

Procyanidols oligomères des sarments de vigne, cépage Carignan

par

M. BOUKHARTA, M. GIRARDIN et M. METCHE

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Résumé : Les procyanidols des sarments de vigne (cépage Carignan) ont été obtenus par extractions successives à l'aide du mélange acétone - eau puis d'acétate d'éthyle. La combinaison des méthodes de fractionnement sur colonnes de Sephadex LH-20 et de Fractogel TSK HW40 avec la chromatographie préparative sur couches minces de silice complétée par l'HPLC semi-préparative, ont permis de purifier onze procyanidols. A l'aide de méthodes chimiques, enzymatiques et spectrophotométriques, ont été établies les structures de six procyanidols dimères B1, B2, B3, B4, B7 et B2-3'-O-gallate, de deux procyanidols trimères C1 et [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine (4 β ->8) catéchine] ainsi que celles de trois monomères (-)épicatéchine-3-O-gallate, (-)épicatéchine et (+)catéchine.

Oligomeric procyanidins of vine shoots of cultivar Carignan

S u m m a r y : Procyanidins from vine shoots were extracted using acetone - water and ethyl acetate. The purification of procyanidins were carried out by combination of column chromatography on Sephadex LH-20 and Fractogel TSK HW 40, preparative TLC on silicagel and HPLC. Two trimeric procyanidins C1 and [epicatechin (4 β ->8) epicatechin (4 β ->8) catechin], six dimeric procyanidins B1, B2, B3, B4, B7 and 3'-O-galloyl B2 along with 3-O-galloyl (-)epicatechin, (+)catechin and (-)epicatechin were identified on the basis of chromatographical and chemical evidences.

K e y w o r d s : procyanidin, polyphenol, *Vitis vinifera*, shoot, Carignan, identification.

Introduction

Au cours de ces dernières années, les procyanidols du raisin et du vin ont fait l'objet de plusieurs études (BOURZEIX *et al.* 1986; RICARDO DA SILVA *et al.* 1992). Les résultats obtenus ont particulièrement favorisé l'étude des propriétés médicamenteuses de ces substances (MASQUELIER *et al.* 1982; KAKEGAWA *et al.* 1985; EZAKI *et al.* 1985). Nos travaux sont les premiers à être consacrés aux procyanidols des sarments de vigne. Dans une publication précédente (BOUKHARTA *et al.* 1988), nous avons montré que ce matériel végétal était riche en procyanidols galloylés. Poursuivant l'étude approfondie des tanins condensés de *Vitis vinifera*, nous décrivons ici les méthodes de purification et d'identification des procyanidols oligomères des sarments du cépage Carignan.

Matériels et méthodes

E x t r a c t i o n : Les sarments de vigne, cépage Carignan (200 g) sont broyés en présence de neige carbonique dans un mixeur. La poudre obtenue est recouverte avec le mélange acétone - eau (7:3, v/v) puis homogénéisée. Après filtration, la poudre est à nouveau extraite avec le même solvant et l'opération est répétée cinq fois. Les différents extraits sont rassemblés puis saturés en NaCl, ce qui provoque la séparation du mélange en deux phases.

La phase supérieure, la plus riche en acétone, est évaporée sous pression réduite à une température inférieure

à 30 °C pour en éliminer l'acétone. Au cours de la concentration, on rajoute de l'eau distillée pour maintenir le volume constant. La solution aqueuse résultante est alors soumise à plusieurs extractions successives à l'éther de pétrole, à l'éther éthylique puis à l'acétate d'éthyle (5 x 1 l). Les extraits acétate d'éthyle sont réunis pour être évaporés à sec et le résidu obtenu est redissous dans un minimum de butanol tertiaire puis lyophilisé. On recueille ainsi les procyanidols oligomères (1,6 g), les tanins plus polymérisés restant dans la phase aqueuse.

F r a c t i o n n e m e n t : Les procyanidols sont soumis à un premier fractionnement sur colonne de Sephadex LH-20 (150 cm x 3,8 cm i.d.) en utilisant l'éthanol comme éluant, le débit d'élution étant réglé à 60 ml/h. Les fractions absorbant à 280 nm sont recueillies puis soumises à d'autres séparations chromatographiques afin d'isoler chaque procyanidol dans une degré de pureté suffisant pour en déterminer la structure.

P u r i f i c a t i o n - c h r o m a t o g r a p h i e préparative sur couches minces (CPCM): Le fractionnement est effectué sur couches minces de silice 60 (Merck) de 2 mm d'épaisseur avec le mélange acétone - toluène - acide formique (6:6:1, v/v) comme solvant de développement. Les bandes correspondant à chaque composé à purifier sont grattées et la silice ainsi récupérée est éluée avec du méthanol.

C h r o m a t o g r a p h i e sur Fractogel TSK HW 40 (S): La colonne (45 cm x 2,5 cm i.d.) est éluée par du méthanol

Tableau 1

Résultats de l'hydrolyse ménagée et du clivage au toluène α -thiol des différents procyanidols
Acidic hydrolysis and toluene α -thiol cleavage results of various procyanidins

Procyanidols	Hydrolyse ménagée	Clivage au toluène α -thiol	
	Sous-unités inférieures	Thiodérivés	Sous-unités supérieures
Procyanidol B1 (5)	(+) Catéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B2 (6)	(-) Epicatéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B3 (3)	(+) Catéchine	2R, 3R, 4R	(+) Catéchine
Procyanidol B4 (4)	(-) Epicatéchine	2R, 3R, 4R 2R, 3R, 4S	(+) Catéchine
Procyanidol B7 (11)	(+) Catéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B2-3'-O-gallate (14)	(-) Epicatéchine-3'-O-gallate	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol C1 (15)	(-) Epicatéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol trimère 2 (16)	(+) Catéchine Procyanidol B1	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine

Identifications chromatographiques

HPLC: Colonne (25 cm x 4 mm i.d.) Merck Licrospher RP, 5 μ m, détecteur UV à 280 nm. L'éluion est effectuée soit par un gradient d'acide acétique de 2 à 10 % (v/v) en 120 min, soit par un gradient d'acétonitrile dans de l'eau distillée acidifiée à pH 2,6 comme suit: 5 % d'acétonitrile, éluion isochratique pendant 10 min, gradient linéaire de 5 à 12 % d'acétonitrile en 20 min, 12 % d'acétonitrile avec éluion isochratique pendant 20 min, gradient linéaire de 12 à 32 % d'acétonitrile en 30 min, et de 32 à 50 % en 10 min suivi du lavage et du reconditionnement de la colonne. Dans les deux cas, le débit est réglé à 0,5 ml/min.

GC: Colonne SP 2100 (200 cm x 0,4 cm i.d.) à 3 % sur Chromosorb W.A.W. 100-120 mesh, température de l'injecteur et du détecteur à ionisation de flamme à 330 °C, température de la colonne de 180 à 320 °C à raison de 2 °C/min, silylation des composés par le bis-(triméthylsilyl) acétamide (B.S.A.) dans la pyridine anhydre.

CCM: Couches minces de silice 60 (Merck) avec comme solvant de développement le mélange toluène - acétone - acide formique (6:6:1, v/v). Couches minces de cellulose (Merck) en deux dimensions: 1ère dimension: acide acétique à 6 % (v/v), 2ème dimension: butanol-2 - acide acétique - eau (14:1:5), v/v).

Dans les deux cas, les chromatoplaques sont révélées par pulvérisation d'une solution de p-N,N' diméthylaminocinnaldéhyde à 0,3 % dans un mélange méthanol - HCl (96,5:3,5; v/v).

Résultats et discussion

Isolément des procyanidols: L'extrait acétate d'éthyle a été soumis à un premier fractionnement sur colonne de Sephadex LH-20. Le diagramme d'éluion

Tableau 2

Valeurs des R_f des différents procyanidols en CCM sur plaques de silice (A) et de cellulose [(B), (C)] et leurs temps de rétention (t_R) en HPLC analytique [(D), (E)]

R_f values on silica (A) and cellulose [(B), (C)] plates TLC and analytical HPLC [(D), (E)] retention times (t_R) of various procyanidins

Procyanidols	R_f			t_R (min)	
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)
(+) catéchine (1)	0,62	0,46	0,59	56,96	36,09
(-) épicatechine (2)	0,62	0,44	0,51	93,89	55,75
(-) épicatechine					
3-O-gallate (13)	0,48	0,41	0,73	124,02	72,82
Procyanidol B1 (5)	0,33	0,52	0,31	52,02	32,32
Procyanidol B2 (6)	0,36	0,61	0,42	76,49	48,02
Procyanidol B3 (3)	0,33	0,50	0,32	45,96	33,15
Procyanidol B4 (4)	0,34	0,56	0,33	61,42	42,02
Procyanidol B7 (11)	0,43	0,40	0,36	99,09	63,09
Procyanidol B2					
3'-O-gallate (14)	0,27	0,51	0,39	95,56	64,02
Procyanidol C1 (15)	0,20	0,50	0,33	101,76	59,62
Procyanidol trimère 2 (16)	0,20	0,53	0,28	57,02	39,15

(A): acétone - toluène - acide formique (6 : 6 : 1, v/v)

(B): acide acétique 6 % (v/v)

(C): butanol-2 - acide acétique - eau (14 : 1 : 5, v/v)

(D): gradient d'acide acétique

(E): gradient d'acétonitrile.

montre la présence de huit fractions F1, F2 ... F8 dont les abondances relatives sont respectivement de 42,2 - 23,1 - 6,2 - 11,3 - 2,8 - 7,0 - 3,4 et 3,9 % (p/p).

A partir de ces fractions grossières, l'isolement des procyanidols a nécessité l'emploi combiné de différentes méthodes de purification (chromatographie sur fractogel, CPCM, HPLC semi-préparative) comme schématisé sur la Fig. 1. On obtient de cette manière onze procyanidols dans un état de pureté suffisante pour permettre leur identification.

Hydrolyses des procyanidols purifiés: Une manière commode d'établir la structure des procyanidols consiste à identifier les monomères constitutifs obtenus après différentes hydrolyses plus ou moins dénaturantes.

Hydrolyse acide (Fig. 2): L'hydrolyse des procyanidols à l'aide d'HCl en milieu alcoolique (BATE-SMITH 1973; PORTER *et al.* 1986), renseigne sur le degré d'hydroxylation des noyaux B des sous-unités flavanes autres que l'unité terminale. En effet, la coupure de la liaison interflavane catalysée par l'acide, suivi d'une autoxydation conduit à la formation d'anthocyanidols. Ces derniers sont identifiés par CCM comparativement à des témoins commerciaux.

Hydrolyse ménagée (Fig. 2): Il s'agit d'une hydrolyse douce qui permet de rompre les liaisons interflavanes et

Tableau 1

Résultats de l'hydrolyse ménagée et du clivage au toluène α -thiol des différents procyanidols
Acidic hydrolysis and toluene α -thiol cleavage results of various procyanidins

Procyanidols	Hydrolyse ménagée	Clivage au toluène α -thiol	
	Sous-unités inférieures	Thiodérivés	Sous-unités supérieures
Procyanidol B1 (5)	(+) Catéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B2 (6)	(-) Epicatéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B3 (3)	(+) Catéchine	2R, 3R, 4R	(+) Catéchine
Procyanidol B4 (4)	(-) Epicatéchine	2R, 3R, 4R	(+) Catéchine
		2R, 3R, 4S	
Procyanidol B7 (11)	(+) Catéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol B2-3'-O-gallate (14)	(-) Epicatéchine-3'-O-gallate	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol C1 (15)	(-) Epicatéchine	2R, 3S, 4R	(-) Epicatéchine
Procyanidol trimère 2 (16)	Procyanidol B2	2R, 3S, 4R	(+) Epicatéchine
	Procyanidol B1		

Identifications chromatographiques

HPLC: Colonne (25 cm x 4 mm i.d.) Merck Licrospher RP, 5 μ m, détecteur UV à 280 nm. L'éluion est effectuée soit par un gradient d'acide acétique de 2 à 10 % (v/v) en 120 min, soit par un gradient d'acétonitrile dans de l'eau distillée acidifiée à pH 2,6 comme suit: 5 % d'acétonitrile, éluion isochratique pendant 10 min, gradient linéaire de 5 à 12 % d'acétonitrile en 20 min, 12 % d'acétonitrile avec éluion isochratique pendant 20 min, gradient linéaire de 12 à 32 % d'acétonitrile en 30 min, et de 32 à 50 % en 10 min suivi du lavage et du reconditionnement de la colonne. Dans les deux cas, le débit est réglé à 0,5 ml/min.

GC: Colonne SP 2100 (200 cm x 0,4 cm i.d.) à 3 % sur Chromosorb W.A.W. 100-120 mesh, température de l'injecteur et du détecteur à ionisation de flamme à 330 °C, température de la colonne de 180 à 320 °C à raison de 2 °C/min, silylation des composés par le bis-(triméthylsilyl) acétamide (B.S.A.) dans la pyridine anhydre.

CCM: Couches minces de silice 60 (Merck) avec comme solvant de développement le mélange toluène - acétone - acide formique (6:6:1, v/v). Couches minces de cellulose (Merck) en deux dimensions: 1ère dimension: acide acétique à 6 % (v/v), 2ème dimension: butanol-2 - acide acétique - eau (14:1:5), v/v).

Dans les deux cas, les chromatoplaques sont révélées par pulvérisation d'une solution de p-N,N' diméthylaminocinnaldéhyde à 0,3 % dans un mélange méthanol - HCl (96,5:3,5; v/v).

Résultats et discussion

Isolément des procyanidols: L'extrait acétate d'éthyle a été soumis à un premier fractionnement sur colonne de Sephadex LH-20. Le diagramme d'éluion

Tableau 2

Valeurs des R_f des différents procyanidols en CCM sur plaques de silice (A) et de cellulose [(B), (C)] et leurs temps de rétention (t_R) en HPLC analytique [(D), (E)]

R_f values on silica (A) and cellulose [(B), (C)] plates TLC and analytical HPLC [(D), (E)] retention times (t_R) of various procyanidins

Procyanidols	R_f			t_R (min)	
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)
(+) catéchine (1)	0,62	0,46	0,59	56,96	36,09
(-) épicatechine (2)	0,62	0,44	0,51	93,89	55,75
(-) épicatechine					
3-O-gallate (13)	0,48	0,41	0,73	124,02	72,82
Procyanidol B1 (5)	0,33	0,52	0,31	52,02	32,32
Procyanidol B2 (6)	0,36	0,61	0,42	76,49	48,02
Procyanidol B3 (3)	0,33	0,50	0,32	45,96	33,15
Procyanidol B4 (4)	0,34	0,56	0,33	61,42	42,02
Procyanidol B7 (11)	0,43	0,40	0,36	99,09	63,09
Procyanidol B2					
3'-O-gallate (14)	0,27	0,51	0,39	95,56	64,02
Procyanidol C1 (15)	0,20	0,50	0,33	101,76	59,62
Procyanidol trimère 2 (16)	0,20	0,53	0,28	57,02	39,15

(A): acétone - toluène - acide formique (6 : 6 : 1, v/v)

(B): acide acétique 6 % (v/v)

(C): butanol-2 - acide acétique - eau (14 : 1 : 5, v/v)

(D): gradient d'acide acétique

(E): gradient d'acétonitrile.

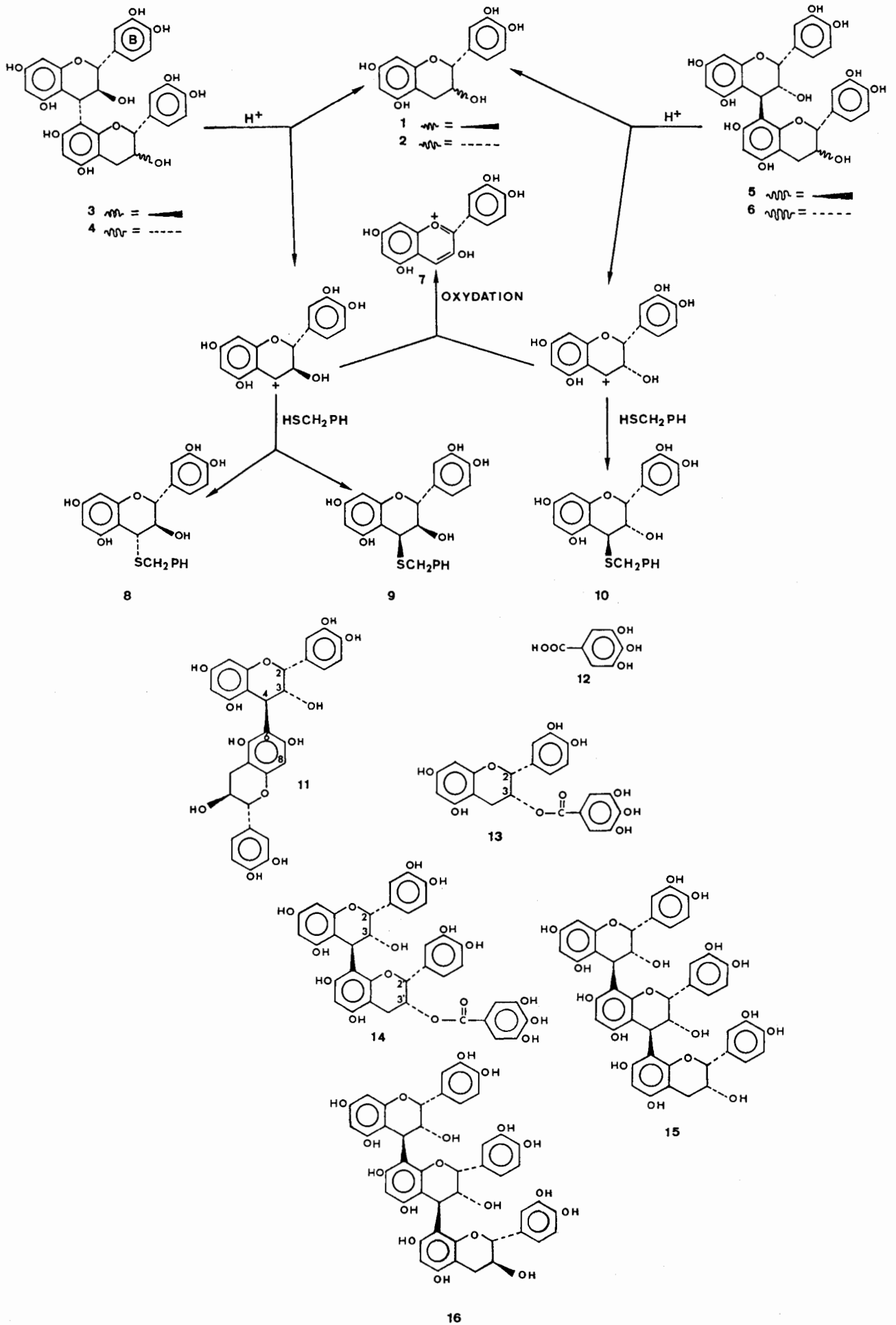
montre la présence de huit fractions F1, F2 ... F8 dont les abondances relatives sont respectivement de 42,2 - 23,1 - 6,2 - 11,3 - 2,8 - 7,0 - 3,4 et 3,9 % (p/p).

A partir de ces fractions grossières, l'isolement des procyanidols a nécessité l'emploi combiné de différentes méthodes de purification (chromatographie sur fractogel, CPCM, HPLC semi-préparative) comme schématisé sur la Fig. 1. On obtient de cette manière onze procyanidols dans un état de pureté suffisante pour permettre leur identification.

Hydrolyses des procyanidols purifiés: Une manière commode d'établir la structure des procyanidols consiste à identifier les monomères constitutifs obtenus après différentes hydrolyses plus ou moins dénaturantes.

Hydrolyse acide (Fig. 2): L'hydrolyse des procyanidols à l'aide d'HCl en milieu alcoolique (BATE-SMITH 1973; PORTER *et al.* 1986), renseigne sur le degré d'hydroxylation des noyaux B des sous-unités flavanes autres que l'unité terminale. En effet, la coupure de la liaison interflavane catalysée par l'acide, suivi d'une autoxydation conduit à la formation d'anthocyanidols. Ces derniers sont identifiés par CCM comparativement à des témoins commerciaux.

Hydrolyse ménagée (Fig. 2): Il s'agit d'une hydrolyse douce qui permet de rompre les liaisons interflavanes et



d'identifier les sous-unités inférieures par CCM et par HPLC (TOMPSON *et al.* 1972; ARIGA *et al.* 1981). Ainsi, à partir d'un dimère, on obtient le dimère non hydrolysé en même temps que la sous-unité flavane inférieure, tandis que pour un trimère, on repère outre le trimère non hydrolysé, le dimère correspondant aux deux sous-unités inférieures et la sous-unité flavane inférieure.

Hydrolyse en présence de toluène α -thiol (Fig. 2): L'hydrolyse des procyanidols en milieu acétique conduit à la rupture de la liaison interflavane. On obtient la sous-unité flavane inférieure non modifiée et des 4-flavanil-carbocations correspondant aux sous-unités flavanes supérieures. Ces intermédiaires peuvent être piégés par un nucléophile tel que le toluène α -thiol pour donner des flavanils 4-benzyl thio-éther (TOMPSON *et al.* 1972; GUPTA et HASLAM 1978; HEMINGWAY et MCGRAW 1983).

L'étude de la structure des procyanidols consiste en l'identification des sous-unités flavanes supérieures sous forme de triméthylsilyl flavanyl 4-benzyl thioéther par GC (CZOCHANSKA *et al.* 1980). Le flavanol-3 correspondant à la sous-unité flavane inférieure peut être également identifié par cette méthode [(+)catéchine (1) ($t_r = 30,61$ min); (-)épicatéchine (2) ($t_r = 29,72$ min)].

Pour les sous-unités flavanes supérieures de type 2R, 3R [(-)épicatéchine] (2), on obtient un seul thiodérivé (2R, 3S, 4R)-4-(benzyl thio) flavane 3, 3',4', 5, 7 pentaol (10) ($t_r = 46,70$ min); par contre, pour les sous-unités flavanes supérieures de type 2R, 3S [(+)catéchine] (1), on obtient deux thiodérivés isomères (2R, 3R, 4R)-4-(benzyl thio) flavane 3, 3',4',5,7 pentaol (8) ($t_r = 43,68$ min) et (2R, 3R, 4S)-4-(benzyl thio) flavane 3, 3', 4', 5, 7 pentaol (9) ($t_r = 47,84$ min) dans le rapport 1/2.

Structure des procyanidols: Les monomères [(+)catéchine (1) et (-)épicatéchine (2)] ainsi que l'acide gallique (12) sont identifiés par CCM, par GC et par HPLC comparativement à des témoins commerciaux.

L'hydrolyse en milieu éthanol - HCl des procyanidols dimères et trimères isolés dans cette étude, conduit dans tous les cas à la formation du cyanidol (7), ce qui montre

Fig. 2: Hydrolyse acide des procyanidols dimères en présence et en absence de toluène α -thiol (HS CH₂PH) et structure des autres procyanidols identifiés dans les sarments de vigne. 1: (+)catéchine; 2: (-)épicatéchine; 3: Procyanidol B3: [catéchine (4 α ->8) catéchine]; 4: Procyanidol B4: [catéchine (4 α ->8) épicatéchine]; 5: Procyanidol B1: [épicatéchine (4 β ->8) catéchine]; 6: Procyanidol B2: [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine]; 7: Cyanidine; 8: (2R, 3R, 4R)-4-(benzyl thio) flavane 3,3',4',5,7 pentaol; 9: (2R, 3R, 4S)-4-(benzyl thio) flavane 3,3',4',5,7 pentaol; 10: (2R, 3S, 4R)-4-(benzyl thio) flavane 3,3',4',5,7 pentaol; 11: Procyanidol B7: [épicatéchine (4 β ->6) catéchine]; 12: Acide gallique; 13: (-)épicatéchine-3-O-gallate; 14: Procyanidol B2-3'-O-gallate: [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine-3-O-gallate]; 15: Procyanidol C1: [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine]; 16: Procyanidol trimère 2: [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine (4 β ->8) catéchine].

Acid hydrolysis of dimeric procyanidins in the presence or absence of toluene α -thiol (HS CH₂PH) and structure of other procyanidins identified in vine shoots.

que toutes les sous-unités flavanes supérieures mais aussi intermédiaires sont des tetrahydroxyflavanols-3.

L'hydrolyse enzymatique de la (-)épicatéchine-3-O-gallate (13) fournit l'acide gallique (12) et la (-)épicatéchine (2), tandis que le procyanidol B2-3'-O-gallate (14) conduit à la formation de l'acide gallique (12) et du procyanidol B2 (6). La libération de la (-)épicatéchine-3-O-gallate (13) lors de l'hydrolyse ménagée du procyanidol B2-3'-O-gallate (14) (Tab. 1) montre la fragilité de la liaison C-C interflavane. Cette dernière est hydrolysée avant la liaison ester. La position du groupement galloyl sur la sous-unité flavane a été déterminée par ¹H RMN (BOUKHARTA *et al.* 1988).

Tab. 2 résume les caractéristiques chromatographiques (R_f et t_r) des différents procyanidols. On observe que, dans le solvant toluène - acétone - acide formique, le procyanidol B7 présente un $R_f(0,43)$ élevé par rapport aux procyanidols B1, B2, B3, et B4 (R_f compris entre 0,33 et 0,36) ce qui est caractéristique des procyanidols dimères dont la liaison interflavane est de type C4-C6.

Ces caractéristiques chromatographiques ainsi que les résultats des différentes hydrolyses (Tab. 1), ont permis d'établir les structures des différents procyanidols isolés et purifiés à partir des sarments de vigne. Il s'agit du procyanidol B1 ou [épicatéchine (4 β ->8) catéchine] (5), du procyanidol B2 ou [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine] (6), du procyanidol B3 ou [catéchine (4 α ->8) catéchine] (3), du procyanidol B4 ou [catéchine (4 α ->8) épicatéchine] (4), du procyanidol B7 ou [épicatéchine (4 β ->6)catéchine] (11), du procyanidol C1 ou [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine] (15), du procyanidol trimère 2 ou [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine (4 β ->8) catéchine] (16), de la (-)épicatéchine-3-O-gallate (13), du procyanidol B2-3'-O-gallate ou [épicatéchine (4 β ->8) épicatéchine-3-O-gallate] (14) ainsi que de la (+)catéchine (1) et de la (-)épicatéchine (2).

La présence de ces mêmes procyanidols a été signalée dans les baies de raisin (pellicules et pépins) et dans les vins de différents cépages (CZOCHANSKA *et al.* 1979a; LEA *et al.* 1979; BOURZEIX *et al.* 1986; ROMEYER *et al.* 1986; KOVAC *et al.* 1990; RICARDO DA SILVA *et al.* 1992). Ce qui nous permet d'observer une grande similitude dans la composition en procyanidols des baies de raisin et des sarments de vigne; toutefois une étude sur des sarments provenant d'autres cépages permettrait de confirmer cette observation.

Références bibliographiques

- ARIGA, T.; ASAO, Y.; SUGIMOTO, H.; YOKOTSUKA, T.; 1981: Occurrence of astringent oligomeric proanthocyanidins in legume seeds. *Agricult. Biol. Chem.* **45**, 2705-2708.
- BATE-SMITH, E. C.; 1973: Tannins of herbaceous Leguminosae. *Phytochemistry* **12**, 1809-1812.
- BOUKHARTA, M.; GIRARDIN, M.; METCHE, M.; 1988: Procyanidines galloylées du sarment de vigne *Vitis vinifera*: Séparation et identification par chromatographie liquide haute performance et chromatographie en phase gazeuse. *J. Chromatogr.* **455**, 406-409.
- BOURZEIX, M.; WEYLAND, D.; HEREDIA, N.; 1986: Etude des catéchines et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres dérivés de la vigne. *Bull. O.I.V.* **59**, 1171-1254.

- CZUCHANSKA, Z.; FOO, L. Y.; PORTER, L. J.; 1979: Compositional changes in lower molecular weight flavans during grape maturation. *Phytochemistry* **18**, 1819-1822.
- ; --; NEWMAN, R. H.; PORTER, L. J.; 1980: Polymeric proanthocyanidins stereochemistry, structural units, and molecular weight. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 2278-2286.
- EZAKI, N.; KATO, M.; TAKIZAWA, N.; MORIMOTO, S.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I.; 1985: Pharmacological studies on *Linderae umbellatae ramus*. IV. Effects of condensed tannins in related compounds on peptic activity and stress-induced gastric lesions in mice. *Planta Med.* **1**, 34-38.
- GUPTA, S.; HASLAM, E.; 1978: Plant proanthocyanidins. Part 5. Sorghum polyphenols. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 892-896.
- HEMINGWAY, R. W.; MCGRAW, G. W.; 1983: Kinetic of acid-catalyzed cleavage of procyanidins. *J. Wood Chem. Technol.* **3**, 421-435.
- KAKEGAWA, H.; MATSUMOTO, H.; ENDO, K.; SATOH, T.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I.; 1985: Inhibitory effects of tannins on hyaluronidase activation and on the degranulation from rat mesentery mast cells. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 5079-5082.
- KOVAC, V.; BOURZEIX, M.; HEREDIA, N.; RAMOS, T.; 1990: Etude des catéchines et proanthocyanidols de raisin et vins blancs. *Rev. Franç. Oenol. (Cahier Scientifique)* **30** (125), 7-14.
- LEA, A. G. H.; BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.; SINGLETON, V. L.; 1979: The procyanidins of white grapes and wines. *Amer. J. Enol. Viticult.* **30**, 289-300.
- MASQUELIER, J.; 1992: La vigne, plante médicinale. Naissance et essor d'une thérapeutique. *Bull. O.I.V.* **65**, 177-196.
- PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G.; 1986: The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry* **25**, 223-230.
- RICARDO-DA-SILVA, J. M.; ROSEC, J. P.; BOURZEIX, M.; MOURGUES, J.; MOUTOUNET, M.; 1992: Dimer and trimer procyanidins in Carignan and Mourvèdre grapes and red wines. *Vitis* **31**, 55-63.
- ROMEYER, F. M.; MACHEIX, J. J.; SAPIJ, J. C.; 1986: Changes and importance of oligomeric procyanidins during maturation of grape seeds. *Phytochemistry* **25**, 219-221.
- TOMPSON, R. S.; JACQUES, D.; HASLAM, E.; TANNER, R. J. N.; 1972: Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction; the isolation, structure and distribution in nature of plant procyanidins. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1387-1399.

Reçu le 28 Avril, 1993