

## **BİTKİSEL FLAVONOİD BİLEŞİKLERİNİN BİYOAKTİVİTELERİ VE MUHTEMEL ETKİ MEKANİZMALARI**

### **BIOACTIVITIES OF PLANT FLAVONOIDS AND THE POSSIBLE ACTION MECHANISMS**

**Hüsnüye BİRMAN \***

#### **ÖZET**

Flavonoidler çoğu bitkilerde bulunan düşük moleküler ağırlıklı polifenolik bileşiklerdir. Özellikle bitkilerdeki yeşil, turuncu, kırmızı pigmentlerden sorumlu yapılar olarak tanımlanırlar. İn vivo, in vitro ve epidemiyolojik çalışmalarla tespit edilmiş birçok biyoaktiviteleri bildirilmektedir. Kardiyovasküler sistem üzerine olan aktiviteleri en çok üzerinde durulan etkileridir. Bunun yanında serbest radikal uzaklaştırıcı (antioksidan), anti-trombotik, antihipertansif, antiallerjik, antienflamatuar, antiapoptotik ve son zamanlarda da antikanserojen aktiviteleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca flavonoidler çeşitli mekanizmalarla vasodilatator etkilidirler ve bu aktiviteleri endotelyuma bağımlı veya endotelyumdan bağımsız bir tarzdadır. Özellikle iskemi - reperfüzyon hasarında farklı birçok mekanizma ile flavonoidlerin koruyucu aktiviteleri ileri sürülmektedir. Bu derlemede flavonoidlerin kardiyoprotektif aktivitelerindeki muhtemel etki mekanizmaları ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Flavonoid bileşikleri, antioksidan, iskemi- reperfüzyon, biyoaktivite.

#### **ABSTRACT**

Flavonoids are isolated from plant extracts and present in diet of humans. They are a subgroup of the more extended family of polyphenols. Epidemiological studies have suggested that flavonoids decrease death from coronary heart disease and stroke incidence. Flavonoids are potent scavengers of reactive species (superoxide, peroxy radical and peroxynitrite). Some of the activities attributed to flavonoids include antioxidant, antithrombotic, antihypertensive, antiallergic, antiinflammatory, antiapoptotic and anticancerogen. Flavonoids are vasodilatory through a variety of mechanisms and may exert it in endothelium-dependent or independent manners. There is evidence that administration of flavonoids may provide protection against myocardial ischemia- reperfusion. This review presents the possible mechanisms of cardioprotective effects of flavonoids.

**Key Words:** Flavonoid compounds, antioxidant, ischemia- reperfusion, bioactivity.

#### **GİRİŞ**

Bitkisel kaynaklı bileşiklerin geniş bir çeşidi polifenolik flavonoidleri içine alan bileşikler olup, insan diyetinde oldukça geniş yer alır veya tıbbi nedenlerle tüketilir.

Epidemiyolojik ve hayvan çalışmaları flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıklara ve bazı kanser tiplerine karşı koruyucu etkilerini önerme eğilimindedir. Flavonoidler yaklaşık 50 yıldır çalışılmış olmasına rağmen, biyolojik aktivitelerindeki hücrel mekanizmalar hala çoğunlukla bilinmemektedir. Kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin ortaya çıkmasında flavonoidlerin antioksidan özellikleri ileri sürülür. Yine de bu polifenollerin antikarsinojenik potansiyellerini açıklamak için bu özellikleri tek başına yeterli değildir. Hücrelerde hangi moleküllerle etkileştiği veya bunlarla absorbe edildiği intraselluler konsantrasyonu ve internal organlardaki dağılımı çok önemlidir. Gastrointestinal sistemi kaplayan hücreler dışında, vücuttaki diğer bütün hücreler sadece flavonoid metabolitlerine ve gittikçe azalan diğer ürünlerine maruz kalırlar. Bazı metillenmiş metabolitleri dışında hücrelerin maruz kaldığı bu bulgular ilk çalışmalarda gösterilmemiştir. Son 10 yılda flavonoid aktivite raporları enzim inhibisyonu ve anti-proliferatif aktiviteleri ile çoğunlukla birlikte ele alınmıştır. İnsan kolon kanseri HT29 hücre dizisi ile yürütülen bir

çalışmada yapı-fonksiyon ilişkileri, antioksidan, enzim inhibitörü veya anti-proliferatif aktivitelerinin özellikle yapı motiflerine bağlı olduğu gösterilmiştir (12).

Flavonoidlerle yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalarda beslenme sonucu flavonoid alımındaki artış ile koroner kalp hastalığı insidansında azalmayı gösteren bir korelasyonun tespit edilmesi olmuştur (15,21). Yüksek flavonoid içerikli sebze, meyve ve kırmızı şarap tüketimi ile nitelendirilen bir beslenme tarzına sahip olanlarda koroner kalp hastalıklarından ölüm riskinin azaltılabileceği ile ilgili çalışmalar dikkat çekici olmuştur (30). Özellikle koroner kalp hastalığından korunmada flavonoidlerin diyetel olarak alınması önemli bir yer tutmaktadır (17). Flavonoid alımının 5-10 yıllık sürelerle yürütüldüğü alan çalışmalarında doz-cevap eğrileri ve koroner kalp hastalığına maruz kalma riskleri araştırılmıştır. Günlük flavonoid alımının en yüksek ve en düşük ortalama miktarları 42 mg/kg/gün ve 12mg/kg/gün olarak tespit edilmiştir (24). İn vitro çalışmalarda kardiyoprotektif etkisi ele alınan flavonoidlerin bu aktivitelerini ortaya koyan muhtemel mekanizmalarının serbest radikal uzaklaştırıcı (antioksidan) özelliklerinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (11,17). Nitekim flavonoidlerin miyokarda iskemi-reperfüzyonun sebep olduğu oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (17). Polifenolik bileşikler olan proantosiyanidinlerin kalpte iskemi

**Date received/Dergiye geldiği tarih:23.07.2012 - Dergiye kabul edildiği tarih: 29.11.2012**

\* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

(İletişim kurulacak yazar: birmanh@istanbul.edu.tr)

reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkileri çalışmalarla ele alınmıştır(13). Bu aktivitelere proantosiyanidinlerin direkt olarak peroksil ve hidroksil uzaklaştırıcı etki ile iskemi reperfüzyon süresince gelişen oksidatif stresi azaltmada aracılık edebilecekleri bildirilmiştir(16). Serbest radikal uzaklaştırıcı (antioksidan), antitrombotik, antihipertansif, antiaterojenik, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve son zamanlarda da antikanserojen aktiviteyi üzerinde çalışmalar devam etmektedir (26).

Bilindiği gibi reaktif oksijen türleri (ROS) singlet oksijen, süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve nitrik oksit stabil olmayan ve ekstrem bir şekilde reaktif olan bileşiklerdir. Oksidatif stresin sebep olduğu reaktif oksijen türleri de çeşitli kardiyovasküler hastalıkların gelişimi ve ilerlemesinde ortaya çıkan patolojik göstergeler olarak kabul edilmektedir. Flavonoidlerin biyoaktivitelerini ve araştırmalarla ortaya çıkan etki mekanizmalarını daha ayrıntılı bir şekilde ele alabiliriz:

- 1- Flavonoidler öncelikle ROS oluşumunu engelleyerek antioksidan etkilerini gösterebilirler,
- 2- ROS 'i direkt olarak uzaklaştırabilirler,
- 3- İndirekt olarak hücrelerin antioksidan enzimlerini artırma ve lipofilik antioksidanları koruma yoluyla fonksiyon yaparlar.

ROS oluşumunun engellenmesi için başlıca 3 önemli fonksiyonları vardır:

- 1-Metal şelasyonu yaparak redoks reaksiyonlarının önlenmesi
- 2-Ksantin oksidaz enzim inhibisyonu
- 3-NADPH oksidaz enzim inhibisyonu

### **ANTIOKSIDAN AKTİVİTELERİ**

Flavonoidlerin antioksidan etkilerinin mekanizmaları birçok çalışmalarla araştırılmış ve farklı aktiviteyi bildirilmiştir. Kalpte iskemi- reperfüzyon süresince ROS ortaya çıkmasının inhibe edildiği en önemli bulgular arasındadır. 3 haftalık süre ile proantosiyanidin ile beslenme durumunda reperfüzyonun daha başlangıç dakikalarında serbest radikal üretiminin azaldığı izole sıçan kalplerinde gösterilmiştir(27). Bu sonuç, iskemi-reperfüzyonun sebep olduğu ve miyokarda oluşan oksidatif hasarın flavonoid uygulanması ile azaltıldığını göstermektedir. Buna benzer birçok çalışmada oksidatif stresin göstergesi olan MDA düzeylerinin quercetin flavonoidi ve mor üzüm kabuğu ile beslenen sıçan kalplerinde azaldığı tespit edilmiştir(6,11, 17). Flavonoidler süperoksit, peroksil ve peroksinitrit gibi reaktif türleri serbest radikalleri uzaklaştırma özellikleri sayesinde ortadan kaldırarak kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından koruyabilirler(11,16,29). Peroksinitrit kardiyak reperfüzyon hasarında oluşan yüksek derecede reaktif bileşiktir(14). Flavonoidler aracılığıyla süperoksit ve peroksinitritin uzaklaştırılması, reperfüzyon süresince endotelial fonksiyon bozukluğunu (disfonksiyonu) önlemeye yardım edebilir(23).

Çalışmamızda, nitrik oksit sentaz inhibisyonuna neden olarak NO üretimini bloke eden N<sup>o</sup> nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) kullanılarak deneysel olarak hipertansif yapılan hayvanların tükürük bezleri ve böbrek dokusunda oluşan hasarın, *Crataegus tanacetifolia* (alıç) ve onun doğal flavonoidi olan *hiperozit* uygulanmasıyla kısmen önlendiği gösterilmiştir(4).

### **METAL ŞELASYON (CHELATION) ÖZELLİKLERİ**

Flavonoidler metalleri çeşitli oranlarda olmak üzere metal:flavonoid şeklinde bağlayabilirler

Bazı flavonoidlerin antioksidan özellikleri demir ve bakır gibi metallerin şelasyonu sayesinde ortaya çıkabilir. Metal iyonlarının hareketleri Fenton reaksiyonunda kritik kofaktörlerdir, böylece onların flavonoidlerle şelasyonu, bu tip reaksiyonlar için metalleri kullanılamaz yapar(9).

### **KSANTİN OKSIDAZ İNHİBİSYONU**

Luteolin, quercetin ve myricetin gibi bazı flavonoidlerin ksantin oksidaz inhibisyonu yaptıkları ileri sürülmektedir (34). Özellikle koroner damarlar ve interstisyel hücrelerdeki ksantin oksidaz aktivitesinin iskemi reperfüzyon hasarına katkıda bulunabileceği düşünülür ve ksantin oksidazın inhibe edilmesiyle süperoksit oluşumunu önlemeye yardım edilebilir. (2)

### **NADPH OKSIDAZLARIN İNHİBİSYONU**

NADPH oksidaz'ın nötrofil enzimlerinden biri olduğu bilinmesine rağmen son zamanlarda endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve kardiyak hücreleri içeren kardiyovasküler hücrelerde de NADPH oksidaz ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Bu konu ile ilgili çelişkili raporlar bildirilmesine rağmen, NADPH oksidazın miyokardiyal infarktüste ve kalp yetmezliğinde arttığı ve ventriküler yenilenme ve kardiyak hipertrofiye katkısı olabileceği gösterilmiştir(20). NADPH oksidaz inhibisyonu miyokard infarktüsü hasarını azaltabilir(31). Flavonoidlerin vazodilatör etkilerinin bir kısmı da endotelial NADPH inhibisyonu yoluyla ortaya çıkabilir. NADPH oksidaz oksijen radikal üretimine ve endotel fonksiyon bozukluğuna katkısı olabilen peroksinitrit oluşumuna aracılık edebilir(7). Quercetin flavonoidinin NADPH oksidazın downregülasyonu ve eNOS aktivitesini arttırdığı ve endotel fonksiyon bozukluğunu önlediği bildirilmiştir(18). Bizim çalışmamızda da *Crataegus tanacetifolia*'dan (endemik alıç türü) elde ettiğimiz flavonoid olan hiperozit ile deneysel hipertansif yapılan sıçanlarda L-NAME ile NOS aktivitesi bloke edilmesine rağmen böbrek dokusunda eNOS aktivitesinin arttığını gösterdik(19). NADPH oksidaz inhibisyonu ile miyokardiyal enfarktüs hasarının azaltılabileceği bildirilmesine rağmen (31) NADPH oksidazların iskemik kalp kasına miyokardiyal anjiyogenezis sağlayarak faydalı olabileceği de ileri sürülmektedir(7).

### **VAZORELAKSASYON**

Antioksidan özelliklerinden başka flavonoidler iskemi-reperfüzyon hasarında da bazı işlevlere sahiptirler. İskemi sonrasındaki kalplerde kan akımının tekrar daha iyi düzenlenmesine yardım ederler. Bazı flavonoid ve polifenollerin kan damarlarını genişletme (vazodilate etme) kapasiteleri gösterilmiştir (1,18). Bu biyoaktiviteyi endoteliuma bağımlı veya bağımsız bir şekilde olabilir, bazı polifenollerde de her iki mekanizmanın etkili olabileceği ileri sürülmektedir (8). Polifenollerin endotelium bağımlı vazorelaksasyon aktiviteyi nitrik oksit aracılığıyla olabilir. Anti-enflamatuvar, anti-trombotik ve vazodilatör aktiviteyi için nitrik oksit önemli bir sinyal moleküldür. Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi aktivitesi için sitozolik kalsiyumun hafif artırılması gibi, flavonoidler yoluyla orta derecede oluşturulan oksijen radikalleri de eNOS 'un uyarılmasından sorumlu görünür. Flavonoid bileşiklerinin sağladığı vazorelaksasyonun diğer muhtemel mekanizmaları fosfodiesteraz enzimlerinin inhibisyonu ve düz kas hücrelerindeki kalsiyumun düşürülmesidir.

Biz *Crataegus* (alıç) bitki ekstresi ile yaptığımız ilk çalışmalarda *Crataegus*'un Anadolu'da doğal olarak yetişen *tanacetifolia* türü ekstresinin Wistar albino sıçanlara 100mg/kg dozunda uygulandığında akut hipotansif etki gösterdiğini tespit etmiştik (3). Daha sonraki çalışmamızda *Crataegus tanacetifolia*'dan izole edilen ve flavonoid bileşiği olan *hiperozitin* L-NAME kullanılarak deneysel olarak hipertansif yapılan hayvanlarda kan basıncı artışını önlediğini gösterdik. Bu bulgunun ortaya çıkmasında *hiperozitin* uygulanmasıyla böbrek NOS aktivitesinde tespit edilen artışın rol oynadığını göstermiştik (19). Ayrıca, NO oluşumunun bloke edilmesi ile koroner arterlerde gösterilen histopatolojik bulguların *hiperozitin* uygulanması ile azaltıldığını ve damar lümen çapının genişlemesi sonucu periferik direncin düşürüldüğünü tespit ettik (19).

Son zamanlarda *luteolin* flavonoidi ile yürüttüğümüz çalışmamızda PTZ ile indüklenen epilepsi modelinde *luteolinin* karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda eNOS miktarını arttırdığını, metalloproteinaz 2 (MMP2) miktarını azalttığını ve epilepsi frekansının da düşürüldüğünü tespit ettik. Metalloproteinaz 2 miktarının *luteolin* uygulanmasıyla düşürülmesi periferik doku hasarının önlenmesinde önemli bir bulgu olarak gözlemlendi (5).

Flavonoidler endotel hücreler yoluyla prostosiklinlerin üretimini stimüle edilmesiyle de vazorelaksan aktivite gösterebilirler. 3 hafta süre ile oral yolla verilen üzüm tohumu proanthosiyandin bileşiklerinin, iskemik ve iskemik reperfüze kalplerde prostosiklinlerin üretimini arttırdığı bildirilmektedir (21).

### **METALLOPROTEİNAZ İNHİBİSYONU**

Matriks metalloproteinazları (MMP) birçok enzimden oluşan fizyolojik ve patolojik doku yıkımında önemli rol oynayan ekstrasellüler proteazlardır. Doku gelişimi ve farklılaşmasında, yeniden şekillenmede, anjiogenezde ve hücre göçü gibi olaylarda MMP'ler önemli rol oynarlar. İnaktif halde salınan MMP'lerin proteolitik aktiviteleri spesifik doku inhibitörleri (TIMP) ler tarafından inhibe edilir. Bu enzimler doku bütünlüğünün korunması için kritik bir önem taşırlar (22). Plazma MMP9 seviyesi artışı iskemi – reperfüzyon ile ilişkili gelişen miyokard infarktüsü, restenozis gibi durumlarda gözlenir (28,32).

Flavonoidlerin iskemik- reperfüze kalplerde metalloproteinaz inhibisyonu çalışmalarda gösterilmiştir (35).

Doğal bir flavonoid türü olan *morin* ile MMP2 ve MMP9'un enzim aktivitelerinin azaldığı enflamasyon ve tümör gelişiminin inhibe edildiği gözlemlenmiştir (33).

Bizim yürüttüğümüz bir çalışmada *luteolin* doğal flavonoidinin 10mg/kg i.p 2 hafta süreyle PTZ ile indüklenen epilepsi modeli oluşturulan sıçanlara uygulandığında iNOS ve MMP2 aktivitelerinin kontrol seviyelerine döndüğü, MMP9'u değiştirmediği ve eNOS aktivitesini anlamlı arttırdığı tespit edildi. *Luteolin* flavonoidinin PTZ ile indüklenen epilepsi nöbetlerinde, periferik doku hasarındaki koruyucu etkisi çalışmamızda immunhistokimyasal olarak gösterildi (5).

Bir başka doğal flavonoid olan quercetin'in global iskemiye bağlı nöronal hasarı MMP9 inhibisyonu yoluyla azalttığı bildirilmiştir (10). Benzer şekilde quercetin'in insan aortik düz kas hücrelerinde MMP9 ekspresyonunu doza bağlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir (25).

Flavonoidlerin biyoaktiviteleri ile ilgili ilk çalışmalarda özellikle antioksidan aktivitelere sahip oldukları ileri sürülmüş ve çalışmalar bu aktivitelerinin gösterilmesine yoğunlaşmıştır.

Daha sonraki çalışmalar oksidatif stresin neden olduğu hücre sinyal ileti yollarındaki değişimler ve flavonoidlerin bu ileti yollarındaki muhtemel etki mekanizmalarını araştıran çalışmalardır yollarındaki muhtemel etki mekanizmalarını araştıran çalışmalardır.

### **SONUÇ**

Çeşitli fizyopatolojik koşullardaki doku hasarında, enflamasyonda, koroner kalp hastalıklarında hatta antikanserijen aktiviteleri araştıran çeşitli çalışmalarla flavonoidlerin organizmadaki koruyucu rollerinin daha ayrıntılı bir şekilde ele alınması önemlidir.

### **KAYNAKLAR**

1. Achike FI, Kwan CY. Nitric oxide human diseases and the herbal products that effect the nitric oxide signaling pathway. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2003;30(9):605-615
2. Ashraf M, Samra ZQ. Subcellular distribution of xanthine oxidase during cardiac ischemia and reperfusion :an immunocytochemical study. J Submicrosc Cytol Pathol 1993; 25: 193-201
3. Birman H, Tamer Ş, Melikoğlu G, Meriçli AH. Hypotensive activity of *Crataegus tanacetifolia*. İstanbul Ecz Fak Mecm 2001; 34: 23-26
4. Birman H, Akgün-Dar K, Kapucu A, Olgaç V, Gürel E. Deneysel hipertansif sıçanlarda *Crataegus tanacetifolia* (alıç) ve *hiperozitin*'in tükürük bezi ile böbrek dokusu üzerine etkileri ve nitrik oksit (NO) ile ilişkisi. Nobel Med 2011; 7: 17-22.
5. Birman H, Akgün-Dar K, Kapucu A, Acar S, Üzüm G. Effects of Luteolin on liver, kidney and brain in PTZ-induced Seizures: Involvement of metalloproteinases and NOS activities. Balkan Med Jour 2012; 29:2
6. Boadi WY, Iyere PA, Adunyah SE. In vitro exposure to quercetin and genistein alters lipid peroxides and prevents the loss of glutathione in human progenitor mononuclear (U937) cells. J Appl Toxicol 2005; 25: 82-88
7. Chen JX, Zeng H, Tou QH, Yu H, Meyrick B, Aschner JL. NADPH oxidase modulates myocardial Akt, ERK1/2 activation and angiogenesis after hypoxia –reoxygenation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007; 292 : 1664-1674
8. Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta . Gen Pharmacol 1996; 27: 363-366
9. Cheng IF, Breen K. On the ability of four flavonoids baicalein, luteolin, naringenin and quercetin, to suppress the Fenton reaction of the iron-ATP complex. Biometals 2000; 13:77-83
10. Cho JY, Kim IS, Jang YH, Kim AR, Lee SR. Protective effect of Quercetin, A natural flavonoid Against Neuronal damage after transient Global Cerebral Ischemia. Neurosci Lett 2006; 404: 330-335
11. Chun OK, Kim DO, Lee CY. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. J Agric Food Chem 2003 ;51: 8067-8072
12. Depeint F, Gee JM, Williamson G, Johnson IT. Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and

- cellular activities. Proceeding Nutrition Society 2002;6 :97-103
13. Falchi M, Bertelli A, Lo Scalzo R, Morassut M, Morelli R, Das S, Cui J, Das DK. Comparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 6613-6632
  14. Falk JA, Aune SE, Kutala VK, Kuppusamy P, Angelos MG. Inhibition of peroxynitrite precursors, NO and O<sub>2</sub> at the onset of reperfusion improves myocardial recovery. *Resuscitation* 2007; 74:508-515
  15. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993;342:1007-1011
  16. Huk I, Brovkovich V, Nanobash Vili J, Weigel G, Neumayer C, Partyka L, Patton S, Malinski T. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br J Surg* 1998; 85: 1080-1085
  17. İkizler M, Erkasap N, Dernek S, Kural T, Kaygisiz Z. Dietary polyphenol quercetin protects rats hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. *Anadolu Kardiol Derg* 2007; 7: 404-410
  18. Jochmann N, Lorenz M, Krosigk A, Martus P, Böhm V, Baumann G, Stangl K, Stangl V. The efficacy of black tea in ameliorating endothelial function is equivalent to that of green tea. *Br J Nutr* 2008 ;99: 863-868
  19. Koçyıldız ZÇ, Birman H, Olgaç V, Akgün-Dar K, Melikoğlu G, Meriçli A.H. *Crataegus tanacetifolia* leaf extract prevents L-NAME-induced hypertension in rats: A morphological study. *Phytotherapy Res* 2006; 20 : 66-70
  20. Looi YH, Grieve DJ, Siva A, Walker SJ, Anilkumar N, Cave AC, Marber M. Involvement of NOX2 NADPH oxidase in adverse cardiac remodeling after myocardial infarction. *Hypertension* 2008;51: 319-325
  21. Maffei Facino R, Carini M, Aldini G, Berti F, Rossoni G, Bombardelli E, Morazzonio P. Diet enriched with procyanidins enhances antioxidant activity and reduces myocardial post ischaemic damage in rats. *Life Sci* 1999; 64: 627-642
  22. Malemud CJ. Matrix metalloproteinases (MMP's) in healthy and disease: an overview. *Front Biosci* 2006; 11: 1696-1701
  23. Mc Carty MF. Scavenging of peroxynitrite-derived radicals by flavonoids may support endothelial NO synthase activity, contributing to the vascular protection associated with high fruit and vegetables intakes. *Med Hypotheses* 2008;70:170 - 18
  24. Modun D, Music I, Katalinic V, Salamunic I, Boban M. Comparison of protective effect of catechin applied in vitro and in vivo on ischemia-reperfusion injury in the isolated rat hearts. *Croat Med J* 2003;44: 690-696
  25. Moon SK, Cho GO, Jung SY, Gal SW, Kwon TK, Lee YC, Madamanchi NR, Kim CH. Quercetin exerts multiple inhibitory effects on vascular smooth muscle cells: role of ERK1/2 cell-cycle regulation and matrix metalloproteinase-9. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301: 1069-1078
  26. Nandave M, Ojha SK, Arya DS. Protective role of flavonoids in cardiovascular diseases. *Natural Product Radiance* 2005; 4: 166-176
  27. Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rats hearts. *Am J Clin Nutr* 2002;75: 894-899
  28. Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N, Matrix metalloproteinases and myocardial infarction. *Can J Cardiol* 2007; 23: 727-733
  29. Pollard SE, Kuhnle GG, Vauzour D, Vafeiadou K, Tzounis X, Whiteman M, Rice-Evans C, Spencer JP. The reaction of flavonoid metabolites with peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 ; 350: 960-968.
  30. Potenza MA, Marasciulo FL, Tarquinio M, Tiravanti E, Colantuono G, Federici A, Kim J, Quon MJ, Montagnani M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity reduces blood pressure and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: 1378-1387
  31. Quin F, Simeone M, Patel R. Inhibition of NADPH oxidase reduces myocardial oxidative stress and apoptosis and improves cardiac function in heart failure after myocardial infarction. *Free Radic Biol Med* 2007;43 : 271-281
  32. Sieravogel MJ, Pastercampg, de Kleijn DP, Strauss BH. Matrix metalloproteinases: a therapeutic target in cardiovascular disease. *Curr Pharm Des* 2003; 9 :1033-1040
  33. Sivaramkrishnan V, Devaraj SN. Morin regulates the expression of NF-Kb-p65, COX-2 and matrix metalloproteinases in diethylnitrosamine induced rat hepatocellular carcinoma. *Chem Biol Interact* 2009 ; 180: 353-359
  34. Van Hoorn DE, Nijveldt RJ, Van Leuwen PA, Hofman Z, M' Rrabet L, Debonnd DB, Van Norren K. Numico. Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. *Eur J Pharmacol* 2002; 451 : 111-118
  35. Yamazaki KG, Romero-Perez D, Barraza Hidalgo M, Cruz M, Cortez Gomez B, Rivas M, Ceballos G, Villarreal F. Short and long term effect of (-)-epicatechin on myocardial ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008 ; 295: 761-767