



**HAL**  
open science

# Les propriétés anticancéreuses des catéchines issues du thé vert

Mathilde Garance Schmitter

► **To cite this version:**

Mathilde Garance Schmitter. Les propriétés anticancéreuses des catéchines issues du thé vert. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01471668

**HAL Id: dumas-01471668**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01471668v1>**

Submitted on 20 Feb 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE

LES PROPRIÉTÉS ANTICANCÉREUSES DES CATÉCHINES ISSUES DU THÉ VERT

MATHILDE GARANCE SCHMITTER  
FACULTÉ DE PHARMACIE

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
SEPTEMBRE 2016

UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE

FACULTÉ DE PHARMACIE

Cette thèse intitulée :

LES PROPRIÉTÉS ANTICANCÉREUSES DES CATÉCHINES ISSUES DU THÉ VERT

présentée par : SCHMITTER Mathilde Garance  
en vue de l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie  
a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Mme SIX Isabelle, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie, présidente  
M. MOLINIÉ Roland, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie, membre et directeur  
de thèse  
Mme BOYART Pascale, Docteur en pharmacie, membre

## DÉDICACE

*" La première tasse humecte mes lèvres et ma gorge.  
La deuxième bannit ma solitude.  
La troisième dissipe la lourdeur de mon esprit, rendu confus par tant de lecture.  
La quatrième exhale une légère transpiration, dispersant par mes pores toutes afflictions de  
la vie.  
La cinquième me purifie.  
La sixième m'ouvre le royaume des immortels.  
La septième , ah que ne puis-je en boire davantage !  
Je ne perçois plus le souffle du vent qui enfle mes manches.  
Transporté par cette douce brise, je gagne les cieux."*

*Chant du thé  
Lu Tung*

## REMERCIEMENTS

A ma présidente de thèse, Madame Isabelle Six, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie et professeur de pharmacologie à la faculté UPJV pharmacie

Pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A mon directeur de thèse, Monsieur Roland Molinié, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie et professeur de pharmacognosie à la faculté UPJV pharmacie

Pour avoir accepté ce sujet, ainsi que de diriger ce travail malgré votre planning chargé, veuillez trouver ici mes sincères remerciements. Je garderai un très bon souvenir de vos enseignements en aromathérapie, sujet dans lequel je souhaiterais confirmer ma formation par la suite.

Au membre du jury, Madame Pascale Boyart, Docteur en Pharmacie, titulaire à Taverny, diplômée de micronutrition, phytothérapie et aromathérapie

Pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, pour vos conseils et votre soutien. Merci pour votre bonne humeur, votre patience et votre perfectionnisme qui font du travail que vous faites chaque jour un exemple important à suivre pour moi.

Ainsi qu'aux autres...

A Mr Shuntsung Liao, qui m'a donné envie de faire cette thèse et qui a fait avancer les connaissances actuelles en consacrant nombre de ses recherches sur cette plante incroyable.

A ma famille, mes parents qui m'ont encouragé, félicité, relevé coûte que coûte! Merci infiniment de m'avoir donné la chance de partir étudier à Tahiti ainsi qu'à Madrid durant mes études.

A ma grand mère Bâ, qui m'a montré dès petite la grande famille qu'est la pharmacie. J'espère marcher dans tes pas avec fierté. Et à Bom Papa, pour avoir dégusté mes premières soupes imaginaires grâce aux mortiers et aux pilons dans ton bureau où le jazz sifflait tranquillement.

A mon frère Constant et ma soeur Eléa, merci pour votre soutien durant toutes ces années. Un grand merci à toi Constant pour m'avoir guidé depuis Montréal!

A Claire, mon amie de toujours avec qui j'ai élevé Trypsine en première année.

Et à Edouard, merci de partager ma vie.

## RÉSUMÉ

Le thé vert (*Camellia Sinensis*) est une plante aux nombreuses histoires et origines, consommée depuis des millénaires et appréciée pour sa saveur délicate et son bienfait tonifiant pour le corps et l'esprit. D'un point de vue biochimique, la richesse en polyphénols font du thé vert un atout santé. Les catéchines, dont l'EGCG (épigallocatechine-3-gallate), sont au coeur de nombreuses recherches portant sur leur action chimiopréventive. En comprenant le mécanisme antioxydant des catéchines et en analysant des extraits de thés verts administrés à des patients, nous constatons l'influence des catéchines sur la prévention de différents cancer, sur le plan cellulaire mais aussi génomique, bien que d'autres études s'avèrent nécessaires pour compléter les données actuelles.

Mots-clefs : Chimioprevention ; Polyphénol ; Catéchine ; Thé vert ; Antioxydant

## ABSTRACT

Green tea (*Camellia sinensis*) is a plant with many stories and backgrounds. It has been consumed for thousands of years and appreciated for its delicate flavour and its invigorating blessing for the body and the mind. From a biochemical standpoint, its richness in antioxidants, or polyphenols, makes green tea very health friendly. Catechins, including EGCG (epigallocatechin-3-gallate), are at the center of many researches on their chemopreventive power. By understanding the antioxidant mechanisms of the catechins and analyzing green tea extracts given to patients, we look at the influence of the catechins on multiple types of cancer, at a genomic level. However additional studies are required to complete the data necessary.

Keywords: Chemoprevention; Polyphenol; Catechin; Green tea; Antioxydant

## TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE . . . . .	iii
REMERCIEMENTS . . . . .	iv
RÉSUMÉ . . . . .	v
ABSTRACT . . . . .	vi
TABLE DES MATIÈRES . . . . .	vii
LISTE DES TABLEAUX . . . . .	viii
LISTE DES FIGURES . . . . .	ix
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS . . . . .	x
CHAPITRE 1 INTRODUCTION . . . . .	1
CHAPITRE 2 HISTOIRE DU THÉ, PROPRIÉTÉS DU THÉ VERT . . . . .	2
2.1 Histoire et culture . . . . .	2
2.1.1 Origine et Classification systématique . . . . .	2
2.1.2 Culture et commercialisation . . . . .	6
2.2 La composition du thé vert et son action antioxydante . . . . .	9
2.2.1 La richesse en actifs du thé vert . . . . .	11
2.2.2 Mécanisme antioxydante des catéchines . . . . .	19
2.2.3 Aspect pharmacocinétique et biodisponibilité des catéchines . . . . .	25
CHAPITRE 3 PROPRIÉTÉS ANTICANCÉREUSES ET CHIMIOPRÉVENTION . . . . .	30
3.1 Les cancers concernés et intérêt en cancérologie . . . . .	30
3.1.1 Rappel sur la cancérogénèse . . . . .	30
3.1.2 Activité chimioprotectrice des catéchines, le rôle de l'EGCG . . . . .	32
3.1.3 Epidémiologie . . . . .	35
3.2 Effets indésirables et limites des polyphénols du thé vert . . . . .	43
3.2.1 Effet pro-oxydant . . . . .	44
3.2.2 Cytolyse hépatique par des extraits hydro-alcooliques de polyphénols . . . . .	46
3.2.3 Les limites . . . . .	47
CHAPITRE 4 CONCLUSION . . . . .	50
BIBLIOGRAPHIE . . . . .	52

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 2.1	Modalités de préparation de différents thé pour une consommation optimale . . . . .	10
Tableau 2.2	Composition d'une feuille de thé vert en pourcentage de matière sèche	12
Tableau 2.3	Concentration en catéchines par rapport au reste des polyphénols dans le thé . . . . .	16
Tableau 2.4	Niveau de catéchines dans la masse sèche d'une feuille de thé vert . .	16
Tableau 2.5	Proportion des catéchines dans le thé vert par comparaison au thé noir après infusion de 2,3g de feuilles de thé dans 150ml (750mg extrait sec).	17
Tableau 2.6	Thés verts japonais, type de culture et leur taux de catéchines . . . .	19
Tableau 2.7	Niveau de catéchines en pourcentage de masse sèche dans divers thés verts japonais . . . . .	19

## LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Illustration du pekoe, source Cha-thé.fr . . . . .	6
Figure 2.2	Formule développée de l'acide gallique . . . . .	14
Figure 2.3	Formule développée de l'acide chlorogénique . . . . .	14
Figure 2.4	Structures chimiques et classification de polyphénols du thé vert dont les catéchines. . . . .	16
Figure 2.5	Influence du temps et de la température sur l'extraction de polyphénols de feuilles de thé vert. . . . .	18
Figure 2.6	Réduction d'un radical réactif grâce aux résidus hydroxyles . . . . .	22
Figure 2.7	Illustration des RSA des composés phénoliques . . . . .	22
Figure 2.8	Preuve cristallographique que la $\beta$ -cyclodextrine permet de faciliter l'amélioration de l'activité antioxydante de thé (+) - catéchine et la (-) - épicatechine par la complexation par inclusion. . . . .	23
Figure 3.1	La carcinogénèse est un processus en plusieurs étapes qui reprogramme finalement une cellule normale en une cellule cancéreuse. Le thé pourrait ainsi exercer ses effets chimioprévention en bloquant les événements clés de l'initiation de la tumeur et la promotion inversant ainsi le stade précancéreux. Ces agents peuvent également empêcher la formation de tumeur en inhibant ou retardant la progression de celle-ci ou par une différenciation cellulaire. . . . .	32
Figure 3.2	Voies de transduction du signal induits par les ROS. . . . .	45

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AKT PKB	Protein kinase B
AMPK	AMP-activated protein kinase
ASA	Acide ascorbique
ABC	ATP-binding cassette
ADN	acide désoxyribonucléique
AIF	Apoptosis Inducing Factor
AP-1	Activator protein 1
APAF-1	Apoptotic Protease Activating Factor-1
Apo-1	Accumulation of Photosystem protein 1
ARN	Acide Ribonucléique
ARE	éléments de réponse aux antioxydants
ATM	Ataxia Telegiectasia Mutated
ATR	ATM et Rad3-related
Bax	Bcl2 associated X protein
Bcl2	B cell Lymphoma 2
BCRP	Breast cancer resistant protein
CaP	Cancer de la prostate
Cat	catalase
CDK	Cyclin Dependant Kinase
CHK1/CHK2	Checkpoint protein 1 et 2
CKI	Cyclin Dependant Kinase Inhibitors
CMR	Cancérogènes Mutagènes Toxiques pour la reproduction
cMET	hepatocyte growth factor receptor (HGFR)
COMT	Catechol O-méthyl transférase
COX-1	Cyclo-oxygénase 1
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
CIRC	Classification du Centre International de Recherche sur le Cancer
CRE	éléments de réponse à l'AMPc
CREB	c AMP response element binding protein
CYP 450	Cytochrome P450
Cyt C	cytochrome C
DR	Death Factor
E1	Ubiquitine
E2	Enzyme de conjugaison de l'ubiquitine
E3	Ubiquitine ligase
EC	Epicatéchine

ECG	Epicatechine gallate
EGC	Epigallocatechine
EGCG	Epigallocatechine gallate
EGF ( ErbB-1)	Epidermal Growth Factor Receptor
Erk	Extracellular signal-regulated kinase
FGF	Fibroblast Growth Factor
G-CSF	Granulocyte Colony-Stimulating Factor
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GSH	glutathione
GT	glutathione transferase
GTC	Green Tea Catechins
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HBV	Virus de l'hépatite B
HIF-1	hypoxia inducible factor-1
HO-1	heme oxygenase-1
HPV	Papillomavirus Humain
HR	Homologous Recombinaison
HTLV-1	Human T-cell leukemia virus
HPLC	Chromatographie en phase liquide haute performance
IAP	Inhibitors of apoptosis
IARC	International Agency for Research on Cancer
IFN	Interferon
IGF- 1R	Insulinlike growth factor 1 receptor
IKB	Inhibitor of NF-kb
IKK	IKB Kinase
IL-2	Interleukine 2
IL-6	Interleukine 6
IL-8	Interleukine 8
IL-15	Interleukine 15
JAK	Janus Kinase
JNK	c-Jun N-terminal Kinase
LLC	Leucémie Lymphoide Chronique
LNCaP	Lymph node carcinoma of the prostate
LOH	Loss of heterozygosity
LOX	Lipoxygénase
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MDR	MultiDrug resistance
MEC	Matrice extracellulaire
MMP9	Metalloprotéase 9

NBD	Nucléotide (ATP)-binding domain
NER	Nucleotide Excision Repair
NF-kappaB	Nuclear Factor kappa B
NOS	Monoxyde d'azote synthase
Noxa ou P53AIP1	p53 regulated Apoptosis Inducing Protein 1
Nrf2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
OXPPOS	oxidative phosphorylation
PGG2	Prostaglandine G2
PGH2	Prostaglandine H2
P-gp	Glycoprotéine P
PIAS	Protein Inhibitor of activated STAT
PI3K	Phosphatidyl Inositol3 Kinase
PKC	Protéine Kinase C
PLA2	Phospholipase A
POD	Peroxydase
PPO	Polyphénoloxydase
PSA	Prostate Specific Antigen
PUMA	P53 Up regulated Modulator of Apoptosis
RLV	Radicaux à longue vie
ROS	Reactiv oxygen species
RT-qPCR	Real Time Polymérase chain reaction
SFA	Société Française des Antioxydants
SOCS	Suppressor of cytokine signaling
SOD	superoxide dismutase
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
TCR	Récepteurs des cellules T
TFPI-2	Tissue factor pathway inhibitor 2
TGF	Transforming Growth Factor
TMD	Transmembrane domain
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNF-R	Tumor Necrosis Factor Receptor
Trx	thioredoxin
TXA2	Thromboxane A2
VEGF	vascular endothelial growth factor
Vit C	Vitamine C
Wnt	Wingless integration site

## CHAPITRE 1 INTRODUCTION

"Breuvage des dieux et des hommes", le thé est, après l'eau, la boisson la plus bue au monde - près de 15000 tasses par seconde chaque jour - et la Chine, son berceau, nous en offre une infinie variété «qu'il faut plus d'une vie pour découvrir» dit un proverbe.

Les répercussions des modifications de l'environnement et des comportements alimentaires sur l'homme, et plus particulièrement sur l'augmentation de l'incidence de certains cancers, sont devenues une préoccupation majeure de santé publique et un enjeu important pour la recherche scientifique. En effet, on constate une véritable prise de conscience que notre santé est aussi le reflet de notre alimentation, même si Hippocrate disait déjà il y a 2500 ans «Que ton alimentation soit ta médecine» et que Galien de Pergame (129-199), médecin grec et disciple d'Hippocrate, utilisait des aliments comme l'orge, le lait et divers légumes pour traiter les cancers.

En 1970, le terme de «chimio-prévention» apparaît. Ce terme renvoie à la prévention du cancer par l'utilisation sélective de composés phytochimiques ou leurs analogues dont la plupart sont issus des plantes et sont naturellement présents dans notre alimentation. Nous étudierons dans cette thèse principalement le thé vert qui fait l'objet de nombreuses recherches à l'heure actuelle. Nous parlerons ici de la passionnante histoire du thé en général, puis nous verrons les composants du thé vert et l'action antioxydante menée par les catéchines.

Nous détaillerons ensuite en deuxième partie l'implication de celles-ci en cancérologie, ainsi que différents cancers sur lesquelles des études ont été menées.

## CHAPITRE 2 HISTOIRE DU THÉ, PROPRIÉTÉS DU THÉ VERT

### 2.1 Histoire et culture

#### 2.1.1 Origine et Classification systématique

##### **De l'origine du thé à sa commercialisation : boisson mondiale emprunte de traditions**

La véritable histoire du thé est aussi intéressante que les nombreuses légendes qui entourent son origine. Le théier (*Camellia Sinensis*) est originaire d'Asie et fut utilisé par l'érudit botaniste et non moins empereur Shen Nung en l'an 2737 avant notre ère. Celui qu'on appelait aussi le "guérisseur divin" aimait se soucier de la santé de ses disciples et créa une forme très avancée de médecine préventive à base de culture de plantes telles que le riz, le soja, le millet. Toujours dans le but de la qualité de vie et donc d'hygiène, il ordonnait à ses sujets de faire bouillir l'eau avant de la boire. C'est par une douce après-midi que Shennong s'assoupit auprès d'un arbre avec son eau bouillie. À son réveil, quelques feuilles du petit arbre avaient teinté l'eau d'une jolie couleur ambrée. Délicieusement rafraîchissante, cette boisson lui révéla être en plus très tonifiante et revitalisante. Il décide alors de développer les jardins de thé et incite ses sujets à faire du thé leur boisson favorite (Sangmanee KC. ; Coves S., 2000).

En Inde, l'histoire est contestée car selon eux, le thé aurait été découvert vers l'an 500 par le prince Dharma, troisième fils du roi Kosjuwo. Celui-ci décida de devenir "bodhisattva", signifiant en sanskrit celui dont le vœu spirituel suit le chemin indiqué par le Bouddha shakyamuni, et partit prêcher en Chine les enseignements de Bouddha. Il fit en même temps vœu de ne pas s'assoupir durant neuf longues années. Souffrant quelque peu de somnolence, il tomba par hasard sur un petit arbuste qui l'inspirait, un théier sauvage, et tint six années de plus durant son apostolat. Il se peut même que le thé lui donna la clarté d'esprit quand il devint le grand Bodhi Dharma, bodhisattva Avalokitesvara, celui qui porte le sceau de Bouddha, et fondateur du bouddhisme Zen (Butel P., 1989 ; Mary R., 2011 ; Muthiah SA., 1993).

Au Japon en revanche, l'histoire est légèrement différente. On raconte qu'au bout de ces fameux trois ans, Bodhi dharma finit par s'endormir. Il fut si énervé contre lui-même qu'il se coupa les paupières à son réveil. En repassant sur ce chemin quelques années plus tard, il découvrit un arbuste qu'il n'avait jamais vu auparavant, et le nomma Cha (Tch'a), qui avait la propriété de stimuler l'esprit et donc de garder les yeux ouverts. Il est aussi dit que la mastication de ses feuilles aurait permis à Bodhi Dharma de maintenir sa méditation si longtemps et avec tant d'intensité que son image aurait fini par se graver sur le rocher face auquel il resta assis pendant neuf ans.

Peu importe la légende, il semble que les premiers théiers sauvages aient été retrouvés en Chine, probablement de la région située aux confins de la Birmanie, du Nord-Vietnam et du Yunnan. Les premiers textes rapportant l'utilisation du thé nous proviennent du premier empereur chinois Qin (220-210 avant J.-C.), fasciné par les élixirs de vie éternelle.

La dynastie impériale de Han de l'Ouest (206 av J.-C. à 24 ap J.-C.) nous a laissé nombre de récipients à thé qui intéressent beaucoup les archéologues de l'époque. Trois époques marquent l'histoire du thé en Chine, plus précisément, trois dynasties.

Il faudra attendre la dynastie des Tang (618-904 ap J.-C.) pour que le thé se démocratise et profite au plus grand nombre tant et si bien que s'échappant du cadre de la pharmacopée, le thé devient un élément raffiné de la vie quotidienne. Le célèbre ouvrage "Cha Ching" (Classique du thé) décrit comment cultiver, produire et apprécier le thé selon un certain Lu Yu. De ce registre et de cet art naît un lien étroit entre la pensée chinoise de l'époque, du taoïsme, du bouddhisme, et du confucianisme. Le poète chinois du VIIe siècle fut le premier chantre du thé, une philosophie reprise bien plus tard par le Zen du Japon, dont le symbolisme panthéiste (le sacré est en tout et tout est sacré) invite l'homme à saisir dans le singulier d'un détail le reflet de l'universel en général.

En 793, toujours sous la dynastie Tang, le thé se consomme surtout sous forme de briques, on lui associe une taxe et il est importé depuis la Chine vers les Mongols, les Turcs, les Tartares et les nomades tibétains.

Les marchands de thé seraient à l'origine des premiers papier-monnaie, profitant d'un essor économique agricole à la fin du VIIe siècle, liée à une importante progression de la consommation de thé (Gernet J., 2011).

Sous la dynastie Song, on développe la poésie des cérémonies du thé, bien avant le Japon, et l'importance accordée au respect des règles de préparation. Les variétés consommées sont de plus en plus délicates, et la céramique ainsi que la porcelaine du XIe siècle au XIIIe siècle, prennent une place déterminante dans l'univers du thé. (Gernet J., 2011) Cette manière de l'accommoder perdure encore au Japon, lors de la cérémonie du thé ou Cha-No-Yu.

C'est durant la dynastie des Ming (1368-1644) que tous les thés que nous connaissons aujourd'hui se créent. C'est également à cette époque que se répandent l'usage des théières en vue de l'infusion de la feuille (Coves S., 2000).

### *Le voyage de la petite feuille*

C'est probablement à cette époque que l'Europe découvre le thé, ainsi qu'en témoignent les récits de Marco Polo (1254-1324) qui le décrit comme une boisson exotique à réserver aux femmes et aux vieillards ! Il faudra attendre le XVIIe siècle pour que soient créées en Europe les premières compagnies maritimes orientales.

Si la domination de l'océan atlantique a pour enjeu l'approvisionnement en sucre à la fin du VIIe siècle, l'océan Indien celui des épices, mêlant une bataille commerciale sans merci entre la France, l'Angleterre et la Hollande, la guerre du thé se livre elle dans une zone encore plus circonscrite, limitée à Macao, Canton, Chine et Japon, seuls producteurs à l'époque.

Le thé est importé en Europe en premier par les Hollandais et par la Compagnie des Indes Occidentales en 1610, à partir du comptoir de Canton. Les rumeurs qui attribuent la longévité des Chinois à la consommation de thé fait accepter plus facilement son prix élevé. D'après Gu Yanwu (1613-1682), près de la moitié des dépenses de l'Etat chinois sont couvertes par la taxe sur les marchandises du commerce maritime à la fin du XVIe siècle (Gernet J., 2011).

Les Anglais créent les premiers comptoirs dès le début du XVIIe : Madras, Calcutta et bien sur Bombay, qui avait été d'abord aux mains des Portugais. Bombay ayant été offerte à l'Angleterre par Catherine de Bragance lors de ses épousailles avec Charles II, cette dernière décide, en tant que grande amatrice de thé, d'en introduire la mode à la cour d'Angleterre.

En 1657 les Anglais prennent rapidement le monopole en imposant des droits très élevés, à tel point que le thé devient rapidement l'un des symboles de l'oppression imposée par les Britanniques aux colonies américaines et, en décembre 1773, des colons révoltés jettent des caisses de thé dans le port de Boston. Cette célèbre "Boston Tea Party" annonce alors la Révolution américaine (Coves S., 2000).

Au XVIIIe siècle, les cultures industrielles sont en pleine expansion en Chine (thé, coton...). Les exportations de thé explosent, en proportion avec la consommation grandissante en Europe. On passe de 12700 tonnes vers 1720 à 360 000 tonnes par an vers 1830, c'est donc la première marchandise d'exportation en Chine.

Au XIXe siècle en revanche, l'Angleterre, conserve sa suprématie maritime en Europe, grâce notamment aux "tea clippers", des voiliers particulièrement rapides qui finissent par entrer en compétition entre eux jusqu'à l'apparition des premiers bateaux à vapeur. Mais dès que les Anglais perdent leur monopole d'importation du thé et des épices de Chine, des compagnies américaines sont créées et commencent à les défier. Concurrence néanmoins dérisoire quand on sait que le commerce du thé est déjà installé et organisé en Angleterre.

Dès lors, aux XIXe et XXe siècles, l'engouement pour le thé se répand dans toute l'Europe, avec toutes sortes de particularismes nationaux. En Russie, notamment, il devient la boisson inévitable à la cour impériale, et les premiers samovars voient le jour dans l'Oural. Le thé est infusé dans une théière de façon très concentrée, jusqu'à une densité presque de liqueur. Le réservoir d'eau chaude (ou samovar) sert à maintenir la température de l'eau étant placé sur des braises, il suffisait de verser le thé dans un verre.

## Données botaniques : classification et morphologie de la plante

### *Classification systématique*

Le thé vert, *Camellia Sinensis* (ou *Thea sinensis*), fait partie de la famille des camélias depuis le Congrès d'Amsterdam de 1935 revoyant la classification de Linné qui reconnaissait deux espèces distinctes : *Thea bohea* et *Thea sinensis* (*Thea bohea* et *thea viridis* pour identifier spécifiquement thé noir et thé vert). Les botanistes identifient le théier comme un camélia d'une espèce particulière : *Camellia sinensis* (L.) O Kuntze signifiant *Camellia* chinois. Un certain jésuite de Moravie nommé Kamel, étudiait les plantes asiatiques, d'où le terme. Il existe trois variétés de *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze var. *sinensis* (thé de Chine, à petites feuilles, présent à Java, au Japon et au Tibet) var. *assamica* (thé à grandes feuilles, originaire de l'Etat de l'Assam, en Inde mais aussi Pakistan, Sri Lanka, et Afrique) et var. *cambodiensis* (originaire du Cambodge).

Sa classification botanique est la suivante (source : *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Trudy Imp. S.-Peterburgsk. Bot. Sada 10 : 195,1887) :

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotyledones
- Taxon : Asteridae
- Sous-classe : Diliniidae primitives
- Ordre : Gutifères
- Famille : Terstromiacees (Théacées)
- Genre : *Camellia*
- Espèce : *sinensis*

### *De l'arbre à la feuille...*

Le théier est un arbuste originaire d'extrême orient, à feuilles persistantes, dont les petites fleurs au parfum doux donnent des "fruits" : de petites capsules qui renferment entre une à trois graines oléagineuses. Le théier peut, à l'état sauvage, atteindre la hauteur de 10 à 15 mètres, voir 30 mètres pour certaines variétés, alors que dans les plantations il ne dépasse pas les 1,50 mètres, taillés régulièrement pour former une "table de cueillette", qui facilite la récolte manuelle et la croissance des bourgeons.

On trouve aussi beaucoup d'hybrides cultivés ou cultivars (entre 400 et 600), tous provenant majoritairement de *sinensis* et d'*assam*, donc donnant des plantes offrant des goûts et des parfums différents, mais à la biochimie proche.

La plante est diploïde ( $2n = 2x = 30$ ), mais on a trouvé quelques triploïdes et tétraploïdes.

Le théier d'Assam peut atteindre 15 mètres de hauteur, le tronc est droit et la croissance monopodiale et périodique. Les périodes de croissance sont alternées avec des périodes de repos dont la durée varie en fonction des conditions climatiques. Il est relativement sensible aux gelées et à la sécheresse. Peu résistant aux maladies, il se rencontre surtout dans les régions où règne la mousson, et sa durée de vie n'excède pas 40 à 50 ans.

La floraison est clairsemée, les fleurs sont blanches, de 1,5 à 2,5 cm de diamètre, à 5 sépales, 5 à 9 pétales, et de nombreuses étamines. Elles sont regroupées par deux ou trois à la base des feuilles. La pollinisation est entomophile (par l'eau ou le vent), et les fleurs sont ovales, acuminées, allongées. Son fruit est une capsule, avec trois grandes graines oléagineuses possédant une maturation de neuf mois. Deux genres de bourgeons se remarquent : le bourgeon terminal ou "Pekoe" comme on peut voir dans la figure 2.1, et le bourgeon dormant ou "Banji". Les feuilles d'Assam sont grandes, souples, brillantes et d'un joli vert clair. Elles offrent un thé que les connaisseurs disent "fort et coloré".

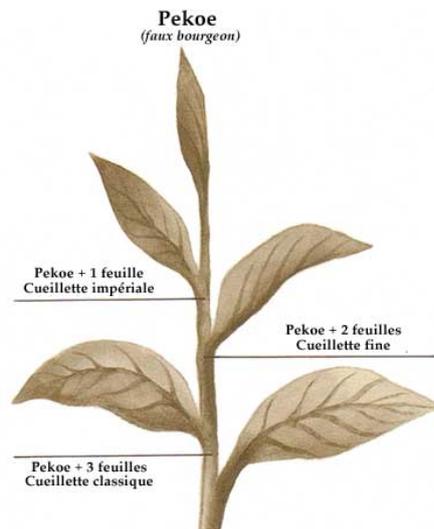


Figure 2.1 Illustration du pekoe, source Cha-thé.fr

Le *Camellia sinensis* var. *sinensis* peut atteindre 6 mètres de haut, ses feuilles sont plus petites, coriaces et poussent à la base du tronc, ce qui en fait sa particularité. La floraison est dense et donne un thé parfumé "avec moins de corps". C'est un arbre assez résistant qui peut vivre jusqu'à 100 ans, mais qui a un rendement moins important, il pousse en général en altitude.

### 2.1.2 Culture et commercialisation

#### Conditions de culture idéales, exigences écologiques et climatiques de la plante

L'ensemencement était à l'origine de la culture des théiers mais on a préféré le bouturage à partir de plants sélectionnés à cause de leur propension à se croiser et à muter pour s'adapter

à l'environnement. Chaque plant est espacé de 80 cm sur une rangée et de 1,80 mètres en inter rang ce qui équivaut à environ 10000 pieds par hectare.

Le théier a besoin de soleil, au moins 5 heures par jour, et d'humidité, soit environ 200mm de pluie par mois. Les meilleurs thés proviennent des plantations en altitude pour bénéficier d'un maximum de conditions climatiques adaptées, ils prospèrent d'ailleurs jusque 3000 mètres d'altitude dans la province du Sichuan.

Le sol doit être acide, jeune et volcanique idéalement. Il est légèrement en pente et limité par des murets de pierres sèches ou des mottes de gazon avec des rigoles pavées pour évacuer l'eau de pluie.

Tout est minutieux : de l'entretien quotidien à la cueillette, jusqu'au traitement des récoltes. Pour la cueillette, celle de printemps (avril - mai) donne les thés les plus recherchés, à la saveur pleine et forte (De Jong M.). La seconde en juin-juillet fournit des thés très corsés et aromatiques, celle en août des thés de qualité moins bonne.

### *La délicate cueillette*

Les jeunes feuilles de théier sont cueillies à la main à un rythme éffréné, par les femmes en général vu leur dextérité naturelle. Le mode de récolte peut être aussi mécanique ou semi mécanique, comme au Japon, mais seulement en plaine.

Il existe plusieurs périodes de cueillette comme nous avons vu précédemment, cela dure environ huit mois. Après la cueillette, les feuilles sont séchées à une température de 95 C° afin de réduire leur teneur en humidité (De Jong M.).

En ce qui concerne les techniques, il en existe trois :

- La cueillette impériale : Seul le bourgeon terminal, ou pekoe (duvet en chinois) sont récoltés. Cette récolte prestigieuse donnera après manufacture le thé blanc. Récolte auparavant réservée à l'empereur de Chine où la cueillette était effectuée par des jeunes filles vierges gantées de blanc et munies de ciseaux d'or.
- La cueillette fine : la plus courante, on prélève le bourgeon terminal et les deux premières feuilles, on obtient un thé d'excellente qualité. Par ordre de qualité croissante : le pekoe fleuri (à pointes blanches), le pekoe orange ou bourgeon terminal de l'arbuste, le pekoe souchong (pekoe avec la plus petite feuille) puis le souchong (2ème feuille) et enfin le congou (3ème feuille).
- La cueillette classique : elle consiste à sélectionner le bourgeon terminal et trois ou quatre feuilles suivantes. Plus grossière cette récolte servira à la préparation des thés de Chine fumés ou grillés.

## Procédés de préparation, traitements subis par la feuille et infusions

Il faut toujours se souvenir que les différents thés, thé blanc, thé noir, thé vert, thé bleu-vert, proviennent du même théier, et que seul le mode de cueillette et de préparation diffèrent. Si le thé vert ne subit aucune transformation mis à part un chauffage rapide désactivant les enzymes de la fermentation, la maîtrise des autres différentes fermentations donnera sa couleur au thé. Voici quelques exemples :

Le thé blanc ne subit que deux opérations : le flétrissage et le séchage immédiat, effectuées en général en plein air sur des claies, le thé devant sécher au soleil. On peut alors obtenir le plus beau thé le Yin Zhen ou “aiguilles d’argent”.

Le thé bleu vert ou thé oolong ou thé semi fermenté est fabriqué en Chine populaire et à Formose (Taiwan). Le temps de fermentation est variable, on place les feuilles dans une chambre pendant un temps très court et on enlève les feuilles avant qu’elles ne s’oxydent. On peut ainsi obtenir du thé semi fermenté au 1/3 (plus vert) ou au 2/3 (plus noir) selon la région. Ce thé à larges feuilles plus mûres est plus faible en théine et en tanins, on le préférera le soir.

Le thé noir vient d’une légende selon laquelle au XVIIe siècle une cargaison de thé vert serait arrivée à destination après un voyage mouvementé, et aurait eu le temps de moisir. Les revendeurs auraient alors développé un marketing autour de ce thé à Londres et cela aurait suscité un engouement général au delà des espérances.

Il provient d’un processus complet comportant six étapes : le flétrissage des feuilles, le roulage, la fermentation dans une pièce humidifiée pendant trois heures où l’air ne circule pas et la température reste stable à 27 degrés (les feuilles s’oxydent et deviennent noires par absorption de l’oxygène), la dessiccation (ou torréfaction) qui se déroule pendant 20 minutes à 90-95 degrés, le criblage (le prix variant en fonction de la taille des feuilles brisées ou non), et enfin le tamisage, séparant la poudre pour les sachets de thé des feuilles brisées plus corsées.

Le thé noir fumé lui est mis sur des plaques de fer chaudes que l’on fait griller, puis il est placé sur des claies au dessus d’un feu d’épicéa (sapin ou cyprès) plus ou moins longtemps selon le fumage : ainsi le prestigieux Lapsang Souchong résulte d’un fumage moyen, le thé de Chine “Pointes blanches” d’un fumage léger, et le Tarry Souchong d’un fumage plus intense. Ce procédé aurait été découvert en 1820 dans la région du Fujian, par un producteur qui aurait dû sécher sa plantation de thé rapidement à cause de l’armée chinoise qui l’avait réquisitionnée. Il alluma un feu d’épicéa, qui donna un goût fumé intéressant qu’un marchand européen de passage repéra de suite.

Les thés parfumés sont obtenus avec différentes couches de fleurs (jasmin, rose, lotus, chrysanthème) superposées et on laisse ainsi le thé s’imprégner du parfum de la fleur.

Les thés aromatisés sont placés dans des “bétonnières” dans lesquelles on brasse le thé en y ajoutant des essences naturelles. Ainsi, pour un goût “Russe” de l’orange, de la bergamote

du citron ou du pamplemousse y seront placés en ajustant les dosages.

En ce qui concerne le thé rouge, pour les Asiatiques il s'agit d'une forme proche du thé noir dans son processus de fabrication. En revanche, il s'agit d'une autre espèce de plante provenant d'Afrique du sud, du même ordre que l'épicéa, l'*Aspalathus*.

### *Infusions*

En 793, sous la dynastie Tang, le thé se consomme surtout sous forme de briques qui sont rôties sur le feu puis pulvérisées dans l'eau bouillie, avec de l'oignon, du gingembre, de la menthe ou des pelures d'orange.

La dynastie Song est l'apogée de la civilisation du thé : l'importance des règles de préparation, la poésie des cérémonies du thé, la cueillette très codifiée (période de l'année, matériel utilisé, personnes employées) font qu'on réduit en poudre les feuilles de thé séchées dans un petit moulin de pierre. Ensuite, on fait mousser la poudre de thé avec la vergette en bambou.

L'essor du commerce du thé lors de la dynastie Ming pousse les chinois à produire un thé qui se conserve mieux. L'infusion des feuilles séchées et chauffées ne se conservant pas assez bien, ils élaborent le processus de fermentation du thé noir, l'agrémentant de parfums floraux, ce qui sera un grand succès à l'étranger.

Pas toujours facile de faire une cérémonie du thé traditionnelle quand on en consomme quotidiennement. Voici donc quelques repères dans le tableau 2.1. pour les temps d'infusions souvent demandés pour optimiser la qualité et le goût de sa consommation de thé aujourd'hui.

## **2.2 La composition du thé vert et son action antioxydante**

Selon les dires de Shen Nong, "le thé, avec sa saveur amère, aide l'esprit, combat la fatigue, stimule le corps, réduit le poids, améliore la vision" (Shennong bencao jing - Le Classique de la matière médicale du laboureur, Ier siècle, dynastie des Han). Le Cha Ching, ou classique du thé, en plus d'être un traité de philosophie taoïste, de morale confucéenne et de métaphysique bouddhiste, nous invite à la méditation, car en découvrant le thé, le lecteur apprend à se découvrir lui-même et le monde qui l'environne. Mais que contient cette plante pour avoir de telles vertus ? Ses actions pharmacologiques sont peu à peu élucidées, et ce dans de nombreux systèmes de l'organisme. Voyons de plus près sa composition, très riche en polyphénols et autres antioxydants, ainsi que son mode de fonctionnement dans l'organisme.

L'attention des chercheurs a particulièrement été retenue par la présence et l'activité des polyphénols des feuilles, molécules reconnues pour leur activité antioxydante. Les actions supposées de ces derniers seraient : activité anti-inflammatoire, anti-oxydante, anticoagulante, et hypocholestérolémiant (Schwarz A., 2006).

Tableau 2.1 Modalités de préparation de différents thé pour une consommation optimale

Thés verts	Température de l'eau	Durée de l'infusion	Dose pour 30 cl
thés verts primeurs de Chine	70-75°C	2 à 4 min	6g
autres thés verts de Chine	70-75°C	3 à 5 min	3g
thés verts du Japon	40-80°C	1 à 3 min	6g
Thés Blancs	Température de l'eau	Durée de l'infusion	Dose pour 30 cl
Aiguilles d'Argent	70°C	5 à 10 min	6g
Bai Mu Dan	70°C	5 à 10 min	6g
Thés Oolong	Température de l'eau	Durée de l'infusion	Dose pour 30 cl
préparation au Gong Fu Cha	95°C	par passages de 20 sec à 1 min	Remplir au tiers la théière de feuilles
préparation à la théière traditionnelle	95°C	5 à 7 min	6g
Thés Noirs	Température de l'eau	Durée de l'infusion	Dose pour 30 cl
Chine	80-95°C	3 à 5 min	6g
Inde, Darjeeling de printemps	80-95°C	2 à 4 min	8 à 10g
Inde, autres récoltes de Darjeeling	80-95°C	3 à 5 min	8 à 10g
Inde, Assam	80-95°C	3 à 5 min	6g
Sri Lanka et autres origines	80-95°C	3 à 5 min	6g
Thés Parfumés	Température de l'eau	Durée de l'infusion	Dose pour 30 cl
à base de thé noir	80-95°C	4 à 5 min	6g
à base de thé semi-fermenté / Oolong	95°C	5 à 7 min	8 à 10g
à base de thé vert	75°C	3 à 4 min	8 à 10g
à base de thé fumé	80-95°C	3 à 4 min	6g
thés au jasmin	70-75°C	3 à 4 min	6g

Ils comprennent le grand groupe des flavonoïdes (contenant les catéchines), et le plus petit, celui des non flavonoïdes ou acides phénols.

### 2.2.1 La richesse en actifs du thé vert

#### Eléments minéraux, acides organiques et enzymes du thé vert

##### *Vitamines, éléments minéraux et acides organiques*

La composition moyenne d'une feuille fraîche de variété assamica - variété la plus étudiée - est reportée dans le tableau 2.2. Celle ci est indiquée en pourcentage de matière sèche car la feuille est composée à 80% d'eau.

Soit environ dans 100G de thé vert séché, 300mg de vitamine C, 100mg de vitamine E, 10 à 12mg de vitamine B : B1, B2, B3, B5 et B11, mais aussi 15 mg de bêta-carotène ou vitamine A, et 35% de polyphénols antioxydants totaux. Mais en fonction du lieu de culture, du climat, de la qualité du sol, de pesticides ou non, du nombre de récolte par an, de l'âge de la plante, du type de graine dont elle est issue, le niveau de polyphénols peut varier de 10,6% à 31,8%. C'est une variable importante car ce sont eux qui nous permettent de lutter contre les dommages causés par l'oxygène et ses dérivés. Dans les 2 à 3 premières minutes d'infusion, jusque 85% des antioxydants sont libérés et le corps humain en vient à une protection antioxydants dans les deux à trois heures qui suivent.

Les principaux minéraux du thé (10 a 15% du poids sec) sont le potassium, le calcium, le phosphore, le manganèse, le cuivre, le sodium, le zinc, le bore, le plomb, le silicium, le chrome, le fer, le nickel et le baryum. Le thé est aussi une source importante de fluor jusque 1mg/portion (Ronald M., 2011 ; Balantine DA).

Les protéines contenues dans le thé, si elles sont présentes en trop grandes quantités, forment des complexes insolubles avec les tanins. La concentration de ceux-ci diminue alors et le thé est de moins bonne qualité. La concentration des protéines contenues dans le thé influence grandement sa qualité (Sifaoui R., 1992).

##### *L'importance des enzymes*

Les principales enzymes retrouvées dans la feuille fraîche de thé sont notamment :

- les polyphénoloxydases (PPO) faisant partie des peroxydases, les plus nombreuses, ayant un cofacteur cuivre et formées de 4 isoenzymes. Elles sont responsables de la biosynthèse des flavonoïdes du thé. Ces enzymes sont surtout retrouvées dans les cellules épidermiques de la feuille fraîche, et leur activité augmente de 2 a 3 fois au cours du flétrissage, du roulage. Elles sont inactivées par la chaleur lors de la formation

Tableau 2.2 Composition d'une feuille de thé vert en pourcentage de matière sèche

Composés	Pourcentage de la matière sèche
Flavanols	25.0
Flavanols et glycosides de flavanols	3.0
Acides phénoliques et despsides	5.0
Autres polyphénols	3.0
Caféine	2.0 à 3.0
Théobromine	0.2
Acides aminés	4.0
Acides organiques	0.5
Monosaccharides	4.0
Polysaccharides	13.0
Cellulose	7.0
Protéines	15.0
Lignine	6.0
Lipides	3.0
Chlorophylle et autres pigments	1.0 à 2.0%
Cendres	5.0
Substances volatiles	0.01

de thé vert, mais augmentent lors de la formation de thé noir. Les PPO ont une action très efficace sur les catéchines hydroxylées en 3' à 4' et une activité importante au pH compris entre 4,6 et 5,6.

- les peroxydases (POD), au noyau héminique, catalysent la décomposition par réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et des peroxydes organiques en alcool correspondant. La PPO générerait des peroxydes activant le système POD. Cependant la catalase est très active dans le thé et élimine rapidement les peroxydes après leur formation, ce qui limite le rôle de la POD dans les réactions de fermentation (Balantine DA.,1997 ; Harbowy M., 1997).
- les glucosidases qui catalysent l'hydrolyse des sucres de plusieurs composés aromatiques hétérosidiques.
- les lipoxygénases, responsables de la formation d'aldéhydes volatils.
- les méthylxanthines synthétase.

L'infusion de *Camellia Sinensis* contient un acide aminé représentant plus de 50% de la teneur totale en acides aminés eux même évalués à environ 20% du poids de la feuille : la théanine ou acide glutamique N-éthyl-amide. C'est un des 19 acides aminés se trouvant dans le thé vert ou noir, et ne se trouve que dans cette plante.

Les acides aminés réagissent avec la chaleur et en présence de polyphénoloxydases pour donner des aldéhydes, jouant un rôle essentiel dans l'arôme de l'infusion. Mais ces molécules sont peu solubles dans l'eau, ce qui fait que l'on se retrouve pour 2,5g de feuilles de thé vert pour 250 ml d'infusion totale pendant trois minutes avec une composition d'environ 17%

de molécules azotées (en dehors des alcaloïdes), réparties de la façon suivante : 8% d'acides aminés et d'acides nucléiques, 6% de protéines, et 3% de théanine (Yang CS., 2002).

## Les acides phénoliques, despsides et tanins

### *Les tanins*

Les polyphénols, autrefois appelés tanins végétaux, s'ils sont sous leur forme polymérisée (c'est à dire s'ils sont assemblés, allant jusque 10 molécules élémentaires misent ensemble), deviennent alors des tanins : c'est eux qui donnent la coloration au thé noir et culottent la théière. Des études expérimentales sur les effets physiologiques de certains tanins polyphénoliques indiquent qu'ils peuvent être bénéfiques pour diminuer les lipides sériques, la réduction de la pression artérielle, et la modulation des réponses immunitaires (Liao S., 2001).

En ce qui concerne les tanins condensés, 15 classes ont été identifiées chez les végétaux dont parmi elles deux sont bien représentées dans le thé vert : les procyanidines qui sont des polymères d'(épi)catéchine (EC) et les prodelpinidines, des polymères d'(épi)gallocatéchine (EGC).

Les procyanidines sont retrouvées majoritairement dans le plasma sous formes de métabolites, dimères et monomères méthylées et glucuronées. Dans le côlon, les procyanidines sont catabolisées par la microflore en acides phénoliques de bas poids moléculaire, comme la valérolactone, l'acide phénylacétique, et l'acide phénylpropionique (Zhang L., 2016).

Les tanins complexes sont de très grosses molécules, pour la plupart peu connues, qui se forment lors des opérations de fabrications du thé : il y a polymérisation. Parmi eux, une faible quantité de théarubigènes se trouve dans le thé vert, mais comme nous l'avons vu, pour la fabrication de celui ci les feuilles sont chauffées, inactivant la fermentation. Les tanins complexes apparaissent donc durant l'oxydation des catéchines par la polyphénol oxydase, puis par la polymérisation aboutissant à des composés de théaflavine et ses dérivés acides, la théaflagalline, le bisflavonol, et la théarubigine eux dans le thé noir, et résultant d'une oxydation d'acides gras et l'altération des caroténoïdes par paire de catéchines (Ho CT., 2000) :

- théaflavine : EC + EGC
- théaflavine - 3 - gallate : EC + EGCG
- théaflavine - 3' - gallate : EGC + ECG
- théaflavine - 3,3' -digallate : ECG + EGCG

Par ces réactions, le thé noir contient 3 fois moins de catéchines que le thé vert et ces théaflavines (particulièrement la théaflavine-3'-gallate, théaflavine-3-gallate et théaflavine-3,3'-gallate) jusque 2,5% de la masse sèche du thé noir. De ce fait, le thé noir possède une saveur et des effets totalement différents sur l'organisme, qui peuvent dans certains cas précis être excellents pour la santé. On peut donc avancer que le niveau de catéchines (teneur et composition) joue un rôle essentiel dans l'évaluation de la qualité objective du thé noir

(Engerhardt UH., 2000 ; Schneider R., 2008).

### *Les acides phénoliques*

En raison de leur présence de 5% du poids sec dans la feuille de thé, on trouve comme constituant majeur des acides phénoliques l'acide gallique (acide 3,4,5-Trihydroxybenzoïque), présent à 0,9% et reconnaissable dans la figure 2.2. Lors de la fermentation du thé, son taux augmente alors, par libération des gallates catéchines (I.A.R.C. 1991 ; Landreau A., 1996).

Il peut être sous sa forme libre ou faisant partie d'une molécule de tanin. Selon la SFA (Société Française des Antioxydants), parmi tous les thés de Chine analysés, celui qui contient le plus d'acide gallique, d'EGCG et autres catéchines est le thé de Lonjing, réputé pour être un thé de très haute qualité. On trouve aussi de l'acide chlorogénique à 0,2 à 0,3% comme le montre la figure 2.3 , de l'acide ellagique (0,01 à 0,03%), et de l'acide coumarique (0,05 à 0,07%).

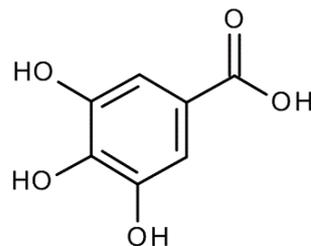


Figure 2.2 Formule développée de l'acide gallique

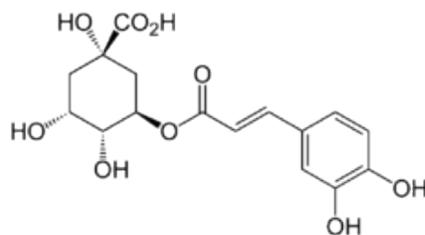


Figure 2.3 Formule développée de l'acide chlorogénique

Le thé vert contiendrait aussi plus de policosanol (PC), nom trivial d'un mélange de longue chaîne (C20-C36) des alcools aliphatiques primaires. Les PC ont été signalé comme étant efficace pour abaisser le cholestérol total et le cholestérol LDL, ainsi que pour augmenter le taux de cholestérol HDL et l'inhibition de l'oxydation des LDL-C.

Le contenu total de PC en feuilles de thé vert s'est révélé être dans la gamme de 856,7 à 1435,1 mg / kg. Fait intéressant, le thé infusé des feuilles de thé vert contient un taux de PC supérieur au produit de thé vert non infusé, atteignant 1629,4 mg/kg (Sol Ji Choi, 2016).

### *Les depsides*

Les despsides, relativement peu représentés dans le thé vert, sont considérés comme des tanins hydrolysables car ils possèdent une fonction ester, donc une fragilité de par cette fonction, par opposition aux catéchines qui sont considérées comme étant des tanins condensés ou non hydrolysables. On parle de tanins hydrolysables quand l'acide gallique ou ellagique se condensent avec des dérivés alcooliques ou polyols. Le plus courant est la théogalline, qui naît de l'acide gallique et de l'acide quinique. Ce composé diminue dans le temps au cours de la fermentation, et c'est un composé unique au thé.

### **Polyphénols, flavonoïdes puis catéchines : rôle, dosage, technique d'identification**

La classe des polyphénols se caractérise par un ou plusieurs cycles aromatiques contenant au moins un groupement hydroxyle. Le thé vert se compose en majorité de flavonoïdes, des composés dérivés du 2-phénylbenzopyrane, qui sont répartis dans six classes : flavones, flavanones, isoflavones, flavonols, flavanols et anthocyanines. Mais le thé vert contient aussi des acides phénols, comme l'acide caféique, l'acide quinique, et l'acide gallique par exemple.

### *Les catéchines*

L'appellation de catéchine provient du terme "catechu" le nom d'un extrait d'*Acacia catechu* L. Fabaceae.

Ces tanins non hydrolysables ont des vertus anticarcinogènes, antivirales, antibactériennes se caractérisant par la substitution du cycle A en méta : 5, 7 dihydroxy, et la substitution du cycle B par 2 ou 3 groupements hydroxyles. Elles sont incolores et solubles dans l'eau, on les retrouve donc dans l'infusion, et sont responsables de l'amertume de la liqueur. Cela vaut pour les catéchines principales : catéchine (C), épicatechine (EC), épigallocatechine (EGC), et épigallocatechine-gallate (EGCG), ces deux derniers étant deux esters galliques avec l'EGCG représentant 50 à 80% des catéchines (Beecher GR., 2003). Cependant pour certains troubles de santé comme les allergies, les catéchines méthylées sont recommandées. Il s'agit alors de l'épigallocatechine-3-O-méthyle-gallate, présente en grandes quantités dans le thé vert Benifuuki, ainsi que le Sunrouge.

Du fait de la dégradation des catéchines par l'oxydation chaque thé obtient un ratio de catéchines par rapport à la totalité des polyphénols observable dans le tableau 2.3.

Thé vert et blanc ont des niveaux similaires et élevés de catéchines, mais de grands écarts peuvent cohabiter au sein d'une variété de thé. L'étude comprend ici de multiples variétés de Chine, d'Inde, et du Japon. Elle précise que les variétés de thés japonais testés, comme le Gyukoru, Matcha et Genmaicha, comportent des niveaux plutôt bas de catéchines. On

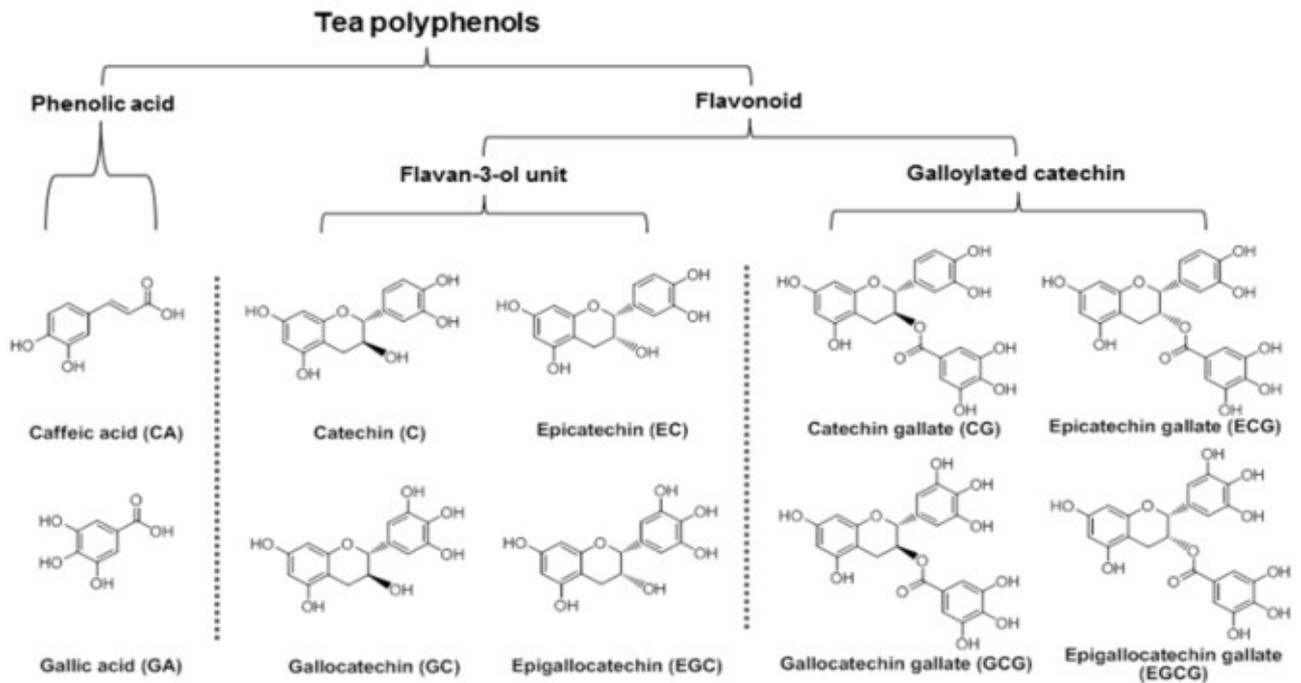


Figure 2.4 Structures chimiques et classification de polyphénols du thé vert dont les catéchines.

Tableau 2.3 Concentration en catéchines par rapport au reste des polyphénols dans le thé

Catéchines/ polyphénols (% de masse sèche)	Thé blanc	Thé vert
Moyenne	57%	64%
Minimale	34%	46%
Maximale	93%	97%

retrouve ces résultats dans le tableau 2.4 du rapport Hilal fait sur plus de 64 thés.

Une analyse simple de la concentration en catéchines dans l'eau du thé, par comparaison à la teneur en catéchines dans les feuilles du thé à été menée par Schneider et al. Il apparaît dans ce rapport et selon le tableau 2.5 que les catéchines sont nettement plus nombreuses dans une infusion de thé vert que dans le thé noir et surtout que l'écart entre les catéchines EGC et EGCG est grand et en faveur de la teneur en EGCG.

### *Techniques d'identification*

Tableau 2.4 Niveau de catéchines dans la masse sèche d'une feuille de thé vert

Niveau de catéchines dans la masse sèche	C	EC	EGC	ECG	EGCG
Moyenne	0.2%	0.8%	2.4%	2.0%	6.8%
Minimale	0.1%	0.3%	0.7%	0.9%	3.1%
Maximale	0.9%	3.2%	4.3%	5.6%	10.9%

Tableau 2.5 Proportion des catéchines dans le thé vert par comparaison au thé noir après infusion de 2,3g de feuilles de thé dans 150ml (750mg extrait sec).

Thé vert	Thé vert	Thé noir	Thé noir	Thé noir
Molécules	% d'extrait sec	mg/Tasse	% d'extrait sec	mg/Tasse
EC	1.98%	15	1.21%	9
ECG	5.20%	39	3.86%	29
EGC	8.42%	63	1.10%	8
EGCG	20.30%	152	4.63%	35

Les méthodes de séparation, quantification, caractérisation des polyphénols sont basées sur l'HPLC avec détection UV-visible (durée d'environ 30 minutes), mais aussi l'électrophorèse capillaire (environ 10 minutes), avec une précision et une fiabilité moindre, et enfin la spectrométrie de masse couplée à une HPLC. Les méthodes biologiques seront pour certains polyphénols expliquées ci après, car leurs formes dans l'organisme, conjuguées, méthylées, diffèrent de leur état initial et nécessitent d'autres techniques d'identification.

Les techniques optimales d'extraction de polyphénols de thé vert se font dans une solution titrée à 100g.L-1 à 75°C avec un temps d'extraction de 80 minutes selon de Larissa Dos Santos Da Sousa (2016), résultat constaté dans la figure 2.5.

### *Dosage*

La principale catéchine retrouvée dans les thés verts provenant de Chine et d'Inde est l'EGCG. On a ensuite, par ordre décroissant : EGC>ECG>EC. En revanche, pour les thés du Japon, on a surtout de l'EGC, puis EGCG>EC>ECG, sauf pour le thé Osaka-Fu.

Khokar S. et son équipe ont étudié l'effet de la température et du solvant utilisé sur la quantité de catéchines extraites. Ils en ont déduit que les conditions idéales sont l'extraction par l'eau à 100°C. Puis ils ont calculé les apports en catéchine et en caféine des consommateurs de thé au Royaume-Uni, en se basant sur une consommation de 3 tasses par jour de thé d'une teneur moyenne en catéchine par rapport aux échantillons testés. L'apport en catéchines est en moyenne de 92,7 mg par jour pour les thés noirs, et de 405,5mg par jour pour les thés verts, mais avec des coefficients de variations respectifs de 88,6% et 17,3% (Khokar S., 2002).

Le dosage maximal de catéchines se rencontrera en été. Plus l'exposition solaire est longue, plus on aura de catéchines. Si on recouvre la plante, on obtient des "thés d'ombre" comme le Gyokuro, Tencha (qui donne le Matcha) et Kabusécha (semi ombré) plus riches en acides aminés qu'en catéchines. Les catéchines sont aussi plus présentes dans les jeunes pousses (Yamamoto et al, 2008), 17.25 % de catéchines contre 13.2% dans les pousses mûres lors de la première récolte. Les récoltes tardives contiennent elles 21.32% de catéchines dans les jeunes pousses, expliquant alors pourquoi ces thés ont une saveur plus astringente et amère.

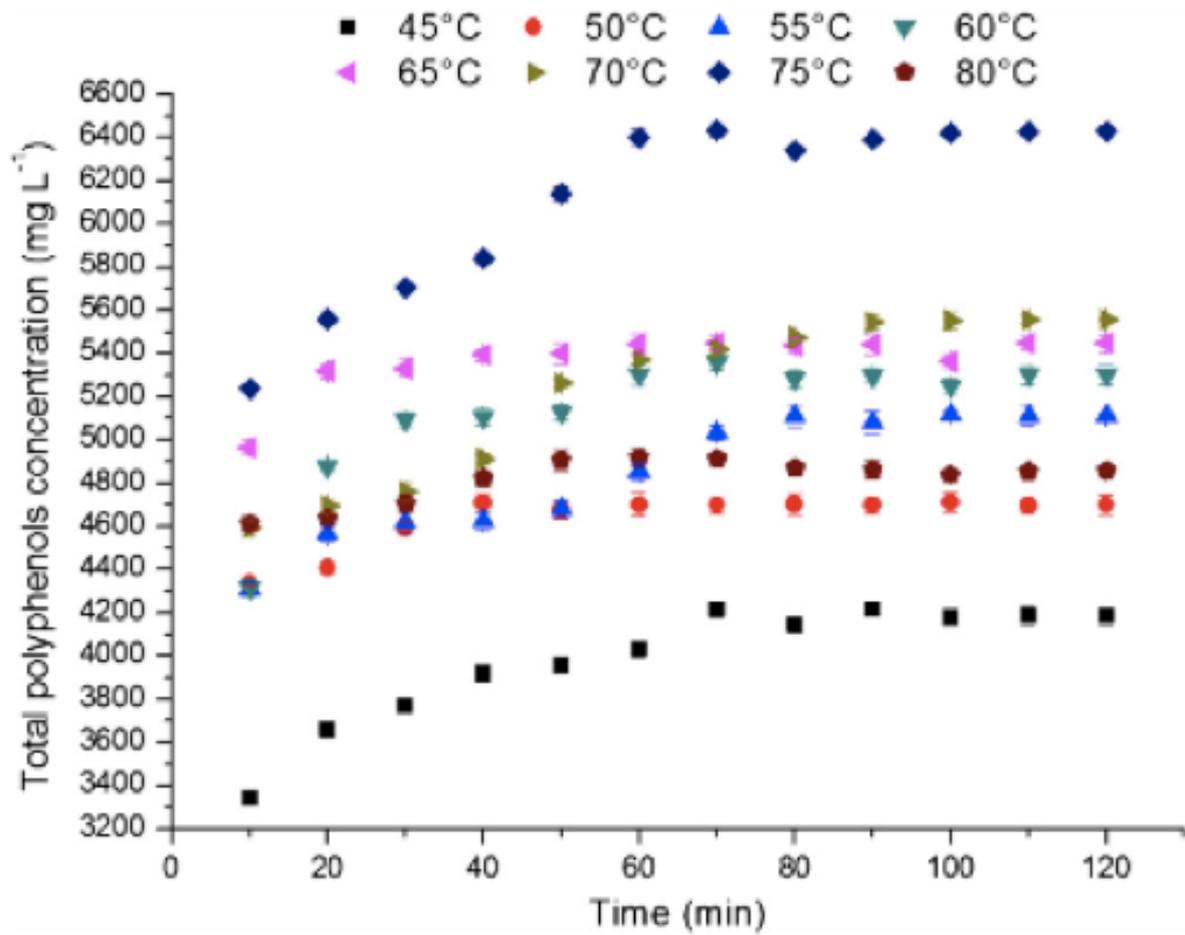


Figure 2.5 Influence du temps et de la température sur l'extraction de polyphénols de feuilles de thé vert.

Des facteurs spécifiques au thé, la variété ou la qualité de la plantation de thé, la situation géographique et topologique, le climat, le sol, le traitement des feuilles, le stockage, le mode de préparation de la boisson sont décisifs pour la composition chimique en polyphénols. Ainsi, par le biais de traditions particulières à chaque domaine, ou de techniques de transformation spéciales, le thé vert peut offrir un grande variété de composition chimique et notamment en de niveau de catéchines. Il s'agit d'un paramètre extrêmement important à prendre en compte si l'on veut promouvoir et analyser les effets bénéfiques de la consommation de thé sur la santé.

Il faut donc savoir si la plante a été mise à l'ombre avant la récolte, quel type de feuilles a été récolté et de quelle variété de plante il s'agit. Le tableau 2.6 résume les critères principaux dans la confection des thés vert japonais.

Par ailleurs, les niveaux de chaque sous catégorie de catéchines varient individuellement aussi. Par exemple, le Benifuuki présente un niveau particulièrement haut de catéchines méthylées. Mais de faibles concentrations en catéchines en valeur absolue ne signifient pas forcément une

Tableau 2.6 Thés verts japonais, type de culture et leur taux de catéchines

Type de thé vert	Partie de la plante	Thé d'ombre	Variété	Niveau de catéchines
Shincha	1ères pousses de printemps et bourgeons	Non	Sinensis	+++
Sencha	Jeunes pousses délicates et bourgeons	Non	Sinensis	++
Sencha	Feuilles mûres	Non	Sinensis	+++
Bancha	Feuilles mûres et communes	Non	Sinensis	+à++
Genmaicha	Feuilles de pencha et riz soufflé	Non	Sinensis	+
Kabusécha	Si qualité, jeunes feuilles et bourgeons	Semi ombré	Sinensis	++
Matcha (Tencha)	Jeunes pousses délicates et bourgeons	Oui totalement	Sinensis	+à++
Gyokuro	Jeunes pousses délicates et bourgeons	Oui totalement	Sinensis	+à++
Benifuuki	Si possible récolte tardive de jeunes pousses	Non	Croisement Sinensis et Assamica	+++à++++

efficacité amoindrie sur le plan de la santé : en effet, il y a des sous catégories de catéchines et le Matcha par exemple, qui en contient moins, se présente sous forme de poudre. Ainsi la quasi totalité des ingrédients (solubles et non solubles) sont ingérés avec l'infusion, et la valeur nutritive est aussi plus élevée de ce fait.

### 2.2.2 Mécanisme antioxydante des catéchines

Les polyphénols catéchiques auraient des effets bénéfiques sur la santé. Antioxydants naturels, ils agissent contre les radicaux libres et protègent nos cellules des agressions quotidiennes. Ces substances seraient similaires aux tanins que l'on trouve dans le vin et auraient des propriétés

Tableau 2.7 Niveau de catéchines en pourcentage de masse sèche dans divers thés verts japonais

Thé vert japonais	Niveau de catéchines en % de masse sèche
Kamairicha	14.57%
Bancha	14.14%
Sencha	13.60%
Gyokuro	10.56%
Hojicha	10.13%
Matcha	9.56%

très proches. Les flavanols, en particulier l'EGCG ont une activité anti-oxydante solide et on pense qu'ils exercent leur rôle en tant qu'antioxydants en prévenant les dommages de l'ADN spécifique par les espèces réactives de l'oxygène, empêchant ainsi la mutagenèse de tumeurs de cellules normales (Seeram NP.,2006 ; Wu AH., 2006).

### **Oxydants et anti-oxydants**

Le thé vert est très riche en polyphénols, surtout en catéchines, qui neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) : les radicaux libres oxydent des macromolécules, protéines, acides nucléiques, lipides, lipoprotéines, et endommagent l'ADN.

Les ROS (pour Reactive Oxygen Species) peuvent être produits dans des conditions physiologiques ou pathologiques, et sont impliqués dans de nombreuses maladies comme le cancer ou l'athérosclérose, ainsi que certaines maladies inflammatoires, ils produisent aussi par exemple les globules blancs pour lutter contre les infections.

Mais la production de ROS peut être consécutive à la consommation de tabac, à une irradiation, à l'alimentation : en effet, certains processus physiologiques peuvent aussi mener accidentellement à une production excessive d'oxydants (Cruz-Correa M., 2006). Les radicaux libres sont par exemple les radicaux superoxyde, hydroxyl, ou le peroxyde d'hydrogène (Caroll RE., 2011). Ces derniers sont principalement produits par des sources endogènes, telles que les peroxysomes, les chaînes de transport d'électrons, et le système du cytochrome P450 suite à des expositions aux ultraviolets, à la pollution atmosphérique ou encore au tabagisme.

Des enzymes impliquées dans des mécanismes antioxydants sont présentes dans notre organisme pour neutraliser ces radicaux : la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase (Sies H, 1993). Ils impliquent des molécules endogènes comme l'acide urique par exemple mais ces défenses enzymatiques endogènes et exogènes ne sont pas entièrement efficaces (Sohal R.S, 1996).

Cependant, d'autres molécules existent et doivent être fournies par l'alimentation comme les vitamines A et E, les carotènes, et les polyphénols possédant une forte activité anti-oxydante (c'est à dire réductrice) (Strain JJ., 1998). Les produits des réactions d'oxydation ont été identifiés et servent de marqueurs à l'effet pro ou anti-oxydant des molécules qu'on veut étudier (Rietveld A., 2003).

L'activité des antioxydants est donc déterminée par :

- leurs potentiels de réduction (donneurs d'électrons ou d'hydrogène)
- leurs réactivités avec les autres antioxydants
- leurs propriétés structurelles et temporelles à lutter contre le stress oxydant
- leurs potentiels chélateurs des ions métalliques

### *Etudes cliniques*

Plusieurs études cliniques ont été faites pour déterminer l'activité anti-oxydante du thé. Les modalités de préparation des échantillons de thé, ainsi que les méthodes de mesure de l'activité anti-oxydante varient d'une étude à l'autre. Par conséquent, les résultats chiffrés ne sont pas toujours quantitativement comparables. En revanche on constate une tendance linéaire dans les résultats : la consommation de thé ou d'extraits de thé mène à une augmentation de l'activité antioxydante du plasma, croissance plus ou moins significative, mais en général plus importante pour le thé vert que pour le thé noir (Rietveld A., 2003). L'administration seule de thé ou d'extraits de thé augmente l'activité anti-oxydante du plasma en moyenne une à deux heures après l'ingestion (Mckay DL., 2002), ce qui correspond au pic de concentration plasmatique des catéchines.

Les effets protecteurs des catéchines sont déterminés par l'analyse des produits d'oxydation. Ainsi l'oxydation des LDL est un marqueur de l'oxydation des lipides, mais les études menées avec le thé ont donné des résultats parfois peu significatifs. Cependant, l'étude de l'oxydation de l'ADN a donné des résultats plus significatifs et ainsi plusieurs études épidémiologiques ont montré que chez des fumeurs par exemple, la consommation de thé vert conduisait à une baisse des marqueurs de mutagénicité (Rietveld A., 2003). Plusieurs études cliniques ont démontré que l'absorption de thé vert ou d'extraits encapsulés pendant une à quatre semaines réduit ces marqueurs de l'oxydation (Mckay DL., 2002).

L'activité physiologique des flavonoïdes du thé est due en partie à leur fonction antioxydante, caractérisée par des réactions d'oxydoréduction et par leur capacité à piéger les espèces oxygénées réactives (ROS) alors que leur activité biologique elle semble venir d'un mécanisme non antioxydant tel que la régulation des voies de signalisation (Dong Z., 1997), la prolifération du cycle cellulaire (Khalif A., 1998) en phase G1 et la réponse immunitaire (Katiyar S., 1998).

### **Mécanismes d'action : Relation Structure Activité, chélation de métaux**

#### *Relations Structure / Activité*

L'efficacité d'un anti-oxydant dépend du nombre de groupements hydroxy ou méthoxy en position ortho ou para : plus ils sont nombreux, plus l'efficacité est importante (Bunger K., 2000), mais aussi de sa solubilité, sa concentration, de l'accessibilité du groupement actif à l'oxydant et de la stabilité des produits de la réaction (Yang CS., 1999).

Ainsi, cela explique que l'activité anti-oxydante des catéchines est plus importante que celle d'anti-oxydants reconnus comme le tocophérol, et c'est l'EGCG qui a le pouvoir anti-oxydant le plus important (Bungert K., 2000). En effet, c'est la structure qui rend possible la délocalisation d'électrons, lui donnant alors une haute réactivité. Selon Aree T, le nombre de groupes OH protégés jouent un rôle clé dans l'amélioration de l'activité antioxydante en stoppant les

réactions en chaîne des espèces radicalaires.

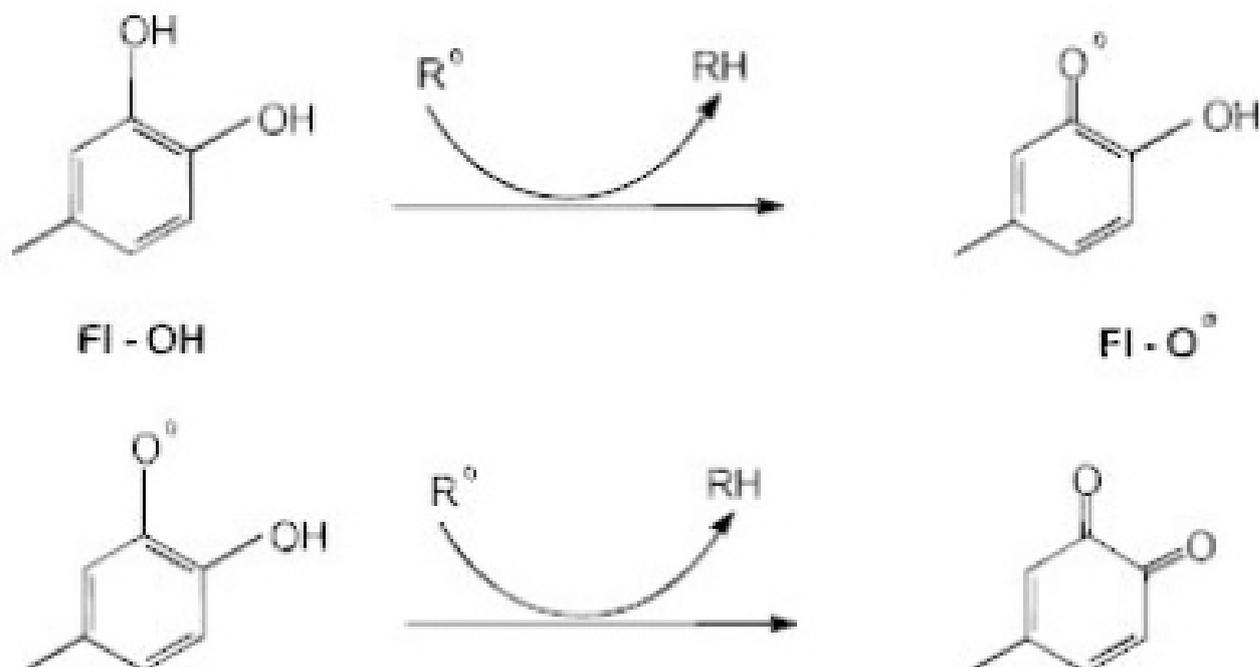


Figure 2.6 Réduction d'un radical réactif grâce aux résidus hydroxyles

Le composé phénolique peut rester stable grâce à des mécanismes de conjugaison de type point sigma Pi libérant un ou plusieurs de ses hydrogènes et diminuant en même temps le pouvoir pro-oxydant de ROS. Les composés les plus actifs sont ceux qui cumulent le plus grand nombre de critères suivants :

- la présence de fonction hydroxy en 3' et 4' du cycle B
- la présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec une fonction '-oxo sur le cycle C (le cycle C étant celui portant l'hétéroatome d'oxygène)
- la présence de groupement 3-OH (très réactif) conjugué avec la double liaison C2=C3 et 5-OH conjugué à la double liaison C5
- le nombre total de groupement hydroxyl du composé (notamment en C7 et C8)

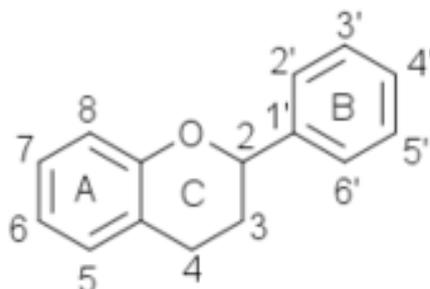


Figure 2.7 Illustration des RSA des composés phénoliques

Le cycle B ou fragment catéchol apparaît être le principal site des réactions anti-oxydantes (Siddiqui IA., 2004).

Les cyclodextrines (CD) sont des glucides macrocycliques constitués de six, sept et huit unités d- glucose. Elles sont bien connues pour leur capacité à former des complexes d'inclusion avec différentes molécules. Ceci en raison des caractéristiques uniques de CD, qui ont une forme de beignet avec des diamètres de cavité de 6-10 Å et présentant amphiphilicité, c'est à dire avec une cavité centrale hydrophobe et des périmètres hydrophiles comme le montre la figure 2.8.

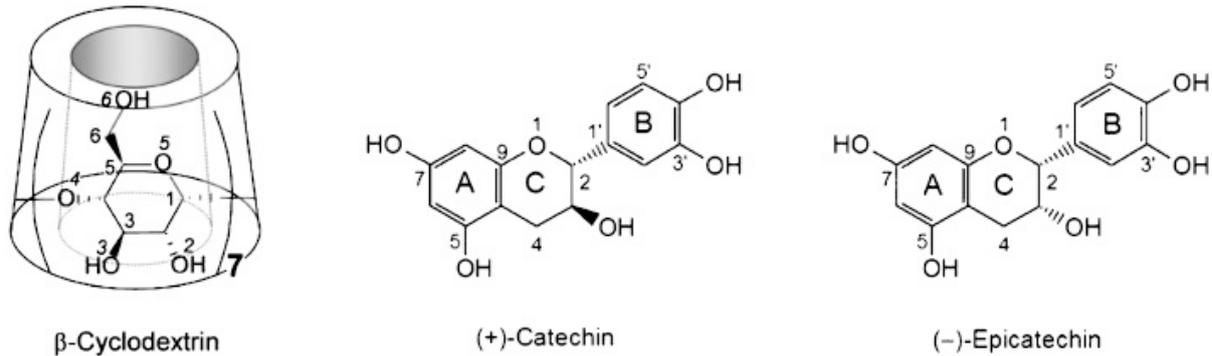


Figure 2.8 Preuve cristallographique que la  $\beta$ -cyclodextrine permet de faciliter l'amélioration de l'activité antioxydante de thé (+) - catéchine et la (-) - épicatechine par la complexation par inclusion.

Dans l'article de Zhen-Yuan Zhu (2016), on explique que la  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) en raison de sa propriété d'encapsulation de molécules de nature hydrophobe est largement utilisée en tant que véhicule de délivrance de médicament. Le processus d'inclusion dans cette étude au final «a non seulement augmenté la solubilité de la chryisine, une flavone de plantes, mais aussi son activité potentiel antioxydant, une activité antimicrobienne et anti-tumorale.» Sur le même principe, En solution aqueuse, la complexation d'inclusion avec les  $\beta$ -CD joue un rôle clé dans le maintien et l'amélioration de la capacité antioxydante et dans le renforcement de la stabilité des catéchines du thé encapsulées contre l'oxydation rapide par les radicaux libres (Folch-Cano et al., 2010; Liu et al., 2016).

### *Chélation de métaux*

La structure di ou tri hydroxy peut chélater des ions métalliques et empêcher la formation de radicaux libres (Bungert K., 2000), notamment via la présence d'un groupement catéchol présent sur le cycle B mais aussi sur deux autres sites de fixation qui se retrouvent chez les flavanols dépourvus de fonction carbonyle en 4 :

- la fonction 4-oxo et le groupement 3-OH du cycle C
- la fonction 4-oxo et le groupement 5-OH des cycles C et A

On utilise souvent le dosage 2,2'-diphényl- 1 - picrylhydrazyle (DPPH) pour l'estimation de

l'activité antioxydante des extraits de plantes (Pekal et al., 2015). Dans cette étude on exécute un procédé de dessalage en utilisant une résine échangeuse de cations Dowex 50WX8 qui diminue la teneur en ions métalliques dans toutes les infusions de thé étudiées. L'activité de piégeage DPPH des effluents après ce processus sont supérieurs à ceux des extraits primaires et cela peut être lié à la capacité antioxydante réelle de ces échantillons.

La capacité de chélation du fer par les catéchines est aussi mise en évidence par le fait que la consommation de thé diminue l'absorption du fer (rappel : prendre le thé à deux heures des repas dans l'idéal pour éviter l'anémie). Les catéchines chélatent aussi les ions cuivre, ce qui protégerait les LDL de la peroxydation (Siddiqui IA., 2004). Elles ont été classées en fonction de leur activité chélatante sur les métaux  $EGC > ECG = EGCG > EC$  selon Guo Q. et son équipe.

## **Protection des membranes cellulaires, action sur les voies de transduction du signal**

### *Protection des membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs*

Les effets anti-oxydants de l'EGCG dans la protection des ATPases membranaires des érythrocytes contre les dommages induits par des peroxydes in vitro (t-butylhydroperoxyde ou t-BHP) ont été étudiés par Saffari AW et Sardzadeh SMH (2004). Ils ont mesuré la formation de marqueurs de la peroxydation des lipides (ThiBarbituric Acid Reactive Substances ou TBARS), suite à l'action de t-BHP, en présence ou non d'EGCG. L'EGCG inhibe la formation de TBARS de façon dose-dépendante, et inhibe les effets du t-BHP sur les ATP-ases. Ils énoncent plusieurs hypothèses pour expliquer cet effet. L'EGCG agirait dans la membrane en bloquant la chaîne de peroxydation des lipides. Il piègerait une partie du t-HBP avant l'interaction avec les lipides membranaires. Quant aux ATPases, la diminution de leur activité sous l'action de t-BHP peut être due soit à l'oxydation de composants des pompes (protéines ou lipides), soit à une oxydation des lipides membranaires, ce qui affecte la fluidité de la membrane, menant à une inhibition totale ou partielle de l'activité ATPase. L'EGCG agirait soit directement sur les pompes, soit interagirait avec les lipides membranaires. L'EGCG est donc un anti-oxydant qui protège les membranes des dommages oxydatifs, pour des concentrations allant de 1 à 15 microM (Saffari Y., 2004).

Intérêt dans la lutte contre le stress oxydatif cérébral lié à l'âge :

L'administration chronique de catéchines du thé vert peut prévenir le stress oxydatif lié au vieillissement cérébral. En effet, avec le vieillissement de l'organisme, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) augmente tandis que la capacité des antioxydants de défense diminue, on a donc un stress oxydatif qui vise à augmenter la production de ROS en général. Dans le cerveau, ce cercle vicieux est plus grave car le cerveau est particulièrement vulnérable

aux dommages oxydatifs. Qiong Li et son équipe ont administré en 2010 0,05% catéchines du thé vert dans l'eau potable pendant 6 mois à des souris femelles de 14 mois par voie orale. Ils ont constaté que la supplémentation en CG a empêché la diminution de l'activité totale de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase dans le sérum ainsi que des substances réactives à l'acide thiobarbiturique réduite et le contenu des protéines carbonylées dans l'hippocampe des souris âgées. L'activation du facteur de transcription du facteur nucléaire kappa B et la formation lipofuscine dans les cellules pyramidales de la région hippocampique CA1, qui sont tous liés au stress oxydatif, a également été réduite après traitement GTC (Green Tea Catechins).

#### *Action sur les voies de transduction du signal*

L'EGCG tout particulièrement semble être un antioxydant puissant, ce qui empêche des dommages oxydatifs dans les cellules saines, mais il est aussi un agent anti-angiogénique et anti-tumorale et agit en tant que modulateur de la réponse des cellules tumorales à la chimiothérapie. Une grande partie des propriétés de chimioprévention du thé vert sont médiées par l'EGCG qui induit l'apoptose et favorise l'arrêt de la croissance de la cellule en modifiant l'expression des protéines régulatrices du cycle cellulaire, l'activation des caspases tueuses, et la suppression des facteurs de transcription oncogénique. Les études *in vitro* ont démontré que l'EGCG bloque la carcinogenèse en affectant un large éventail de voies de transduction du signal dont JAK / STAT, MAPK, PI3K / AKT, Wnt et Notch. L'EGCG stimule la fragmentation des télomères en inhibant l'activité de la télomérase. Diverses études cliniques ont révélé que le traitement par l'EGCG inhibe l'incidence des tumeurs et leur multiplicité dans différents sites d'organes tels que le foie, l'estomac, peau, poumon, glande mammaire et du colon (Brahma N., 2011).

### **2.2.3 Aspect pharmacocinétique et biodisponibilité des catéchines**

Chaque catéchine est assimilée de manière différente par le corps humain. L'EGCG est considérée comme la plus recherchée et précieuse pour la santé. La méthode de préparation du thé (durée d'infusion, température) joue un rôle capital dans la libération des molécules de la boisson et dans la bonne assimilation de son aspect nutritif. Enfin les autres molécules en présence jouent un rôle important dans la capacité d'absorption des nutriments par le système digestif.

#### **Absorption**

Seule une faible proportion des catéchines est absorbée, et cette absorption a lieu principalement dans le côlon (Lee MJ., 2002) car elles passent la barrière gastro intestinale. D'après Lee et al (1995), on retrouve dans le sérum de quatre volontaires sains ayant ingéré une heure avant une tasse de thé vert décaféiné avec des concentrations non négligeables d'EGCG à raison de 100-585 nM, d'EGC d'environ 186 à 467 nM, et d'EC à environ 165-276 nM. De

telles molécules sont donc rapidement absorbées mais il est difficile de jauger dans quelles mesures celles ci ont un effet biologique direct sur notre santé.

Les études montrent que les concentrations plasmatiques d'épicatéchine sont proportionnellement croissantes avec l'ingestion de thé des volontaires sains, avec toutefois une saturation variable notable dépendant de chaque buveur.

Chez le rat, 80% d'une dose de 50mg d'EGCG administrée par voie orale est retrouvée dans les fécès, ce qui correspond à la fraction non absorbée (Hara Y, 2000). Par conséquent, l'EGCG est assez stable dans l'intestin grêle et son contenu augmente considérablement en quelques heures. Celui ci est toujours présent après 8 heures quand une dose unique d'EGCG de 50mg est administrée à des rats (Koo MWL, Cho CH, 2004).

Le taux d'absorption général des épicatechines est estimé à 2%, les calculs étant effectués sur 24h. Ceci est dû à l'activité de la flore colique qui dégrade les noyaux des flavanols libérant les métabolites dont les structures de base sont les noyaux valérolactones, des acides phénylpropioniques et des acides benzoïques (Rietveld A., 2003). Les bactéries du côlon dégradent donc efficacement les catéchines non absorbées par l'intestin, ou celles rejetées par la bile. Celles ci subissant en plus un cycle entéro-hépatique, réduisant les concentrations à quelques micromoles.

Des concentrations salivaires en catéchines de 6 volontaires ayant bu une solution de thé égale à 2 à 3 tasses de thé vert ont été analysées par Yang CS. Il a constaté que le fait de garder la solution en bouche conduisait à une plus forte concentration en EGCG et en EGC dans la salive, puis en EGC dans l'urine. Nous comprendrions mieux ainsi l'importance de s'alimenter et de boire lentement puisqu'à travers le thé vert et le début crucial de la digestion qui commence par la salive et la mastication, de plus grandes concentrations en catéchines dans la cavité buccale et par la suite dans l'oesophage seraient libérées (Yang CS., 1999) «Tu boiras tes aliments et tu mangeras tes boissons» Gandhi.

## **Métabolisme**

Les formes circulantes des épicatechines ont été évaluées par Lee et al : 12-28% d'EGCG, 3-13% d'EGC et 0% d'EC sont retrouvées sous forme libre. Le métabolisme de ces dernières a lieu surtout dans le foie et dans la muqueuse intestinale (Rietveld A., 2003). Dans ces deux sites se produit la biotransformation des catéchines en métabolites conjugués puis grâce aux acides glucuroniques et aux sulfates, on a glucuronidation et/ou sulfatation des groupements hydroxyphénoliques et une O-méthylation des catéchols (Liang Zhang, 2016). Un tel métabolisme est systématique afin d'éliminer les différents xénobiotiques par voie urinaire ou biliaire. Le principal métabolite de l'EGC est le 4'-O-méthyl-EGC, sous forme glucuronidée ou sulfatée le plus souvent. La concentration de ce métabolite atteint un pic durant les deux premières heures après consommation dans le plasma humain, se situant alors 4 à 6 fois plus élevée par rapport à celle de l'EGC (Lee MJ., 2002).

La glucuronosyl transférase de la muqueuse intestinale s'occupe de glucuronider certaines catéchines retrouvées dans le tube digestif. La microflore peut aussi convertir les produits de conjugaison en aglycones. Certains seront réabsorbés, d'autres métabolisés pour former des valérolactones, acide phénylacétique, phénylpropionique (Koo MWL., 2004). Ces composés deviennent biodisponibles dans la circulation entéro-hépatique; leurs effets biologiques sont mal connus (Yang CS., 1999) mais on reconnaît que globalement, la conjugaison des épica-téchines semble diminuer la capacité antioxydante des flavonoïdes, or l'EGCG reste la plus présente sous forme libre dans le plasma.

### **Pharmacocinétique**

Yang CS et son équipe ont administré à 18 volontaires des extraits solides de thé vert déca-féiné. Pour une dose de 1,5 g, on obtient les paramètres suivants : les concentrations plasmatiques de l'EGCG, EGC et EC atteignent un pic 1,5 à 2,5 heures après consommation et diminuent jusqu'à un niveau indétectable après 24h; Si on augmente les doses de 3g et 4,5g, les concentrations plasmatiques maximales augmentent mais aucune relation dose/réponse n'a été déterminée; La concentration plasmatique maximale de l'EGCG est de 119ng/mL, celle de l'EGC est de 148 ng/mL, celle de l'EC 55 ng/mL; La demi-vie de l'EGCG est d'environ 5 heures, celle de l'EGC et de l'EC sont d'environ 3 heures (Yang CS., 2002).

Ces paramètres pharmacocinétiques sont très variables d'une personne à l'autre, et d'une administration à l'autre, ainsi que l'attestent les résultats de Lee MJ et son équipe (2002) qui ont administré à plusieurs reprises des extraits de thé vert à 8 volontaires. Ainsi, chez l'un des sujets, le coefficient de variation de la concentration plasmatique maximale de l'EGCG était de 81% lors d'administrations répétées (Lee MJ., 2002).

Rachel Johnson et son équipe (2012) suggèrent pour une pharmacocinétique optimale une dose quotidienne de 800mg/jour d'EGCG en capsule durant 4 semaines, pour une bonne tolérance et favoriser la sécurité de l'administration. Or une prise quotidienne de 3 à 5 tasses (contenant entre 720-1200ml) fournira au moins 250mg/j d'EGCG.

### **Distribution**

Après administration d'extraits solides de thé vert, les catéchines retrouvées dans le plasma sont, par ordre décroissant de concentration, l'EGC, l'EC, l'EGCG, l'ECG, ainsi que leurs métabolites, 4'-O-méthyl-EGC, 5-(3', 4'-dihydroxyphényl)-gamma-valérolactone et 5-(3', 4', 5'- trihydroxyphényl)-gamma-valérolactone (Lee MJ et al., 2002). De grandes concentrations peuvent être atteintes quand le thé est fréquemment consommé (Koo MWL, 2004). L'EGCG est le plus souvent présent sous forme libre dans le plasma, ainsi que dans l'urine alors que l'EGC et l'EC sont surtout sous forme conjuguée, en revanche l'EGCG serait moins bien absorbée d'après Chen et al (0,1% contre 13,7% et 31,2% pour l'EGC et l'EC de la dose ingérée, respectivement).

Chow HHS, Cai Y, Hakim IA, Crowell JA, Shahi F, Brooks CA et al. (2003) ont observé les effets d'une dose répétée d'EGCG de 800mg par jour en plusieurs administrations, soit l'équivalent de 16 tasses de thé vert par jour, à des candidats sains. Après un mois de régime «thé», ils ont constaté que l'EGCG ne semble pas se stocker dans le corps. Les proportions relatives des formes libres ou conjuguées de l'EGCG, EGC et EC restent telles quelles.

### **Elimination**

Quand on administre à des volontaires des extraits solides de thé vert décaféiné, la quantité totale d'EGC et d'EC excrétés dans l'urine augmente mais sans relation dose/réponse. Cependant, plus de 95% des catéchines urinaires le sont sous forme conjuguée. Les principaux métabolites retrouvés dans des échantillons d'urine de rat, souris et Homme sont :

- des dérivés d'EC : 5-(3', 4' - dihydroxyphényl)-gamma-valérolactone, et d'EGC : 5-(3', 4', 5'- trihydroxyphényl)-gamma-valérolactone
- des monoglucuronides et monosulfates d'EGC et EC ;
- du O-méthylEGC et O-méthylEC

La quasi totalité du 4'-O-méthylEGC urinaire est excrété dans les 8 heures suivant l'ingestion et cela correspond à environ 20% de l'EGC ingéré. Plus de 90% de l'EGC et de l'EC totales sont excrétées entre 0 et 8 heures, et après 24 heures, les concentrations urinaires deviennent négligeables (Lee MJ et al., 2002). Quand à l'EGCG, on en détecte pas dans l'urine : l'EGCG est principalement excrété par la bile, alors que l'EGC et l'EC le sont par l'urine et par la bile (Rietveld A., 2003). Après administration intraveineuse de thé vert à raison de 25mg/kg, on confirme que l'EGCG est éliminé plus lentement que l'EGC et l'EC et que celle ci se retrouve davantage dans les intestins contrairement aux autres majoritaires au niveau des reins. Ainsi, plus de 90% de l'EGC et de l'EC totales sont excrétées entre 0 et 8 heures suivant l'ingestion, et passé 24h les concentrations urinaires sont négligeables.

Les résultats de Liang Zhang et son équipe (2016) ont montré que l'acide hydroxybenzoïque, l'acide triméthylurique et l'acide hydroxyphénylacétique sont les principaux métabolites dans le foie et d'autres métabolites de phase II comprenant les catéchines glucuronidées et épicatechines sont les principaux métabolites du rein et du poumon. Certains composés phénoliques, y compris l'acide phényl-acétique, l'acide acétique hydroxyphényle, 5-dihydroxyphényl valérolactone, acide vanillique sont les principaux métabolites dans le cœur et les testicules (Liang Zhang, 2016).

### **Facteurs modifiant l'absorption des polyphénols**

Ce que l'on ingère au cours du repas est susceptible de modifier quantitativement l'absorption des polyphénols du thé. Il est donc possible que l'alcool facilite la solubilisation des flavonoïdes et qu'il soit un agent favorisant.

En revanche, les fibres alimentaires qui complexent les polyphénols, pourraient réduire leur

absorption. Mais leur influence ne se limiterait pas à ce phénomène. En effet, l'activité de la flore intestinale stimulée par ces fibres provoque une diminution notable du pH (stabilisant les flavonoïdes), et d'autre part, une plus forte capacité d'hydrolyse des glycosides et de dégradation des polyphénols en acides phénoliques.

On affirme que l'addition de lait dans l'infusion de thé réduirait l'absorption des polyphénols en raison de leur complexation par les protéines du lait (suppression totale de la capacité antioxydante du plasma si ajout de lait entier au thé noir ou vert), hypothèse restant à vérifier afin d'optimiser notre mode de consommation du thé : en France, 25% des consommateurs réguliers ajoute du lait à leur boisson. Selon Rachel Johnson (2012), cela ne modifierait pas l'absorption des catéchines mais pourrait diminuer le potentiel antioxydant en fonction de la quantité de graisse contenue dans le lait. Des aliments riches en vitamines C comme le citron -souvent associé au thé- pourraient augmenter la biodisponibilité des flavonoïdes. Cela favoriserait alors la stabilité des épicatechines (du moins *in vitro*).

La méthylation de l'EC peut se retrouver diminuée après une ingestion de proanthocyanidines contenue dans le chocolat par exemple car ses dimères entrent en compétition avec la COMT (Liang Zhang, 2016).

Les connaissances sur la biodisponibilité nous permettent aujourd'hui de dire que les épicatechines sont les polyphénols les mieux absorbés devant les flavonols et théarubigènes, limitant leur action au niveau intestinal du fait de leur malabsorption. Les molécules réussissant à passer la barrière intestinale subissent des transformations métaboliques modifiant leurs fonctions biologiques. Nous pouvons considérer parmi tout cela que les épicatechines ont un effet protecteur intéressant, agissant en synergie avec le reste des composés.

## CHAPITRE 3 PROPRIÉTÉS ANTICANCÉREUSES ET CHIMIOPRÉVENTION

### 3.1 Les cancers concernés et intérêt en cancérologie

#### 3.1.1 Rappel sur la cancérogénèse

##### Définition et caractéristiques

Dans sa vie un homme va synthétiser 200 à 300 kg de cellules sanguines afin de maintenir l'homéostasie. Il s'agit de mécanismes intimes qui alternent entre prolifération, différenciation et mort cellulaire, maintenant ainsi le bon fonctionnement du tissu. Ce qu'on appelle cancérogénèse est le passage de la cellule normale à la cellule cancéreuse, qui nécessite une transformation basée sur au moins six propriétés :

- Indépendance vis à vis des signaux stimulant la prolifération
- Insensibilité aux signaux inhibiteurs
- Abolition de l'apoptose
- Capacité proliférative illimitée
- Capacité à susciter l'angiogénèse
- Acquisition d'un pouvoir invasif

Si une cellule tumorale possède toute une série de caractéristiques qui permettent de la définir, elle est aussi issue d'un tissu normal, dont elle conserve parfois des propriétés. Une tumeur se distingue du tissu dans lequel elle prend naissance par une organisation propre qui sert à en faire le diagnostic. On appelle tumeur bénigne les lésions qui résultent d'une prolifération anormale mais qui se caractérisent par :

- La limite et le respect de la capsule basale de l'organe concerné : absence de prolifération.
- Une histologie semblable au tissu d'origine
- Des cellules régulières
- Une croissance lente avec un refoulement sans destruction des tissus voisins
- Pas de métastases
- Pas de récidives locales après exérèse complète.

##### Les perturbations des étapes du cycle cellulaire

La carcinogénèse est un processus en plusieurs étapes caractérisé par une progression de changements moléculaires distincts qui reprogramment et transforment une cellule pour subir une division cellulaire incontrôlée (Loeb LA., 2008). Au cours des cinquante dernières années, la recherche a permis de découvrir les acteurs moléculaires critiques innombrables et des voies ciblées, et mis en évidence l'équilibre sous-jacent de l'activation aberrante de

proto-oncogènes et l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeur. A chaque perturbation, les cellules subissent des changements fondamentalement représentés par l'initiation de la tumeur, la promotion et la progression (Tokarz P., 2014 ; Barcellos-Hoff MH., 2013).

L'initiation de la tumeur est un processus rapide et irréversible qui commence par une exposition à un agent cancérigène, suivi de sa distribution et de transport vers les tissus causant des mutations non létales dans l'ADN cellulaire. Ces "cellules initiées" commencent à accumuler des changements génétiques irréversibles supplémentaires qui persistent à chaque nouveau cycle de prolifération (Barcellos-Hoff., 2013).

La promotion de la tumeur implique l'expansion clonale sélective et la prolifération des cellules initiées permettant alors des mutations supplémentaires. Contrairement à l'initiation, la promotion d'une tumeur est un processus relativement long et réversible, dans laquelle les cellules prolifèrent activement et les cellules préneoplasiques commencent à se diviser et à se propager. La progression tumorale, la dernière étape de la transformation néoplasique, commence après ces mutations et donnent lieu à un phénotype cellulaire invasif avec un potentiel métastatique (Barcellos-Hoff MH., 2013 ; Kim R., 2007).

### **Vers un mécanisme de mieux en mieux compris : l'espoir thérapeutique ?**

Les progrès dans notre compréhension du développement tumoral montrent que chaque étape est composée de systèmes très variables et complexes. Par exemple, les modifications épigénétiques des gènes suppresseurs de tumeurs, par le biais de méthylation de l'ADN dans les tissus préneoplasiques peut entraîner une carcinogenèse accélérée (Aoi J., 2014 ; Letelier P., 2012). La régulation dynamique des protéines impliquées dans l'apoptose cellulaire par micro-ARN peut avoir un impact significatif à la fois sur la promotion et la progression tumorale (Suzuki HI., 2015). Enfin, des données plus récentes ont mis en évidence le rôle critique du microenvironnement de la tumeur sur la survie et la mutation des cellules pré-neoplasiques (Quail DF., 2013).

Les agents phytochimiques d'origine naturelle ont été trouvés pour avoir un large éventail d'effets cellulaires comme nous le montre la figure 3.1 ci-après. Par exemple , les composés phytochimiques peuvent empêcher les carcinogènes d'atteindre des sites ciblés et soutenir la désintoxication des molécules hautement réactives (Royston KJ., 2015). Des phytochimiques sélectionnés peuvent aussi améliorer la surveillance immunitaire innée et améliorer l'élimination des cellules transformées (Luis Espinoza J., 2013). Enfin, ils ont plusieurs impacts sur les mécanismes de réparation d'ADN intrinsèques et peuvent influencer sur les suppresseurs de tumeurs et inhiber les voies de prolifération cellulaire (Sapienza C., 2016).

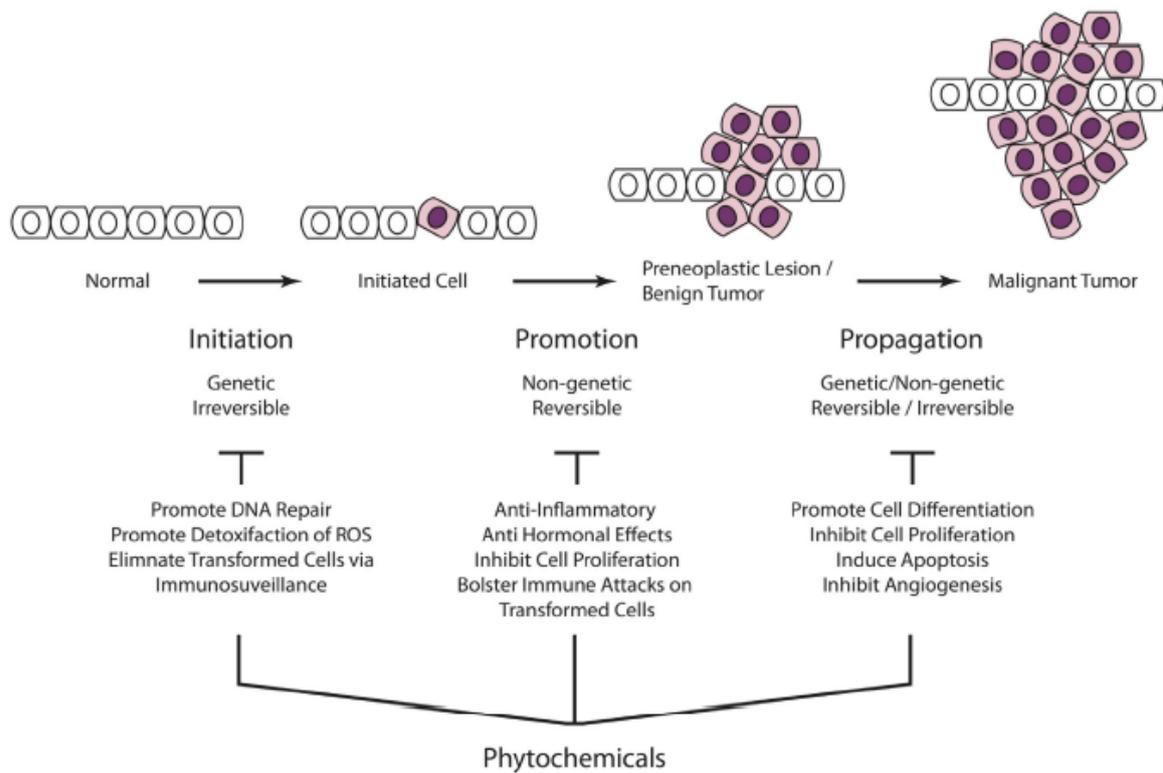


Figure 3.1 La carcinogénèse est un processus en plusieurs étapes qui reprogramme finalement une cellule normale en une cellule cancéreuse. Le thé pourrait ainsi exercer ses effets chimioprévention en bloquant les événements clés de l'initiation de la tumeur et la promotion inversant ainsi le stade précancéreux. Ces agents peuvent également empêcher la formation de tumeur en inhibant ou retardant la progression de celle-ci ou par une différenciation cellulaire.

### 3.1.2 Activité chimioprotectrice des catéchines, le rôle de l'EGCG

#### Effet du thé vert sur la cancérogénèse

Le thé vert est principalement étudié pour ses propriétés de chimioprévention des cancers. Les résultats des études épidémiologiques chez l'homme sont contradictoires. Certaines études ont montré qu'une baisse de l'incidence et de la récurrence du cancer étaient associées à la consommation de thé vert, alors que d'autres n'y sont pas parvenues. Cependant les études réalisées sur des modèles animaux sont beaucoup plus convaincantes. Il a clairement été démontré que le thé vert et l'EGCG possédaient un effet préventif sur les cancers du sein, de la prostate, du poumon et de la peau (Zaveri NT, 2006). L'EGCG peut inhiber la cancérogénèse à tous les stades : initiation, promotion et progression (Chung FL, 2003). Cette inhibition multi facette est attribuée à une combinaison de plusieurs propriétés comme une activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, antiproliférative et pro-apoptotique (Gouni-Berthold I., 2004).

Il a aussi été démontré que l'EGCG pouvait inhiber l'angiogénèse, le développement des métastases et l'invasion tissulaires chez l'animal (Fassina., 2004 ; Jung YD., 2001 ; Garbissa

S., 2001). Les polyphénols du thé ont également été impliqués dans de multiples voies de carcinogenèse, y compris l'inhibition de l'angiogenèse mais aussi la modulation du système immunitaire, et l'activation des systèmes enzymatiques impliqués dans la détoxification cellulaire par la glutathione S-transférase et quinone réductase voies (Steele VE., 2000).

Cependant, l'utilisation de l'EGCG en thérapeutique moderne est limitée en raison de sa faible biodisponibilité et une stabilité limitée à un pH physiologique. Les profils de stabilité de l'EGCG dans les solutions aqueuses ont été étudiés en utilisant la spectroscopie UV-visible. Les résultats de stabilité ont montré un très faible profil de stabilité des EGCG à des conditions physiologiques avec une dégradation rapide dans des conditions alcalines. Par conséquent, l'EGCG a été encapsulé dans des nanoparticules lipidiques solides pour augmenter sa stabilité et a été ensuite évaluée pour son activité anti-cancéreuse. Le noyau lipidique des nanoparticules a non seulement fournit un renfort structurel supplémentaire à l'ensemble des nanoparticules, mais a rendu aussi biocompatible, permettant ainsi un véhicule furtif pour l'administration de médicaments efficaces. Les nanoparticules EGCG chargées (EGCG-SLN) ont été caractérisés par diffusion de lumière dynamique, spectroscopie infrarouge et calorimétrie différentielle à balayage. EGCG et EGCG-SLN ont été évalués pour leurs activités anticancéreuses par la prolifération cellulaire. La cytotoxicité de l'EGCG-SLN a été jugée 8,1 fois plus élevée contre les cellules de cancer du sein humain MDA-MB 231 et 3,8 fois plus élevée contre les cellules DU-145 du cancer de la prostate humain que celle de l'EGCG pur (Radhakrishnan, 2016).

### **Effet de l'EGCG sur les voies de l'inflammation (NF-KB et COX-2)**

On démontre in vitro que l'EGCG baisse l'activité de liaison entre l'ADN et NF-kappaB, et diminue l'expression de la sous unité p65 de NF-kappaB dans les cellules LNCaP, stimulées par le TNFalpha. (Hastak K., 2003) Le modèle TRAMP (Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate) a été conçu pour mimer le développement du cancer de la prostate, de la néoplasie inter-épithéliale prostatique précancéreuse au cancer prostatique métastatique.

Lorsqu'on supplémente les souris TRAMP en polyphénols du thé vert, une diminution de l'expression de NF-kappaB et d'autres protéines associées comme IKK a été observée par rapport aux souris témoins (Gupta S., 2000 ; Siddiqui IA., 2008 ; Aparicio Gallego G., 2007). Ces résultats semblent importants compte tenu de l'implication de la voie de signalisation de NF-kappaB dans le processus de cancérogénèse. Pour rappel, la famille des facteurs de transcription NF-kB joue un rôle clef dans la réponse immune et inflammatoire, le contrôle de la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose, et est impliquée dans le développement de nombreuses pathologies humaines, telles que les maladies inflammatoires et auto-immunes. Bien que de très nombreux stimuli activent NF-kB, toutes les voies de signalisations décrites à ce jour convergent au niveau du complexe IKK (Agence Nationale de Recherche, programme blanc 2006). Si on inhibe donc le gène de IKK qui maintient

NF-kappaB inactif dans le cytoplasme, celui-ci stimule alors les cellules inflammatoires, qui sécrètent alors des facteurs créant une «niche» environnementale favorable au développement des cellules en voie de transformation cancéreuse.

L'EGCG est aussi active sur une autre voie de signalisation de l'inflammation qui vise la COX-2. La surexpression de la COX-2 dans le cancer de la prostate serait probablement secondaire à la surexpression de NF-kappaB (Aparicio Gallego G., 2007).

### **Effet de l'EGCG sur l'apoptose et les cycles cellulaires**

La mitochondrie étant le régulateur central de la voie intrinsèque de l'apoptose, s'y libèrent de nombreuses protéines qui provoquent alors l'apoptose comme les procaspases, le cytochrome c et Apaf-1. Comme en témoigne la fragmentation de l'ADN, l'EGCG entraîne l'apoptose des cellules prostatiques cancéreuses LNCap et DU-145.(Gupta S., 2000). En effet, l'EGCG provoque un effet sur les facteurs de transcription p53 et NF-kappaB, ce qui conduit à une augmentation du rapport Bax/Bcl-2 de façon à favoriser l'apoptose (Chung LY., 2001).

Des études complémentaires prouvent que l'EGCG provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1 dans les lignées cellulaires du cancer et de la prostate. Ces résultats suggèrent donc que les constituants du thé vert réduisent la croissance du cancer de la prostate in vitro (Johnson JJ., 2010).

Dans l'étude de Du GJ et al., les potentiels de chimioprévention du cancer de 10 polyphénols représentatifs ont été déterminés (l'acide caféique, CA ; l'acide gallique, GA ; la catéchine, C ; l'épicatéchine, CE ; la gallocatéchine, GC ; le gallate catéchine, CG ; le gallocatéchine gallate, GCG, le gallate d'épicatéchine, ECG ; l'épigallocatéchine, EGC et l'épigallocatéchine gallate, EGCG), et leur relation structure-activité a été étudiée. L'effet des composés polyphénoliques sur la prolifération des cellules de cancer colorectal humain (HCT-116 et SW-480) a été évaluée en utilisant un test MTT, qui consiste à utiliser le sel de tétrazolium MTT comme réactif pour colorer les mitochondries en violet. La distribution du cycle cellulaire et les effets apoptotiques ont été analysés par cytométrie en flux après coloration avec de l'iodure de propidium (PI) / RNase ou de l'annexine V / PI. Parmi les 10 polyphénols, l'EGCG a montré les effets anti-prolifératifs les plus puissants, et a induit de manière significative l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et l'apoptose des cellules.

La dynamique moléculaire testée sur l'EGCG a suggéré que deux noyaux aromatiques parallèles à proximité et un troisième cycle aromatique verticale aux deux cycles parallèles peuvent jouer un rôle clé dans l'activité pharmacologique. En effet, lorsque la relation entre la structure chimique et l'activité anticancéreuse a été examinée, C et EC n'ont pas montré d'effet anti-prolifératifs alors que GA oui. Lorsque C et EC sont estérifiés avec GA pour produire CG et de l'ECG, les effets anti-prolifératifs augmentent de manière significative. Une relation similaire a été trouvée entre EGC et EGCG. Le groupe de l'acide gallique améliore considérablement le potentiel anticancéreux des catéchines. Cette propriété pourrait être utilisée à

l'avenir lors de la semi-synthèse de dérivés flavonoïdes afin de développer de nouveaux agents anticancéreux (Du GJ., 2012).

### Effet de l'EGCG sur les MAP-kinases

L'EGCG deviendrait active au niveau de la voie des MAP kinases. En effet, la présence d'EGCG a permis de constater la modulation de l'activité de ERK1/2, et de p38 dans les cellules DU-145. In vivo, des études chez les souris TRAMP démontre que les polyphénols du thé vert réduisent la phosphorylation de ERK1/2 dans la partie dorsolatérale de la prostate des rongeurs de 50 à 62% ( $p < 0,01$ ) (Vayalil PK., 2004) Parallèlement, l'EGCG seul diminuerait l'expression et la phosphorylation de ERK1 et 2 respectivement de 57 et 45% dans la partie ventrale, et de 92 à 93% dans la partie dorsolatérale de la prostate (Harper CE., 2007).

Sudeshna M. et al ont utilisé les polyphénols GT réduisant avec succès l'or pour devenir des nanoparticules d'or en une seule étape : un processus qui répond à tous les critères de la nanotechnologie verte aucun produit chimique "artificiel" autre que l'or ne sont utilisés. L'EGCG conjuguée (diamètre 50 nm) montre une stabilité remarquable, significativement rapide lors de l'absorption cellulaire et excellente dans les activités anti-oxydantes in vitro des cellules cancéreuses. Ces nanoparticules modifient l'état redox et limitent l'activation de Nrf2 de près de 50%. Ces polynucléaires diminuent de manière significative la translocation nucléaire de NF- $\kappa$ B, associée à une diminution de la phosphorylation de I $\kappa$ B et de régulation à la baisse des protéines anti-apoptotiques de NF- $\kappa$ B-dépendant de Bcl2 et Akt, d'une manière dose-dépendante, ce qui déclenche l'apparition de l'apoptose (Sudeshna M. et al., 2015).

La recherche sur le cancer est intensive depuis de nombreuses années, les buts finaux recherchés étant de trouver de nouveaux moyens de prévention. Mukhtar H et Ahmad N ont répertorié les qualités d'un agent de chimioprévention idéal : mécanisme d'action connu, pas ou peu de toxicité, une haute efficacité, administrable par voie orale, une forme active et stable, le moins onéreux possible et doté d'une bonne tolérance. Le thé vert posséderait beaucoup de ces qualités. Certaines sont établies comme l'absence de toxicité, mais son efficacité in vivo reste à démontrer et à être expliquée.

À ce jour, plusieurs essais cliniques ont été établi pour identifier le rôle clinique potentiel de ces polyphénols de thé dans la prévention du cancer (Kotesha R., 2016).

### 3.1.3 Epidémiologie

Nombreuses sont les études épidémiologiques qui ont été réalisées depuis une quinzaine d'années, concernant des populations et des types de cancers variés, ne donnant des résultats pas toujours significatifs, parfois même contradictoires.

Pendant 10 ans, Imai K et Nakachi K ont mené une étude de cohorte au Japon concernant

8552 personnes. Durant cette période ils ont relevé 419 cas de cancers, dont 175 femmes et 344 hommes. La consommation de thé de tous les membres de cette cohorte a été évaluée. Il en résulte que chez les personnes buvant habituellement plus de 10 tasses de thé vert par jour, l'apparition du cancer était retardée de 7,3 ans chez les femmes et de 3,2 ans chez les hommes, comparé aux personnes consommant moins de trois tasses par jour. Cette différence homme/femme observée est aussi liée à une plus grande consommation de tabac chez les hommes bien que les femmes réduisent l'écart en terme de tabagisme aujourd'hui (31% des hommes pour 24% de femmes en terme de consommation quotidienne de cigarettes) (Fukiki, 1999), mais aussi à d'autres facteurs que nous n'étudierons pas en profondeur ici. Voyons plutôt en détail l'EGCG qui serait responsable dans le thé vert de cet effet protecteur en terme de cancer.

### **Cancers du tube digestif**

On constate que certaines études associent la consommation de thé vert à un plus grand risque de cancer de l'oesophage. Cette observation serait davantage due à l'absorption de thé à très haute température qu'à l'action de composants du thé (McKay DL., 2002). Ainsi, dans une étude cas-témoin à Shangai, la consommation de boissons chaudes (comme le thé mais aussi la soupe) multiplierait par 5 le risque de cancer de l'oesophage (Yang CS., 2000).

Diverses études au Japon démontrent un effet protecteur de la consommation de thé vert sur le cancer de l'estomac. Inoue nous montre que sur 22384 japonais une consommation supérieure ou égale à sept tasses par jour était associée à une diminution de 31% du risque de cancer gastrique. Une étude de Shibata et al. sur 636 personnes a montré que la consommation de dix tasses et plus par jour était associée à un risque réduit de gastrite atrophique précancéreuse, avec ajustement pour *Helicobacter pylori* (McKay, 2002). Sur 26311 japonais âgés de 40 ans et plus, il n'y n'a pas d'effet protecteur démontré. Cependant, il y avait très peu de grands consommateurs (>10 tasses par jour) parmi les personnes étudiées, donc cette catégorie n'était pas distincte dans cette étude (Landau JM., 2000).

Selon Akashi et al.(2009) qui a étudié les cellules cancéreuses du colon, le thé vert active AMPK, des marqueurs apoptotiques induits comme p53 et diminue la COX- 2 par son mode d'action.

Deux essais cliniques randomisés ont évalué les effets des extraits de thé sur les lésions buccales précancéreuses appelées leucoplasies. Dans un essai en double aveugle interventionnelle, les sujets ont reçu soit trois grammes de produit de thé mixte, à la fois par voie orale et par voie topique, ou un placebo. Après six mois de traitement, 38% des patients dans le groupe de traitement a eu une régression partielle des lésions buccales par rapport à 10% dans le groupe placebo. En outre, la progression de la taille des lésions a été plus faible par rapport au groupe de traitement, de 3% contre 7%. La fois suivante, ils ont répétés cela avec des lésions buccales précancéreuses assignées au hasard pour recevoir soit 500 mg, 700 mg ou

1000 mg / m<sup>2</sup> d'extrait de thé par rapport au placebo trois fois par jour pendant douze semaines. Bien que non statistiquement significative, ceux dans le groupe de l'extrait de thé ont été trouvés à avoir une meilleure réponse clinique globale et l'amélioration des lésions histologiques (Kjaer TN, 2015).

De nombreuses études ont suggéré des effets bénéfiques du thé vert sur les affections orales telles que les caries dentaires, les maladies parodontales et l'halitose. A ce jour, il n'y a pas eu beaucoup d'articles de revue publiés qui mettent l'accent sur les effets bénéfiques du thé vert sur les maladies buccales. Le thé vert pourrait aider à réduire l'activité bactérienne dans la cavité buccale qui, à son tour, peut réduire les affections orales susmentionnées. En outre, l'effet antioxydant du thé peut réduire les risques de cancer de la bouche. Cependant, plus de données cliniques est nécessaire pour déterminer les avantages possibles de la consommation de thé vert sur la santé bucco-dentaire (Kurshid Z., 2016).

### **Cancers de la vessie et du rein**

Nous retrouvons de façon similaire des résultats contradictoires. Une étude cas-témoin concernant 882 japonais (par Ohno et al.), il a été démontré un effet protecteur sur le cancer de la vessie. Dans le suivi (Wakai et al.), le taux de survie à 5 ans était meilleur chez les grands consommateurs de thé vert. En revanche, une étude sur 38540 japonais ayant survécu à la bombe atomique n'a montré aucune relation. Parallèlement, si on prend un autre cas-témoin, sur 4000 Américains, l'ingestion de 5 tasses et plus de thé par jour est relatée à une diminution de 30% des cancers de la vessie (McKay., 2002).

L'effet du thé vert sur la tumeur de la vessie induite par la BBN (N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine) a été étudié par Matsushima M et Sato D (1998). Il en résulte que pour une quantité de thé vert correspondant à 6 à 7 tasses, le thé vert stoppe la croissance de cette tumeur. Cet effet n'a été observé ni pour le thé oolong ni pour le thé noir.

De multiples études ont montré des données contradictoires générales concernant les risques de cancer et les propriétés réductrices potentielles du thé vert dans diverses populations (Sun CL, 2006). Cette incohérence dans les résultats peut être en partie parce que plusieurs variétés de thés sont souvent utilisés dans les essais et ont des modes de préparations variables, des concentrations inconnues de différents types d'antioxydants, et la biodisponibilité de plusieurs de ces composés après l'ingestion est différente entre les populations. En outre, nombre de ces études sont souvent confondues par d'autres facteurs (consommation de beaucoup de viande par exemple) qui peuvent conduire à l'ensemble du développement de cancers, y compris le tabac et d'alcool et il est difficile de distinguer ces variables confondantes (Wu Y, 2013).

### **Cancers de la prostate**

Quelques études montrent un effet protecteur de la consommation de thé vert (McKay, 2002).

Dans l'étude de Modernelli et al (2015), on a étudié le protéasome Inhibiteurs bortézomib (BZM) et MG132 qui déclenchent la mort cellulaire cancéreuse par l'intermédiaire du réticulum endoplasmique (RE), du stress et de la réponse de la protéine dépliée. L'épigallocatechine gallate (EGCG), polyphénol du thé vert le plus bioactif, est connu pour déployer des propriétés anticancéreuses fortes car elle inhibe l'activité du protéasome et induit le stress du RE. Ils ont examiné si combinaison d'un inhibiteur de protéasome avec l'EGCG améliore la mort cellulaire du cancer de la prostate par une augmentation induite du stress du RE. Paradoxalement, l'EGCG antagoniserait la cytotoxicité du BZM même lorsqu'il est utilisé à des concentrations faibles. A l'inverse, la courbe dose-réponse MG132 n'est pas affectée par l'administration concomitante d'EGCG. En outre, l'apoptose, l'inhibition du protéasome et le stress du RE ont été inhibées dans des cellules PC3 traitées simultanément avec l'EGCG et BZM, mais pas avec une combinaison de l'EGCG et MG132 : l'EGCG améliore l'induction de l'autophagie dans les cellules traitées uniquement par BZM. Dans l'ensemble, ces résultats démontrent que l'EGCG antagonise la toxicité du BZM en exacerbant l'activation de l'autophagie, qui à son tour atténue le stress du RE, protégeant les cellules PC3 de la mort cellulaire.

Selon Shutsung Liao et son équipe, les polyphénols du thé vert, en particulier la catéchine, (-) - épigallocatechine gallate (EGCG), ont été proposées comme chimiopréventifs du cancer. Pour une évaluation claire des éventuels effets physiologiques de la consommation de thé vert, ils ont injecté des catéchines pures de thé vert à des rats et étudié leurs effets aigus sur le système endocrinien. Ils ont trouvé que l'EGCG, mais pas ses catéchines connexes, réduit de manière significative la consommation de nourriture, le poids, les taux sanguins de testostérone, l'oestradiol, la leptine, l'insuline, le facteur de croissance insulino-mimétique de type I, la LH, le glucose, le cholestérol et les triglycérides ; ainsi que la croissance de la prostate, de l'utérus et de l'ovaire. Des effets similaires ont été observés chez les hommes maigres et des rats obèses Zucker, ce qui suggère que l'effet de l'EGCG est indépendant d'un récepteur de la leptine intacte (on rappelle qu'il s'agit de l'hormone de la satiété qui régule les réserves de graisse du corps). L'EGCG peut interagir spécifiquement avec un composant d'une voie de contrôle de l'appétit leptine indépendante. La modification du système endocrinien induites par l'administration parentérale d'EGCG peut être liée à l'inhibition de croissance observée et à la régression de la prostate et du sein.

Par conséquent, bien que les polyphénols du thé ont montré leur influence sur certains biomarqueurs impliqués dans la propagation du cancer, l'effet réducteur du risque clinique lié à l'action des polyphénols reste encore incertain. Cette conclusion a en outre été validée après Zheng et ses collègues dans une étude sur le cancer de la prostate dans la population asiatique (Johnson JJ., 2011).

## **Cancers de la peau**

Une étude cas-témoin réalisée sur 450 adultes en Arizona a montré que la consommation de thé avait un effet protecteur (McKay, 2002).

On note aussi un intérêt dans le traitement et la prévention des maladies de la peau, en effet, l'effet anti-oxydant des catéchines peut être intéressant dans le traitement et la prévention des maladies de la peau, tissu soumis à un important stress oxydatif dû au rayonnement UV solaire. L'EGCG et les catéchines du thé vert bloquent la peroxydation des lipides, diminuent l'érythème, diminuent l'activité de la myéloperoxydase, diminuent la production de peroxyde d'hydrogène, l'infiltration des leucocytes, la production de ROS induits par les radiations UV. L'EGCG module aussi l'immunosuppression induite par les UV en diminuant le taux d'IL10 et en augmentant l'IL2 (Katiyar SK, Ahmad N, Mukhtar H, 2000).

## **Cancers du sein et du col de l'utérus**

Plusieurs études concernent la glande mammaire, avec des résultats pas toujours en accord. Hirose et al. n'ont pas constaté d'effet protecteur lorsque les catéchines étaient administrées à la fin du stade de promotion ou au stade de progression du cancer de la glande mammaire chez le rat. Dans une autre recherche, ils démontrent qu'après traitement avec un carcinogène (DMBA), l'administration de polyphénols du thé vert à des rats diminuait la taille de la tumeur mais ne modifiait pas le taux d'incidence du cancer. Dû à une faible biodisponibilité des polyphénols dans le tissu mammaire, ce serait une action indirecte qui exercerait l'effet inhibiteur de celles-ci : par exemple en ciblant le taux de graisse corporelle ou le métabolisme des oestrogènes.

Pianetti et al. (2002) ont fait boire du thé à des rats femelles, la masse ainsi que l'invasibilité des tumeurs de la glande mammaire induites par des carcinogènes ont été significativement diminuées, le temps de latence avant l'apparition de la première tumeur augmenté.

Aux Etats-Unis, aux Pays-bas, en Italie, aucune étude n'a montré une réelle relation avec la consommation de thé (McKay, 2002). En revanche, une étude japonaise dirigée par Inai et Nakachi démontrerait des résultats différents. Pour cela ils se sont intéressés à la relation entre la consommation de thé vert avant l'apparition des symptômes cliniques et les paramètres cliniques de 472 sujets atteints du cancer du sein, lui-même classé en stades d'évolution I, II, III. La consommation de thé a été distinguée en deux groupes : inférieure ou égale à 4 tasses par jour, et supérieure ou égale à 5 tasses quotidiennes. Au sein des patientes de stade I et II, le groupe ayant consommé le plus de thé montre un taux de récurrence plus bas (16,7% contre 24,3%) et une plus longue période asymptomatique (3,6 contre 2,8 ans) que l'autre groupe. Aucune différence significative n'est cependant constatée pour les patientes de stade III, cela suppose que le thé vert serait plus efficace au cours des premiers stades de développement du cancer.

L'association entre deux paramètres cliniques et l'ingestion de thé vert par ces personnes a aussi été étudiée : le nombre de nodules lymphatiques axillaires métastasés augmentés pour les cancers survenus avant la ménopause, et l'expression des récepteurs à la progestérone et aux oestrogènes concernant les cancers apparaissant après la ménopause (ces deux paramètres étant des prédicteurs de récurrence du cancer). Chez les patientes de stade I et II, une diminution du nombre de nodules lymphatiques ou de l'expression des récepteurs à la progestérone et aux oestrogènes a été constaté dans le cas d'une plus grande consommation de thé vert. Nous supposons donc que la consommation régulière de thé vert avant la déclaration du cancer mène à des pronostics plus optimistes (Fukiki H., 2000).

En rassemblant les nombreuses informations établies sur l'EGCG et sur le fait que le réticulum endoplasmique soit une de ses cibles, on voit que l'EGCG a aussi un impact significatif sur la régulation de l'expression des gènes de l'oestrogène.

Malgré les implications possible sur la chimioprévention ou la thérapie du cancer du sein, cet aspect de l'EGCG n'a pas été étudié de façon adéquate. Pour remédier à cela, Manjegowda MC et son équipe (2015) ont étudié les profils d'expression des gènes MCF-7 des cellules cancéreuses du sein, traitées au préalable par de l'éthanol (pour le contrôle véhiculaire), mais aussi des cellules traitées avec des oestrogènes, de l'EGCG ou les deux, en utilisant les microarrays. Les microarrays sont des puces à ADN autrement dit un ensemble de molécules d'ADN fixées en rangées et ordonnées sur une petite surface qui peut être du verre, du silicium ou du plastique. Cette biotechnologie récente permet d'analyser le niveau d'expression des gènes (transcrits) dans une cellule, un tissu, un organe, un organisme ou encore un mélange complexe, à un moment donné et dans un état donné par rapport à un échantillon de référence.

Une corrélation inverse entre la consommation de thé vert et le risque de cancer du sein est apparent à partir des résultats des études épidémiologiques. L'intérêt répandu pour l'EGCG, comme chimiopréventif et agent chimiothérapeutique contre le cancer du sein provient d'une quantité importante de données disponibles par le biais d'études expérimentales en utilisant la culture cellulaire et des modèles animaux. Les cibles moléculaires d'EGCG ont également été identifiés. Cependant, en dépit du fait que la majorité des tumeurs du sein au moment du diagnostic sont oestrogène dépendants et ER positif (c'est à dire avec des cellules tumorales possédant des récepteurs aux oestrogènes), l'impact de l'EGCG sur les processus cellulaires des oestrogènes médiés et l'expression génique globale n'a pas été abordée.

Alors que d'une part il y a des gènes exclusivement modulés par chacun des traitements, d'autre part, un chevauchement considérable de gènes entre les groupes de traitement est également évident à partir des données.

Ce travail et les données qui en résultent est une petite mais une étape significative vers la compréhension du mécanisme d'action de l'EGCG. Une analyse complète des données de puces à ADN générées par cette étude sera utile pour obtenir un aperçu de l'action de l'EGCG sur le oestrogènes dans les cellules du cancer du sein ER - positif. Cette notion gène

dépendante aidera à juger le véritable potentiel de l'EGCG comme agent de chimioprévention ou agent chimiothérapeutique contre le cancer du sein (Manjegowda MC., 2015).

La bléomycine est un agent chimiothérapeutique fréquemment utilisé dans le traitement de divers cancers. Elle provoque des effets indésirables graves par des anomalies de défense antioxydants contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Aujourd'hui la stratégie actuelle de monothérapie du cancer du col n'a pas réussi à produire les résultats escomptés ; par conséquent, les thérapies combinatoires gagnent beaucoup d'intérêt. Les polyphénols du thé sont des antioxydants efficace et agents chimio-préventifs. Cependant, l'effet combiné de polyphénol de thé (TPP) et la bléomycine (BLM) contre le cancer du col utérin reste inconnu. Dans l'étude d'Alshatwi menée en mars 2016, il est question du potentiel du TPP sur l'activité anticancéreuse BLM contre les cellules cancéreuses du col utérin. Les cellules cancéreuses du col utérin (SiHa) ont été traitées avec différentes concentrations de TPP, BLM et TPP combiné avec BLM (TPP-BLM), et leurs effets sur la croissance cellulaire, les espèces réactives de l'oxygène intracellulaire, l'activité poly-caspase, l'apoptose précoce et l'expression de la caspase-3, caspase-8 et la caspase-9, Bcl-2 et p53 ont été évaluées. Le test MTT a révélé que les cellules SiHa étaient moins sensibles à l'inhibition de la croissance par traitement TPP par rapport à la fois avec BLM et la thérapie de combinaison. La coloration nucléaire a indiqué que l'exposition au TPP-BLM a augmenté le pourcentage de noyaux apoptotiques par rapport à un traitement mono-agent. L'activation de la caspase test démontre que la proportion de cellules apoptotiques précoces et tardives ou secondaires nécrotiques était plus élevée dans les cellules traitées avec la thérapie de combinaison que chez ceux traités avec soit RRE ou BLM seul. Cette étude suggère que le PPT-BLM peut être utilisé comme une thérapie de combinaison efficace à base d'antioxydants pour le cancer du col utérin (Alshatwi et al., 2016).

### **Cancers du foie et pancréas**

Neuf articles de cohortes prospectifs impliquant 465,274 participants et 3694 cas de cancer du foie en Chine, au Japon et Singapour ont été inclus dans l'étude de Ya-Quing et son équipe en 2015. Le risque relatif de synthèse (RR) a indiqué un résultat significatif entre la plus forte consommation de thé vert et un risque réduit de cancer du foie (résumé RR, 0,88 ; 95 % intervalle de confiance [IC], 0,81 à 0,97). Cependant, aucune association statistiquement significative n'a été observée lors de l'analyse de la consommation quotidienne d'une tasse (résumé RR, 0,97 ; IC 95%, 0,95 à 1,00). Après stratification selon le sexe, l'effet protecteur de la consommation de thé vert sur le risque de cancer du foie a été observé seulement dans le groupe des femmes (résumé RR, 0,78 ; IC 95%, 0,64 à 0,96), mais pas chez les hommes (résumé RR, 0,89 ; IC 95%, 0,79 à 1,00).

La présente analyse a révélé les effets préventifs de la consommation de thé vert sur le risque de cancer du foie chez les femmes asiatiques. Cependant, des études supplémentaires sont

nécessaires pour présenter des arguments convaincants pour cette association.

Des taux urinaires de 8 hydroxydeoxyguanosine (8 OHdG), un marqueur biologique de dommages oxydatifs de l'ADN, ont été remarqué comme élevé chez les patients atteints du cancer du poumon, du rein, du cerveau, de l'estomac, de l'ovaire et du foie (Valavanidis A., 2009). Des essais cliniques récents, contrôlés randomisés, ont montré que le thé vert diminuait de manière significative les niveaux urinaires de 8-OHdG chez les gros fumeurs adultes (Hakim IA., 2003 ; Chow HH., 2008). Ces résultats ont été confirmés dans une autre étude, où des personnes à haut risque de cancer du foie dues à des infections hépatiques ont reçu des suppléments de thé vert de 500 ou 1000 mg par jour pendant 3 mois par rapport au placebo (Luo H., 2006). En revanche, les niveaux de pepsinogène, un marqueur de l'atrophie gastrique qui a été perçu comme un risque accru de cancer de l'estomac, ne sont pas affectés par les traitements avec des polyphénols du thé malgré un an de traitement (Hamajima., 1999).

### **Ostéosarcome**

Les microARN (miARN) sont une classe de courts ARN non codants, ils jouent un rôle important dans la régulation des gènes et sont gravement impliqués dans la pathogenèse et la progression du cancer humain. L'étude de Zhu K. et Wang W. menée en 2015 vise à étudier les effets de l'EGCG sur les cellules de l'ostéosarcome (OS) et à élucider le mécanisme sous-jacent. Des tests de la fonction cellulaire ont révélé que l'EGCG inhibe la prolifération cellulaire induite par l'arrêt du cycle cellulaire, la promotion de l'apoptose des cellules OS in vitro et également la croissance des tumeurs transplantées in vivo. Par miARN microarray et analyse par RT-qPCR, le micro ARN miR-1 montre une régulation positive de manière significative dans les cellules MG-63 et U-2os de l'ostéosarcome traitées par EGCG. Ils ont également confirmé que miR-1 est fréquemment diminué dans les tissus tumoraux OS cliniques. En outre, à la fois l'EGCG et miR-1 inhibent l'expression de c-MET, un récepteur tyrosine kinase, et le traitement de combinaison avec EGCG et inhibiteur de c-MET (crizotinib) améliorent les effets inhibiteurs sur la croissance des cellules MG-63 et U-2os. Pris ensemble, ces résultats suggèrent que l'EGCG a un effet anticancéreux sur les cellules OS, au moins partiellement, par la régulation de l'interaction miR-1 / c-MET (Zhu K., 2015).

Il semblerait que la plupart des études démontrant un effet protecteur de la consommation de thé sur l'apparition de cancers seraient celles concernant la population asiatique consommant surtout du thé vert, contrairement aux européens, moins friands de cette boisson délicieuse. L'effet protecteur du thé vert pourrait être supérieur à celui du thé noir. Mais ceci serait à relier avec nos styles de vie différents dans ces différentes régions du monde, ainsi qu'aux étiologies différentes du cancer (Weisburger JH., 2002).

### 3.2 Effets indésirables et limites des polyphénols du thé vert

Bien que le thé vert possède de nombreux effets positifs sur la santé à un certain dosage, des doses plus élevées pourraient induire des effets indésirables inattendus. En outre, les effets des catéchines du thé vert ne sont pas comparables chez tous les individus.

L'EGCG extrait du thé vert peut devenir cytotoxique et une consommation trop élevée de thé vert pourrait exercer une cytotoxicité aigüe dans les cellules du foie, organe majeur du métabolisme de l'organisme. Cependant, il n'y a pas de rapport clinique de toxicité dû à une consommation de thé vert quotidienne. Seules des agences espagnoles et françaises ont suspendu la vente de certains produits minceur à base de thé vert qui provoqueraient ces problèmes hépatiques. La pharmacopée américaine a mis en évidence 36 cas de dommages hépatiques sur 216 cas de «thé vert». Des études animales et cliniques montrent une propension à ce type d'effets négatifs plus récurrente sur un estomac vide que sur un estomac plein (Rachel Johnson et al, 2012).

Une étude révèle qu'une grande consommation de thé vert peut causer des dommages oxydatifs sur l'ADN du pancréas et du foie de hamster (Takabayashi F., 2004). Yun et al (2006) a alors précisé que l'EGCG agissait comme un pro-oxydant, plutôt que comme un antioxydant dans les cellules bêta pancréatiques in vivo. De ce fait, la consommation élevée de thé vert peut s'avérer incommode pour contrôler l'hyperglycémie et donc pour les animaux diabétiques. Lors d'une administration élevée sur une période longue (5% du régime alimentaire pendant 13 semaines), l'extrait de thé vert provoque une hypertrophie de la thyroïde (goitre) chez des rats normaux (Sakamoto 2001 ; Satoh K., 2002), modifiant donc les concentrations plasmatiques des hormones thyroïdiennes.

Les effets indésirables de la surconsommation de thé (vert mais aussi noir) sont dus à trois facteurs principaux :

- sa teneur en caféine
- la présence d'aluminium
- les effets des polyphénols de thé (notamment sur la biodisponibilité du fer)

Les patients souffrant de maladies cardiaques ainsi que les femmes enceintes ou qui allaitent ne devraient pas boire plus de une à deux tasses par jour, la caféine étant susceptible de provoquer une augmentation du rythme cardiaque. Il faut également contrôler la consommation de thé vert et de certains médicaments en raison des effets diurétiques de la caféine (Bruneton J., 1993).

Certaines études ont révélé la capacité des usines de thé à accumuler des niveaux élevés d'aluminium. Cet aspect est important pour les patients souffrant d'insuffisance rénale car les atomes d'aluminium peuvent être accumulés dans l'organisme, entraînant des maladies neurologiques. Il faut donc aussi contrôler la prise de nourriture contenant des quantités élevées de ce métal (Costa LM., 2002). Par ailleurs, les catéchines du thé vert ont une affinité

pour le fer, entraînant une diminution significative de la biodisponibilité du fer dans l'alimentation et peuvent ainsi provoquer des anémies par carence martiale (Hamdaoui MH., 2003 ; Samman S., 2001).

### 3.2.1 Effet pro-oxydant

Il arrive que parfois, comme en présence de cuivre, les catéchines agissent comme pro-oxydants, notamment l'EGCG qui possède une activité pro-oxydante plus importante. Azam S, Hadi N, Khan NU et Hadi SM ont étudié l'effet sur l'ADN des catéchines du thé vert en présence de cuivre (2004). Il en résulte un clivage oxydatif de l'ADN. Les catéchines, et surtout l'EGCG, chélatent et réduisent le cuivre. Pendant cette réaction il se produit un anion superoxyde et un radical hydroxyl, qui clivent alors l'ADN. Le taux de clivage de l'ADN par un flavonoïde est fonction du nombre de groupements hydroxyls que porte la molécule, selon les faits rapportés d'une expérience précédente de ce même laboratoire. Les groupements orthodihydroxy sont ceux ayant la plus grande activité pro-oxydante. Cela explique la plus grande efficacité pro-oxydante de l'EGCG par rapport aux autres catéchines qui serait due à ses positions de groupements hydroxyls, et qui rendraient donc l'efficacité de chélation du cuivre plus importante.

Des polyphénols polymérisés naissent de l'oxydation de l'EGCG et des autres catéchines en présence de cuivre. Les catéchines oxydées par le cuivre sont de meilleurs oxydants par rapport aux formes non oxydées, en d'autres termes les formes oxydées mènent à un plus fort taux de clivage de l'ADN.

L'étude de Kai On Chu et al menée en 2015 révèle les effets à court terme des catéchines sur le plan oculaire. Après administration d'un extrait de thé vert (GTE) à haute teneur en EGCG (en prenant un instant T car des variations diurnes au niveau de l'oxydation ont lieu dans les compartiments oculaires), ils sont rapidement distribués dans les différents compartiments de l'oeil. Des effets antioxydants en fonction du tissu et du dosage de l'EGCG dans les mélanges de catéchines peuvent être notés à court termes (moins de 4h) via des mécanismes moléculaire tels que les enzymes antioxydantes. On constate cependant des effets pro-oxydants à doses élevées d'EGCG. L'oxydation, l'inflammation et l'apoptose dans la rétine ont été évaluées en temps réel par la réaction de polymérase en chaîne. Le traitement par GTE induit une superoxyde dismutase et l'expression de la glutathion peroxydase-3. Les résultats révèlent une pro-oxydation du GTE à haute teneur en EGCG aux tissus oculaires et un niveau d'EGCG optimal nécessaire pour la protection. Ces effets pro-oxydants, néfastes pour des cellules saines, pourraient expliquer l'effet pro-apoptotique sur les cellules cancéreuses. L'apoptose se caractérisant par la fragmentation de l'ADN, fragmentation qui pourrait être due à cet effet pro-oxydant (Asam S., 2004).

Les catéchines semblent promouvoir une action antioxydante afin de prévenir la carcinogenèse alors que dans les cellules cancéreuses, elles agiraient comme pro-oxydants pour tuer ces

cellules.

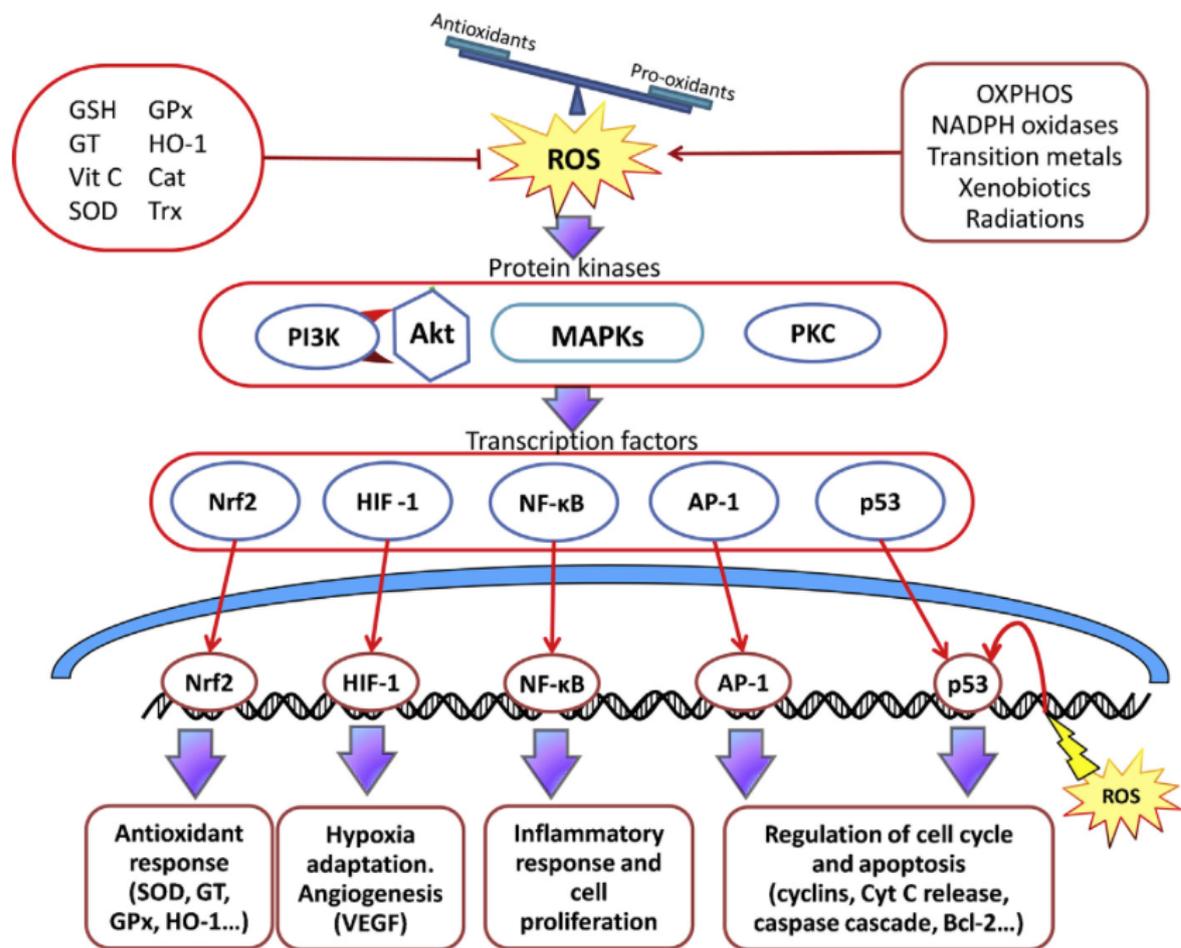


Figure 3.2 Voies de transduction du signal induits par les ROS.

Le stress oxydatif se produit quand il y a déséquilibre dans la balance redox entre les systèmes cellulaires antioxydants et pro-oxydants. Les radicaux libres peuvent interagir avec des sérine/thréonine kinases et des facteurs de transcription à travers différentes voies, aboutissant à la régulation des processus (prolifération, différenciation, angiogénèse, apoptose) dépendants du type et de la durée du stimuli.

L'effet chimiopréventif du cancer par des polyphénols antioxydants implique leur capacité à prévenir ou à réduire le stress oxydant soit par piégeage des ROS, chélateurs de métaux favorisant le stress oxydatif et / ou par induction de l'expression de gènes codants pour des enzymes détoxifiantes, entre d'autres mécanismes. Cependant, bien que de nombreuses études pré-cliniques montrent l'activité anticancéreuse potentielle d'antioxydants alimentaires, y compris le sélénium, la vitamine E et C, et b-carotène, la plupart des essais cliniques effectués échouent à démontrer une nette diminution de la prévention du risque de cancer par l'administration de ces antioxydants.

En outre, l'induction du stress oxydatif est une approche intéressante pour favoriser l'apoptose

et l'arrêt du cycle cellulaire conduisant ensuite à l'induction de la mort cellulaire dans les cellules cancéreuses. En effet, les polyphénols tels que l'EGCG, la curcumine et le resveratrol, démontrent une augmentation de formation de mort intracellulaire, ce qui favorise l'apoptose ; un tel effet est empêché par un traitement pharmacologique préventif du stress oxydatif. Etant donné que les polyphénols tels que l'EGCG, peuvent agir soit comme anti-oxydants ou pro, en fonction de la cible cellulaire, la co-administration d'une chimiothérapie anticancéreuse conventionnelle et / ou de la radiothérapie est suggérée en tant que stratégie prometteuse dans le but d'augmenter l'efficacité à tuer sélectivement des cellules cancéreuses, afin de réduire la résistance aux médicaments et à prévenir les effets néfastes de la thérapie anticancéreuse sur des cellules normales (Leon-Gonzalez A., 2015).

### 3.2.2 Cytolyse hépatique par des extraits hydro-alcooliques de polyphénols

L'emploi de la phytothérapie est de plus en plus fréquente en France. Mais le problème principal de l'innocuité reste constant avec l'utilisation de plantes médicinales. Or, durant ces dernières années, on a recensé plusieurs cas d'atteintes hépatique liées à la consommation de thé vert.

Madame X, 56 ans s'est rendue en juin 2005 chez son médecin traitant car quelques jours plus tôt, un ictère cutanéomuqueux suivi d'un syndrome pseudo-grippal d'intensité modérée avec céphalées, asthénie inhabituelle, nausées sans vomissement et douleurs abdominales diffuses apparaît. On a noté sur le plan personnel la présence d'un surpoids de 72 kg pour 1,60 m et un IMC de 28. Il n'y avait alors pas d'antécédent familial remarquable. Une cholestase ictérique avec une activité de la GGT trois fois la normale (N) et une activité de l'ALAT à 54N et de l'ASAT à 33N est constaté dans le bilan biologique hépatique. Cette femme affirmait alors ne prendre aucun médicament ni d'alcool et de ne pas être exposée à des produits ménagers. Deux mois après son bilan se normalise.

Quelques temps plus tard, la patiente récidive de manière assez brutale avec des ALAT à 99N et des ASAT à 42 N indiquant qu'il y avait une cytolysé importante. De même, le bilan se normalisait progressivement en deux mois. En réinterrogeant la patiente, on apprenait la prise de MINCIFIT<sup>°</sup> comme adjuvant d'un régime amaigrissant environ quinze jours avant l'apparition du premier ictère. Cette patiente avait arrêté d'elle même cette consommation en raison notamment du syndrome pseudo-grippal. On retrouvait de la même façon la prise de DYNASVELTE<sup>°</sup> Forte comme adjuvant de régime amincissant trois semaines avant la récidive de l'atteinte hépatique.

MINCIFIT<sup>°</sup> et DYNASVELTE Forte sont deux préparations contenant du gallate d'épigallo-catéchine (EGCG). L'éthanol permet d'extraire plus d'EGCG du thé vert que l'eau chaude. Ces deux produits sont des extraits hydro-alcooliques de thé vert et produisent donc des quantités plus élevées de catéchines.

L'hépatotoxicité des plantes médicinales n'est pas un fait totalement nouveau. Treize cas (9

en France et 4 en Espagne) d'hépatotoxicité liée à la prise d'EXOLISE° (laboratoire Arkopharma) ont été rapportés. Ce dernier était un extrait hydro-alcoolique fort de feuilles de thé vert et a été commercialisé en France en février 1999. L'évolution des atteintes hépatique a été favorable dans tous les cas généralement en deux mois sauf un cas d'insuffisance hépatocellulaire aigüe nécessitant une transplantation hépatique. Dans ce dernier cas, la prise d'Exolise était associée à une consommation d'alcool importante ainsi qu'à une co-médication.

Le mécanisme immuno-allergique n'est probablement pas en cause car lors de la réintroduction positive, le délai entre le début du traitement et l'apparition des symptômes (environ 21 jours) était supérieur au premier apparue en 2005 (15 jours). Comme Mincifit, Exolise est un extrait hydro-alcoolique de thé vert contenant 25% de catéchines. Un mécanisme impliquant le cytochrome P450 paraît plus probable, le rôle des médicaments non avoués chez ces patients en surpoids ne pouvant être formellement exclu. Il a été constaté que l'hépatotoxicité était supérieure lorsque la prise d'extraits hydro-alcooliques de thé se faisait à jeun. Des études toxicologiques supplémentaires doivent être effectuées afin de préciser la toxicité des extraits hydro-alcooliques de thé vert.

Pour réduire au minimum les effets toxiques indésirables dus à un apport excessif de thé vert, Sudeshna et al. (2015) ont préconisé le concept de nanochimioprévention, qui combine la nanotechnologie avec la prévention du cancer. Ils ont préparé l'or conjugué au thé vert et testés ces nanoparticules à la fois sur leur efficacité antitumorale sur les cellules cancéreuses, mais aussi sur leur rôle hépatoprotecteur.

### 3.2.3 Les limites

De nombreuses propriétés concernant les catéchines ont été démontrées *in vitro* et dans les grandes études sur les modèles animaux. Mais les études épidémiologiques chez l'Homme ne reflètent pas systématiquement ces résultats. Comment expliquer plus précisément cette variabilité? En ce qui concerne le cancer, les tumeurs chez l'animal auraient des origines différentes que celles causées chez l'Homme. Mais d'autres facteurs, en plus de la variabilité des polyphénols contenus dans le thé vert interviennent et peuvent au moins en partie expliquer ces différences.

### Doses utilisées en expérimentation

Les doses présentes dans le plasma humain après consommation modérée de thé sont souvent très inférieures aux doses retrouvées après expérimentation, que ce soit sur des lignées cellulaires ou sur l'animal. On considère que la consommation de 2 à 3 tasses de thé conduit à une concentration plasmatique en catéchines de 0,1 à 0,3  $\mu\text{M}$ . Or les doses utilisées sont parfois très supérieures, allant jusqu'à l'ordre de la millimole/L!

Rappelons que chez l'animal les conditions d'expérimentation sont les conditions optimales

choisies pour détecter un effet : choix de phénotypes, administration régulière de quantités contrôlées de thé voire d'extraits de thé ou de catéchines isolées... (Yang CS., 2002)

### **Biodisponibilité**

Nous pourrions déduire que la consommation régulière de thé puisse avoir des effets bénéfiques sur le tube digestif car nous avons vu que les catéchines restaient en grande partie et pendant un long laps de temps en contact avec les muqueuses. Mais nous n'avons pas autant de certitudes au sujet des autres organes. Par conséquent, l'EGCG n'est pas présente dans la vessie, et sa biodisponibilité est faible dans de nombreux organes. Ainsi, dans le cerveau par exemple, on retrouve seulement une fraction de ce qui a été absorbée en quantité de thé. Or si on considère une consommation moyenne de 3 tasses par jour (ce qui est déjà beaucoup dans les pays occidentaux), on en retrouve seulement 0,1 à 0,3 micromol/L en moyenne dans le plasma, ce qui est très loin des concentrations utilisées dans l'expérimentation, que ce soit sur l'animal ou sur des lignées cellulaires. En effet, notamment en ce qui concerne l'EGCG, la plupart des catéchines consommées dans le thé restent dans le côlon et seule une faible partie est retrouvée dans le plasma. Par ailleurs, une partie des catéchines se retrouve dans le plasma sous forme conjuguée et on ne connaît pas l'activité biologique de ces formes conjuguées.

Sudeshna M. et al ont montré qu'après avoir bu du thé vert contenant 400 mg de catéchines, la biodisponibilité EGCG est de seulement 0,14%, et par conséquent la dose de thé vert efficace est très proche de sa dose toxique (Sudeshna M., 2014).

Il existe une grande variabilité dans les résultats des études de pharmacocinétique sur des volontaires humains. D'après Lee MJ, Maliakal, Chen L, Meng X, Bondoc FY, Prabhu S et al, elle serait due à des polymorphismes de la COMT ou à une variabilité de la microflore intestinale responsable du métabolisme des catéchines.

### **Facteurs interférant dans les études épidémiologiques**

Tout d'abord il est important de souligner que de nombreuses études épidémiologiques basées sur des questionnaires ne tiennent pas compte du type de thé consommé : noir, vert, ou oolong. Ce n'est pas très problématique en Chine car la plupart du thé consommé est vert. Dans les pays occidentaux la consommation est partagée entre thé noir et vert. De plus, d'autres facteurs liés au mode de vie peuvent biaiser le résultat de ces études et ne sont pas toujours pris en compte : par exemple la consommation de tabac, d'alcool, le régime alimentaire. Ainsi, les études réalisées en Asie montrent des effets bien plus significatifs de la consommation de thé sur le développement de nombreuses maladies. Cela pourrait être dû au fait que les Asiatiques consomment majoritairement du thé vert. Mais on sait aussi que leur régime alimentaire les prédispose moins que les Occidentaux à l'apparition de maladies comme les cancers digestifs, les maladies cardio-vasculaires (consommation moindre de graisses animales, avec une consommation plus importante de fruits et légumes).

De plus, dans les pays occidentaux les consommateurs de thé sont souvent des personnes ayant un mode de vie plus sain que la population générale, sauf dans certains pays comme au Royaume-Uni où les grands consommateurs de thé appartiennent à des classes sociales plutôt défavorisées (mais ils consomment surtout du thé noir, donc on sort du cadre des effets de la consommation du thé vert). L'effet positif observé serait-il dû au thé ou à un mode de vie plus sain ? Il y a sans doute un peu des deux...

La précision des réponses aux questionnaires n'est pas toujours optimale, ce qui est l'inconvénient de ce type d'études de cohorte qui ont l'avantage de concerner un grand nombre de sujets pendant une longue période. De plus, dans certaines études, le suivi n'est pas toujours optimal. Par exemple, l'étude de W. Zhang analysait l'apparition de cancers chez des femmes ménopausées. Elles avaient été interrogées sur leur consommation de thé au début de l'étude, mais après quelques années, on ne savait pas si leur consommation de thé avait été régulière ou non, ce qui ne permet pas de tirer des conclusions sur l'effet à long terme de la consommation de thé.

Dans le cadre des études portant sur le cancer, les effets du thé vert sont aussi sans doute différents car la maladie elle-même a des étiologies variables selon les ethnies, les conditions de vie. Le thé pourrait n'être efficace que sur certain types de cancers dus à certaines étiologies.

## CHAPITRE 4 CONCLUSION

Plusieurs mécanismes pour expliquer les potentiels de chimioprévention de l'EGCG ont été présenté, parmi lesquels son effet de cibler des cellules spécifiques des voies de signalisation qui a reçu une attention considérable.

Différents mécanismes sont impliqués dans le risque cytotoxique du cancer, y compris l'induction des lésions de l'ADN, l'activation de la NADPH oxydases, la promotion de la dysfonction mitochondriale et de l'apoptose, inhibition des défenses antioxydantes cellulaires, et l'interaction avec des ions métalliques.

Les catéchines, employée de façon optimale, semblent bien avoir des implications dans l'inhibition de la transformation et de la prolifération cellulaire, dans l'induction des cellules préneoplasiques et néoplasiques, dans l'inhibition, dans l'invasion tumorale et les métastases, et ce pour plusieurs types de cancer que nous avons étudié précédemment.

Bien qu'il existe plusieurs études qui appuient le caractère préventif de l'EGCG dans le cancer, une bonne compréhension des mécanismes par lequel l'EGCG réduit le risque de cancer est nécessaire, comme les événements moléculaires menant à la carcinogénèse et les gènes impliqués. De nombreux points restent encore à préciser, comme la biodisponibilité des polyphénols, le rôle des métabolites polyphénoliques, la caractérisation de la structure pharmacologiquement active des catéchines associée aux activités anti- et pro-oxydants en fonction de la cellule cible, et la preuve clinique de leur potentiel thérapeutique. Toutes ces recherches afin d'établir l'efficacité au sein d'une population donnée. Malgré la démonstration de chimioprévention des catéchines et des dérivés polyphénoliques du thé dans de multiples recherches sur les animaux, les études épidémiologiques chez l'Homme ont donné des résultats mitigés concernant la pertinence de l'EGCG en tant que réel médicament sur le plan préventif et curatif.

Les nanotechnologies, la thérapie génique sont en cours mais en attendant, la co-administration d'EGCG avec la chimiothérapie anticancéreuse conventionnelle ou la radiothérapie pourrait augmenter la réponse de mort cellulaire des cellules cancéreuses et diminuer les effets indésirables sur les cellules saines. Les futures études *in vitro* devraient être approfondies et intégrées aux systèmes *in vivo*, en particulier dans les essais cliniques en cours afin d'évaluer davantage l'applicabilité de ces mécanismes dans la prévention du cancer chez les humains. Ainsi peut être qu'à l'avenir les patients concernés obtiendront une meilleure qualité de vie en terme de protection de la santé, grâce à une éventuelle alternative aux médicaments anticancéreux et aux radiations.

Nous pouvons ajouter pour le consommateur de thé qu'il n'est pas forcément nécessaire d'ingérer la quantité maximale de catéchines, et qu'il est meilleur pour sa santé de choisir une combinaison optimale d'ingrédients entraînant des effets de synergie positive pour l'orga-

nisme, d'autant plus que de trop fortes doses de catéchines peuvent peser sur l'organisme. Il vaut mieux consommer un thé offrant une richesse harmonieuse et un complexe nutritif et équilibré.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADACHI S., SHIMIZU M., SHIRAKAMI Y., YAMAUCHI J., NATSUME H., MATSUCHIMANISHIWAKI R., et al. (-)- Epigallocatechin gallate downregulates EGF receptor via phosphorylation at Ser1046/1047 by p38 MAPK in colon cancer cells. *Carcinogenesis*. 2009 ; 30 :1544-52.
- ADHAMI VM., SIDDIQUI IA., AHMAD N., GUPTA S., MUKHTAR H. Oral consumption of green tea polyphenols inhibits insulin-like growth factor-I-induced signaling in an autchtonous mouse model of prostate cancer, *Cancer res*. 2004 ; 64 : 8715-8722
- ALSHATWI A., PERIASAMY V., ATHINARAYAN J., ELANGO R. Synergistic anticancer activity of dietary tea polyphenols and bleomycin hydrochloride in human cervical cancer cell : Caspase-dependent and independent apoptotic pathways. *Chemico-Biological Interactions*. 2016 March ; 247(15) : 1-10
- AOI, J., ENDO M., KADOMATSU T., MIYATA K., OGATA A., HORIGUCHI H., et al. Angiopoietin-like protein 2 accelerates carcinogenesis by activating chronic inflammation and oxidative stress. *Mol Cancer Res*. 2014 ; 12 : 239-249.
- APARICIO GALLEGO G., DIAZ PRADO S., JIMENEZ FONSECA P., GARCIA CAMPELO R., CASSINELLO ESPINOSA J., ANTON APARICIO LM., Cyclooxygenase-2 (COX-2) : a molecular target in prostate cancer. *Clin. Transl. Oncol*. 2007 ; 9 : 694-702
- AREE T., JONGRUNGRUANCHOK S. Crystallographic evidence for  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexation facilitating the improvement of antioxidant activity of tea (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Carbohydr Polym*. 2016 Apr 20;140 : 362-73.
- AZAM S., HADI N., KHAN NU., HADI SM. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin an epigallocatechin-3-gallate : implication for anticancer properties. *Toxicol In Vitro*. 2004 Oct ; 18 (5) :555-61
- ASHKENAZI R., GENTRY SN., JACKSON TL., Pathways to tumorigenesis—modeling mutation acquisition in stem cells and their progeny. *Neoplasia*, 2008 ; 10 : 1170-1182.
- BALANTINE DA., WISEMAN SA., BOUWENS LCM., MALVY D. Chimie des flavonoïdes du thé. *Critical reviews in food and nutrition, tea and health*. 1997 ; 37 : supp1, 2000 ; 1S13
- BARCELLOS-HOFF MH., LYDEN D., WANG TC., The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2013 ; 13 : 511-518.
- BEECHER GR. Overview of dietary flavonoids : nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr*. 2003 Oct ; 133(10) : 3248S-3254S
- BRAHMA N., SHARMILA S., RAKESH K. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) : Mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochemical Pharmacology*.

2011; (82)12 : 1807-1821

BRUNETON J. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Médicinales. Seconde édition Paris : Lavoisier, 1993; 885-7

BUTEL P. Histoire du thé. Paris : Desjonquères, 1989; 11-

CAGNOL S., CHAMBARD JC. ERK and cell death : mechanisms of ERK-induced cell death–apoptosis, autophagy and senescence. FEBS J. 2010 Jan; 277(1) : 2-21.

CHEN L., LEE MJ., LI H., YANG CS. Absorption, distribution and elimination of tea polyphenols in rats. Drug Metab. Dispo. 1997; 25, 1045-50.

CHOW HHS., CAI Y, HAKIM IA., CROWELL JA., SHAHI F, BROOKS CA et al. Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. Clin Cancer Res. 2003 Aug 15; 9(9) :3312-

CHOW HH., HAKIM IA., HARRIS RB. Green tea consumption is associated with decreased DNA damage among GSTM1-positive smokers regardless of their hOGG1 genotype. J Nutr. 2008; 138 : 1567S-1571S.

CHU KO., CHAN KP., YANG YP., QIN YJ., LI WY., CHAN SO., WANG CC., PANG CP. Effects of EGCG content in green tea extract on pharmacokinetics, oxidative status and expression of inflammatory and apoptotic genes in the rat ocular tissues. J Nutr Biochem. 2015 Nov; 26(11) :1357-67.

CHUNG LY., CHEUNG TC., KONG SK., FUNG KP., CHOY YM., CHAN ZY., KWOK TT. Induction of apoptosis by green tea catechins in human prostate cancer DU 145 cells. Life Sci. 2001; 68 :1207-1214

CHUNG FL., SCHWARTZ J., HERZOG CR., YANG YM. Tea and cancer prevention : studies in animal and humans, Journal of Nutrition 2003; 133 (10) : 3268S-3274S

COSTA LM., GOUVEIA ST., NOBREGA JA. Comparison of heating extraction procedures for AL, Ca, Mg and Mn in tea samples. Ann Sci. 2002; 18 :313-318

COVES S. Cah Nutr Diet 35 supplément 1. 2000; 1S9-

CRUZ-CORREA M., SHOKES DA., SANCHEZ P., ZHAO R., HYLIND LM., WEXNER SD., et al. Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006; 4 : 1035-1038.

BERTOLINI F., FUSETTI L., RABIASCO C., CINIERI S., MARTINELLI G., PRUNERI G. Inhibition of angiogenesis and induction of endothelial and tumor cell apoptosis by green tea in animal models of human high-grade non Hodgkin's lymphoma. Leukemia. 2000 Aug; 14(8) : 1477-82

BUNGERT K., EICHNER K. Radical scavenging and antioxidative properties of phenolic

compounds in relation to their chemical structure. American Chemical Society. 2000 : 119-34

DE JONG M. *Happi.food*. Hors série num 4. 2015 : 111-115

DONG Z., MA W., HUANG C., YANG CS. Inhibition of tumor promoter-induced AP-1 activation and cell transformation of tea polyphenols, (-)-epigallocatechin gallate, and theaflavins. *Cancer research*. 1997 ; 57 : 4414-9

DOS SANTOS SOUSA L., CABRAL BV., MADRONA GS., CARDOSO VL., HESPANHOL M., REIS M. Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*. 2016 Aug, 168 : 188-198

DU GJ., ZHANG Z., WEN XD., YU C., CALWAY T., YUAN CS., WANG CZ. Epigallocatechin Gallate (EGCG) is the most effective cancer chemopreventive polyphenol in green tea. *Nutrients*. 2012 Nov ; 4(11) : 1679-91

ENGELHARDT UH., LAKENBRINK C., LAPCZYNSKI S. Antioxidative phenolic compounds in green -black tea and other methylxanthine-containing beverages. In : Parliament TH, Ho CT, Schieberle P, editors. *Caffeinated beverages : health benefits, physiological effects, and chemistry*. ACS Symposium series 754. Washington, DC : American Chemical Society ; 2000 : 111-118

FOLCH CANO C., JULLIAN C., SPEISKY H., OLEA AZAR C. Improved stability of (+)-catechin and (-)-epicatechin by complexing with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin : Effect of pH, temperature and configuration. *Food Research International*. 2010 Oct ; 43(8) : 2039-2044

FUKIKI H., SUGANUMA M., OKABE S., SUEOKA E., SUKA K., IMAI K. et al. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000 Apr ; 220(4) : 225-8 FASSINA G., VENE R., MORINI M., MINGHELLI S., BENELLI R., NOONAN DM., ALBINI A. Mechanisms of inhibition of tumor angiogenesis and vascular tumor growth by epigallocatechin-3-gallate. *Clinical cancer Research* 2004 ; 10(14) : 4865-4873

FRIEDMAND, MENDEL, LEVIN, CAROL E., CHOI, SUK-HYUN et al. HPLC Analysis of Catechins, Theaflavins, and Alkaloids in Commercial Teas and Green Dietary Supplements : Comparison of Water and 80% Ethanol/Water Extracts. *Journal of Food Science*. 2006 ; 71(6) : 328-337.

FUKIKI H., SUGANUMA M., OKABE S., SUEOKA E., SUKA K., IMAI K et al. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000 Apr ; 220 (4) :225-8

GARBISA S., SARTOR L., BIGGIN S., SALVATO B., BENELLI R., ALBINI A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer*. 2001 ; 91(4) : 822-832.

GERNET J. *Le monde chinois*. 3ème édition Paris : Armand Collin, 2011

GOUNI-BERTHOLD I., SACHIDINIS A., Molecular mechanisms explaining the preventive

effects of catechins. *Curr Pharm Des.* 2004;10(11) :1261-71.

GUO Q., ZHAO B., LI M., SHEN S., and XIN W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxydation in synaptosomes. *Bioch. Biophys. Acta.* 1996; 1304 : 210-2

GUPTA S., AHMAD N., NIEMINEN AL., MUKHTAR H. Growth inhibition cell-cycle dysregulation, and induction of apoptosis by green tea constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate in androgen-sensitive and androgen insensitive human prostate carcinoma cells, *Toxicolog. Appl. Pharmacol.* 2000; 164 : 82-90

HAKIM IA., HARRIS RB., BROWN S., CHOW HH., WISEMAN S., AGARWAL S., et al. Effect of increased tea consumption on oxidative DNA damage among smokers : a randomized controlled study. *J Nutr.* 2003; 133 : 3303-3309

HAMDAOUI MH., CHABCHOB S., HEIDHILI A. Iron bioavailability and weight gains to iron-deficient rats fed a commonly consumed Tunisian meal «bean seeds ragout» with or without beef and with green or black tea decoction. *J Trace Elem Med Biol.* 2003; 17; 159-164

HARA Y. Health benefits of green tea catechins : improvement of intestinal conditions. In : Parliament TH, Ho CT, Schieberle P, editors. *Caffeinated beverages : health benefits, physiological effects, and chemistry.* ACS symposium Series 754. Washington, DC : American Chemical Society ; 2000 : 165-176

HARBOWY M., BALANTINE DA. Tea chemistry. *Crit. Rev. Plant SCI.* 1997; 16 : 415-80.

HARA Y. Health benefits of green tea catechins : improvement of intestinal conditions. In :Parliament TH, HO CT, SCHIEBERLE P, editors. *Caffeinated beverages : health benefits , physiological effects, and chemistry.* ACS Symposium Series 754. Washington DC : American Chemical Society ; 2000 : 165-176

HARPER CE., PATEL BB., WANG J., ELTOUM IA., LAMARTINIERE CA. Epigallocatechin-3-gallate supresses early stage but not late stage prostate cancer in TRAMP mice : mechanisms of action. *Prostate.* 2007; 67 : 1576-1589

HASTAK K., GUPTA S., AHMAD N., AGARWAL MK., AGARWAL ML., MUKHTAR H. Role of P53 and NF-KappaB in epigallocatechin-3-gallate- induced apoptosis of LN Cap cells. *Oncogene.* 2003; 22 : 4851-4859

HICKS MB., HSIEH YHP., BELL LN. Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food res. Int.* 1996; 29(3) : 325-30.

HILAL V., Yumen ; recherche sur les polyphénols dans le thé vert et blanc, Cuvillier-Verlag. 2010; 34

HO CT., ZHU N. The chemistry of tea. In : Parliament TH, Ho CT, Schieberle Editors. *Caffeinated beverages : health benefits, physiological effects, and chemistry.* ACS Symposium

- series 754. Washington, DC : American Chemical Society ; 2000 : 316-326
- HUANG YQ., Lu X., MIN H., WU QQ., SHI XT., BIAN KQ. Green tea and liver cancer risk : A meta-analysis of prospective cohort studies in Asian populations. *Nutrition*. 2016 Jan ; 32(1) : 3-8
- I.A.R.C. (International Agency for Research on Cancer). Monographs. Tea. 1991 ; n°51
- IDE R., FUJINO Y., HOSHIYAMA Y., et al. A prospective study of green tea consumption and oral cancer incidence in Japan. *Annals of Epidemiology*. 2007 Oct ;17(10) : 821-6
- JACOB RA., BURRI BJ. Oxidative damage and defense, *Am. J. Clin. Nutr.* 1996 ; 63 : 985-90
- JOHNSON JJ., BAILEY HH., MUKHTAR H. Green Tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention : A translational perspective. *Phytomedicine*. 2010 ; 17 : 3-13
- JOHNSON JJ., NIHAL M., SIDDIQUI IA., SCARLETT CO., BAILEY HH., MUKHTAR H., et al. Enhancing the bioavailability of resveratrol by combining it with piperine. *Mol Nutr Food Res*. 2011 ; 55 : 1169-1176.
- JONHSON R., BRYANT S., HUNTLEY AL. Green tea and green tea catechin extracts : An overview of the clinical evidence. *Maturitas*. 2012 Dec ; 73(4) : 280-287
- JUNG YD., ELLIS LM. Inhibition of tumor invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea, *Internal journal of Experimental Pathology*. 2001 ; 82(6) : 309-316
- KAI ON CHUA B., KWOK PING C., YA PING Y., YONG JIE Q., WAI YING L., SUN ON C., et al. Effects of EGCG content in green tea extract on pharmacokinetics, oxidative status and expression of inflammatory and apoptotic genes in the rat ocular tissues. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2015 ; 26 : 1357-1367
- KATIYAR SK., AHMAD N., MUKHTAR H. Green tea and skin. *Arch Dermatol*. 2000 Aug ; 136(8) : 989-94
- KATIYAR S., MUKHTAR H. Tea in chemoprevention of cancer : epidemiologic and experimental studies (review). *Int. J. Oncology*. 1996 ; 8 : 221-38.
- KHALIF A., CHOU T., SCHANTZ SP., SACKS PG. Quantitation of chemopreventive synergism between (-)-epigallocatechin-3-gallate and curcumin in an in vitro multistage carcinogenesis model for oral cancer. *Carcinogenesis*. 1998 ; 19 : 419-24
- KHOKAR S., MAGNUSDOTTIR SGM. Total Phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J Agric Food Chem*. 2002 Jan ; 50 (3) : 565-70
- KHURSHID Z., ZAFAR MS., ZOHAIB S., NAJEEB S., NASEEM M. Green Tea (*Camellia Sinensis*) : Chemistry and Oral Health. *Open Dent J*. 2016 May ; 10 :166-73.
- KIM R., EMI M., TANABE K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune

escape. *Immunology*. 2007; 121 : 1-14.

KJAER TN., ORNSTUP MJ., POULSEN MM., JORGENSEN JO. Resveratrol reduces the levels of circulating androgen precursors but has no effect on, testosterone, dihydrotestosterone, PSA levels or prostate volume. A 4-month randomised trial in middle-aged men. *Prostate*. 2015; 75 : 1255-1263.

KOO MWL., CHO CH. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *Eur J Pharmacol*. 2004 Oct; 500(1-3) : 177-85

KOTTECHA R., TAKAMI A., ESPINOZA L. Dietary phytochemicals and cancer chemoprevention : a review of the clinical evidence. [www.impactjournals.com/oncotarget/](http://www.impactjournals.com/oncotarget/) Oncotarget, Advance Publications 2016

LEE M.J., MALIAKAL P., CHEN L., MENG X., BONDOC FY., PRABHU S et al. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans : formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Oct; 11(10) : 1025-32

LEE M.J., WANG Z.Y., LI H., CHEN L., SUN Y., GOBBO S., et al. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human rejects. *Cancer Epid. Biomark. Prev*. 1995; 4 : 393-9

LEON-GONZALEZ A., AUGER C., SCHINI-KERTH V. Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy *Biochemical Pharmacology*. 2015 Dec; 98(3) : 371-380

LETELIER P., BREBI P., TAPIA O., ROA JC. DNA promoter methylation as a diagnostic and therapeutic biomarker in gallbladder cancer. *Clin Epigenetics*. 2012; 4 : 11.

LIANG Z., YIJUN W., DAXIANG LI., CHI-TANG HO., JUNSONG LI., XIAOCHUN W. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food Funct*. 2016; 7 : 1273-1281

LI N., SUN Z., HAN C., CHEN J., The chemopreventive effects of tea on human oral precancerous mucosa lesions. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999; 220 : 218-224.

LI Q., ZHAO H., ZHAO M., ZHANG Z., LI Y. Chronic green tea catechins administration prevents oxidative stress-related brain aging in C57BL/6J mice. *Brain Res*. 2010 Sep; 24(1353) :28-35.

LIU M., ZHENG Y., WANG C., XIE J., WANG B., WANG Z., e al. Improved stability of (+)-catechin and (-)-epicatechin by complexing with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin : Effect of pH, temperature and configuration. *Food Chemistry*. 2016 Apr; 198 : 148-154

LOEB LA., HARRIS CC. Advances in chemical carcinogenesis : a historical review and prospective. *Cancer Res*. 2008; 68 : 6863-6872.

LUIS ESPINOZA J., TAKAMI A., TRUNG LQ., NAKAO S. Ataxia-telangiectasia mutated kinase-mediated upregulation of NKG2D ligands on leukemia cells by resveratrol results in

- enhanced natural killer cell susceptibility. *Cancer Sci.* 2013 ; 104 : 657-662.
- LUO H., TANG L., TANG M., BILLAM M., HUANG T., Yu J., et al. Phase IIa chemoprevention trial of green tea polyphenols in high-risk individuals of liver cancer : modulation of urinary excretion of green tea polyphenols and 8-hydroxydeoxyguanosine. *Carcinogenesis.* 2006 ; 27 : 262-268.
- MANJEGOWDA MC., DEB G., KUMAR N., LIMAVE AM. Expression profiling of genes modulated by estrogen, EGCG or both in MCF-7 breast cancer cells. *Genom Data.* 2015 Jun ; 5 : 210-2. MCKAY DL., BLUMBERG JB. The role of tea in human health : an update. *J Am Coll Nutr.* 2002 Feb ; 21(1) :1-13
- MARY R. *Le Thé Vert.* Paris : Marabout, 2011 : 26-112
- MATSUSHIMA M., SATO D., Antitumor effect of green tea on rat urinary bladder tumor induced by N-butyl-N(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Functional foods for disease prevention (I) : fruits, vegetables and teas.* Washington, DC : American chemical society ; 1998 : 191-7
- MICHELE C., DATTNER C. *Le Thé et ses bienfaits.* Paris : Flammarion, 2005 :
- MICHL H., HABERLER F. Determination of purines in caffeine-containing drugs. *Monatsh. Chem.* 1954 ; 85 : 799-5
- MODERNELLI A., NAPOLNELLI V., GIOVANNA TROGLIO M., BONACINI M., RAMAZZINA I., BETTUZZI S., RIZZI F., *SCI Rep* EGCG antagonizes Bortezomib cytotoxicity in prostate cancer cells by an autophagic mechanism. 2015 Oct ; 5 :152-70.
- MORTON JF. The potential carcinogenicity of herbal tea. *Environ Carcino Revs (J Environ Sci Hlth).* C4, 1986 : 03-223
- MUKHTAR H., AHMAD N. Mechanisms of cancer chemopreventive activity of green tea. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Apr ; 220(4) :234-8
- MUTHIAH S. *A planting century. The first hundred years of the United Planters's Association of Southern India (U.P.A.S.I), 1893-1993.* Affiliated east west press private Ltd. New Delhi, Madras, Bangalore : Hyderabad.
- NAGAO T., HASE T., TOKIMITSU I. A green extract high in catechin reduces body fat and cardiovascular risks in humans. *Obesity (Silver Spring).* 2007 Jun ; 15(6) :1473-83.
- NICHOLSON KM., ANDERSON NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal.* 2002 May ; 14(5) :381-95.
- PEKAL A., PYRZYNSKA K. Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea. *Int J Food Sci Nutr.* 2015 Feb ; 66(1) :58-62.
- POMMIER Y., KOHN KW. Cible cellulaire et points de contrôle en oncologie : nouvelles cibles thérapeutiques. *Medecine sciences.* 2003 Fev ;19(2) : 173-186.
- QUAIL DF. JOYCE JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis.

Nat Med. 2013; 19 : 1423-1437.

RADHAKRISHNAN R., KULHARI H., POOJA D., GUDEM S., BHARGAVA S., SHUKLA R., et al. Encapsulation of biophenolic phytochemical EGCG within lipid nanoparticles enhances its stability and cytotoxicity against cancer. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2016 Jun; 198 : 51–60

RIETVELD A., WISEMAN S. Antioxidants effects of tea : evidence from human clinical trials. *J Nutr*. 2003 Oct; 133 (10) : 3285-3292

ROYSTON KJ., TOLLEFSBOL TO. The Epigenetic Impact of Cruciferous Vegetables on Cancer Prevention. *Curr Pharmacol Rep*. 2015; 1 : 46-51

SAFFARI Y., SADRZADEH SMH. Green tea metabolite EGCG protects membranes against oxidative damage in vitro. *Life SCI*. 2004 Feb 6; 74(12) : 1513-8

SAH JF., BALASUBRAMANIAN S., ECKERT RL., RORKE EA. Epigallocatechin-3-gallate inhibits epidermal growth factor receptor signaling pathway. Evidence for direct inhibition of ERK1/2 and AKT kinases. *J Biol Chem*. 2004 Mar 26; 279(13) :12755-62.

SAKAI H., SHIRAKAMI Y., SHIMIZU M. Chemoprevention of obesity-related liver carcinogenesis by using pharmaceutical and nutraceutical agents. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 7; 22(1) :394-406.

SAKAMOTO Y., MIKURIYA H., TAYAMA K., TAKABASHI H., NAGASAWA A., YANO N., et al. Goitrogenic effects of green tea extract catechins by dietary administration in rats. *Arch Toxicol*. 2001; 75 : 591-596.

SAMMAN S., SANDSTROM B., TOFT M.B., BUKHAVE K., JENSEM M., SORENSEN S.S. Green tea or rosemary extract added to food reduces nonheme-iron absorption. *Am J Clin. Nutr*. 2001; 73 : 607-12

SANGMANEE KC., DONZEL C., MELCHIOR-DURAND S., STELLA A. L'ABCdaire du thé. MARIAGE Frères; Paris : Flammarion,

SAPIENZA C., ISSA JP. Diet, Nutrition, and Cancer Epigenetics. *Annu Rev Nutr*, 2016.

SATOH K., SAKAMOTO Y., OGATA A., NAGAI F., MIKURIYA H., NUMAZAWA M., . Inhibition of aromatase activity by green tea extract catechins and their endocrinological effects of oral administration in rats. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40 : 925-933.

SCHNEIDER R., LUDDE T., TOPPER S. IMMING P. Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2006; 54 : 1599-1603.

SCHWARTZ A., SCHWEPPEES R. Le thé vert : Elixir de vie pour le corps et l'esprit. Vigot, 2006 : 26-185

SHUTSUNG LIAO, KAO YH., HIIPAKKA R. Modulation of Endocrine Systems and Food

Intake by Green Tea Epigallocatechin Gallate. [http://press.endocrine.org/doi/10.1210/endo.141.3.7368?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dpubmed](http://press.endocrine.org/doi/10.1210/endo.141.3.7368?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed) & April 07, 2011

SHUTSUNG LIAO., KAO YH., HIIPAKKA. Green tea : Biochemical and biological basis for health benefits. *Vitamins & Hormones*. 2001 ; 62 : 1-94

SIDDIQUI IA., ADHAMI VM., AFAQ F., AHMAD N., MUKHTAR H. Modulation of phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B- and mitogen activated protein kinase pathways by tea polyphenols in human prostate cancer cells. *J. Cell. Biochem*. 2004 ; 91 : 232-242

SIDDIQUI IA., AFAQ F., ADHAMI VM., AHMAD N., MUKHTAR H. Antioxidants of the beverage tea in promotion of human health. *Antioxid Redox Signal*. 2004 Jun ; 6(3) : 671-82

SIDDIQUI IA., SHUKLA Y., ADHAMI VM., SARFARAZ S., ASIM M., HAFEEZ BB., MUKHTAR H. Suppression of NFkappaB and its regulated gene products by oral administration of green tea polyphenols in an autochthonous mouse prostate cancer model. *Pharm. Res*. 2008 ; 25 : 2135-2142

SIES H., Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem*. 1993 ; 215 : 213-9 SIFAOUI R. Le Thé vert. Clermont I, Th D Pharm, 1992 SOHAL RS., WEIDRUCH R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science*. 1996 ; 273 : 59-63 SOL JI C., PARK SY., PARK JS., JUNG MY. Contents and compositions of policosanols in green tea (*Camellia sinensis*) leaves. *Food Chemistry*. 2016 Aug ; 204 : 94-101

STEELE VE., KELLOF GJ., BALENTINE D., BOONE CW., MEHTA R., BAGHERI D., et al. Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea and selected polyphenol extracts measured by in vitro bioassays. *Carcinogenesis*. 2000 ; 21 : 63-67

STRAIN JJ., BENZIE IFF. Antioxidant nutrients. In : Sadler MJ., Saltmarsh M., editors. *Functional foods : the consumers, the products and the evidence*. Cambridge : the royal society of chemistry. 1998 : 74-9

SUDESHNA M., SAYAN G., DIPESH K., PRIYANKA C., SREETAMA C., PAYAL G., et al. Gold-conjugated green tea nanoparticles for enhanced anti-tumor activities and hepatoprotection : synthesis, characterization and in vitro evaluation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2015 Nov ; 26(11) :1283-1297

SUN CL., YUAN JM., KOH WP., YU MC. Green tea, black tea and breast cancer risk : a meta-analysis of epidemiological studies. *Carcinogenesis*. 2006 ; 27 : 1310-1315.

TAKABAYASHI F., TAHARA S., KANERKO T., HARADA N. Effect of green tea catechins in oxidative DNA damage of hamster pancreas and liver induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine and/or oxidized soybean oil. *Biofactors*. 2004 ; 21 :335-337.

TOKARZ P., BLASIAK J. Role of mitochondria in carcinogenesis. *Acta Biochim Pol*. 2014 ;

61 : 671-678.

VALAVANIDIS A., VLACHOGIANNI T., FIOTAKIS C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) : A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009 ; 27 : 120-139

VAYALIL PK., KATIYAR SK. Treatment of epigallocatechin-3gallate inhibits matrix metalloproteinases 2 and -9 via inhibition of activation of mitogen activated protein kinases, c-jun and NF-kappaB in human prostate carcinoma DU-145 cells, *Prostate* 2004 ; 59 : 33-42

WEISEBURGER JH., CHUNG FL., Mechanisms of chronic disease causation by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols. *Food Chem Toxicol.* 2002 Aug ; 40(8) : 1145-54

WU AH., YU MC. Tea, hormone-related cancers and endogenous hormone levels. *Mol Nutr Food Res.* 2006 ; 50 : 160-169.

WU Y., ZHANG D., KANG S. Black tea, green tea and risk of breast cancer : an update. *Springerplus.* 2013 ; 2 : 240

YAMADA M., MUROHISA B., KITAGAWA M., TAKEHIRA Y., TAMAKOSHI K., et al. Effects of tea polyphenols against *Helicobacter pylori*. In : Shibamoto T, Terao J, Osawa T, editors. *Functionnal food for disease prevention (I) : fruits, vegetables and teas.* Washington, DC : American chemical society. 1998 : 217-24

YANG CS., CHEN L., LEE MJ., BALENTINE D., KUO MC., SHANTZ SP. Blood and urine leveles of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by humans volunteers. *Cancer Epid. Biomark. Prev.* 1998 ; 52 : 356-9

YANG CS., KIM S., YANG GY., LEE MJ., LIAO J., CHUNG JY., HO CT. Inhibition of carcinogenesis by tea : bioavailability of tea polyphenols and mechanisms of actions. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Apr ; 220(4) : 213-7

YANG CS., LANDAU JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *J Nutr.* 2000 Oct ; 130(10) : 2409-12

YANG CS., KIM S., YANG GY., LEE MJ., LIAO J., CHUNG JY., HO CT. Inhibition of carcinogenesis by tea : bioavailability of tea polyphenols and mechanisms of actions. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Apr ; 220(4) : 213-7

YANG CS., MALAKIAL., MENG X. Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002 ; 45 : 25-54

YUN SY., KIM SP., SONG DK. Effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on pancreatic beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2006 ; 541 : 115-121

ZAVERI NT. Green tea and its polyphenolic catechins, medicinal uses in cancer and non cancer applications. *Life Sciences.* 2006 ; 78 : 2073-2080

ZHANG L., WANG Y., LI D., HO CT., LI J., WAN X. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food Funct.* 2016 Mar ; 7(3) : 1273-81

ZHENG W., DOYLE TJ., KUSHI LH., SELLERS TA., HON CP., FOLSM AR. Tea consumption and cancer incidence in a prospective cohort study of postmenopausal women. *Am J Epidemiol.* 1996 ; 144 (2) : 175-82

ZHU K., WANG W. Green tea polyphenol EGCG suppresses osteosarcoma cell growth through upregulating miR-1. *Tumor Biology.* 2016 Apr ; 37(4) : 4373-82

ZHU ZY., LUO Y., LIU Y., WANG XT., LIU F., GUO MZ., et al. Inclusion of chrysin in  $\beta$ -cyclodextrin and its biological activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2016 Feb ; 31 :176–186

Université de Picardie JulesVerne  
FACULTE DE PHARMACIE  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
Année Universitaire 2016

SCHMITTER Mathilde Garance

## LES PROPRIÉTÉS ANTICANCÉREUSES DES CATÉCHINES ISSUES DU THÉ VERT

Mots-clés : Chimio prévention ; Polyphénol ; Catéchine ; Thé vert ; Antioxydant

Résumé : Le thé vert (*Camellia Sinensis*) est une plante aux nombreuses histoires et origines, consommée depuis des millénaires et appréciée pour sa saveur délicate et son bienfait tonifiant pour le corps et l'esprit. D'un point de vue biochimique, la richesse en polyphénols font du thé vert un atout santé. Les catéchines, dont l'EGCG (épigallocatechine-3-gallate), sont au coeur de nombreuses recherches portant sur leur action chimiopréventive. En comprenant le mécanisme antioxydant des catéchines et en analysant des extraits de thés verts administrés à des patients, nous constatons l'influence des catéchines sur la prévention de différents cancer, sur le plan cellulaire mais aussi génomique, bien que d'autre études s'avèrent nécessaires pour compléter les données actuelles.

Keywords : Chemoprevention ; Polyphenol ; Catechin ; Green tea ; Antioxydant

Abstract : Green tea (*Camellia sinensis*) is a plant with many stories and backgrounds. It has been consumed for thousands of years and appreciated for its delicate flavour and its invigorating blessing for the body and the mind. From a biochemical standpoint, its richness in antioxidants, or polyphenols, makes green tea very health friendly. Catechins, including EGCG (epigallocatechin-3-gallate), are at the center of many researches on their chemopreventive power. By understanding the antioxydant mechanisms of the catechins and analyzing green tea extracts given to patients, we look at the influence of the catechins on multiple types of cancer, at a genomic level. However additional studies are required to complete the data necessary.

Membres du Jury

Mme SIX Isabelle, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie, présidente  
M. MOLINIÉ Roland, Maître de Conférence de l'UFR de Pharmacie, membre et directeur de thèse  
Mme BOYART Pascale, Docteur en pharmacie, membre