

ENOTANINURILE. RETROSPECTIVE ȘI PERSPECTIVE (reviul literaturii)

Sergiu Cerlat

Catedra Farmacologie și Farmacie clinică USMF „N. Testemițanu”

Summary

The Enothanine. Retrospectives and Perspectives.

The enothanin was appreciated from the oldest time and continues to interest the scientists. The analysis of a lot of data demonstrates the importance of pharmacological enothanin effects that are successfully used in different branches of medicine. The capitalization of wine industry waste products, from what the tannin is obtained, will bring social-economical benefits to our country.

Rezumat

Enotaninele au fost apreciate din cele mai vechi timpuri, continuând să intereseze savanții și în zilele noastre. Analiza datelor unui șir de lucrări demonstrează importante efecte farmacologice ale enotaninelor care sunt utilizate cu succes în diverse ramuri ale medicinei contemporane. Iar valorificarea deșeurilor industriei vinicole din care se obțin aceste tanine vor aduce un aport socio-economic benefic țării noastre.

Din cele mai vechi timpuri și până în prezent, plantele medicinale sunt o importantă sursă de obținere a noilor produse medicinale. În mare parte, efectele benefice sunt datorate conținutului diversilor principii activi. Unul dintre ei, și de o importanță majoră, chiar și pentru buna creștere a plantei, este – taninul. O varietate specială de taninuri sunt cele extrase din struguri, și anume din semințe, fiind numite *enotaninuri* (din l.gr. *eno* – *vin*).

Multiplele proprietăți farmacologice ale semințelor de struguri au trezit un deosebit interes în rândurile cercetătorilor din republică [1]. Până acum s-au obținut câteva substanțe: cărbuni activi, ulei vegetal și enotaninuri.

Beneficiile tratamentului cu struguri sunt cunoscute din antichitate, grecii antici numindu-l - *ampleoterapie*. În timpul antrenamentelor, atleții greci consumau doar struguri, iar cântăreții foloseau cura de struguri pentru a-și întreține vocea. Răcoritori, ușor digerabili, hrănitori, strugurii au fost apreciați dintotdeauna pentru calitățile lor alimentare, dar și pentru efectele curative. Sucul de struguri (mustul nefermentat) este considerat un fel de „lapte vegetal”. Marele savant Louis Pasteur afirma: „Vinul este cea mai igienică și mai sănătoasă dintre băuturi”. Această afirmație este confirmată și de „Paradoxul francez”, cunoscut din anul 1991, când doctorul Serj Reno a relatat la televiziunea americană despre rezultatele studiilor epidemice din regiunea Toulus, Franța. Mortalitatea de cauză cardiovasculară în această regiune a fost minimă, comparativ cu alte regiuni. Nivelul înalt al sănătății populației locale se datorează întrebunțării în alimentație a vinului roșu; anume el posedă o activitate cardioprotectoare înaltă grație conținutului de polifenoli (enotaninuri), antioxidanți cu înalt efect benefic asupra organismului. Alte studii epidemiologice au confirmat scăderea afecțiunilor cardiovasculare, inclusiv a infarctului, la creșterea consumului de flavonoizi [2,3,4].

Utilizările pot fi dintre cele mai variate – de la folosirea în alimentație a strugurilor, mustului, vinului, uleiului extras din semințe și până la preparatele de uz extern (loțiuni cosmetice pentru îngrijirea tenului, cataplasme, comprese). Datorită utilizării largi, taninurile sunt considerate oficinale în Europa și America de Nord, fiind incluse în principalele farmacopei din lume, începând cu primele ediții, referindu-se în special ca *acidum tannicum* [5,6].

S-a demonstrat deja că conținutul de enotaninuri în struguri depinde de zona geografică de cultivare și de soiul vițeu de vie. Astfel, cantitatea lor poate varia de la 4% până la 14% (Г.С. Марчук). În anii 70 ai sec. XX, savanții ruși au elaborat o metodă de obținere a enotaninului – tanin extras din semințe de struguri. În Franța, un preparat analogic a fost obținut de Burzacson, Veiland și Heredia, iar profesorul Musculie, în anul 1987, a obținut (în SUA) brevet de invenție

pentru extractul cu efecte terapeutice. Pe baza lui, în Franța, Italia și SUA, din semințe de struguri se fabrică preparate care, în calitate de adaosuri alimentare, medicale și cosmetice, sunt utilizate pe larg în întreaga lume.

În R. Moldova, obținerea enotaninurilor a fost elaborată la Institutul de Chimie al Academiei de Științe. Conform invenției nr. MD 3125, procedeul include tratarea enotaninurilor cu peroxid de hidrogen, în raport masic de 1...(3...6), timp de 7...15 min, la temperatura de 70...100°C, după care soluția se evaporă la temperatura de 40...65 °C, iar produsul obținut se usucă la aceeași temperatură, până la o masă constantă.

Taninurile din semințe de struguri conțin catechină, epicatechină și epicatechină-3-0-galat, care sunt procianidoli. Bate-Smith [7] definește taninurile drept „compusi fenolici hidrosolubili, cu masa moleculară între 500 și 3000 Daltoni, de obicei cu reacții fenolice cu proprietăți și abilitate de a precipita alcaloizii, gelatinele și alte proteine”.

Utilizarea pe larg a enotaninurilor este datorată multitudinii efectelor farmacologice pe care le posedă, apreciate și demonstrate în mai multe studii din întreaga lume. Principalele din ele sunt: antioxidante, antiinflamatoare, astringente, detoxifiante, analgezice, fotoprotectoare, antibacteriene, antifungice. Toate aceste proprietăți le asigură enotaninurilor o importantă activitate biologică și fac ca ele să fie un produs de perspectivă pentru medicina practică.

Efectul antioxidant, este cel mai important. Grație acestui efect, enotaninurile sunt utilizate vast în diverse patologii. Antioxidanții reprezintă o importantă linie de defensivă contra distrugerilor oxidative din organism, ce sunt implicate într-un șir de afecțiuni: cancer, patologii cardiovasculare, artrite. Și contra îmbătrânirii [8]. Studiile efectuate în cadrul Institutului de Cercetări Științifice în domeniul metodelor fizice de tratament și climatologie medicală „I. Secenov” au demonstrat că activitatea antioxidantă a enotaninurilor depășește cu mai mult de 3000 ori activitatea antioxidantă a plasmei, iar conform datelor lui Katiyar S.K. [9] enotaninul (proantoacianidina) este de 20 ori mai activă decât a vitamina E și de 50 ori decât vitamina C. Activitatea antioxidantă a taninurilor se manifestă prin creșterea potențialului membranelor de suprafață și scăderea fluidității membranare, protejarea stratului lipidic de rupturi, interacționând cu membranele fosfolipidice prin grupele polare [10,11]. În urma interacțiunii lor, taninurile pot susține protecția contra atacurilor oxidante și altor molecule care schimbă integritatea stratului membranelor. Un alt mecanism antioxidant, relatat de Lopes G.C., Afaq F. ș.a. [12,13,14], este datorat posibilității taninurilor de a scădea concentrația radicalilor liberi, prin eliminarea lor, și a inhiba activitatea peroxidazei (H_2O_2), indusă de radiația ultravioletă [14,15]. Mai mulți factori cancerigeni sau/și mutageni produc radicali liberi de oxigen pentru interacțiunea cu macromoleculele celulare. Potențialul anticancerigen și antimutagen al enotaninurilor poate fi legat de activitatea lor antioxidantă, care este importantă în protecția contra distrugerii oxidative a celulelor, inclusiv a peroxidării lipidice. S-a menționat că taninurile inhibă generarea de radicali superoxizi [16,17], protejează LDL contra oxidării și inhibă agregarea plachetelor, prevenind astfel afectarea cardiovasculară [18]. Proprietățile antioxidante ale taninurilor se pot schimba în pro-oxidante, dacă se administrează în concentrații mari [19,20].

Efectul antiinflamator, se explică prin formarea unei pelicule protectoare deasupra plăgii, ce face ca terminațiile nervoase să nu fie excitate de către mediul exterior, astfel scăzând senzațiile dureroase din inflamație. Provoacă vasoconstricție locală, creșterea densității membranelor celulare, cu scăderea permeabilității și reducerea exsudatului, inhibă migrația leucocitară în țesutul inflammat, contribuind astfel la micșorarea reacției inflamatoare [21,22]. Rezultatele obținute de Brallez E.E. [23] au demonstrat că enotaninurile au abilitatea de a inhiba dezvoltarea inflamației, edemului și infiltratului cu limfocite polimorfonucleare după aplicare topică, similar ca activitate, cu indometacina. Trebuie remarcat faptul că efectul antiinflamator este suplimentat de efectul analgetic, confirmat prin studiile efectuate de Uchida S. și coaut. [24], care au demonstrat proprietățile antinociceptive ale enotaninurilor.

Efectul antibacterian, caracteristic enotaninurilor, constă în inhibarea creșterii mai multor bacterii, fungi sau viruși [25,26]. King-Thom Chung și coaut. [27,28] au demonstrat că acidul tanic este responsabil de inhibarea creșterii următoarelor bacterii: *Bacteroides fragilis*,

Clostridium perfringens, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola* și *Ruminobacter amylophilis*. Literatura de specialitate conține exemple și date ce confirmă activitatea antimicrobică contra *Candida*, *Cryptococcus*, *Filobasidiella*, *Issatchenkia*, *Saccharomyces*, concentrația minimă inhibitoare fiind de 200 – 4000 μg/ml, ce corespunde cu concentrația 140–2800 μg/ml a activității polifenolilor [29,30]. S-a subliniat de asemenea că flavonoizii exercită și acțiune de modelare a funcțiilor imune [31,32]. Conform datelor literaturii de specialitate, proprietatea antimicrobiană a taninurilor se datorează mai multor mecanisme. Scalbert A. [33] menționează inhibarea sistemului transportului electronic, care a fost observată la *Photobacterium phosphoreum*. Alt mecanism se explică prin formarea unor complexe cu nutrimentele, ca urmare, este inhibată capacitatea nutritivă pentru creșterea larvară sau scade direct metabolismul paraziților gastrointestinali, prin inhibarea fosforilării oxidative (Scalbert A., 1991), cauzând moartea larvei [34]. Investigațiile efectuate de Kono și alții [35,36] au demonstrat că efectele antibacteriene se datorează dereglării 5,6-carboxyfluoresceinei din fosfatidilcolina liposomilor, cu afectarea membranei bacteriene. Posibilitatea acidului tanic de a se lega cu proteinele la fel joacă un rol important în efectul său antimicrobian - prin blocarea proteinelor transmembranare are loc perturbarea metabolismul celular al microorganismului. În condiții aerobe de creștere, microorganismele au nevoie de fier, pentru diferite funcții, inclusiv reducerea precursorului ribonucleic al ADN-ului [37]. Prin urmare, după cum menționează și Chung K.T., acțiunea antimicrobiană a taninului în cazul bacteriilor anaerobe se poate datora capacității de a lega puternic ionii de fier din mediu, pentru ca el (Fe) să nu fie accesibil microorganismelor [38].

În cele din urmă, mecanismul antibacterian al taninurilor se rezumă la: 1. Proprietatea astringentă a taninurilor induce complexarea cu substratul enzimatic bacterian (mai multe enzime microbiene, în formă purificată sau brută, sunt inhibate când se amestecă cu taninurile). 2. Toxicitatea taninurilor poate depinde de acțiunea lor asupra proteinelor membranare ale microorganismelor. 3. Complexarea ionilor metalici de către taninuri poate asigura efectul toxic [39].

După cum s-a menționat anterior, enotaninurile au un efect impunător asupra sistemului cardiovascular. Efectul cardioprotector este interpretat de mulți cercetători în mod diferit. Dar la baza tuturor efectelor se află cel antioxidant și de creștere prin inducere a enzimelor antioxidante din cardiomiocite, protejându-le astfel de distrugere [40]. Radicalii liberi și stresul oxidativ joacă un rol crucial în patofiziologia unui spectru larg de afecțiuni cardiovasculare, inclusiv în insuficiența cardiacă congestivă, hipertrofie, ateroscleroză și afecțiunile cardiace ischemice. Efectul cardioprotector se obține și prin prevenirea dezvoltării aterosclerozei, ca urmare a inhibării peroxidării lipidice și oxidării LDL [41,42,43,44], cu blocarea întregului lanț de reacții ale radicalilor liberi, care produc citotoxicitate, ducând la ruperea membranelor lipidice și inițierea oxidării LDL [45], factori majori ce contribuie la dezvoltarea aterosclerozei [46]. Activitatea antiaterosclerotică a enotaninurilor se datorează și scăderii nivelului de colesterol, prin creșterea transportului lui, excreției biliare și prin scăderea absorbției la nivel intestinal a colesterolului [47]. Alt mecanism al enotaninurilor se explică și prin reducerea ischemiei în țesutul lezat [48,49]. Studiul efectuat de Nees S. [50] a demonstrat că taninurile inhibă lipooxygenaza și xantinoxidaza la nivelul peretelui vascular, protejând endoteliul vascular *in vitro* [51] și reducând permeabilitatea și fragilitatea capilarelor. Scăderea riscului apariției patologiilor cardiovasculare se datorează și inhibării de către enotaninuri a agregării plachetare, scăzând posibilitatea dezvoltării unei tromboze vasculare [52,53,54]. Karthikeyan K. și alții [55,56] în studiile lor explică efectul cardioprotector prin stabilizarea activității enzimelor mitocondriale din cord (isocitrat dehidrogenaza, succinat dehidrogenaza, malat dehidrogenaza și alfa-ketoglutarat dehidrogenaza), a enzimelor lanțului respirator (NADH dehidrogenaza și cytocrom-c-oxidaza) și a enzimelor lizozomale (alfa-d-glucuronidaza, alfa-d-N-acetilglucosaminidaza, cathepsin-D, fosfataza acidă și alfa-d-galactozidaza). Alterarea acestor

indici biochimici are loc în ischemia miocardică, astfel încât stabilizarea lor va avea ca urmare creșterea rezistenței la hipoxie a miocardului cu un important efect cardioprotector.

Reducând stresul oxidativ, taninurile din extractul semințelor de struguri protejează mucoasa gastrică [57] și celulele gliale cu efect neuroprotector [58] de dereglările induse de sistemul oxidant.

Unii autori [59] confirmă că taninurile au o largă utilizare în terapia leziunilor pielii și în diferite formule cosmetice. În cazul aplicării acidului tanic pe plagă sau mucoasă, el provoacă coagularea parțială a proteinelor mucoasei sau a exsudatului din ea, cu formarea unei pelicule care protejează excitarea terminațiilor nervoase din țesutul afectat. La rândul lor, diminuarea senzațiilor dureroase, vasoconstricția locală, scăderea permeabilității vasculare și a membranelor tisulare duc nemijlocit la micșorarea reacției inflamatoare. Conform unor surse, taninul este folosit în tratamentul dermatozelor infecțioase [60]. Și nu în ultimul rând, experiențele efectuate de Khanna S., Venojarvi M. și alții [61] au demonstrat importante efecte ale taninurilor în procesul de vindecare a plăgilor.

Concluzionând cele expuse, putem afirma că enotaninurile sunt folosite din cele mai vechi timpuri și continue să fie apreciate până în prezent. Perspective de utilizare a lor au mai multe domenii ale medicinei, datorită efectelor importante și benefice din punct de vedere biologic, fapt ce atrage tot mai mulți cercetători din întreaga lume de a le studia în continuare. Noile cercetări vor permite utilizarea enotaninurilor într-un șir de patologii în medicina practică contemporană. Pentru R. Moldova, cercetările în acest domeniu prezintă interes datorită imensei surse de materie primă, de care dispunem: deșeurile alimentare constituie aproximativ 21% din masa materiei prime prelucrată la uzine, fabrici și alte întreprinderi de prelucrare a strugurilor de viță de vie. Toate acestea vor permite lărgirea spectrului de preparate autohtone și un important profit economic și medical pentru țara noastră.

Bibliografie

- 1 T. Lupașcu. Cărbuni activi din materii prime vegetale. Chișinău, 2004, p.223-5
- 2 Hertog M.G.L., Kromhout D., Aravanis C., Blackburn H., Buzina R., Fidanza F., Giampaoli S., Jansen A., Menotti A., Nedeljkovic S., Pekkarinen M., Simic B.S., Toshima H., Feskens E.J.M., Hollman P.C.H., Katan M.B. Flavonoid Intake and Long-term Risk of Coronary Heart Disease and Cancer in the Seven Countries Study. // Arch Intern Med. 1995, Vol.155, p.381-386.
- 3 Keli S.O., Hertog M.G.L., Feskens E.J.M., Kromhout D. Dietary Flavonoids, Antioxidant Vitamins, and Incidence of Stroke. // Arch Intern Med. 1996, Vol.156, p.637-642.
- 4 Knekt P., Järvinen R., Reunanen A., Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. // Br J Med. 1996, Vol.312, p.478-481.
- 5 *British Pharmacopoeia*. Acidum tannicum [Acid. tann.], tannic acid. London, UK: Constable & Co Ltd., 1932, p.32.
- 6 *Pharmacopoeia of the United States of America, 10th Decennial Revision*. Acidum tannicum, tannic acid. Philadelphia, PA: JB Lippincott Company, 1926, p.28-9.
- 7 Bate-Smith E.C. and Swain T., Flavonoid Compounds, Comparative Biochemistry, vol 3A (Mason and Florkin, eds), Academic Press 1962 p.705-809
- 8 Kehrer J.P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease.// Crit. Rev. Toxicol. 1993, Vol.23, p.21.
- 9 Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidines and skin cancer prevention: inhibition of oxidative stress and protection of immune system. Mol Nutr Food Res. 2008; №52 Suppl 1, p.S71-6.
- 10 Verstraeten S.V., Hammerstone J.F., Keen C.L., Fraga C.G., Oteiza P.I. Antioxidant and membrane effects of procyanidin dimers and trimers isolated from peanut and cocoa. // J Agric Food Chem. 2005, Vol.53(12), p.5041-8.
- 11 Cetin A, Kaynar L, Koçyiğit I, Hacıoğlu SK, Saraymen R, Oztürk A, Orhan O, Sağdıç

- O. The effect of grape seed extract on radiation-induced oxidative stress in the rat liver. *Turk J Gastroenterol.* 2008; №19(2), p.92-8.
- 12 Lopes G.C., Sanches A.C., Nakamura C.V., Dias Filho B.P., Hernandes L., de Mello J.C. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. // *J Ethnopharmacol.* 2005, Vol.99(2), p.265-72.
 - 13 Afaq F., Saleem M., Krueger C.G., Reed J.D., Mukhtar H. Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. // *Int J Cancer.* 2005, Vol.113(3), p.423-33.
 - 14 Sehirli O, Ozel Y, Dulundu E, Topaloglu U, Ercan F, Sener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Phytother Res.* 2008;№22(1), p.43-8.
 - 15 Enginar H, Cemek M, Karaca T, Unak P. Effect of grape seed extract on lipid peroxidation, antioxidant activity and peripheral blood lymphocytes in rats exposed to x-radiation. *Phytother Res.* 2007; №21(11), p.1029-35
 - 16 Higdon J.V., Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. // *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 2003, Vol.43, p.89-143.
 - 17 Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidines and skin cancer prevention: inhibition of oxidative stress and protection of immune system. *Mol Nutr Food Res.* 2008; №52 Suppl 1, p.S71-6.
 - 18 Santos-Buelga C., Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. // *J Food Sci Agric* 2000, Vol.80, p.1094 – 1117.
 - 19 Busserolles J., Gueux E., Balasińska B., Piriou Y., Rock E., Rayssiguier Y., Mazur A. In vivo antioxidant activity of procyanidin-rich extracts from grape seed and pine (*Pinus maritima*) bark in rats. // *Int J Vitam Nutr Res.* 2006, Vol. 76(1), p.22-7.
 - 20 Devi A., Jolitha A.B., Ishii N. Grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) and antioxidant defense in the brain of adult rats. // *Med Sci Monit.* 2006, Vol.12(4), p.124-9.
 - 21 Mota M.L., Thomas G., Barbosa Filho Jm. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. // *J. Ethnopharmacol.* 1985, Vol.13(3), p.289-300.
 - 22 Большая Советская Энциклопедия (БСЭ) online: <http://www.oval.ru/>
 - 23 Bralley EE, Hargrove JL, Greenspan P, Hartle DK. Topical anti-inflammatory activities of *Vitis rotundifolia* (muscadine grape) extracts in the tetradecanoylphorbol acetate model of ear inflammation. *J Med Food.* 2007 Dec;10(4):636-42.
 - 24 Uchida S, Hirai K, Hatanaka J, Hanato J, Umegaki K, Yamada S. Antinociceptive effects of St. John's wort, *Harpagophytum procumbens* extract and Grape seed proanthocyanidins extract in mice. *Biol Pharm Bull.* 2008 Feb;31(2):240-5.
 - 25 Mayer R, Stecher G, Wuerzner R, Silva RC, Sultana T, Trojer L, Feuerstein I, Krieg C, Abel G, Popp M, Bobleter O, Bonn GK. Proanthocyanidins: target compounds as antibacterial agents. *J Agric Food Chem.* 2008 Aug 27;56(16):6959-66.
 - 26 Gadang VP, Hettiarachchy NS, Johnson MG, Owens C. Evaluation of antibacterial activity of whey protein isolate coating incorporated with nisin, grape seed extract, malic acid, and EDTA on a Turkey frankfurter system. *J Food Sci.* 2008 Oct;73(8):M389-94
 - 27 Chung King-Thom, Wong Tit Yee, Wei Cheng, Huang Yao-Wen, Lin Yuan. Tannins and Human Health. // *J Food Science and Nutrition*, 1998, Vol.38, p.421– 464.
 - 28 King-Thom Chung, Wei Cheng-I and M.G.Johnson. Are Tannin a Double – Edged Sword in Biology and Health. // *Trends in Food Science & Technology* 1998, Vol.9(4), p.168-175.

- 29 Romani F., Ieri B., Turchetti N., Mulinacci F., Vincieri F. and Buzzini P. Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol.41, 2006, p.415-420.
- 30 Smith A.H., Mackie R.I. Effect of Condensed Tannins on Bacterial Diversity and Metabolic Activity in the Rat Gastrointestinal Tract. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, Vol. 70, p.1104-1115
- 31 Blazsó G., Gábor M., Sibbel R., Rohdewald P. Antiinflammatory and superoxide radical scavenging activities of a procyanidins containing extract from the bark of *Pinus pinaster* Sol. and its fractions. // *Pharm Pharmacol Lett.* 1994, Vol. 3, p.217-220.
- 32 Middleton E., Jr., Kandaswami C. Plant Flavonoid Modulation of Immune and Inflammatory Cell Functions. // *Nutrition and Immunology*. In *Human Nutrition*. Plenum Press: New York, 1993; p.239-266.
- 33 Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. // *Phytochemistry*, 1991, Vol.30, p.3875-83.
- 34 Athanasiadou S., Kyriazakis I., Jackson F., and Coop R.L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. // *Vet. Parasitol.* 2001, Vol.99, p.205-219.
- 35 Kono K., Tataru I., Takeda S., Arakawa K. & Hara Y. Antibacterial activity of epigallocatechin gallate against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (Japanese). // *Journal of the Japan Association for Infectious Disease*, 1994, Vol.68, p.1518-22.
- 36 Hamilton-Miller J.M. T. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995, Vol.39, p.2375-7.
- 37 Chung K.T., Lu Z. & Chou M.W. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. // *Food and Chemical Toxicology*, 1998, Vol.36, p.1053-60.
- 38 Chung K.T., Stevens S.E.Jr, Lin W.-F. & Wei C. I. Growth inhibition of selected food-borne bacteria by tannic acid, propyl gallate and related compounds. // *Letters in Applied Microbiology* 1993, Vol.17, p.29-32.
- 39 Chung King-Thom, Wong Tit Yee, Wei Cheng, Huang Yao-Wen, Lin Yuan. Tannins and Human Health. // *J Food Science and Nutrition*, 1998, Vol.38, p.421- 464.
- 40 Du Y, Guo H, Lou H. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *J Agric Food Chem.* 2007; №55(5), p.1695-701.
- 41 Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., Kinsella J.E. Natural Antioxidants in Grapes and Wines. // *J Agric Food Chem.* 1994, Vol.42, p.64-69.
- 42 Hanasaki Y., Ogawa S., Fukui S. The Correlation Between Active Oxygens Scavenging and Antioxidative Effects of Flavonoids. // *Free Radical Biol Med.* 1994, Vol.16 (6), p.845-850.
- 43 Stanković M, Tesević V, Vajs V, Todorović N, Milosavljević S, Godevac D. Antioxidant properties of grape seed extract on human lymphocyte oxidative defence. *Planta Med.* 2008; №74(7), p.730-5.
- 44 Sano A, Uchida R, Saito M, Shioya N, Komori Y, Tho Y, Hashizume N. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2007 Apr;53(2):174-82
- 45 Teissedre P.L., Waterhouse A.L., Frankel E.N. Principal phenolic phytochemicals in French syrah and Grenache rhone wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins. // *J Intl Sci de la Vigne et du Vin.* 1995, Vol.29, p.205-212.
- 46 Dubnick M.A. and Omaye S.T. Evidence for grape, wine and tea polyphenols as modulators of atherosclerosis and heart disease in humans. // *J. Nutra. Func. Med. Foods*, 2001, Vol.3, p.67-93.

- 47 Tebib K., Besançon P., Rounat J.-M. Dietary Grape Seed Tannins Affect Lipoproteins, Lipoprotein Lipases and Tissue Lipids in Rats Fed Hypercholesterolemic Diets. // *J Nutr.* 1994, Vol.124, p.2451-2457.
- 48 Sato M., Maulik G., Ray P.S., Bagchi D., Das D.K. Cardioprotective Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Against Ischemic Reperfusion Injury. // *J Mol Cell Cardiol.* 1999, Vol.31, p.1289-1297.
- 49 Shao Z.H., Becker L.B., Vanden Hoek T.L., Schumacker P.T., Li C.Q., Zhao D., Wojcik K., Anderson T., Qin Y., Dey L., Yuan C.S. Grape seed proanthocyanidin extract attenuates oxidant injury in cardiomyocytes. // *Pharmacol Res.* 2003, Vol.47(6), p.463-9.
- 50 Torel J., Cillard J., Cillard P. Antioxidant Activity of Flavonoids and Reactivity with Peroxy Radical. // *Phytochem.* 1986, Vol.25 (2), p.383-385.
- 51 Nees S., Weiss D.R., Reichenbach-Klinke E., Rampp F., Heilmeyer B., Kanbach J., Esperester A. protective effects of flavonoids contained in the red vine leaf on venular endothelium against the attack of activated blood components *in vitro*. // *Arzneimittel-Forsch* 2003, Vol.53, p.33-41.
- 52 Leifert WR, Abeywardena MY. Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutr Res.* 2008 Nov;28(11):729-37.
- 53 Demrow H.S., Slane P.R., Folts J.D. Administration of Wine and Grape Juice Inhibits In Vivo Platelet Activity and Thrombosis in Stenosed Canine Coronary Arteries. // *Circulation.* 1995, 91, p.1182-1188.
- 54 Sano T., Oda E., Yamashita T., Naemura A., Ijiri Y., Yamakoshi J., Yamamoto J. Anti-thrombotic effect of proanthocyanidin, a purified ingredient of grape seed. // *Thromb Res.* 2005, Vol.115 (1-2), p.115-21.
- 55 Karthikeyan K, Sarala Bai BR, Niranjali Devaraj S. Grape seed proanthocyanidins ameliorates isoproterenol-induced myocardial injury in rats by stabilizing mitochondrial and lysosomal enzymes: an in vivo study. *Life Sci.* 2007 Nov 30;81(23-24):1615-21
- 56 Bagchi D, Sen CK, Ray SD, Das DK, Bagchi M, Preuss HG, Vinson JA. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res.* 2003 Feb-Mar;523-524:87-97.
- 57 Bagchi M., Milnes M., Williams C., Balmoori J., Ye X., Stohs S., Bagchi D. Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal injury in rats, and the protective ability of a novel grape seed proanthocyanidin extract. // *Nutr Res.* 1999, Vol.19 (8), p.1189-1199.
- 58 Feng Y, Liu YM, Leblanc MH, Bhatt AJ, Rhodes PG. Grape seed extract given three hours after injury suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr Res.* 2007; №61(3), p.295-300.
- 59 Detres A., Dauer A., Schnetz E., Fartasch M., Hensel A.. High molecular compounds (polysaccharides and proantocyanidins) and Hamamelis virginiana bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. 2001, Vol.58(6), p.949-58.
- 60 Wiedow O., Weindler F., Mrowietz U. The effect of tamol on human mast cell chymase and plasmin. // *Skin Pharmacol.* 1997, Vol.10(2), p.90-6.
- 61 Khanna S., Venojarvi M., Roy S., Sharma N., Trikha P., Bagchi M., Sen C.K. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. 2002, Vol.33(8), p.1089-96.