

## ПОЛИФЕНОЛЫ ВИНОГРАДА КРАСНЫХ СОРТОВ В ВИНЕ И КОНЦЕНТРАТАХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ\*

А.В. КУБЫШКИН<sup>1</sup>, А.М. АВИДЗБА<sup>2</sup>, В.С. БОРИСЮК<sup>3</sup>, В.С. СТОЯНОВ<sup>3</sup>,  
И.И. ФОМОЧКИНА<sup>1</sup>, Ю.А. ОГАЙ<sup>2</sup>, И.В. ЧЕРНОУСОВА<sup>2</sup>, Г.П. ЗАЙЦЕВ<sup>2</sup>,  
Т.И. ГУГУЧКИНА<sup>4</sup>, В.А. МАРКОСОВ<sup>4</sup>, Н.М. АГЕЕВА<sup>4</sup>, Ю.И. ШРАМКО<sup>1</sup>

Интерес к изучению способности полифенольных продуктов переработки винограда (ПППВ) снижать риск сердечно-сосудистых патологий возрастает в связи с ростом кардиоваскулярной смертности и развитием представлений о роли здорового питания в профилактике болезней и реабилитации. Несмотря на то, что этой популярной проблеме посвящено много исследований, актуальной и заслуживающей особого внимания задачей остается определение безопасных и эффективных доз ПППВ, поскольку увеличение потребления ПППВ может привести к дисфункции эндотелия и оксидативному стрессу. Молодые побеги виноградной лозы, листья, ягоды, сок и вино издавна использовались в народной медицине как гигиенические и лечебные средства при терапии многих заболеваний человека. В последнее время отмечается всплеск научного интереса к целебным свойствам винограда, обусловленным биологически активными полифенолами, локализованными в кожице, мякоти, семечках виноградной ягоды, гребнях виноградной грозди. Полифенолы винограда, которые экстрагируются в процессе спиртового брожения, попадая в вино, определяют антиоксидантный статус, биологическую активность вин и других продуктов переработки винограда. Мы сравнили влияние двух полученных по оригинальной рецептуре лечебных продуктов — вина столового красного (ВСК) и экстракта полифенолов винограда (ЭПВ), насыщенных полифенолами до заданной концентрации, на показатели сердечно-сосудистой системы, состояние перекисного окисления липидов и липидного метаболизма у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и гипертонической болезнью (ГБ), находящихся на санаторно-курортном лечении. Клинические испытания лечебно-профилактических свойств экспериментальных образцов, проведенные на группе пациентов ( $n = 259$ ), показали, что применение этой продукции в составе комплексной терапии способствует более выраженному улучшению показателей липидного метаболизма и снижению активности свободно-радикального окисления, чем в случае, когда больные не получали ПППВ (контроль). Так, содержание общего холестерина в крови уменьшалось на 22 %, коэффициент атерогенности — на 10 %, количество вторичных продуктов перекисного окисления липидов оказалось ниже на 30,3 % при использовании ВСК и на 32,3 % — при применении ЭПВ. У большинства пациентов нормализовались показатели сердечно-сосудистой системы, на 22,4 % повышалась толерантность к физической нагрузке. Установлено, что достижение указанных клинических результатов обеспечивает суточное потребление ПППВ, поступающих при дозировке ВСК 3,6 мл/кг, ЭПВ — 0,45 мл/кг (курс лечения — 14 сут). Обсуждаются механизмы действия испытанных полифенольных продуктов и возможность их применения для первичной и вторичной профилактики нарушений у больных с кардиоваскулярной патологией.

**Ключевые слова:** виноград, полифенолы, антиоксидантная активность, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, вино столовое красное, экстракт полифенолов красного винограда.

Продукты переработки винограда с высоким содержанием полифенолов, полученные из виноградной выжимки, проявляют уникальные биоактивные свойства и могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов (1-3). Красные виноградные вина, содержащие в среднем 2,5 г/дм<sup>3</sup> полифенолов, в дозе 150-300 мл/сут рекомендованы американскими диетологами для уменьшения риска сердечно-сосудистых заболеваний (4), что объясняют положительным действием в отношении кардиометаболических факторов (5-7). Кардиопротекторный эффект полифенолов обусловлен Р-витаминной активностью танин-катехинового комплекса, увеличивающего прочность стенок капилляров (3), аналогичным влиянием антоцианов (3) и укрепляющим действием процианидинов, ингибирующих ферменты, разрушающие коллаген, и снижающих количество холестерина, связанного с эластином аорты (3). Антиоксидантная активность вина кор-

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России. Уникальный идентификатор ПНИ RFMEFI60414X0077 при подписании Соглашения № 14.604.21.0077.

релирует с содержанием полифенолов винограда, причем наблюдается синергия эффектов суммарных полифенолов в составе продукта (8, 9).

Умеренное и регулярное потребление вина считают благоприятным для снижения угрозы сердечно-сосудистых катастроф (5-7, 10), но в то же время показано, что алкоголь в дозах более 31 мл/сут может негативно влиять на сердечно-сосудистую систему (11-13). Поэтому необходимо определять эффективные и безопасные дозы потребления вина и других насыщенных полифенолами продуктов переработки винограда. Следует отметить, что содержание полифенолов в этих продуктах не регулируется отечественными и зарубежными нормативами. Такая неопределенность затрудняет оценку культуры, установление требований по качеству для производителей сырья и селекционеров, разработку регламентов производства и включения получаемых функциональных продуктов в реабилитационные технологии.

Полифенолы винограда красных сортов в винах и концентратах представлены двумя основными группами веществ флавоноидной и нефлавоноидной природы (2, 8, 14-16). Мономерные флавоноиды присутствуют в виде гликозидов антоцианов (дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина), кверцетина и его гликозида, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина. Олигомерные флавоноиды процианидины состоят из нескольких (до шести) конденсированных катехиновых единиц (катехина, эпикатехина и их димеров), полимерные процианидины содержат семь и более катехиновых единиц. При этом олигомерные и полимерные формы флавоноидов составляют большую лабильную часть суммарных полифенолов красных вин и концентратов, обладающих биологической активностью. Среди нефлавоноидных полифенолов идентифицированы оксibenзойные (галловая, сиреневая) и оксикоричные кислоты (кафтаровая, каугаровая), хлорогеновая кислота и транс-ресвератрол (16).

Клинические исследования на больных с хроническими заболеваниями выявили некоторые различия в эффективности энотерапии (17, 18). В частности, выяснилось, что кардиопротекторная активность зависит от структуры и концентрации полифенолов, их биодоступности, диеты и индивидуальных особенностей пациентов. Таким образом, очевидна необходимость дальнейших более представительных клинических исследований эффекта полифенолов красного вина и концентратов.

Мы впервые разработали рецептуры и технологии производства виноградных вин и концентратов, идентичных по составу и количеству полифенолов, для применения в лечебных целях и провели экспериментальную оценку их кардиопотекторной активности.

Задача исследования — получить из красных сортов винограда продукты для энотерапии и концентраты, нормированные по содержанию полифенолов, и изучить их эффективность при санаторно-курортном лечении (СКЛ) сердечно-сосудистых заболеваний.

*Методика.* Вино красное столовое «Здоровье» производили из технически зрелого винограда сорта Саперави с массовой концентрацией сахаров не менее 170 г/дм<sup>3</sup>. Брожение осуществлялось в винификаторе при температуре 25-27 °С с «плавающей шапкой» в течение 4,5 сут с контролем концентрации суммарных полифенолов в готовом к розливу виноматериале (не ниже 2,5 г/дм<sup>3</sup>). При приготовлении экстракта полифенолов сброженную выжимку винограда Каберне-Совиньон настаивали в водно-спиртовом растворе с последующей dealкоголизацией под вакуумом до содержания этилового спирта 10,5-15,0 об.% и концентрации суммы фенольных веществ не менее 20,0 г/дм<sup>3</sup>. Экспериментальные продукты изготавливали из винограда урожая 2015 года. Для сравнения состава полифенолов ис-

пользовали промышленные образцы продукции из винограда массовых красных сортов (Каберне-Совиньон, Мерло и Саперави; урожай 2014 года).

Состав и количество полифенолов анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ); хроматограф Agilent 1100 с диодно-матричным детектором («Agilent Technologies», США). Для разделения использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 (2,1×150 мм), заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой (размер частиц сорбента 3,5 мкм). Состав элюента: раствор А — метанол, раствор В — 0,6 % водный раствор трифторуксусной кислоты. Хроматографию проводили в градиентном режиме с изменением содержания компонента В по схеме: 0 мин — 8 %; 0-8-я мин — 8-38 %; 8-24-я мин — 38-100 %; 24-30-я мин 100 %; скорость потока элюента — 0,25 мл/мин; объем вводимой пробы 1 мкл. Разделение фракций регистрировали при следующих длинах волн: 280 нм — для галловой кислоты, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина и процианидинов, 313 нм — для производных оксикоричных кислот, 371 нм — для кверцетина и 525 нм — для антоцианов. Для идентификации веществ сравнивали время удерживания с характеристиками стандартов (19, 20), количество рассчитывали с использованием калибровочных графиков, построенных по растворам индивидуальных веществ. Содержание антоцианов определяли в пересчете на хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, кафтаровой кислоты — в пересчете на кофейную кислоту, полимерных и олигомерных процианидинов — на (+)-D-катехин. Стандартами при хроматографии служили галловая кислота, кофейная кислота, (+)-D-катехин, хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, дигидрат кверцетина, изокверцитрин («Fluka Chemie AG», Швейцария) и транс-ресвератрол, (-)-эпикатехин, сиреневая кислота («Sigma-Aldrich», Швейцария). Все учеты проводили в 3 повторностях. Для сопоставимости результатов количество веществ указывали в миллиграммах на 1 кг сухой массы выжимки.

Массовую концентрацию фенольных веществ в исследуемых продуктах определяли колориметрически. К 1 см<sup>3</sup> образца в разведении 10<sup>-2</sup> добавляли 1 см<sup>3</sup> реактива Фолина-Чокальтеу, 10 см<sup>3</sup> раствора карбоната натрия, дистиллированной водой доводили объем до 100 см<sup>3</sup> и оставляли при комнатной температуре (20±0,5 °С) на 30-40 мин. Оптическую плотность измеряли в кювете с длиной оптического пути 10 мм при λ = 670 нм против контроля. Значение массовой концентрации фенольных веществ (С, мг/дм<sup>3</sup> по галловой кислоте) определяли по градуировочной кривой, используя формулу  $C = K \times ОП$ , где С — массовая концентрация фенольных веществ, К — коэффициент разбавления, ОП — оптическая плотность. Градуировочную кривую строили согласно описанию (21). За окончательный результат принимали среднее арифметическое двух определений с допустимым расхождением не более 33 мг/дм<sup>3</sup> при диапазоне измерений 3000-20000 мг/дм<sup>3</sup>. Предел погрешности измерения массовой концентрации фенольных веществ при Р = 0,95 для указанного диапазона составлял ±39 мг/дм<sup>3</sup>. Определения проводили в 3 повторностях. Антиоксидантную активность образцов оценивали амперометрически (стандарт — антиоксидант тролокс, прибор ЦветЯуза 01-АА, НПО «Химавтоматика», Россия) (22).

В клинических исследованиях (санаторий «Ай-Петри», май-октябрь 2016 года; протокол одобрен локальным этическим комитетом) участвовали 259 пациентов в возрасте от 30 до 80 лет с ишемической болезнью сердца (ИБС, *n* = 96) и с гипертонической болезнью (ГБ, *n* = 163). Из них 40 человек без нарушений углеводного обмена, сопоставимых по возрасту и полу, вошли в группы сравнения (ИБС, *n* = 20; ГБ, *n* = 20). У пациентов заболевания диагностировались от 2 до 15 лет, при ИБС — стабильная сте-

нокардия напряжения не более III функционального класса (ФК) в тредмил-тесте (рекомендации Канадской ассоциации кардиологов — Canadian Cardiovascular Society), хроническая сердечная недостаточность (ХСН) на стадии не более IIa (по Василенко-Стражеско), ФК ХСН от I до III. Все привлеченные к исследованию подписывали информированное согласие на участие. Основная группа пациентов с ИБС состояла из 34 (44,7 %) мужчин и 42 (55,3 %) женщин, медиана возраста — 61,0 года (соответственно 46,0 и 77,0). У 47 участников с ИБС была выявлена стабильная стенокардия без инфаркта миокарда в анамнезе; средний ФК стенокардии составил  $1,98 \pm 0,60$ ; 24 человека с ИБС имели ГБ в качестве сопутствующего заболевания. В основную группу с ГБ (артериальная гипертензия 1-2-й степени) вошли 105 (73,4 %) мужчин и 38 (26,6 %) женщин, медиана возраста — 57,5 года (37,0; 75,0); 23 человека с ГБ имели ИБС в качестве сопутствующего заболевания. Исходно основные группы и группы сравнения с одинаковой патологией не различались по значимым параметрам ( $p < 0,05$ ).

Во всех группах назначали идентичный комплекс базового немедикаментозного лечения (климатотерапия, лечебная физкультура, массаж, бальнеотерапия, аппаратная физиотерапия и т.д.) (18) по индивидуальным показаниям и лекарственные препараты согласно утвержденным стандартам: динитрат изосорбида — 20 мг 2 раза в сутки (в группе ИБС), лизиноприл — 20 мг 1 раз в сутки (в группе ГБ), ацетилсалициловая кислота — 75 мг 1 раз в сутки, амлодипин — 5 мг 1 раз в сутки, бисопролол — 2,5-5,0 мг 1 раз в сутки, аторвастатин — 10 мг 1 раз в сутки. В основных группах в течение 14 сут комплексную терапию дополняли ежедневным приемом полифенольных продуктов переработки винограда (ПППВ) (10 мг суммарных полифенолов на 1 кг массы тела) в форме вина «Здоровье» (3,6 мл/кг в сутки) или концентрата полифенолов (0,45 мл/кг в сутки) за два приема (в обед и ужин). В группах сравнения пациенты не получали ПППВ.

При обследовании в начале и в конце курса (0-е и 14-е сут) оценивали жалобы, динамику артериального давления (АД) по методу Н.С. Короткова, функциональное состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем (спирографические, реографические, электроэнцефалографические и электрокардиографические показатели) на диагностическом комплексе ДХ-NT Поли-СПЕКТР+ (ООО «Спектрмед-Украина», г. Харьков), гемодинамическую функцию сердца (ударный и минутный объем крови — УОК и МОК), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС) и толерантность к физической нагрузке (с использованием тредмил-теста). Гематологическое исследование включало общий анализ крови, измерение содержания глюкозы, биохимический анализ крови (С-реактивный белок, липидограмма, общий билирубин, диеновые конъюгаты — ДК), определение протромбинового индекса (ПТИ) и количества фибриногена. Концентрацию С-реактивного белка определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (23), остальные показатели гемостаза — с набором «Технология-Стандарт» (Россия). Учитывали интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную активность крови (24).

Данные анализировали методами вариационной статистики, использовали U-критерий Манна-Уитни. Приведены средние ( $M$ ), стандартные отклонения ( $\pm\sigma$ ), медианы ( $Me$ ) и квартили ( $Q_{25} \%$ ,  $Q_{75} \%$ ). Различия между величинами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

*Результаты.* Полифенолы вин и концентрата из винограда красных сортов Каберне-Совиньон, Мерло и Саперави (промышленные виноградники в разных регионах юга России) были представлены группами веществ флавоноидной и нефлавоноидной природы в мономерной, олиго-

мерной и полимерной формах, что согласуется с данными литературы (2, 4). Как в промышленных, так и в экспериментальных образцах трансресвератрол не обнаружили либо он определялся в концентрациях менее 1,0 мг/дм<sup>3</sup>, что, по-видимому, связано с удачными для виноградарства и виноделия сезонами 2014-2015 годов. Интегральные показатели по полифенолам, определенные с помощью ВЭЖХ и с реактивом Фолина-Чокальтеу, различались, однако антиоксидантная активность, характеризующая потенциал биологической активности, изменялась пропорционально содержанию полифенолов в вине и концентратах, как отмечалось и ранее (8).

В экспериментальных образцах красного вина, используемого в клинических исследованиях, содержание полифенолов составляло не менее 2,5 г/дм<sup>3</sup>, в концентрате (экстракт полифенолов винограда) — не менее 20,0 г/дм<sup>3</sup>, то есть по составу и концентрации полифенолов они были идентичны промышленным продуктам (табл. 1).

### 1. Состав полифенолов в промышленных и экспериментальных образцах лечебного вина и концентратов из винограда красных сортов ( $M \pm \sigma$ )

| Промышленные   |           |           |           |           |            |            |            | Экспериментальные |            |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|-------------------|------------|
| 1  | 2         | 3         | 4         | 5         | 6          | 7          | 8          | 9                 | 10         |
| Антоцианы, г/дм <sup>3</sup>   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Сумма антоцианов</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 20,3±0,4   | 23,8±0,5  | 23,4±0,6  | 133,3±2,7 | 167,5±3,8 | 556,2±12,4 | 18,9±0,4   | 28,5±0,6   | 22,8±0,6          | 235,1±7,5  |
| Флавоны, г/дм <sup>3</sup>   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Кверцетин-3-О-глюкозид</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 8,5±0,2  | 15,9±0,3  | 11,5±0,3  | 15,7±0,3  | 36,9±0,8  | 9,8±0,2    | 3,1±0,1    | 3,5±0,1    | 19,0±0,1          | 17,4±0,6   |
| <i>Кверцетин</i>   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 2,8±0,1  | 1,6±0,03  | 1,2±0,03  | 0,3±0,1   | 4,1±0,1   | 0,7±0,2    | 49,6±1,1   | 81,2±1,1   | 3,4±0,1           | 5,8±0,2    |
| Флаван-3-олы, г/дм <sup>3</sup>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>(+)-D-катехин</i>   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 34,7±0,7   | 44,8±0,9  | 26,8±0,6  | 60,8±1,2  | 83,5±1,9  | 58,6±4,0   | 177,6±4,0  | 208,5±5,1  | 18,4±0,4          | 880,3±28,1 |
| <i>(-)-Эпикатехин</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 34,5±0,7   | 47,4±0,9  | 29,7±0,7  | 52,9±1,1  | 78,8±1,8  | 71,2±1,6   | 118,4±2,7  | 127,3±3,1  | 28,7±0,7          | 435,2±13,9 |
| Оксикоричные кислоты, г/дм <sup>3</sup>                                |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Кафтаровая кислота</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 45,6±0,9   | 58,0±1,1  | 44,3±1,1  | 29,9±0,6  | 52,7±1,1  | 69,6±1,6   | 11,7±0,3   | 16,9±0,4   | 149,8±3,7         | 12,1±0,4   |
| <i>Каутаровая кислота</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 7,5±0,2  | 10,0±0,2  | 7,4±0,2   | 3,5±0,1   | 5,4±0,1   | 11,8±0,3   | 1,8±0,0    | 2,4±0,1    | 5,6±0,1           | 3,4±0,1    |
| Оксибензойные кислоты, г/дм <sup>3</sup>                               |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Галловая кислота</i>  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 39,3±0,8   | 42,6±0,8  | 33,8±0,8  | 78,1±1,6  | 67,8±1,5  | 63,8±1,4   | 341,1±7,7  | 465,2±11,3 | 66,0±1,6          | 127,3±4,1  |
| <i>Сиреневая кислота</i>   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 7,0±0,1  | 5,3±0,1   | 9,0±0,2   | 8,0±0,2   | 4,0±0,1   | 4,3±0,1    | 22,6±0,5   | 26,2±0,6   | 11,7±0,3          | 5,3±0,2    |
| Проантоцианидины, г/дм <sup>3</sup>                                    |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Олигомерные проантоцианидины</i>                                    |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 187±4  | 222±4     | 200±5     | 221±5     | 222±0     | 212±5      | 603±14     | 1614±39    | 319±8             | 1625±52    |
| <i>Полимерные проантоцианидины, г/дм<sup>3</sup></i>                   |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 3045±61  | 3723±73   | 3525±84   | 2068±42   | 2072±47   | 2380±53    | 28155±634  | 38436±932  | 4670±114          | 39943±127  |
| Интегральные показатели  |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| <i>Сумма фенольных веществ (по ВЭЖХ), г/дм<sup>3</sup></i>             |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 3,43±0,10  | 4,20±0,10 | 3,91±0,10 | 2,67±0,50 | 2,79±0,06 | 3,44±0,08  | 29,50±0,70 | 41,01±1,00 | 5,30±0,10         | 43,30±1,40 |
| <i>Сумма фенольных веществ (по Фолину-Чокальтеу), г/дм<sup>3</sup></i> |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 4,35±0,11  | 4,56±0,11 | 4,25±0,10 | 3,89±0,10 | 3,85±0,08 | 4,13±0,08  | 18,51±0,49 | 21,81±0,59 | 3,02±0,10         | 21,50±0,80 |
| <i>Антиоксидантная активность (тролокс), г/дм<sup>3</sup></i>          |           |           |           |           |            |            |            |                   |            |
| 2,36±0,06  | 2,75±0,07 | 2,38±0,70 | 2,38±0,70 | 2,49±0,06 | 2,69±0,06  | 24,72±0,73 | 36,48±0,92 | 1,72±0,10         | 33,74±1,20 |

Примечание. Марки вин (место произрастания сортов винограда): 1 — Каберне, 2 — Мерло, 3 — Саперави (Массандра); 4 — Каберне, 5 — Мерло, 6 — Саперави (Кубань); концентраты: 7 — Эноант, 8 — Эноант Премиум; 9 — вино красное столовое «Здоровье» (сорт Саперави), 10 — экстракт полифенолов винограда (сорт Каберне-Совиньон); описание образцов см. в разделе «Методика». ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.

Экспериментальные образцы успешно прошли клиническую апробацию в условиях санатория. Исходно в группах ИБС в основном имелись жалобы на типичные приступы стенокардии (78,7 %), ухудшение памяти (68,2 %), быструю утомляемость (62,4 %), сердцебиение (36,1 %), головную боль (34,6 %), головокружение (30,5 %). После курса СКЛ с применением ПППВ у 84,4 % пациентов почти в 2 раза ( $p < 0,05$ ) уменьшилось

число ангинозных приступов. К окончанию курса у 24,3 % пациентов ФК стенокардии сменился со II на I. У большинства (87,3 %) снижалась утомляемость и возросла толерантность к физической нагрузке: объем допустимой нагрузки возрос на 22,4 % ( $p = 0,002$ ), время восстановления сократилось на 16,4 % ( $p = 0,01$ ). Позитивная динамика и клиническая эффективность концентрата и лечебного вина не различались. Эффективность базового курса лечения была несколько ниже: боли в области сердца снизились лишь у 52,7 % пациентов, жалобы на сердцебиение уменьшились у 34,2 % больных, утомляемость сократилась у 55 % пациентов. При ГБ в основной группе, получавшей ППВП, у большинства (83 %) на фоне улучшения общего состояния уменьшалось проявление ряда клинических симптомов или они исчезали. В группе сравнения (базовый курс СКЛ) клиническая симптоматика и жалобы уменьшались лишь у 44 % пациентов.

Положительные эффекты ПППВ наблюдались при ИБС и ГБ по объективным параметрам, характеризующим состояние сердечно-сосудистой системы (табл. 2).

**2. Динамика частоты сердечных сокращений (ЧСС), систолического и диастолического артериального давления (САД и ДАД) у больных с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью после курса санаторно-курортного лечения с применением продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов**

| Группа                            | ЧСС, уд/мин           |                        | САД, мм рт. ст.           |                                | ДАД, мм рт. ст.        |                        |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|
|                                   | начальная             | при выписке            | начальное                 | при выписке                    | начальное              | при выписке            |
| <b>Ишемическая болезнь сердца</b> |                       |                        |                           |                                |                        |                        |
| Контроль<br>( $n = 20$ )          | 72±8; 72<br>(67; 77)  | 69±5; 68<br>(67; 71)   | 138±17; 143<br>(134; 146) | 128±14; 130**<br>(118; 140)    | 87±8; 85<br>(80; 95)   | 83±7; 80<br>(80; 85)   |
| ВСК<br>( $n = 30$ )               | 71±9; 69<br>(65; 78)  | 66±5; 67**<br>(63; 70) | 137±12; 140<br>(131; 144) | 123±11; 120**<br>(115; 130)    | 87±7; 85<br>(80; 95)   | 81±7; 80**<br>(80; 85) |
| ЭПВ<br>( $n = 30$ )               | 73±7; 75<br>(67; 778) | 66±7; 63**<br>(60; 69) | 137±12; 135<br>(131; 140) | 124±9; 125**<br>(116; 130)     | 88±8; 88<br>(80; 95)   | 81±5; 80**<br>(80; 85) |
| <b>Гипертоническая болезнь</b>    |                       |                        |                           |                                |                        |                        |
| Контроль<br>( $n = 20$ )          | 78±8; 79<br>(74; 83)  | 74±6; 74<br>(70; 79)   | 156±18; 160<br>(140; 175) | 137±8; 138**<br>(135; 140)     | 94±10; 95<br>(90; 100) | 87±6; 95**<br>(84; 91) |
| ВСК<br>( $n = 30$ )               | 75±8; 78<br>(70; 80)  | 71±7; 73**<br>(65; 78) | 157±13; 155<br>(146; 170) | 131±16; 133**<br>(116; 140)    | 94±10; 95<br>(85; 99)  | 82±9; 80**<br>(75; 90) |
| ЭПВ<br>( $n = 30$ )               | 77±6; 78<br>(74; 80)  | 70±6; 69**<br>(65; 74) | 156±19; 163<br>(136; 170) | 129±11; 130*, **<br>(120; 135) | 96±10; 95<br>(90; 105) | 84±7; 85**<br>(80; 90) |

Примечание. ВСК — вино столовое красное, ЭПВ — экстракт полифенолов винограда (описание экспериментальных продуктов см. в разделе «Методика»). Представлены значения  $M \pm \sigma$ ,  $Me$  ( $Q_{25} \%$ ;  $Q_{75} \%$ ).  
\*, \*\*  $p < 0,05$  (соответственно различия относительно групп сравнения и различия между параметрами при поступлении и при выписке).

Кроме того, в группах с ИБС и ГБ отмечали положительное влияние ПППВ на метаболизм. Так, на фоне ПППВ снижение общего холестерина было достоверно ( $p < 0,05$ ) более выраженным, чем в контроле. Тот факт, что применение ПППВ позволило приблизить к норме ряд показателей липидного обмена, особенно сильно нарушенных у больных с ИБС, служит дополнительным подтверждением эффективности полифенолов при его нормализации («французский парадокс»).

Биохимические показатели крови (содержание глюкозы, общий билирубин, ПТИ) в группах с ИБС и ГБ достоверно не различались при поступлении и при выписке и практически не зависели от применения ПППВ. СКЛ в комплексе с ПППВ способствовало уменьшению концентрации С-реактивного белка (во всех группах до значений менее 2,6 мг/л), что указывает на подавление субклинического воспаления и снижение риска сосудистых осложнений. Эффективность лечебного вина и экстракта полифенолов винограда была сравнимой и превосходила таковую у базового курса СКЛ.

Анализ оксидантно-антиоксидантного гомеостаза показал (табл. 3), что при ИБС и ГБ ПППВ способствовали уменьшению интенсивности

свободнорадикального окисления, о чем свидетельствует снижение количества первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и восстановление активности антиоксидантных ферментов.

### 3. Некоторые показатели перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью после курса санаторно-курортного лечения с применением продуктов переработки красного винограда с высоким содержанием полифенолов

| Группа                     | Показатель | ТБК-АП, нмоль МДА/мл |             | ЦП, мг/л  |             |
|----------------------------|------------|----------------------|-------------|-----------|-------------|
|                            |            | начальные            | при выписке | начальные | при выписке |
| Ишемическая болезнь сердца |            |                      |             |           |             |
| Контроль (n = 20)          | M          | 194,52               | 158,79      | 301,42    | 268,14      |
|                            | σ          | 26,04                | 29,53       | 57,29     | 50,60       |
| ВСК (n = 30)               | M          | 186,97               | 143,49      | 325,03    | 233,13      |
|                            | σ          | 34,82                | 23,59       | 55,27     | 38,83       |
| ЭПВ (n = 30)               | M          | 185,15               | 139,97      | 317,74    | 223,58      |
|                            | σ          | 31,23                | 24,40       | 72,61     | 60,28       |
| Гипертоническая болезнь    |            |                      |             |           |             |
| Контроль (n = 20)          | M          | 178,00               | 149,26      | 241,41    | 224,86      |
|                            | σ          | 28,21                | 22,65       | 39,67     | 27,64       |
| ВСК (n = 30)               | M          | 177,17               | 141,26      | 229,75    | 242,30      |
|                            | σ          | 27,03                | 23,19       | 22,59     | 33,18       |
| ЭПВ (n = 30)               | M          | 184,00               | 148,10      | 244,14    | 231,84      |
|                            | σ          | 26,79                | 26,48       | 30,50     | 46,81       |

Примечание. ВСК — вино столовое красное, ЭПВ — экстракт полифенолов винограда (описание экспериментальных продуктов см. в разделе «Методика»); ТБК-АП — активные продукты тиобарбитуровой кислоты, МДА — малоновый диальдегид, ЦП — церулоплазмин. Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Таким образом, ПППВ в комплексной терапии больных ГБ и ИБС не только оказывает гипотензивное действие, но и нормализует липидный обмен, а также активность антиоксидантной системы.

Следует отметить, что ПППВ в большей мере способствовали улучшению состояния здоровья при ИБС, чем при ГБ. Общими при обеих патологиях были положительные изменения центральной гемодинамики.

Итак, разработана технология получения продуктов с нормированным содержанием биологически активных полифенолов на основе красных сортов винограда. Показано, что эти продукты (вино столовое красное «Здоровье» и экстракт полифенолов) обладают лечебным эффектом при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни и могут быть частью реабилитационных технологий в дополнение к базовому санаторно-курортному лечению. При энотерапии лечебная доза должна соответствовать диапазону известных ресурсных характеристик суммарных полифенолов и составлять около 3,6 мл/кг в сутки, при применении экстракта полифенолов — около 0,45 мл/кг в сутки (при длительности курсов 14 сут). Для дальнейшей оптимизации технологий санаторно-курортного лечения и реабилитации дозировки могут быть детализованы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Монтиньяк М. Секреты здорового питания. М., 2006.
2. Огай Ю.А. Антиоксидантная активность концентрата суммарных полифенолов винограда «Эноант». Виноградарство и виноделие, 2000, 1: 37-38.
3. Загайко А.Л., Красильникова О.А., Кравченко А.Б., Волощенко М.В., Огай Ю.А. Биологически активные вещества винограда и здоровье /Под ред. А.Л. Загайко. Харьков, 2012.
4. Haas I.C., Toaldo I.M., de Gois J.S., Borges D.L., Petkowicz C.L., Bordinon-Luiz M.T. Phytochemicals, monosaccharides and elemental composition of the non-pomace constituent of organic and conventional grape juices (*Vitis labrusca* L.): Effect of drying on the bioactive content. Plant Foods Hum. Nutr., 2016, 71(4): 422-528 (doi: 10.1007/s11130-016-0579-9).
5. Ronksley P.E., Brien S.E., Turner B.J., Mukamal K.J., Ghali W.A. Associa-

- tion of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2011, 342: d671 (doi: 10.1136/bmj.d671).
6. Шевченко О., Мишнев О., Шевченко А., Трусов О., Слестникова И. Ишемическая болезнь сердца. М., 2005.
  7. Badimon L., Vilahur G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2012, 1254: 18-32 (doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06480.x).
  8. Авидзба А., Кубышкин А., Гугучкина Т., Маркосов В., Кацев А., Наумова Н., Шрамко Ю., Зайцев Г., Черноусова И., Огай Ю., Фомочкина И. Антиоксидантная активность продуктов переработки красных сортов винограда Каберне-Совиньон, Мерло, Саперави. *Вопросы питания*, 2016, 85(1): 99-110.
  9. Xiang L., Xiao L., Wang Y., Li H., Huang Z., He X. Health benefits of wine: don't expect resveratrol too much. *Food Chem.*, 2014, 156: 258-263 (doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.006).
  10. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., Albus C., Brotons C., Catapano A.L. et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: the Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur. Heart J.*, 2016 37(29): 2315-2381 (doi: 10.1093/eurheartj/ehw106).
  11. Mori T.A., Burke V., Beilin L.J., Puddey I.B. Randomized controlled intervention of the effects of alcohol on blood pressure in premenopausal women. *Hypertension*, 2015; 66(3): 517-523 (doi: 10.1161/HYPERTENSION.115.05773).
  12. Mukamal K. Alcohol intake and noncoronary cardiovascular diseases. *Ann. Epidemiol.*, 2007, 17(5): S8-S12 (doi: 10.1016/j.annepidem.2007.01.003).
  13. Wu D., Cederbaum A.I. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res. Health*, 2003, 27(4): 277-284 (PMID: 15540798).
  14. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, 50(3): 586-621 (doi: 10.1002/anie.201000044).
  15. Garaguso I., Nardini M. Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. *Food Chem.*, 2015, 179: 336-342 (doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.144).
  16. Огай Ю.А., Алексеева Л.М., Сиказан О.М., Катрич Л.И. Полифенольные биологически активные компоненты пищевого концентрата Эноант. *Мат. конф. «Биологически активные природные соединения винограда: гигиенические и медицинские эффекты применения продуктов с высоким содержанием полифенолов винограда»*. Симферополь, 2005, т. 41, ч. 1: 14-20.
  17. Apostolidou C., Adamopoulos K., Lymperaki E., Iliadis S., Papareponis P., Kourtidou-Papadeli C. Cardiovascular risk and benefits from antioxidant dietary intervention with red wine in asymptomatic hypercholesterolemics. *Clin. Nutr. ESPEN*, 2015, 10(6): e224-e233 (doi: 10.1016/j.clnesp.2015.08.001).
  18. Gerner Y., Golan R., Harman-Boehm I., Iris Shai L. Effects of initiating moderate alcohol intake on cardiometabolic risk in adults with type 2 diabetes: a 2-year randomized, controlled trial. *Ann. Intern. Med.*, 2015, 163(8): 569-579 (doi: 10.7326/M14-1650).
  19. Wang R., Sun Q., Chang Q. Soil types effect on grape and wine composition in Helan Mountain area of Ningxia. *PLoS ONE*, 2015, 10(2): e0116690 (doi: 10.1371/journal.pone.0116690).
  20. Mulero J., Martínez G., Oliva J., Cermeco S., Cayuela J.M., Zafrilla P., Martínez-Cachá A., Barba A. Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. *Food Chem.*, 2015, 180: 25-31 (doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.141).
  21. P.4.1.1672-03 Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М., 2003.
  22. ГОСТ Р 54037-2010 Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках. М., 2010.
  23. Highton J., Hessian P. A solid-phase enzyme immunoassay for C-reactive protein: clinical value and the effect of rheumatoid factor. *J. Immunol. Methods*, 1984, 68: 185-192.
  24. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.

*<sup>1</sup>Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО Крымский Федеральный университет им. В.И. Вернадского, 295051 Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7, e-mail: Kubushkin\_av@mail.ru, scipro@csmu.strace.net, soniashko@mail.ru, yuliana.shramko@yandex.ru;*

*<sup>2</sup>ФГБУН Всероссийский национальный НИИ виноградарства и виноделия «Магарач» РАН,*



298600 Россия, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31,  
e-mail: magarach@rambler.ru, enoant@yandex.ru, chernblack@mail.ru, gorg-83@mail.ru;

<sup>3</sup>ГУП Санаторий «Ай-Петри»,

298671 Россия, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Кореиз-1, ш. Алупкинское, 15,  
e-mail: ai-petry@mail.ru;

<sup>4</sup>ФГБНУ Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства  
и виноградарства,

350901 Россия, Краснодарский край, г. Краснодар,  
ул. им. 40-летия Победы, 39,  
e-mail: guguchkina@mail.ru, ageyeva@inbox.ru

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2017, V. 52, № 3, pp. 622-630

## POLYPHENOLS OF RED GRAPES IN WINE AND CONCENTRATES FOR USE IN REHABILITATION TECHNOLOGIES

*A.V. Kubyshkin<sup>1</sup>, A.M. Avidzba<sup>2</sup>, V.S. Borisyuk<sup>3</sup>, V.S. Stoyanov<sup>3</sup>, I.I. Fomochkina<sup>1</sup>,  
Yu.A. Ogai<sup>2</sup>, I.V. Chernousova<sup>2</sup>, G.P. Zaitsev<sup>2</sup>, T.I. Guguchkina<sup>4</sup>, V.A. Markosov<sup>4</sup>,  
N.M. Ageeva<sup>4</sup>, Yu.I. Shramko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*S.I. Georgievskii Medical Academy of V.I. Vernadsky Crimean Federal University*, 5/7, bul. Lenina, Simferopol, Republic of Crimea, 295051 Russia, e-mail Kubyshkin\_av@mail.ru (corresponding author), scipro@csmu.strace.net, soniashko@mail.ru, yuliana.shramko@yandex.ru;

<sup>2</sup>*National Research Institute for Grape and Wine Magarach RAS*, Federal Agency of Scientific Organizations, 31, ul. Kirova, Yalta, Republic of Crimea, 298671 Russia, e-mail magarach@rambler.ru, enoant@yandex.ru, chernblack@mail.ru, gorg-83@mail.ru;

<sup>3</sup>*Sanatorium Ai-Petri*, 15, sh. Alupkinskoe, pgt Kореиз-1, Yalta, Republic of Crimea, 298671 Russia, e-mail ai-petry@mail.ru;

<sup>4</sup>*North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture*, Federal Agency of Scientific Organizations, 39, ul. im. 40-letiya Pobedy, Krasnodar, 350901 Russia, e-mail guguchkina@mail.ru, ageyeva@inbox.ru

ORCID:

Kubyshkin A.V. [orcid.org/0000-0002-1309-4005](https://orcid.org/0000-0002-1309-4005)

Avidzba A.M. [orcid.org/0000-0002-2354-1374](https://orcid.org/0000-0002-2354-1374)

Fomochkina I.I. [orcid.org/0000-0003-3065-5748](https://orcid.org/0000-0003-3065-5748)

Ogai Yu.A. [orcid.org/0000-0002-7619-0766](https://orcid.org/0000-0002-7619-0766)

Chernousova I.V. [orcid.org/0000-0001-5374-7683](https://orcid.org/0000-0001-5374-7683)

Zaitsev G.P. [orcid.org/0000-0001-6416-8417](https://orcid.org/0000-0001-6416-8417)

Shramko Yu.I. [orcid.org/0000-0003-4946-7317](https://orcid.org/0000-0003-4946-7317)

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported by Russian Ministry of Education (Unique identifier PNI RFMEFI60414X0077 Agreement № 14.604.21.0077)

Received November 9, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2017.3.622eng

### Abstract

In recent years, as cardiovascular mortality is increasing, the interest in studying the influence of polyphenol-rich grape products (PRGP) on cardiovascular risks is constantly growing. The estimation of a safe and effective dose of PRGP deserves special attention, because an excessive consumption can lead to endothelial dysfunction and oxidative stress. The hygienic and curative properties the young branches of grapevine, leaves, berries, juice and wine are used in traditional medicine for a long time. The curative properties of grapes are known to be due to the presence of biologically active grape polyphenols, which are accumulated in grapeskin, pulp, and seeds, etc. Polyphenols are extracted during alcoholic fermentation and determine the antioxidant status and biological activity of wines and other grape products. Here our objective was to analyze polyphenols in red wine (RW) and extracts from red grapes (EPG) and to compare the influence of fixed concentration of polyphenols on cardiovascular parameters, lipid peroxidation (LPO) and lipid metabolism at ischemic heart disease (IHD) and essential hypertension (EH) in the course of the SPA and resort-based treatment of 259 patients. The clinical trials of therapeutic and prophylactic properties of the experimental samples of red wine and extracts of polyphenols from red grapes showed that the use of these products as part of complex therapy contributes to the significant improvement of lipid metabolism, i.e. total cholesterol was reduced by 22 % and the atherogenic index decreased by 10 %, to a reduced free radical oxidation (end products of LPO decreased by 30.3 % when using the RW, and by 32.3 % in case of EPG), as compared to the patients from control groups who were not provided with PRGP in addition to a standard rehabilitation. The normalization of cardiovascular indexes also occurred. In the most patients, the tolerance to physical activity increased by 22.4 % compared to the control group. The clinical effect was achieved during a 14-day course at a daily dose of 3.6 ml/kg for RW, and of 0.45 ml/kg for EPG. The mechanisms of action of these polyphenolic products and the possibility of their use for primary and secondary prevention of disorders in patients with cardiovascular disease are discussed.

Keywords: grape polyphenols, antioxidant activity, ischemic heart disease, hypertension, red wine, extract of polyphenols from red grapes.