

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel, Faculté des Sciences

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



Mémoire

*De fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en
biologie moléculaire et cellulaire.*

(D.E.S)

Option: Biochimie

Thème

Biologie et pharmacologie des polyphénols,

Cas de : Quercétine et rutine

Membres de jury:

- ✓ *Encadreur : M. Kebièche Mohammed*
- ✓ *Examinatrice : M^{lle}. Benguedouar Lamia*

Réalisé par:

- ✓ *Djeha Nedjla*
- ✓ *Hameurlaine Fatiha*
- ✓ *Khelfat Sara*

Promotion : Juin 2008

Remerciement

Nous commençons par remercier Dieu de nous avoir donné le courage et la volonté pour mener ce travail à terme.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à notre encadreur : Mr. Kebieche Mohammed de nous avoir accueilli dans son bureau, pour sa gentillesse et sa disponibilité, ses compétences et son efficacité ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

Nous aimerons remercier Monsieur : Dr. Lahouel Mesbah, M^{elle}. Boussenane Hanane pour leurs aides et précieux conseils.

Nous n'oublions pas Monsieur Hameurlaine Samir de l'Université d'OUARGLA pour son aide et son intervention dans notre travail.

Nous remercions tous les étudiants qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail en particulier ceux de l'option biochimie.

Nous tenons à exprimer nos remerciements pour l'examinatrice M^{elle} Benguedouar Lamia d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail. Une pensée pour tous nos amis qui nous ont soutenu au cours de ces années.

Finalement, toutes nos gratitude vont à nos parents qui n'ont jamais douté de nous et qui nous ont encouragé tout au long de nos études, à nos frères et sœurs pour leur patience et leur soutien pendant cette longue et pénible épreuve que représente ce mémoire.

Sommaire

	Pages
Introduction	
Chapitre I : Biologie des polyphénols	
1-Définition des polyphénols	01
2-Structure générale des polyphénol	01
3-Rôle biologique des polyphénols	01
4-Biosynthèse des polyphénols	03
4-1. Voie de shikimate	03
4-2. Voie de l'acétate-malonate	03
4-3. Voie d'origine mixte	04
5- Les grandes classes des polyphénols	05
5-1. Phénols simples	05
5-1-1 Définition	05
5-1-2 Structure chimique	05
5-1-3 Classification	05
5-1-4 Biosynthèse des acides phénoliques	06
5-2. Flavonoïdes	07
5-2-1. Définition	07
5-2-2. Structure	07
5-2-3. Classification	08
5-2-4. biosynthèse	08
5-3. Tannins	10
5-3-1. Définition	10
5-3-2. Constitution chimique et classification	10
A - Tanins hydrolysables	10
× Définition	10
× Structure	10
B - Tannins condensés	11
× Définition	11
× Structure	12
5-3-3. Biosynthèse	12
5-4. Lignines	15
5-4-1. Définition	15
5-4-2. Structure	15
5-4-3 Biosynthèse	16
5-5. Formes liés à des macromolécules non phénoliques	17
6- Distribution et localisation	17
6-1. Concentration	18
6-2. Localisation et repartition	18
7- Propriétés chimiques	19
a. propriétés redox	19
b. les propriétés de complexation	20
× Complexation métallique	20

☞ Complexation moléculaire.....	20
✓Complexation polyphénol-polyphénol	20
✓Complexation polyphénol-polysaccharide	20
✓Complexation polyphénol-protéine	22
c. Propriétés organoleptiques	23
d. D'autres propriétés spécifiques de quelques classes	23
8-Utilisation des polyphénols	24

Chapitre II: Activités biochimiques et pharmacologiques des polyphénols

1- pharmacologie des polyphénols	25
1-1. Consommation journalière de polyphénols	25
1-2. Biodisponibilité des polyphénols	25
1-3. Absorption intestinale et métabolisme	26
1-4. Rôle de la microflore colique	27
1-5. Conjugaisons et nature des métabolites	27
1-6. Transport dans le plasma et passage dans les membranes	28
1-7. Concentrations plasmatiques	29
1-8. Biodisponibilité tissulaire.....	29
1-9.Elimination	30
2- Effets biologiques des métabolites de polyphénols	30
3- Propriétés pharmacologiques des polyphénols	31
3-1. L'effet antioxydant	32
3-2. Effet protecteur contre les maladies Cardiovasculaires.....	33
✓ Inhibition de l'oxydation des LDL	33
✓ Effets vasodilatateurs	35
✓ Effets Anti-thrombotique	36
3-3. Effet anti-apoptotique	36
3-4. Effet neuroprotecteur	37
3-5. Effet sur les maladies hormono-dépendantes	37
3-6. Effets antimicrobiens	37
3-7. Effets Antiallergiques	38
3-8. Effets Anticancéreuse.....	38
3-9. L'effet inhibiteur de la prolifération cellulaire.....	39
3-10. Effet antidiabétique.....	40

Chapitre III: Etude biologique et pharmacologique de la quercétine, rutine

1- La quercétine.....	41
1-1. Définition	41
1-2. Structure chimique	41
1-3. Sources alimentaires	41
2- Rutine.....	42
2-1. Définition et structure chimique	42
2-2. Sources alimentaires	42
2-3. Propriété physicochimique	43
3- Biodisponibilité de la quercétine et la rutine	43
4- Propriétés pharmacologiques	43

4-1. Effet antioxydant	43
Quercétine	44
Rutine	44
4-2. Effets anti-inflammatoires	44
Quercétine	45
Rutine	45
4-3. Effet antiallergique	45
Quercétine	45
Rutine	46
4-5. Effets anti-ulcèreux de la quercétine	46
4-6. Effet anticancéreux de la quercétine	46
4-7. Effet antispasmodique de la quercétine	46
4-8. Effet antithrombotique de la quercétine	46
4-9. Effet antivariéux de la quercétine	47
4-10. Effet de la rutine dans le traitement des maladies de l'œil	47
Conclusion	48

Abréviation

- ADN: Acide désoxyribonucléique.
- AGPI: Acides gras polyinsaturés.
- AIA-oxydase: Acide β - indolyl acétique oxydase.
- Akt: Protéine kinase B.
- ATPase: Adénosine triphosphatase.
- ATP: Adénosine triphosphate.
- AVC: Accident vasculaire cérébrale.
- Ca^{2+}/CaM : Complexe calcium-calmoduline.
- Ca^{2+} : Calcium.
- EDHF: Endothelium derived hyperpolarizing factor.
- EGCG: Epigallocatechine gallate.
- eNOS : Monoxyde d'azote synthase endothéliale.
- EOR: Espèces oxygénés réactives.
- G1: « G » pour « gap » ou « growth » : C'est la première phase de la croissance cellulaire.
- G2: C'est la seconde phase de la croissance cellulaire.
- GCs: Guanylyl cyclase soluble.
- GTP: Guanosine Tr-Phosphate.
- H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.
- HIV: Human Immunodeficiency virus.
- IgE: Immunoglobuline de fraction (ϵ).
- IgG: Immunoglobuline de fraction (γ).
- IL_{10} : Interleukin 10.
- LDL : Low Density Lipoprotein.
- M : Métaphase.
- MAP: Mitogen- Activated protein.
- MPC-1: Adénosine- 5'-monophosphate cyclique.
- NADPH: Nicotinamide adénine nucléotide phosphate.
- NO : Monoxyde d'azote.
- O_2 : Oxygène moléculaire.
- $OH \cdot$: Radical hydroxyl.
- PAF: Platelet Activating Factor.
- PDK1: Protéine kinase 1 dépendante des phosphoinositides.
- PI3K: PI3-kinase.
- PIP2: Phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphates.
- PIP3: Phosphatidylinositol-3, 4, 5-trisphosphates.
- POD : La peroxydase.
- PPO: La polyphénoloxydase
- $ROO \cdot$: Radical peroxy lipidique.
- ROOH : Hydroperoxyde lipidique (forme réduite).
- ROS : Surproduction de radicaux oxygénés.
- S : « s » pour synthèse de l'ADN, c'est la phase correspondante à leur répllication.
- $TNF \alpha$: Tumor necrosis factor α .
- $TNF \beta$: Tumor necrosis factor β 1.
- UGP : UDP- glucuronosyltransférase

Glossaire

- **Alcaloïdes:** Substances azotées d'origine végétale aux propriétés thérapeutiques ou toxiques.
- **Alzheimer:** Affection neurologique chronique d'évolution progressive, caractérisée par une altération intellectuelle irréversible aboutissant à un état démentiel.
- **Astringent:** substance qui assèche et resserre les tissus
- **Athérosclérose:** Maladie dégénérative de l'artère y a son origine la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique) sur sa paroi.
- **Cellules Caco2:** Les cellules Caco-2 sont des cellules qui se différencient spontanément, en culture, en cellules intestinales polarisées, possédant à son pôle apical une bordure en brosse (entérocytes) et des jonctions serrées avec les cellules adjacentes. Elles expriment également des transporteurs à leur surface. Elles sont issues du côlon humain, et sont bien adaptées pour l'étude de la différenciation intestinale mais aussi pour le transport et le passage des composés.
- **Cellule HepG2 :** C'est une lignée d'origine humaine, constitue une approche intéressante car ces cellules ont conservé la plupart des fonctions des hépatocytes humaines, et ont retenu notamment les enzymes de phase I et II impliquées dans les processus d'activation et de détoxification des xénobiotiques. C'est l'un des modèles cellulaires possédant une meilleure capacité de métabolisation.
- **Entérocyte:** La cellule la plus répandue de la muqueuse de l'intestin grêle, elle est caractérisée par un renouvellement cellulaire rapide et par son importante fonction d'absorption.
- **Entérodiol et entérolactone :** L'entérodiol et son produit d'oxydation, l'entérolactone, sont produits dans le tractus intestinal suite à l'action bactérienne sur les lignanes et les isoflavones (des œstrogènes) des plantes par conversion. Ils constituent leurs composés actifs dans l'organisme.
- **Isoquercitrine :** Quercétine-3-O-glucoside.
- **Lignanes :** Ce sont des composés phénoliques dimériques, ils constituent une classe importante de métabolites secondaires dans le règne végétal, ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes: les racines, les feuilles, les fruits et les graines.
- **Microrrays :** Le microrray d'ADN est une technique innovatrice pour obtenir des informations sur la fonction des gènes.
- **Phytoestrogènes :** Ce sont des produits naturels intervenant dans notre alimentation et qui peuvent avoir à la fois des bénéfices et des effets préjudiciables, comme les flavonoïdes, isoflavonoïdes, coumestanes , lignanes, etc.
- **Quinone :** Les quinones constituent une série de diènes plutôt que des composés aromatiques comportant un noyau de benzène sur lequel deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux oxygènes formant deux liaisons carbonyles (dicétones éthyléniques conjuguées cycliques).
- **Réactif de Neu :** C'est le 2-aminoéthyl-diphénylborate de sodium à 1% dans le méthanol, utilisé pour la révélation des flavonoïdes et des dérivés de l'acide caféique.
- **Réaction de Claisen :** Réaction de condensation de l'acétylacétique d'ester c'est-à-dire : La condensation de l'acétyl CoA avec l'acéto-acétyl CoA.
- **Thrombose :** Phénomène pathologique concernant la formation d'un thrombus dans une artère ou une veine.

Thrombus : Caillot sanguin formé dans un vaisseau (artère, veine) provoquant une thrombose, formé de fibrine de globule blanc et de plaquette.

- **Turn-over:** C'est un phénomène pseudo-équilibre c'est-à-dire : un équilibre n'est qu'apparent entre le catabolisme et l'anabolisme cellulaire, il est obtenu grâce au renouvellement permanent de la majorité des composants cellulaires.
- **Voie PI3-kinase/Akt:** Une autre voie d'activation de la NO synthase endothéliale a récemment été démontrée. Elle est indépendante du calcium et fait intervenir la voie phosphoinositide-3 kinase (PI3-kinase)/Akt aboutissant à la phosphorylation de la NO synthase sur le résidu sérine 1177.

Liste des illustrations

▪ Figure 1 : La structure chimique du phénol.....	1
▪ Figure 2: la voie Shikimate de la biosynthèse des polyphénols.....	4
▪ Figure 3 : Structure de l'acide phénolique.....	5
▪ Figure 4 : Structure des principaux acides phénoliques.....	6
▪ Figure 5 : Biosynthèse de quelques acides phénoliques.....	7
▪ Figure 6 : Motif flavane (a) et flavone (b) et numérotation systématique.....	7
▪ Figure 7 : Les diverses sous classes des flavonoïdes.....	8
▪ Figure 8 : La voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	9
▪ Figure 9 : Structure des tannins hydrolysables et des acides associés.....	11
▪ Figure 10 : Structure des tanins condensés.....	12
▪ Figure 11 : La voie de synthèse des tanins.....	13
▪ Figure 12: La synthèse des gallotanins et ellagitanin à partir du pentagalloylglucose.....	14
▪ Figure 13 : Structure des précurseurs de la lignine.....	15
▪ Figure 14 : Représentation schématique de la lignine.....	16
▪ Figure 15: Structure des précurseurs des lignines (les monolignols) et des unités correspondantes constitutives des lignines.....	17
▪ Figure 16: Propriétés réductrices des polyphénols.....	19
▪ Figure 17 : Equilibre acido-basique du phénol.....	19
▪ Figure 18: Représentation schématique de l'encapsulation d'un polyphénol par les Polysaccharides.....	21
▪ Figure 19 : Schéma des liaisons possibles entre les polysaccharides pariétaux et la lignine (pontage férulique des polymères pariétaux spécifique des graminées).....	21
▪ Figure 20: Modèle pour l'interaction protéines-polyphénols.....	22
▪ Figure 21 : Schéma de la biodisponibilité des polyphénols.....	26
▪ Figure 22. Mécanisme de la peroxydation lipidique.....	34

- **Figure 23:** Les composés polyphénoliques du vin rouge stimulent la formation endothéliale de NO dans les artères.....36
- **Figure 24 :** Les différents niveaux d'action de l'EGCG.....39
- **Figure 25:** structure de la quercétine.....41
- **Figure 26:** La structure de la quercétine-3-O- β -rutinoside..... 42

Tableaux

- **Tableau 1:** La teneur en composés phénoliques de quelques végétaux utilisés ou consommés par l'homme.....18
- **Tableau 2:** Activité biologique des polyphénols.....32

A travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (Lhuillier, 2007).

Les plantes produisent des molécules qui ont été appelées « métabolites secondaires » car leur rôle n'avait pas été immédiatement compris (Pascal, 2002). Ils dérivent d'intermédiaires biosynthétiques du métabolisme primaire. Ces métabolites secondaires sont, soit des produits terminaux ou de déchets du métabolisme, soit des substances de réserve manifestant une mobilisation réorientée (Richter, 1993). Certains d'entre eux sont largement répandus, la plupart sont typiquement présents dans des espèces ou dans des groupes taxonomiques particuliers. Les métabolites secondaires n'ont pas de rôle connu dans l'assimilation des nutriments ni dans la croissance et le développement d'un organisme (Hopkins, 2003), mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al, 2005). Ces métabolites secondaires peuvent être classés en quatre grandes catégories: les composés aromatiques, les terpènes, les alcaloïdes et les hétérosides (Guignard et al, 1985).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui ont été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels.

Les polyphénols présentent une très grande diversité de structures chimiques. Plusieurs centaines de molécules ont été identifiées dans les aliments, réparties en plusieurs classes : on peut citer parmi les plus importantes les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, et les lignines. En tant qu'antioxydants, ils sont capables de piéger les radicaux libres qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ingérés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires contre le stress oxydant. Ils préviendraient ainsi les diverses maladies chroniques associées, telles que certains cancers, les maladies cardio-vasculaires ou l'ostéoporose (Deville et al., 2008).

En 1936, le groupe des flavonoïdes est déclaré en parallèle avec la découverte de la vitamine C par A. Szent-Gyorgi. Il a pu démontrer que les agrumes renferment, outre l'acide ascorbique (vitamine C), un autre facteur responsable de la résistance capillaire. Ce second facteur fut isolé de l'écorce de citron sous le nom de citrine en 1937 et dénommé vitamine P ou vitamine de perméabilité. Cette notion de vitamine P n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines. D'autres auteurs parlent de facteur C1 (acide ascorbique) et de facteur C2 (noyau carboné de la flavone commun à tous les flavonoïdes) (Milane, 2004).

En 1976, Seguin utilise le mot 'tannins' pour décrire les extraits végétaux qui permettent la transformation de peaux animale en cuir stable (Salunkhe, 1990). En 1980, Le terme polyphénol a été introduit, en remplaçant le terme ancien de tanin végétal (vegetable tannin). Enfin, quelques années plus tard, les progrès de la biochimie permettaient de décrire leur structure moléculaire.

A la lumière de ce qui a été documenté sur ces substances phytochimiques, très diverses, et dans le but d'investir ce grand groupe polyphénolique tant sur le plan biologique que sur le plan pharmacologique, nous avons suggéré ce travail bibliographique qui se présentera comme suit :

- ↳ Dans le premier chapitre, nous donnons un aperçu général sur les composés phénoliques, notamment, leurs principales classes, en présentant leurs différentes structures chimiques, leurs biosynthèses ainsi que leurs intérêts biologiques chez la plante et leurs utilisations.
- ↳ Le deuxième chapitre est consacré à la pharmacologie des polyphénols, incluant également leurs propriétés pharmacologiques et thérapeutiques.
- ↳ Le troisième chapitre est réservé à l'étude de deux molécules appartenant à la famille des polyphénols. Il s'agit de la quercétine et la rutine.

Chapitre I

Biologie des polyphénols

1- Définition des polyphénols

Le terme «polyphénol» est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisations pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux, dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Macheix et al., 2005). Ce sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide et ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont, les flavonoïdes et les tannins (Boizot & Charpenter, 2006).

2- Structure générale des polyphénols

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique (fig.1), et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants (Salunkhe, 1990). Ils constituent l'un des groupes chimiques les plus nombreux et les plus répandus parmi le règne végétal, avec plus de 8000 structures connues actuellement.

Les phénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques à des composés les plus généralement décrits ont un poids moléculaire d'environ 5000 DA. Cependant des polymères de plus de 30000 DA ont déjà été décrits (Bravo, 1998).

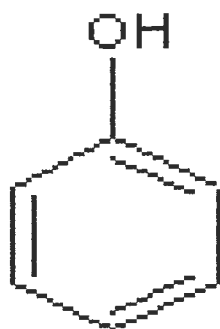


Fig.1: La structure chimique du phénol
(Manchado & Cheynier, 2006).

3- Rôles biologiques des polyphénols

L'intégration du métabolisme phénolique dans le programme général de développement d'un organe végétal pose en elle-même la question d'un rôle éventuel de ces substances. Des travaux (Alibert et al., 1977) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Deux effets opposés sont signalés dans la croissance cellulaire : stimulation et inhibition.

- L'effet stimulateur, observé pour les o- diphénol et p-diphénol, s'expliquerait par l'inhibition qu'exercent leurs formes quinoniques sur l'AIA-oxydase (acide β - indolyl acétique oxydase) qui est l'un des enzymes responsables de la destruction catabolique des polyphénols.

- alors que l'effet inhibiteur serait dû aux monophénols et m-diphénols qui ne s'oxydent pas facilement et qui, eux, stimulent l'activité de l'AIA-oxydase (Brzozowska & Hanower, 1978).

Le rôle des polyphénols dans le processus de la germination n'est pas non plus très clair. L'action inhibitrice de certains d'entre eux, en particulier des coumarines, a été démontré par de nombreux auteurs. Par élimination ou destruction partielle des composés Phénoliques tégumentaires on a pu obtenir une meilleure germination (Come, 1970). Il a été signalé aussi le cas où le même composé (l'acide p-oxyphénylacétique) peut, suivant la concentration, soit stimuler, soit inhiber la germination (Fujii et al., 1968).

Le rôle des polyphénols en tant qu'inhibiteur des enzymes (Hanower & Brzozowska, 1973) est en rapport avec leur capacité de former des complexes avec les protéines. Des ponts d'hydrogène stables se constituent entre l'oxy-groupement phénolique lié à l'oxygène carbonyle et la liaison peptidique. Une telle inactivation est partiellement réversible et présente souvent un caractère non spécifique (Strumeyer & Malin, 1969). Selon certains auteurs (Weinbach & Garbus, 1965), la liaison des composés phénoliques avec les protéines s'accompagne de modifications dans la configuration des protéines enzymatiques. C'est ainsi, les polyphénols naturels pourraient jouer un rôle de régulateurs allostériques dans les processus enzymatiques qui se déroulent dans la cellule végétale. Une étude récente fait apparaître un nouvel aspect de l'interaction polyphénols -protéines : une régulation possible de la protéosynthèse par des composés phénoliques endogènes. Il a été, en effet, montré que certains flavonoïdes freinent l'incorporation de la leucine dans les protéines (Parups, 1967).

Certains composés phénoliques jouent un rôle important dans les phénomènes de la perméabilité des membranes. Des changements de volume des thylakoïdes de chloroplastes induits par la lumière, sont provoqués par le mouvement dans les deux sens à travers la membrane, des substances osmotiquement actives. Les tanins qui réagissent non spécifiquement avec les protéines, affectent ce mouvement de façon à inverser les changements de volume. Ce processus est attribué aux changements de la perméabilité de la membrane provoqués par les tanins (Schneider, 1971).

Des composés simples volatils sont responsables de l'arôme de divers produits (vanilline chez la vanille, eugénol chez la banane, cinnamate de méthyle chez la fraise...). Les flavonoïdes confèrent parfois une sensation d'astringence (tannins des pommes vertes, coings) ou d'amertume (naringine chez le pamplemousse). D'autres composés interviennent de façon plus négative dans les phénomènes de brunissement causés par des blessures ou des accidents de conservation (cas des températures trop fraîches, pour l'ananas) (Boudet, 2000).

La lignine n'est pas facilement digérée par les herbivores et comme elle est liée de façon covalente à la cellulose et aux hémicelluloses, sa présence rend ces composés moins digestibles. Aussi quand des champignons pathogènes entrent dans une cellule hôte, ils doivent dégrader sa paroi par une digestion enzymatique. Plusieurs études ont montré que la lignine et d'autres composés phénoliques s'accumulent là où le champignon pénètre, ralentissant donc la vitesse de dégradation de la paroi (Hopkins,

2003), ainsi elle intervient dans la conduction de la sève brute (Manchado & Cheynier, 2006).

4- Biosynthèse des polyphénols

4-1 La voie de Shikimate

Le mot shikimate provient de la plante japonaise : *shikimi-no-ki*, l'anis étoilé, *Illicium anisatum*, d'où il a été isolé la première fois. Cette voie est connue aux bactéries et aux champignons et aux plantes, mais absente chez les animaux. Elle donne naissance à des acides aminés aromatiques qui peuvent être à l'origine de métabolites secondaires ou primaires. De nombreux résultats expérimentaux ont confirmé la supposition que, chez les plantes supérieures, la voie de synthèse du shikimate se déroule complètement dans la chloroplaste et on a montré que la plupart des enzymes actives intervenant sont des constituants du stroma (Richter, 1993).

La première étape consiste en la condensation du phosphoénol-pyruvate avec l'érythrose-4-phosphate. Le produit de réaction est un sucre à 7 carbones ouvert, qui par la suite perd son unité phosphate pour former le 3-déhydroquinone. Ce composé se libère ensuite d'une molécule d'eau pour donner le 3-déhydroshikimate qui est alors réduit par NADPH (nicotinamide adénine nucléotide phosphate) en acide shikimique. Celui-ci est phosphorylé par une molécule d'ATP (adénosine triphosphate), puis il condense avec une seconde molécule de phosphoénol-pyruvate pour former l'acide 3-énolpyruvyl-shikimique-5-phosphate. Cet intermédiaire perd ensuite son groupe phosphate pour créer l'acide chorismique, qui est le précurseur des acides aminés essentiels aromatiques, comme la tyrosine, la L-phenylalanine et le tryptophane (fig.2) (Perret, 2001).

4-2 Voie acétate-malonate

Les systèmes aromatiques sont aussi formés par condensation répétée d'unités acétate. L'hypothèse initiale de la voie acétate a surtout été confirmée chez les micro-organismes; elle est à l'origine d'un large éventail de composés aromatiques (Richter, 1993). Ce mode de formation est celui qui prédomine chez les plantes non vertes (synthèse de l'acide penicillique par les *Penicillium*, synthèse des anthraquinones chez les lichens et les champignons) (Guignard et al., 1985).

La dénomination, voie acétate-malonate, rappelle que c'est la malonyl-CoA qui fournit les unités en C2 par décarboxylation pour allonger le complexe Acyl-CoA, comme dans la synthèse des acides gras, et ceci en trois étapes successive: L'acide polycétonique formé se referme en un cycle portant une chaîne latérale. Le cycle A de la structure flavane est construit sur ce principe; il est ensuite complété, à l'aide de dérivés de l'acide cinnamique, par un hétérocycle central, puis par un second cycle aromatique (cycle B). ainsi, les deux voies responsables de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent, formant un nœud important dans le réseau du métabolisme secondaire des plantes supérieures (Richter, 1993).

4-4 Voie mixte

La pluralité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité, très fréquente, d'une participation simultanée du Shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (flavonoïdes, stilbènes, pyrones, xanthones, etc (Bruneton, 1999).

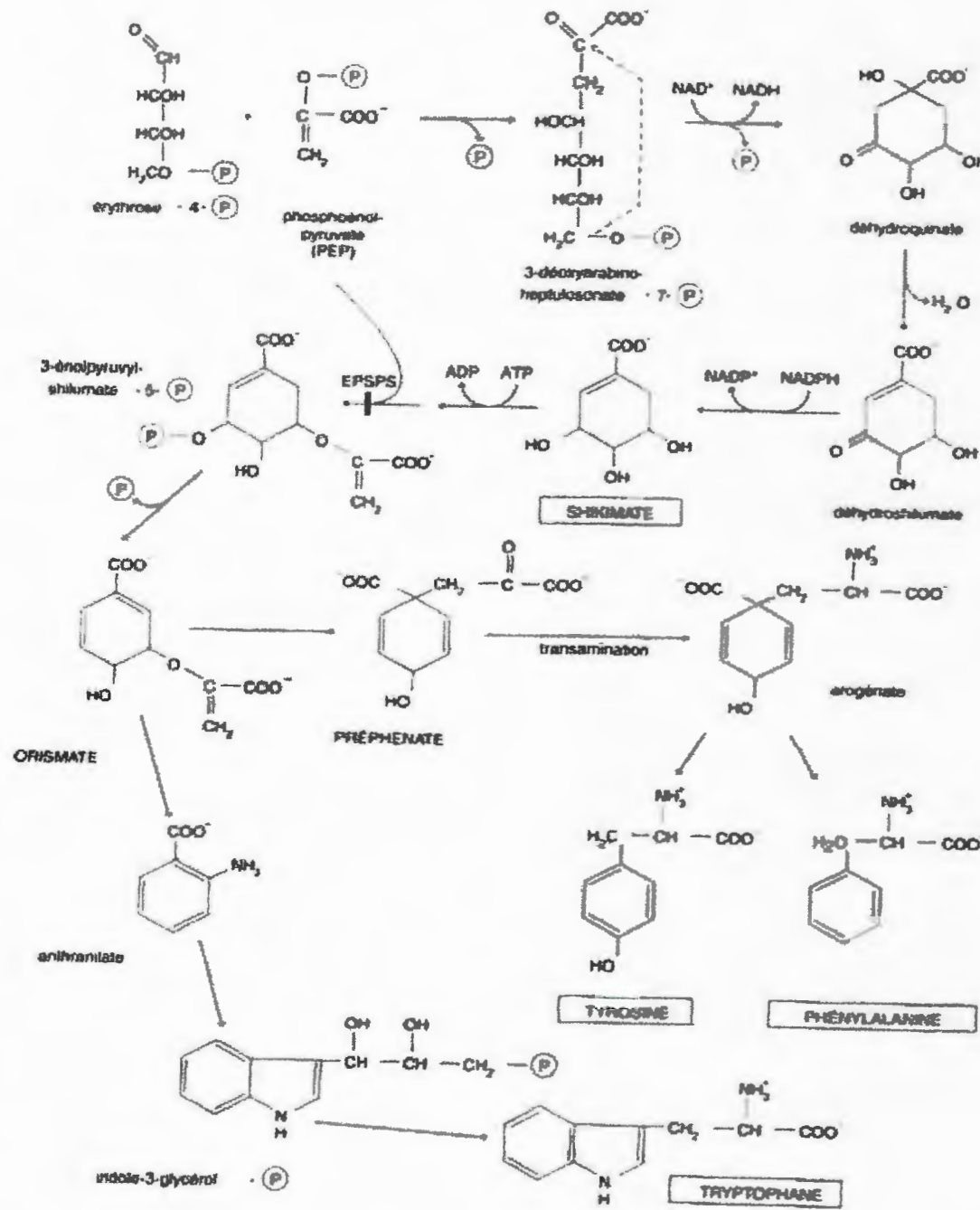


Fig. 2: la voie Shikimate de la biosynthèse des polyphénols (Hopkins, 2003)

5- Les grandes classes des polyphénols

Les polyphénols représentent plus de 8000 espèces moléculaires connues. Ils se classent dans cette vaste famille de substances de faibles poids moléculaire comme les acides phénoliques, et des substances de poids moléculaire plus élevé qui sont, pour certaines d'entre elles, des polymères d'une molécule phénolique de base (Besançon et al., 2000).

Les principales classes sont :

5-1 Acide phénolique

5-1-1 Définition

Tous les acides phénols se rencontrent dans la nature sous forme de combinaisons, généralement de type ester ; ces combinaisons sont actuellement assez bien connus dans le cas des acides cinnamiques (combinaisons avec l'acide quinique, les sucres, l'acide tartrique) ; l'acide chlorogénique (ester de l'acide caféique) et de l'acide quinique. Cette dernière est la combinaison la plus classique. Il n'en est pas le même pour les acides benzoïques dont on ignore à peu près entièrement les formes de combinaisons (Gayon, 1968).

5-1-2 Structure

Les formes phénoliques les plus simples (fig.3) présentent des structures chimiques du phénol simple en C₆ (non présent naturellement chez les végétaux). Ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole (Manchado & Cheynier, 2006).

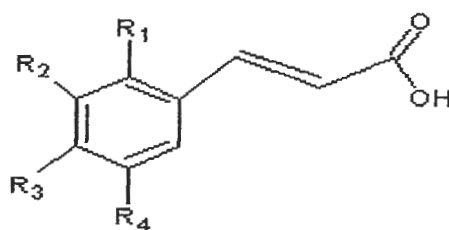


Fig.3 : Structure de l'acide phénolique (Manchado & Cheynier, 2006).

5-1-3 Classification

Les acides phénoliques appartiennent à deux groupes; les acides hydroxy-benzoïques et les acides hydroxy - cinnamiques (fig.4) (Manchado & Cheynier, 2006).

5-1-3-1 Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxy-benzoïques)

Les acides phénols en C₆, C₁ dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou hétéroside. L'acide

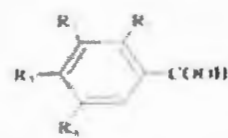
gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables. On connaît également les aldéhydes correspondant à ces acides : vanilline (le plus répandu), anisaldéhyde (dans certains huiles essentielles), salicylaldéhyde (Bruneton, 1999).

5-1-3-2 Acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxy-cinnamiques)

La plupart des acides phénols en C₆, C₃ (acides 4-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (ex : acide 2-coumarique) sont peu fréquents, rarement libres, ou alors ce sont des artefacts d'extraction, ils sont souvent estérifiés (Bruneton, 1999):

- Esters d'alcools aliphatiques (acides mono- et dicaféyl-tartrique des Vitaceae ou de l'Orthosiphon aristatus, féruloyl-tartrique des Echinaceae et autres Asteraceae, caféyl-malique de parietaria officinalis) ;
- Esters de l'acide quinique (acide chlorogénique, fréquent) et depsides (acides rosmarinique et lithospermique), spécifiques des lamiaceae et des Boraginaceae. (Bruneton, 1999).

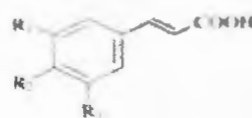
Acides hydroxybenzoïques



$R_1=R_2=R_3=R_4=H$
 $R_1=R_2=R_4=H, R_3=OH$
 $R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$
 $R_1=R_4=H, R_2=OCH_3, R_3=OH$
 $R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$
 $R_1=H, R_2=R_4=OCH_3, R_3=OH$
 $R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$
 $R_1=R_4=OH, R_2=R_3=H$

acide benzoïque (non phénolique)
 acide *p*-hydroxybenzoïque
 acide protocatéchaïque
 acide vanilique
 acide galbique
 acide syringique
 acide salicylique
 acide gentérique

Acides hydroxycinnamiques (= phénylpropanoïdes)



$R_1=R_2=R_3=H$
 $R_1=R_2=H, R_3=OH$
 $R_1=R_2=OH, R_3=H$
 $R_1=OCH_3, R_2=OH, R_3=H$
 $R_1=R_2=OCH_3, R_3=OH$

acide cinnamique (non phénolique)
 acide *p*-coumarique
 acide caféique
 acide férulique
 acide sinapique

Fig. 4 : Structure des principaux acides phénoliques (Manchado & Cheynier, 2006)

5-1-4 La biosynthèse des acides phénolique

La conversion de la L-phénylalanine en acide *p*-coumarique découle du métabolisme général des phénylpropanoïdes. L'hydroxylation ou la méthylation du cycle aromatique de l'acide *p*-coumarique donne successivement l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide sinapique, puis d'autres composés par réduction ou oxydation (fig.5) (Perret, 2001).

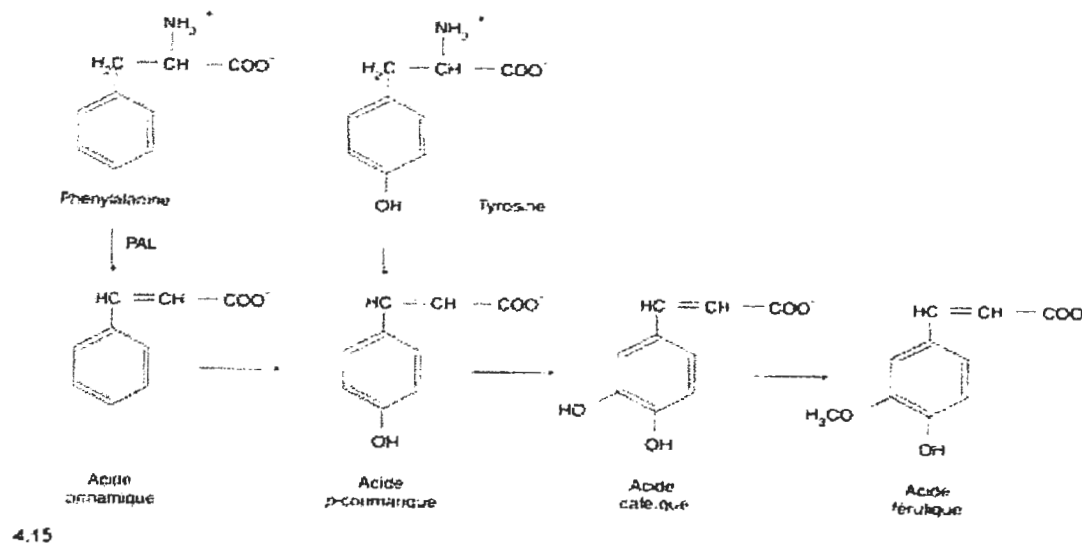


Fig. 5 : Biosynthèse de quelques acides phénoliques (Hopkins, 2003).

5-2 Les flavonoïdes

5-2-1 Définition

Le terme flavonoïdes vient du latin flavus, c'est-à-dire: jaune (Guignard, 2004), désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Marfak, 2003). Ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides (Paris & Hurabielle, 1980). Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (Milane, 2004).

5-2-2 La structure chimique

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenylchromone portant des fonctions phénols libres, éther ou glycosides (Milane, 2004). Leur structure chimique commune est le motif flavone dérivant lui-même du motif flavane constitué de deux noyaux aromatiques A et B et d'un hétérocycle oxygéné central C (fig.6) (Peterson & Dwyer, 1998 ; Manach et al., 2004).

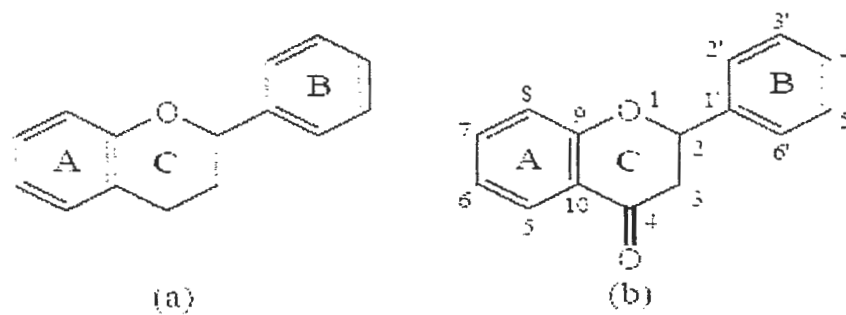


Fig.6 : Motif flavane (a) et flavone (b) et numérotation systématique. (Fiorucci, 2006)

5-2-3 Classification :

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les iso flavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins (Marfak, 2003). Les tanins et les anthocyanes étant des composés apparentés. Ces derniers sont respectivement des dérivés du 3-hydroxy-flavane, du flavylum ou 2-phénylbenzopyrylium (Milane, 2004).

Exemple de quelques sous classes des flavonoïdes (Paris & Hurabielle, 1980) (fig.7):

- **Flavones** : dérivés de la phényl-2-chromone, exp. apigénine, luteoline.
- **Flavonols** : possédant un hydroxyle alcooliques en 3(OH-3-flavone), exp. kaempférol quercétol.
- **Flavanones** : ne comportant pas de double liaison en 2-3, exp : hespérotol, liquiritigénine.
- **Aurones** : benzalcoumaranones, exp : aureusidine.
- **Chalcones** : isomères des flavanones, exp : isoliquiritigénine.
- **Isoflavone** : dérivées de la phényl-3- chromone, exp : génistéine.

Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupement hydroxyles, méthoxyles, et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire (Marfak, 2003).

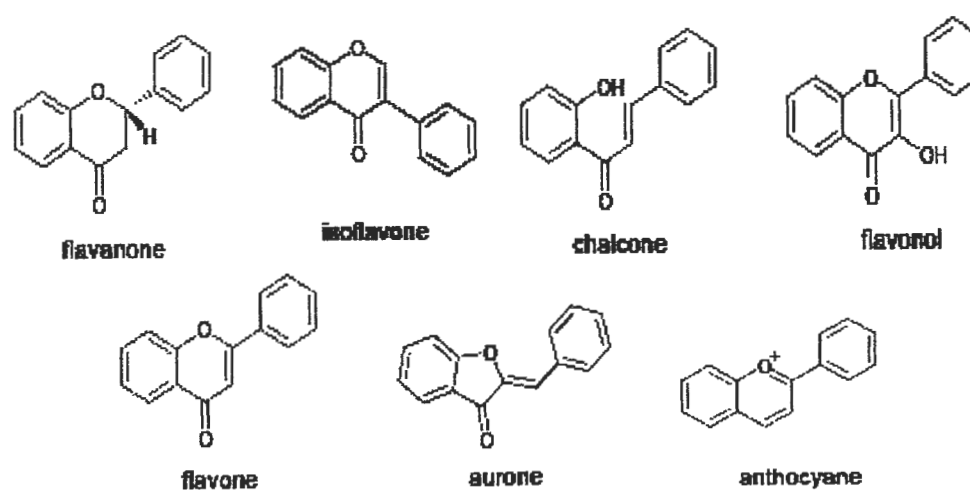


Fig.7: Les diverses sous classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

5-2-4 La biosynthèse

Les flavonoïdes sont composés de 3 cycles, nommés A, B et C. le cycle B et la chaîne à 3 carbone (cycle C) sont issus de la voie de l'acide shikimique via la phénylalanine et l'acide *p*- coumarique. Les 6 atomes de carbone du cycle A dérivent de l'acide malonique, sous la forme d'un complexe malonyl-coenzymeA (malonyl-COA). L'enzyme clé est la chalcone synthase (CHS) qui provoque la condensation séquentielle de 3 molécules de malonyl-COA et d'une molécule de *p*-coumaroyl-COA, formant de la naringénine-chalcone (Hopkins, 2003). Le motif chalcone est ainsi le point de départ de

la synthèse des différents groupes des flavonoïdes voie des phénylpropanoïdes (fig.8) (Fiorucci, 2006).

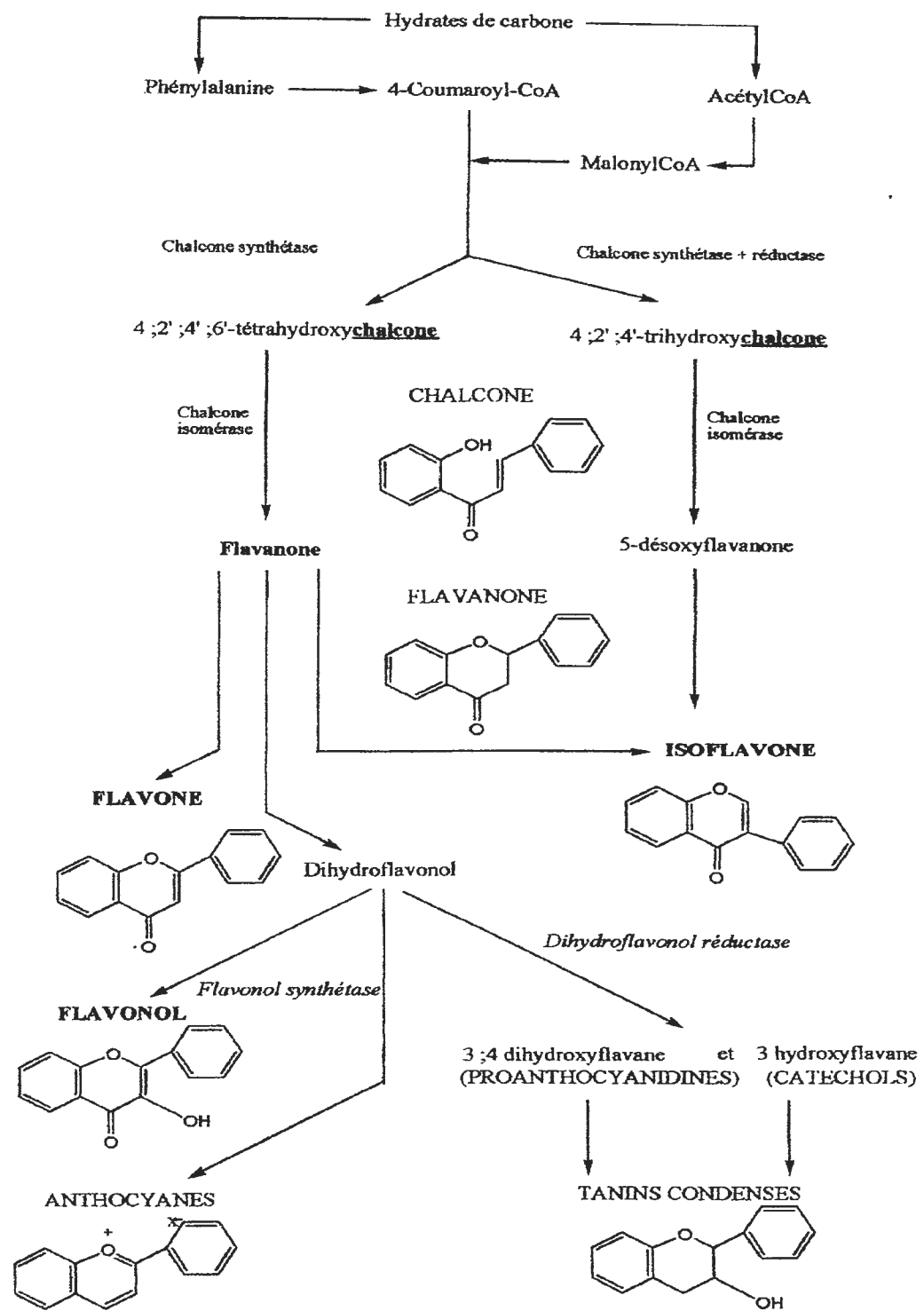


Fig. 8 : La voie de biosynthèse des flavonoïdes (Remesy et al., 1996).

5-3 Les tanins

5-3-1 Définition

Les tanins sont d'origine végétale et non azotée. Ce sont des composés phénoliques de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines. Ils sont souvent polymérisés donnant des molécules de 500 à 3000 (PM). Ils ont une saveur astringente (Igor, 2002).

5-3-2 Constitution chimique et classification

En 1920, Freudenberg établit la classification des tanins la plus largement acceptée. Il les divise en deux groupes basés sur les différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Salunkhe, 1990). En 1977, Swain établit une classification en quatre groupes, comprenant les deux groupes cités ci-dessus, et deux autres oxy-tannins et β -tanins qui ne sont pas véritablement reconnus comme des vrais tanins (Bernays et al., 1989).

A) Tanins hydrolysables

- **Définition**

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides et d'acides phénols, ou de dérivés d'acides phénols; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides ont été identifiés. L'hydrolyse acide, alcaline, ou enzymatique est relativement facile et une hydrolyse partielle peut se produire spontanément pendant les opérations d'extraction et de purification (Gayon, 1968).

Les tanins hydrolysables constituent un groupe hétérogène dans lequel on peut distinguer les gallotanins, pour lesquels l'unité de sucre centrale est estérifiée avec plusieurs acides galliques, et les ellagitanins, pour lesquels l'unité de base est de l'acide ellagique (Gayon, 1968).

- **Structure**

Ce sont des esters de glucose, c'est-à-dire un noyau centrale de glucose sur lequel se fixe, au moyen d'une liaison ester, des acides: l'acide gallique (fig.9, a) pour le groupe des gallotanins, l'acide hexahydroxydiphénique (ou ellagique) (fig.9, b) pour le groupe des ellagitanins (Peronny, 2005).

Les tanins galliques sont constitués d'un glucose central et de chaînes latérales (position 1, 2, 3, 4 ou 6) comprennent un ou plusieurs monomères d'acides galliques (fig.9, c). L'acide ellagique résulte de la condensation de deux molécules d'acides gallique avec formation d'une liaison biphenyl par couplage oxydatif (fig. 9, d) (Namour, 1999).

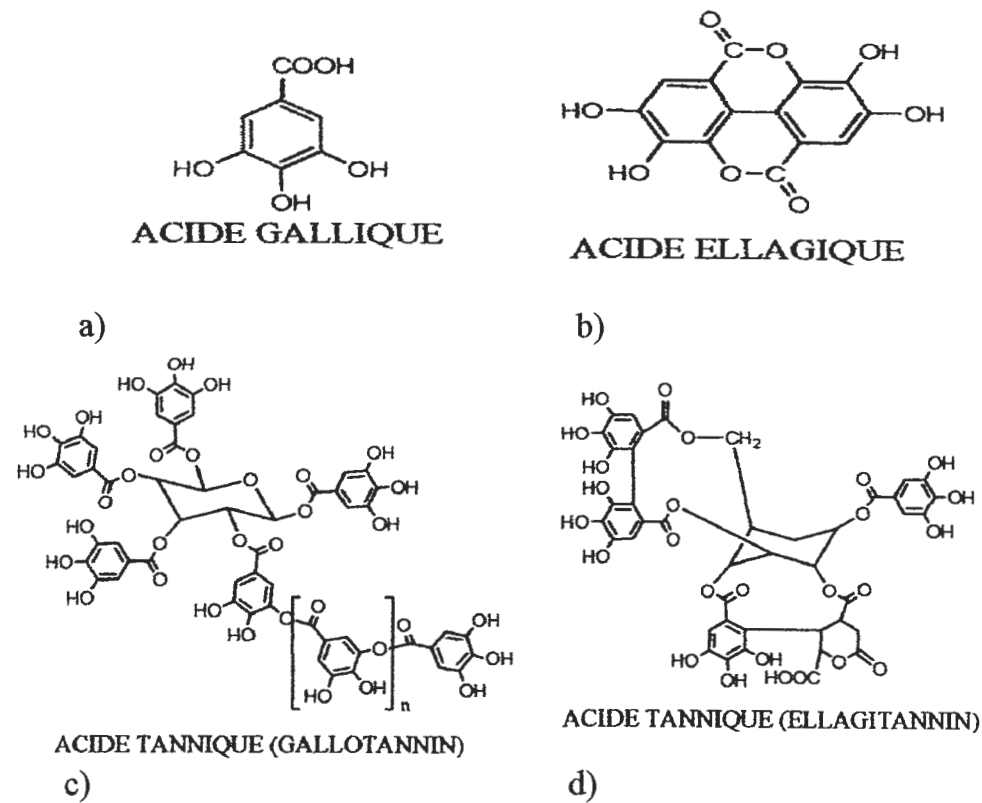


Fig.9 : structure des tannins hydrolysables et des acides associés (Peronny, 2005).

B) Tanins condensés

• Définition

Ils dérivent des catéchols et des prothocyanidols par condensation de ces molécules. Ils sont parfois classés parmi les flavonoïdes au sens large car ils ont des structures voisines. Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule. Ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tanases mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en substances rouges (Igor, 2002).

De structure complexe, ils sont de loin des tannins les plus largement rencontrés dans les plantes vasculaires, des dicotylédones aux plantes plus primitives, fougères et gymnospermes. On les appelle également proanthocyanidines, car les tannins condensés produisent des anthocyanidines quand on les chauffe dans l'acide (Waghom & McNabb, 2003). Les tannins condensés sont des polymères de haut poids moléculaire, les plus couramment décrits faisant 5000 DA, mais on en a découverts de plus de 30 000DA (Bravo, 1998). Les chaînes de polymères comptent de deux à 20 unités environ, et il existe de nombreuses hydroxylations possibles en différents endroits de chaque monomère (Waghom & McNabb, 2003).

- **Structure des tanins condensés**

Les tanins condensés sont des proanthocyanidines, composés phénoliques hétérogènes, oligomères et polymères de flavanes, de flavane-3-ols, de 5-désoxyflavane-3-ols et de flavane-3,4-diols. Toutes ces molécules appartiennent à la famille des flavonoïdes, composés en C6-C3-C6 comme structure de base (Fig.10 : a, b), et possèdent en commun la propriété de libérer des anthocyanidines par chauffage en milieu acide (Heller & Forkmann, 1994).

La condensation des (n) monomères se fait par la formation d'une liaison interflavanique (intermonomérique) du type C-C positionnée en 4 du cycle C sur une des unités et en 8 du cycle A porté par la seconde (Fig.10: c) (Manchado & Cheynier, 2006)

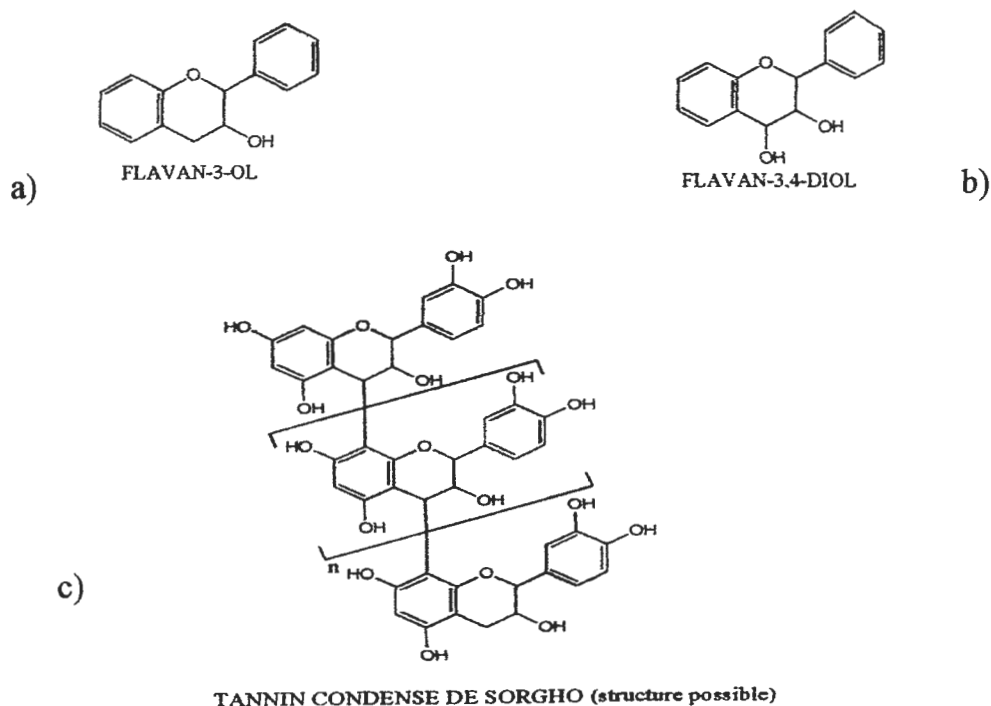


Fig.10 : structure des tanins condensés (Peronny, 2005).

- **Biosynthèse**

Les tanins sont synthétisés à partir de la phénylalanine (fig.11) par la voie dite de l'acide shikimique (Swain, 1979).

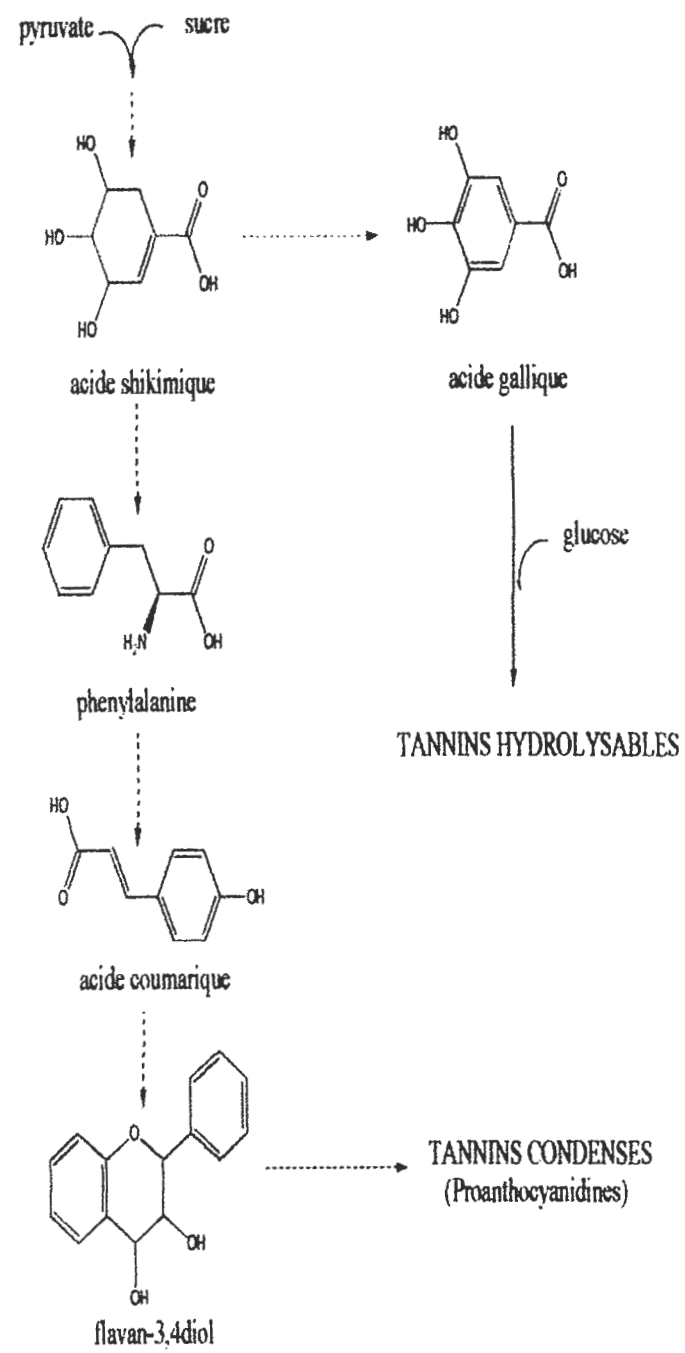


Fig.11 : voie de synthèse des tanins (Perret., 2001).

La synthèse des tanins hydrolysables à partir d'acide gallique passe tout d'abord par l'ajout de groupements galloyle au noyau d'acide gallique ce qui mène au pentagalloylglucose. Puis les gallotannins seront formés par l'addition de nouveau groupement galloyle sur ce noyau pentagalloylglucose, alors que les ellagitannins verront des processus d'oxydation créer des liaisons carbone entre différents pentagalloylglucoses ce qui mènera à des dimères et oligomères dérivés (Fig.12). La polymérisation des flavan-3-ols (tanins condensés) se fait au moyen de liaisons entre les atomes de carbone positionnés en C4 et en C8 (Grundhöfer et al., 2001).

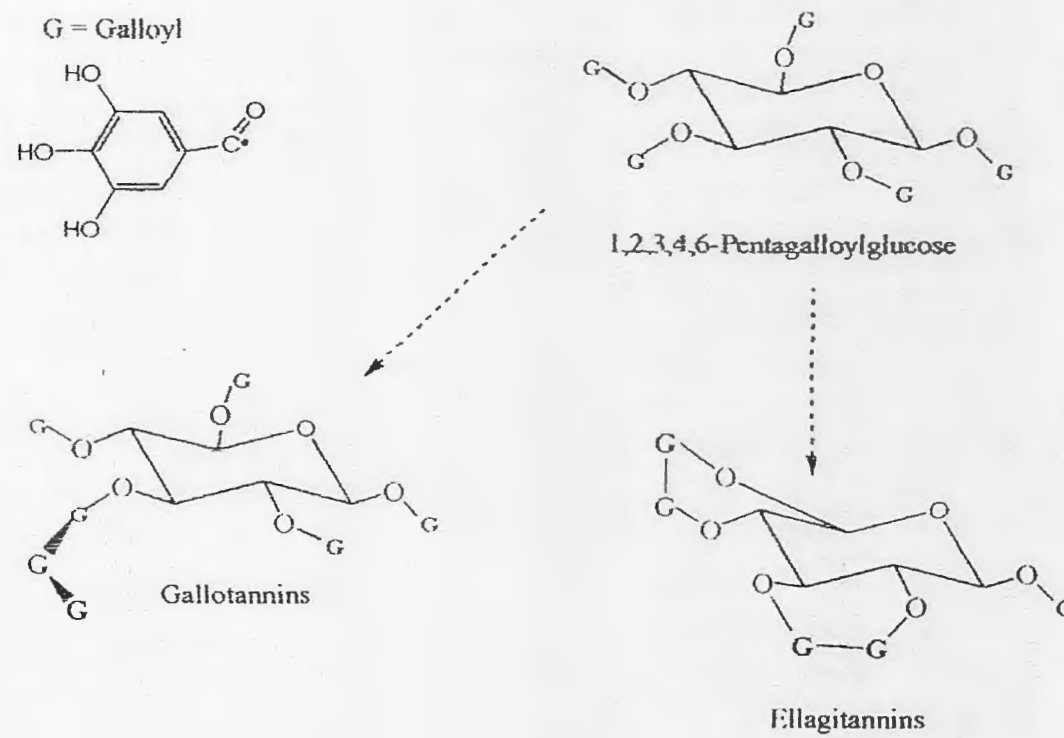


Fig.12. synthèse des gallotannins et ellagitannins à partir du pentagalloylglucose (Grundhöfer et al., 2001).

Les proanthocyanidines sont formées par un procédé d'oligomérisation dans lequel la flavan-3-ol réagit avec la forme énolique de la quinoneméthide par attaque nucléophile. Les liaisons *trans* formées sont principalement des liaisons C₄-C₈, mais elles peuvent aussi être de nature C₄-C₆, pour ce mécanisme proposé. Les unités terminales et intermédiaires sont dérivées de la quinone méthide; elles peuvent varier par la stéréochimie de leur carbone C₃, par un substituant greffé aussi en position C₃ (ex.: acide gallique) et par le nombre d'hydroxyles présents sur le cycle B (ex.: gallo (épi) catéchine) (Perret, 2001).

5-4 Les lignines

5-4-1 Définition

Les lignines sont des polymères phénoliques spécifiques des plantes supérieures terrestres (Jouanin, 2006), ce sont des substances non glucidiques (Guignard et al., 1985), fortement ramifiées formées par trois alcools phénoliques simples (Hopkins, 2003). Les lignines constituent 15 à 35% de bois des Angiospermes et des Gymnospermes, ce qui représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux. En raison de leur caractère hydrophobe marqué, les lignines s'accumulent au niveau des parois des cellules (Manchado & Cheynier, 2006). Ces macromolécules sont interconnectées aux polysaccharides de la paroi cellulaire covalente (Nultch, 1998). La lignine n'a plus aucun rôle dans le métabolisme comme le prouve l'absence de *turn-over* (Guignard et al., 1985).

5-4-2 Structure de la lignine

La lignine est une molécule à trois dimensions composée d'unités de phényle propane. Les unités primaires (monolignols) constituant la lignine (Knabner, 2002), sont l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylrique et l'alcool *p*-coumarylique (fig.13). Ces précurseurs sont produits par les plantes à partir de la L-tyrosine et de la L-phénylalanine, lesquelles sont synthétisées par la voie métabolique de l'acide shikimique (Higuchi et al., 1977). Au cours du processus de lignification, des phénoloxydases végétales telles que les laccases interviennent et permettent la polymérisation des différentes unités élémentaires. Une fois synthétisée, la lignine s'associe avec les différents polysaccharides pour former une matrice constitutive de la paroi végétale (fig. 14) (Claus, 2004).

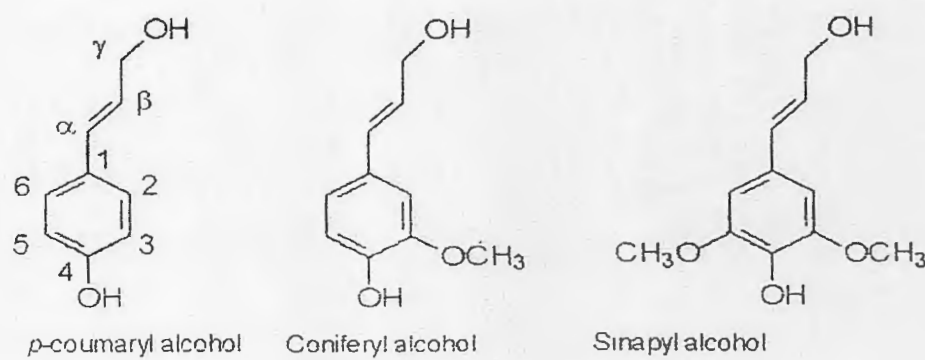


Fig.13 : Structure des précurseurs de la lignine (Knabner, 2002)

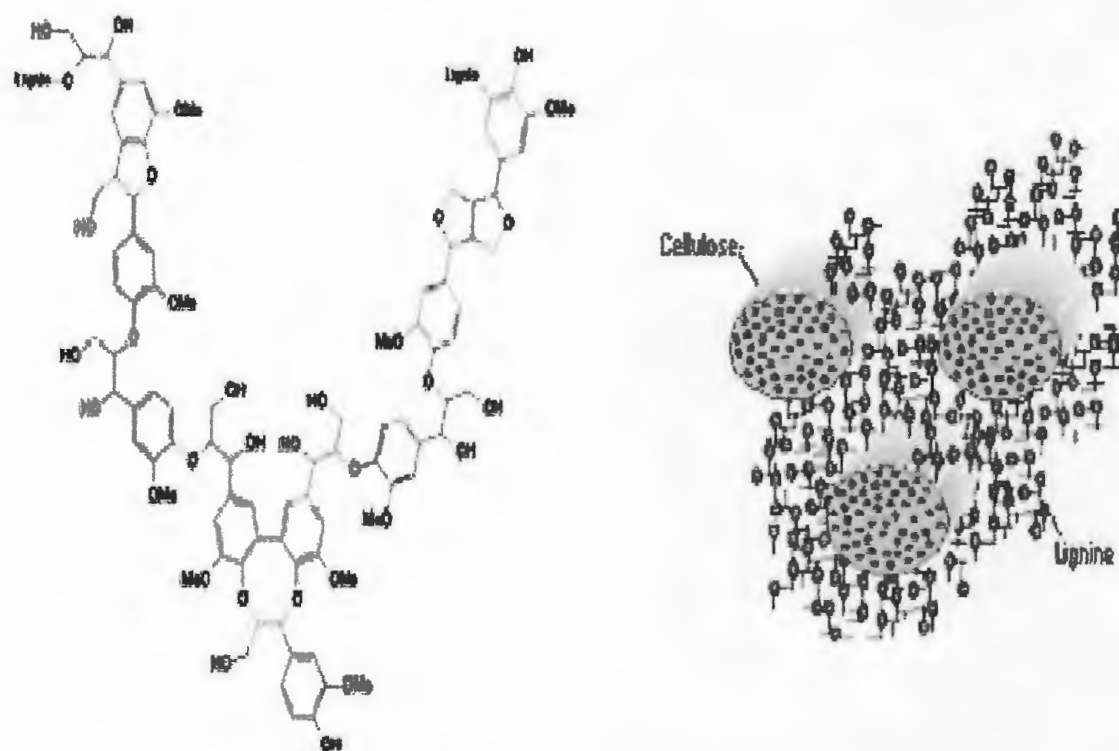


Fig.14 : Représentation schématique de la lignine
(Sassen, 1993; Brunow, 2001).

5-4-3 Biosynthèse

La formation des lignines à son point de départ dans les phénylpropanes primaires, plus précisément dans les trois dérivés de l'acide cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide férulique et l'acide sinipyque. Ils sont tout d'abord activés en dérivés-CoA par la cinnamoyl-CoA ligase. Avec l'intervention combinée de la cinnamoyl-CoA réductase, qui utilise le NADPH, H^+ , et de l'aldéhyde réductase (alcool cinnamylique déshydrogénase), les alcools correspondant se forment : alcool *p*-coumarylique, coniférylique et sinapylique. Ils sont généralement estérifiés par le glucose en β -glucosides, alcool glucocoumarylique (4- β -glucoside de l'alcool coumarylique), coniférine (4- β -glucoside de l'alcool coniférylique) et syringine, puis transportés sous cette forme jusqu'aux lieux de synthèses dans la paroi (Richter, 1993). Les trois monomères de base (unité H, G et S) peuvent s'assembler de multiples façons, formant une structure tridimensionnelle très ramifiée (fig. 15) (Hopkins, 2003).

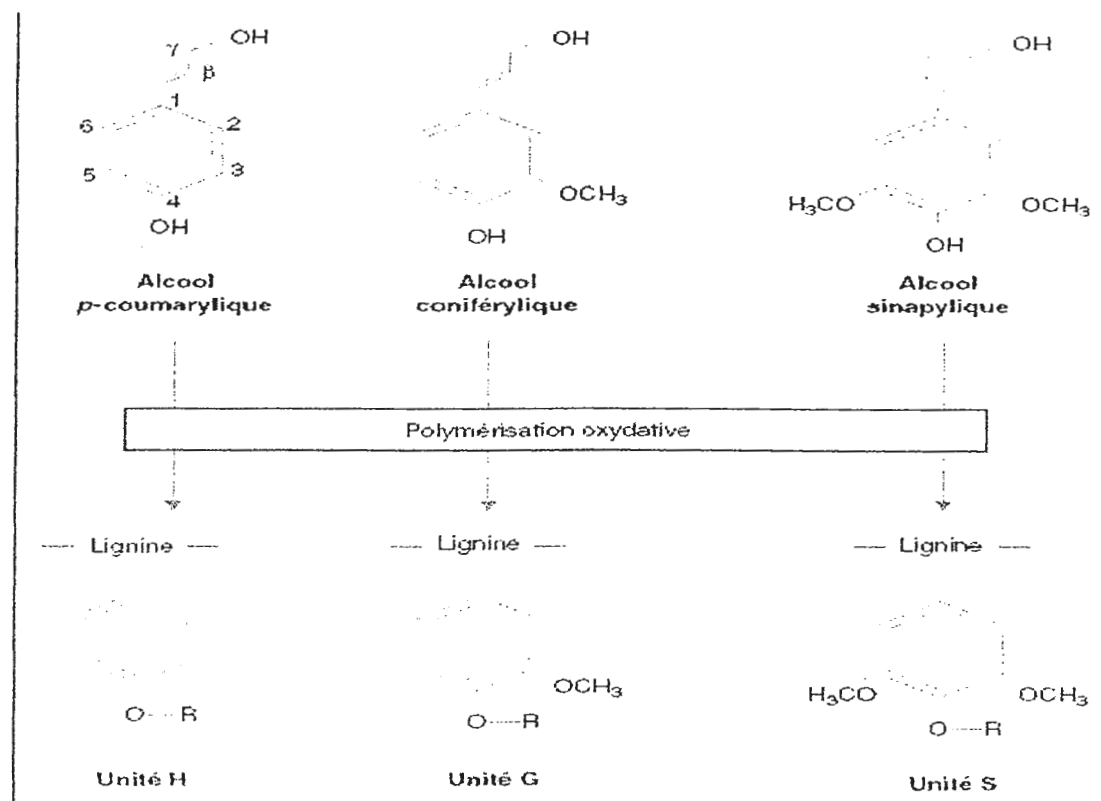


Fig.15. Structure des précurseurs des lignines (les monolignols) et des unités correspondantes constitutives des lignines. (Jouanin, 2006).

5-5 Formes liées à des macromolécules non phénoliques

Certains acides hydroxycinnamiques peuvent être liés à des macromolécules non phénoliques. Dans ce cas, le caractère chimique relève principalement de la macromolécule concernée, mais, ses propriétés biologiques peuvent être modifiées par la présence d'une petite proportion de composés phénoliques ainsi, les acides *p*-coumarique et férulique peuvent être retrouvés : (Manchado & Cheynier, 2006).

- Liés à certains composants glucidiques de la paroi pectocellulosique comme les hémicelluloses ou les composés pectiques. Cette situation existe dans les parois primaires et secondaires de nombreuses plantes indépendamment des éventuelles liaisons qui pourraient s'établir ultérieurement avec la lignine.
- Liés à la cutine de revêtement superficiel des feuilles et des fruits à caractère particulièrement hydrophobe.
- Liés à la subérine, composé également très lipophile qui est l'un des constituants principaux du liège ou qui apparaît souvent en réponse à des blessures (Macheix et al., 2005).

6- Distribution et localisation des polyphénols

Les composés phénoliques sont contenus dans les organes végétaux les plus divers : feuilles, tiges, écorces, bois, racines, fleurs, fruits, embryon (Brzozowska & Hanower, 1978).

6-1 Concentration des polyphénols

La concentration en polyphénols varie selon la taille et l'âge de l'arbre ainsi que selon les espèces (Kääri, 1974). Effectivement, les plus hautes teneurs se retrouvent dans le bois de coeur à la base du tronc. Elles diminuent en fonction de la grosseur des parties de l'arbre considérées (Scheffer & Cowling, 1966). Ainsi, la concentration en polyphénols dans les rameaux est la moins élevée (Larochelle, 1993). De même, la teneur en composés phénoliques dans les tissus végétaux est corrélée avec la fertilité du site. On explique ce phénomène par un excès de carbone fixé par rapport à la disponibilité des nutriments. Il en résulte une accumulation des composés phénoliques dans les tissus (Muller et al, 1987).

6-2 Localisation et répartition

La répartition des composées phénoliques est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part dans la paroi cellulaire où sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes et des molécules associés aux lignines comme l'acide férulique) et d'autre part dans la vacuole où sont stockés les phénols solubles (acide chlorogénique, anthocyanes, flavonols, tanin...), certains flavonoïdes (quercétine, kaempférol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique (Peer et al., 2001) mais toujours à très faible concentration. La répartition subcellulaire des composés phénoliques n'est modifiée que lorsque des perturbations membranaires interviennent, soit au cours de certaines évaluations physiologiques soit à la suite de divers traitements. Les esters hydroxycinnamiques peuvent également être très inégalement répartis dans les différents tissus constituant les fruits et les tubercules (Tab.1) (Fleuriet & Macheix, 2003 ; Macheix et al., 1990).

Tab. 1: La teneur en composés phénoliques de quelques végétaux utilisés ou consommés par l'homme (Fleuriet & Macheix, 2003).

	Principaux composés phénoliques concernés	Teneurs
Légumes		
Légumes secs	Phénols totaux	300 mg à 17g. kg ⁻¹
Pomme de terre	Acide phénolique	32 à 103 mg. kg ⁻¹
Oignon	Dérivés de la quercétine	56 à 1 020 mg. kg ⁻¹
Fruits		
Pomme	Phénols totaux	100 mg à 3 g. kg ⁻¹
Raisin	Phénols totaux	500 mg à 5.6 g. kg ⁻¹
Raisin rouge	Anthocyanes	200mg à 5 g. kg ⁻¹
Cassis	Anthocyanes	1 à 10 g. kg ⁻¹
Myrtille	Anthocyanes	3 à 4.5 g. kg ⁻¹
Divers		
Feuilles de thé vert	Phénols totaux	39 % MS
Grains de café	Ester caféiques	6 à 10 % MS
Grains de sorgho	Tanins	4 % MS
Bois (hêtre, chêne ...)	Lignines	15 à 35 % du bois

b- Les propriétés de complexation**♦ La complexation métallique**

Les polyphénols présentent un noyau catéchol où deux groupements C=O et OH coplanaires et proches forment des chélates avec les ions métalliques à forte charge positive (ex: Al^{+3} , Fe^{+3}) moyennant le remplacement d'un ou deux proton(s) du polyphénol par l'ion métallique, ce qui exclut les milieux trop acides (Cornard et al., 2001). Elle joue un rôle important: dans l'expression des couleurs naturelles, il s'agit alors de la complexation métallique des anthocyanes présentant une substitution 1,2 dihydroxy sur le cycle B (Elhabiri et al., 1997). Dans les propriétés antioxydantes des polyphénols; la formation de complexe métallique stable et inertes (bloquant l'ion métallique sous un état redox donné) (Manchado & chenyer, 2006). Sur le plan nutritionnel, la complexation des ions du fer par les polyphénols place le fer sous une forme non biodisponible (complexe non absorbable dans le tractus digestif) (Hurrell et al., 1999).

♦ Complexation moléculaire**✓ La complexation polyphénol-polyphénol**

Ces interactions sont à la base de l'un des mécanismes les plus importants de stabilisation des couleurs naturelles exprimées par les anthocyanes: la copigmentation (Dangles and Brouillard, 1992). Ce phénomène implique principalement les formes colorées des anthocyanes (cation flavylum et base quinonoides) et les polyphénols fortement polarisables que sont les acides hydroxycinnamiques, et les flavones et flavonols (copigments) (Mistry et al., 1991).

✓ La complexation polyphénol-polysaccharides

L'interaction entre tanins et protéines est influencée par la présence d'autres co-substrats comme les polysaccharides (Haslam, 1998). Plusieurs études ont démontré la capacité des polysaccharides à délier le complexe polyphénols-protéines (Ozawa et al., 1987). Ces phénomènes résultent probablement de la capacité des polysaccharides à former un complexe ternaire protéine/polyphénol/ polysaccharide qui favorise la solubilité en milieu aqueux ou de l'association moléculaire en solution entre les polyphénols et les polysaccharides en compétition avec l'agrégation protéique. Haslam (1998) avance la proposition que certains polysaccharides ont la capacité à développer une structure secondaire en solution, formant des poches hydrophobes capables d'encapsuler et de complexer les polyphénols (Fig.18). Les oses neutres comme le glucose, la O-cyclodextrine et l'arabinogalactane ont une faible affinité pour les polyphénols (De Freitas et al., 2003). Les carbohydrates anioniques comme la pectine, le xanthane, l'acide polygalacturonique et la gomme arabique sont plus efficaces, suggérant ainsi que les interactions hydrophiles sont dominantes (De Freitas et al., 2003). Toutefois, il faut noter que l'inhibition par les polysaccharides ne s'exerce qu'à des concentrations élevées. En effet, les tanins ont une affinité plus élevée pour les protéines que pour les polysaccharides, car le groupe phénolique du tanin est un excellent donneur.

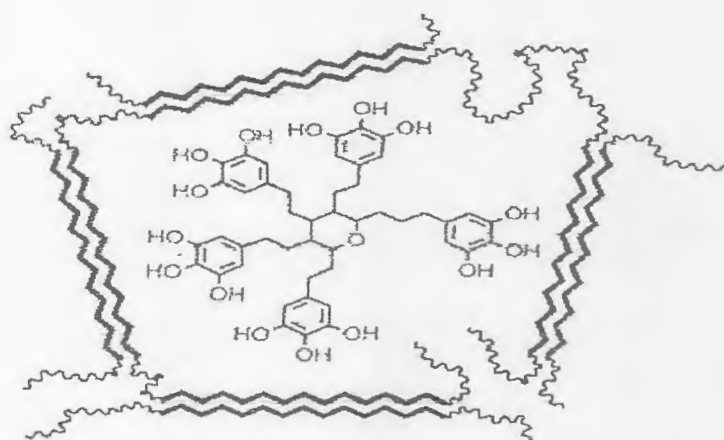


Fig.18: Représentation schématique de l'encapsulation d'un polyphénol par les polysaccharides, (Haslam, 1998).

Dans les parois, les dérivés d'acide férulique et *p*-coumarique sont majoritairement recensés, parmi lesquels des dimères d'acide férulique. Ces phénols sont fixés covalamment aux polysaccharides des parois par des liaisons esters, par exemple à des arabinoxylanes ou des xyloglucanes (Iiyama et al., 1994; Ishii, 1997). Dans la paroi, les polysaccharides peuvent ainsi être liés à la lignine via l'acide férulique et reliés entre eux grâce aux dimères d'acide férulique via des liaisons esters (Fig. 19). Ces liaisons spécifiques des parois secondaires permettraient de les rigidifier et d'assurer leur hydrophobicité (Iiyama et al., 1994). les polysaccharides féruloylés pourraient servir de point d'ancrage à la lignification (Ishii, 1997).

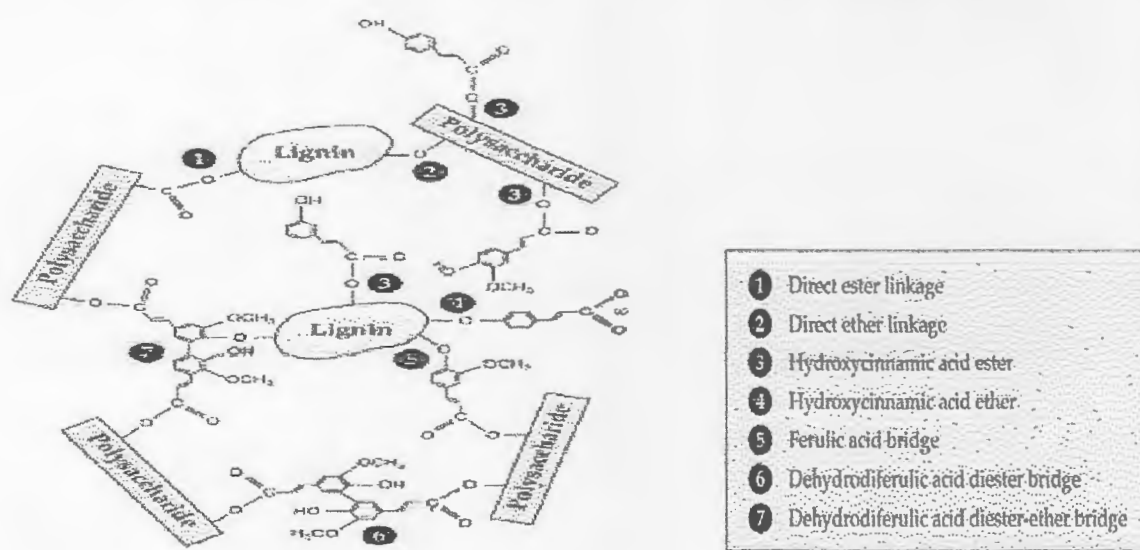


Fig.19 : Schéma des liaisons possibles entre les polysaccharides pariétaux et la lignine (pontage férulique des polymères pariétaux spécifique des graminées) (Ishii et al., 1997; Buchanan et al., 2001).

✓ La complexation polyphénols-protéines

Le noyau phénolique est une unité structurale très favorable à l'interaction des polyphénols avec les protéines compte tenu de la variété des interactions moléculaires qu'il peut développer: interaction de dispersion avec des résidus d'acides aminés peu polaires, liaisons hydrogènes avec des résidus polaires et des groupements peptidiques (Havsteen, 2002).

Les acides hydroxycinnamiques et notamment l'acide férulique pourraient être estérifiés aux protéines pariétales par l'intermédiaire des résidus tyrosine ou cystéine (Iiyama et al., 1994). Siebert (1999) a proposé un modèle pour expliquer ce comportement (Fig. 20). Dans ce modèle, les protéines sont supposées avoir un nombre fixe de sites accepteurs de polyphénols, d'un autre côté, les polyphénols sont considérés comme ayant un nombre de terminaisons pouvant se lier aux protéines. Lorsque la concentration en terminaisons polyphénoliques égale le nombre des sites de liaisons protéiques, la complexation et la précipitation sont maximales. En présence d'un excès de protéines, chaque molécule polyphénolique est capable de relier deux molécules protéiques. On a la formation de protéines dimériques, d'agrégats de petite taille, avec pas assez de polyphénols pour une plus large complexation. En présence d'un excès de polyphénols, tous les sites de liaisons protéiques sont occupés, mais la complexation est faible, puisque les polyphénols ne trouvent plus de sites de liaisons protéiques libres et sont incapables de complexer plusieurs protéines en même temps. Ce fait entraîne aussi des agrégats de petite taille d'hydrogène capable de former de fortes liaisons avec l'oxygène des fonctions carboxyle et carbonyle des protéines (Desphande & Salunkhe, 1982).

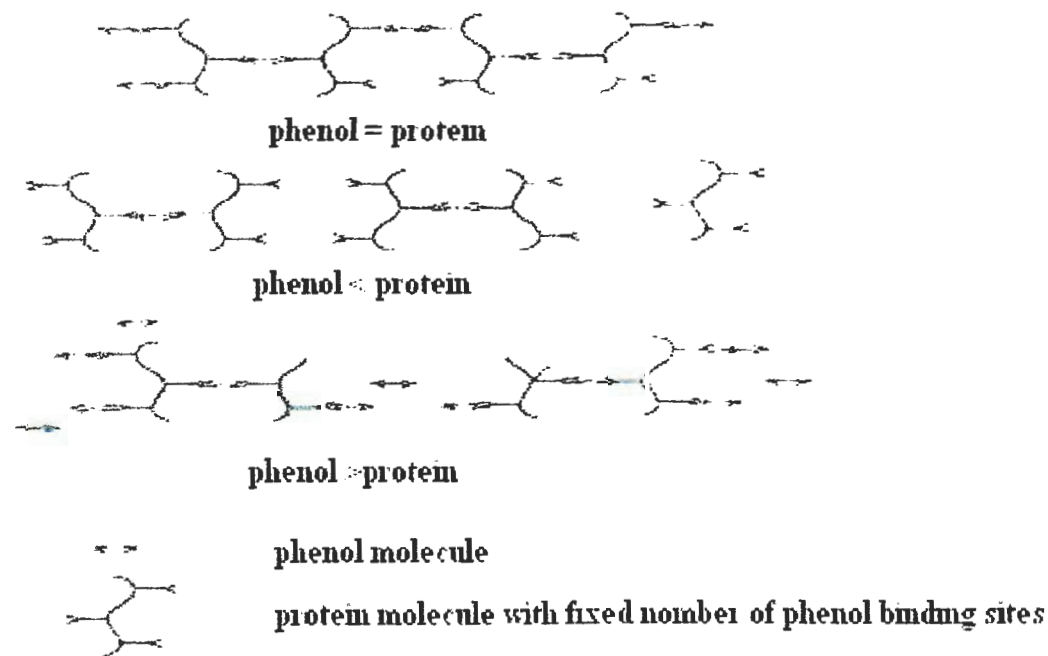


Fig.20: Modèle pour l'interaction protéines-polyphénols (Siebert et al., 1996).

c- Propriétés organoleptiques

Les anthocyanes sont généralement responsables de la couleur des fruits rouges (cerise, cassis, fraise, etc.), les flavanones responsables de l'amertume du pamplemousse et également abondants dans l'orange (Scalbert, 2003). Les tanins responsables de l'astringence de divers fruits (pellicule et pépins du raisin, chair du kaki, etc.), la salive est un milieu aqueux dilué dont la principale fonction est de protéger la muqueuse buccale en formant une couche lubrifiante à sa surface. Cette propriété est imputable essentiellement à la présence de mucoprotéines (mucines) et de protéines riches en proline glycosylées. L'astringence des tanins est généralement imputée à la précipitation des protéines salivaires ou à leur adsorption sur l'épithélium buccal (Manchado & Chenyier, 2006).

d- Autres propriétés spécifiques de certaines classes

- ◆ Les anthocyanes ont une coloration qui varie en fonction du pH : rouge en milieu acide, elles deviennent bleues en milieu neutre ou alcalin. Relativement stables à pH très alcalin. Les anthocyanes possèdent deux OH libres en ortho sur le phényle latéral donnant des complexes avec les métaux comme le fer, l'aluminium et le magnésium. (Paris & Hurabielle, 1980).
- ◆ Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires. Les acides phénols sont solubilisés par les hydrogénéocarbonates. Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques sont classiquement solubles dans l'eau. Tous ces composés sont instables. Tous les phénols sont facilement oxydables, surtout en milieu alcalin (Bruneton, 1993). Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH. Ce sont aussi des accepteurs de liaison H. En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur. Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H et d'en recevoir une seulement (Manchado & Chenyier, 2006).
- ◆ Les flavonoïdes possèdent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet avec généralement deux maximums caractéristiques variant avec chaque type flavonique et permettant leur identification (Paris & Hurabielle, 1980). Pratiquement tous les flavonoïdes, spécialement les flavones et les flavanols, absorbent fortement dans la région de l'UV-B du spectre (Hopkins, 2003).
- ◆ Les tanins sont des corps généralement amorphes, solubles dans l'eau, dans l'alcool, et l'acétone. Ils sont insolubles dans les solvants organiques polaires. Ils sont extraits par des mélanges hydroalcooliques additionnés ou non d'acétone. Le tanin à l'éther figure à la pharmacopée française (Ndiaye et al., 1994). Les tanins forment des précipités avec les sels des métaux lourds tels : Fe, Pb, Zn, Cu, MO. Ils forment des précipités avec les protéines. Cette action est responsable de l'effet de tannage sur le cuir, des effets antidiarrhéiques et astringents. Les tanins forment avec les alcaloïdes des combinaisons tanniques : ceci explique les effets retardés de la caféine du thé (Igor, 2002).

8-Utilisation des polyphénols

Les polyphénols sont utilisés en plusieurs secteurs :

- ◆ Les implications économiques des composés phénoliques concernent l'utilisation directe et les débouchés commerciaux de nombreux produits végétaux issus de l'agriculture, en particulier des fruits et les légumes .Ils sont retrouvés également dans de nombreux secteurs des industries agroalimentaire, soit : sous des formes développées traditionnellement (préparation de diverses boissons: vin, bière, cidre, thé, café, jus de fruits..... .Utilisation des céréales séchage et conservation des fruits), soit des formes renouvelées, par exemple la préparation de jus de fruits, purées, compotes et produits végétaux frais, etc. l'extraction et l'utilisation alimentaires naturels d'origine phénolique représentent également une activité industrielle aux fortes conséquences économiques (Macheix et al., 2005).
- ◆ En cosmétologie, les tanins sont des astringents très utilisés, notamment sous forme des lotions (Charbonneau, 1988).
- ◆ Dans l'industrie, les tanins sont largement employés, dans l'industrie du cuir surtout, dans celle des veines et peinture. Les tanins végétaux réagissent avec la peau pour lui conserver sa souplesse et pour la rendre imputrescible. Sans tanin, impossible d'obtenir des cuirs, l'industrie de la tannerie fait usage de tanins chimiques, polluants, comme les sels de chrome mais elle continue aussi à employer des tanins végétaux, Ces derniers sont particulièrement appréciés par l'industrie de la chaussure car ils permettent de fabriquer des cuirs très résistants qui supportent bien l'abrasion. Les cuirs de bovins, traités avec des extraits végétaux, sont idéals pour les semelles de souliers. Les extraits tanniques tirés d'arbres différents n'ont pas tous les mêmes propriétés. La résistance et en particulier la couleur des cuirs sont influencés par le type de tanin utilisé (Charbonneau, 1988).Les tanins ont d'autres utilisations commerciales que le tannage des peaux : ils forment des complexes noirs avec les sels ferreux, propriété utilisée pour la production d'encre, ils sont utilisés comme antidotes des alcaloïdes, des glycosides et des ions de métaux lourds grâce à leur affinité chimique. Ils apportent également une part importante du goût de nombreux aliments et boissons (Bernays et al., 1989).



Chapitre II
Activités biochimiques
et pharmacologiques des polyphénols

1- Pharmacologie des polyphénols

1-1- La consommation journalière

La consommation des polyphénols est très variable en fonction des habitudes alimentaires et de la quantité des produits consommés (Manchado and Cheynier, 2006). Les fruits et les boissons (thé et vin rouge) représentent les sources principales des polyphénols, mais dans la plupart des cas, ils en contiennent des mélanges complexes que l'on a peu analysés. Cela explique en partie pourquoi la consommation d'un polyphénol spécifique, ou d'une sous classe, reste difficile à évaluer. Généralement, il est admis que les humains ingèrent environ 1g de polyphénols par jour (Horcajada, 2006). Il est cependant essentiel de réaliser que les polyphénols les plus abondants dans l'alimentation ne sont pas nécessairement les plus actifs au niveau de l'organisme, soit parce qu'ils ont une activité intrinsèque moindre, soit parce qu'ils sont mal absorbés au niveau intestinal, largement métabolisés, ou encore rapidement éliminés (Manchado and Cheynier, 2006).

1-2- La biodisponibilité des polyphénols

Après un repas, les nutriments se retrouvent en contact avec l'intestin grêle, principal site d'absorption du tube digestif. Leur passage vers la circulation sanguine dépend de leur capacité à franchir l'épithélium intestinal. Des travaux récents montrent que bien que certains polyphénols soient capables d'emprunter des transporteurs protéiques présents sur les entérocytes, ils sont le plus souvent excrétés vers la lumière intestinale, conduisant ainsi à une absorption nette limitée voire nulle. L'organisme considère les polyphénols comme des substances toxiques, et va chercher à s'en débarrasser en limitant leur absorption au niveau de l'intestin grêle et/ou en les modifiant de façon à les rendre plus facilement éliminables par les reins et le foie. Ces modifications bloquent les groupements chimiques (hydroxyles) responsables des propriétés antiradicalaires des polyphénols (Tourniaire, 2005).

Les polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters, de glycosides ou de polymères qui ne peuvent souvent pas être absorbés tels quels. Pour être absorbés, ces composés doivent être hydrolysés en aglycones par des enzymes intestinales ou par la microflore. L'action de la microflore sur les aglycones ainsi libérés conduit aussi à la production de divers acides aromatiques simples, ce qui limite leur absorption. Dans les entérocytes et ensuite au niveau du foie, les polyphénols sont conjugués avec des acides glucuroniques et des sulfates. Ils peuvent également être méthylés. Les métabolites circulants sont des dérivés conjugués fortement liés à l'albumine. Les polyphénols peuvent pénétrer dans les tissus, au moins dans ceux qui les métabolisent, mais leur capacité à s'accumuler dans des tissus cibles particuliers reste à explorer. Les polyphénols et leurs conjugués sont éliminés dans la bile et dans les urines. Par la voie biliaire, ils sont sécrétés au niveau du duodénum et soumis à l'action des enzymes bactériennes, notamment des β -glucuronidases dans les parties distales de l'intestin. Les aglycones libérés peuvent alors être réabsorbés, et il s'ensuit un cycle entérohépatique qui permet de prolonger la présence des polyphénols dans l'organisme (fig.21) (Manchado & Cheynier, 2006).

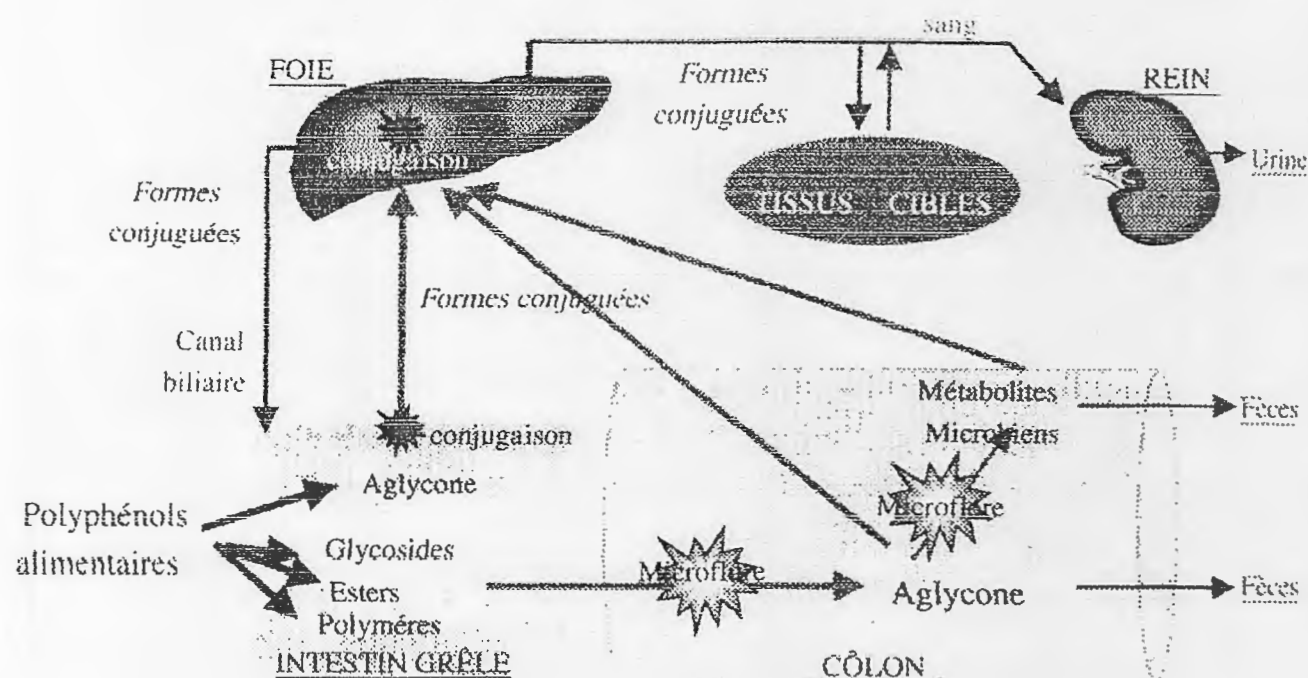


Fig. 21 : Schéma de la biodisponibilité des polyphénols
(Manchado & Cheynier, 2006).

1-3- Absorption intestinale et métabolisme

Actuellement, on ne connaît pas les mécanismes de transport impliqués dans l'absorption des polyphénols. Seul un transport actif dépendant du sodium a été décrit chez le rat pour les acides cinnamiques et féruliques (Ader et al., 1996).

Dans les aliments, les flavonoïdes, à l'exception des flavanols, sont présents sous forme de divers glycosides qui résistent au pH acide de l'estomac. Le sucre lié est le plus souvent un glucose ou un rhamnose mais, d'autres sucres peuvent être impliqués. Seuls les aglycones et quelques glucosides peuvent être absorbés au niveau de l'intestin grêle. Tous les autres glycosides ne peuvent être absorbés qu'au niveau du côlon, après hydrolyse en aglycones par les bactéries de la microflore. L'efficacité de l'absorption est alors réduite car la surface d'échange est plus faible dans le côlon que dans l'intestin grêle, et parce que la flore dégrade une grande partie des aglycones qu'elle libère, produisant divers acides aromatiques simples (Manach et al., 1997).

La diffusion de l'aglycone à travers la membrane intestinale serait facilitée par sa production à proximité de la membrane (Day et al., 2000b). Les glycosides de flavonols, flavones, isoflavones ou flavanones ne sont jamais retrouvés sous forme native dans le plasma (Setchell et al., 2002b). En revanche, le comportement des anthocyanes diffère de celui des autres flavonoïdes puisque de faibles quantités de glycosides ont été détectées dans les urines et le plasma de volontaires. Des études *in vitro* suggèrent que les anthocyanes pourraient être absorbés par un mécanisme différent de celui identifié pour les autres flavonoïdes. L'absorption de ces molécules pourrait se faire au niveau de l'estomac, grâce à la bilitranslocase (Passamonti et al., 2002). La nature polymérique des proanthocyanidines limite fortement leur absorption intestinale. Des études sur les

cellules Caco2, modélisant l'absorption dans l'intestin grêle, ont révélé que les oligomères au-delà des dimères et trimères ne pouvaient pas passer la barrière intestinale (Baba et al., 2002 ; Donovan et al., 2002b).

La muqueuse intestinale, le foie et les fluides biologiques tels que plasma, jus gastrique ou duodéal, ne possèdent pas d'estérases capables d'hydrolyser l'acide chlorogénique (constitué d'acide caféique estérifié par l'acide quinique) (Andreasen et al., 2001). Seule la microflore peut réaliser cette hydrolyse et plusieurs souches bactériennes impliquées ont été identifiées (Couteau et al., 2001). La conséquence est que, comme pour les glycosides, l'efficacité de l'absorption des acides phénoliques est nettement réduite lorsqu'ils sont estérifiés (Gonthier et al., 2003b).

1-4- Rôle de la microflore colique

Les polyphénols non absorbés au niveau de l'intestin grêle atteignent le côlon. La microflore hydrolyse les glycosides en aglycones puis métabolise ces derniers en divers acides aromatiques (Scheline, 1991). La dégradation des flavonoïdes se fait par ouverture de l'hétérocycle à un niveau qui dépend de leur structure chimique: Les flavonols produisent essentiellement des acides hydroxyphénylacétiques, les flavones et les flavanones des acides hydroxyphénylpropioniques, et les flavanols des phényl-valérolactones et des acides hydroxyphénylpropioniques. Ces acides sont ensuite métabolisés en dérivés de l'acide benzoïque.

Les fibres alimentaires, qui sont très souvent associées aux polyphénols dans les produits végétaux et qui stimulent les fermentations intestinales, pourraient, par exemple, favoriser la production de certains métabolites par la microflore. Des études récentes chez l'homme montrent pourtant que leurs concentrations plasmatiques et leurs taux d'excrétion urinaire peuvent être plus élevés que ceux des métabolites d'origine tissulaire, notamment dans le cas des polyphénols qui sont peu absorbés, comme les polyphénols du vin (Gonthier et al., 2003a ; Gonthier et al., 2003b).

La microflore colique produit également des métabolites actifs spécifiques. C'est par exemple le cas des lignanes du lin, métabolisés par la microflore en entérolactone et entérodiol qui possèdent des propriétés phyto-œstrogéniques (Mousavi & Adlercreutz, 1992).

1-5 Conjugaisons et nature des métabolites

Les polyphénols absorbés sont fortement conjugués : méthylés, glucuronidés et sulfatés. La méthylation a lieu essentiellement en position 3' sur le groupement catéchol du polyphénol, catalysée par la catéchol-O-méthyl transférase (COMT) mais aussi une faible proportion de dérivés 4-O-méthylés peut être produite. Le foie constitue le site essentiel de sulfatation des polyphénols par les phénols sulfo-transférases (Piskula and Terao, 1998). La présence de métabolites glucuronidés dans le sang mésentérique et portal de rats après perfusion de polyphénols dans leur intestin grêle démontre que la glucuronidation a lieu précocement dans les entérocytes, avant une conjugaison complémentaire dans le foie, cette réaction est catalysée par les UDP-glucuronosyltransférases (UGP) (Crespy et al., 2001). Des études *in vitro* à partir d'extraits microsomaux d'intestin ou de foie montrent que pour un polyphénol donné, la

nature des glucuronides est inchangée mais que pour la proportion relative des différents métabolites varie beaucoup selon les tissus et les espèces (Boersma et al., 2002). De façon générale, le plus fort taux de conjugaison a été observé en position 7 alors que l'hydroxyle en position 5 ne semble pas pouvoir être glucuronidé. Selon la nature des flavonoïdes, une proportion plus ou moins importante des glucuronides produits dans l'intestin sont réexcrétés dans la lumière intestinale ce qui réduit l'absorption nette (Andlauer et al., 2000). Cette sécrétion peut représenter plus de 50% de la dose de polyphénol ingérée (Ayrton & Morgan, 2001).

La sécrétion intestinale de conjugués ne représente pas une voie d'élimination pour tous les polyphénols puisqu'elle n'est pas observée avec la catéchine ou l'acide férulique par exemple (Crespy et al., 2003).

Le devenir métabolique dans le foie des conjugués produits par l'intestin n'est pas encore très clair (O'Leary et al., 2003). En fait, il est probable que la captation des conjugués d'origine intestinale, la production et le relargage des métabolites hépatiques soient contrôlés par des régulations complexes entre des systèmes de transports et des activités enzymatiques, comme cela a d'ailleurs déjà été montré pour d'autres types de conjugués (Sallustio et al., 2000).

L'importance relative des trois types de conjugaison (méthylation, glucuronidation et sulfatation) est variable selon la nature du substrat et de la dose ingérée. Ainsi la sulfatation est une voie à plus forte affinité et plus faible capacité que la glucuronidation, de telle sorte que lorsque la dose ingérée augmente, la sulfatation diminue au profit de la glucuronidation (Koster et al., 1981). L'équilibre entre glucuronidation et sulfatation semble aussi dépendre de l'espèce, du sexe et de l'état nutritionnel (Piskula, 2000). Une inhibition compétitive de la conjugaison pourrait aussi se produire lorsque divers polyphénols et xénobiotiques sont présents simultanément dans l'intestin. L'impact de la conjugaison sur les propriétés biologiques peut varier de manière importante en fonction des groupements chimiques bloqués par cette conjugaison (Day et al., 2000a).

1-6 Transport dans le plasma et passage dans les membranes

Les métabolites de polyphénols ne circulent pas sous forme libre dans le sang. (Boulton et al., 1998). L'albumine est la principale protéine impliquée dans le transport des polyphénols. L'affinité des composés pour cette protéine dépend de leur structure chimique (Dangles et al., 2001). L'impact de la sulfatation et de la glucuronidation des polyphénols n'est pas connu, mais il dépend certainement beaucoup de la position de substitution (Adzet et al., 1988).

La liaison à l'albumine peut avoir des conséquences importantes sur la vitesse d'élimination des métabolites et sur libération au niveau des tissus cibles. On admet classiquement que la captation cellulaire est proportionnelle à la concentration de métabolites libres. Cependant, des variations locales de pH à des sites spécifiques pourraient induire des changements de conformation de l'albumine, entraînant une dissociation du complexe ligand-protéine. Des changements conformationnels de l'albumine sont ainsi induits par des interactions non spécifiques avec diverses membranes, mais l'impact de ces changements sur la captation des ligands par les cellules est encore mal connu (Horie et al., 1988). La partition des polyphénols et de leurs métabolites entre les phases aqueuses et lipidiques est largement en faveur des phases aqueuses en raison de leur hydrophilicité et de leur liaison à l'albumine.

Cependant certains polyphénols peuvent pénétrer dans des membranes lipophiles (Ollila et al., 2002). A pH neutre, la plupart des polyphénols interagissent avec les têtes polaires des phospholipides à la surface des membranes, par la formation de liaisons hydrogène impliquant leurs groupements hydroxyles (Verstraeten et al., 2003). Cette localisation des polyphénols à la surface des membranes limite certainement l'accès et les attaques initiales des oxydants hydrophiles, une très faible proportion des polyphénols circulant dans le sang est effectivement associée avec la fraction LDL (low density lipoprotein) après consommation de doses nutritionnelles de ces composés (Gimeno et al., 2002). Les polyphénols sont seulement associés aux lipoprotéines par des interactions ioniques avec des résidus chargés à la surface des particules. La faible intégration des polyphénols dans les LDL a été confirmée par des incubations *in vitro* (Hayek et al., 1997). La protection s'exerce donc probablement à l'interface entre phases lipophile et hydrophile (Kaamanen et al., 2003).

1-7 Concentrations plasmatiques

Les concentrations plasmatiques atteintes après consommation de polyphénols varient énormément en fonction de la nature du polyphénol considéré et de la source alimentaire (Graefe et al., 2001), les concentrations plasmatiques d'anthocyanes sont très faibles, de l'ordre de quelques dizaines de nmol/L au pic de concentration (entre 30 min et 2h) après consommation de 110-200 mg d'anthocyanes, sans doute à cause de leur grande instabilité (Cao et al., 2001; Matsumoto et al., 2001). Les isoflavones sont les flavonoïdes les mieux absorbés, avec des concentrations plasmatique pouvant atteindre 1,4 à 4 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ 6 à 8h après consommation de quantités relativement faibles de produits à base de soja apportant environ 50 mg d'isoflavones (King & Bursill, 1998).

1-8 Biodisponibilité tissulaire

La détermination de la biodisponibilité des polyphénols au niveau tissulaire est sans doute encore plus importante que la connaissance de leurs concentrations plasmatiques. Les concentrations mesurées dans les tissus varient de 30 à 3000 ng d'équivalent aglycone par g de tissu selon la dose administrée et le tissu considéré. Il est encore difficile de dire si certains polyphénols peuvent s'accumuler dans certains tissus spécifiques et nous n'avons aucune idée des cinétiques de pénétration et d'élimination des métabolites dans les tissus. Quelques études semblent indiquer que des cellules pourraient incorporer les polyphénols par des mécanismes spécifiques (Schramm et al., 1999).

La nature des métabolites présents dans les tissus pourrait être différente de celle des métabolites plasmatiques, soit en raison d'une captation ou d'une élimination spécifique de certains d'entre eux par les cellules, soit à cause d'un métabolisme intracellulaire. Une étude a ainsi révélé que la pénétration des glucuronides de flavanones dans des cellules endothéliales de souris ou de rat était nettement inférieure à celle de l'aglycone correspondant (Youdim et al., 2003). Ces premiers résultats suggèrent qu'il n'existe pas de relation directe entre les taux circulants et tissulaires et que la distribution entre le sang et les tissus varie selon les polyphénols. Par ailleurs, ces données soulèvent aussi la

question de la pertinence de l'utilisation des taux plasmatiques comme biomarqueurs d'exposition aux polyphénols (Manchado & Cheynier., 2006).

1-9 Elimination

Les métabolites de polyphénols sont excrétés par voie biliaire et par voie urinaire. Les conjugués de plus haute masse moléculaire sont principalement excrétés dans la bile, alors que ceux de plus faible masse moléculaire, tels que les monosulfates sont plutôt excrétés par voie urinaire. Chez le rat, l'importance relative des excrétions urinaires et biliaires varie d'un polyphénol à l'autre (Crespy et al., 2003). Les bactéries intestinales possèdent des β -glucuronidases capables de libérer les aglycones des métabolites conjugués sécrétés dans la bile. Les aglycones peuvent donc être réabsorbés, entraînant un cycle entérohépatique (Manach et al., 2003).

Le taux d'excrétion urinaire a souvent été déterminé dans les études de biodisponibilité chez l'homme. Il est relativement élevé pour les flavanones des agrumes (4-30% de l'ingéré) (Manach et al., 2003). Les niveaux d'excrétion urinaire sont très faibles pour certains polyphénols : 0,005-0,1% de l'ingéré pour les anthocyanes (Wu et al., 2002). De faibles taux d'excrétion peuvent indiquer une forte excrétion biliaire ou un métabolisme important. Certains métabolites des anthocyanes pourraient ne pas encore avoir été identifiés en raison des difficultés d'analyse que posent ces composés très instables. L'excrétion urinaire des flavonols représente en moyenne 0,3 -1,4% de la dose ingérée (Graefe et al., 2001). Pour les acides caféiques et féruliques libres, les valeurs d'excrétion urinaire relative entre 5,9 et 27 (Rechner et al., 2001)

Les demi-vies d'élimination des polyphénols du plasma ont rarement été calculées avec précision. Les ordres de grandeurs sont de 2 h pour les anthocyanes (Cao et al., 2001), 2-3 h pour les flavanols (Lee et al., 2002), à l'exception du gallate d'épigallocatechine qui est éliminé plus lentement probablement en raison de sa forte excrétion biliaire ou d'une forte complexation avec l'albumine, déjà décrite pour les composés galloylés (Yang et al., 1998). La demi-vie est de 4-8 h pour les isoflavones (Setchelle et al., 2003). Ceci suggère que le maintien de taux élevés de métabolites de polyphénols dans le plasma nécessite une consommation fréquente et régulière de produits végétaux (Moon et al., 2000). Pour les composés présentant une absorption rapide et une demi-vie courte, telles que les catéchines, une accumulation de métabolites dans le plasma ne peut se faire qu'avec des apports répétés très rapprochés (Warden et al., 2001). Dans le cas contraire, les concentrations plasmatiques présentent une fluctuation en dents de scie, qui suit les ingestions répétées, sans accumulation finale (Hof et al., 1999).

2- Effets biologiques des métabolites de polyphénols

Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées *in vitro*, avec des enzymes purifiées, des cultures cellulaires ou sur des tissus isolés, ceci en utilisant des aglycones ou des glycosides isolés d'aliments. Il est évident que le métabolisme des polyphénols tels qu'il est maintenant décrit peut avoir un impact considérable sur leur activité (Manchado & Cheynier, 2006). Par exemple le degré d'hydrophobicité des polyphénols est intermédiaire entre celui de la vitamine C (acide ascorbique, très hydrophile) et celui de la vitamine E (α -D-tocophérol, très hydrophobe). Dans ces

condition, on peut penser que les polyphénols agissent aux interfaces eau /lipide et participent avec les vitamines C et E aux voies de régénération oxydatives, les réactions de glucuronidation et de sulfatation augmentent le caractère hydrophile des polyphénols et peuvent modifier leur site d'action, de même que leurs interactions avec les autres antioxydants. De plus elles peuvent réduire leur capacité réductrice intrinsèque (Moon et al., 2001). La méthylation en 3' ou 4' de la catéchine s'est aussi traduite par une réduction de la capacité à protéger les LDLs d'une oxydation *in vitro* (Cren-Olive et al., 2003). Cependant, une augmentation de la capacité antioxydante globale du plasma a souvent été observée suite à la consommation de divers aliments riches en polyphénols (fruits, thé, vin rouge), ce qui montre que certains métabolites de polyphénols conservent tout de même une activité antioxydante non négligeable (Rein et al., 2000 ; Serafini et al., 2000). La conjugaison peut favoriser des activités biologiques spécifiques, comme cela a été démontré pour des xénobiotiques (Kauffman et al., 1994). D'une manière générale, la conjugaison semble néanmoins plutôt réduire les activités spécifiques des polyphénols (Spencer et al., 2001). Il est encore très difficile de tirer des conclusions quant à l'impact du type de conjugaison et des positions de conjugaison sur les diverses activités biologiques des polyphénols au regard du nombre trop limité d'études disponibles sur le sujet.

Les polyphénols pourraient également agir après déconjugaison des métabolites au niveau cellulaire. Cette possibilité existe pour les sulfates et glucuronides des œstrogènes endogènes (Zhu et al., 1996).

Les polyphénols pourraient avoir un effet indirect sur la santé par le fait qu'ils sont métabolisés par les mêmes voies que divers xénobiotiques et hormones endogènes (Zhue, 2002). La dérégulation de la méthylation des neurotransmetteurs et des hormones chez l'homme est un facteur de risque important dans le développement de maladies neurodégénératives, de maladies cardiovasculaires et de cancers hormondépendants. Ainsi, une inhibition complétive de la méthylation des catécholamines et des catéchol œstrogènes par les polyphénols pourrait se traduire par un impact sur les pathologies citées (Marchetti et al., 2001). Les interactions avec les transporteurs de xénobiotiques devraient aussi être évaluées. Les isoflavones interagissent avec les transporteurs tels que la glycoprotéine P ou le transporteur caniculaire d'anions organiques multispécifique (Evans, 2000). De plus, les flavonoïdes pourraient inhiber des cytochromes P₄₅₀ et augmenter la biodisponibilité de certaines drogues (Fuhr, 1998). Ces données suggèrent que les polyphénols pourraient modifier la biodisponibilité de nombreux carcinogènes et d'autres composés toxiques en modulant les activités des diverses enzymes impliquées dans leur métabolisme (Manchado & Cheynier, 2006).

3- propriétés pharmacologiques des polyphénols

Les polyphénols sont des molécules à fort potentiel Santé. Cependant la valorisation des produits alimentaires basée sur les polyphénols et leur effet « Santé » (compléments alimentaires, aliments fonctionnels) n'est pas encore répandu, deux problèmes majeurs sont à mettre en cause. Tout d'abord, le soucis de compréhension de l'effet antioxydant des polyphénols, du lien avec les cancers, les maladies cardiovasculaires, et le vieillissement cutané n'est évidente ni pour le grand public, ni pour certains médecins, le second obstacle majeur est l'absence de textes relatifs à ces molécules (Collin et al., 2004). Plusieurs propriétés biologiques importantes des polyphénols *in vitro* font l'objet

de nombreuses publications. Des études réalisées sur des extraits ou des molécules isolées à l'état pur (tableau 2) démontrent les propriétés antiagrégante-plaquettaire, anti-inflammatoire, anticancéreuse, anti-microbienne, anti-ulcéreuse... Ces molécules pourraient être à l'origine des bienfaits constatés vis-à-vis de diverses pathologies, comme le suggèrent de nombreuses enquêtes épidémiologiques (Edeas et al., 2004).

Tab.2: activité biologique des polyphénols (Collin et al., 2004)

	Teneur totale en polyphénols	Polyphénols les plus actifs	Activité biologique
Vin	1 à 4 g/l	Resvératrol : 3 à 7 mg/l Catéchines + proanthocyanidols : 1165 mg/kg de grappes (Pinot Noir) dont 63% dans les pépins, 16% dans les pellicules et 21% dans les rafles	Prévention des maladies cardiovasculaires (inhibition de l'oxydation des LDL, des plaquettes sanguines) Action antiproliférative, anti-âge, anti-inflammatoire, antivirale, phytoestrogénique, protection du capital osseux.
Cacao	7,2 g/100g de poudre de cacao	Flavanols : catéchines et épicatechines (monomères) et procyanidines (oligomères)	Prévention des maladies cardiovasculaires (inhibition de l'oxydation des LDL, des plaquettes sanguines, action vasodilatatrice). Action immunomodulatrice, antiproliférative.
Thé	300 à 400 mg/tasse de thé = 36% de la matière sèche	EGCG (épigallocatechine gallate) : 30 mg/tasse	Prévention des maladies cardiovasculaires (inhibition de l'oxydation des LDL, des plaquettes sanguines, baisse pression sanguine) Action antiproliférative, anti-âge, antivirale, antibactérienne, protection du capital osseux.
Pomme	3 mg flavonoïdes /100g de pomme fraîche 500 mg/100g de peau	Flavanols (quercétine) Flavanols (catéchines : 300 mg /100g de peau et procyanidines) Anthocyanines : 27 mg/100g de peau	Prévention des maladies cardiovasculaires (inhibition de l'oxydation des LDL), action hypolipidémiant. Activité hormonale, action antitumorale Action anti-caries.

3-1- L'effet antioxydant

Le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre en faveur des espèces prooxydantes par rapport au système de défense de l'organisme (antioxydants) contre ces substances. Ce déséquilibre a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (Delattre et al, 2005).

L'oxygène est essentiel pour le maintien de la vie mais il peut avoir un effet délétère si le nombre de radicaux contenant de l'oxygène excède les besoins de la cellule ou ne sont pas éliminés correctement. L'activité métabolique produit des radicaux libres, molécules instables capables de réagir avec d'autres molécules donneuses d'électrons pour équilibrer leur charge. Différents types de radicaux libres sont générés et peuvent endommager la cellule, mais cette dernière lutte contre leur activité toxique grâce à des mécanismes antioxydants. L'équilibre redox est parfaitement régulé, mais le stress oxydatif induit par une ROS (surproduction de radicaux oxygénés) conduit à la désorganisation des fonctions cellulaires (Hazgui, 2007). Les principales cibles radicalaires sont (Singal, 1988) :

- *L'ADN* : les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN protéines ou des ruptures de brins.

- *Les macromolécules* : les radicaux libres sont responsables d'inactivation enzymatique en particulier des sérine-protéases, d'une fragmentation des macromolécules (collagène, protéoglycannes...), de formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques. Les acides aminés les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine, la cystéine.
- *Les lipides* : ils sont une cible privilégiée des radicaux libres qui provoquent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires

Tous les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.). Ingérés avec nos aliments, ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (Lipides et autres macromolécules) contre le stress oxydant. Ils ont aussi des propriétés spécifiques (affinité pour des récepteurs cellulaires comme les récepteurs des estrogènes, impact sur la signalisation cellulaire) qui induisent des réponses cellulaires très diverses. La somme de ces effets se traduit par des effets santé que l'on commence tout juste à comprendre à travers les expérimentations animales et cliniques (Scalbert, 2003).

Lorsqu'on vieillit, le bon fonctionnement de tous les organes baisse, mais de façon variable, on risque de plus en plus de développer des maladies dues à l'âge. La théorie des radicaux libres du vieillissement, affirme que le vieillissement est dû aux dommages des radicaux libres accumulés pendant toute la durée de vie humaine. La capacité diminuée à répondre à des agressions qui surviennent avec l'âge peut entraîner des anomalies dans les voies de transduction de signal. On a montré que les régimes supplémentés en fruits à haute teneur en polyphénols avaient un effet antiviellissement sur le captage du Ca^{2+} et la récupération après dépolarisation dans les synaptosomes (Halliwell, 2003). Des études en cours cherchent à caractériser quels composés polyphénoliques présents dans la myrtille et d'autres fruits et légumes peuvent contribuer aux effets antiviellissement significatifs; les anthocyanes protégeant considérablement les globules rouges contre les espèces réactives d'oxygène même à faibles doses. Des expériences ont montré que les anthocyanes de baies pénètrent dans diverses espèces de cellule et que leur incorporation dans le cytosol de la cellule protège contre le stress oxydatif provoqué par l' H_2O_2 et la perte de fonction cellulaire (Halliwell, 2003).

3-2 Effet protecteur contre les maladies Cardiovasculaires

Les polyphénols ont des propriétés anti-oxydantes pourraient potentiellement réduire le risque des maladies Cardiovasculaires. Les antioxydants empêchent en effet le cholestérol de s'oxyder et par le fait même d'adhérer aux artères. Les polyphénols protègent aussi contre les AVC (Beaudoin & Latour, 2005).

a. Inhibition de l'oxydation des LDL

Le phénomène d'auto-oxydation ou peroxydation lipidique consiste en l'attaque par un radical libre, d'origine exogène ou endogène, de dérivés lipidiques. Le radical formé ($R\cdot$) subit un réarrangement interne, dû à une tautomérie liée au déplacement de la

double liaison la plus proche de l'électron célibataire, et existe donc sous 2 formes en équilibre (figure 22) (Fulbert, 1992).

En présence d'oxygène, il se forme un radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$) qui déstabilise une deuxième molécule d'AGPI (Acides gras polyinsaturés) et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical $\text{R}\cdot$. Cette auto-oxydation se propage et s'amplifie d'un acide gras à l'autre.

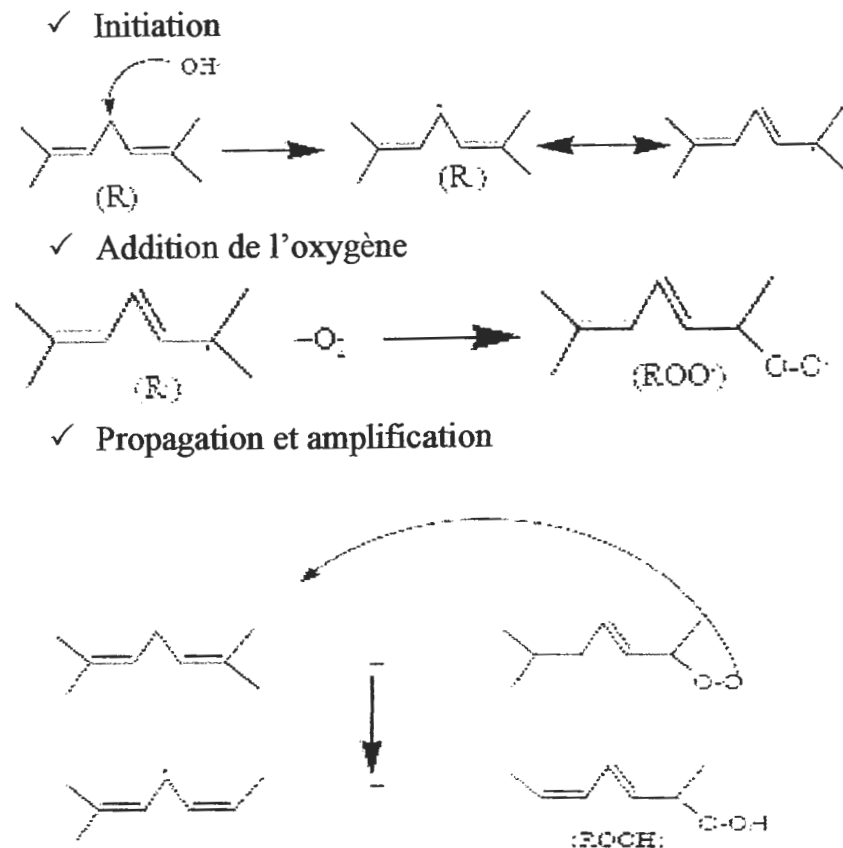


Fig. 22: Mécanisme de la peroxydation lipidique (Fulbert, 1992).

Les LDL oxydées sont cytotoxiques vis-à-vis des cellules endothéliales en culture. Elles augmentent la peroxydation lipidique cellulaire et provoquent une déplétion en ATP et en glutathion (Schmitt et al., 1995).

Les polyphénols de jus de grenade protègent les LDL contre l'oxydation à médiation cellulaire via deux mécanismes qui mettent en jeu une interaction directe des polyphénols avec la lipoprotéine et/ou une action indirecte liée à l'accumulation des polyphénols dans les macrophages artériels. Il a ainsi été démontré que les polyphénols de grenade inhibent l'oxydation des LDL en détruisant les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. Par ailleurs, les polyphénols de grenade augmentent l'activité paraoxonase sérique ce qui entraîne l'hydrolyse des peroxydes lipidiques dans les lipoprotéines oxydées et dans les lésions athérosclérotiques (Aviram et al., 2002). Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre

les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés., ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus, ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer (Acker et al., 1995).

b. Effets vasodilatateurs

Les études menées *in vitro* montrent que les composés polyphénoliques du vin et du jus de raisin induisent des relaxations dépendantes de l'endothélium impliquant le monoxyde d'azote (NO) dans diverses artères isolées (Fitzpatrick et al., 1993). Cette formation accrue de NO est principalement due à l'augmentation de l'activité de la NO synthase endothéliale dépendant de la concentration cytosolique en calcium libre et l'autre de la voie PI3-kinase/Akt. Les composés polyphénoliques induisent aussi des relaxations dépendantes de l'endothélium impliquant le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) (endotheliumderived hyperpolarizing factor) dans les artères coronaires (Chataigneau et al., 2003).

À long terme, les composés polyphénoliques sont également capables d'augmenter l'expression de la NO synthase endothéliale. De plus, ces composés présentent des propriétés antioxydantes qui améliorent la biodisponibilité du NO en le protégeant de la dégradation par les anions superoxydes, les radicaux hydroxyls et les radicaux produits par la peroxydation lipidique. Les autres effets anti-oxydants des polyphénols incluent l'inhibition de la xanthine oxydase, une des principales sources enzymatiques d'espèces réactives de l'oxygène vasculaires, et une stimulation des systèmes antioxydants endogènes (Nijveldt et al., 2001).

D'après la figure 23, ces composés sont capables d'induire une augmentation de la concentration cytosolique de calcium libre (a), mettant en jeu un relargage de calcium des stocks intracellulaires et un influx calcique, dans les cellules endothéliales et permettant l'activation de la NO synthase endothéliale (eNOS) par le complexe calcium-calmoduline (Ca^{2+}/CaM). Une autre voie d'activation (b) de la eNOS dépend de l'activation de la voie phosphoinositide 3 (PI3)-kinase/Akt et la phosphorylation consécutive de la NO synthase. Dans cette voie, les lipides membranaires Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphates (PIP2) sont convertis en phosphatidylinositol-3, 4,5-triphosphates (PIP3) par la PI3-kinase (PI3K). Akt (protéine kinase B), alors recrutée au niveau de PIP3, peut ensuite être phosphorylée par la protéine kinase 1 dépendante des phosphoinositides (PKB1) et ainsi être activée. C'est Akt phosphorylée qui sera alors responsable de l'activation de la eNOS par phosphorylation de l'enzyme. Les composés polyphénoliques du vin rouge peuvent donc induire des relaxations dépendantes de l'endothélium médiées par le NO et impliquant principalement le GMP cyclique (GMPc) provenant de l'hydrolyse du GTP par la guanylyl cyclase soluble (GCs) dans les cellules musculaires lisses. Une exposition de longue durée des cellules endothéliales à ces composés est également capable d'entraîner une augmentation de l'expression de la eNOS (non illustré) (Thierry et al., 2003).

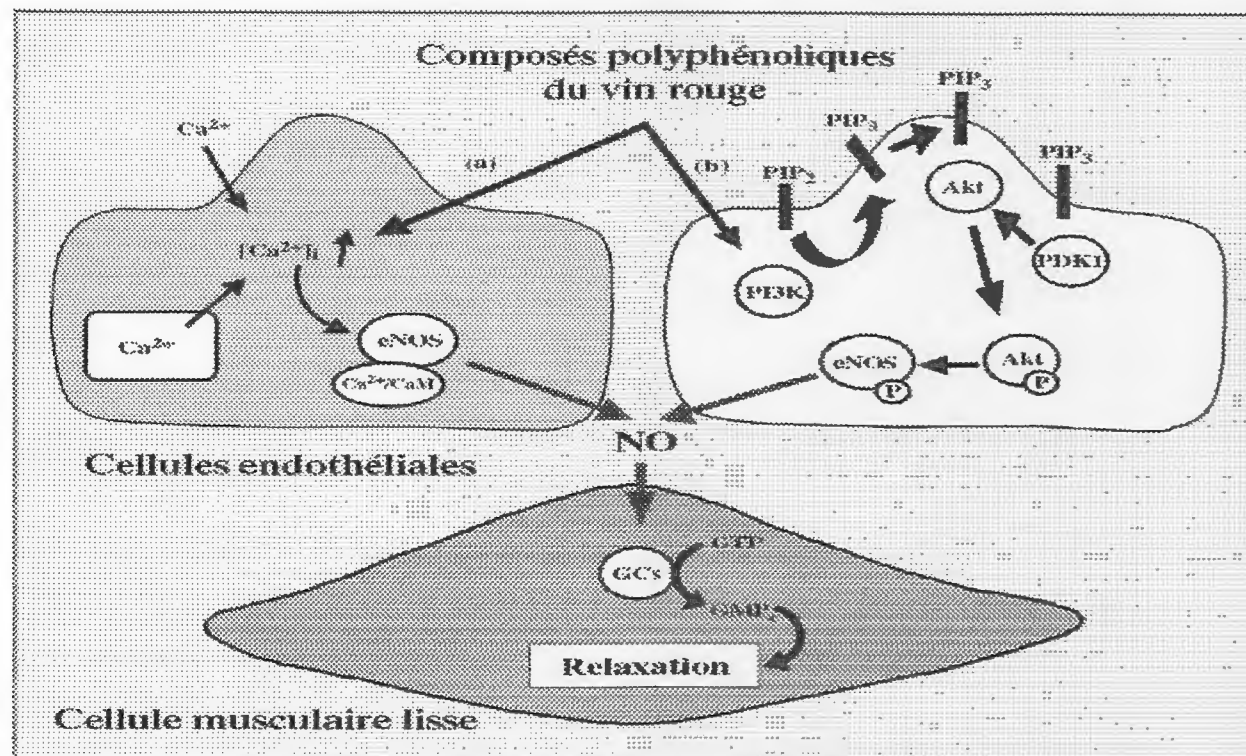


Fig. 23: Les composés polyphénoliques du vin rouge stimulent la formation endothéliale de NO dans les artères (Thierry et al., 2003)

c. Effets Anti-thrombotique

Le vin rouge est capable de ralentir la progression du processus d'athérosclérose. Il est en effet capable de s'opposer au passage d'un stade de lésions précoces, comme on peut l'observer dans les artères coronaires à l'âge infantile, à un stade de plaques évoluées, promptes à se rompre et entraînant la formation instantanée d'un thrombus mural aboutissant à une ischémie tissulaire. Les effets protecteurs des composés polyphénoliques du vin pourraient être attribués, du moins en partie, à leur capacité à améliorer le profil lipidique, à inhiber l'activation plaquettaire et à empêcher l'expression de molécules pro-thrombotiques (par exemple, facteur tissulaire) et pro-athérosclérotiques (par exemple, monocyte chemoattractant protein-1) (Flesch et al., 1998).

3-3 Effet anti-apoptotique

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, est un phénomène dont la régulation est très complexe et où la mitochondrie joue un rôle central. Des composés phénoliques, en particulier certains flavonoïdes (catéchine, épi-catéchine, épi-catéchinegallate, etc.), peuvent intervenir pour limiter l'apoptose dans les cellules non tumorales. Ils interviennent en réduisant le cytochrome, normalement localisé dans l'espace mitochondrial intermembranaire, participe au déclenchement de l'apoptose lorsqu'il est libéré sous forme oxydée dans le cytosol. Par ailleurs, dans les cellules tumorales, la stimulation par de nombreux flavonoïdes (en particulier la génistéine) de l'apoptose induite par la mitochondrie est au contraire fréquemment signalée traduisant alors une activité anticancéreuse. Dans tous les cas, les composés phénoliques pourraient agir d'une part par leurs propriétés antioxydantes et d'autre part par des mécanismes

beaucoup plus spécifiques impliquant les voies de signalisation intracellulaire et les MAP (Mitogen- Activated protéin) kinase qui régulent les phénomènes d'apoptose associés à la mitochondrie (Macheix et al., 2005).

3-4 Effet neuroprotecteur

L'action du thé sur la protection des cellules du cerveau est maintenant reconnue. Des études montrent en effet le lien qui existe entre le thé et les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Le polyphénol est encore une fois l'agent bénéfique éliminant les excès de radicaux d'oxygène pouvant attaquer les membranes cellulaires et ainsi provoquer la mort des cellules, qui caractérisent les deux maladies. De plus, la consommation de thé vert ou noir a pour effet d'inhiber une enzyme, soit l'acétylcholinestérase, responsable de la dégradation de l'acétylcholine, un des facteurs de la maladie d'Alzheimer (Beaudoin & Latour, 2005)

La maladie d'Alzheimer est la plus commune des maladies neurodégénératives, touchant environ 24 millions de personnes à travers le monde. Elle se caractérise par une perte progressive et irréversible des fonctions mentales. L'accumulation d'un peptide anormal, le peptide bêta-amyloïde, sous forme de plaques et/ou de fibrilles amyloïdes serait l'une des principales causes de cette maladie (Pike et al., 1993; Yankner, 1996). Ainsi, la découverte de molécules capables de prévenir l'agrégation du peptide bêta-amyloïde pourrait mener à une voie thérapeutique potentielle. Les polyphénols sont connus pour leur capacité à interagir avec les protéines (Haslam, 1974).

3-5 Effet sur les maladies hormono-dépendantes

Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux oestrogènes endogènes. Certains polyphénols et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des oestrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-oestrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des polyphénols tels la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-oestrogéniques où inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée. Là encore, de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme. Les orientations récentes des recherches sur les polyphénols visent d'une part à mieux comprendre les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire et à évaluer par des études cliniques leur incidence sur certains marqueurs clé associés aux pathologies (Scalbert, 2003).

3-6. Effets antimicrobiens

Les polyphénols du thé vert et noir enrayent la formation de plaque dentaire en empêchant les bactéries de produire des acides. Il contribue donc à prévenir les caries. Ces thés contiennent aussi du fluor, aussi bien connu pour son rôle dans la santé des dents. De plus, en éliminant les bactéries buccales, le thé contribue à prévenir la mauvaise haleine (Beaudoin & Latour, 2005).

Outre leurs propriétés anti-inflammatoires et anti-obstructives, les flavonoïdes accélèrent le processus de destruction des agents pathogènes en améliorant la capacité des macrophages à les neutraliser. La transformation des macrophages en antigène est donc plus rapide et les lymphocytes-T peuvent intervenir avec plus d'efficacité (Piquemal, 2008).

En l'absence de vaccin contre le SIDA, les microbicides topiques susceptibles de bloquer la transmission du virus pourraient s'avérer très utiles. Le jus de grenade contient des inhibiteurs d'entrée du HIV-1 qui peuvent être isolés par adsorption sur de l'amidon de maïs. L'étude de ce complexe montre qu'il bloque la liaison du virus avec certains récepteurs cellulaires. Les polyphénols de l'extrait de grenade pourrait donc être utilisé pour la production d'un microbicide efficace et bon marché (Neurath et al., 2004).

3-7. Effets Antiallergiques

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (Di Carlo, 1999).

3-8. Effets Anticancéreux

La ROS (surproduction de radicaux oxygénés) participe dans l'activation métabolique des procarcinogènes et peut aussi induire les mutations oncogènes en modifiant la structure des bases de l'ADN (Hazgui, 2007). Les mécanismes biochimiques et moléculaires de la carcinogénèse multi-étapes sont illustrés dans la figure 25, selon Jen-Kun Lin et coll (1999). ROS présente un potentiel carcinogène et est associé à la promotion tumorale. Certains ROS ont été décrits comme jouant le rôle de second messenger pour plusieurs cytokines et facteurs de croissance. Par conséquent, un antioxydant comme l'EGCG (épigallocatechine gallate), tel que le montre la figure 24, peut agir à différents niveaux, allant du blocage de l'activation du carcinogène à l'inhibition de la progression tumorale et de la formation de métastases. L'EGCG inhibe l'action des enzymes de phase I, prévenant ainsi l'activation des procarcinogènes et induit la synthèse d'enzymes de phase II conduisant à l'inactivation des carcinogènes et à leur excrétion. Il a été démontré que les catéchines du thé vert possédaient une activité antioxydante plus importante que la vitamine C et la vitamine E (Hazgui, 2007).

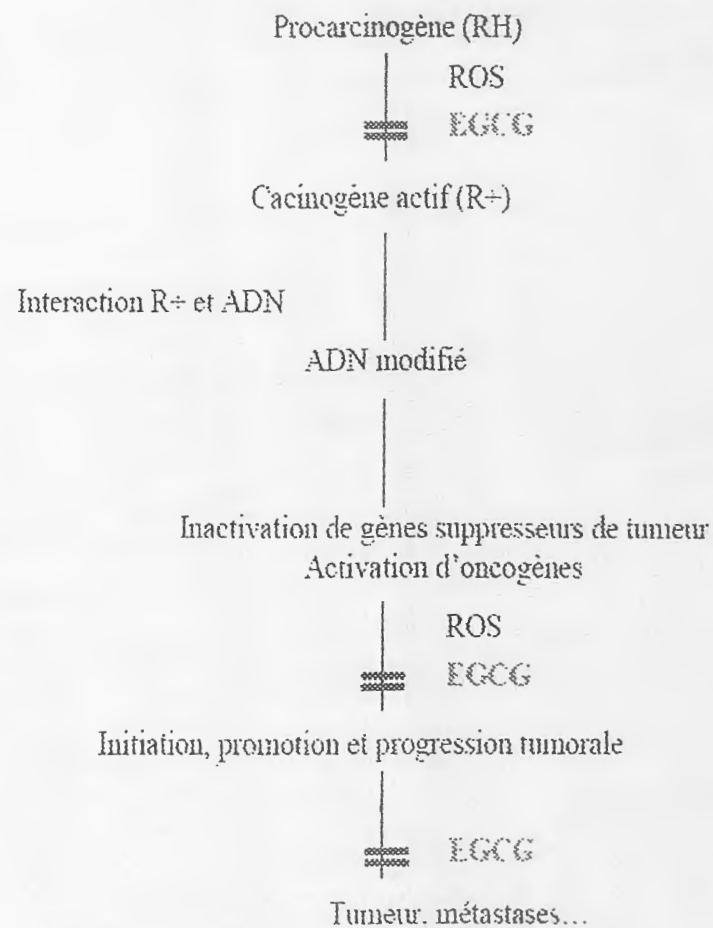


Fig. 24 : Les différents niveaux d'action de l'EGCG (Lin et al., 1999)

3-9. L'effet inhibiteur de la prolifération cellulaire

La prolifération cellulaire est une étape importante dans le processus de progression tumorale, et l'échappement à la régulation de ce processus induit la formation de masses tumorales qui dans certaines conditions peuvent mener à des métastases. Plusieurs études ont montré que l'EGCG est également capable d'inhiber préférentiellement la prolifération cellulaire (Hazgui, 2007), et d'induire un effet pro-apoptotique au niveau des cellules tumorales. L'apoptose est un mécanisme régulé de mort cellulaire par lequel des cellules indésirables ou endommagées sont éliminées. Il a été clairement démontré que l'EGCG induisait l'apoptose et l'arrêt du cycle cellulaire dans de nombreuses cellules cancéreuses (Ji et al., 2006), cet effet est préférentiel affecter les cellules normales. En effet, l'EGCG inhibe la prolifération de cellules de foie (Wei et al., 2003), il inhibe également la prolifération des cellules épithéliales intestinales transformées (Peng et al., 2006), des cellules cancéreuses de sein (Hazgui, 2007), des cellules de mélanomes (Nihal et al., 2005), des cellules cancéreuses du col utérin en induisant l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 (Yokoyama et al., 2004).

L'inhibition du cycle cellulaire est considérée comme une cible thérapeutique dans la prise en charge du cancer. Bien que l'EGCG a été montré comme étant capable de moduler de nombreux facteurs associés à la progression du cycle cellulaire, l'inhibition directe des kinases cycline-dépendantes est considérée comme l'effet majeur de l'EGCG

sur l'inhibition cycle cellulaire, avec pour conséquences l'induction de divers régulateurs négatifs du cycle cellulaire.

3-10. Effet antidiabétique

Le glucose constitue un carburant métabolique indispensable au cerveau, au système nerveux et aux érythrocytes mais une hyperglycémie de longue durée cause des dommages fréquents aux tissus, comme on le constate pour le diabète. Ce qui est intéressant, c'est qu'une haute teneur en glucose cause du tort en occasionnant une production excessive de radicaux libres (Halliwell, 2003).

Les polyphénols du thé modulent la glycémie selon plusieurs mécanismes comme la modification de la production hépatique de glucose (Waltner-Law et al., 2002) ou l'augmentation de sa captation par les tissus périphériques. Plusieurs études *in vitro*, menées sur cultures cellulaires, ont montré que les polyphénols augmentaient l'utilisation du glucose par les tissus périphériques. Des extraits de thé noir comme de thé vert et l'EGCG augmentent l'utilisation du glucose dans des adipocytes de rats, à la fois en présence et en absence d'insuline (Anderson & Polansky, 2002). Autre voie d'action, les propriétés antioxydantes des polyphénols du thé sont bien décrites et pourraient, au moins partiellement expliquer certains effets bénéfiques sur le système insuline et chez les diabétiques qui développent un stress oxydant élevé. Les polyphénols comprenant des groupes catéchols qui sont des cycle aromatiques porteurs de deux groupements hydroxyle en position ortho ont un pouvoir antioxydant supérieur aux molécules ne comportant qu'un seul groupement hydroxyle (Rice-Evans et al., 1995 ; Rice-Evans et al., 1996), le thé vert et ses constituants (EGCG) pourrait agir comme facteur de prévention de l'intolérance au glucose et du diabète de type 2 à travers un mécanisme d'action mettant en jeu ses propriétés insuline-like et ceci en complément de ses propriétés antioxydantes. Les Polyphénols de la cannelle sont des Potentialisateurs de l'insuline. Ses propriétés seraient dues à la fois à des mécanismes antioxydants et à leur effet insuline-like (Quin et al., 2003).

Chapitre III
Biologie et pharmacologie de:
Quercétine et rutine

1- La quercétine

1-1 Définition de la quercétine

La quercétine est l'une des molécules les plus représentatives de la famille des flavonoïdes, responsable de la coloration des fruits, des légumes et des plantes médicinales. Dans la nature, la quercétine est souvent liée à la vitamine C. Elle est chimiquement très proche de la rutine (un autre flavonoïde). La quercétine est reconnue pour être le plus actif des flavonoïdes. C'est à elle que plusieurs plantes médicinales, dont le ginkgo et le millepertuis, doivent une partie de leurs effets thérapeutiques (Lefrançois & Ruby, 2007).

1-2 La structure chimique

La quercétine dérive du motif flavonol (figure 25) par substitution de groupements hydroxyles en position 3, 5, 7, 3' et 4'. Cette structure particulière lui confère les caractéristiques les plus souvent mises en avant dans l'activité d'un flavonoïde: Le cycle catéchol et l'insaturation en position 2 conjuguée avec la fonction carbonyle en position 4. De plus elle possède les trois sites de complexation communément admis pour les flavonoïdes. Pour toutes ces raisons, la quercétine est la molécule modèle par excellence pour aborder l'étude des flavonoïdes à l'aide des méthodes de chimie théorique (Fiorucci, 2006)

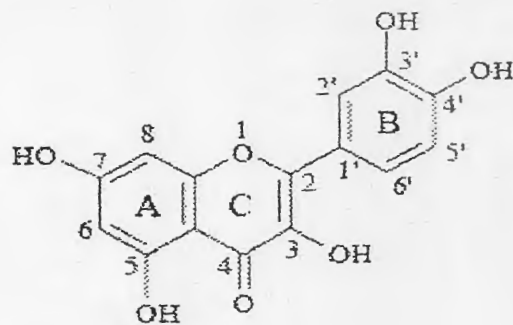


Fig. 25: structure de la quercétine (Fiorucci, 2006)

1-2 Sources

La quercétine est un flavonoïde issu de la rutine que l'on trouve en abondance dans un grand nombre d'herbes, de fruits et de légumes (Ogasawara et al., 1985). Les oignons sont l'une des sources les plus intéressantes de quercétine : ils en fournissent environ 15 mg par 100 g (environ 2/3 de tasse), l'oignon rouge étant le champion avec 20 mg par 100 g. Une petite pomme en fournit autour de 4 mg/100 g avec sa peau, l'épluchage diminuant sa teneur à 1,5 mg/100 g. D'autres denrées d'usage courant contiennent des quantités intéressantes de quercétine : le thé, le vin rouge, le sarrasin, les baies (bleuet, canneberge, groseille, etc.), l'aneth frais, les haricots verts et jaunes, etc (Lefrançois & Ruby, 2007).

2- La rutine

2-1 Définition et structure chimique de la rutine

La rutine est chimiquement très proche de la quercétine (Lefrançois & Ruby, 2007). Elle est appelée : la quercétine-3-O- β -rutinoside (figure 26), quercétine-3-rutinoside ou rutoside. Cette molécule a été identifiée pour la première fois dans *Ruta graveolens* d'où son nom et est présente dans plus de trente familles des plantes principalement dicotylédones (Rastrelli et al., 1995). La rutine existe sous le nom de solurutine-papavérine retard en comprimés et en ampoules injectables (Touitou, 1999).

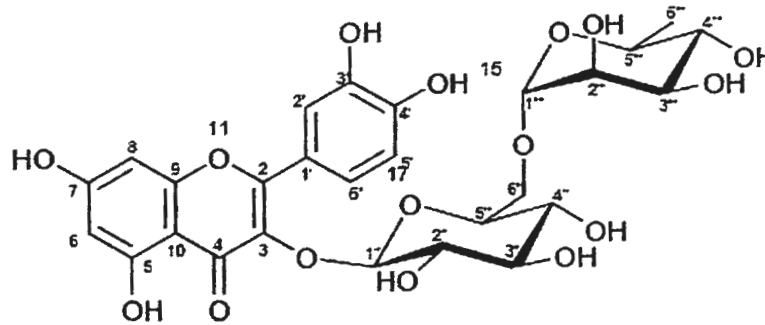


Fig.26: La structure de la quercétine-3-O- β -rutinoside (Lhuillie, 2007)

2-2 Sources

La rutine est présente dans plusieurs plantes médicinales, dont l'*eucalyptus*, l'*aubépine*, le *ginkgo biloba* et le *millepertuis*. Le sarrasin est l'une des meilleures sources alimentaires de la rutine, on la trouve aussi dans les agrumes (dans leur peau surtout), le raisin, le vin rouge, les abricots, les cerises, les mûres et la pelure de pomme. Dans ces fruits, elle est généralement combinée à d'autres bioflavonoïdes (Lefrançois & Ruby, 2007). La rutine (ou vitamine P qui est la vitamine de la perméabilité) se trouve dans la courgette (Stumpf et al., 2003) mais aussi dans la peau des citrons et des oranges, des poivrons verts).

2-3. Propriété physicochimique

La rutine se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. Ce composé réagit avec le réactif de Neu en affichant une fluorescence jaune sous UV (Ultraviolet) à 365 nm laissant envisager une structure de type flavonoïdes confirmée par les deux maxima à 258 et 352 nm du spectre d'absorption UV (Lhuillier, 2007). La rutine est considérée en règle générale comme manquant de toxicité. Sa capacité la mieux connue est de diminuer la perméabilité et la fragilité capillaires. Elle est utilisée habituellement dans des formules conjointement avec la vitamine C ou d'autres bioflavonoïdes, ainsi que le fruit de l'églantier, en particulier dans le secteur des aliments naturels (Leung & Foster, 1996).

3- Biodisponibilité de la quercétine et la rutine

La quercétine est le flavonoïde le plus abondant et le plus étudié de notre alimentation. La biodisponibilité de la quercétine dépend de son degré de glycosylation. Elle est présente sous forme de glycosides, avec un ou deux résidus de glucose, dans l'oignon qui constitue une des principales sources alimentaires de flavonoïdes. Une fois absorbés, les flavonoïdes ne sont jamais présents sous leur forme native végétale, mais toujours sous forme déglycosylée et sont conjugués avec divers groupements: méthyle, sulfate, glucuronide. Une partie des flavonoïdes excrétés par voie biliaire sont réabsorbés (cycle entérohépatique) (Robin, 2001).

Une étude a comparé chez le cochon la biodisponibilité de différents glycosides de quercétine (dont l'isoquercitrine) et de l'aglycone de quercétine. Les résultats ont montré que l'isoquercitrine avait une biodisponibilité très supérieure à celles des autres formes. Cette biodisponibilité était également dépendante de facteurs alimentaires (Cermak et al., 2003)

La plus faible absorption de la rutine (quercétine 3-O-rutinoïde) comparée à la quercétine a été clairement montrée chez le rat (Manach et al., 1997). La rutine est absorbée beaucoup plus tardivement que la quercétine 4-glucose chez l'homme et sa biodisponibilité ne représente que 15-20% de celle de la quercétine 4-glucose, qui est un glucoside majeur de la quercétine présent dans l'oignon (Hollman et al., 1999). Dans le cas des glucosides de quercétine, l'absorption a lieu au niveau de l'intestin grêle, et ceci de manière efficace que pour l'aglycone. Les mécanismes impliqués ont été en partie élucidés. Une équipe de recherche hollandaise a suggéré que ces glucosides pourraient être transportés dans les entérocytes par le transporteur du glucose. Ils seraient ensuite hydrolysés dans les cellules par une β -glucosidase cytosolique (Day et al., 2000). Une autre possibilité impliquerait la LPH ou le lactate phloridzine hydrolase, une glucosidase de la bordure en brosse qui catalyserait l'hydrolyse des glycosides avant pénétration dans la cellule.

4- Propriétés pharmacologiques

4-1 Effet antioxydant

a. La quercétine

La quercétine est un bioflavonoïde naturel qui possède de fortes propriétés antioxydantes. Son activité antioxydante protège le tube digestif de diverses manières.

- × Premièrement, la quercétine prévient l'oxydation des lipides. Le tube digestif présente une exposition accrue au stress oxydant, notamment à cause de son faible pH. Il est important de protéger la bicouche lipidique de la paroi cellulaire du tube digestif parce que ces cellules jouent un rôle important dans le système immunitaire.
- × Deuxièmement, la quercétine prévient la déplétion du glutathion des cellules du tube digestif. Le glutathion est un co-substrat des

enzymes antioxydantes glutathion peroxydase et glutathion réductase. En préservant le niveau de glutathion; la quercétine protège l'activité métabolique et la structure cellulaire des cellules particulièrement vulnérables du tube digestif contre les dommages causés par les radicaux libres. Par un effet synergique, la vitamine C améliore la capacité de la quercétine de préserver le glutathion

- × Troisièmement, la quercétine augmente la sécrétion de mucus des cellules gastriques de façon à protéger les cellules contre le faible pH de l'estomac et, par le fait même, à accroître la protection de la muqueuse gastrique (James et al., 1997; Skaper et al., 1997).

b. La rutine

La rutine est sans danger et est reconnue pour son utilisation en combinaison avec la vitamine C, afin de réduire son oxydation. O'Brien et ses collaborateurs, ont fait des recherches sur l'effet protecteur de la quercétine et la rutine contre les dommages à l'ADN causés par H₂O₂ dans deux lignées cellulaires (Caco-2 et HepG2) et ils ont prouvé un niveau similaire de protection contre les ruptures de brins d'ADN dans les deux lignées cellulaires, et par conséquent, des propriétés anti-oxydantes. Boyle et ces collaborateurs, ont mené également une étude clinique sur 18 bénévoles afin de déterminer l'effet anti-oxydant potentiel d'une supplémentation avec de la rutine (500 mg pendant jusqu'à 6 semaines). La supplémentation n'a pas produit de changements indésirables dans la chimie du sang et les fonctions du foie. Le contenu en flavonoïdes du plasma avait augmenté par suite de la supplémentation avec la rutine par comparaison aux contrôles (Fielding, 2004).

4-2 Effets anti-inflammatoires

a. La quercétine

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires (Landolfi, 1984). Les effets de la quercétine et la myricétine sont doses dépendantes. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipooxygénase. La quercétine inhibe le processus inflammatoire attribué à des neutrophiles activés en stabilisant la membrane ainsi que par un puissant effet antioxydant et par l'inhibition de l'enzyme hyaluronidase (qui prévient la cassure de la matrice du collagène). La stabilisation de la membrane a pour résultat de prévenir la dégranulation des mastocytes et des basophiles et de diminuer l'inflammation par l'inhibition de la production de leucotriènes et de la sécrétion de l'enzyme lysosomale des neutrophiles (Ogasawara et al., 1985).

La quercétine bloque aussi l'activité de la lipooxygénase, qui métabolise l'acide arachidonique, première étape vers la production de métabolites pro-inflammatoires de l'acide arachidonique. Donc, la quercétine, avec l'aide de la vitamine C, contribue à protéger le tube digestif ce qui limite la capacité des protéines très antigéniques, des composés antigéniques ou des agents infectieux de se répandre dans l'organisme. De

plus, elle prévient la libération de composés qui provoquent la réponse allergique (James et al., 1997; Skaper et al., 1997).

b. La rutine

La rutine est une molécule peu toxique, déjà utilisée en thérapeutique comme vasculoprotecteur. Le rôle des médiateurs inflammatoires a été analysé *in vitro* sur des macrophages humains et murins en vue d'élucider le mécanisme d'action anti-inflammatoire de la rutine. L'activation de 113 gènes humains relatifs à l'inflammation en présence de la rutine a été analysée par la technique des "microarrays". Une diminution des médiateurs inflammatoires (NO, TNF α) a été mise en évidence *in vitro* dans les surnageants des macrophages humains ainsi qu'une nette désactivation de plus de 60 % de gènes relatifs à l'inflammation, notamment ceux du TNF α et de l'IL₁₀. Parallèlement, il a été observé une activation du gène de l'IL 10, une interleukine anti-inflammatoire.

L'administration sous-cutanée de la rutine en suspension a permis de diminuer de façon significative les scores cliniques et la cachexie des rats arthritiques par rapport aux rats non traités (ou ceux traités par l'hydrocortisone). Les résultats cliniques sont en accord avec une diminution significative des IL₁₀, TNF1 β , MPC-1 et monoxyde d'azote dans les sérums murins *ex-vivo*. Ces résultats soulignent l'intérêt de la rutine dans la thérapeutique et la prévention des pathologies inflammatoires systémiques en ciblant la réponse inflammatoire des macrophages (Kauss et al., 2007).

4-3 Effet antiallergique

a. La quercétine

La quercétine réduit la réponse immunitaire aux allergènes en inhibant la libération sous l'effet d'IgE de composés par les mastocytes, de même que la libération d'histamine sous l'influence d'IgG (James et al., 1997; Skaper et al., 1997).

La bromélaïne est un nutriment support qui aide à empêcher des allergènes de traverser le tube digestif. Elle facilite également la dégradation d'importants complexes de protéines macromoléculaires. Il y a ainsi moins de chances que ces complexes quittent l'estomac intact ou par gros fragments et retiennent leur forme antigénique identifiable pouvant passer à travers des lésions gastriques ou intestinales et entraîner une réaction allergénique. La quercétine, la vitamine C et la bromélaïne sont des éléments nutritifs qui soutiennent le système immunitaire. Elles inhibent l'absorption par l'organisme de substances pouvant provoquer la réponse allergique. De plus, la quercétine est utilisée par l'organisme pour réduire la réponse allergique dans le tube digestif, ce qui pourrait soutenir les processus inflammatoires normaux (James et al., 1997; Skaper et al., 1997)

b. la rutine

Dès les années 50, des études ont montré que les flavonoïde pouvaient prévenir la libération de l'histamine et inhiber la réaction anaphylactique. Une des premières études a examiné différents niveaux du flavonoïde naturel rutine, combiné à un médicament antihistaminique. 70% des sujets ont rapporté une atténuation plus importante des symptômes de l'allergie (éternuements, larmolement des yeux, démangeaisons) lorsqu'ils

prenaient le flavonoïde avec le médicament que lorsqu'ils prenaient le médicament seul (Braverman, 2007).

4-5 Effets anti-ulcèreux de la quercétine

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes (Di Carlo, 1999). D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (Izzo, 1996). En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

4-6 Effet anticancéreux de la quercétine

La quercétine a été récemment démontrée efficace en prévention de la prolifération cellulaire et de la carcinogénèse. Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour expliquer l'inhibition de la cancérogenèse par la quercétine. Les topoisomérases sont des enzymes entraînant des torsions de l'ADN pendant la réplication et la transcription, responsables du développement de la tumeur. La quercétine est antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales. Le cycle de réplication des cellules peut être divisé en quatre : G1, S (synthèse) où l'ADN cellulaire est reproduit, G2, M (mitose) où les chromosomes reproduits se séparent. La quercétine induit dans certaines cellules tumorales (lymphome T, tumeur du colon) un arrêt du cycle cellulaire en phase G1. Sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses, la quercétine a induit l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans des cellules tumorales, aboutissant à la fragmentation de leur noyau et à la condensation de la chromatine nucléaire (Robin & Rouchy, 2001).

4-7 Effet antispasmodique de la quercétine

La quercétine présente une activité antispasmodique qui bloque l'activité péristaltique incontrôlée caractéristique de la diarrhée. En freinant l'excrétion du contenu de l'intestin, elle soulage le tube digestif en prévenant la production continue des matières qui protègent les cellules (James et al., 1997; Skaper et al., 1997).

4-8 Effet anti-thrombotique de la quercétine

La coagulation commence lorsque des plaquettes sanguines se fixent ensemble, un processus appelé agrégation plaquettaire. Le déclenchement courant de l'agrégation plaquettaire se fait par du collagène exposé lorsqu'un vaisseau sanguin est endommagé, notamment par une plaque artérielle. Une récente étude a évalué les effets de la quercétine et de la catéchine sur une agrégation plaquettaire induite par du collagène. Une récente étude a évalué les effets de la quercétine et de la catéchine sur une agrégation plaquettaire induite par du collagène. Les chercheurs ont constaté que la quercétine et la

catéchine inhibaient l'agrégation plaquettaire et que la quercétine était beaucoup plus efficace à une concentration beaucoup plus faible (environ un cinquième de celle de la catéchine). De plus, ils ont découvert que lorsqu'ils étaient utilisés ensemble, ces deux flavonoïdes inhibaient de façon synergique l'agrégation plaquettaire et l'adhérence des plaquettes au collagène. Les chercheurs ont observé que la quercétine et la catéchine inhibaient la poussée de peroxyde d'hydrogène qui annonçait l'agrégation plaquettaire (Pignatelli et al., 2000).

4-9 Effet antivariqueux de la quercétine

Les capillaires sont de très fins vaisseaux d'environ 5 à 8 microns de diamètre, constitués uniquement d'une couche de cellules endothéliales avec une lame basale et quelques fibres de collagène. La quercétine augmente la production de fibronectine de façon dose dépendante et donc renforcer la paroi des vaisseaux (Girotti-Chanu, 2006).

4-10 Effet de la rutine dans le traitement des maladies de l'œil

La rutine posséderait une certaine activité antioxydante, *in vitro* en tout cas, pouvant réguler le « mauvais » cholestérol ou traiter certaines maladies de l'œil. Cependant, une étude effectuée sur un groupe de femmes relativise le potentiel antioxydant de la rutine, comme celui de la consommation de courgettes chez l'humain. Aucun changement n'a en effet été démontré dans la quantité d'antioxydants du sang après une supplémentation de six semaines en rutine (Boyle & Dobson et al., 2000).

Les bioflavonoïdes facilitent, comme la vitamine, métabolisme du collagène. Or, le collagène est la protéine la plus abondante du corps, et surtout dans l'œil où elle donne force et intégrité au tissu oculaire. Des membres de la famille des bioflavonoïdes, comme la rutine, connus sous le nom de proanthocyanidines, commencent leur travail en se liant au collagène, augmentant son élasticité et sa flexibilité. Un proanthocyanidine est considéré comme un antioxydant puissant, capable de défendre la matrice du collagène contre les attaques radicalaires et de le protéger des ruptures enzymatiques, en augmentant le débit d'oxygène et de sang vers l'œil.

Quand les mécanismes normaux responsables de l'apport en l'oxygène font défaut, divers désordres oculaires peuvent se développer. Ainsi, la rutine a été utilisée avec succès comme adjuvant pour faire baisser la tension intraoculaire. Les bioflavonoïdes ne sont pas les seuls antioxydants de la courgette qui auraient des propriétés bénéfiques sur l'œil (Sommerburg & Keunen et al., 1998).

Les plantes sont de formidables et quasi-inépuisables réservoirs de molécules potentiellement utilisables dans le cadre de l'amélioration des conditions animales et humaines. La biodiversité de ces molécules telles que les polyphénols représente donc une richesse inestimable pour le genre humain.

L'étude biologique des polyphénols nous a conduit à comprendre les mécanismes d'intervention de ces derniers dans les processus physiologiques de la plante d'une part et d'autre part, nous donne un aperçu sur ces activités pharmacologiques en tant que antioxydants par le piégeage des radicaux libres causés par le stress oxydatif qui est le facteur numéro un des risques d'apparition des pathologies telles que le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, etc. Sans oublier les autres propriétés : anti-inflammatoires, anti-cancéreuse, vasodilatateurs... .

Les vertus santé des polyphénols dépendent de leur niveau de consommation et de leur biodisponibilité ; paramètres qui peuvent varier énormément d'un composé à l'autre. L'interprétation et la conception de ces études facilitent une bonne connaissance de leurs biodisponibilités et en particulier des cinétiques d'absorption et d'élimination.

La quercétine, la rutine et l'acide gallique constituent des modèles exemplaires pour l'étude des polyphénols sachant qu'ils existent plus de 5000 molécules connues actuellement.

La science avance lentement, et cela est particulièrement vrai dans un domaine aussi complexe que celui des polyphénols. Les recherches devront tenir compte de tous les paramètres pour évaluer les contributions relatives de divers polyphénols dans le maintien de la santé sachant également que ces molécules peuvent exercer d'autres effets biologiques qui sont encore mal connus. L'ampleur de la tâche à accomplir vis-à-vis de ces molécules actives, est telle que l'on peut cependant espérer que l'homme y trouvera des solutions afin de développer les moyens et les techniques scientifiques qui nous puissent mener vers l'avant et répéter l'histoire par de nouvelles recherches profondes.

Bibliographie

- Ader P., Grenacher B., Langguth P., Scharrer E., Wolfram S., (1996). Cinnamate uptake by rat small intestine: transport kinetics and transepithelial transfer. *Exp Physiol*, 81:943-955.
- Adzet T., Camarasa J., Escubedo E., Merlos M., (1988) In vitro study of caffeic acid-bovine serum albumin interaction. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 13:11-14.
- Alibert G., Ranjeva R. et Boudet M.A., 1977. Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* 15: 279 - 301. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.
- Anderson, R.A. ; Polansky, M.M. Tea enhances insulin activity. 2002, *J. Agric. Food Chem.* , 50, 7182-7186.
- Andlauer W., Kolb J., Stehle P., Furst P., (2000). Absorption and metabolism of genistein in isolated rat small intestine. *J Nutr*, 130:843-846.
- Andreasen M.F., Kroon P.A., Williamson G., Garcia-Conesa M.T., (2001). Esterase activity able to hydrolyse dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. *J Agric Food Chem*, 49:5679-5684.
- Aviram M. et al., Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases : studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Exp Clin Res.* 2002; 28(2-3):49-62.
- Ayrton A., Morgan P., (2001). Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion. *Xenobiotica* , 31:469-497.
- Baba S., Osakabe N., Natsume M., Terao J., (2002). Absorption and urinary excretion of procyanidin B2 (epicatechin-(4 β -8)-epicatechin) in rats. *Free Radic Biol Med*, 33:142-148.
- Beaudoin M-C. and Latour C., *Le journal des étudiants et étudiantes en médecine de l'Université Laval*, page 10, 2005 .
- Bernays, E.A., cooper-Driver, G, et Bilgener, M. 1989, Herbivore and plant tannins *Advances in Ecological Research*, 19, p, 263 - 302. Cité par : Peronny Sylvie, (2005).
- Besançon P., Stéphane Debosque, Francis Delpéuch, Bernard Cescomps, Mariette Gerber, Claude-Louis Léger, Martine Padilla, Marc Puygrenier, *Alimentation méditerranéenne et santé.* 2000, John Libbey Eurotest, Paris.
- Boersma M.G., van der Woude H., Bogaards J., Boeren S., Vervoort J., Cnubben N.H., van Iersel M.L., van Bladeren P.J., Rietjens I.M., (2002). Regioselectivity of phase II metabolism of luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases. *Chem Res Toxicol*, 15:662-670.

Boudet A. C., Cornard J.P., Merlin J.C., (2000). Conformational and spectroscopic investigation of 3-hydroxyflavone-aluminium chelates. *Spectrochim Acta A*, 56:829-839.

Boulton D.W., Walle U.K., Walle T., (1998). Extensive binding of the bioflavonoïde quercetin to human plasma proteins. *J. Pharma Pharmacol*, 50: 243-249.

Boyle S.P., Dobson V.L., et al. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. *Eur J Clin Nutr*. 2000; 54: 774-782.

Braverman Eric, L'extrait de mélilot agit sur l'œdème et lymphodème. *Nutra News*, 2007.

Bravo L., 1998. Polyphénol : Chemistry, Dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11), 317-333. Cité par : Peronny Sylvie, (2005).

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier , p 201-202 .

Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Paris, Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1999, p-1120.

Brzozowska J. et P. Hanower, thèse : sur les composés phénoliques avec un déficit hydrique chez des cotonniers des végétaux et leur rapport, 1978. p : 66-70.

Cao G., Muccitelli H.U., Sanchez-Moreno C., prior R.L., (2001). Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. *Am J, Clin Nutr*, 73: 920-926.

Charbonneau Robert, La forêt, et le cuir font de bon ménage, 1988 : 21.

Chataigneau T., Mamadou Ndiaye, Valérie B., Schini-Kerth , Pharmacologie et physico-chimie des interactions cellulaires et moléculaires, UMR CNRS 7034, faculté de pharmacie, université Louis Pasteur de Strasbourg, Strasbourg, France, Effets vasodilatateurs des composés polyphénoliques du vin : rôle de NO et EDHF, 2003.

Claus H. , (2004). Laccases: structure, reactions, distribution. *Micron* 35: 93-96. Cité par : Enrique Alarcón-Gutiérrez, 2007.

Collin S., Dr Marvin Edeas, Pr André Fougère, Dr Sylvain Guyot , Dr 27-Claude Louis Léger, Pr Josep Vercauteren , 2004. Article extrait du colloque : 1^{er} conférence sur les polyphénols et leurs applications dans les industries agroalimentaires , pharmaceutiques et cosmétiques page 3 , 22-23.

Come C. , 1970 - *Physiol. VBg.*, 8, 603. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.

Cornard J.P., Boudet A.C., Merlin J.C., (2001). Complexes of AL (III) with 3', 4'-dihydroxyflavone: characterization, theoretical and spectroscopic study. *Spectrochim Acta A*. 57:591-602.

Couteau D., McCartney A.L., Gibson G.R., Williamson G., Faulds CB(2001). Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid. *J Appl Microbiol*, 90:873-881.

Cren- Olive C.C., Teissier E., Duriez P., Rolando C., (2003). Effect of catechin O-Methylated Metabolites and analogues on human LDL oxidation. The splanchnic metabolism of flavonoïdes highly differed according to the nature of the compound. *Am J Physiol, Gastrointest Liver Physiol*, 284: G 980-G988.

Crespy V., Morand C., Besson C., Cotelle N., Vezin H., Demigne C., Remesy C(2003). The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. *Am J Physiol Gastrointest LIVER Physiol*, 284: G980-G988.

Crespy V., Morand C., Besson C., Manach C., Demigne C., Remesy C(2001). Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J Nutr*, 131: 2109-2114.

Dangles O., Brouillard R., (1992). Anthocyanin copigmentation: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Can J Chem*, 70:2174-2189.

Dangles O., Dufour C., Manach C., Morand C., Remesy C., (2001). Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods Enzymol*, 335:319-333.

Day A.J., Bao Y.P., Morgan MRA, Williamson G., (2000a). Conjugaison position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. *Free Radic Biol Med*, 29:1234-1243.

Day A.J., Canada F.J., Diaz J.C., Kroon P.A., Mc Lauchlan R., Faulds C.B., plumb G.W., Morgan M.R., Williamson G., (2000b). Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett*, 468:166-170.

De Freitas V., Carbalho E., Mateus N., 2003. Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chem.*, 81, 503-509.

Delattre J.; Beaudeau, J.-L.; Bonnefort-Rousselot, D. Radicaux libres et stress oxydant. Aspectbiologiques et pathologiques. Tec & Doc Lavoisier: Londres - Paris - New York, 2005.

Delattre J.; Beaudeau, J.-L.; Bonnefort-Rousselot, D. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspectbiologiques et pathologiques*. Tec & Doc Lavoisier: Londres - Paris - New York, 2005.

Desphande S.S, Salunkhe D.K., 1982. Interaction of tannic acid and catechin with legume starches. *J. Food Sci.*, 47, 2080-2081.

Di Carlo G.; Mascolo N.; Izzo A.A.; Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Review. *Life Sci.* 1999, 65: 337-53. *Neuron.*, 1996, 16(5), 921-932.

Edeas M., Président de la SFA, Paris, Dr Bernard Schmitt, endocrinologue, Centre Hospitalier de Bretagne Sud et CERN de Lorient . article extrait de la 1ère Conférence Anti-âge et Vieillesse Cutané (2004) .

Elhabiri M., Figueiredo P., Toki K., Saito N., Brouillard R., (1997). Anthocyanin-aluminium and gallium complexes in aqueous solution. *J Chem Soc, Perkin Trans 2*, 355-362.

Evans A.M., (2000). Influence of dietary components on the gastrointestinal metabolism and transport of drugs. *Ther drug Monit* , 22: 131-136.

Fiorucci S., thèse de doctorat : Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes (Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire) . Présentée à l'Université Nice-Sophia Antipolis, 2006. p (28,29).

Fitzpatrick D.F., Hirschfield S.L., Coffey R.G. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol*, 1993.

Flesch M., Schwarz A., Bohm M. Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol* 1998 ; 275 : H1183-90.

Fleuriet A., Macheix J-J. (2003). Phenolic acids in fruits and vegetables. In Rice-Evans CA, Packer L. *Flavonoids in Health and Disease*. Marcel Dekker, New York, 1-41.

Fuhur U (1998). Drug interactions With Grape fruit Juice . Extent , probable mechanism and clinical relevance . *Drug saf* , 18 : 251-272.

Fujii S., Aoki H., Komoto M., Munakata K., Tamura T. 1968, *Agric. Biol. Chem*, 32, 810. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.

Fulbert J.C. , Cals M.-J. -Les Radicaux libres en biologie clinique. *Pathol. Biol.*, 49(1), 66- 77, 1992.

Gauyon Pascal Ribéreau, les composés phénoliques des végétaux, Dunod, 1968.

Gayon R.P., Les Composés Phénoliques des végétaux, DUNOD, 1968 : 89,176.

Gimeno E, Fito M, Lamuela -Raventos RM, Castellote AI, Covas M, Farre M , de la Torre -Boronat MC, Lopez -Sabater MC (2002). Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition . *Eur J Clin Nutr* , 56:114-120.

Gonthier MP, Cheynier V, Donovan JL, Manach C, Morand C, Mila I, Lapierre Remesy C, Scalbert A (2003a). Microbial aromatic acid metabolites formed in the gut

account for a major fraction of the polyphenols excreted in urine of rats fed red wine polyphenols. *J Nutr*, 133:461-467.

Girotti-Chanu Catherine: these de doctorat: Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de la MICROTEA Debilis, 2006.

Gonthier MP, Verny MA, Besson C, Remesy C, Scalbert A, (2003b) Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *J Nutr*, 133:1853-1859.

Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobash G, Deredorf H, Veit M (2001). Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J Clin Pharmacol*, 41:492-499.

Grundhöfer P., Niemetz R., Schilling G. et Gross G.C. 2001. Biosynthesis and Subcellular distribution of hydrolysable tannins. *Phytochemistry*, 57, 915-927. Cité par : Peronny Sylvie, (2005).

— **Guignard Jean-Louis**, article extrait de l'introduction p de biochimie végétale .2e édition A.Simon, 2004 : 171.

Guignard J-L.I. Casson .M. Henry ; abregé de phytochimie , masson , paris , 1985, p:70.

Halliwell P.R. B. , 2003. Article extrait de : Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé (Les anti-oxydants dans les fruits et légumes et leurs effets sur la Santé). Université Nationale de Singapour.

Hanower P., Brzozowska J. - 1973 - *Physiol. Vég.*, II (2), 385.

Haslam (E.) - Polyphenol-protein interactions. *Biochem J*, 1974. **139**: 285-288.

Haslam E.T., bitterness and astringency. In: Practical polyphenolics (from structure to molecular recognition and physiological action) Cambridge University Press, 178-225, 1998.

Havsteen BH (2002). The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacol Therap*, 96:67-202.

Hayek T, Fuhrman B, Vaya J, Rosenblat M, Belinky P, Coleman R, Elis A, Aviram M (1997). Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin, is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscl Thromb and vascul Biol*, 17: 2744- 2752.

Heller, W. & Forkmann, G. (1994) Biosynthesis of the flavonoids. In: *The Flavonoids, Advances in Research since 1986*. Harborne (Ed.). Chapman & Hall, London, 499-536. Cité par Enrique Alarcón-Gutiérrez, 2007

Higuchi, T., Shimada, M., Nakatsubo, F. & Tanahashi, M. (1977) Differences in biosynthesis of guaiacyl and syringyl lignins in woods. *Wood Science and Technology* 11: 153-167. Cité par : Enrique Alarcón-Gutiérrez, 2007.

Hof KHV, Wiseman SA, Yang CS, Tijburg Lb (1999). Plasma and lipoprotein levels of tea catechins following repeated tea consumption. *proc Soc Biol Med*, 220: 203-209.

Hopkins WG., physiologie végétale, articles extrait des pages : 276, 278, 139. Traduction de la 2e édition américaine par Serge Rambour (université des sciences et technologie de LILLE).révision scientifique de CHARLES-MARIE EVARD (Université catholique de LOUVAIN) -DE Boeck& Larcier s.a, 2003.

Horcajada Noëlle Marie, Equation Nutrition n 62- 2006.Unité de nutrition humaine (UNH),INRA Theix, Saint Genès Champanelle,France.

Horie T, Mizuma T,Kassai S, Awazu S (1988).change in plasma albumin due to interaction with isolated rat hepatocyte. *Am J Physiol*, 254:G465-470.

Hurrell RF, Reddy McCook JD (1999). Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr*, 81:289-295.

← **Igor AE Solim**, 2002. Thèse : contribution des tanins et de l'activité antibactérienne de ACACIA NILOTICA VAR ADANSONII, université chikh anta diop de dakar. P : 14, 15, 16.

Iiyama, K., Lam, T. B.-T. & Stone B. A. (1994). Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiol.* 104, 315-320.

Izzo A.A. PAF and the digestive tract. A review. *J Pharm Pharmacol.* 1996, 48: 1103.

James JM, Sixbey JP, Helm RM, Bannon GA, Burks AW. Wheat alpha- amylase inhibitor: A second route of allergic sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:239-234.

Jouanin L. Laboratoire de biologie cellulaire, Institut national de la recherche agronomique (Inra), 78026 Versailles cedex mars avril 2006.

Kaamanen M, Adlercreutz H, Jauhiainen M, Tikkanen MJ(2003) .Accumulation of genistein and lipophilic genistein derivatives in lipoproteins during incubation with human plasma in vitro. *Biochim Biophys Acta*, 1631:147-152.

Käärrik A.A., (1974). « Decomposition of wood ». In: C.H. Dickinson & G.J.F. Pugh (eds.), *Biology of plant litter decomposition*, Volume I, Academic Press, London, pp. 129-174. Cité par: Jean-Claude Tissaux, 1996.

Kauffman FC, Zaliski J, Thurman RG, Kwei GY(1994).Biologically active conjugates of drugs and toxic chemicals .In:Kquff;qn FC. Conjugation-deconjugation reactions in drugs metabolisme and toxicity.Springer- verlag,Berlin, 341-366.

Kauss Tina, Jérôme Rambert, Stéphane Brajot, Denis Thiolat, Fawaz Fawaz, Mohammad Djavad Mossalayi. Article extrait du colloque :Dixièmes Rencontres Nationales De La Sfpml. Titre : La conception de nouveaux médicaments : de l'aspect fondamental à la valorisation industrielle ,p 329, 2007.

King R.A. ,Bursill DB(1998).Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans.Am J Clin Nutr ,67:867-872.

Kögel-Knabner I. (2002) the macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry.* 34: 139-162. Cité par : Enrique Alarcón-Gutiérrez, 2007.

KosterH, Halsema I,Scholtens E,Knippers M,Mulder GJ,(1981). Dose -dependent shifts I, the sulfatation and glucuronidation of phenolic compounds in the rat in vivo and in isolated hepatocytes.The role of saturation of phenolsulfotransferase .*Biochem Pharmacol*,30:2569-2575.

Landolfi R.; Mower R.L.; Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol.* 1984, 33:1525-1530.

Larochelle L., (1993). «L'influence de la qualité des Bois Raméaux Fragmentés (BRF) appliqués au sol : effets sur la dynamique de leur transformation». In : G. Lemieux & J.P. Tétrault (éds.), Les BRF : une alternative aux dégradations. Actes du 4ème coll. int. Sur les Bois Raméaux Fragmentés, Amqui-Val d'Irène 2-3-4 sep. 1993. Ministère des Ressources Naturelles, Québec, pp. 77-84. Cité par: Jean-Claude Tissaux, 1996.

Lee MJ, Maliakal P., Chen L, Meng X., Bondoc FY., Prabhu S, Lambert G, Mohr S, Yang CS (2002). Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)- epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,11:1025-1032.

Lefrançois Pierre et Françoise Ruby. Société Canadienne de recherche sur les PSN,mars2007.B.SC.Pharm2007.

Lhuillier Amélie , 2007, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de toulouse page 130,99,103. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : agauria salicifolia hook.f ex oliver, agauria polyphylla baker (ericaceae), tambourissa trichophylla baker (monimiaceae) et embelia concinna baker (myrsinaceae).

Liu JD, Chen SH, Lin Cl et al., . Inhibition of melanoma growth and metastasis by combination with (-)-epigallocatechin-3-gallate and dacarbazine in mice. *J Cell Biochem* 1999; 83(4):631-42.London, pp. 129-174.

- ✓ **Macheix J-J, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand**, 2005, les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaires romandes, p.vii. (eds.), *Biology of plant litter decomposition*, Volume I, Academic Press.
- Manach C, Morand C, Demigne C, Texier O, Regeat F, Remesy C** (.1997) Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *FEBS Lett*, 409:12-16.
- Manchado P.S., Cheynier V.** Les polyphénols en agroalimentaire. Edition TEC&DOC, Lavoisier, 2006 : 3- 20, 45-93, 363-379.
- Marchetti F, De Santi C, Vieti M, Pietrabissa A, Spisni R, Mosca F, Pacifici GM**(2001). Differential inhibition of human liver and duodenum sulphotransferase activities by quercetin, a flavonoid present in vegetables, fruit and wine. *Xenobiotica*, 31: 841-847.
- **Marfak A.**, thèse de doctorat : Radiolyse GAMMA des flavonoïdes. P de 23,24,28,29. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation des depsides, 2003.
- Matsumoto H, Inaba H, Kishi M, Tominaga S, Hirayama M, Tsuda T** (2001). Orally administered delphinidin-3-rutinoside and cyanidin-3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. *J Agric Food Chem*, 49:1546-1551.
- **Milane H**, thèse de doctorat : la quercétine et ses dérivés : Molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres, étude et applications thérapeutiques, 2004.
- Mistry TV, Cai Y, Lilley TH, Haslam E** (1991). Polyphenol interactions. Part 5. Anthocyanin copigmentation. *J Chem Soc, Perkin Trans 2*, 1287-1296.
- Mousavi Y, Adlercreutz H** (1992). Enterolactone and estradiol inhibit each other's proliferative effect on MCF-7 breast cancer cells in culture. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 41:615-619.
- Muller R.N., Kalisz P.J., Kimmerer T.W.**, (1987). «Intraspecific variation in production of astringent phenolics over a vegetation-resource availability gradient». *Oecologia* 72: 211-215. Cité par: Jean-Claude Tissaux, 1996.
- Namour Philippe**, article extrait de la thèse de doctorat: Auto-Epuration des rejets organiques domestiques. Nature de la matière organique résiduaire et son effet en rivière. P 20, 1999.
- Nathalie Boizot; Jean-Paul Charpentier.** Article extrait de la thèse d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, 2006.

Ndiaye S, Bassene E., Olschwang D., Pousset J.L. fruits d'*Acaria nilotica* comme source de tanin et d'acide gallique, *AlBiruniya, Rev. Mar. Pharm*, tome 10 n°2 , P117, 1994. Cité par: Igor AE Solim, 2002.

Neurath AR. et al., *Punica granatum* (Pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect Dis.* 2004 Oct 14;4:41neuron.org/pdfs/0896-6273/PIIS0896627300801154.pdf.

Nihal M, Ahmad N, Mukhtar H et al. Anti-proliferative and proapoptotic effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on human melanoma possible implication for the chemoprevention of melanoma. *Int Cancer* 2005 20; 114(4): 513 -21.

Nijveldt RJ, VanNood E, VanHoorn DEC, Boelens PG, VanNorren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 418- 25.

Nultch W. Botanique générale, 13e édition, 1998, De Boeck Université, p-163.

O'Leary KD, Day AJ, Needs PW, Mellon FA, O'Brien NM, Williamson G(2003).Metabolism of quercetin-7-and quercetin-3-glucuronides by an in vitro hepatic model :The role of human beta -glucuronidase ,sulfotransferase ,catechol-O-methyltransferase and multi-resistant protein 2(MRP2) in flavonoide metabolism.*Biochem Pharmacol*,65:479-491.

Ogasawara H et al., 1985: Effect of selected flavonoids on histamine release and ydrogen peroxide generation by human leukocytes {abstract} *J Allergy Clin Immunol*; 75(suppl):184.

Ollila F, Halling K,Vuorela P, VuorelaH,Slotte JP (2002).Characterization of flavonoid-biomembrane ineractions.*Arch Biochem Biophys*,399:103-108.

Ozawa T., Lilley T.H., Haslam E., 1987. Polyphenol interaction: astringency and the loss of astringency in ripening fruit. *Phytochem.*, 26, 2937-2942.

Paris M, Hurabielle M., *Abrégé Matière Médicale, Pharmacognosie, Tome 1, Masson, Paris 1980* : 82-89, 107.

Parups EV., 1967.*Ganad. J. Biochem.*, 45, 427. Cité par: Brzozowska .J et Hanower, 1978.

Pascal Gerard, 2002.Promesses et limites des microconstituants des végétaux dans le domaine des relations alimentation / santé.

Passamonti S,Vrhovsek U,Mattivi F(2002).The interaction of anthocyanins with bilitranslocase.*Biochem Biophys Res Commun*,296:631-636.

Peer WA, Brown DE, Tague BW, Muday GK, Taiz L, Murphy AS (2001). Flavonoid accumulation patterns of transparent testa mutants of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 126: 536-548.

Peronny Sylvie, (2005). Articles extrait de la thèse de doctorat:La réception gustative et la consommation des tannins chez le Maki (*Lemur Catta*),23-26.

Perret C, article extrait du chapitre VI : Tests Biologiques du doctorat : Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. 2001.

Peterson J.; Dwyer J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. Nutr. Res. 1998, 18(12), 1995-2018.

Pike (C.J.), Burdick (D.), Walencewicz (A.J.), Glabe (C.G.), Cotman (C.W.) - Neurodegeneration induced by β -amyloid peptides *in vitro*: The role of peptide assembly state. - *J. Neurochem.*, 1993, 13(4), 1676-1687.

Piskula MK , (2000).Soy isoflavone conjugation differs in fed and food-deprived rats.J Nutr,130: 1766-1771.

Piskula MK, Terao J. (1998).Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues .J Nutr,128:1172-1178.

Quin B, Nagasaki M, Ren M, Bajotto G, oshida Y, Sato Y. Cinnamon extract potentiates *in vivo* insulin regulated glucose utilization via enhancing insulin signaling.Diab Res Clin Pract, 2003, 62 (3), 139-148.

Rainer Cermak et al., The bioavailability of Quercetin depends on the glycoside moiety and on dietary factors in pigs, American Society for Nutritional Sciences, 2003.

Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O., and Dini A. (1995) Studies on the Constituents of *Chenopodium pallidicaule* (Canihua) Seeds. Isolation and Characterization of Two New Flavonol Glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(8), 2020-2024.

Rechner AR, Spencer JP, Kuhnle G, Hahn U, Rice-Evans CA (2001); Novel biomarkers of the caffeic acid derivatives *in vivo*. *Free Radic Biol Med* , 30: 1213- 1222.

Rein D, Lotito S , Holt RR, Keen CL, Schmitz HH, Fraga CG (2000). Epicatechin in Human plasma : *In vivo* determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status . *J Nutr* , 130: 2109S- 2114S.

Rice-Evans C. A., Miller N. J., and Paganga G., Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, 1996, *Free Rad. Biol. Med.* ; 20 : 933-956).

Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., and Pridham J. B., The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Res.* 1995 ; 22 : 375-383).

Richter G., Métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie) – articles extraits des traductions et adaptations françaises, -1993, presse phytotechniques et Universitaires romandes. Pages 317,318, et 319,321.

Robin Jean-Marc, Armelle Rouchy : LA CHIMIOPREVENTION NATURELLE DU CANCER. JANVIER 2001, p 10.

Sallustio BC, Sabordo L, Evans AM, Nation RL (2000). Disposition of electrophilic acyl glucuronide conjugates. *Curr Drug Metab*, 1:163-180.

Salma HAZGUI, 2007. Thèse : Analyse du comportement dynamique de cellules épithéliales bronchiques dans un modèle 3D d'invasion tumorale : effet de l'épigallocatechine-gallate, Université De Monastir.

Salunkhe D.K. , 1990, Dietary, tannins: Consequences and remedies. Boca Raton, Florida: CRC Press. Cité par : Peronny Sylvie, (2005).

Scalbert Augustin, Directeur de Recherche - Laboratoire des Maladies Métaboliques et Micronutriments INRA. Article extrait de : Les polyphénols des fruits et légumes : un atout pour vieillir en bonne santé (Les polyphénols végétaux : des molécules aux atouts multiples p4), 2003.

Schantz EM. 1966 - *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 17, 409.

Scheffer T., Cowling E.B., (1966). «Natural resistance of wood to microbial deterioration». *Annu. Rev. Phytopath.* 4: 147-170. Cité par: Jean-Claude Tissaux, 1996

Scheline RR (1991). *CRC Handbook of mammalian metabolism of plant compounds*, CRC Press, Boca Raton.

Schmitt, A.; Salvayre, R.; Delchambre, J.; Negre-Salvayre, A. Prevention by α -tocopherol and rutin of glutathione and ATP depletion induced by oxidized LDL in cultured endothelial cells. *Brit. J. Pharmacol.* 116(3) : 1985-90, 1995.

Schneider V. - 1971 - *z. Pflanzenphysiol.*, 64, 15. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.

Schramm D, Collins H, German B(1999). Flavonoid transport by mammalian endothelial cell. *J Nutr Biochem*, 10:193-197.

Serafini M, Laranjinha JAN, Almeida LM, Maiani G (2000). Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol – rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *J Nutr Biochem* 11: 585-590.

Setchell HD, Faughnan MS, Avades T, Zimmer-Nechemias L, Brown NM, Wolf BE, Brashear WT, Desai P, Oldfield MF, Botting NP, Cassidy A (2003).

Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L, Brashear WT, Wolfe BE, Kirschner AS, Heubi JE (2002b). Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in

humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 76:447-453.

Siebert K.J., Lynn P.Y., 1998. Comparison of polyphenol interactions with PVPP and haze active protein. *J. Am. Brew. Chem.*, 56, 24-31.

Singal P.K., Petkau A. Gerrard J.M. Free Radicals in health and disease. *Mol. Cell. Biochem.* 21-122, 1988.

Skaper S.D., Fabris M., Ferrari V., Carbonare M.D. and Leon A. Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid. *Fr Rad Biol Med* 1997; 22(4):669-678.

Spencer JP, Schroeter H, Crossthwaithe AJ, Kuhnle G, Williams RJ, Rice-Evans C (2001). Contrasting influences of glucuronidation and O-methylation of epicatechin on hydrogen peroxide-induced cell death in neurons and fibroblasts. *Free Radic Biol Med*, 31: 1139-1146.

Strumeyer D.H., Malin M.J. - 1969 - *Biochim. Biophys. Acta*, 184, 643. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.

Swain, T. 1979. Tannin and lignins. Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites (Éd par Rosenthal, G.A et Janzen, D. H), pp. 637 - 682 New York : Academic press.

Thiolat, Fawaz fawaz, Mohammad Djavad Mossalayi. Article extrait du colloque : Dixièmes rencontres nationales de la sfpm. Titre : La conception de nouveaux médicaments : de l'aspect fondamental à la valorisation industrielle ,p329, 2007.

Verstraeten SV, Keen CL, Schmitz HH, Fraga CG, Oteiza PI (2003) Flavanols and procyanidins protect liposomes against lipid oxidation and disruption of the bilayer structure. *Free Radic Biol Med*, 34:84-92.

Waghom, G.C et McNabb. W.C, 2003. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *proceeding of the Nutrition Society* .62, 383-392.

Waltner-Law, M. E., Wang, X. L., Law, B. K., Hall, R. K., Nawano, M., and Granner, D. K., epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production, 2002, *J Biol Chem* ; 277 : 34933-34940.

Warden BA, Smith LS, Beecher GR, Balentine DR, Clevidence BA (2001). Catechins are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. *J Nutr*, 131: 1731-1737.

Wei DZ, Yang JY, Lin JW, Tang WX, Inhibiteur of liver cancer cell proliferation and migration by a combination of (-) epigallocatechine-3-gallate and ascorbic acid. *Chemother* 2003 15 (6) : 591- 5.

Weinbach E.C. and Garbus, J. - 1965 - *J. Biol. Chem.*, 240, 1811. Cité par: Brzozowska J et Hanower, 1978.

Wu X, Cao G prior RL (2002). Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry . *J Nutr* , 132 : 1865-1871.

Yang CS, Chen L, Lee MJ, Balentine D, Kuo MC, Schantz SP(1998). Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amouts of green tea by human volunteers cancer *Epidimiol Biomarkers prev* , 7: 354-354.

Yankner (B.A.) - Mechanisms of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuron.*, 1996, 16(5), 921-932.

Yokoyama M, Ngouchi M, Nakao Y, Pater A, Iwasaka T. The tea polyphenol, (-)-epigallocatechin gallate effects on growth, apoptosis, and telomerase activity in cervical cell lines. *Gynecol Onco* 2004 : 92 (1) : 197-204.

Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnle G, protegente AR, Abbott NJ, Rice-Evans C(2003). Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: In vitro studies *J Neurochem*, 85:180-192.

Zhu BT (2002). Catechol-o-Methyltransferase (COMT) mediated methylation metabolism of endogenous bioactive catecols and modulation by endobiotics and xenobiotics : importance in pathophysiology and pathogenesis : *Curr Drug Metab*, 3: 321-349.

Zhu BT, Evaristus EN, Antoniak SK, Sarabia SF, Ricci MJ, Leiber JG (1996). Metabolic deglucuronidation and demethylation of estrogen conjugates as a source of parent estrogens and catecholestrogen metabolites in syrain hamster Kinney , a target organ of estrogen - induced tumorigenesis . *toxicol Appl Pharmacol*, 136: 186-193.

Résumé

Les polyphénols sont des composés naturellement présents chez les végétaux, leur rôle biologique au niveau de la plante est très intéressant, ils constituent leur arme de défense et participent aussi fortement aux critères de qualité des fruits et légumes. Leur structure biochimique est à l'origine de la diversité des propriétés et des caractéristiques de ces composés, qui font parti de notre alimentation. Leur consommation est source potentielle des effets favorables pour la santé humaine, en particulier, contre le stress oxydant et le vieillissement cellulaire causés par l'agression des espèces oxygénées réactives, et donc la prévention contre de nombreuses pathologies. Ces substances ont déjà utilisées en phytothérapie traditionnelle, certains d'entre eux trouvent actuellement leurs utilisations en pharmacie. Mais, malgré le progrès scientifique que apportent les années dernières, la compréhension des mécanismes pharmacologiques réels par lesquels les polyphénols exercent leur effet anti-oxydant pose des interrogations. Aussi, leur biodisponibilité n'est pas encore suffisamment claire. C'est notamment le cas de la quercétine et la rutine qui sont des molécules exemplaires, pour cela, les études dans ce domaine sont en cours de réalisation, et à chaque fois le sujet des polyphénols présente un intérêt croissant pour les chercheurs.

Mots clés: Polyphénols, alimentation, santé, stress oxydant, vieillissement cellulaire, espèces oxygénées réactives, pathologies, pharmacologie, biodisponibilité, antioxydant, quercétine, rutine.

ملخص

متعددات الفينول هي مركبات متواجدة طبيعيًا عند النباتات، دورها الحيوي على مستوى النبتة جد هام إذ تمثل سلاحها الدفاعي، كما تشارك بقوة في المعايير النوعية للخضر و الفواكه. بنيتها الكيميائية الحيوية هي أصل اختلاف خصائص و مميزات هذه المواد بالإضافة إلى ذلك فهي عوامل تغذية موجودة في غذائنا و تمثل مصدر هام للتأثيرات الايجابية على صحة الإنسان، خاصة ضد التوتر الاكسدي والشيخوخة الخلوية التي يسببها هجوم الأصناف الاوكسجينية المتفاعلة و بالتالي الوقاية من عدة أمراض. لقد استعملت متعددات الفينول منذ القديم في العلاج الطبيعي بالأعشاب و البعض منها يعرف استعمالات حالية في الصيدلة. لكن بالرغم من التقدم الذي أتت به السنوات الأخيرة إلا أن فهم الميكانيزمات التي يمارس بها متعدد الفينول تأثيره المضاد للأكسدة يطرح عدة تساؤلات، كذلك انتشارها الحيوي في الجسم ليس واضحًا بالصورة الكافية هو الحال عند الكارستين و الروتين التي تمثل جزيئات نموذجية، و لهذا فان الدراسات في هذا المجال مازالت في طور الانجاز و في كل مرة يشكل موضوع متعددات الفينول أهمية متزايدة للباحثين.

متعددات الفينول، التغذية، الصحة، التوتر الاكسدي، الشيخوخة الخلوية، الأصناف الاوكسجينية المضاعفة، الأمراض، الصيدلة، مضاد الأكسدة، الكارستين، الروتين.

Abstrat

The polyphenols are compounds naturally present at the plants, their role biological on the level of the plant is very interesting, and they constitute their weapon of defence and also strongly take part in the quality standards of the fruit and vegetables. Their biochemical structure is at the origin of the diversity of the properties and the characteristics of these compounds, which make party of our food. Their consumption is potential source of the effects favourable for the human health, in particular, against the stress oxidizing and cellular ageing caused by the aggression of the reactive oxygenated species, and thus the prevention against many pathologies. These substances already used in traditional phytotherapy, some of them currently find their uses in pharmacy. But, in spite of scientific progress that bring last years, the comprehension of the real pharmacological mechanisms by which the polyphenols exert their antioxydant effect poses interrogations. Also, their biodisponibility is not yet sufficiently clear. It is also the case of quercetin and the rutin which are exemplary molecules, for that, the studies in this field are under development, and each time the subject of polyphenols is of an interest growing for the researchers.

Key words: Polyphenols, food, health, stress oxidizing, cellular ageing, reactive oxygenated species, pathologies, quercetin, rutin, pharmacology, biodisponibility, antioxidant, quercetin, rutin.