после раздавливания винограда оно достигает 200 мг/л и более в зависимости от сорта винограда. В дальнейшем скорость поглощения кислорода заметно снижается [15].

Интенсивность окислительно-восстановительных процессов в сусле при его отстаивании во многом зависит от степени измельчения винограда. С одной стороны, чем более тонко измельчены ягоды, тем лучше экстрагируются суслу вещества из твердых частей грозди (в т.ч. фенольные со-

единения) и создаются более благоприятные условия для прохождения первичных и вторичных окислительно-восстановительных процессов. Растворимые окислительные ферменты, содержащиеся в сусле, менее активны, чем ферменты, адсорбированные на мякоти и кожице, и сусло гораздо меньше поглощает кислорода, чем мезга [1].

Таким образом, в первый период образования вина наряду с диффузионными идут сложные ферментативные процессы, связанные с ферментными системами самого винограда. Интенсивность прохождения их зависит от технологических приемов переработки винограда и степени обогащения сусла окислительными ферментами и их субстратами (в особенности фенольными соединениями).

Фенольные соединения в процессе брожения претерпевают значительные изменения. В начале и конце брожения, когда в сусле и вине имеется кислород, происходит интенсивное окисление фенольных веществ и выделение их в осадок. Содержание антоцианов при этом может уменьшаться до 40% к исходному количеству в сусле. Во время брожения наблюдается восстановление хинонов, которое происходит за счет глутатиона, выступающего в роли переносчика водорода. Пока имеются хиноны, глутатион в сусле находится в окисленной форме и лишь после полного их восстановления можно обнаружить восстановленную форму глутатиона. Активность окислительных ферментов в процессе брожения снижается, причем на 5 день наступает полная их инактивация [14].

Окислительно-восстановительные процессы, протекающие в винах в период созревания, обусловлены поглощением кислорода, содержащегося в воздухе и поступающего в вино во время технологических операций (переливке, фильтрации и др.). При выдержке вина количество кислорода в нем постепенно снижается, что обусловлено участием его в окислительных реакциях. На интенсивность поглощения кислорода вином оказывает влияние содержание в нем фенольных веществ [12].

Окисление катехинов сопровождается как их конденсацией с образованием веществ с большей молекулярной массой, так и разрушением до углекислого газа и воды. Продукты окислительной конденсации могут быть разделены по молекулярной массе путем диализа. При выдержке вина процентное содержание не диализирующихся продуктов превращений катехинов имеет тенденцию к увеличению. Окисленные высококонденсированные катехины постепенно выпадают в осадок [11].

При созревании и старении вина антоцианы также полимеризуются. Этот процесс проходит в вине независимо от содержания кислорода, хотя ускоряется в его присутствии. В 2—3-летнем красном вине свободных антоцианов практически нет. Все они находятся в виде полимеров. Однако степень их полимеризации различна. Если в молодых винах 75% продуктов полимеризации антоцианов диализуются, то в старых красных винах всего лишь около 30%. Высоко-конденсированные полимеры постепенно выпадают в осадок. В результате окраска вина ослабляется. Установлено, что при взаимодействии с ацетальдегидом, всегда присутствующим в винах, антоцианы также образуют труднорастворимые осадки [1].

Лейкоантоцианидины превращаются в полимеры уже при созревании винограда и в вине находятся большей частью в полимерной форме. Такая форма относительно устойчива, так как при созревании и старении вина заметного уменьшения этих полимеров пока не обнаружено. Однако методы определения содержания лейкоантоцианов в вине еще недостаточно надежны, чтобы можно было бы более определенно говорить о путях их превращений [1].

Мало известно о превращениях флавонов и флаванолов. Возможно, они, так же как катехины и антоцианы, подвергаются полимеризации и, в конечном итоге, большая их часть выпадает в осадок.

Структура танинов в процессе созревания и старения вина значительно меняется. При этом важное место занимает окислительная их конденсация, усиливающая собственный цвет танинов [1].

Схема, приведенная на рис. 2, показывает пути превращений некоторых групп фенольных соединений при созревании и старении вина [1]. В эту схему логично укладываются и фитоалексины, в т.ч. резвератрол, который, по данным литературы, обнаруживается лишь в молодом вине.

ДИСКУССИЯ

Из вышесказанного можно заключить, что процесс окисления под действием собственных ферментных систем винограда и вина, а также кислорода воздуха, является определяющим в череде химических превращений полифенольных соединений. Доказано, что интенсивность процесса окисления резко увеличивается в технологической стадии раздавливания ягод, по всей видимости, из-за увеличения площади окисляемой поверхности.

Так как, установлен факт значительного увеличения содержания резвератрола в молодом вине по сравнению с виноградным соком и учитывая его полифенольную природу, правомочно предположить, что он является результатом химических превращений других полифенолов винограда. И механизм этих превращений, вероятнее всего, осуществляется реакциями окисления-восстановления. Факт наличия резвератрола в самом винограде не противоречит данной гипотезе, т.к. воздействие на его кожу не благоприятных условий также должно заканчиваться для ягод определенным травматизмом, а, значит, стимуляцией процессов окисления.

Косвенным подтверждением данной гипотезы является факт пероксидазного окисления полифенолов суслу в продукты, окрашенные в соломенно-желтый цвет. Этот же цвет имеет и субстанция резвератрола.

Предлагаемая гипотеза, казалось бы, не согласуется с существующей теорией о невозможности взаимного перехода полифенолов в растении. Однако это представление было сформулировано до открытия соединений класса флавоантоцианов, которые в этой связи не изучались. Кроме того, если не рассматривать резвератрол как продукт нормофизиологической деятельности растения, то противоречий не существует.

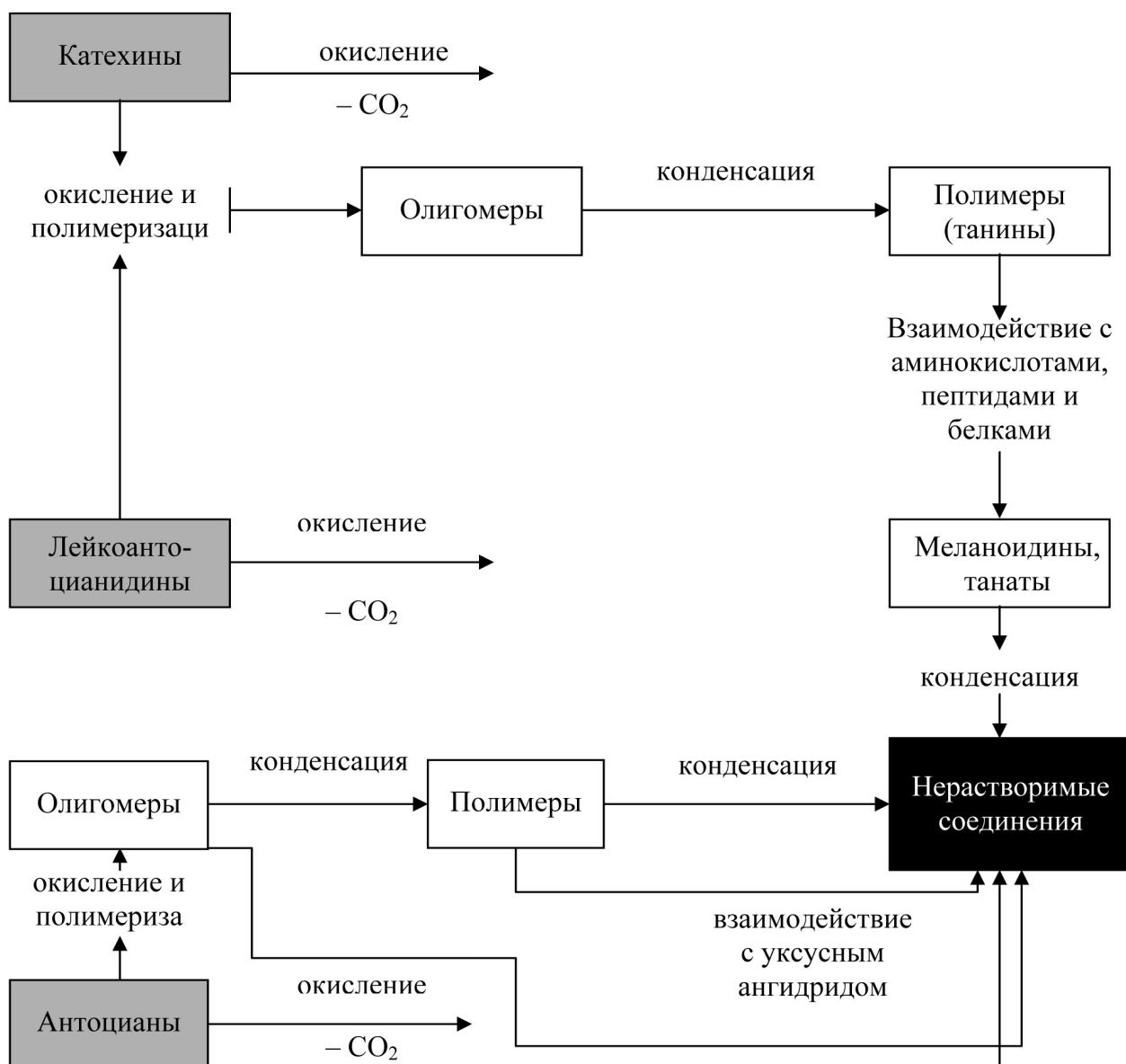


Рис. 2. Пути превращений некоторых групп фенольных соединений при созревании и старении вина [1]

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кушковский З.Н., Скурихин И.М. Химия вина. — М., Пищевая промышленность. — 1976. — 312 с.
2. Bowers J.L., Tyulmenkov V.V., Jernigan S.C., Klinge C.M. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*. 2000; 141:3657—3667.
3. Cichewicz R.H., Kouzi S.A., Hamann M.T. Dimerization of resveratrol by the grapevine pathogen. *Botrytis cinerea*. *J. Natl Prod.* 2000; 63:29—33.
4. Dubash B.D., Zheng B.L., Kim C.H., et al. Inhibitory effect of resveratrol and related compounds on the macromolecular synthesis in HL-60 cells and the metabolism of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene by mouse liver microsomes. In: Shahidi F., Ho C-T, eds. *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*. Champaign, IL: AOCS Press; 2000:314—320.
5. Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci.* 2000; 66:663—673.
6. Stewart J.R., Christman K.L., O'Brian C.A. Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases. *Biochem Pharmacol.* 2000; 60:1355—1359.
7. Subbaramaiah K., Michaluart P., Chung W.J., et al. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 889:214—223.
8. Tessitore L., Davit A., Sarotto I., Caderni G. Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21CIP expression. *Carcinogenesis*. 2000; 21:1619—1622.
9. Полунина К.Е., Шмальц Х.-Г., Полунина И.А. Металлоорганическая химия. Ареновые комплексы хрома в синтезе транс-резвератрола. — Известия Академии наук. Серия Химическая. — №7. — 2002. — С. 1219—1223.
10. Виноградное вино. — WWW.Medicus.ru
11. Дурмишидзе С.В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина. — М., Изд-во АН СССР. — 1955. — 232 с.
12. Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribereau-Gayon P. *Traite d'oenologie. Sciences et techniques du vin. Tome 1. Analyse et controle des vins.* — Paris, Dunod. — 1972. — P.671.
13. Герасимов М. А. Технология вина. — М., «Пищевая промышленность». — 1964. — 640 с.
14. Родопуло А.К. Биохимия виноделия. — М., «Пищевая промышленность». — 1971. — 374 с.
15. Нилов В.И., Скурихин И.М. Химия виноделия. — М., «Пищевая промышленность». — 1967. — 442 с.