

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLEB – Blida**  
**Faculté des Sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques**  
**Département d'Agronomie**

\*\*\*\*\*

**Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Sciences  
de la Nature et de la Vie.**  
**Filière : Sciences Agronomiques.**  
**Option : Phytopharmacie Appliquée**

Thème :

**Extraction des polyphénols du thé  
vert et leurs effets thérapeutiques.**

Présenté par :

M<sup>elle</sup> SOLTANE Imène.

Soutenu le :

06 Juillet 2013

Devant le jury :

M <sup>r</sup> RAMDANE S.MAA	USDB	Président	
M <sup>r</sup> AMROUCHE Z.	MAB	U. KhmisMeliana	Promoteur
M <sup>me</sup> BENRIMA A.	Professeur	USDB	Co-promotrice
M <sup>me</sup> MOUSSAOUI K.MA	USDB	Examineur	
M <sup>me</sup> BELGUENDOZ R.	MAA	USDB	Examinatrice

**Promotion : 2012 – 2013**

# **Glossaire :**

# **Introduction :**

**Etude**  
**Bibliographiques :**

# **Matériel et Méthodes :**

# **Résultats et Discussion :**

**Conclusion :**

# **Références Bibliographiques :**

**Annexes :**

## *Dédicace :*

*Avec une énorme joie, je dédie ce travail à ceux que j'aime et qui sont très chers à mon cœur :*

*A mes parents qui n'ont jamais cessé de veiller à mon instruction et mon éducation et de m'encourager au cours du long chemin de mes études. Puisse*

*DIEU leur prete une longue vie.*

*A mes sœurs : Sihem et Samia.*

*A mes frères : Mohamed et Zakaria.*

*A mes adorés Mokhtar et Inès.*

*A ma très chère amie : Salima.*

*Je les remercie infiniment de m'avoir aidé, soutenu et conseillé.*

*Imène.*



## *Remerciements :*

*Le présent travail est pour moi une occasion et un agréable devoir pour exprimer mes reconnaissances et mon gratitude envers DIEU tout puissant.*

*Je remercie Mr. AMROUCHE Z. pour la patience qu'il a eu pour me former et diriger ce modeste travail.*

*Je tien aussi à remercier Mme. BENRIMA A. pour son aide.*

*Enfin, je remercie l'ensemble des équipes des laboratoires où j'ai réalisé mon étude.*

*Un hommage appuyé revient aussi à mes parents pour leur soutien moral et matériel durant mon cursus.*

*A mes enseignants, avec un grand respect pour leur exprimer ma profonde gratitude.*

*A Mr. RAMDANE S., Mme MOUSSAOUI K, et Mme BELGUENDOZ R, d'avoir accepté de juger mon travail.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ma formation.*



## ***Table de matière :***

• Introduction.....	1
<b>I. Etude bibliographique :.....</b>	<b>4</b>
I-1- Généralités sur le thé vert.....	5
I-2- Les antioxydants :.....	5
I-2-1- Le stress oxydant.....	5
I-2-2- Les antioxydants.....	6
I-2-3- Les polyphénols du thé vert.....	6
I-2-3-1- Description générales des polyphénols du thé vert.....	6
I-2-3-2- Propriétés biochimiques des polyphénols du thé vert.....	7
I-2-3-3- Mécanismes d'action des polyphénols.....	8
I-2-3-4- La biodisponibilité des polyphénols du thé vert.....	9
I-2-3-5- Différentes méthodes d'extraction des polyphénols du thé vert.....	10
I-3- Rôle des polyphénols dans les plantes.....	10
I-4- Utilisation et application des polyphénols du thé vert.....	11
I-4-1- Mode d'utilisation des polyphénols du thé vert.....	11
I-4-2- Domaine d'application des polyphénols du thé vert.....	12
I-5- Recommandations.....	13
<b>II. Matériel et méthodes :.....</b>	<b>15</b>
II-1- Matériel :.....	17
II-1-1- Matériel biologique.....	17
II-1-2- Matériel non-biologique.....	18
II-1-3- Réactifs utilisés.....	19
II-2- Méthodes :.....	19
II-2-1- Méthode d'extraction des polyphénols appliquée.....	19
II-2-2- Etude toxicologique :	
DL <sub>50</sub> .....	20
II-2-3- Activité anti-oxydante.....	21
II-2-4- Etude de quelques effets thérapeutiques :.....	22
II-2-4-1- Action contre le stress.....	22

II-2-4-2- Activité amincissante.....	24
II-2-4-3- Activité antimicrobienne.....	26
<b>III. Résultats et discussion :.....</b>	<b>28</b>
III-1-Résultats de l'extraction des polyphénols du thé vert.....	29
III-2-Résultats de l'étude toxicologique.	
DL <sub>50</sub> .....	31
III-3- Résultats de l'activité anti-oxydante.....	34
III-4- Résultats de l'étude de quelques effets thérapeutiques :.....	36
III-4-1- Action contre le stress.....	36
III-4-2- Activité amincissante.....	47
III-4-3- Activité antimicrobienne.....	52
III-5- Discussion générale.....	53
• Conclusion.....	63
• Références bibliographiques.	
• Annexes.	

## *Liste des tableaux :*

<b>Tableau numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 1	Tableau récapitulatif et illustrateur des valeurs des IMC.	25
Tableau 2	Tableau montrant les résultats de l'étude toxicologique.	32
Tableau 3	Tableau montrant la réaction des souris des deux lots témoins durant le déroulement de l'expérience.	37
Tableau 4	Tableau montrant la réaction des souris via les facteurs de stress dans la première semaine de l'expérience.	38
Tableau 5	Tableau montrant la réaction des souris via les facteurs de stress dans la seconde semaine de l'expérience.	39
Tableau 6	Tableau montrant la réaction des souris via les facteurs de stress dans la troisième semaine de l'expérience.	41
Tableau 7	Tableau montrant la réaction des souris via les facteurs de stress dans la quatrième semaine de l'expérience.	43
Tableau 8	Tableau montrant la réaction des souris via les facteurs de stress dans la cinquième semaine de l'expérience.	45
Tableau 9	Tableau montrant la variation du poids des lapins au cours des 13 semaines de l'expérience.	47
Tableau 10	Tableau montrant le niveau de diminution du poids des lapins au cours de l'analyse.	49

## ***Résumé :***

**Titre :** Extraction des polyphénols du thé vert et leurs effets thérapeutiques.

Les polyphénols sont considérés comme des composés cosmopolites des végétaux. Ce sont des antioxydants et ils constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit.

Pour cela, notre étude qui consiste à extraire les polyphénols à partir des feuilles du thé vert *Camellia sinensis*, mesurer leur toxicité (DL<sub>50</sub>) et leur activité anti-oxydante ainsi que quelques effets thérapeutiques (l'action contre le stress, l'activité amincissante et l'activité antimicrobienne) montre :

- L'extraction des polyphénols du thé vert par infusion est très efficace.
- L'analyse à la ECGMS a identifié 4 composants polyphénoliques inclus dans le lyophilisat obtenu dont le EGCG est le plus abondant.
- La DL<sub>50</sub> a montré que l'administration de 2500mg/kg de polyphénols par voie intraveineuse n'est pas létale.
- Le test de FRAP a montré une activité anti-oxydante très puissante des polyphénols du thé vert.
- Pour les paramètres thérapeutiques, les résultats obtenus montrent que les polyphénols du thé vert ont des effets protecteurs sur le modèle de la dépression SICD induite chez les souris, une forte activité amincissante et une activité antibactérienne très efficace vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et négative vis-à-vis *Escherichia coli*.

Donc, l'application des polyphénols du thé vert comme remède naturel est très efficace donc c'est un retour vers la pharmacie traditionnelle.

### **Mots clés :**

- Activité anti-oxydante, antioxydants, *Camellia sinensis*, effets thérapeutiques, polyphénols, thé, toxicité.

## ***Introduction :***

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2006). Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (De Corbière et Caraman, 2006). Les polyphénols (principalement, flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante. Ils entrent dans la composition des produits de consommation les plus courants, en particulier les fruits et légumes mais également les produits transformés comme le chocolat, le thé et le vin rouge.

De récentes études épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation riche en produits végétaux semble apporter une protection contre le développement de diverses pathologies dégénératives associées au stress oxydant (Causse, 2005) telles que les maladies chroniques cardio-vasculaires, les maladies neuro-dégénératives et divers cancers. Cette protection serait due aux micro-constituants des fruits et légumes dont les polyphénols sont les principaux représentants (Singh et *al.*, 2010).

Les polyphénols sont considérés comme des composés quasi universels des végétaux. Structurellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénolique (ex.: acide gallique) à des composés polymériques complexes comme les tanins (Macheix et *al.*, 2006). Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales (Edwin, 1996). On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit (Yusuf, 2006).

Actuellement, grâce au développement des méthodes d'extraction et des techniques d'analyses physico-chimiques et biologiques, une meilleure connaissance de la composition des plantes d'importance alimentaire et des aliments qui en dérivent, du devenir de leurs principaux micronutriments après ingestion (biodisponibilité) et des effets nutritionnels qui en découlent, est devenue possible. La recherche d'extraits végétaux riches en molécules à fort pouvoir antioxydant et la mesure de l'activité

antioxydante dans différents milieux restent des domaines de recherche importants (Zhu et al., 2001).

Cependant, la qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (Rusak et al., 2008). Les techniques conventionnelles d'extraction des polyphénols impliquent différents solvants et divers procédés : macération, soxhlet, chauffage conventionnel, infusion... Alors, ces méthodes impliquent une durée d'extraction qui peut être trop longue et au cours de laquelle des problèmes de dégradation de l'extrait peuvent survenir (Lin et al., 2008).

Dans notre étude, nous nous intéressons aux polyphénols du thé vert *Camellia sinensis*. Ces derniers ont été démontrés avoir des propriétés anti-oxydantes très bénéfiques et qui soupçonnent jouer un rôle important dans la biologie des vivants (plantes, hommes et animaux) (Lambert et Elias, 2010) aussi qu'ils sont en grande partie responsables de la promotion de santé offerte par le thé vert (Oaket al., 2005) puisqu'ils ont une efficacité médicale polyvalente (anti-cancérogène, anti-hépatotoxique, antimutagène...) (Zhu et al., 2001). Aussi, Zheng et al., ont rapporté que les polyphénols ont une activité de modulation de la multi-résistance (Edwin, 1996).

La stabilité des polyphénols, produits phyto-chimiques extraits à partir des feuilles du thé vert *Camellia sinensis*, est à l'étude depuis plusieurs décennies afin de déterminer leurs modifications chimiques au cours de leurs transformations (Ananingsih et al., 2011).

A cet égard, des études sur le modèle animale ont été opérées et ont montré leurs effets bénéfiques (Grosogeat, 2009) qui commencent aujourd'hui à recevoir l'attention scientifique qu'elles méritent.

Pour ces effets, notre travail porte sur l'exploration des polyphénols du thé vert *Camellia sinensis* :

- 1- Extraction des polyphénols à partir des feuilles du thé vert *Camellia sinensis*.
- 2- Etude de leurs conséquences toxicologiques.
- 3- Etude de quelques effets thérapeutiques.

Cette recherche est réalisée au sein de 5 laboratoires. La première partie, consiste à l'extraction des polyphénols à partir du thé vert *Camellia sinensis*, est réalisée au niveau des laboratoires du Centre de la Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA) et le Laboratoire Central de la Police Scientifique et un laboratoire d'analyses médicales chez un privé. La deuxième partie étant une expérimentation animale. Certaines expériences de cette étape sont réalisées au niveau de la station expérimentale de l'université de Blida. Le reste des expériences est mené dans le complexe SAIDAL, filiale ANTIBIOTICAL, Médéa.

- Du 03/02/2013 au 07/02/2013 : Stage pratique au niveau du Centre de la Recherche Nucléaire d'Alger.
- Du 17/02/2013 au 24/03/2013 : Stage pratique au niveau du complexe SAIDAL, filiale ANTIBIOTICAL, Médéa.
- A partir du 26/03/2013 : Stage pratique au niveau de la station expérimentale de l'université de Blida.
- Le 24/06/2013 : Stage pratique au niveau du Laboratoire Centrale de la Police Scientifique, Alger.
- Du 27/06/2013 au 01/07/2013 : Stage pratique dans un laboratoire d'analyses médicales (Dr. Mamma). Ouledyaich - Blida.

Cette prospection cible l'illustration de quelques effets du thé vert qui est l'une des plantes les plus utilisées à l'échelle domestique et dont son infusion représente la deuxième boisson consommée au monde par toutes les populations (Oak et *al.*, 2005).

Dans ce travail, nous nous intéressons à étudier les polyphénols extraits à partir du thé vert. Ces polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Ces approfondissements ont pour objectif de discuter de manière critique les polyphénols alimentaires du thé vert qui sont perçus comme sains par les informateurs de l'activité pharmacologique de cette plante est ensuite analysée sur la base de la

documentation disponible. A cet effet, ce document envisage l'étude toxicologique et quelques paramètres thérapeutiques de ces polyphénols.

## II-1- Matériel :

### II-1-1- Matériel biologique :

Le thé vert 70 (thé BARARI), la particularité de ce type de thé c'est que la feuille entière est utilisée et non pas des feuilles brisées.



Figure 2 : Image montrant le thé vert *Camellia sinensis* 70 utilisé.

Les essais sont pratiqués sur des souris suisses pesant entre 17g et 20g et âgées de 4 à 5 semaines et aussi sur des lapins âgés de 3 à 5 mois et pesent entre 2343g et 3702g.

Les animaux utilisés pour la réalisation de cette enquête sont toussains, résistent parfaitement sous notre climat et bien adaptés aux conditions de laboratoires (cycle nyctéméral, température, humidité relative, l'abondance en eau et l'alimentation).

#### a- Température et humidité des salles :

- Température : Les souris utilisées sont mises à une température entre 20 et 22°C et les lapins à la température ambiante.
- Hygrométrie des salles : Elle est d'environ 55%.

**b- Alimentation:**

L'aliment est donné de manière *ad-libitum*. Il est constitué de granulés fabriqués par l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB).

**c- Eau :**

Les cages sont munies de tétines permettant aux animaux l'accès à l'eau très facilement, notant que l'abreuvement des animaux doit permettre une disponibilité permanente en eau de bonne qualité.

**d- Luminosité :**

Dans le laboratoire, le cycle nyctéméral est respecté. Parfois, l'utilisation d'un éclairage artificiel le jour est favorisé.

Pour la réalisation du reste des essais (activité antimicrobienne), des souches de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* et Streptomyces.

**II-1-2- Matériel non-biologique :**

- Centrifugeuse (annexe 1, figure 11).
- Congélateur à -80°C.
- Spectrophotomètre.
- Lyophilisateurs (annexe 1, figure12).
- Plaque chauffante (annexe 1, figure13).
- Balance analytique (annexe 1, figure14).
- Etuve (annexe 1, figure15).
- Bain-Marie thermostaté(annexa 1, figure 16).
- Verrerie de laboratoire (mortier, béchers, fiole jaugée, boîte de pétrie en verre, barreau agitateur).
- Papier aluminium.
- Seringues.
- Autoclave.
- ECGMS.
- Géloses (gélose nutritive et Luria-Bertani).

**II-1-3- Réactifs utilisés :**

- Le tampon de phosphate 0,2 M.
- Le potassium hexacyanoferrate [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] à 1 %.
- L'acide trichloracétique à 10%.
- Le FeCl<sub>3</sub> à 1 %.

**II-2- Méthodes :****II-2-1- Extraction des polyphénols du thé vert *Camellia sinensis*:****➤ But :**

Cette étape est réalisée pour ôter et purifier les polyphénols inclus dans la feuille du thé vert. Ainsi, les transformer à une forme lyophilisée et donc une poudre qui a été utilisée dans la suite des essais.

**➤ Principe :**

Il consiste à faire sortir les polyphénols de la feuille du thé vert sans l'utilisation de solvants ou d'autres produits chimiques afin d'ignorer la possibilité d'intoxiquer les animaux utilisés dans les expériences réalisées.

**➤ Mode opératoire :**

- Les feuilles du thé vert sont partiellement broyées à l'aide d'un mortier.
- Après broyage, l'eau distillée est ajoutée à raison de 10 ml pour chaque gramme de thé vert.
- Le mélange (thé vert broyé + eau distillée) est mis directement sur une plaque chauffante réglée à 100°C pendant 15 min notant que ce mélange est vêtu du papier aluminium pour éviter l'oxydation des polyphénols à l'air et à la lumière.
- Après 15 min, l'infusion est filtrée à l'aide d'un passoir fin.
- Le filtrat obtenu subit une centrifugation pendant 15 min à 4000 rpm.
- Le filtrat est récupéré, congelé à -20°C pendant 24h ou -80°C pendant 1h puis lyophilisé (Almajano *et al.*, 2008).
- Le rendement de l'extraction doit être en voisinage de 30%.
- Enfin, une analyse à la ECGMS est accompagnée pour montrer la composition polyphénolique de l'extrait obtenu.

- ❖ Il faut signaler que le lyophilisat doit être porté loin de la lumière, de l'humidité, de la chaleur et des températures élevées et des températures trop basses.

### **II-2-2- Etude toxicologique :**

#### **DL<sub>50</sub> :**

##### ➤ **But :**

Cette étape est réalisée pour confirmer la dose létale responsable de la mortalité de la moitié de la population utilisée pour l'analyse et donc pour savoir la dose maximale qui engendre l'intoxication des animaux dans la suite de l'étude.

##### ➤ **Principe :**

C'est la recherche de la quantité des polyphénols, extraits à partir du thé vert, statistiquement établie, dont nous pouvons nous attendre à ce qu'elle provoque la mort de 50 % des animaux d'expérience dans un temps donné (48h), après administration par voie intraveineuse (Anonyme 1).

##### ➤ **Mode opératoire :**

L'étude de la toxicité est faite sur 20 souris.

- Avant administration, la quantité des polyphénols lyophilisés désirée pour l'analyse est diluée dans de l'eau distillée à raison de 1ml pour chaque gramme de lyophilisat utilisé (Schmidt et *al.*, 2005).
- La dose appliquée est 2500 mg/kg de poids corporel (Hsu et *al.*, 2011).
- Après administration par voie intraveineuse de la préparation des polyphénols, le résultat attendu s'avère après 48h (Anonyme 1).

##### • **Lecture :**

Après 48h, le nombre d'animaux survivants est pris comme indicateur de toxicité :

- ~ Si la mortalité des animaux utilisés est de 50% ou plus, cela signifie que la dose administrée est mortelle.

- ~ Si le niveau de mortalité est égal au niveau de survie (50% mortalité, 50% survie), la dose administrée est dite toxique ou plus ou moins toxique.
- ~ Si la mortalité des animaux utilisés est moins de 50% (entre 0% et 50%), cela signifie que la dose administrée n'est pas toxique et donc cette dose peut être intensifiée (Anonyme 1).

### II-2-3- Activité anti-oxydante :

#### ➤ But :

La présente pratique porte sur l'évaluation de la propriété anti-oxydante des polyphénols du thé vert *Camellia sinensis* par la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Cette méthode (FRAP) est une méthode rapide et peu coûteuse spécifiquement orientée sur la capacité des produits testés à réduire le fer oxydé.

#### ➤ Principe :

Cette technique consiste à observer durant quatre minutes le changement d'absorbance à  $\lambda = 700\text{nm}$  et à pH acide, résultant de la réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ (ferric-tripyridyltriazine complex) (Benzie et Strain, 1996; Roginsky et Lissi, 2003).

Cette méthode est adéquate pour caractériser le potentiel antioxydant de composés purs. Toutefois, le potentiel de plusieurs molécules, comme une variété de polyphénols, ne peut être mesuré précisément du fait que leur temps de réaction dépasse les quatre minutes standard de cinétique (Huang et al., 2005).

Comme cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne en rien sur la capacité du produit testé à protéger quelconque substrat biologique contre l'oxydation (Frankel et Meyer, 2000).

#### ➤ Mode opératoire :

*Ferric reducing antioxidant power* (FRAP) ou le pouvoir réducteur du fer est déterminée selon la méthode d'Oyaizu.

- Dans des tubes à essai, 0,5 ml de solution de l'échantillon à différentes concentrations (de 0 à 1000 mg/ml) sont préparées.
  - 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) sont ajoutés à chaque tube puis 2,5 ml de potassium hexacyanoferrate [ $K_3Fe(CN)_6$ ] à 1 % (dilué dans l'eau distillée).
  - L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 min.
  - Un volume de 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) est ensuite ajouté.
  - Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min.
  - Le surnageant (2,5 ml) est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de  $FeCl_3$  à 1% fraîchement préparée dans de l'eau distillée.
  - Un blanc sans échantillon (témoin) est préparé dans les mêmes conditions.
  - La lecture se fait à 700 nm et la vitamine E est utilisée comme contrôle positif.
- Dans cette méthode, plus l'absorbance est haute, plus la puissance de réduction est haute (Oyaizu, 1986).

#### **II-2-4- Etude de quelques effets thérapeutiques :**

##### **II-2-4-1- Action contre le stress:**

###### **➤ But :**

Cette étape est opérée pour certifier l'effet anti-stressant des polyphénols du thé vert. Le stress étant la première cause des maladies chroniques diverses comme le cancer, la dépression... (Liu et *al.*, 2013) et que les polyphénols du thé vert sont contemplés comme traitement, il est obligatoire d'étudier leur action thérapeutique contre le stress.

###### **➤ Principe :**

La présente expérience a été conçue pour étudier l'effet protecteur de polyphénols du thé vert sur le Stress Imprévisible Chronique Doux (SICD) induit par le modèle de dépression chez les souris. Avec l'exposition quotidienne au stress pendant 5 semaines successives, les polyphénols ont été administrés à des souris à une dose journalière de

25 mg/souris ou 50 mg/souris par gavage pendant 3 semaines consécutives à partir de la troisième semaine (Liu et *al.*, 2013).

➤ **Mode opératoire :**

Cette analyse est effectuée sur 40souris males et se poursuit pendant 5 semaines.

- Les animaux ont été randomisés en 5 groupes expérimentaux spécifiques dont chacun cube 8 souris :
  - Groupe 1 : Témoin, sans aucune condition de stress.
  - Groupe 2 : Témoin,sans aucune condition de stress mais reçoit 50 mg/souris/jour de polyphénols du thé vert.
  - Groupe 3 : SICD (Stress Imprévisible Chronique Doux). Les animaux subissent les facteurs de stress pendant 5 semaines successives mais ne reçoivent aucune dose de polyphénols.
  - Groupe 4 : Les animaux subissent les facteurs de stress et reçoivent un traitement de polyphénols du thé vert à une dose quotidienne de 25 mg/souris/jour, 30 minutes avant l'exposition aux conditions de stress à partir de la troisième semaine.
  - Groupe 5 : Les animaux subissent les facteurs de stress et reçoivent un traitement de polyphénols du thé vert à une dose quotidienne de 50 mg/souris/jour, 30 minutes avant l'exposition aux conditions de stress à partir de la troisième semaine.
- Les facteurs de stress ont été administrés une fois par jour pendant 5 semaines consécutives, à savoir la privation de nourriture pendant 24h ou d'eau pendant 24h, 5 min de natation à froid (à 4°C), pincement de la queue pendant 1 minute à 1 cm de l'extrémité de la queue, l'inclinaison de la cage pendant 24h et 4h immobilisation et l'éclairage du jour au lendemain (Liu et *al.*, 2013).

- **Lecture :**

Observation du comportement des souris pendant les heures qui suivent l'exposition au facteur de stress.

- **Remarque :**

Le facteur de stress doit être changé à chaque jour pour que les animaux utilisés ne s'habituent pas au stress provoqué et donc le facteur de stress appliqué ne perd pas son efficacité.

#### **II-2-4-2- Activité amincissante :**

##### **➤ But :**

Cette analyse est accomplie pour témoigner le pouvoir diététique des polyphénols du thé vert. Sachant qu'un poids élevé est la source de plusieurs maladies (diabète, obésité, maladies cardiovasculaires...) et que le thé est connu depuis longtemps comme aliment amincissant, cet examen est réalisé pour prouver l'efficacité des polyphénols du thé vert dans le chemin de perte de poids.

##### **➤ Principe :**

Le principe consiste à suivre les variations du poids chez les lapins, en leur administrant les polyphénols du thé vert 3 fois par jours (au contour des repas), par gavage, pendant 87 jours (13 semaines environ).

##### **➤ Mode opératoire :**

Cette analyse était réalisée sur 5 lapins. Pendant les 87 jours, aucune modification sur la quantité de polyphénols consommée par jour n'était entraînée.

##### ***Remarque :***

- Si cette analyse est réalisée sur des humains, aucune variation dans la quantité de polyphénols consommée par jour ne doit être apportée c'est-à-dire si les sujets utilisés ont l'habitude de consommer des aliments étant source de polyphénols (café, chocolat ...), leur régime ne doit pas être changé et donc le lyophilisat administré représente une deuxième source de polyphénols et non pas remplace la source initiale habituellement prise. Aussi, les individus choisis pour la réalisation

de cette étude sont sélectionnés selon leurs indices de masse corporelle (IMC) qui est calculé comme suit :

$$IMC = \frac{\text{poids (kg)}}{\text{taille}^2(\text{m}^2)}$$

Tableau 1: Tableau récapitulatif et illustrateur des valeurs des IMC.

Moins de 16,5	Dénutrition ou famine
Entre 16,5 et 18,5	Maigreur
Entre 18,5 et 25	corpulence normale
Entre 25 et 30	Surpoids
Entre 30 et 35	Obésité modérée
Entre 35 et 40	Obésité sévère
Plus de 40	Obésité massive ou morbide

- Les lapins triés pour l'analyse sont sélectionnés selon leur poids car il n'existe pas d'IMC pour les animaux.
- Dans les 3 premiers jours, les animaux consomment une alimentation équilibrée et 100% énergétique (riche en glucides, protéines et lipides). Dans la suite de l'analyse, le régime alimentaire habituel est repris.
- Durant les 87 jours, les lapins prenaient les polyphénols du thé vert, par gavage, 3 fois par jour :
  - La première prise à 7h.
  - La deuxième prise à 12h.
  - La troisième prise à 19h (Diepvens et *al.*, 2006).

- La quantité de polyphénols administrée à chaque fois est 390mg de poudre de feuille de thé vert ce qui équivaut à 130mg du lyophilisat du thé vert (Derbré, 2010).
- La mesure du changement du poids est journalière durant toute l'analyse (Diepvens et *al.*, 2006).

### II-2-4-3- Activité antibactérienne:

#### ➤ **But :**

La mise en évidence de l'effet antibactérien des composés testés sur des bactéries, ainsi que la détermination de la résistance et la sensibilité de ces souches vis-à-vis les composés phénoliques testés.

#### ➤ **Principe :**

Le principe de cette technique est le même que celui du test d'antibiogramme. Les disques sont chargés de polyphénols et déposés à la surface des milieux de cultures solides etensemencés par des espèces bactériennes bien déterminées.

Les polyphénols commencent à diffuser dès leur application sur le milieu de culture, et pour favoriser la croissance bactérienne, ces boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures ou plus selon le germe. L'effet de polyphénols sur la croissance bactérienne se traduit par la présence d'une zone d'inhibition, dépourvue de bactéries.

#### ➤ **Mode opératoire :**

Les souches testées sont :

*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

#### **Préparation des disques :**

- Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés en papier Buvard.

- Ils sont autoclavés pendant 20 min à 120°C.
- Ces disques stériles sont plongés dans l'extrait des polyphénols du thé vert.

**Application du test :**

- Dans des boîtes de pétri stériles, les milieux de cultures suivants sont coulés :
  - ✓ Gélose nutritive ordinaire pour *Pseudomonas aeruginosa*.
  - ✓ Luria-Bertani pour *Escherichia coli*.
- Les géloses utilisées se solidifient pendant 15 min sur lesquelles 3µl des suspensions bactériennes sont déposées etensemencées à l'aide d'un râteau.
- Les disques sont imbibés de polyphénols du thé vert et déposés sur la surface de la gélose.
- Les germes sont incubés pendant 24h à 37°C.

**Remarque :**

- Ce test se réalise dans une zone stérile (à côté du bec benzène) pour éviter la contamination des cultures utilisées.
- L'utilisation d'un disque référence d'antibiotique est essentielle pour illustrer la différence entre les zones d'inhibition obtenues :  
Pour *Pseudomonas aeruginosa* : le disque d'antibiotique utilisé est Gentamicine.  
Pour *Escherichia coli* : le disque d'antibiotique utilisé est Furane.

## ***Liste des abréviations :***

- **EC**: Epicatechine.
- **ECG** : Epicatechine-3-gallate.
- **EGC** : Epigallocatechine.
- **EGCG** : Epigallocatechine-3-gallate.
- **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.
- **FeCl<sub>3</sub>** :Chlorure ferrique ou perchlorure de fer.
- **Fe<sup>3</sup>-TPTZ** : *ferric-tripyridyltriazinecomplex*.
- **FRAP** : *FerricReducingAntioxidant Power*.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'oxygène.
- **HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.
- **IMC** : Indice de Masse Corporelle.
- **IR** : Infra-rouge.
- **K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Potassium hexacyanoferrate.
- **λ** : Longueur d'onde.
- **MeOH** :Méthanol.
- **MR** : Multi-résistance.
- **NaCl** : Chlorure de sodium.
- **Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** :Carbonate de sodium.
- **Pgp** : P-glycoprotéine.
- **SICD** : Stress Imprévisible Chronique Doux.

## *Liste des figures :*

- **Figure :**.....**Page**
- Figure 1 : La structure moléculaire des 4 majeurs polyphénols du thé vert.....7
- Figure 2 : Image montrant le thé vert *Camelliasinensis*70 utilisé.....17
- Figure 3 : Figure montrant la composition polyphénolique du lyophilisat du thé vert *Camellia sinensis* (Linné, 1762).....30
- Figure 4: Courbe montrant le pouvoir réducteur du fer (FRAP) de l'extrait éthanolique des polyphénols du thé *Camellia sinensis* par rapport à l'absorbance à 700nm.....35
- Figure 5 : Courbe montrant les valeurs de FRAP par rapport à la concentration de l'extrait éthanolique des polyphénols du thé *Camellia sinensis*.....35
- Figure 6 : Variation du poids des lapins au cours des 13 semaines de l'expérience.....48
- Figure 7 : Niveau de diminution du poids des lapins au cours de l'analyse.....50
- Figure 8 : Photographie montrant l'activité antimicrobienne du thé vert et le disque de référence de *Pseudomonas aeruginosa*.....52
- Figure 9 : Photographie montrant l'activité antimicrobienne des polyphénols du thé vert et le disque de référence de *Escherichia coli*.....53
- Figure 10 : Effets biologiques des polyphénols .....55

**Figure 6: Variation du poids des lapins au cours des 13 semaines de l'expérience.**

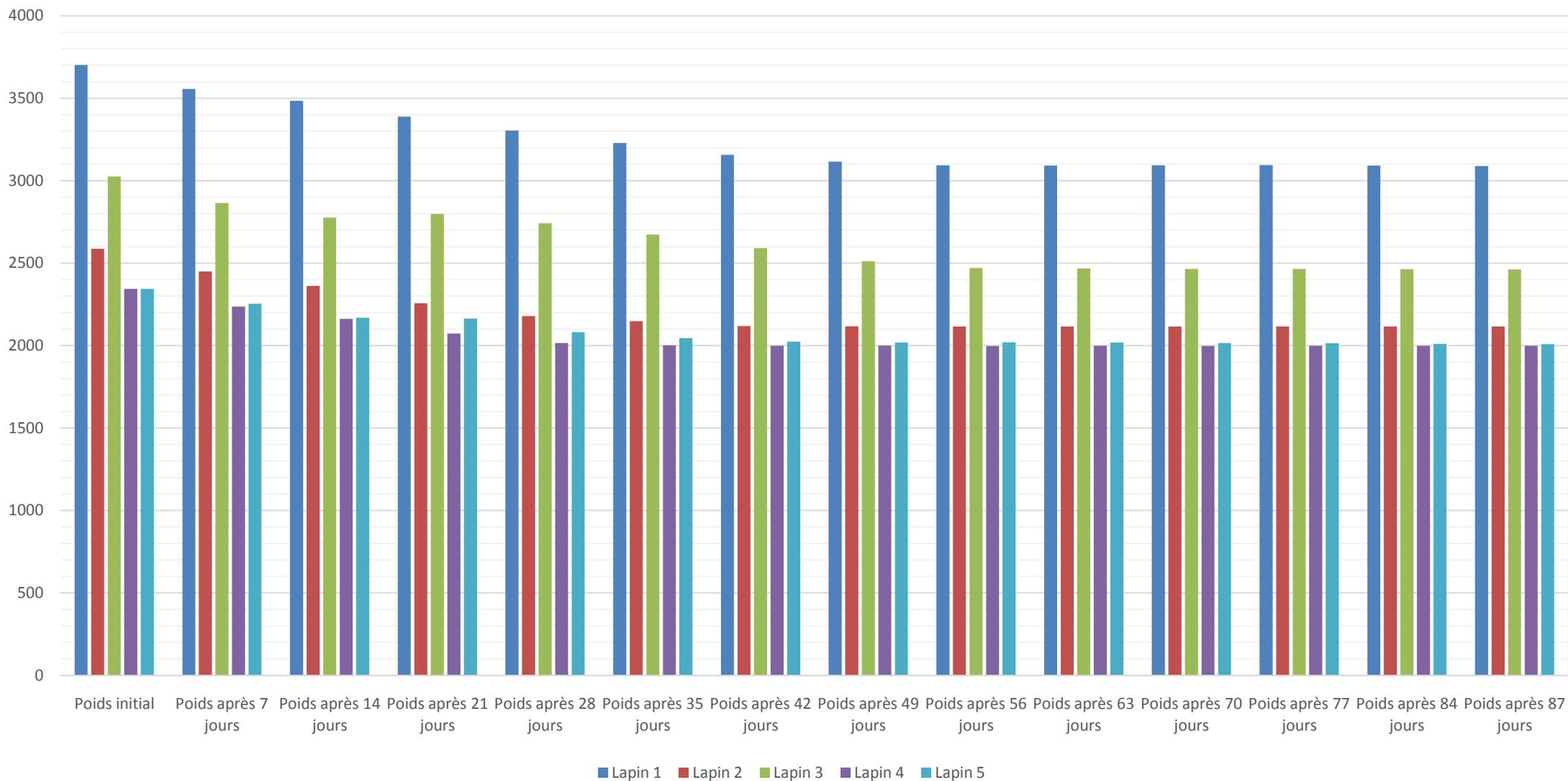
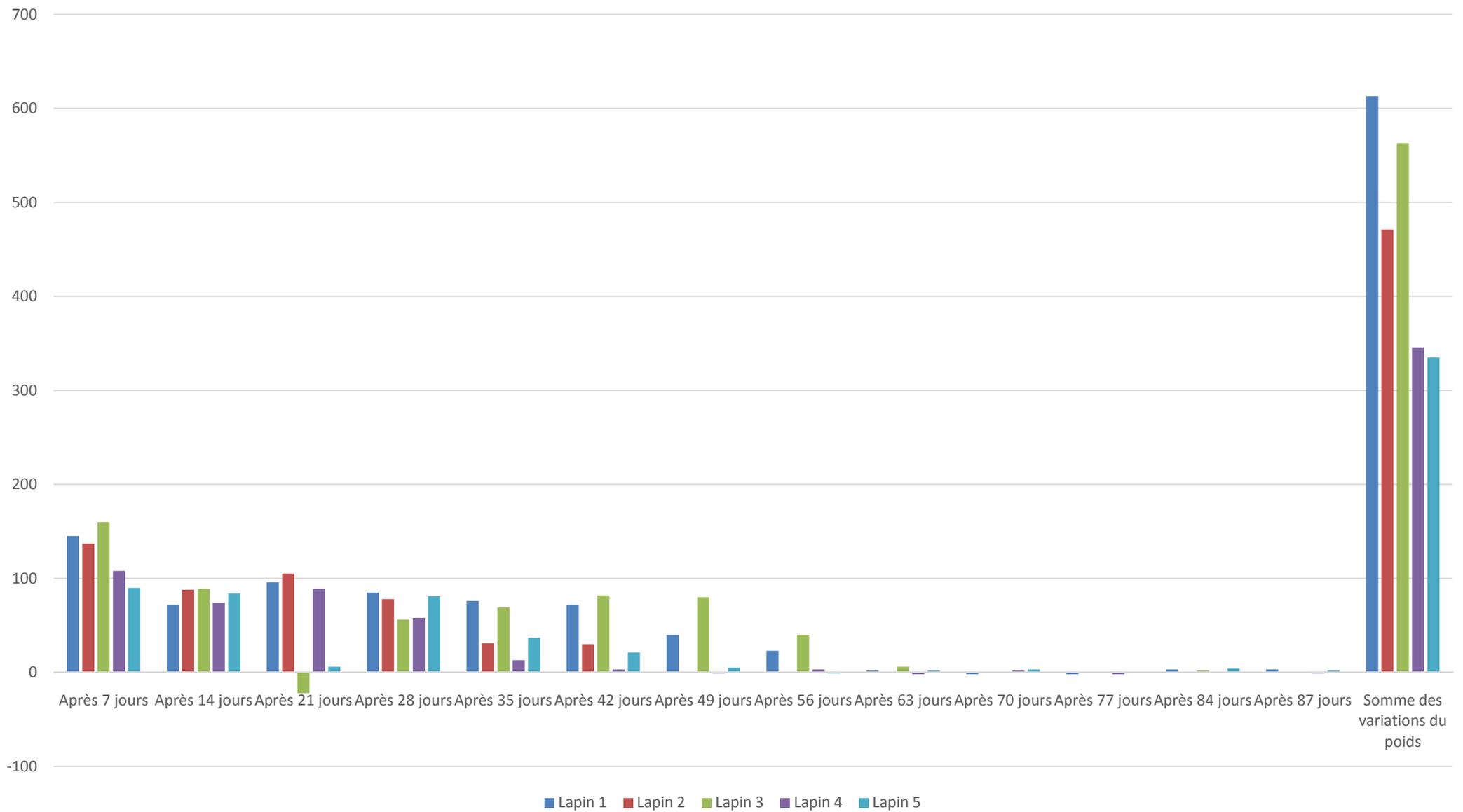




Figure 7: Niveau de diminution du poids des lapins au cours de l'analyse



## *Summary:*

**Title:** Extraction of green tea polyphenols and their therapeutic effects.

Polyphenols are considered as cosmopolitan plant compounds. They are antioxidants and are the active principles of many medicinal plants. We find them, in general, in all vascular plants, where they can be located in various organs: roots, stems, wood, leaves, flowers and fruit.

Reason of this, our study consists on extracting polyphenols from green tea *Camellia sinensis* leaves, measuring their toxicity (LD<sub>50</sub>) and their antioxidant effects and some therapeutic activities (action against stress, slimming activity and antibacterial activity) shows:

- The extraction of polyphenols of green tea by infusion is very effective.
- The analysis by ECGMS identified 4 polyphenolic components included in the obtained lyophilisate which EGCG is the most abundant.
- The LD<sub>50</sub> showed that administration of 2500mg/kg polyphenols intravenously is not lethal.
- The FRAP test showed a very powerful antioxidant activity of polyphenols of green tea.
- For therapeutic settings, the results obtained show that the polyphenols of green tea have protective effects on the model of depression SICD induced in mice, a strong slimming activity and a very effective antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and screw-negative against *Escherichia coli*.

Therefore, the application of green tea polyphenols as a natural remedy is very efficient so it is a return to the traditional pharmacy.

### **Keywords:**

- Antioxidant effects, antioxidant, *Camellia sinensis*, therapeutic activities, polyphenols, tea, toxicity.

## ***Glossaire :***

- ***Ad-libitum*** : Mot latin qui veut dire donner à volonté.
- **Apoptose** : Le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes multicellulaires. Elle est en équilibre constant avec la prolifération cellulaire.
- **Athérosclérose** : C'est une forme d'artériosclérose, dans laquelle des plaques d'athérome se forment au niveau de la couche interne (l'intima) des artères.
- **Clairance** : La clairance est la capacité d'un tissu, organe ou organisme à éliminer d'un fluide (le sang, la lymphe... etc.) une substance donnée.
- **Dépression** : est un trouble mental caractérisé, en psychiatrie, par une tristesse de l'humeur. Elle est accompagnée d'une faible estime de soi et d'une perte d'intérêt ou de plaisir dans des activités habituellement agréables. D'autres signes peuvent survenir, tels que des pensées négatives, des intentions suicidaires, des troubles du sommeil, une fatigue, des troubles de l'appétit, de l'anxiété ou de l'angoisse et dans certains rares cas extrêmes, des hallucinations.
- ***Escherichia coli*** : également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*. C'est une bactérie intestinale (Gram négatif), des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles de nourrissons, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou Sepsis.
- **Flavanols** : Ce sont des pigments végétaux de couleur jaune plus ou moins clair. Ils diffèrent par le nombre et la position d'hydroxyle phénolique -OH, parfois méthylés.
- **Hypertension** : L'hypertension artérielle (HTA) est une pathologie cardiovasculaire définie par une pression artérielle trop élevée. Souvent multifactorielle, l'HTA peut être aiguë ou chronique, avec ou sans signes de gravité. On parle communément d'hypertension artérielle pour une pression artérielle systolique supérieure à 140 mmHg et une pression artérielle diastolique supérieure à 90 mmHg.

- **Micronutriments** :Nutriments sans valeur énergétique, mais vitaux pour notre organisme. Ils regroupent les vitamines, les minéraux et les oligo-éléments. Ils sont actifs à de très faibles doses.
- **Multi-résistance** : la capacité des cellules exposées à un seul médicament de développer une résistance à un large éventail de médicaments structurellement indépendants.
- **Pathologies neuro-dégénératives** :Les maladies neuro-dégénératives forment un sous-groupe de maladies dégénératives affectant le fonctionnement du cerveau ou plus généralement du système nerveux de façon progressive au cours de leur évolution. Ces maladies provoquent généralement une détérioration du fonctionnement des cellules nerveuses, en particulier les neurones, pouvant conduire à leur mort cellulaire. La conséquence pour le malade est une altération progressive et souvent irréversible des fonctions nerveuses, qui peut conduire à son décès.
- **Phyto-alexines** : métabolites synthétisés par la plante en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries.
- ***Pseudomonas aeruginosa*** :autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique. C'est une bactérie gram négatif du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles.  
Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante elle est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés).
- **Radicaux libres** :Le terme « radical libre » est utilisé pour désigner les dérivés réactifs de l'oxygène, ou « espèce réactive oxygénée » ou « radicaux oxygénés libres ». Il s'agit d'une classe spécifique de radicaux.

## الملخص:

**العنوان:** استخلاص بوليفينولات الشاي الأخضر وتأثيراتها العلاجية.

تعتبر مادة البوليفينول مركبات نباتية عالمية. هي مواد مضادة للأكسدة و تمثل المكونا الفعالة للعديد من النباتات الطبية. نجدها بشكل عام، في جميع النباتات الوعائية، حيث يمكن أن تكون متواجدة في الاجهزة المختلفة: الجذور، السيقان، الخشب، الأوراق، الأزهار والفواكه .

لذلك، دراستنا التي تتمثل في استخراج مادة البوليفينول من اوراق الشاي الاخضر *Camellia sinensis*، تقيس سميتها ( $DL_{50}$ )، التأثيرات المضادة للأكسدة وكذلك بعض الانشطة العلاجية (المفعول ضد القلق، خاصية التنحيف و المفعول ضد البكتيريا) تبين:

- استخلاص بوليفينولات الشاي الأخضر بطريقة الترسير بفعالية جدا.
- تجربة ECGMS حددت 4 مكونات بوليفينولية محتواة في المنتج المتحصل عليه حيث ECGC هو السائد.
- $DL_{50}$  أظهرت أنحن 2500 مغ/كغم من البوليفينولات تعطر يقالوريد غير قاتلة.
- أظهر اختبار FRAP على مادة بوليفينولات الشاي الأخضر انشطتها المضاد للأكسدة قوي جدا.
- بالنسبة لإعدادات العلاجية، النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن مادة البوليفينول في الشاي الأخضر لها تأثيرات واقية على نموذج الاكتئاب SICD المحقق عند الفئران، نشاط التنحيف قوي ومفعول قوي مضاد للبكتيريا ضد *Pseudomonas aeruginosa* سلبيا ضد *Escherichia coli*.

إذا تطبق بوليفينولات الشاي الأخضر كعلاج طبيعي فعال جدا وهي عودة للصيدلية التقليدية.

### الكلمات المفتاحية:

التأثيرات المضادة للأكسدة، مضاد للأكسدة، *sinensis*، *Camellia*، الأنشطة العلاجية بوليفينولات، شاي، سمية.

## *Sommaire :*

• Introduction.....	1
<b>I. Etude bibliographique :.....</b>	<b>4</b>
I-1- Généralités sur le thé vert.....	5
I-2- Les antioxydants.....	5
I-3- Rôle des polyphénols dans les plantes.....	10
I-4- Utilisation et application des polyphénols du thé vert.....	11
I-5- Recommandations.....	13
<b>II. Matériel et méthodes :.....</b>	<b>15</b>
II-1- Matériel :.....	17
II-2- Méthodes :.....	19
II-2-1- Méthode d'extraction des polyphénols appliquée.....	19
II-2-2- Etude toxicologique DL <sub>50</sub> .....	20
II-2-3- Activité anti-oxydante .....	21
II-2-4- Etude de quelques effets thérapeutiques :.....	22
<b>III. Résultats et discussion :</b>	
III-1- Résultats de l'extraction des polyphénols du thé vert.....	29
III-2- Résultats de l'étude toxicologique DL <sub>50</sub> .....	31
III-3- Résultats de l'activité anti-oxydante.....	34
III-4- Résultats de l'étude de quelques effets thérapeutiques :.....	36
III-4-1- Action contre le stress.....	36
III-4-2- Activité amincissante.....	47
III-4-3- Activité antimicrobienne.....	52
III-5- Discussion générale.....	53
• Conclusion.....	63
• Références bibliographiques.	
• Annexes.	

## ***Conclusion :***

Bien que les grandes lignes concernant les principales classes de composés phénoliques et les voies majeures de leur action aient été connues dès la fin des années 1960 – 1970, des avancées spectaculaires ont été obtenues depuis cette période grâce à l'amélioration des techniques dans des domaines variés.

Ce travail a été mené pour extraire les polyphénols à partir des feuilles du thé vert *Camellia sinensis* et pour étudier leur innocuité ( $DL_{50}$ ), leur activité anti-oxydante ainsi que certains paramètres et effets thérapeutiques.

Les résultats obtenus indiquent que l'extraction des polyphénols du thé vert par infusion est très efficace et qu'elle peut être généralisée. Le rendement de l'extraction est de 31,25% ce qui répond correctement aux normes suivies. L'identification de la composition chimique du lyophilisat obtenu par ECGMS a permis d'identifier plusieurs composants dont 4 représentent les composés polyphénoliques et que l'EGCG est le constituant le plus abondant (plus de 40%).

Pour la mise en évidence de la dose létale des polyphénols du thé vert, la  $DL_{50}$  a prouvé que ce produit n'est pas toxique à la dose utilisée 2500 mg/kg avec un taux de mortalité de 15% seulement.

Le test de FRAP a révélé que l'extrait du thé vert présente une puissante activité anti-oxydante.

Pour les paramètres thérapeutiques étudiés *in-vivo*, les résultats obtenus dévoilent une bonne efficacité des polyphénols du thé vert via :

- La réduction du stress : Une dose quotidienne de polyphénols du thé vert de 50mg/souris a été appliquée et a montré une productivité remarquable ce qui a prouvé que les polyphénols du thé vert ont un effet protecteur contre la dépression SICD induite chez les souris.
- La perte du poids : Durant les 87 jours de l'expérience, la diminution du poids était remarquable. Elle a atteint les 613, 471, 563, 345 et 335 pour les lapins 1, 2, 3, 4 et 5 respectivement.

Mais les examens *in-vitro* ont montré un résultat qui reste discutable :

- L'application des disques imbibés de polyphénols du thé vert avec *Pseudomonas aeruginosa* a donné un résultat très positif (zone d'inhibition de 1,8 cm) et même plus efficace que celui de disque antibiotiques de références (zone d'inhibition de 1,3 cm).
- Pour *Escherichia coli*, le résultat obtenu est négatif. Les zones d'inhibition obtenues sont de 2,4 cm pour les disques antibiotiques de référence et de 0 cm pour les disques de polyphénols du thé vert préparés.

D'après les résultats obtenus de cette étude, nous concluons que les polyphénols du thé vert sont très bons pour la santé et qu'ils méritent l'engouement scientifique observé de nos jours. Cependant, nous retenons que les polyphénols soupçonnent de jouer un rôle important dans la biologie des vivants et qu'ils sont en grande partie responsables de la promotion de santé offerte par le thé vert.

Enfin, et d'après les résultats obtenus de notre travail, nous pouvons signaler que les polyphénols présentent un projet d'un remède polyvalent pour le bien-être.

## ***Références bibliographiques :***

Dans le cadre de cette étude, près de 250 références bibliographiques ont été présélectionnées. La liste ci-dessous se limite à 199 références.

- 1- **Abdolahad M., Janmaleki M., Mohajerzadeh S., Akhavan O. et Abbasi S. (2013).** « Polyphenols attached graphene nanosheets for high efficiency NIR mediated photodestruction of cancer cells ». *Materials Science and Engineering C*. Article in press. MSC-03744. P : 8.
- 2- **Afaq F. Adhami V., Ahmad N. et Mukhtar H. (2004).** « Health benefits of tea consumption ». In T. Wilson et N. J. Temple (Eds.). *Beverages in nutrition and health*. New Jersey: Humana Press Inc.
- 3- **Ahmad N., Cheng P. et Mukhtar H. (2000).** « Cell Cycle Dysregulation by Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate ». *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume : 275. pp :328 – 334.
- 4- **Alexandropoulou I., Komaitis M. et Kapsokefalou M. (2006).** « Effects of iron, ascorbate, meat and casein on the antioxidant capacity of green tea under conditions of in vitro digestion ». *Food Chemistry*. Volume : 94. pp : 359 – 365.
- 5- **Almajano M., Carbo R., Jiménez J. et Gordon M. (2008).** « Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions ». *Food Chemistry*. Volume : 108. pp : 55 – 63.
- 6- **Alonso A., Dominguez C., Guillén D. et Barroso C. (2002).** « Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume : 50. pp : 3112 – 3115.
- 7- **An B., Kwak J., Son J., Park J., Lee J., Jo C. et Byun M. (2004).** « Biological and anti-microbial activity of irradiated green tea polyphenols ». *Food Chemistry*. Volume : 88. pp : 549 – 555.
- 8- **Ananingsih V., Sharma A. et Zhou W. (2011).** « Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection ». *Food Research International*. Article in press. Frin-03592. P : 11.
- 9- **Annabi B., Lachambre M., Bousquet-Gagnon N., Pagé M., Gingras D. et Béliveau R. (2002).** « Green tea polyphenol (3)-epigallocatechin 3-gallate inhibits

- MMP-2 secretion and MT1-MMP-driven migration in glioblastoma cells ». *Biochimica et Biophysica Acta*. Volume : 1542. pp : 209 – 220.
- 10- **Anonyme 1. (2008)** : Pharmacopée Européenne. (2008).
- 11- **Aoshima H. et Ayabe S. (2007)**. « Prevention of the deterioration of polyphenol-rich beverages ». *Food Chemistry*. Volume : 100. pp : 350 - 355.
- 12- **Ardel W., Katch F. et Katch V. (2004)**. « *Nutrition et performances sportives* ». P : 192.
- 13- **Aruoma O., Sun B., Fujii H., Neergheen V., Bahorun B., Kang K. et Sung M. (2006)**. « Low molecular proanthocyanidin dietary biofactor Oligonol: its modulation of oxidative stress, bioefficacy, neuroprotection, food application and chemoprevention potentials ». *Biofactors*. Volume : 27. pp : 245 – 265.
- 14- **Asfar S., Abdeen S., Dashti H., Khoursheed M., Al-Sayer H., Mathew T. et Al-Bader A. (2003)**. « Effect of Green Tea in the Prevention and Reversal of Fasting-Induced Intestinal Mucosal Damage ». *Basic Nutritional Investigation*. Volume : 19. pp : 536 – 540.
- 15- **Azam S., Hadi N., Khan N. et Hadi S. (2004)**. « Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties ». *Toxicology in-vitro*. Volume : 18. pp : 555 – 561.
- 16- **Babich H., Zuckerbraun H. et Weinerman S. (2007)**. « In vitro cytotoxicity of catechin gallate, a minor polyphenol in green tea ». *Toxicology Letters*. n° : 171. pp : 171 – 180.
- 17- **Banerjee S. (2006)**. « Inhibition of mackerel (*Scomber scombrus*) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols ». *Food Research International*. Volume : 39. pp : 486 – 491.
- 18- **Bansal S., Choudhary S., Sharma M., Kumar S., Lohan S., Bhardwaj V., Syan N. et Jyoti S. (2013)**. « Tea: A native source of antimicrobial agents ». *Food Research International*. Article in press. FRIN-04463. P : 17.
- 19- **Basu A., Betts N., Mulugeta A., Tong C., Newman E. et Lyons T. (2013)**. « Green tea supplementation increases glutathione and plasma antioxidant capacity in adults with the metabolic syndrome ». *Nutrition Research*. Article in press. P : 8.
- 20- **Basu A., Du M., Sanchez K., Leyva M., Betts N., Blevins S., Wu M., Aston C. et Lyons T. (2011)**. « Green tea minimally affects biomarkers of inflammation in obese subjects with metabolic syndrome ». *Nutrition*. Volume : 27. pp : 206 – 213.

- 21- **Beaudeau J., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A. et Peynet J. (2006).** « Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose ». *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. Volume : 21. pp : 144 – 150.
- 22- **Benbrook C. (2005).** « Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques : Rapport sur l'état des connaissances scientifiques ». *The Organic Center*. pp : 7 – 11.
- 23- **Benzie I. et Strain J. (1996).** « The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay ». *Analytical Biochemistry*. Volume : 239. pp. 70 - 76.
- 24- **Berger M. (2005).** « Can oxidative damage be treated nutritionally? ». *Clinical Nutrition*. Volume : 24. pp : 172 – 183.
- 25- **Berger M. (2006).** « Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances ». *Nutrition clinique et métabolisme*. Volume : 20. pp : 48 – 53.
- 26- **Berger M. et Chioléro R. (2001).** « Apport d'antioxydants en réanimation : pourquoi, lesquels, avec quels objectifs ? ». *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Réanimation*. Volume : 10. pp : 527 – 534.
- 27- **Bogdanski P., Suliburska J., Szulinska M., Stepien M., Pupek-Musialik D. et Jablecka A. (2012).** « Green tea extract reduces blood pressure, inflammatory biomarkers, and oxidative stress and improves parameters associated with insulin resistance in obese, hypertensive patients ». *Nutrition Research*. Volume : 32. pp : 421 – 427.
- 28- **Boudet A. (2007).** « Evolution and current status of research in phenolic compounds ». Volume : 68. pp : 2722 – 2735.
- 29- **Byun E.B., Choi H., Sung N. et Byun E.H. (2012).** « Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits TLR4 signaling through the 67-kDa laminin receptor on lipopolysaccharide-stimulated dendritic cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume : 426. pp : 480 – 485.
- 30- **Camargo A., Erdei D. et Barbosa D. (2006).** « Green tea exerts antioxidant action in vitro and its consumption increases total serum antioxidant potential in normal and dyslipidemic subjects ». *Nutrition Research*. Volume : 26. pp : 626 – 631.
- 31- **Carey F. et Sundberg R. (1996).** « *Chimie organique avancée : structure moléculaire et mécanismes réactionnels* ». P : 673.

- 32- **Carlioni P., Tiano L., Padella L., Bacchetti T., Customo C., Kay A. et Damiani E. (2012).** « Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar ». *Food Research International*. Article in press. FRIN-04209. P : 9.
- 33- **Carvalho M., Jerónimo C., Valentão P., Andrade P. et Silva B. (2010).** « Green tea: A promising anticancer agent for renal cell carcinoma ». *Food Chemistry*. Volume : 122. pp : 49 – 54.
- 34- **Causse C. (2005).** « *Les secrets de santé des antioxydants* ». pp : 16 - 17.
- 35- **Chan P., Qin Z., Zheng Z., Zhang L., Fang X., Sun F., Gu Z., Chen S., Ma J., Meng C., Langston J. et Tanner C. (2009).** « A randomized, double-blind, placebo-controlled, delayed start study to assess safety, tolerability and efficacy of green tea polyphenols in Parkinson's disease ». *Poster presentations / Parkinsonism and Related Disorders*. Volume : 15S2. pp : S29 – S199.
- 36- **Chen Q., Zhao J., Chaitep S. et Guo Z. (2009).** « Simultaneous analysis of main catechins contents in green tea (*Camellia sinensis* (L.)) by Fourier transform near infrared reflectance (FT-NIR) spectroscopy ». *Food Chemistry*. Volume : 113. pp : 1272 – 1277.
- 37- **Chen R., Wang J., Zhang X., Ren J. et Zeng C. (2011).** « Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) induced intermolecular cross-linking of membrane proteins ». *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Volume : 507. pp : 343 – 349.
- 38- **Cheng T. (2006).** « All teas are not created equal The Chinese green tea and cardiovascular health ». *International Journal of Cardiology*. Volume : 108. pp : 301 – 308.
- 39- **Cherniack E. (2011).** « Polyphenols: Planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome ». *Nutrition*. n° : 27. pp : 617 – 623.
- 40- **Choi D., Lee Y., Hong J. et Lee H. (2012).** « Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease ». *Brain Research Bulletin*. Volume : 87. pp : 144 – 153.
- 41- **Clement Y. (2009).** « Can green tea do that? A literature review of the clinical evidence ». *Preventive Medicine*. Volume : 49. pp : 83 – 87.
- 42- **Cui Y., Oh Y., Lim J., Youn M., Lee I., Pak H., Park W., Jo W. et Park S. (2012).** « AFM study of the differential inhibitory effects of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against Gram-positive and Gram-negative bacteria ». *Food Microbiology*. Volume : 29. pp : 80 - 87.

- 43- **Dai Q., Shu X., Li H., Yang G., Shrubsole M., Cai H., Ji B., Wen W., Frank A., Gao Y. et Zheng W. (2010).** « Is Green Tea Drinking Associated With a Later Onset of Breast Cancer? ». *Ann Epidemiol.* Volume : 20. pp : 74 – 81.
- 44- **Das M., Vedasiromoni J., Chauhan S. et Ganguly D. (1997).** « Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on the rat diaphragm ». *Journal of Ethnopharmacology.* Volume : 57. pp : 197 – 201.
- 45- **Davarpanah M., De Corbière S. et Caraman M. (2006).** « *L'halitose : une approche pluridisciplinaire* ». P : 100.
- 46- **De Oliveira A., Adams S., Lee L., Murray S., Hsu S., Hammond J., Dickinson D., Chen P. et Chu T. (2013).** « Inhibition of herpes simplex virus type 1 with the modified green tea polyphenol palmitoyl-epigallocatechin gallate ». *Food and Chemical Toxicology.* Volume : 52. pp : 207 – 215.
- 47- **Deka A. et Vita J. (2011).** « Tea and cardiovascular disease ». *Pharmacological Research.* Volume : 64. pp : 136 – 145.
- 48- **Derbré S. (2010).** « Tour d'horizon des compléments alimentaires à base de plantes ». *Actualités pharmaceutiques.* n° : 496. pp : 20 – 31.
- 49- **Descheemaeker K. (2004).** « *Nutri et phytothérapie : développements récents - 5<sup>ème</sup>* ». P : 67.
- 50- **Dhalla N., Temsah R. et Netticadan T. (2000).** *J. Hypertens.* n° : 655. pp : 18 - 73.
- 51- **Dhiman R., (2011).** « The Green Tea Polyphenol, Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) — One Step Forward in Antiviral Therapy Against Hepatitis C Virus ». *Journal of Clinical and Experimental Hepathology.* Volume : 1 (3). pp : 159 – 160.
- 52- **Di Domenico F., Foppoli C., Coccia R. et Perluigi M. (2012).** « Antioxidants in cervical cancer: Chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols ». *Biochimica et Biophysica Acta.* Volume : 1822. pp : 737 – 747.
- 53- **Diepvens K., Kovacs E., Vogels N. et Westerterp-Plantenga M. (2006).** « Metabolic effects of green tea and of phases of weight loss ». *Physiology & Behavior.* Volume : 87. pp : 185 – 191.
- 54- **Dinh M., Dinh M.T. et Jacquesy R. (2011).** « *La chimie et l'alimentation : pour le bien-être de l'homme* ». pp : 77 - 78.
- 55- **Ding M., Yang H. et Xiao S. (1999).** « Rapid, direct determination of polyphenols in tea by reversed-phase column liquid chromatography ». *Journal of Chromatography A.* Volume : 849. pp : 637 – 640.

- 56- **Dong L., Zhu J., Li X. et Li J. (2013).** « Effect of tea polyphenols on the physical and chemical characteristics of dried-seasoned squid (*Dosidicus gigas*) during storage ». *Food Control*. Volume : 31. pp : 586 – 592.
- 57- **Doré M. et Hennequin C. (2012).** « Séquelles esthétiques de la radiothérapie adjuvante dans le traitement conservateur du cancer du sein localisé ». *Cancer/Radiothérapie*. Volume : 16. pp : 462 – 469.
- 58- **Dubick M. et Omaye S. (2007).** « Grape wine and tea polyphenols in the modulation of atherosclerosis and heart disease ». In *R. E. C. Wildman (Ed.), handbook of nutraceuticals and functional foods. 2<sup>nd</sup> edition. Boca Raton: CRC Press.*
- 59- **Ebrahimi A. et Schluesener H. (2012).** « Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls ». *Ageing Research Reviews*. Volume : 11. pp : 329 – 345.
- 60- **Edeas M. (2009).** « *Les secrets de santé du thé* ». P : 82.
- 61- **Edwin H. (1996).** *J. Nat. Prod.* Volume : 59. pp : 205-215.
- 62- **Ellis L., Liu W., Luo Y., Okamoto M., Qu D., Dunn J. et Fujita M. (2011).** « Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses melanoma growth by inhibiting inflammasome and IL-1 $\beta$  secretion ». *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume : 414. pp : 551 – 556.
- 63- **Fanali C., Rocco A., Aturki Z., Mondello L. et Fanali S. (2012).** « Analysis of polyphenols and methylxantines in tea samples by means of nano-liquid chromatography utilizing capillary columns packed with core-shell particles ». *Journal of Chromatography A*. Volume : 1234. pp : 38 – 44.
- 64- **Ferguson L. (2001).** « Role of plant polyphenols in genomic stability ». *Mutation Research*. Volume : 475. pp : 89 – 111.
- 65- **Fralay A. et Tsimikas S. (2006).** « Clinical applications of circulating oxidized lowdensity lipoprotein biomarkers in cardiovascular disease ». *Curr Opin Lipidol.* n° : 17:502–9.
- 66- **Frankel E. et Meyer A. (2000).** « The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants ». *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Volume : 80. pp : 1925 - 1941.
- 67- **Fujii H., Nishioka H., Wakame K., Magnuson B. et Roberts A. (2008).** « Acute, subchronic and genotoxicity studies conducted with Oligonol, an oligomerized

- polyphenol formulated from lychee and green tea extracts ». *Food and Chemical Toxicology*. n° : 46. pp : 3553 – 3562.
- 68- **Fukai K., Ishigami T., Hara Y. (1991)**. *J. Agric. Biol. Chem.* n° : 55. pp : 1895 – 1897.
- 69- **Gil D., Falé P., Serralheiro M. et Rebelo M. (2011)**. « Herbal infusions bioelectrochemical polyphenolic index: Green tea – The gallic acid interference ». *Food Chemistry*. n° : 129. pp : 1537 – 1543.
- 70- **Gordon N. et Wareham D. (2010)**. « Antimicrobial activity of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* ». *International Journal of Antimicrobial Agents*. Volume : 36. pp : 129 – 131.
- 71- **Green R., Murphy A., Schulz B., Watkins B. et Ferruzzi M. (2007)**. « Common tea formulations modulate in vitro digestive recovery of green tea catechins ». *Molecular Nutrition & Food Research*. Volume : 51(9). pp : 1152 – 1162.
- 72- **Griendling K., Sorescu D. et Ushio-Fukai M. (2000)**. *Circ. Res.* n° : 86. pp : 494 - 501.
- 73- **Grinberg L., Newmark H., Kitrossky N., Rahamim E., Chewion M. et Rachmilewitz E. (1997)**. « Protective Effects of Tea Polyphenols against Oxidative Damage to Red Blood Cells ». *Biochemical Pharmacology*. Volume : 54. pp : 973 - 978.
- 74- **Grosogeat H. (2009)**. « *Ma promesse anti-âge* ». P : 152.
- 75- **Guillarme D., Casetta C., Bicchi C. et Veuthey J. (2010)**. « High throughput qualitative analysis of polyphenols in tea samples by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to UV and mass spectrometry detectors ». *Journal of Chromatography A*. Volume : 1217. pp : 6882 – 6890.
- 76- **Guinvarch A. (2009)**. « Mise en oeuvre de la nutrition entérale précoce en réanimation : pourquoi et à quel prix ? ». *Nutrition clinique et métabolisme*. Volume : 23. pp : 198 – 205.
- 77- **Hara Y. (2011)**. « Tea catechins and their applications as supplements and pharmaceuticals ». *Pharmacological Research*. Volume : 64. pp : 100 – 104.
- 78- **Harvey B., Musgrave I., Ohlsson K., Fransson Å. et Smid S. (2011)**. « The green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits amyloid- $\beta$  evoked fibril formation and neuronal cell death *in vitro* ». *Food Chemistry*. Volume : 129. pp : 1729 – 1736.

- 79- **Henning S., Niu Y., Liu Y., Lee N., Hara Y., Thames G., Minutti R., Carpenter C., Wang H. et Heber D. (2005).** « Bioavailability and antioxidant effect of epigallocatechin gallate administered in purified form versus as green tea extract in healthy individuals ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Volume : 16. pp : 610 – 616.
- 80- **Higdon J. et Frei B. (2003).** « Tea catechin and polyphenols: Health effects, metabolism and antioxidant functions ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. n° : 43(1). pp : 89 – 143.
- 81- **Ho C., Chen Q., Shi H., Zhang K. et Rosen R. (1992).** « Antioxidative Effect of Polyphenol Extract Prepared from Various Chinese Teas ». *Preventive Medicine*. Volume : 21. pp : 520 – 525.
- 82- **Hsu Y., Tsai C., Chen W., Huang C. et Yen C. (2011).** « A subacute toxicity evaluation of green tea (*Camellia sinensis*) extract in mice ». *Food and Chemical Toxicology*. n° : 49. pp : 2624 – 2630.
- 83- **Huang D., Ou B. et Prior R. (2005).** « The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume : 53. pp : 1841 - 1856.
- 84- **Huang Q., Chen S., Chen H., Wang Y.U., Wang Y.I., Hochstetter D. et Xu P. (2013).** « Studies on the bioactivity of aqueous extract of pu-erh tea and its fractions: *In-vitro* antioxidant activity and  $\alpha$ -glycosidase inhibitory property, and their effect on postprandial hyperglycemia in diabetic mice ». *Food and Chemical Toxicology*. Volume : 53. pp : 75 – 83.
- 85- **Ishii T., Mori T., Tanaka T., Mizuno D., Yamaji R., Kumazawa S., Nakayama T. et Akagawa M. (2008).** « Covalent modification of proteins by green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate through autoxidation ». *Free Radical Biology & Medicine*. Volume : 45. pp : 1384 – 1394.
- 86- **Islam M. et Ebihara M. (2012).** « Elemental characterization of Japanese green tea leaves and tea infusion residue by neutron-induced prompt and delayed gamma-ray analysis ». *Arabian Journal of Chemistry*. Article in press.
- 87- **Jayasekera S., Molan A., Garg M. et Moughan P. (2011).** « Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea ». *Food Chemistry*. Volume : 125. pp : 536 – 541.

- 88- **Jiang H., Shii T., Matsuo Y., Tanaka T., Jiang Z. et Kouno I. (2011).** « A new catechin oxidation product and polymeric polyphenols of post-fermented tea ». *Food Chemistry*. Volume : 129. pp : 830 – 836.
- 89- **Jodoin J., Demeule M. et Beliveau R. (2002).** « Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein activity by green tea polyphenols ». *Biochimica et Biophysica Acta*. n° : 1542(1–3). pp : 149 – 159.
- 90- **Kapetanovic I., Crowell J., Krishnaraj R., Zakharov A., Lindeblad M. et Lyubimov A. (2009).** « Exposure and toxicity of green tea polyphenols in fasted and non-fasted dogs ». *Toxicology*. Volume : 260. pp : 28 – 36.
- 91- **Katiyar S., Elmets C. et Katiyar S. (2007).** « Green tea and skin cancer: photoimmunology, angiogenesis and DNA repair ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Volume : 18. pp : 287 – 296.
- 92- **Khan N. et Mukhtar H. (2007).** « Tea polyphenols for health promotion ». *Life Sciences*. Volume : 81. pp : 519 – 533.
- 93- **Koechlin-Ramonatxo C.(2006).** « Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires ». *Nutrition clinique et métabolisme*. Volume : 20. pp : 165 – 177.
- 94- **Komes D., Horzic D., Belscak A., Ganic K. et Vulic I. (2010).** « Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds ». *Food Research International*. Volume : 43. pp : 167 – 176.
- 95- **Krook M. et Hagerman A. (2012).** « Stability of polyphenols epigallocatechin gallate and pentagalloyl glucose in a simulated digestive system ». *Food Research International*. n° : 49. pp : 112 – 116.
- 96- **Kuzuhara T., Suganuma M. et Fujiki H. (2008).** « Green tea catechin as a chemical chaperone in cancer prevention ». *Cancer Letters*. Volume : 261. pp : 12 – 20.
- 97- **Lacolley P. (2007).** « *Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux* ». P : 319.
- 98- **Lambert J. et Elias R. (2010).** « The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: A role in cancer prevention ». *Archives of Biochemistry and Biophysics*. n° : 501. pp : 65 – 72.
- 99- **Li B., Jin Y., Xu Y., Wu Y., Xu J. et Tu Y. (2011).** « Safety evaluation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) flower extract: Assessment of mutagenicity, and acute and subchronic toxicity in rats ». *Journal of Ethnopharmacology*. Volume : 133. pp : 583 – 590.

- 100- **Li F., Wang F., Yu F., Fang Y., Xin Z., Yang F., Xu J., Zhao L. et Hu Q. (2008).** « In vitro antioxidant and anticancer activities of ethanolic extract of selenium-enriched green tea ». *Food Chemistry*. Volume : 111. pp : 165 – 170.
- 101- **Lim H., Shim S., Jee S., Lee S., Lim C., Hong J., Sheen Y. et Hwang D. (2013).**« Green tea catechin leads to global improvement among Alzheimer's disease-related phenotypes in NSE/hAPP-C105 Tg mice ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Article in press.
- 102- **Lin S., Liu E. et Mau J. (2008).** « Effect of different brewing methods on antioxidant properties of steaming green tea » *LWT - Food Science and Technology*. Volume : 41. pp : 1616 - 1623.
- 103- **Liu L., Jia J., Gou L., Sun L., Fu X., Lan N., Li S. et Yin X. (2013).** « Antidepressant-like effects of tea polyphenols on mouse model of chronic unpredictable mild stress ». *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. Volume : 104. pp : 27 – 32.
- 104- **Locher R., Emmanuele L., Suter P., Vetter W. et Barton M. (2002).** « Green tea polyphenols inhibit human vascular smooth muscle cell proliferation stimulated by native low-density lipoprotein ». *European Journal of Pharmacology*. Volume : 434. pp : 1 – 7.
- 105- **López de Lacey A., Giménez B., Pérez-Santín E., Faulks R. et Mandalari G. (2012).** « Bioaccessibility of green tea polyphenols incorporated into an edible agar film during simulated human digestion ». *Food Research International*. Volume : 48. pp : 462 – 469.
- 106- **Lu C. et Hwang L. (2008).** « Polyphenol contents of Pu-Erh teas and their abilities to inhibit cholesterol biosynthesis in Hep G2 cell line ». *Food Chemistry*. Volume : 111. pp : 67 – 71.
- 107- **Macheix J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P. (2006).** « *Les Polyphénols en agroalimentaire* ». Lavoisier. pp :1 - 28.
- 108- **Macheix J., Leuriet A. et Allemand C. (2005).** « *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance* ». Lavoisier.P :148.
- 109- **Makena P. et Chung K. (2007).** « Effects of various plant polyphenols on bladder carcinogen benzidine-induced mutagenicity ». *Food and Chemical Toxicology*. Volume : 45. pp : 1899 – 1909.

- 110- **Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** « Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium ». *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. n° : 51. pp : 304 – 315.
- 111- **Masek A., Chrzescijanska E., Kosmalska A. et Zaborski M. (2012).** « Antioxidant activity determination in Sencha and Gun Powder green tea extracts with the application of voltammetry and UV-VIS spectrophotometry ». *Comptes Rendus Chimie*. Volume : 15. pp : 424 – 427.
- 112- **Matsumoto T., Kakinoki R., Ikeguchi R., Hyon S. et Nakamura T. (2005).** « Optimal conditions for peripheral nerve storage in green tea polyphenol: an experimental study in animals ». *Journal of Neuroscience Methods*. Volume : 145. pp : 255 – 266.
- 113- **McLaughlin N., Annabi B., Bouzeghrane M., Temme A., Bahary J., Moundjian R. et Béliveau R. (2006).** « The Survivin-mediated radioresistant phenotype of glioblastomas is regulated by RhoA and inhibited by the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate ». *Brain research*. Volume : 1071. pp : 1 – 9.
- 114- **Mejia E., Ramirez-Mares M. et Puangpraphant S. (2009).** « Bioactive components of tea: Cancer, inflammation and behavior ». *Brain, Behavior, and Immunity*. Volume : 23. pp : 721 – 731.
- 115- **Miura Y., Chiba T., Miura S., Tomita I., Umegaki K., Ikeda M. et Tomita T. (2000).** « Green tea polyphenols (flavan 3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins: An ex vivo study in humans ». *Journal of Nutrition and Biochemical*. Volume : 11. pp : 216 – 222.
- 116- **Mohan K., Hara Y., Abraham S. et Nagini S. (2005).** « Comparative evaluation of the chemopreventive efficacy of green and black tea polyphenols in the hamster buccal pouch carcinogenesis model ». *Clinical Biochemistry*. Volume : 38. pp : 879 – 886.
- 117- **Nakayama M., Shimatani K., Ozawa T., Shigemune N., Tsugukuni T., Tomiyama D., Kurahachi M., Nonaka A. et Miyamoto T. (2013).** « A study of the antibacterial mechanism of catechins: Isolation and identification of Escherichia coli cell surface proteins that interact with epigallocatechin gallate ». *Food Control*. Volume : 33. pp : 433 - 439.
- 118- **Narotzki B., Reznick A., Aizenbud D. et Levy Y. (2012).** « Green tea: A promising natural product in oral health ». *Archives of oral biology*. Volume : 57. pp : 429 - 435.

- 119- **Navarro-Peran E., Cabezas-Herrera J., Sanchez del Campo L. et Rodriguez-Lopez J. (2007).** « Effects of folate cycle disruption by the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Volume : 39. pp : 2215 – 2225.
- 120- **Neilson A., Hopf A., Cooper B., Pereira M., Bomser J. et Ferruzzi M. (2007).** « Catechin degradation with concurrent formation of homo and heterocatechin dimers during in vitro digestion ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume : 55(22). pp : 8941 – 8949.
- 121- **Ning X. et Zong-mao C. (2002).** « Tea Bioactivity and Therapeutic Potentiel ». *CRC Press*. pp : 35 - 56.
- 122- **Noberini R., Koolpe M., Lamberto I. et Pasquale E. (2012).** « Inhibition of Eph receptor–ephrin ligand interaction by tea polyphenols ». *Pharmacological Research*. Volume : 66. pp : 363 – 373.
- 123- **Moussard C. (2006).** « *Biochimie structurale et métabolique* ». P : 340.
- 124- **Oak M., El Bedoui J. et Schini-Kerth V. (2005).** « Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. n° : 16. pp : 1 –8.
- 125- **Osanai K., Landis-Piwowar K., Dou Q. et Chan T. (2007).** « A para-amino substituent on the D-ring of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate as a novel proteasome inhibitor and cancer cell apoptosis inducer ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. Volume : 15. pp : 5076 – 5082.
- 126- **Oyaizu M. (1986).** « Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning products of browning reaction prepared from glucosamine ». *Japan Journal of Nutrition*. n° : 307. pp : 15 – 44.
- 127- **Pallauf K. et Rimbach G. (2013).** « Autophagy, polyphenols and healthy ageing ». *Ageing Research Reviews*. Volume : 12. pp : 237 – 252.
- 128- **Parks D. (1989).** « Oxygen radicals: Mediators of gastrointestinal pathophysiology ». *Gut*. Volume : 30(3). pp : 293 – 298.
- 129- **Patel R., Moellering D., Murphy-Ullrich J., Jo H., Beckman J. et Darley-USmar V. (2000).** « Free Radical ». *Bio. Med*. n° : 28. pp : 1780 - 1794.
- 130- **Peng Z., Xu Z., Wen W. et Wang R. (2011).** « Tea polyphenols protect against irradiation-induced injury in submandibular glands' cells : A preliminary study ». *Archives for oral biology*. Volume : 56. pp : 738 – 743.

- 131- **Peters C., Green R., Janle E. et Ferruzzi M. (2010).** « Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea ». *Food Research International*. Volume : 43. pp : 95 – 102.
- 132- **Piljac-Zegarac J., Valek L., Stipcevic T. et Martinez S. (2010).** « Electrochemical determination of antioxidant capacity of fruit tea infusions ». *Food Chemistry*. n° :121. pp : 820 – 825.
- 133- **Pincemail J., Degrune F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N. et Defraigne J. (2007).** « Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs ». *Nutrition clinique et métabolisme*. n° : 21. pp : 66 – 75.
- 134- **Pingzhang Y., Jinying Z., Shujun C., Hara Y., Qingfan Z. et Zhengguo L. (1994).** « Experimental studies of the inhibitory effects of green tea catechin on mice large intestinal cancers induced by 1,2\_dimethylhydrazine ». *Cancer Letters*. Volume : 79. pp : 33 - 38.
- 135- **Pinto M., (2013).** « Tea: A new perspective on health benefits ». *Food Research International*. Article in press. FRIN-04469. P : 10.
- 136- **Pirker K., Baratto M., Basosi R. et Goodman B. (2012).** « Influence of pH on the speciation of copper (II) in reactions with the green tea polyphenols, epigallocatechin gallate and gallic acid ». *Journal of Inorganic Biochemistry*. n° : 112. pp : 10 – 16.
- 137- **Quinones M., Miguel M. et Aleixandre A. (2013).** « Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease ». *Pharmacological Research*. Volume : 68. pp : 125 – 131.
- 138- **Ramirez-Mares M., Chandra S. et Gonzalez de Mejia E. (2004).** « *In vitro* chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols ». *Mutation Research*. Volume : 554. pp : 53 – 65.
- 139- **Ravery V. (2002).** « *Cancer de la prostate* ». P : 20.
- 140- **Ray L., Kumar P. et Gupta K. (2013).** « The activity against Ehrlich's ascites tumors of doxorubicin contained in self assembled, cell receptor targeted nanoparticle with simultaneous oral delivery of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate ». *Biomaterials*. pp : 1 - 13.
- 141- **Record I. et Lane J. (2001).** « Simulated intestinal digestion of green and black teas ». *Food Chemistry*. Volume : 73. pp : 481 – 486.

- 142- **Révész K., Tutto A., Margittai E., Banhegyi G., Magyar J., Mandl J. et Csala M. (2007).** « Glucuronide transport across the endoplasmic reticulum membrane is inhibited by epigallocatechin gallate and other green tea polyphenols ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Volume : 39. pp : 922 – 930.
- 143- **Rodrigo R., Miranda A. et Vergara L. (2011).** « Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease ». *Clinica Chimica Acta*. Volume : 412. pp : 410 – 424.
- 144- **Roginsky V. et Lissi E. (2005).** « Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food ». *Food Chemistry*. n° : 92. pp : 235 - 254.
- 145- **Rusak G., Komes D., Likic S., Horzic D. et Kovac M. (2008).** « Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used ». *Food Chemistry*. Volume : 110. pp : 852 – 858.
- 146- **Sadava D., Whitlock E. et Kane S. (2007).** « The green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate inhibits telomerase and induces apoptosis in drug-resistant lung cancer cells ». *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Volume : 360. pp : 233 – 237.
- 147- **Sakanaka S., Juneja L. et Taniguchi M. (2000).** « Antimicrobial Effects of Green Tea Polyphenols on Thermophilic Spore-Forming Bacteria ». *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Volume : 90 (1). pp : 81 – 85.
- 148- **Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H. et Kanazawa K. (2003).** « Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. n° : 51. pp : 571 – 581.
- 149- **Samaniego-Sanchez C., Inurreta-Salinas Y., Quesada-Granados J., Blanca-Herrera R., Villalon-Mir M., Lopez-Garcia de la Serrana H. et Martinez M. (2011).** « The influence of domestic culinary processes on the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of green tea infusions ». *Journal of Food Composition and Analysis*. Volume : 24. pp : 79 – 86.
- 150- **Sang S., Yang I., Buckley B., Ho C. et Yang C. (2007).** « Autoxidative quinone formation in vitro and metabolite formation in vivo from tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate: Studied by real-time mass spectrometry combined with tandem mass ion mapping ». *Free Radical Biology & Medicine*. Volume : 43. pp : 362 – 371.

- 151- **Schlesier K., Kühn B., Kiehntopf M., Winnefeld K., Roskos M., Bitsch R. et Böhm V. (2012).** « Comparative evaluation of green and black tea consumption on the iron status of omnivorous and vegetarian people ». *Food Research International*. Volume : 46. pp : 522 – 527.
- 152- **Schmidt M., Schmitz H., Baumgart A., Guédon D., Netsch M., Kreuter M., Schmidlin C. et Schrenk D. (2005).** « Toxicity of green tea extracts and their constituents in rat hepatocytes in primary culture ». *Food and Chemical Toxicology*. Volume : 43. pp : 307 – 314.
- 153- **Shen C., Yeh J., Cao J. et Wang J. (2009).** « Green tea and bone metabolism ». *Nutrition Research*. Volume : 29. pp : 437 – 456.
- 154- **Shen C., Yeh J., Cao J., Chyu M. et Wang J. (2011).** « Green tea and bone health: Evidence from laboratory studies ». *Pharmacological Research*. Volume : 64. pp : 155 – 161.
- 155- **Shen C., Smith B., Lo D., Chyu M., Dunn D., Chen C. et Kwun I. (2012).** « Dietary polyphenols and mechanisms of osteoarthritis ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Volume : 23. pp : 1367 – 1377.
- 156- **Shen C., Yeh J., Samathanam C., Cao J., Stoecker B., Dagda R., Chyu M. et Wang J. (2011).** « Protective actions of green tea polyphenols and alfacalcidol on bone microstructure in female rats with chronic inflammation ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Volume : 22. pp : 673 – 680.
- 157- **Shen C., Cao J., Dagda R., Chanjaplammoetil S., Lu C., Chyu M., Gao W., Wang J. et Yeh J. (2012).** « Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats ». *Nutrition Research*. Volume : 32. pp : 448 – 457.
- 158- **Sheng R., Gu Z. et Xie M. (2013).** « Epigallocatechin gallate, the major component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy ». *International Journal of Cardiology*. Volume : 162. pp : 199 – 209.
- 159- **Shim S., Yoo S., Ra C., Kim Y., Chung J. et Lee S. (2012).** « Digestive stability and absorption of green tea polyphenols: Influence of acid and xylitol addition ». *Food Research International*. Volume : 45. pp : 204 – 210.
- 160- **Singh R., Akhtar N. et Haqqi T. (2010).** « Green tea polyphenol epigallocatechi3-gallate: Inflammation and arthritis ». *Life Sciences*. n° : 86. pp : 907 – 918.

- 161- **Soobrattee M., Bahorun T. et Aruoma O. (2006).** « Chemopreventive actions of polyphenolic compounds in cancer ». *Biofactors*. n° : 27. pp : 19 – 35.
- 162- **Soobrattee M., Neergheen V., Luximon-Ramma A., Aruoma O. et Bahorun T. (2005).** « Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions ». *Mutat. Res.* Volume : 579. pp : 200 – 213.
- 163- **Spiller G. et Spiller M. (2007).** « *Tout savoir sur les fibres* ». P : 218.
- 164- **Srinivasan P., Sabitha K. et Shyamaladevi C. (2006).** « Modulatory efficacy of Green tea polyphenols on glycoconjugates and immunological markers in 4-Nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis-A therapeutic approach ». *Chemico-Biological Interactions*. Volume : 162. pp : 149 – 156.
- 165- **Srinivasan P., Sabitha K. et Shyamaladevi C. (2004).** « Therapeutic efficacy of green tea polyphenols on cellular thiols in 4-Nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis». *Chemico-Biological Interactions*. Volume : 149. pp : 81 – 87.
- 166- **Sthal W. et Sies H. (1992).** « Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans ». *Journal of Nutrition*. n° : 122:2161–6.
- 167- **Sundaram R., Naresh R., Shanthi P. et Sachdanandam P. (2013).** « Modulatory effect of green tea extract on hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin and high fat diet induced diabetic rats ». *Phytomedicine. Article in press*. PHYMED - 51373. P : 8.
- 168- **Tai K. et Truong D. (2010).** « Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, reduces dichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT)-induced cell death in dopaminergic SHSY-5Y cells ». *Neuroscience Letters*. Volume : 482. pp : 183 – 187.
- 169- **Tanaka T. et Kouno I. (2003).** « Oxidation of tea catechins: Chemical structures and reaction mechanism ». *Food Science and Technology Research*. Volume : 9(2). pp : 128 – 133.
- 170- **Tantoush Z., Apostolovic D., Kravic B., Prodic I., Mihajlovic L., Stanic-Vucinic D. et Velickovic T. (2012).** « Green tea catechins of food supplements facilitate pepsin digestion of major food allergens, but hampers their digestion if oxidized by phenol oxidase ». *Journal of Functional Foods*. Volume : 4. pp : 650 – 660.

- 171- **Thangapazham R., Singh A., Sharma A., Warren J., Gaddipati J. et Maheshwari R. (2007).** « Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo* ». *Cancer Letters*. Volume : 245. pp :232 – 241.
- 172- **Vaidyanathan J. et Walle T. (2001).** « Transport and metabolism of the tea flavonoid epicatechin by the human intestinal cell line Caco-2 ». *Pharmaceutical Research*. Volume : 18(10). pp : 1420 – 1425.
- 173- **Vautrin D. (2005).** « Une peau zéro défaut ». pp : 52 - 53.
- 174- **Vierling E. (2008).** « Aliments et boissons : filières et produits ». P :242.
- 175- **Vignes M., Maurice T., Lanté F., Nedjar M., Thethi K., Guiramand J. et Récasens M. (2006).** « Anxiolytic properties of green tea polyphenol epigallocatechin gallate (EGCG) ». *Brain Research*. Volume : 1110. pp : 102 – 115.
- 176- **Wan S., Chen D., Dou Q. et Chan T. (2004).** « Study of the green tea polyphenols catechin-3-gallate (CG) and epicatechin-3-gallate (ECG) as proteasome inhibitors ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. Volume : 12. pp : 3521 – 3527.
- 177- **Wang Y., Huang S., Shao S., Qian L. et Xu P. (2012).** « Studies on bioactivities of tea (*Camellia sinensis* L.) fruit peel extracts: Antioxidant activity and inhibitory potential against  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase *in-vitro* ». *Industrial Crops and Products*. Volume : 37. pp : 520 – 526.
- 178- **Wang L., Dong Y., Men H., Tong J. et Zhou J. (2013).** « Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols ». *Food Hydrocolloids*. Volume : 32. pp : 35- 41.
- 179- **Wang D., Meng J., Xu K., Xiao R., Xu M., Liu Y., Zhao Y., Yao P., Yan H. et Liu L. (2012).** « Evaluation of oral subchronic toxicity of Pu-erh green tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) extract in Sprague Dawley rats ». *Journal of Ethnopharmacology*. Volume : 142. pp : 836 – 844.
- 180- **Watson J., Vicario M., Wang A., Moreto M. et McKay D. (2005).** « Immune cell activation and subsequent epithelial dysfunction by *Staphylococcus* enterotoxin B is attenuated by the green tea polyphenol epigallocatechin gallate ». *Cellular Immunology*. Volume : 237. pp : 7 – 16.
- 181- **Weinreb O., Amit T. et Youdim M. (2007).** « A novel approach of proteomics and transcriptomics to study the mechanism of action of the

- antioxydant–iron chelator green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate ». *Free Radical Biology & Medicine*. Volume : 43. pp : 546 – 556.
- 182- **Weinreb O., Mandel S., Amit T. et Youdim M. (2004)**. « Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases ». *Journal of Nutritional Biochemistry*. Volume : 15. pp : 506 – 516.
- 183- **Weisburger J. et Chung F. (2002)**. « Mechanisms of chronic disease causation by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols ». *Food and Chemical Toxicology*. Volume : 40. pp : 1145 – 1154.
- 184- **Williamson M., McCormick T., Nance C. et Shearer W. (2006)**. « Epigallocatechin gallate, the main polyphenol in green tea, binds to the T-cell receptor, CD4: Potential for HIV-1 therapy ». *Basic and clinical immunology*. pp : 1369 – 1374.
- 185- **Yagoubi N., Ballet A., Pellerin F. et Baylocq D. (1990)**. « Etude par chromatographie liquide haute performance des antioxydants phénoliques présents dans les matériaux plastiques. Comparaison de trois méthodes de détection : spectrophotométrie dans l'ultra-violet, électrochimique, et évaporative à diffusion de la lumière ». *Journal of Chromatography*. Volume : 522. pp : 131 – 141.
- 186- **Yi S., Zhu J., Fu L. et Li J. (2010)**. « Tea polyphenols inhibit *Pseudomonas aeruginosa* through damage to the cell membrane ». *International Journal of Food Microbiology*. Volume : 144. pp : 111 - 117.
- 187- **Yin J., Becker E., Andersen M. et Skibsted L. (2012)**. « Green tea extract as food antioxidant. Synergism and antagonism with  $\alpha$ -tocopherol in vegetable oils and their colloidal systems ». *Food Chemistry*. Volume : 135. pp : 2195 – 2202.
- 188- **Yokoyama M., Noguchi M., Nakao Y., Pater A. et Iwasaka T. (2004)**. « The tea polyphenol, epigallocatechin gallate effects on growth, apoptosis, and telomerase activity in cervical cell lines ». *Gynecologic Oncology*. Volume : 92. pp : 197 – 204.
- 189- **Yokoyama M., Shigemune N., Tsugukuni T., Jun H., Matsushita T., Mekada Y., Kurahachi M. et Miyamoto T. (2012)**. « Mechanism of the combined anti-bacterial effect of green tea extract and NaCl against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 ». *Food Control*. Volume : 25. pp : 225 - 232.

- 190- **Yuan J., Sun C. et Butler L. (2011).** « Tea and cancer prevention: Epidemiological studies ». *Pharmacological Research*. Volume : 64. pp : 123 – 135.
- 191- **Yusuf Y. (2006).***Trends Food Science and Technology*. Volume : 17. pp : 64-71.
- 192- **Yung-Zhong F., Sheng Y. et Guoyao W. (2002).***Journal of Nutrition*. n° : 18. pp : 872 – 879.
- 193- **Zaveri N. (2006).** « Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications ». *Life Sciences*. Volume : 78. pp : 2073 – 2080.
- 194- **Zdunczyk Z., Frejnagel S., Wroblewska M., Juskiwicz J., Oszmianski J. et Estrella I. (2002).** « Biological activity of polyphenol extracts from different plant sources ». *Food Research International*. Volume : 35. pp : 183 – 186.
- 195- **Zhang L., Zheng Y., Chow M. et Zuo Z. (2004).** « Investigation of intestinal absorption and disposition of green tea catechins by Caco-2 monolayer model ». *International Journal of Pharmaceutics*. Volume : 287(1–2). pp : 1 – 12.
- 196- **Zhong Z., Connor H., Froh M., Lind H., Bunzendahl H., Mason R., Thurman R. et Lemasters J. (2004).** « Polyphenols from *Camellia sinensis* prevent primary graft failure after transplantation of ethanol-induced fatty livers from rats ». *Free Radical Biology & Medicine*. Volume : 36. N° : 10. pp : 1248 – 1258.
- 197- **Zhu A., Wang X. et Guo Z. (2001).** « Study of tea polyphenol as a reversal agent for carcinoma cell lines' multidrug resistance (study of TP as a MDR reversal agent) ». *Nuclear Medicine and Biology*. n° 28. pp : 735 – 740.
- 198- **Zhu J., Wang O., Ruan L., Hou X. et Cui Y. (2009).** « The green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits leukocyte activation by bacterial formylpeptide through the receptor FPR ». *International Immunopharmacology*. Volume : 9. pp : 1126 – 1130.
- 199- **Zhu W., Shi H., Wei Y., Wang S. et Sun C. (2012).** « Green tea polyphenols produce antidepressant-like effects in adult mice ». *Pharmacological Research*. Volume : 65. pp : 74 – 80.

**Annexe 1 :**



Figure 11 : Centrifugeuse.



Figure 12 : Lyophilisateur.



Figure 13 : Plaque chauffante.



Figure 14 : Balance analytique.



Figure 15 : Etuve.



Figure 16 : Bain-marie thermostaté.

## **Annexe 2 :**

- **La composition de 1l de la gélose nutritive :**

- 1g de l'extrait de viande.
- 2,5g de l'extrait de levure.
- 5g de peptone.
- 5g de chlorure de sodium.
- 15g d'agar.
- 800 ml d'eau distillée ou déminéralisée.

- **La composition de 1l de la gélose Luria-Bertani :**

- 10 g de tryptone.
- 5 g d'extrait de levures.
- 10 g de NaCl.
- 800 ml d'eau distillée ou déminéralisée.