

БИОХИМИЯ

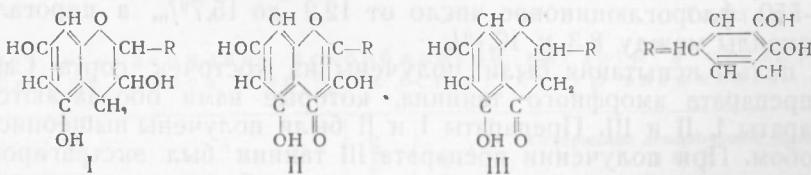
С. В. ДУРМИШИДЗЕ и В. Н. БУКИН

**ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДУБИЛЬНЫХ И КРАСЯЩИХ
ВЕЩЕСТВ ВИНОГРАДА**

(Представлено академиком А. И. Опарином 18 XII 1950)

Физиологические свойства дубильных и красящих веществ типа катехинов (I), флавонолов (II) и флавононов (III) привлекают все большее внимание в связи с тем, что многие из них, как оказывается, обладают Р-витаминной активностью. В частности, оказалось, например, что выделенные из грузинского чая препараты танина (смесь катехинов и их галловых эфиров) и *l*-эпикатехина обладают выраженным капилляроукрепляющим действием и усиливают накопление аскорбиновой кислоты в органах животных, предохраняя их от заболевания цингой⁽¹⁾.

Таким образом, ценность чая, которая обычно сводилась к возбуждающему воздействию кофеина, заключается также в наличии физиологически активных веществ типа катехинов, оказывающих благоприятное действие на организм.

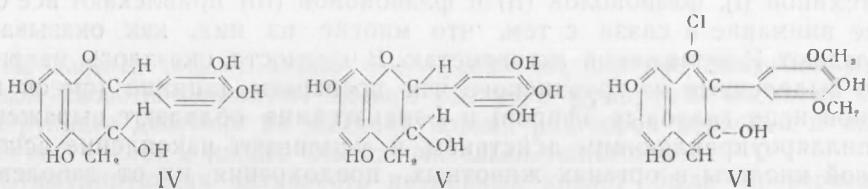


Особый интерес представляет выяснение физиологического действия дубильных и красящих веществ винограда ввиду их разнообразия и значительного содержания, а также потому, что виноград в больших количествах потребляется в свежем виде и наряду с этим служит сырьем для изготовления виноградных вин, в которые в большем или меньшем количестве переходят указанные вещества. Своеобразие отечественной технологии изготовления вин кахетинского типа, когда виноградный сок сбраживается на мязге и выдерживается на ней в продолжение нескольких месяцев, позволяет думать, что подобные вина, как особо богатые этими веществами, возможно, обладают высокой физиологической активностью, и не исключено, что именно в этом следует усматривать их лечебное действие.

Для проверки наличия в винограде веществ с действием витамина Р нами были предприняты опыты получения ряда препаратов и их биологического испытания, результаты которых излагаются ниже. Одним из нас были идентифицированы из винограда *d*-катехин⁽³⁾, *l*-галлокатехин⁽⁴⁾ и энидин⁽⁵⁾; было показано также, что танин винограда содержит депсидно связанную галловую кислоту и принадлежит к дубильным веществам смешанной группы⁽⁶⁾.

Для изучения физиологической активности нами были получены из винограда суммарные препараты виноградного танина следующим

способом. Хорошо измельченный сухой материал обрабатывали хлороформом при 45—50° или при комнатной температуре для удаления хлорофилла, смолистых веществ и жиров. К оставшемуся материалу добавляли влажный этилацетат и для экстракции выдерживали смесь в заполненных и герметически закрытых сосудах в продолжение 15—20 дней при комнатной температуре. Затем этилацетатный экстракт фильтровали через стеклянный фильтр, высушивали над сернокислым натрием и выпаривали в вакууме при 40° в атмосфере углекислого газа до небольшого объема. К концентрированному раствору добавляли 5—6-кратное количество безводного хлороформа и выпавший при этом осадок отделяли фильтрованием через стеклянный фильтр. Остаток промывали хлороформом и быстро высушивали в вакууме. После этого препарат танина трижды переосаждали из хлороформа и высушивали в вакууме. Для окончательного удаления органических растворителей танин растворяли в малом количестве воды и высушивали в вакууме над P_2O_5 . *d*-катехин (IV) и *l*-галлокатехин (V) присутствуют во всех твердых частях винограда — в кожице, гребнях и косточках. Энидин (VI) содержится в кожице красных сортов винограда.



Аморфные препараты танина из разных частей винограда (гребни, кожица, косточки) не являются продуктами, принципиально отличными друг от друга. Они представляют собой смесь катехинов и их галловых эфиров (4). Их молекулярные веса колеблются в пределах 370—550, флороглюциновое число от 12,2 до 15,7%, а пирогалловые гидроксины между 8,3 и 10,1%.

С целью испытания были получены из косточек сорта Саперави три препарата аморфного танина, которые нами обозначаются как препараты I, II и III. Препараты I и II были получены вышеописанным способом. При получении препарата III танин был экстрагирован не этилацетатом, а этиловым спиртом, что способствовало его частичному окислению. Остальные операции были проведены так же, как и в первом случае. Препарат II был выделен из косточек незрелого винограда, когда около 70% дубильных веществ составлял *d*-катехин. Препараты I и III были получены из косточек зрелого винограда. Препараты I и II представляли собой почти бесцветный аморфный порошок, III был окрашен в коричневый цвет.

В табл. 1 сведены результаты исследования препаратов; флороглюциновое число и пирогалловые гидроксины определяли методами А. Л. Курсанова и др. (7, 8).

Таблица 1

Элементарный состав препаратов суммарного танина винограда

Препара- ты	Мол. вес	C %	H %	N %	Флороглюци- новое число %	Пирогалловые гидроксины %	Коэффи- циент окисляемо- сти
I	500	59,00	4,80	0	12,2	10,3	0,00510
II	440	59,75	4,94	0	17,7	9,2	0,00480
III	—	—	—	0	7,5	6,0	0,00959

Как видно из этих данных, препараты I и III, хотя и получены из одного и того же материала, сильно отличаются между собой степенью окисленности; препарат III представляет собой препарат I в уплотненном состоянии. Препарат II, в отличие от I, характеризуется более высоким содержанием фтороглюцина и несколько более низким содержанием пирогалловых гидроксилов.

Биологическое испытание препаратов проводилось на молодых морских свинках по методике, описанной в работе Курсанова и др. (1). Животные предварительно выдерживались на богатой витамином С пище. В опытный период морские свинки получали диету, лишенную этого витамина и заметных количеств веществ флавоновой природы. В состав диеты входили крахмал (78%), казеин (18%) и смесь солей Мендель — Осборна (4%), из которых выпекались лепешки, а также овес. Помимо этого, животные получали ежедневно витамины B₁, B₂ по 0,1 мг, РР по 1 мг, А и D по 100 м. е.

Морские свинки были разбиты на 8 групп по 5—6 животных в группе. 6 групп дополнительно к основной диете получали в день по 10 мг аскорбиновой кислоты и по 1 мг того или иного испытуемого препарата. Были испытаны *l*-галлокатехин, *d*-катехин, эндин и три препарата I, II и III. Животные 7-й группы получали дополнительно к основной диете одну аскорбиновую кислоту в количестве 10 мг; эта группа являлась положительным контролем. Животные 8-й группы получали одну основную диету и являлись отрицательным контролем. Продолжительность опыта равнялась 30 дням; в течение этого времени животные систематически взвешивались. По истечении этого срока животные были забиты и вскрыты для установления наличия или отсутствия цынговых признаков. Кроме того, в органах морских свинок определялось содержание аскорбиновой кислоты индофенольным методом. Полученные средние для каждой группы данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Привес и содержание аскорбиновой кислоты в органах морских свинок в мг % на естественную влажность

Препарат	Число животных в группе	Средн. привес в день в г	Содержание аскорбиновой кислоты в мг %				
			мышцы	печень	селезенка	почки	надпочечники
<i>l</i> -галлокатехин	5	2,0	3,0	9,0	49,4	6,7	117,5
<i>d</i> -катехин	6	2,2	3,7	6,3	36,6	6,6	73,5
Эндин	5	2,8	2,8	6,6	25,6	4,6	71,9
Препарат I	5	2,6	3,5	8,7	32,3	6,6	89,5
II	5	2,8	3,0	6,2	23,6	5,5	77,0
III	6	2,3	2,2	6,8	25,4	5,3	59,9
Положительный контроль	5	2,3	2,6	5,1	22,8	5,4	58,1
Отрицательный контроль	6	3,3	2,2	3,5	5,5	2,5	12,5

Животные отрицательного контроля погибли на 24—26-й день опыта с резким падением веса, и на вскрытии были установлены яркие признаки цынги. Во всех органах содержание аскорбиновой кислоты было значительно ниже, чем у животных положительного контроля.

Животные положительного контроля дали нормальный привес, около 2,3 г веса. На вскрытии признаки цынги отсутствовали, так же как и во всех опытных группах. Содержание аскорбиновой кислоты в органах значительно выше, чем у отрицательного контроля, особенно в селезенке и надпочечниках (примерно в 4 раза).

Из опытных групп наилучшие результаты по накоплению аскорбиновой кислоты в органах показали животные, получившие *l*-галлокатехин, затем препарат I, *d*-катехин и препарат II. Энидин почти не оказал положительного действия по сравнению с группой на одной аскорбиновой кислоте; лишь в надпочечниках можно было заметить некоторое повышение накопления витамина С. Препарат III оказался неактивным. В отношении привесов животных следует сказать, что они близки у всех групп, за исключением отрицательного контроля, и не коррелируют с накоплением аскорбиновой кислоты.

В табл. 3, для большей наглядности, мы приводим сравнительное (в процентах) содержание аскорбиновой кислоты в селезенке и надпочечниках, т. е. органах, способных к ее наибольшему накоплению.

Таблица 3

Сравнительное содержание аскорбиновой кислоты в органах
в % по отношению к группе положительного контроля

Органы	<i>l</i> -галлокатехин	<i>d</i> -катехин	Энидин	Препарат I	Препарат II	Препарат III
Селезенка	216,6	160,6	112,2	141,6	103,3	111,4
Надпочечники	202,0	126,4	123,6	153,9	132,4	101,0

Из табл. 3 видно, что препарат *l*-галлокатехин обеспечил увеличение накопления аскорбиновой кислоты в указанных органах в два раза, показав активность, подобную препарату танина в работе ⁽¹⁾.

Различная активность выделенных препаратов связана с их структурой. В то время как *l*-галлокатехин в боковом фенольном кольце имеет три свободные гидроксильные группы, *d*-катехин обладает двумя подобными группами, а у энидина свободной остается лишь одна группа, две другие блокированы метильными остатками. Из аморфных препаратов высшую активность показал препарат I, затем II и неактивным оказался препарат III. Эта последовательность тоже связана с гидроксилами в боковом фенольном кольце: в препарате I содержится сравнительно больше пирогалловых гидроксидов, чем во II; в препарате III вследствие окислительной конденсации наличие гидроксидов в боковом фенольном кольце настолько уменьшилось, что это вещество в количестве 1 мг в день не усиливает накопления витамина С в органах животного. Это явление следует учитывать при оценке разных технологических приемов переработки винограда, принимая во внимание их лечебное действие.

Институт виноградарства и виноделия

Поступило

Академия наук Груз. ССР и

14 XII 1950

Институт биохимии им. А. Н. Баха

Академия наук СССР

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Л. Курсанов, В. Н. Букин, К. Л. Поволоцкая и М. Н. Запрометов, Биохимия, 15, в. 4, 337 (1950). ² H. Scargrough and A. L. Bacha-tach, Vitamins and Hormones, 7, 1 (1949). ³ С. В. Дурмишидзе, ДАН, 73, № 5 (1950). ⁴ С. В. Дурмишидзе, Тезисы 15-й сессии отд. сельхознаук АН Груз. ССР, 21 (1950). ⁵ С. В. Дурмишидзе, Биохимия, 13, № 1, 16 (1948). ⁶ С. В. Дурмишидзе, Биохимия виноделия, сборн. 2, 169, 1948. ⁷ А. Л. Курсанов, Биохимия, 6, в. 2, 128 (1941). ⁸ А. Л. Курсанов и М. Н. Запрометов, Биохимия, 14, в. 5, 467 (1949).