



HAL
open science

Biodisponibilité des composés phénoliques et de leur métabolites

Ludovic Rondini, Coralie Dupas, Agnès Marsset-Bagliéri, Claudette Berset,
Marie-Noëlle Peyrat-Maillard

► **To cite this version:**

Ludovic Rondini, Coralie Dupas, Agnès Marsset-Bagliéri, Claudette Berset, Marie-Noëlle Peyrat-Maillard. Biodisponibilité des composés phénoliques et de leur métabolites. NAFAS, 2002, 1 (3), pp.19-57. <hal-03943608>

HAL Id: hal-03943608

<https://hal.science/hal-03943608v1>

Submitted on 17 Jan 2023

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.



HAL Authorization

Biodisponibilité des composés phénoliques et de leur métabolites **Bioavailability of phenolic compounds and their metabolites: a review**

Ludovic Rondini, Coralie Dupas, Agnès Marsset-Bagliéri*, Claudette Berset
et Marie-Noëlle Peyrat-Maillard.

Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA), Département Science de l'Aliment, Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles: antioxydants, arômes, colorants, 1, avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France, Tel: 33 (0) 1 69 93 50 12, Fax: 33 (0) 1 69 93 50 20, e-Mail: abaglieri@ensia.inra.fr

Résumé : L'efficacité du régime méditerranéen dans la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires a attiré l'attention de la communauté scientifique. L'établissement de corrélations entre études épidémiologiques et études *in vitro* a suggéré que les polyphénols pourraient y jouer un rôle central. Une bonne connaissance de la biodisponibilité de ces composés est indispensable pour comprendre ce phénomène. Ces dernières années, un certain nombre d'études s'est donc intéressé à l'absorption et à la métabolisation des différentes familles de composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes, composés antioxydants de l'huile d'olive et tanins). Ces études sont recensées et discutées dans le présent article. Les effets santé des polyphénols sont au préalable rapidement rappelés.

Abstract : For several years, the efficiency of the Mediterranean diet in preventing cancer and cardiovascular diseases has attracted the attention of the scientific community. Linking epidemiologic studies with *in vitro* studies, the central role of polyphenols in this prevention appears quite likely. Still, there is a lack of evidence concerning the bioavailability of some of these compounds. In the past few years, a number of studies on the absorption and metabolism of the different families (phenolic acids, flavonoids, stilbenes, olive oil antioxidant compounds and tannins) have been published and are here reviewed and discussed, along with a short discussion concerning polyphenol health effects.

Mot-clés: biodisponibilité, pharmacocinétique, conjugaison, composés phénoliques, acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes, composés antioxydants de l'huile d'olive, tanins.

Keywords: bioavailability, pharmacokinetic, conjugation, phenolic compounds, phenolic acids, flavonoids, stilbenes, olive oil antioxidant compounds, tannins.

Contexte général de l'activité biologique des polyphénols

Le régime méditerranéen est associé à un allongement de l'espérance de vie lié à une protection contre diverses pathologies [1-4]. Par corrélation avec des études épidémiologiques, il a été suggéré que sa dominante en fruits et légumes (associée par ailleurs dans ce régime pauvre en graisses saturées, à une consommation modérée de produits laitiers et d'alcool) pourrait être à l'origine de la prévention des maladies cardio-vasculaires (MCV) [5] et de certains cancers [6, 7]. Des effets similaires ont été rapportés pour d'autres produits, dérivés des végétaux, comme le thé [8], le vin (« paradoxe français ») [4], ainsi que pour les céréales complètes [9-11].

Tous ces aliments ont un dénominateur commun : ils contiennent des polyphénols, qu'il s'agisse d'acides phénoliques [12-16], de flavonoïdes [17-25, 14, 26] ou de tanins [14] (figure 1).

Les premières estimations évaluaient à 1 g par jour l'apport en composés phénoliques dans l'alimentation [27], mais l'affinement des techniques de dosage dans les aliments [25] et la prise en compte des variations dans les habitudes de consommation de produits végétaux d'un pays à l'autre [28] ont permis de réaliser qu'il n'était en fait pas possible de donner un chiffre exact pour la consommation totale de polyphénols tant celle-ci varie selon les aliments consommés et selon leur teneur en polyphénols, elle-même variable [29]. Les enquêtes rapportent par exemple une consommation de flavones et de flavanones de l'ordre de $25,9 \pm 14,5$ mg/jour aux Pays-Bas [30] à 68,2 mg par jour pour l'Etude des Sept Pays réalisée dans divers pays d'Europe et aux Etats-Unis [31], et une consommation de flavan-3-ols allant de $25,4 \pm 32,0$ mg/jour chez les femmes ménopausées de l'Iowa [32] à $50 \pm 56,0$ mg aux Pays-Bas [33] avec de fortes variations interindividuelles.

Parmi les nombreuses études épidémiologiques effectuées sur des populations très diverses [34-38, 33, 32, 39, 40, 30, 41-43], seules quelques-unes montrent une corrélation inverse significative entre la consommation de flavonoïdes et les MCV [39, 31, 30, 42] ou le cancer [41,

43], après correction par les facteurs de risques connus (les autres études vont en général dans le sens d'une diminution de la fréquence de ces pathologies, bien que les résultats ne soient pas significatifs).

Une autre approche consiste à évaluer l'effet des composés phénoliques sur les MCV et le cancer grâce à des modèles animaux ou par des études *in vitro*. A l'origine, les polyphénols (les flavonoïdes en particulier) ont surtout été considérés comme des molécules dangereuses pouvant être à l'origine de certaines mutations par altération de l'ADN [44-46]. Cependant, il semblerait que ces effets délétères mis en évidence *in vitro* soient fortement dépendants des conditions de test, et se retrouvent rarement *in vivo* [46], grâce notamment à la métabolisation importante de ces molécules dans l'organisme [47].

Par la suite, il a au contraire été suggéré que le pouvoir antioxydant des polyphénols ainsi que leurs propriétés chélatrices participeraient à la protection de nombreuses structures (lipoprotéines, bicouches lipidiques, ADN...) [48, 49], permettant ainsi de lutter contre les dégâts engendrés par les radicaux libres continuellement produits dans les cellules par des réactions enzymatiques ou chimiques [50]. Ces composés phénoliques seraient ainsi capables d'inhiber les différentes étapes du processus de cancérisation [51, 46]. Les mécanismes d'action proposés sont le piégeage de la substance cancérogène (notamment par formation de complexes) ou la modification de l'activité des enzymes impliquées dans la détoxification des cancérogènes. Certains flavonoïdes par exemple peuvent agir en phase d'initiation [52], diminuant la production de radicaux libres ou inhibant la cyclooxygénase et la lipoxygénase. Ces deux enzymes interviennent dans la synthèse des eicosanoïdes, précurseurs de molécules biologiquement actives impliquées dans le processus de cancérisation et les MCV [53]. Les flavonoïdes peuvent également réagir avec les fonctions époxy des xénobiotiques, très réactives vis-à-vis des macromolécules. D'autres composés phénoliques peuvent inhiber les phases de promotion et de progression de la cancérisation. Le resvératrol [54] et

les composés du thé vert [45] sont capables d'inhiber la prolifération cellulaire par induction de l'apoptose. Les flavan-3-ols pourraient inhiber la protéine kinase C ou d'autres kinases impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire.

De même, les composés phénoliques peuvent agir sur de nombreux processus impliqués dans le développement des MCV, par exemple en inhibant l'oxydation des LDL à l'origine de l'athérosclérose [55, 56]. *In vitro*, parmi les flavonoïdes étudiés, les flavonols et les flavan-3-ols sont les plus efficaces [57, 58], suivis par les flavonols (notamment la quercétine [59]), tandis que leurs dérivés glycosylés, les flavones et la génistéine ont une activité plus faible. De nombreux extraits végétaux et aliments testés chez le rat (thé vert [60], natto [61]), chez le hamster hyperlipidémique (mélange d'extrait de citron et d'acide ascorbique [62]), chez le lapin (thé vert ou noir [63]) ou chez l'homme (vin rouge [64, 65]) ont permis de montrer des effets similaires *in vivo*. Des extraits de vin rouge permettent d'inhiber la formation de pentanal et d'hexanal, composés volatils formés à l'issue des réactions d'oxydation des LDL [66], tandis que la consommation chronique (8 semaines) d'isoflavones aglycones réduit de manière significative la formation d'hydroperoxydes d'ester de cholestérol chez le lapin [67]. Les composés agiraient également de manière indirecte, par régénération des antioxydants vitaminiques (α -tocophérol [59]), chélation des métaux bivalents impliqués dans le processus [68, 69] ou encore en modifiant la lipémie ou la cholestérolémie, facteurs de risque bien connus responsables de l'apparition de maladies cardiovasculaires (inhibition de l'activité de plusieurs enzymes impliquées dans la synthèse et la régulation du cholestérol plasmatique [70], réduction de la disponibilité du cholestérol exogène [63], diminution des concentrations plasmatiques de LDL [62, 71]).

Les polyphénols pourraient également prévenir les MCV en intervenant sur l'agrégation plaquettaire [72, 73] à l'origine de thromboses. Cependant, ces effets montrés *in vitro* ne semblent pas directement transposables *in vivo* : les concentrations retrouvées dans le plasma des sujets ne

sont probablement pas suffisantes pour diminuer l'agrégation *in vivo* [73]. Les composés phénoliques agiraient à deux niveaux : soit en diminuant la concentration en radicaux libres, soit en inhibant les enzymes impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique [74, 53]. Ce dernier mécanisme est également celui de l'action des polyphénols sur les réactions inflammatoires.

Les polyphénols peuvent ainsi réduire ou bloquer de nombreux mécanismes impliqués dans la genèse ou l'amplification de pathologies cardio-vasculaires ou cancéreuses. Mais l'effet des composés phénoliques ne se limite pas à ces deux pathologies. En effet, ces composés pourraient également induire des effets vasodilatateurs [74], exercer un effet antimicrobien [45] et une action antivirale par inhibition de la transcriptase reverse, stimuler le système immunitaire [46], jouer un rôle protecteur dans plusieurs maladies neuro-dégénératives [75-77], et réduire le développement d'ulcères par liaison avec certaines protéines de l'épithélium gastrique [78].

Cependant, si l'on connaît l'activité bénéfique potentielle de ces molécules, notre connaissance de leur devenir dans l'organisme est en revanche beaucoup plus limitée : y sont-ils absorbés? Métabolisés? Et si oui, les formes circulantes et les concentrations retrouvées dans l'organisme permettent-elles une action antioxydante significative? Seules des études de biodisponibilité peuvent répondre à ces questions.

La biodisponibilité des composés phénoliques est restée pendant très longtemps méconnue : les études réalisées au cours des années 60 à 80 utilisaient pour la plupart des flavonoïdes aglycones, qui ne représentent pas les formes les plus abondantes des aliments. De plus, elles mettaient en œuvre des doses élevées de polyphénols (en raison de la faible sensibilité des méthodes analytiques), ce qui pouvait modifier leur répartition dans les différents compartiments (urine, fèces, tissus...). Enfin, l'identification s'avérait difficile lorsque les standards commerciaux n'étaient pas disponibles. Ces premières études ont cependant permis de faire avancer les connaissances sur le

rôle de la flore intestinale dans la métabolisation des polyphénols. Depuis une vingtaine d'années, la plus grande sensibilité des techniques analytiques a permis de doser les métabolites plasmatiques après ingestion de teneurs proches des quantités habituellement ingérées.

Lorsqu'un polyphénol est ingéré, il traverse plusieurs compartiments dans lesquels il peut être métabolisé, accumulé ou éliminé (figure 2). La métabolisation a pour conséquence de diminuer la toxicité des molécules [79]. Deux grandes phases de détoxification sont à distinguer, communes à l'ensemble des xénobiotiques.

Les *enzymes de phase I* réalisent un grand nombre de réactions : hydroxylation des cycles aromatiques et des chaînes aliphatiques, N-désalkylation, O-désalkylation, S-désalkylation, sulfoxydation, désulfuration, désamination, déshalogénéation [80], ce qui a pour conséquence d'augmenter la polarité des phénols. Ces réactions peuvent avoir lieu dans tous les tissus, exceptés les muscles et le tissu adipeux. Les polyphénols sont assez peu affectés par cette voie de détoxification.

Les *enzymes de phase II* assurent la conjugaison des molécules, l'augmentation de leur polarité facilitant leur élimination. Parmi ces enzymes, l'uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransférase (UGT) transfère un acide glucuronique, et la phénolsulfotransférase (PST) un groupement sulfate. Ces enzymes présentent un fort polymorphisme, à l'origine de nombreuses différences interindividuelles [81]. Certaines d'entre elles sont par ailleurs spécifiques des phénols [82]. Les PST ont une capacité métabolique plus faible que l'UGT et cette voie de détoxification est beaucoup plus rapidement saturée que la glucuronidation. Toutefois, la saturation de la métabolisation par l'UGT a été observée avec les flavan-3-ols chez l'homme [83]. Enfin, les phénols peuvent être méthylés par la catéchol-O-méthyltransférase (COMT). Cette enzyme transfère un groupement méthyle à partir de la S-adénosylméthionine sur un noyau catéchol. Glucuronidation et méthylation se produisent dès la traversée des entérocytes [84-88]. L'activité

métabolique n'est pas la même tout au long de l'intestin : elle est plus forte au niveau du jéjunum qu'au niveau de l'iléon, tandis que l'absorption est plus importante dans ce dernier segment.

Les possibilités de métabolisation dans le tube digestif ne s'arrêtent pas à l'action des entérocytes. En effet, les polyphénols sont intensivement dégradés par la flore intestinale. Les principales voies de dégradation sont l'hydrolyse des formes glycosylées [89-92], estérifiées [93] ou acétylées, la scission des noyaux aromatiques [94, 95], la dépolymérisation des tanins et l'hydrolyse des fibres [96]. De plus, de récentes études ont permis de montrer que certaines enzymes de la paroi intestinale possédaient également une activité hydrolytique vis-à-vis des flavonoïdes glycosylés [97]. L'ensemble de ces métabolites peut être ensuite réabsorbé au niveau du côlon et métabolisé dans l'organisme. Le foie renferme la totalité des enzymes citées précédemment, mais son activité UGT est 7 fois plus faible que dans l'intestin grêle [83]. Il serait le principal mais non le seul site de la sulfatation [82], et peut également participer au stockage de certains composés. Il constitue la première étape de l'élimination par voie biliaire et du cycle entéro-hépatique.

Ainsi, l'évaluation de la biodisponibilité d'un composé nécessite d'étudier à la fois son absorption, sa métabolisation et les effets d'un grand nombre de produits de dégradation. La plupart des polyphénols suivent les voies de métabolisation tissulaire ou intestinale. Cependant, en fonction de leur nature, de leur polarité, de leur charge ou de leur niveau d'oxydation, d'importantes différences sont observées.

1 BIODISPONIBILITE DES ACIDES PHENOLIQUES

1.1 ABSORPTION DES ACIDES PHENOLIQUES

Parmi les acides phénoliques, on distingue les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques dont les squelettes carbonés respectifs sont en C6-C1 et C6-C3.

1.1.1 ABSORPTION DES ACIDES HYDROXYBENZOÏQUES

La biodisponibilité des acides hydroxybenzoïques est très mal connue. Seule une étude réalisée chez l'homme et portant sur l'acide gallique a permis d'en dégager quelques paramètres [98]. Les auteurs ont fourni à dix sujets de l'acide gallique soit par le biais d'un extrait de thé noir (apportant 50 mg d'acide gallique), soit sous forme de tablettes contenant de « *l'acidum gallicum* » (25 mg d'acide gallique). Un pic plasmatique apparaît 1h15 environ après ingestion, quelle que soit la forme d'administration. Par ailleurs, l'acide gallique est partiellement méthylé en acide 4-O-méthylgallique, qui représente plus de 60 % des formes circulantes. Ces composés sont ensuite excrétés dans l'urine : $36,4 \pm 4,5$ % de la dose sont excrétés par voie urinaire après ingestion d'acide gallique en tablettes et $39,6 \pm 5,1$ % après ingestion de thé noir.

Cette première étude montre que l'acide gallique est largement absorbé et que son absorption n'est *a priori* pas dépendante du produit dans lequel il est incorporé. Toutefois, la présence de métabolites conjugués et leur distribution dans les tissus, paramètres dont la connaissance est indispensable afin de déterminer son potentiel *in vivo*, demeurent inconnues. De plus, il serait hasardeux d'extrapoler ce comportement à l'ensemble des acides hydroxybenzoïques. En effet, l'acide gallique est le seul à posséder trois groupements hydroxyles qui le rendent très polaire, ce qui pourrait fortement influencer son absorption ou sa métabolisation.

1.1.2 ABSORPTION DES ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES

Les acides hydroxycinnamiques existent sous deux formes principales : les formes « simples » (généralement liées aux polymères pariétaux dans le végétal) et les formes estérifiées (par l'acide quinique par exemple) ou plus rarement glycosylées. La biodisponibilité de ces deux types d'acides hydroxycinnamiques a révélé de nombreuses différences, ce qui explique pourquoi ils seront traités séparément.

1.1.2.1 ABSORPTION DES FORMES SIMPLES

La biodisponibilité des acides hydroxycinnamiques a souvent été évaluée par dosage des formes excrétées dans l'urine, mais peu de données sont disponibles sur les cinétiques plasmatiques.

Toutefois, l'ingestion de fortes doses d'acide caféique par des rats (126 mg/kg de masse corporelle) permet d'observer un pic d'acide caféique dans le sang deux heures après ingestion [99]. Plus récemment, une étude a montré que la concentration plasmatique en acide férulique était comprise entre 0,79 et 2,90 μM après perfusion *in situ* d'intestin de rat par des doses d'acide férulique variant de 10 à 250 μmol [100]. De même, après ingestion par des rats de 5,15 mg/kg de masse corporelle un pic d'acide férulique de 5,28 μM est détecté dans le plasma 30 minutes après ingestion, tandis que 4,5 h après, les concentrations plasmatiques ne sont plus que de l'ordre de 0,2 μM [101].

Les dimères d'acide férulique peuvent également être absorbés chez le rat [96]. En effet, suite à l'administration d'acides diféruliques dissous dans de l'huile de tournesol, la présence de certains d'entre eux (acides 5-5-diférulique, 8-5-diférulique, 8-O-4-diférulique et 8-5-benzofurane-diférulique) a été détectée dans le plasma par spectrométrie de masse. Ce résultat est le premier qui met en évidence l'absorption des acides diféruliques. Les concentrations plasmatiques sont de l'ordre du micromolaire, 1 heure après ingestion de 4,4 mg d'acide diférulique (toutes formes confondues).

1.1.2.2 ABSORPTION DES FORMES ESTERIFIEES

Il existe de nombreux esters d'acides hydroxycinnamiques apportés par l'alimentation, notamment des acides féruloyl-quinique, caféoyl-quinique, *p*-coumaroyl-quinique ou des esters de l'acide malique ou de l'acide rosmarinique [13]. L'estérification provoque un changement de masse molaire et de polarité et, dès lors, pose la question de leur absorption à travers la barrière intestinale.

Aucun acide féruloyle ou caféoyl quinique n'a été détecté dans le plasma après ingestion de café contenant $898,4 \pm 5,0$ mg d'acides hydroxycinnamiques totaux dans lequel les formes estérifiées, et en particulier l'acide chlorogénique (acide 5' caféoyl-quinique), sont largement majoritaires [102]. Ce dernier n'est pas non plus détecté après ingestion d'une forte dose ($247,9$ mg/kg) dissoute dans de l'eau ou du propylène glycol [99]. De même, la plupart des auteurs ne détectent pas d'acide chlorogénique dans l'urine [103, 104, 15, 102, 105]. Cependant, certains y retrouvent une très faible proportion de la dose ingérée intacte [106-108] et une étude récente a mis en évidence la présence d'acide chlorogénique intact dans le plasma après ingestion de 100 g de pruneaux apportant 76 mg d'acides hydroxycinnamiques [109].

L'absorption de l'acide chlorogénique a été confirmée de manière indirecte sur des patients iléostomisés [107]. Ces sujets, dépourvus d'iléon et de gros intestin, n'ont pas de flore intestinale et sont incapables d'hydrolyser l'acide chlorogénique. Pour calculer le taux de passage à travers la membrane intestinale, les auteurs procèdent par différence : la quantité d'acide chlorogénique absorbée est égale à la quantité ingérée par les sujets à laquelle on soustrait la quantité dosée dans le fluide iléostomique. De cette manière, les auteurs estiment à $33 \pm 14\%$ l'acide chlorogénique absorbé. La même expérience réalisée avec de l'acide caféique donne une absorption de $95 \pm 4\%$. L'estérification de l'acide caféique n'empêche donc pas son absorption au niveau de la barrière intestinale mais la réduit d'un facteur 3 environ. Pour ces mêmes auteurs, cette absorption intestinale de l'acide chlorogénique ne représenterait qu'un tiers de son absorption totale, le reste étant absorbé au niveau du côlon après dégradation [108]. La dégradation des esters de l'acide férulique serait en revanche totale avant absorption, puisqu'après ingestion de 5-O-féruloyle-L-arabinofuranose, seul l'acide férulique et ses métabolites sont retrouvés dans le plasma [110].

1.2 METABOLISATION DES ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES

Dans le plasma, un pic d'acide 4-méthoxycaféique (acide férulique) apparaît simultanément avec le pic d'acide caféique après ingestion de ce composé chez le rat [99]. Ce résultat confirme l'action de la catéchol-O-méthyltransférase (COMT) qui est capable de méthyler les acides phénoliques possédant un noyau catéchol.

Après ingestion d'acide chlorogénique, deux pics plasmatiques apparaissent en quantités faibles ($<0,4 \mu\text{M}$) : un pic d'acide caféique et un pic d'acide férulique [109]. De même, de l'acide caféique est retrouvé dans le plasma après ingestion de café chez l'homme [111]. Ceci tend à démontrer l'hydrolyse du composé caféoyl quinique et la méthylation ultérieure de l'acide caféique libéré. L'hydrolyse des formes estérifiées dépendrait de plus de la nature de la molécule estérifiée, puisque 54 % de la dose ingérée de 5-O-féruloyl-L-arabinofuranose sont retrouvés dans l'urine sous formes métabolisées ou non de l'acide férulique alors qu'on n'en retrouve que 20 % après ingestion de féruloyl-arabinoxylane [110].

Les acides hydroxycinnamiques circulent également sous formes conjuguées dans le compartiment plasmatique : chez le rat, la forme glucuronidée est majoritaire et représente 41 % des métabolites plasmatiques après ingestion d'acide caféique [99]. Ce composé est également sulfoglucuronidé (~20 %) et la forme native (aglycone) est minoritaire. Il en va de même pour l'acide férulique dont 58 % est sous forme sulfatée ou sulfo-glucuronidée, 24 % sous forme libre et 18 % sous forme glucuronidée [101]. Pour Zhao et al. [110], la forme majoritaire est la forme sulfoglucuronidée. On trouve également les formes conjuguées de l'acide férulique et l'acide caféique dans le plasma humain après ingestion de pruneaux contenant 760 mg/kg d'acides hydroxycinnamiques [109].

L'incubation d'acide chlorogénique avec un extrait de flore fécale provoque une disparition de ce composé au profit de l'acide caféique. A l'inverse, lorsque de l'acide chlorogénique est incubé avec des prélèvements de foie, d'intestin ou du plasma humain, l'hydrolyse n'est pas observée. Les auteurs de ce travail en concluent que seule la flore fécale contient une estérase capable d'hydrolyser les esters d'acide quinique [93]. Les produits d'hydrolyse détectés dans le plasma par Cremin *et al.* [109] pourraient donc être dus à une réabsorption au niveau du côlon. L'ensemble de ces résultats a permis de proposer une voie de métabolisation des acides hydroxycinnamiques (figure 3, d'après [102] et [108]).


1.3 EXCRETION DES ACIDES HYDROXYCINNAMIQUES

Chez le rat, le taux d'excrétion urinaire de l'acide férulique est de l'ordre de 40 à 50 % [101, 100] tous métabolites confondus (glucuronidés et sulfatés). Les valeurs retrouvées chez l'homme sont en général plus faibles car les dérivés sulfatés n'ont souvent pas été pris en compte. Par ailleurs, l'élimination urinaire de l'acide férulique ne dépend pas du mode d'administration car elle est de $10,5 \pm 2,5$ % après administration p.o. et de $11,5 \pm 5,4$ % après i.v. [103]. Dans les deux cas, la dose d'acide férulique était identique (50 mg/kg), ce qui indique que l'absorption intestinale pour ce composé n'est pas le facteur limitant de sa biodisponibilité.

De l'acide férulique est également éliminé par voie urinaire après ingestion d'acide caféique [112] chez l'homme. Le pourcentage d'acide caféique d'artichaut excrété dans l'urine sous forme native et glucuronidée est assez faible chez l'homme puisqu'il ne représente que 5,6 % de la dose ingérée [113]. En revanche, la forme glucuronidée de l'acide férulique est retrouvée à hauteur de 11 à 25 % après ingestion de tomates (contre 4 à 5 % d'acide férulique natif) [104] ou de bière desalcoolisée [114] chez l'homme, mais à hauteur de 2% seulement lorsqu'on comptabilise les formes sulfoglucuronidées qui représentent avec les formes sulfatées 84% des formes excrétées après ingestion de 5,15mg/kg de masse corporelle d'acide férulique pur chez le rat [101].

ingestion d'un extrait de pin maritime, l'élimination urinaire d'acide férulique varie de 2 à 20 % de la dose ingérée [115]. Dans toutes les études, on retrouve grande variabilité interindividuelle, probablement due au polymorphisme des enzymes de détoxification [81]. D'autres métabolites ont été retrouvés dans l'urine après consommation de café ou d'acide férulique pur : l'acide isoférulique, l'acide vanillique et l'acide dihydroférulique [102]. La présence d'acide hippurique et d'acide 3-hydroxyhippurique relève probablement d'un cycle complexe : dégradation de l'acide caféique par la flore intestinale suivie d'une réabsorption puis d'une détoxification par greffage d'une glycine dans l'organisme et excrétion urinaire [102, 116, 112].

Nous avons vu que l'absorption de l'acide chlorogénique est encore controversée. En effet, certains auteurs retrouvent 0,86 % de l'acide chlorogénique ingéré intact dans les urines de rats [117] ou encore 0,2 % à 0,46 % chez l'homme iléostomisé [107, 108] et 1,7 % chez l'homme normal [108] alors que d'autres n'en retrouvent pas [103, 104, 15, 102, 105]. Pour Gonthier *et al.* [106] et Olthof *et al.* [108] cependant, respectivement 36 % et 50 % de la dose ingérée est retrouvée sous forme de métabolites d'origine microbienne (acide hippurique et acide 3-hydroxyphénylpropionique en majorité, provenant également de l'acide quinique).

 Il apparaît donc comme acquis que la grande majorité de l'acide chlorogénique ingéré est hydrolysé et métabolisé après ingestion tandis qu'une faible partie serait absorbée telle quelle, mais les mécanismes d'absorption et les acteurs de cette dégradation demeurent incertains. D'une manière générale, l'absorption des formes estérifiées est plus faible que celle de leurs équivalents non estérifiés. Les études de dégradation de ces composés par la flore intestinale ont permis d'identifier de nombreux métabolites urinaires et de proposer une voie de métabolisation. Cependant, les formes circulantes restent encore mal connues.

2 BIODISPONIBILITE DES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes ont un squelette carboné en C₆-C₃-C₆ et comptent, selon la classification de Harborne, dix sous-classes définies en fonction du niveau d'oxydation de l'hétérocycle central. Les travaux concernant leur biodisponibilité sont très nombreux et pour la plupart très récents. Compte tenu de la somme importante de données, nous traiterons chaque sous-classe de flavonoïde de façon distincte.

2.1 BIODISPONIBILITE DES FLAVONOLS

Les flavonols et les flavones existent sous plusieurs formes : la forme aglycone à laquelle correspondent plusieurs formes glycosylées (par un ose ou un diholoside). Ces dernières sont largement majoritaires dans les aliments. Cependant, devant la diversité des composés à analyser, les auteurs hydrolysent préalablement les formes glycosylées et expriment les teneurs en équivalent aglycone. Parmi les flavonols, la quercétine est la plus abondante.

2.1.1 ABSORPTION DES FLAVONOLS

La biodisponibilité des flavonols, et en particulier de la quercétine et de ses dérivés glycosylés, a été largement étudiée. Ceci s'explique probablement par l'abondance de la quercétine dans certains aliments, mais également en raison du pouvoir antioxydant élevé de la molécule aglycone.

L'apparition des flavonols dans le compartiment plasmatique est relativement lente. En effet, chez des rats dont l'alimentation a été supplémentée avec 0,25% (p/p) de quercétine aglycone, la concentration en quercétine native est maximale dans le sang 8 heures après ingestion [118] et 12 heures après le repas pour l'ensemble de ses métabolites (toutes formes confondues). De plus, la concentration reste constante (50 µM) entre 12 et 24 heures. Chez l'homme, des profils cinétiques similaires ont été observés : un pic plasmatique de quercétine est obtenu 16,8 heures après ingestion d'oignons frits contenant 64 mg d'équivalent quercétine aglycone [119].

La vitesse d'absorption semble très dépendante de la solubilité de la quercétine dans la matrice alimentaire. En effet, l'absorption de quercétine aglycone chez le rat provoque un pic plasmatique 30 minutes seulement après absorption lorsqu'elle est dissoute dans du propylène glycol, alors qu'en solution dans l'eau, dans laquelle elle est 5 fois moins soluble, la concentration plasmatique continue à augmenter 8 heures après le début de l'expérience [120]. Cependant, si la cinétique d'absorption est modifiée, la quantité absorbée ne semble pas être affectée par le changement de milieu.

2.1.1.1 LA PRESENCE DE FORMES GLYCOSYLEES DANS LE PLASMA : UN SUJET DE CONTROVERSE

L'absorption des formes glycosylées a longtemps été contestée : alors que certaines équipes retrouvaient des flavonols encore glycosylés dans le plasma, d'autres ne les détectaient que sous formes métabolisées et aglycones. En fait, cette controverse est née en raison des techniques d'analyse utilisées, trop peu spécifiques pour distinguer les métabolites conjugués des formes glycosylées ; les auteurs pratiquaient en effet l'hydrolyse acide des échantillons, ce qui entraîne à la fois l'hydrolyse des métabolites conjugués et la libération des parties aglycones des flavonols glycosylés éventuellement présents [121]. En analysant le plasma ainsi obtenu par couplage CLHP-UV (barrettes de diodes) [122, 123], il n'est donc pas possible de distinguer formes glycosylées et métabolites puisque seules des formes aglycones sont détectées. De plus, même si une hydrolyse acide préalable n'est pas pratiquée, les temps de rétention des flavonols glycosylés et des métabolites glucuronidés sont très proches dans ces conditions d'analyse [124, 125], ce qui semble normal au vu de la similitude de leur structures chimiques. Cette similitude a donc probablement été à l'origine d'une erreur d'interprétation. L'absence de flavonols glycosylés dans le plasma après administration orale est maintenant unanimement admise.

2.1.1.2 PARAMETRES INFLUENÇANT L'ABSORPTION DES FLAVONOLS

L'apparition des métabolites issus des flavonols glycosylés est retardée par rapport à la cinétique d'apparition des métabolites issus des formes aglycones. Chez l'homme, la concentration maximale dans le plasma est atteinte avec un retard variant de 1,6 à 5,6 heures après consommation de rutine (quercétine-3-O-rhamnoside) par rapport à la quercétine [126]. Chez le rat nourri avec une alimentation contenant 0,2% (p/p) de quercétine ou 0,4% (p/p) de rutine, la quercétine est détectable dans le plasma 2 heures après le début du repas contre 4 heures pour la supplémentation en rutine [127]. Deux phénomènes peuvent expliquer ce délai d'apparition : l'absorption des flavonols aglycones dès l'estomac et le délai nécessaire à l'hydrolyse des flavonols glycosylés dans le tractus digestif avant absorption.

L'absorption stomacale des nutriments semble peu importante. Elle a été mise en évidence par perfusion *in situ* de quercétine, de rutine et/ou d'isoquercitrine (quercétine 3-O-glucose) [128]. Seule la perfusion de quercétine aglycone permet de retrouver ce composé dans l'organisme (bile), alors que dans le cas des formes glycosylées, des métabolites apparaissent avec un retard de quelques heures dans le sang. Toute la rutine ingérée est hydrolysée au niveau du système intestinal puisque seule de la quercétine est retrouvée (en faible quantité) dans le caecum après 24 heures [127].

L'absorption intestinale varie en fonction de la nature de la glycosylation. En effet, l'aire sous la courbe de la rutine dans le compartiment plasmatique est plus faible que celle de la quercétine, bien que la dose de rutine ingérée soit deux fois plus forte [126]. En revanche, l'isoquercitrine est plus absorbée que la quercétine : la perfusion d'isolat d'intestin de rat par de l'isoquercitrine montre une absorption nette (absorption totale – excrétion dans la lumière intestinale) de 25% contre 14% seulement pour la quercétine aglycone [129]. Une autre étude chez le rat confirme ces résultats : l'absorption de 20 mg de quercétine, de rutine ou de quercétine 3-O-glucoside donne des concentrations plasmatiques maximales respectives de $11,2 \pm 1,8$; $2,5 \pm 2,0$ et $33,2 \pm 3,5$ μM [130].

La nature et la position du sucre influencent fortement l'absorption des flavonols, ce qui peut expliquer les différences de biodisponibilité observées d'un aliment à l'autre. La quercétine des oignons est ainsi mieux absorbée que celle du vin ou du thé, probablement car ces deux dernières sources contiennent principalement de la quercétine estérifiée par un rutinoside [131], de même pour les flavonols des oignons, mieux absorbés que ceux des pommes ou que la quercétine aglycone [132, 121]. On peut déduire que l'absorption est favorisée lorsque le substituant est un glucose ou dans une moindre mesure un galactose, et que les formes glycosylées par un diholoside comme le rutinose sont les moins bien absorbées. Il a été montré que la déglycosylation de la quercétine-3-glycoside aurait lieu au niveau intestinal [133], grâce à une enzyme extra-cellulaire présente sur la bordure en brosse, la lactase phlorizine hydrolase (LPH) [134]. La SGLT1, d'abord soupçonnée de transporter les formes glycosylées dans la muqueuse puis de permettre un relargage de quercétine dans l'intestin [135], n'aurait en fait aucun rôle dans le phénomène malgré l'existence d'interactions avec les formes glycosylées de la quercétine dans l'intestin [136]. Enfin, les formes glycosylées par un rutinoside seraient préférentiellement déglycosylées dans le côlon par la flore colique puis absorbées à ce niveau [108, 137, 138].

2.1.2 METABOLISATION DES FLAVONOLS

2.1.2.1 METABOLISATION DANS L'ORGANISME

Tout comme les acides phénoliques, les flavonols peuvent subir trois voies de métabolisation dans l'organisme : la méthylation par la catéchol-O-méthyltransférase (COMT), l'action des enzymes de phase I et la conjugaison par les enzymes de phase II.

La méthylation est une voie importante de métabolisation des flavonols. Elle s'effectue préférentiellement sur les groupements ortho-diphénoliques du cycle B. L'ingestion de quercétine aglycone par des rats provoque l'apparition dans le plasma d'isorhamnétine (3'-O-méthylquercétine) et de tamarixétine (4'-O-méthylquercétine), qui sont des flavonols également

trouvés à l'état naturel [127, 118, 139, 120]. Les flavonols glycosylés (quercétine 3-O-rhamnoside ou quercétine 3-O-glucoside) conduisent à la formation des mêmes métabolites [130]. De même, l'administration orale à des porcs de 50 mg/kg (de poids corporel) de quercétine provoque l'apparition des deux composés méthylés et d'un composé déshydroxylé, le kaempférol [140]. Cette métabolisation peut se faire au niveau de l'intestin comme cela a été montré par perfusion d'intestin de rats [129]. Dans le compartiment plasmatique, le rapport formes méthylées / formes natives varie au cours du temps : il est de 50% environ quatre heures après l'ingestion, puis il augmente progressivement pour atteindre 85% après 24 heures. La concentration plasmatique en isorhamnétine est environ deux fois plus grande que la concentration en tamarixétine, ce qui semble indiquer que la COMT favorise la méthylation en position 3'. La tamarixétine disparaît entre 12 et 24 heures au profit de l'isorhamnétine.

L'action des enzymes de phase I est en revanche une voie plus minoritaire. L'incubation *in vitro* de kaempférol avec des microsomes de foie de rats, contenant notamment le cytochrome P450, l'un des agents responsables des métabolisations de phase I, a montré que ce composé était intensivement transformé en quercétine par ajout d'un groupement hydroxyle en *ortho* sur le cycle B [141]. Cette réaction transforme ainsi le cycle B en un groupement catéchol et prépare la voie à l'action de la COMT.

Les enzymes de phase II peuvent conjuguer l'ensemble des flavonols (méthylés ou non) [141, 120, 84, 142, 129]. Toutefois, il existe des différences d'une espèce animale à l'autre.

Chez le rat, la métabolisation est rapide et totale puisqu'aucun auteur n'a détecté de quercétine aglycone dans le plasma. Les formes sulfatées ou sulfoglucuronidées de la quercétine et surtout de sa forme méthylée l'isorhamnétine sont majoritaires (environ 90 %) dans le plasma de rats ayant reçu pendant 14 jours une alimentation supplémentée par 0,25 % (p/p) de quercétine [118, 139]. Deux glucuronides non sulfatés, la quercétine-3-O- β -D-glucuronide et la quercétine-4'-

O- β -D-glucuronide, ont cependant été identifiés chez le rat après ingestion orale d'une forte dose de quercétine (250 mg/kg de masse corporelle) [143]. Enfin, chez le porc, les métabolites circulants sont majoritairement des formes glucuronidées, la quercétine non conjuguée ne représentant que 1 à 7 % des formes plasmatiques [140].

Chez l'homme, les études réalisées semblent indiquer que les métabolites glucuronidés représenteraient une part plus importante que chez le rat. Une étude *in vitro* suggère que d'autres métabolites glucuronidés pourraient être formés : l'incubation de quercétine avec de l'UDP-glucuronosyltransférase extraite d'une culture cellulaire de foie humain (responsable de la glucuronidation de nombreuses molécules), a montré que l'affinité apparente ($1/K_m$) de l'enzyme était la plus forte pour la forme glucuronidée en 4' puis en 3' puis en 7 [144]. Cependant, en tenant compte des vitesses de réaction, c'est *in fine* la quercétine-7-O- β -D-glucuronide qui serait le métabolite majoritairement formé, bien que ce composé n'ait pas été identifié dans les études *in vivo*. La consommation d'oignons (apportant 79,2 mg de quercétine en équivalent aglycone) a permis d'identifier par RMN et spectrométrie de masse la présence de trois métabolites plasmatiques : la quercétine 3-glucuronide, l'isorhamnétine 3-glucuronide et la quercétine 3'-sulfate [145], ce dernier représentant environ le tiers des métabolites circulants.

La proportion des métabolites sulfatés ou glucuronidés diffère donc d'une espèce à l'autre, ce qui ne permet pas réellement d'extrapoler à l'homme les résultats obtenus sur modèle animal. Cependant, il est important de remarquer que, dans toutes les espèces étudiées, les flavonols circulent exclusivement sous forme conjuguée.

Afin de déterminer si les flavonols se trouvaient dans la fraction lipidique (HDL-LDL-VLDL), dans la fraction aqueuse ou liés aux protéines, le spectre du sang de rats nourris avec un régime contenant 0,5 % (p/p) de quercétine a été comparé à celui de rats recevant un régime non supplémenté [125]. Le plasma des rats supplémentés présente une absorbance à 411 nm qui ne

correspond pas à la λ_{\max} de la quercétine (375 nm) dans du tampon phosphate. L'effet bathochrome est également observé après incubation de quercétine avec de l'albumine (1/5, mol/mol), ce qui suggère un transport des flavonols par l'albumine. Plus de 90 % de la quercétine seraient liés à l'albumine [125]. Cette hypothèse a pu être confirmée par d'autres techniques : ultracentrifugation d'une solution de [4-¹⁴C]-quercétine dans du plasma ou utilisation de la fluorescence [146]. Cette dernière technique a de plus permis de mieux caractériser la nature du complexe albumine/quercétine : stoechiométrie 1/1, maintenu par des liaisons faibles de type Van der Waals avec une forte constante de liaison (environ $6 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ à 25°C). Cependant, le pourcentage de liaison dépend de deux paramètres : il augmente fortement avec l'augmentation du rapport albumine/quercétine et dépend de la structure chimique de la molécule [146, 118]. En effet, le kaempférol, qui ne diffère de la quercétine que par l'absence d'un groupement hydroxyle en position 3', présente une capacité de liaison environ 10 fois plus faible que la quercétine. La glycosylation des flavonols en position 3 réduit également la formation de complexes flavonol/serum albumine bovine. A l'inverse, la fisétine, qui ne possède pas de groupement hydroxyle en position 5, a une capacité de liaison 2 fois plus forte que la quercétine.

En parallèle, le dosage de la quercétine (aglycone + conjuguée) contenue dans les LDL de sujets ayant ingéré des oignons a été réalisé [142]. La concentration de quercétine incorporée (et de ses métabolites conjugués) est très faible (0,03 nmol/mg de LDL). Par comparaison, cela représente moins de 1 % de la concentration en α -tocophérol.

La quercétine, ainsi que l'ensemble des flavonols, semble donc très largement liée à l'albumine. Ceci constitue un paramètre important du point de vue de l'action potentielle de ces composés dans l'organisme.

2.1.2.2 METABOLISATION PAR LA FLORE INTESTINALE

La première action de la flore fécale consiste à hydrolyser les flavonols glycosylés (figure 4). Les vitesses de dégradation diffèrent d'un flavonol à l'autre : il faut 60 minutes pour dégrader la rutine en quercétine et 20 minutes pour l'isoquercitrine [137, 138]. Ces résultats sont corrélés aux activités β -glucosidase et α -rhamnosidase mesurées dans la suspension fécale qui sont respectivement de $6,2 \pm 0,1$ et $1,2 \pm 0,4$ nmol/min/mg de protéine. Ces éléments corroborent les cinétiques d'apparition dans le plasma et permettent d'expliquer le délai d'apparition de la quercétine après ingestion de rutine.

En augmentant les temps d'incubation, les dégradations se poursuivent avec notamment l'apparition de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique dans un premier temps, puis celle de l'acide 3-hydroxyphénylacétique [138, 108]. D'autres composés ont également été identifiés *in vivo* après administration de rutine deutérée chez des rats [147] : l'acide 3-méthoxy-4-hydroxyphénylacétique, l'acide 3,4-dihydroxytoluène et l'acide 3-(*m*-hydroxyphényl) propionique. Ces métabolites peuvent ensuite être absorbés et sont retrouvés dans l'urine après ingestion de rutine. La destruction de la flore intestinale par de la néomycine réduit ou arrête leur excrétion urinaire.

2.1.3 EXCRETION DES FLAVONOLS

La vitesse d'élimination peut être caractérisée d'un point de vue pharmacocinétique par le $t_{1/2}$, temps au bout duquel la concentration plasmatique maximale du composé est divisée par deux. Calculé après injection i.v. de quercétine, ce $t_{1/2}$ est de $17,2 \pm 3,7$ heures chez l'homme [140]. Cette vitesse d'excrétion, qui comparativement aux autres flavonoïdes est faible, peut s'expliquer par deux mécanismes : le premier est la liaison de la quercétine et de ses métabolites à l'albumine, ce qui augmente les délais d'élimination par le rein [125, 148] ; le second est l'élimination préférentielle de la quercétine par voie biliaire.

L'élimination par voie biliaire peut être évaluée par la pose d'un cathéter. La perfusion à 15 nM/min pendant 30 minutes de quercétine dans l'intestin de rats a montré que la concentration en quercétine (et métabolites) dans le conduit biliaire atteignait 55 µM [129]. La quercétine aglycone représente 43 % des formes totales et les formes méthoxylées 57 %. L'élimination des composés par voie biliaire fait entrer les métabolites dans le cycle entéro-hépatique. Après excrétion de la bile dans la lumière intestinale, ils peuvent être réabsorbés au niveau de l'intestin grêle en contribuant ainsi au maintien des concentrations plasmatiques.

L'excrétion des flavonols par voie urinaire, à l'inverse, est faible. Chez l'homme, l'injection intraveineuse de quercétine conduit seulement à une élimination par l'urine de 1,2 % de la dose injectée en 9 heures [149]. Ces données pharmacocinétiques ont été confirmées par ingestion par voie orale : l'excrétion dans l'urine de la quercétine et de ses métabolites conjugués est constante et comprise entre 0,27 et 0,49 % après consommation de 750 à 1500 mL de jus de raisin contenant 6,4 mg/L de quercétine [150]. L'excrétion du kaempférol dans l'urine est plus importante que l'excrétion de la quercétine. Après 12 jours de consommation d'un régime dont la seule source de flavonols sont les brocolis (12,5 mg de kaempférol et 9,0 mg de quercétine par jour), seul le kaempférol est détecté dans l'urine (entre 0,19 et 0,28 µM) [141]. L'excrétion de kaempférol non métabolisé est de $2,5 \pm 1,3$ % après consommation de thé chez l'homme [151]. La détection de ce composé à l'état natif dans l'urine pourrait d'ailleurs en faire un marqueur de la consommation de flavonols [151, 141]. Comme il a été décrit précédemment, le suivi de rutine radiomarquée au deutérium a permis de mettre en évidence l'excrétion de cinq métabolites chez le rat [147], produits du métabolisme basal mais également issus de la dégradation de la rutine par la flore intestinale, suivie d'une absorption au niveau du côlon, et enfin de la métabolisation par l'organisme. Enfin, une partie de la quercétine peut être directement relarguée dans la lumière intestinale après absorption et métabolisation par les entérocytes.

Le relargage des flavonols au niveau des entérocytes a été observé par perfusion d'une portion d'intestin (iléon + jéjunum). La quercétine, ainsi que de nombreux métabolites conjugués et méthylés se retrouvent dans la lumière intestinale [129]. Ce phénomène aboutit à une élimination très rapide des métabolites puisqu'ils ne passent pas dans le reste de l'organisme, et diminue ainsi l'absorption nette de la quercétine, définie comme la différence entre la quantité de quercétine passant la barrière intestinale et la quantité éliminée. Finalement, si l'on fait le bilan de la perfusion *in situ* de quercétine, 33,3% ne passent pas la barrière intestinale, 52,4% sont métabolisés et relargués immédiatement, donc l'absorption nette n'est que de 14,3% de la dose perfusée. Cependant, la réabsorption des métabolites ou de la quercétine au niveau du caecum n'est pas prise en compte dans ce calcul et l'absorption totale pourrait être plus élevée.

La biodisponibilité des flavonols commence à être mieux cernée : les formes glycosylées, majoritaires dans l'alimentation, sont hydrolysées avant d'être absorbées et métabolisées. Cependant, leur absorption et les cinétiques plasmatiques dépendent fortement de la nature du glycoside.

Les mécanismes d'absorption sont encore peu connus mais plusieurs hypothèses coexistent. Les formes circulantes sont majoritairement des formes méthylées et/ou conjuguées et l'intestin semble avoir un rôle majeur dans la métabolisation des flavonols. L'élimination de ces métabolites est lente probablement en raison de leur entrée dans le cycle entéro-hépatique et de leur liaison à l'albumine. Leur temps de séjour élevé dans le compartiment plasmatique pourrait leur permettre d'exercer un effet antioxydant protecteur après ingestion.

En revanche, la distribution dans les tissus ainsi que l'activité des métabolites commencent tout juste à être étudiées et les effets précis dans les mécanismes de cancérisation ou d'athérosclérose sont loin d'être élucidés.

2.2 BIODISPONIBILITE DES FLAVAN-3-OLS

L'intérêt pour les flavan-3-ols va de pair avec les observations épidémiologiques : la faible mortalité par maladies cardio-vasculaires dans les pays d'Asie corrélée avec la forte consommation de thé vert, source majeure de flavan-3-ols, a donné lieu à de nombreuses études de biodisponibilité. Une attention particulière a été portée sur la (-)-épigallocatechine gallate en raison de ses effets bénéfiques sur le cancer.

2.2.1 ABSORPTION DES FLAVAN-3-OLS « SIMPLES », ACETYLES ET ESTERIFIES

Deux formes de flavan-3-ols sont présentes dans les aliments : par exemple, le vin contient majoritairement des formes « simples », la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine (EC), tandis que le thé contient surtout des formes estérifiées par l'acide gallique, notamment la (-)-épigallocatechine gallate (EGCg) et la (-)-épicatéchine gallate (ECg). De la même manière que pour les formes glycosylées des flavonols se pose la question de l'absorption de ces formes acétylées.

Une partie des flavan-3-ols ingérés est retrouvée à l'état natif dans le compartiment plasmatique, quelle que soit la forme absorbée. Ainsi, la consommation de 120 mL de vin, contenant 35 mg de catéchine (C), entraîne l'apparition du composé dans le sang [152]. Cependant, la concentration plasmatique reste faible : environ 0,08 μ M. La consommation d'une infusion de thé vert, contenant de l'EGCg, de l'EGC, de l'EC et de l'ECg en quantités connues, provoque une augmentation des concentrations plasmatiques des trois premiers flavonoïdes. L'ECg n'est en revanche pas détectée [153]. La concentration plasmatique en EGCg est maximale dans le plasma 1 à 2 heures (en fonction des sujets) après l'ingestion du composé pur [154] et entre 1,6 et 2,7 heures après ingestion d'une boisson à base de thé vert [155]. Les résultats précédents montrent que l'estérification de l'EGC par l'acide gallique n'empêche pas le passage de l'EGCg dans l'organisme [25]. Dans ces conditions, la non absorption de l'ECg reste inexplicée.

Tous les flavan-3-ols ne présentent pas la même biodisponibilité. En effet, la concentration plasmatique d'EGC est 20 à 40 % plus forte que celle de l'EGCg après l'ingestion d'une boisson à base de thé contenant la même proportion des deux molécules [155]. Pour expliquer ces résultats, trois hypothèses peuvent être proposées : soit l'EGCg est moins absorbée que l'EGC ; soit la distribution dans les tissus de l'EGCg est plus importante (à taux d'absorption égal, une accumulation plus importante dans les tissus diminue la concentration plasmatique) ; soit l'EGCg pourrait être hydrolysée en EGC.

Selon Yang *et al.* [155], une augmentation de la dose de flavan-3-ols ingérés provoque une augmentation non linéaire des concentrations dans le plasma. Le doublement de la quantité de thé vert dans une boisson à base de thé (de 1,5 à 3 g), augmente d'un facteur 2,7 la concentration maximale d'EGCg dans le plasma, et d'un facteur 3,4 celles de l'EGC et l'EC. En considérant l'aire sous la courbe, plus représentative des quantités qui ont transité dans le compartiment plasmatique, la tendance est encore plus forte, avec des augmentations d'un facteur 2,5 ; 4,0 et 3,8 respectivement pour l'EGCg, l'ECG et l'EC. En revanche, le passage de 3,0 à 4,5 g de thé dans la boisson n'augmente ni les concentrations plasmatiques ni l'aire sous la courbe. Une autre étude, utilisant de l'EGCg radiomarquée ([4-³H]-EGCg), a montré que la radioactivité retrouvée dans le sang de rats ne variait pas, que les animaux aient ingéré 4 mg/kg ou 20 mg/kg du composé [156].

De manière générale, et contrairement aux autres flavonoïdes, l'absorption des flavan-3-ols n'est pas proportionnelle à la quantité ingérée. Une des hypothèses permettant d'expliquer ce phénomène pourrait être une saturation des protéines de transport dans le sang [155]. La seconde hypothèse concerne la saturation des sites de transport de la barrière intestinale. Cependant, l'absorption de la (+)-catéchine est constante ($35 \pm 2\%$) lorsque la quantité perfusée varie de 1 à 100 μM [88], ce qui infirme cette hypothèse. Il existe de plus de fortes différences d'absorption selon les espèces animales utilisées dans les expériences [157].

2.2.2 METABOLISATION DES FLAVAN-3-OLS

2.2.2.1 METABOLISATION DES FLAVAN-3-OLS DANS L'ORGANISME

Les flavan-3-ols sont largement métabolisés dans l'organisme : les flavan-3-ols acétylés par l'acide gallique peuvent être hydrolysés, et l'ensemble des flavan-3-ols peut être méthylé et/ou conjugué.

L'hydrolyse de l'EGCg en EGC + acide gallique commence dans la cavité buccale. Ceci a été mis en évidence par comparaison des formes circulantes après administration i.v. et p.o. d'EGCg. Après injection i.v., seule l'EGCg est détectée dans le sang [158]. Mais si un extrait de thé contenant majoritairement de l'EGCg est gardé sous la langue, la quantité d'EGC retrouvée augmente avec le temps de contact sous l'effet de la catéchine-estérase salivaire détectée par les auteurs.

Les flavan-3-ols sont largement méthylés et cette méthylation présente de fortes similitudes avec la méthylation des flavonols. 95 % de la (+)-catéchine retrouvée dans le foie de rats nourris avec une alimentation supplémentée à 0,25 % (p/p) de catéchine sont méthylés selon Manach *et al.* [118] contre seulement 26 % pour Baba *et al.* [159] après administration de 172 μmol de catéchine par kilogramme de masse corporelle. L'EC est également méthylée et la (-)-3'-O-méthylépicatechine (Me-EC) représente 53% des formes plasmatiques après administration de 172 μmol d'EC par kilogramme de masse corporelle [159].

La proportion de méthylcatéchine (Me-C) dans le plasma augmente au cours du temps : de 25% quatre heures après l'ingestion, elle passe à 45% après douze heures et atteint 100% à vingt quatre heures [118]. Deux hypothèses permettent d'expliquer la modification du rapport Me-C / C : soit la catéchine est éliminée plus rapidement que la Me-C, soit la catéchine est progressivement métabolisée en Me-C dans l'organisme. A l'heure actuelle, aucune étude ne permet véritablement de trancher entre ces deux hypothèses. L'identification par RMN de la Me-C dans le plasma de rats

après ingestion du composé pur a montré que la méthylation se faisait en position 3' [159], position qui est favorisée par la COMT [160]. Pour l'EGCg au contraire, l'analyse des métabolites biliaires de l'EGCg montre que la méthylation du composé peut se faire en différents endroits, voire sur plusieurs sites. Ainsi, 5 métabolites méthylés ont été purifiés et analysés en RMN (après déconjugaison). Les méthylations sont en position 4'', 3'', 3', 4' et 4' + 4'' [161].

En plus de la méthylation, les flavan-3-ols sont glucuronidés et/ou sulfatés. Plusieurs études montrent que la catéchine, méthylée ou non, est majoritairement glucuronidée chez le rat [118, 88]. La catéchine non conjuguée est cependant détectée à l'état de traces (< 0,2% des formes circulantes) et les formes sulfatées ou sulfoglucuronidées représentent respectivement 12% et 24% [159]. L'EC est également majoritairement présente sous forme conjuguée chez le rat, et les formes non conjuguées de l'EC ou de la Me-EC ne représenteraient que 4% environ des formes circulantes dans le plasma. Une autre étude confirme la présence d'EC dans le plasma à l'état de traces (< 1 µM) [83]. A l'instar de la catéchine, les formes glucuronidées sont majoritaires, suivies des formes sulfoglucuronidées et sulfatées [162]. Chez l'homme, l'EC n'existe que sous forme conjuguée dans le plasma et les proportions entre les formes glucuronidées et sulfatées sont respectivement de 1/3 - 2/3 [153]. La glucuronidation se ferait majoritairement en position 7 du cycle A chez le rat alors que la position 3' du cycle B serait préférée chez l'homme [163].

Selon Lee *et al.* [153], 57 à 71% de l'EGC se trouvent sous forme glucuronidée dans le plasma, 23 à 36% sous forme sulfatée et seulement 3 à 13% à l'état natif. La proportion d'EGCg non métabolisée dans le plasma est plus importante que pour les autres flavan-3-ols : chez l'homme, elle représente 20% des formes circulantes. Mais c'est la forme sulfatée qui est majoritaire puisqu'elle constitue 70% des métabolites. Enfin, le métabolite minoritaire est le dérivé glucuronidé (10%). Parmi les formes biliaires méthylées de l'EGCg, 60% sont glucuronidées et 40% sont

sulfatées [161], à l'exception des formes dont le groupement méthyle se trouve en position 4'' qui sont exclusivement sulfatées.

La métabolisation des flavan-3-ols est donc très importante mais elle diffère avec la nature chimique des composés. Les proportions relatives des formes méthylées, sulfatées ou glucuronidées pour un même flavan-3-ol varient d'une équipe à l'autre, ce qui ne permet pas de définir le taux moyen de chaque dérivé. Il semble que les flavan-3-ols soient peu présents à l'état natif parmi les formes circulantes, excepté pour l'EGCg pour laquelle la forme native représente 20% des formes plasmatiques.

Des études de radiomarquage ont permis de suivre la distribution dans les tissus des flavan-3-ols. Le cas de l'EGCg a été plus largement étudié du fait de ses propriétés anticancéreuses [164]. Le gavage de souris avec de la [³H]-EGCg a montré que 14,5 à 18,2% de la radioactivité était encore présente dans le tractus digestif 24 heures après administration [165]. L'EGCg (ou ses métabolites) pourrait ainsi interagir directement avec les cellules du tube digestif. Le deuxième compartiment qui voit une augmentation de la radioactivité est le sang. A nouveau, il y a une légère accumulation de la radioactivité sur 24 heures. La radioactivité est ensuite retrouvée dans de nombreux organes : cerveau, poumon, cœur, foie, rein, moelle épinière, pancréas, utérus et ovaires, glande mammaire, vessie, peau, os et testicules. Les concentrations augmentent progressivement au cours du temps pour atteindre à 24 heures une radioactivité moyenne de 20×10^3 coups / 100 mg de tissus, ce qui représente dans le foie 0,89% de la radioactivité ingérée, 0,28% dans le rein et 0,16% dans le poumon. Par ailleurs, les radiographies des tissus ont montré que la radioactivité n'était pas répartie de manière homogène dans les cellules, ce qui laisse envisager que l'incorporation de l'EGCg ou de ses métabolites se fait par des mécanismes spécifiques. Il a également été montré que certains métabolites de la (-)-épicatéchine (O-β-D-glucuronide et 3'-O-méthyl- glucuronide) étaient

susceptibles d'atteindre le cerveau en quantité faible (0,4 nmol/g retrouvés chez le rat après ingestion de 100 mg/kg de masse corporelle) [162].

2.2.2.2 METABOLISATION PAR LA FLORE INTESTINALE

La flore intestinale joue un rôle prépondérant dans l'absorption des flavan-3-ols. Les microorganismes augmentent quantitativement l'absorption et forment de nombreux produits de dégradation.

D'un point de vue quantitatif, la radioactivité excrétée dans l'urine de rats ayant ingéré 4 mg/kg de [4-³H]-EGCg est de 26,8% contre 0,3% seulement lorsque les rats subissent un prétraitement aux antibiotiques [156].

D'un point de vue qualitatif, l'incubation d'ECg avec une suspension de matières fécales humaines a montré une importante métabolisation. Quatorze produits de dégradation ont été identifiés par RMN [166].

La première étape libère l'EC et l'acide gallique. Cette réaction peut être suivie de l'ouverture du cycle C, dont il résulte des métabolites qui ne diffèrent que par les substituants du cycle B. Puis, le réarrangement du cycle A produit deux valérolactones. Enfin, l'ouverture de ce cycle conduit à des acides phénoliques dont la chaîne latérale est plus ou moins longue (de C₃ à C₅). Ce stade avait précédemment été décrit chez le cochon d'Inde [94, 95]. La dernière étape est une condensation de deux dérivés.

Les concentrations de certains produits terminaux sont importantes. Ainsi, une accumulation d'acide 5-(3',4'-dihydroxyphényl) valérique a pu être observée *in vitro*. Ces réactions sont assez rapides puisqu'au bout de 12 heures, la concentration en ECg dans le milieu de culture est négligeable. La métabolisation présente par ailleurs une spécificité d'espèce. Ainsi les bactéries fécales de rats ne sont pas capables de métaboliser les flavan-3-ols de type gallate (ECg et EGCg).

2.2.3 EXCRETION DES FLAVAN-3-OLS

6 à 32% de la radioactivité se retrouvent dans l'urine après ingestion orale d'EGCg radiomarquée (figure 5) [156, 165]. Les métabolites excrétés par voie urinaire ne sont pas toujours le reflet des formes présentes dans le plasma. En effet, l'EGCg native dosée dans le plasma après ingestion de thé vert ou d'une boisson à base de thé vert est détectée dans l'urine à moins de 1% [153, 155], quand elle représentait 3 à 13% des formes plasmatiques [155]. De plus, il y a une inversion du rapport formes sulfatées/formes glucuronidées qui est de 2 pour 1 dans l'urine contre 1 pour 2 dans le plasma [153]. Deux hypothèses peuvent expliquer ces différences de proportions des métabolites de l'EGCg entre les compartiments plasmatique et urinaire : soit certains d'entre eux sont spécifiquement éliminés par une autre voie (biliaire, par exemple), soit ils peuvent subir de nouvelles métabolisations au niveau rénal.

Pour d'autres flavan-3-ols au contraire, les proportions des métabolites dans le plasma et l'urine ne varient guère : la 3'-O-Me-EC représente environ 50% des formes urinaires après ingestion d'EC ou de poudre de cacao [159]. Les rapports forme native/forme conjuguée ou 3-O méthylée et forme sulfatée/forme glucuronidée n'évoluent pas non plus [159, 155].

Quels que soient les métabolites considérés, l'excrétion urinaire des flavan-3-ols demeure assez faible. Une des raisons invoquées est l'excrétion par voie biliaire. Celle-ci, dans le cas des flavan-3-ols, semble plus spécifique des formes méthylées. En effet, après ingestion de fortes doses de C et d'EC, 87% des métabolites de la C et 83% de ceux de l'EC excrétés dans la bile sont méthylés [167]. Ils représentent 10% des formes absorbées. Il en va de même pour les métabolites biliaires de l'EGCg, majoritairement méthylés [161]. Cependant, l'élimination de l'EGCg et de ses métabolites par cette voie semble plus faible que pour la C et l'EC puisqu'elle ne représente que 3,3% de la dose ingérée.

Enfin, les flavan-3-ols ingérés sont partiellement retrouvés dans les fèces. 48 h après l'ingestion d'EGCg, trois composés majeurs ont été identifiés, dont deux métabolites [156] : l'EGCg, représentant 5,4% de la dose ingérée ; l'EGC (40,8%) qui pourrait provenir de l'hydrolyse buccale de l'EGCg et un troisième composé d'origine bactérienne (16,8%), identifié en RMN comme étant la 5-(3',5'-hydroxyphényl)- γ -valérolactone et son dérivé glucuronidé (5-(3',5'-hydroxyphényl)- γ -valérolactone 3'-O- β -glucuronide).

En conclusion, les flavan-3-ols sont très largement métabolisés (méthylation + conjugaison).

Contrairement aux flavonols, les flavan-3-ols séjournent beaucoup moins longtemps dans le compartiment plasmatique et le maintien de concentrations plasmatiques élevées nécessite l'ingestion régulière et répétée de ces composés [168]. En revanche, ils séjournent dans le tractus digestif et sont retrouvés dans de nombreux tissus, ce qui leur permettraient d'exercer une action *in situ*.

2.3 BIODISPONIBILITE DES ISOFLAVONES

La biodisponibilité des isoflavones, principalement présentes dans les aliments à base de soja, a été étudiée surtout en raison de leurs effets phytoestrogéniques [169, 170]. Leurs apports varient beaucoup d'un individu à l'autre en fonction des habitudes alimentaires. Les deux molécules les plus étudiées sont la génistéine et la daidzéine, ainsi que leurs deux dérivés glycosylés, la génistine (génistéine 7-O-glucoside) et la daidzine (daidzéine 7-O-glucoside). Les graines de soja, le tofu ou le lait de soja (produits non fermentés) contiennent majoritairement des isoflavones glycosylées, tandis que les aliments tels que le natto (produit fermenté) contiennent majoritairement des formes aglycones.

2.3.1 ABSORPTION DES ISOFLAVONES

Chez l'homme comme chez le rat, les cinétiques plasmatiques dépendent de la forme d'absorption (aglycone ou glycosylée). L'ingestion de formes glycosylées a deux conséquences : l'apparition des métabolites dans le plasma est retardée, et l'élimination est plus lente.

Chez le rat, la daidzéine ou la génistéine apparaissent dans la veine porte 3 minutes après intubation gastrique [171]. Cette absorption, quasi immédiate, est due à la capacité qu'ont les formes aglycones de franchir la membrane gastrique. Piskula *et al.* [171] ont été les premiers à mettre en évidence l'absorption stomacale de flavonoïdes aglycones. Ce phénomène a ensuite été confirmé avec la quercétine [128]. La concentration plasmatique de la génistéine augmente jusqu'à atteindre un maximum 4 heures après administration [172]. La daidzéine présente la même cinétique mais la concentration maximale est atteinte deux heures après ingestion. Toutefois, les concentrations en génistéine et en daidzéine ne sont pas significativement différentes à t+2 et t+4 heures et le décalage de la cinétique de la génistéine par rapport à celle de la daidzéine n'est donc pas significatif. Des résultats similaires ont été obtenus chez l'homme après ingestion d'isoflavones pures [173]. Les cinétiques d'apparition des isoflavones dans le plasma présentent deux pics, ce qui est typique des composés suivant le cycle entéro-hépatique [174].

L'ingestion chronique de daidzéine ou de génistéine [175], le statut pré ou post-ménopausal ou l'âge des sujets [176] ne semblent pas avoir une influence quelconque sur leur biodisponibilité. En revanche, après absorption d'isoflavones glycosylées, l'apparition des composés dans le plasma est plus tardive chez le rat, notamment car les formes glycosylées (daidzine et génistine) ne sont pas absorbées au niveau de l'estomac [171]. La consommation de produits à base de soja par huit sujets humains a montré un pic plasmatique 2 heures après consommation de produits fermentés et 4 heures après consommation de produits non fermentés [173]. D'autres études réalisées chez l'homme mettent en évidence un pic plasmatique plus tardif. Chez des femmes ayant consommé du

tofu (apportant 0,9 mg d'isoflavones par kg de masse corporelle, principalement sous formes glycosylées), les concentrations sont maximales dans le sang 6,5 heures après l'ingestion [177]. Des résultats équivalents ont également été retrouvés avec des sujets masculins : après consommation de 60 g d'un produit à base de farine de soja, contenant 26,2 mg de daidzéine et 30,3 mg de génistéine, les métabolites commencent à apparaître dans le plasma 2 heures après l'ingestion pour atteindre une concentration maximale 6 heures plus tard [178]. Comme pour les flavonols, l'apparition d'isoflavones dans le compartiment plasmatique est retardée lorsque ces formes sont majoritairement glycosylées, ce qui provient du temps nécessaire à l'hydrolyse et de la non absorption au niveau gastrique. Cependant, deux études récentes ne retrouvent pas ce retard d'absorption des formes glycosylées [174, 179].

Par ailleurs, les métabolites séjournent plus longtemps dans le plasma lorsqu'ils proviennent d'aliments riches en formes glycosylées [173]. En effet, lorsque la génistéine est apportée par un aliment non fermenté, sa concentration plasmatique est constante entre 4 et 24 heures alors qu'elle chute fortement 2 heures après ingestion d'un aliment fermenté. L'utilisation du couplage LC/MS/MS, a permis de détecter des traces de daidzine et de génistine dans l'urine [180] mais pas dans le plasma [181]. Il semblerait donc qu'une faible proportion de formes glycosylées puisse passer la barrière intestinale.

2.3.2 METABOLISATION DES ISOFLAVONES

Les isoflavones sont très largement métabolisées. Elles subissent les voies classiques de détoxification, méthylation, glucuronidation, sulfatation, mais d'autres métabolites résultant de modifications plus profondes ont également été identifiés.

La daidzéine et la génistéine conduisent à des métabolites assez différents :

- La *daidzéine* est partiellement transformée en équol et en O-desméthylanglolensine (O-DMA). Ces métabolites ont été mis en évidence chez l'homme après ingestion d'un aliment à base

de soja [178] et chez le rat après ingestion d'un aliment enrichi en daidzéine [182]. Toutefois, leur concentration plasmatique est faible et ils ne sont pas présents chez tous les sujets. En effet, l'O-DMA n'est détecté que dans l'urine de quatre sujets sur sept et l'équol dans deux seulement. La proportion de ces métabolites semble cependant plus importante lors d'une ingestion chronique de daidzéine chez le rat [182]. L'équol pourrait être un produit de dégradation de la daidzéine par la flore fécale [183, 179].

Comparativement aux autres flavonoïdes, la daidzéine est davantage affectée par les enzymes de phase I. En effet, après administration de daidzine (7-O-glucoside), plusieurs métabolites de phase I ont été identifiés par RMN dans l'urine de rats [184]. Il s'agit notamment de la 3',4',7-trihydroxyisoflavone résultant de l'hydroxylation de la daidzéine en position 3' et de la 4',7-dihydroxyisoflavanone obtenue par réduction du cycle C.

Plus « classiquement », les isoflavones peuvent être conjuguées par les enzymes de phase II. La proportion des métabolites sulfatés de la daidzéine est constante (environ 70%) dans le plasma au cours des 8 heures qui suivent l'ingestion chez le rat [172]. Les 30% restants sont répartis en formes sulfoglucuronidées (25%) et en formes glucuronidées (5%). Au-delà de 8 heures, la proportion des métabolites sulfoglucuronidés augmente au détriment des formes sulfatées, pour atteindre 100 % des métabolites circulants à t+24 heures. Les formes sulfatées doivent donc être progressivement glucuronidées. Chez l'homme, les résultats sont comparables et les formes sulfatées ou sulfoglucuronidées sont également majoritaires [185]. L'analyse des métabolites urinaires et biliaires après ingestion de daidzéine chez le rat a permis d'identifier la daidzéine 7-O- β -D-glucuronide [186]. En revanche, l'ingestion de daidzine conduit à l'apparition de quatre métabolites dans l'urine. Trois d'entre eux sont des métabolites conjugués, auxquels il faut ajouter la forme aglycone. La LC/MS/MS a également permis d'identifier la glycitine, la dihydrodaidzéine,

l'équol et le O-DMA glucuronidés en position 7 et/ou 4' après ingestion d'un isolat de protéine de soja [180].

- La *génistéine* chez le rat est majoritairement glucuronidée en position 7 [187]. Elle l'est également en position 5. Aucune forme sulfatée n'a été détectée, ce qui contraste avec les précédents travaux [180].

La part de la flore intestinale est encore mal connue mais elle pourrait jouer un rôle important dans la dégradation des isoflavones : la fermentation anaérobie de daidzéine et de génistéine avec des bactéries de la flore colique humaine provoque la synthèse d'équol, de dihydrodaidzéine et de 4,7-diol-3-(4-hydroxyphényl) benzopyrane [183]. Cependant, la formation de ces métabolites dépend de la nature de la flore intestinale, variable selon les régimes et les individus et par conséquent selon les différentes régions du monde, expliquant ainsi que l'équol ne soit pas retrouvé dans l'urine de tous les sujets [178, 188].

2.3.3 EXCRETION DES ISOFLAVONES


L'excrétion urinaire de la daidzéine et ses métabolites (équol et O-DMA) représente environ 20 à 40% de la dose ingérée. Cette valeur est environ deux fois plus importante que celle de la génistéine, ce qui amène à formuler deux hypothèses : soit la génistéine est moins absorbée ; soit elle est éliminée par une autre voie. Quelle que soit l'hypothèse retenue, la différence de comportement de ces deux isoflavones dépend de leur solubilité en milieu aqueux. En effet, plus le pH est acide et plus l'écart de solubilité entre ces deux composés se creuse.

Ainsi, au pH gastrique (compris entre 1 et 2), la daidzéine est beaucoup plus soluble que la génistéine [171]. La meilleure solubilité de la daidzéine dans le tractus digestif expliquerait alors sa plus forte biodisponibilité. Au pH physiologique (7,4), la meilleure solubilité de la génistéine pourrait favoriser son excrétion par voie biliaire. Cette hypothèse a été vérifiée par l'utilisation de génistéine radiomarquée ($[^{14}\text{C}]$ -génistéine). La radioactivité apparaît dans le conduit biliaire 20

minutes après le début de la perfusion du composé dans le duodénum des rats [187]. Sur 4 heures, 70 à 75% de la radioactivité sont retrouvés dans la bile. Une autre équipe a relevé des teneurs plus faibles, avec seulement 16% de la dose ingérée retrouvés au cours des 36 heures suivant l'ingestion [189].

Du fait de son excrétion par voie biliaire, la génistéine peut être réabsorbée au niveau de l'intestin. Le suivi par RMN de la génistéine 7-O- β -glucuronide a révélé sa présence dans le conduit biliaire, puis dans l'intestin grêle où elle est réabsorbée et partiellement excrétée par la voie urinaire. De ce fait, $7,4 \pm 1,7\%$ de la teneur dosée dans la bile sont retrouvés dans l'urine [187]. De la même façon, $2,4 \pm 0,5\%$ de la génistéine biliaire non conjuguée sont finalement excrétés dans l'urine. Cette étude est la première qui met clairement en évidence la circulation entéro-hépatique des flavonoïdes.

Une faible proportion (de 1 à 4%) des isoflavones ingérées est retrouvée dans les fèces [177, 190]. Ces composés pourraient avoir traversé de nouveau les entérocytes juste après leur absorption ou après excrétion par voie biliaire. La figure 6 présente un résumé du métabolisme et de l'excrétion des isoflavones.

 Malgré les faibles différences structurales qui existent entre la génistéine et la daidzéine (un groupement hydroxyle), la biodisponibilité de ces deux isoflavones diffère largement. D'une part, les voies métaboliques sont différentes, d'autre part, l'excrétion de la génistéine se fait majoritairement par voie biliaire tandis que la daidzéine est plutôt excrétée par voie urinaire.

2.4 BIODISPONIBILITE DES FLAVANONES

Ces composés ont été moins étudiés que les précédentes classes de flavonoïdes, probablement en raison de leur présence limitée à quelques aliments, notamment les agrumes. Ils seraient présents dans le plasma humain à hauteur de 8,2 nmol/L dans le cadre d'une alimentation équilibrée [191] et

325 nmol/L pour une alimentation riche en fruits et légumes [192]. Toutefois se pose la question de l'absorption des flavanones glycosylées, majoritaires dans les aliments.

2.4.1 ABSORPTION DES FLAVANONES

L'ingestion comparée de naringénine et de deux formes glycosylées (la naringénine 7-O-rhamnoglucoside et la naringénine 7-O-glucoside ou naringine) donne des résultats similaires à ceux obtenus avec les flavonols : seule la forme aglycone (la naringénine) est retrouvée dans le plasma chez le rat ou le lapin [193, 194], avec une biodisponibilité de l'ordre de 8% [194], les formes glycosylées n'étant pas détectées. Les cinétiques d'apparition dans le plasma des formes hydrolysées par rapport aux formes aglycones natives présentent un retard qui dépend de la nature de la glycosylation : contrairement à la naringénine et à la naringine, la forme aglycone de la naringénine 7-O-rhamnoglucoside n'est détectée que 10 heures après ingestion [193], alors que la cinétique d'absorption de la naringénine présente un maximum à $t = 2\text{h}$ [195]. Les flavanones du jus d'orange (hespéridine, narirutine) n'apparaîtraient en revanche dans le plasma que 3 heures après ingestion, avec un maximum variant de 5 à 7 heures après ingestion [196]. Les procédés industriels appliqués au jus d'orange (pasteurisation, concentration) pourraient avoir une influence bénéfique, en limitant la formation de chalcones dans le jus et en augmentant ainsi la quantité de flavanones disponibles pour l'absorption [197].

2.4.2 METABOLISATION DES FLAVANONES

Le phénomène de métabolisation semble être saturable : ingérée à faible dose (3,8 mg dans 150 g de tomates) la naringénine est retrouvée entièrement sous forme conjuguée dans le plasma [195], alors que d'autres auteurs utilisant des doses plus importantes ne la retrouvent conjuguée qu'à 81% [194] ou 90% [193]. Selon Manach *et al.* [196], 87% seraient sous forme glucuronidée et 13% sous forme sulfoglucuronidée. Par ailleurs, d'autres métabolites plasmatiques ont été identifiés, notamment l'acide *p*-coumarique, l'acide *p*-hydroxyphénylpropionique et l'acide *p*-

hydroxybenzoïque. Toutefois, les concentrations de ces acides phénoliques sont faibles et leur détection, en limite de sensibilité, ne permet pas de les doser avec précision [193].

Dans l'urine, la naringénine est retrouvée sous forme glucuronidée [198], mais les auteurs n'ont pas réalisé le dosage des formes sulfatées ou sulfoglucuronidées. Des acides phénoliques présents sont retrouvés dans l'urine à des concentrations permettant un dosage fiable [193]. L'acide *p*-hydroxyphénylpropionique est le plus abondant, suivi de l'acide *p*-coumarique et de l'acide *p*-hydroxybenzoïque. Après ingestion de jus de fruits chez des sujets humains (apportant l'équivalent de 500 mg de naringine et d'hespéridine), quatre métabolites méthylés apparaissent dans l'urine [199]. Comme ces composés méthylés étaient déjà présents sous forme glycosylée dans les jus de fruits, il est difficile de savoir si leur présence dans l'urine provient de la méthylation par l'organisme ou s'il s'agit de l'absorption des formes méthylées initialement présentes dans les jus de fruits et hydrolysées dans l'intestin.

Le dosage dans les fèces montre que contrairement à la naringénine 7-O-glucoside, la naringénine 7-O-rhamnoglucoside n'est totalement hydrolysée en naringénine qu'au bout de 24 heures [193]. Ceci s'explique par la plus faible activité de l' α -rhamnosidase par rapport à celle de la glucosidase. La flore fécale est également capable de réaliser une métabolisation plus poussée : l'incubation de [3-¹⁴C]-hespérétine avec la flore fécale des rats conduit à la formation d'acides phénoliques [200]. La présence d'acides phénoliques, à l'état de traces dans le plasma et en plus forte quantité dans l'urine après ingestion de flavanones, résulte donc probablement d'une dégradation des flavanones par la flore fécale.


2.4.3 EXCRETION DES FLAVANONES

Les formes conjuguées et aglycones sont toutes éliminées par voie urinaire. Pour la naringénine, la forme aglycone représente $1,9 \pm 0,9\%$ et la forme glucuronidée $7,8 \pm 1,15\%$ de la

dose ingérée [198]. Avec la naringine, le taux d'excrétion est de $0,5 \pm 0,2\%$ de la dose ingérée pour la forme aglycone et de $12,7 \pm 2,2\%$ pour le métabolite glucuronidé.

Chez l'homme, l'excrétion urinaire de naringénine et d'hespérétine après ingestion orale de 500 mg de leur équivalent glycosylé est respectivement de 4,89 et 2,97% de la dose ingérée (résultats prenant en compte les formes aglycones et les métabolites glucuronidés) [199].

Ces quantités augmentent fortement lorsque la source est du jus d'orange ou de pamplemousse : l'excrétion urinaire est respectivement de $4,1 \pm 1,2\%$ et $7,9 \pm 1,7\%$ [196] ou de 6,81% pour la naringénine et de 24,43% pour l'hespérétine [199], ces valeurs ne semblant pas dépendre de la quantité ingérée [196]. Ainsi, la biodisponibilité des flavanones pourrait être supérieure dans les jus d'agrumes.

 A l'heure actuelle, la biodisponibilité des flavanones est loin d'être totalement explorée : l'importance de l'excrétion biliaire, l'identification précise des métabolites chez l'homme, la distribution dans les tissus, etc. restent à déterminer. Toutefois, les premières études montrent que l'absorption des formes glycosylées est similaire à celle des flavonols glycosylés.

2.5 BIODISPONIBILITE DES DIHYDROCHALCONES

La phlorétine et son dérivé glycosylé, la phloridzine (phlorétine 3-O- β -D-glucose), présents dans les pommes, participent pour environ 10% à l'apport en flavonoïdes de l'alimentation.

La perfusion *in situ* d'intestin de rats par de la phlorétine montre que celle-ci est absorbée (environ 60%), tout comme la phloridzine [129], mais 80% de la phloridzine retrouvée dans l'effluent (fraction non absorbée) sont sous forme aglycone (phlorétine). La phloridzine pourrait être hydrolysée par deux voies différentes : soit directement dans la lumière intestinale, soit par une β -glycosidase cytosolique des entérocytes puis relarguée dans la lumière intestinale.

Aucune trace de phloridzine n'a été détectée dans le plasma après consommation de 1,1 L de cidre (apportant 4,8 mg de phlorétine en équivalent aglycone) [201]. En revanche, $21 \pm 5\%$ de la dose ingérée de ces dihydrochalcones sont retrouvés dans l'urine, ce qui indique qu'elles peuvent passer dans la circulation générale après hydrolyse.

Les connaissances sur la biodisponibilité des dihydrochalcones sont très incomplètes et nécessiteraient de nombreuses études complémentaires. En effet, il est pour l'instant impossible d'estimer le temps de séjour dans l'organisme des formes circulantes, paramètre pourtant indispensable pour évaluer l'impact qu'elles pourraient avoir sur l'organisme.

2.6 BIODISPONIBILITE DES FLAVONES

Très peu d'études de biodisponibilité portent sur ces composés. Les quelques données disponibles ont été apportées par des études *in vitro*.

Une étude sur des cellules de type Caco-2 (lignée cellulaire épithéliale intestinale humaine) a permis de montrer que la [^{14}C]-flavone était capable de pénétrer dans la cellule et d'y être partiellement accumulée [202]. De plus, les cellules ont démontré leur capacité à relarguer la flavone du côté luminal. Comme pour les flavonols, cette dernière observation laisse envisager que les flavones peuvent directement être éliminées après absorption et métabolisation par l'entérocyte sans entrer dans la circulation générale.

L'administration d'apigénine, de chrysin ou de tectochrysin à des rats, est suivie d'une élimination de ces composés dans l'urine [203]. Par ailleurs, l'apigénine est retrouvée partiellement glucuronidée (environ 30%) et sulfatée (de 5 à 10%).

La biodisponibilité des flavones reste quasiment inconnue et de nombreuses études devront être réalisées pour déterminer les métabolites circulants.

2.7 BIODISPONIBILITE DES ANTHOCYANES

Les anthocyanes font partie des composés abondants du raisin et du vin (pigments) ainsi que des fruits rouges. Elles sont présentes principalement sous des formes glycosylées, ce qui a conduit pendant longtemps à les considérer comme non absorbables.

2.7.1 ABSORPTION DES ANTHOCYANES

Différentes données sont disponibles sur la biodisponibilité des anthocyanes du sureau (cyanidine 3-sambubioside (C3S) (xyloglucoside) et cyanidine 3-glucoside (C3G)). C3S et C3G ont ainsi été détectées dans le plasma humain [204] ou de rat [205], accompagnées parfois d'une très faible proportion de formes aglycones [206]. La concentration est maximale 70 minutes environ après ingestion de 720 mg de C3S et de C3G et atteint 40 nM pour les deux composés chez l'homme [204]. Les doses d'anthocyanes retrouvées dans le plasma correspondent à moins de 1 % des doses ingérées, et ce que des hydrolyses enzymatiques des échantillons aient été pratiquées ou non [205, 207, 208]. Par ailleurs, jusque récemment aucun métabolite conjugué n'avait pu être détecté dans le plasma [204].

La biodisponibilité d'anthocyanes à la structure plus complexe a également été étudiée [209] : des rats ont été nourris avec des patates douces (*Ipomoea batatas*) contenant de la péonidine 3-caffeoylsophoroside-5-glucoside. A l'instar des formes glycosylées, ce composé acylé et glycosylé est retrouvé dans le plasma où sa concentration est maximale 30 minutes après ingestion.

Le mécanisme de l'absorption des anthocyanes est encore inconnu mais certains auteurs évoquent la possibilité d'une diffusion facilitée mettant en jeu les transporteurs du glucose [208]. Les quantités absorbées semblent dépendre de la nature du sucre accroché à l'anthocyane, les rutinosides étant mieux absorbés que les glucosides. En effet, les quantités cumulées de C3R retrouvées dans le plasma de rat sont plus importantes que celles de C3G après gavage avec la même quantité de chaque composé (800 $\mu\text{mol/kg}$ de masse corporelle). Le maximum d'absorption

(900 nmol/L) survient dans les deux cas dans les 30 minutes suivant le gavage, cependant cette concentration chute rapidement jusqu'à 200 nmol/L à $t = 240$ minutes dans le cas de la C3G alors qu'elle se maintient pendant 90 minutes pour le C3R [207].

Les formes aglycones étant très rarement retrouvées dans le plasma et dans les urines, on peut supposer que le mécanisme d'absorption ne met pas en jeu une hydrolyse intestinale des formes glycosylées [205, 210]. Toutefois, Tsuda *et al.* [210] ont retrouvé l'aglycone de la C3G dans la muqueuse intestinale mais pas dans le plasma ; ils supposent que cet aglycone y serait dégradé en acide protocatéchique détecté ensuite dans le plasma. L'absorption pourrait également se faire dès l'estomac puisque de la C3G a été retrouvée dans les muqueuses gastriques chez le rat après ingestion de ce composé [210]. Le foie serait quant à lui le siège du stockage des anthocyanes sous forme méthylée, le surplus étant excrété dans l'urine [210] ou dans la bile [205]. Les formes aglycones retrouvées dans les urines pourraient être le fruit d'une hydrolyse au niveau rénal [211].

Les arabinosides d'anthocyanes seraient absorbés par d'autres mécanismes car les quantités retrouvées dans l'organisme diffèrent notablement de celles des autres anthocyanes [208].

2.7.2 METABOLISATION DES ANTHOCYANES

La métabolisation des anthocyanes dans l'organisme est mal connue car peu d'auteurs ont réussi à retrouver des formes métabolisées dans les échantillons biologiques. Plusieurs raisons ont été invoquées, en particulier l'instabilité des formes conjuguées lors de la congélation des échantillons [210, 211] ou la structure de cation flavilyum des anthocyanes qui les rendrait résistantes à la conjugaison enzymatique [205]. L'analyse est également compliquée car les glucuronides éventuellement formés ne s'hydrolyseraient pas en présence de la β -glucuronidase classiquement utilisée [208].

Des formes méthylées de la C3G, dont la péaonine-3-glucoside (P3G), ont toutefois été détectées dans le foie de rats ayant consommé 320mg de C3G [205] et plus récemment des formes

glucuronidées et quelques formes sulfatées ont été détectées dans les urines de sujets ayant ingéré des fraises [211]. De plus, des acides phénoliques en quantité importante ont également été retrouvés, conjugués ou non, dans le plasma et les urines de sujets humains ayant consommé du jus de cassis [212], ou de la C3G chez le rat [210], ce qui laisse supposer une métabolisation intense. Toutefois, une part de ces acides pourrait provenir des jus ingérés.

2.7.3 EXCRETION DES ANTHOCYANES

Dans l'urine, on ne retrouve que 0,06% de la dose ingérée de cyanidine-3-sambubioside et de C3G sous forme native (glycosylée) après ingestion de baies de sureau chez l'homme. Ces deux formes peuvent avoir été hydrolysées partiellement car l'urine contient aussi de la cyanidine (forme aglycone) [206, 204]. L'excrétion est rapide dans les 4 premières heures puis ralentit jusqu'à devenir nulle en 24h. Dans une autre étude réalisée chez l'homme, l'analyse de l'urine après consommation de vin rouge apportant 218 mg d'anthocyanes, a montré que 1,5 à 5,1% des anthocyanes ingérées étaient retrouvés inchangés dans l'urine [213]. Les anthocyanes du jus de cassis (delphinidine-3-glucoside, delphinidine-3-rutinoside, C3G, Cyanidine-3-rutinoside) sont également excrétés dans l'urine humaine telles qu'ingérées mais dans des quantités très faibles allant de 0,021% à 0,05% de la dose ingérée en environ 100 minutes [214], de même pour les anthocyanes de myrtille dont on ne retrouve que 0,004% de la dose ingérée dans les urines [208].

Deux études plus récentes ont permis de mettre en évidence la présence de formes métabolisées dans les urines. La première, dans laquelle les sujets avaient consommé 200 g de fraises (soit 179 μ mol de pélargonine-3-glucoside), a mis en évidence la présence dans les urines de $1,80 \pm 0,29\%$ de la dose ingérée, dont 83% sous diverses formes glucuronidées [211] ; la seconde a également montré la présence de formes glucuronidées dans l'urine lorsque des sujets humains consommaient 12 g de baies de sureau (0,077% de la dose ingérée) [208].



La biodisponibilité des anthocyanes semble très différente des autres flavonoïdes : d'une part, les formes glycosylées et acylées sont retrouvées intactes dans le plasma et dans l'urine, et d'autre part, peu de métabolites ou formes conjuguées ont pu être détectés. La présence d'une charge positive sur le cycle C de ces flavonoïdes pourrait être à l'origine de leur comportement atypique. Cependant, il ne s'agit que de premiers résultats qui demanderaient à être vérifiés sur l'ensemble des anthocyanes, dont la diversité est très grande.

3 BIODISPONIBILITE DES TANINS

On distingue deux sortes de tanins. Les tanins hydrolysables, polymères d'acide gallique et d'acide ellagique, sont peu abondants dans l'alimentation (grenades, cosses de certaines légumineuses [14]). Ils sont généralement glycosylés par le D-glucose ou plus rarement estérifiés par de l'acide quinique, pour donner des composés dont la masse molaire varie de 500 à plus de 2800 Da. Une seule étude suggère l'apparition de l'acide tannique dans le plasma et les urines de rat après son ingestion [215].

A l'inverse, les tanins non hydrolysables (proanthocyanidines) sont des polymères de flavan-3-ols et de flavan-3,4-diols. Ce sont les plus abondants dans les végétaux et ils sont rarement glycosylés. Leur masse molaire varie de 2000 à 4000 Da [29]. Les fruits contiennent de nombreux oligomères, notamment des dimères $C_4 - C_8$ ou $C_4 - C_6$ (procyanidines B_1 à B_8). En dépit de leur abondance dans les végétaux, ils restent assez peu connus en raison de leur grande diversité structurale et de la forte variation des teneurs au cours de la maturation des fruits. Sous forme polymérisée, ces composés ne peuvent pas traverser la barrière intestinale, alors que les oligomères peuvent être absorbés [29].

Une étude réalisée sur culture cellulaire Caco-2 a permis de déterminer que le coefficient de perméabilité d'un oligomère de 6 unités (1740 Da) était dix fois plus faible que celui de la (+)-

catéchine [216]. En revanche, le coefficient de perméabilité des dimères et trimères est proche de celui du monomère. Peu d'études permettent à l'heure actuelle d'évaluer la biodisponibilité des procyanidines dimériques. Il a d'abord été montré chez le rat que la procyanidine B₃ d'un extrait de pépins de raisin n'était pas absorbée, ce qui a conduit les auteurs à conclure que son action protectrice aurait lieu uniquement au niveau du tube digestif [217]. Par la suite, d'autres auteurs ont retrouvé de la procyanidine B₂ en quantité non négligeable dans le plasma 30 minutes après ingestion de cacao chez l'homme [218], des procyanidines B₂ et B₃ après ingestion d'un extrait de cannelle chez le rat [219], de la procyanidine B₁ dans le plasma humain après ingestion d'un extrait de pépins de raisin [220] ou encore de la procyanidine B₂ intacte chez le rat après ingestion de cette molécule pure [221].

Ces derniers auteurs ont également retrouvé dans le plasma des formes conjuguées et libres de (-)-épicatéchine dans la même expérimentation. Cela confirme que certains tanins sont partiellement hydrolysés dans le tube digestif, libérant ainsi des monomères potentiellement biodisponibles. Si l'incubation de procyanidines avec de la salive n'entraîne pas de modification des polymères, celles-ci sont en revanche hydrolysées en unités mono- ou dimériques dans un fluide gastrique reconstitué [222]. A un pH inférieur à 2 à 37°C, l'hydrolyse des oligomères est complète en 3 heures environ. Ces paramètres de pH et de temps étant compatibles avec les conditions d'une digestion, il est très probable que ces polymères soient hydrolysés au niveau de l'estomac en unités monomériques d'EC et de catéchine qui peuvent être ensuite absorbées au niveau de l'intestin.

Par ailleurs, les procyanidines non hydrolysées au niveau de l'estomac pourraient l'être au niveau du côlon : l'incubation de procyanidines radiomarquées au ¹⁴C avec une culture de flore intestinale humaine a en effet montré que les polymères étaient complètement dégradés au bout de 48 heures [223]. La dégradation va d'ailleurs au-delà de la simple dépolymérisation puisque des acides monophénoliques (phénylacétique, phénylpropionique, phénylvalérique) ont été détectés ; la

consommation de 80 g chocolat apportant 439 mg de proanthocyanidines fait également augmenter l'excrétion urinaire de 6 acides phénoliques chez l'homme [224]. L'acide phénylpropionique est le métabolite le plus abondant dans ces conditions et, globalement, les composés produits ont la même structure que ceux obtenus après incubation des flavan-3-ols dans les mêmes conditions.

4 BIODISPONIBILITE DES STILBENES

Les stilbènes, et notamment le resvératrol, sont des composés présents dans le vin rouge, formés en réponse à l'attaque par un champignon (*Botrytis cinerea*) ou après exposition à l'ozone. Leurs propriétés antioxydantes et anticancéreuses ont souvent été rapportées [225, 226, 54].

Il a été montré, par perfusion d'une portion d'intestin de rat (jéjunum), que le resvératrol pouvait traverser la barrière intestinale [87]. Son absorption n'est cependant pas très importante car seuls 6 % de la dose perfusée sont absorbés par l'ensemble jéjunum + iléon. Après ingestion de vin rouge par des rats (apportant 80 µg/kg masse corporelle de resvératrol), l'apparition du composé libre (pas de dosage des formes conjuguées) dans le compartiment plasmatique a été suivie [227]. La concentration est maximale (environ 100 nM) 60 minutes après ingestion, mais cette concentration est sous-estimée en l'absence de dosage des métabolites conjugués. Chez le lapin, le composé est ensuite très rapidement éliminé puisque sa demi-vie dans le plasma après injection i.v. est de 14,4 minutes [228].


Par ultracentrifugation, il est possible de déterminer la fraction plasmatique contenant le plus de resvératrol. La fraction protéique en contient la plus grande partie ($76,4 \pm 13,2\%$) [225], tandis que seuls $3,72 \pm 0,47\%$ du resvératrol sont retrouvés dans les lipoprotéines plasmatiques.

Le resvératrol est largement métabolisé. En effet, la forme glucuronidée représente 99% des formes absorbées au niveau de l'intestin [87] et, chez l'homme, une resvératrol glucuronosyltransférase a récemment été identifiée dans le foie [229]. Même si des études complémentaires sont nécessaires, il semble que la glucuronidation se fasse principalement en

position 4' [87]. Par ailleurs, le resvératrol peut être également sulfaté au niveau du foie et du duodénum, toujours chez l'homme [230]. Comme pour la glucuronidation, une resvératrol sulfotransférase a été isolée. Il paraît important de noter que ces deux enzymes sont inhibées par d'autres composés phénoliques et plus particulièrement par la quercétine [231]. D'une manière générale, la conjugaison des molécules a tendance à augmenter leur vitesse d'élimination. Par conséquent, si la proportion de resvératrol métabolisée est plus faible à cause de l'action inhibitrice des autres substances, son temps de séjour a de grandes chances d'être augmenté, et son potentiel protecteur pourrait alors être meilleur.

Enfin, le resvératrol est distribué dans plusieurs organes chez le rat, la souris et le lapin, notamment dans le foie, le cœur, les reins et le cerveau [227, 228, 232]. Le pic hépatique est atteint 30 minutes après ingestion, mais la concentration dans cet organe reste élevée, entre 30 et 180 minutes [227, 232]. Elle diminue ensuite lentement jusqu'à disparaître complètement au bout de 480 minutes. La concentration dans les tissus reste cependant inférieure à 1 nmol/g tissus (poids frais) après ingestion orale de 20 mg de *trans*-resvératrol chez la souris [228].

L'urine est l'une des voies d'élimination [227] car le resvératrol est détecté dans la vessie 480 minutes après ingestion.

 On sait encore peu de choses sur la biodisponibilité du resvératrol. Il a été montré qu'en dépit de sa faible absorption, ce composé est distribué dans de nombreux tissus. Il serait cependant intéressant de savoir s'il se trouve sous forme métabolisée ou sous forme libre au niveau des organes afin d'évaluer plus précisément le rôle protecteur qu'il pourrait exercer. Par ailleurs, la biodisponibilité des autres stilbènes, et notamment du picéide (dérivé glycosylé du resvératrol), est inconnue à ce jour.

5 BIODISPONIBILITE DES COMPOSES PHENOLIQUES DE L'OLIVE

L'étude des polyphénols présents dans les huiles est très récente. Les plus étudiés sont le tyrosol, l'hydroxytyrosol et son dérivé estérifié, l'oleuropéine, présents dans l'huile d'olive, une des composantes importantes du régime méditerranéen [233, 1].

5.1 ABSORPTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE L'OLIVE

Peu de valeurs sont disponibles sur les cinétiques d'apparition et les teneurs de ces composés dans le plasma. Bai *et al.* [234] ont fait ingérer 10 mg d'hydroxytyrosol à des rats et ont ainsi montré son apparition rapide dans le plasma. Un pic est atteint dans les 10 minutes suivant l'ingestion alors que plus rien n'est détecté 60 minutes après absorption. L'oleuropéine, quant à elle, n'atteindrait son pic plasmatique chez le rat que deux heures après ingestion, pour réatteindre son niveau basal après 5 heures [235].

Vissers *et al.* [236] ont fait ingérer à des patients iléostomisés trois suppléments alimentaires à base d'extraits d'olive contenant chacun 100 mg de composés phénoliques. Ils observent des taux d'absorption apparents (la quantité de polyphénols absorbée est égale à la quantité ingérée par les sujets à laquelle on soustrait la quantité dosée dans le fluide iléostomique) de 55-66% pour le « supplément apolaire » constitué majoritairement de tyrosol et d'hydroxytyrosol, de 68-69% pour le « supplément polaire » contenant majoritairement de l'oleuropéine et de 66-73% pour le verbacoside (oleuropéine glycosylée). La comparaison de l'excrétion urinaire de ces mêmes sujets avec celle de sujets normaux permet de penser que la majorité de l'absorption se ferait au niveau de l'intestin grêle, le côlon n'ayant dans le phénomène qu'un rôle secondaire [236]. Il n'a en revanche pas été déterminé si l'hydrolyse de l'oleuropéine en hydroxytyrosol se produisait avant ou après absorption.

Les mécanismes d'absorption de ces composés phénoliques sont encore mal connus. La polarité du tyrosol et de l'hydroxytyrosol laisse penser que son absorption pourrait se faire par

diffusion passive [236], ce qui est également suggéré par des données obtenues avec le modèle cellulaire Caco-2 [237]. L'oleuropéine glycosylée, moins polaire, serait plutôt absorbée soit *via* un transporteur de glucose, soit par voie *trans* ou *para* cellulaire. [236, 238]. Il n'existe pas de données concernant l'absorption de l'oleuropéine aglycone.

5.2 METABOLISATION DES COMPOSES PHENOLIQUES LIPOSOLUBLES


Plus de 90% des composés phénoliques liposolubles sont retrouvés dans l'urine sous forme glucuronidée et une faible partie le serait sous forme méthylée [236, 235]. De plus, Visioli *et al.* [239] ont montré que la proportion de formes glucuronidées du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans l'urine augmentait proportionnellement à la dose ingérée, sauf dans le cas de l'ingestion d'une huile trop concentrée en polyphénols (1,95 g/L d'huile), ce qui suggère que la glucuronidation de ces composés serait saturable.

Plus de sept métabolites des polyphénols liposolubles ont déjà été identifiés, dont l'acide homovanillique et l'alcool correspondant, l'acide 3-dihydroxyphenylacétique et le 3,4 dihydroxyphénylacétaldéhyde [239-241]. Toutefois, des études complémentaires sont indispensables, notamment pour déterminer la distribution dans l'organisme de ces composés.

5.3 EXCRETION DES COMPOSES PHENOLIQUES LIPOSOLUBLES

Les pourcentages d'excrétion du tyrosol et de l'hydroxytyrosol dans l'urine sont très variables selon les auteurs, la nature de l'organisme et les méthodes de mesures employées. Par radiomarquage chez le rat, $94,1 \pm 2,6\%$ de la radioactivité fixée sur de l'hydroxytyrosol sont retrouvés dans l'urine 24 heures après administration orale du composé dissout dans de l'huile [240] contre $70,9 \pm 2,1\%$ dans de l'eau ; quand au tyrosol, seuls $72,9 \pm 6,3\%$ de la radioactivité y sont retrouvés lorsqu'il est dissout dans l'huile et $53,2 \pm 5,4\%$ après dissolution dans l'eau. Par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection en spectrométrie de masse, seuls $24,7 \pm$

8,5% de la dose de tyrosol ingérée dans 50 mL d'huile d'olive sont retrouvés dans l'urine humaine sur 24 heures [242], ou encore 6-12% après ingestion d'un supplément alimentaire de 100 mg d'extrait d'huile d'olive [236]. Les valeurs les plus faibles ont cependant été obtenues avec des composés extraits de l'huile d'olive tandis que les plus fortes étaient obtenues après ingestion d'huile d'olive, qui contient également de l'oleuropéine susceptible d'être hydrolysée en hydroxytyrosol, ce dont les auteurs ne tiennent pas compte. L'oleuropéine serait quant à elle excrétée à hauteur de 16% pour sa forme glycosylée contre 5-6% pour sa forme aglycone lorsque les composés sont ingérés purifiés à partir d'huile d'olive [236]. L'analyse de l'urine par LC/MS/MS et par RMN a permis d'identifier de nombreux métabolites méthylés, glucuronidés, sulfatés et oxydés [236, 243, 239, 242].

 La connaissance de la biodisponibilité des polyphénols de l'olive progresse rapidement. Peu de données sont encore disponibles sur les cinétiques d'apparition et les teneurs de ces composés dans le plasma, mais on soupçonne que la majorité de l'absorption se ferait au niveau de l'intestin grêle, suivie par une métabolisation intense. On connaît encore mal la distribution de ces composés dans l'organisme.

CONCLUSION

La biodisponibilité des polyphénols est un domaine de recherche en perpétuelle évolution. Les travaux sont très nombreux et pour la plupart très récents. Les doses utilisées, le modèle animal choisi et l'influence de la forme d'administration sont autant de variables expérimentales dont l'importance est mal connue.

Tous les polyphénols sont *a priori* biodisponibles et de ce fait, pourraient participer à la protection contre les maladies cardiovasculaires, le cancer... Néanmoins, l'absorption, la métabolisation et l'excrétion des polyphénols sont très dépendantes de leurs structures chimiques (squelette carboné considéré, position et nombre de groupements phénoliques, présence d'une charge...). Quelques éléments ressortent des travaux publiés :

- *L'absorption* est d'autant plus forte que la solubilité dans le tractus digestif ou que l'affinité pour la membrane intestinale est grande. La forme ingérée (simple, glycosylée ou estérifiée) joue un rôle considérable dans la biodisponibilité des polyphénols : les formes glycosylées sont préalablement hydrolysées et leur apparition dans le plasma est de ce fait retardée. Ces formes pourraient aussi être absorbées telles quelles par transport actif, vraisemblablement au niveau du récepteur glucose/sodium dépendant. Cependant le mécanisme réel d'absorption des polyphénols reste inconnu. On peut en effet se demander si leur faible masse molaire, leur faible charge ionique et leur polarité conduisent à une diffusion passive ou si le passage de la barrière intestinale est plutôt réalisé *via* une diffusion facilitée ou un transport actif (cas des formes glycosylées ?)

- *La métabolisation* des polyphénols est très importante. Quelle que soit la classe de polyphénols considérée, la proportion de forme native dans le plasma ou l'urine est faible, et les métabolites conjugués (formes sulfatées et/ou glucuronidées) sont largement majoritaires (> 75%). Par ailleurs, un certain nombre de flavonoïdes et d'acides phénoliques sont méthylés. Enfin, la métabolisation par la flore intestinale est intense et serait à l'origine d'un grand nombre de dérivés.

Or, à de rares exceptions près, la biodisponibilité de ces métabolites n'est pas prise en compte dans la biodisponibilité totale du composé ingéré.

- *Le transport* des polyphénols et de leurs métabolites dans le sang est assez peu étudié bien que les conséquences en terme d'effet protecteur soit important : la liaison avec une protéine de transport réduit fortement la vitesse d'élimination du composé mais sa distribution dans les tissus est probablement plus faible. Une association avec la fraction lipoprotéique du sang permettrait une action *in situ* des polyphénols.

- *La distribution* dans les tissus reste le point le plus méconnu. De rares études font état de la présence de polyphénols et de leurs métabolites dans de nombreux tissus (foie, reins, cerveau, poumons...) mais la concentration extravasculaire reste faible.

- *L'élimination* est dépendante de la polarité du composé : les composés les moins polaires ainsi que les métabolites méthylés sont préférentiellement excrétés par voie biliaire tandis que les autres formes sont éliminées par voie urinaire. Cependant, aucune « exclusivité » n'a été mise en évidence. Enfin, certains flavonoïdes pourraient être directement relargués au niveau des entérocytes après métabolisation.

ABREVIATIONS :

CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance	MCV	: Maladies cardio-vasculaires
C3G	: Cyanidine-3-glucoside	Me-C	: (+)-Méthylcatéchine
C3S	: Cyanidine-3-sambutoside	Me-EC	: (-)-Méthylépicatechine
COMT	: Catéchol-O-méthyltransférase	Me-EGCg	: (-)-Méthylépigallocatechine gallate
EC	: (-)-Epicatechine	p.o.	: par voie orale
ECg	: (-)-Epicatechine gallate	P3G	: péaonine-3-glucoside
EGC	: (-)-Epigallocatechine	PST	: Phénolsulfotransférase
EGCg	: (-)-Epigallocatechine gallate	RMN	: Résonance magnétique nucléaire
HDL	: Lipoprotéines de haute densité	UGT	: Uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransférase
i.v.	: par voie intraveineuse	VLDL	: Lipoprotéines de très faible densité
LDL	: Lipoprotéines de faible densité		
LPH	Lactase Phlorizine Hydrolase		

BIBLIOGRAPHIE

1. Trichopoulou A., et al. *Guidelines for the intake of vegetables and fruits : the Mediterranean approach*. Int. J. Vitamin Nutr. Cancer, **71**, 149-153, 2001.
2. de Lorgeril M., Salen P. *Mediterranean type of diet for the prevention of coronary heart disease*. Int. J. Vitamin Nutr. Cancer, **71**, 166-172, 2001.
3. Visioli F., Galli C. *Biological properties of olive oil phytochemical*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **42**, 209-221, 2002.
4. Renaud S., de Lorgeril M. *Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease*. Lancet, **339**, 1523-1526, 1992.
5. Ness A., Powles J.W. *Fruit and vegetables, and cardiovascular diseases: a review*. Int. J. Epidemiol., **26**, 1-13, 1997.
6. Willett W. *Diet and cancer*. Oncologist, **5**, 393-404, 2000.
7. Block G., et al. *Fruit, vegetable, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence*. Nutr. Cancer, **18**, 1-29, 1992.
8. Geleijnse J.M., et al. *Tea flavonoids may protect against atherosclerosis - The Rotterdam Study*. Arch. Intern. Med., **159**, 2170-2174, 1999.
9. Jacobs D.R., et al. *Whole-grain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women : the Iowa Women's Health Study*. Am. J. Clin. Nutr., **68**, 248-257, 1998.
10. Jacobs D.R., et al. *Fiber from whole-grain, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women : the Iowa Women's Health Study*. J. Am. Coll. Nutr., **19**, 326S-330S, 2000.
11. Kasum C.M., et al. *Whole grain intake and incident endometrial cancer : the Iowa Women's Health Study*. Nutr. Cancer, **39**, 180-186, 2001.
12. Kroon P.A., et al. *Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon*. J. Agric. Food Chem., **45**, 661-667, 1997.
13. Clifford M.N. *Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism*. J. Sci. Food Agric., **80**, 1033-1043, 2000.
14. Macheix J.-J., et al. *Fruits phenolics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990.
15. Bourne L.C., Rice-Evans C. *Urinary detection of hydroxycinnamates and flavonoids in humans after high dietary intake of fruit*. Free Radic. Res., **28**, 429-438, 1998.
16. Rapisarda P., et al. *Hydroxycinnamic acids as markers of italian blood orange juices*. J. Agric. Food Chem., **46**, 464-470, 1998.
17. Arts I.C., et al. *Catechin contents of food commonly consumed in the Netherland. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods*. J. Agric. Food Chem., **48**, 1746-1751, 2000.
18. Arts I.C., et al. *Catechin contents of food commonly consumed in the Netherland. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk*. J. Agric. Food Chem., **48**, 1752-1757, 2000.
19. de Pascual-Teresa S., et al. *Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages*. J. Agric. Food Chem., **48**, 5331-5337, 2000.
20. Arts I.C., et al. *Chocolate as source of tea flavonoids*. Lancet, **354**, 488, 1999.
21. Carando S., et al. *Levels of flavan-3-ols in French wines*. J. Agric. Food Chem., **47**, 4161-4166, 1999.
22. Hertog M.G.L., et al. *Content potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands*. J. Agric. Food Chem., **40**, 2379-2383, 1992.
23. Hertog M.G.L., et al. *Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices*. J. Agric. Food Chem., **41**, 1242-1246, 1993.
24. Wang H.-J., Murphy P.A. *Isoflavone content in commercial soybean foods*. J. Agric. Food Chem., **42**, 1666-1673, 1994.
25. Scalbert A., Williamson G. *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*. J. Nutr., **130**, 2073S-2085S, 2000.
26. Slimestad R., Solheim H. *Anthocyanins from black currants (Ribes nigrum L.)*. J. Agric. Food Chem., **50**, 3228-3231, 2002.
27. Künhau J. *The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition*. World Rev. Nutr. Diet, **24**, 117-191, 1976.
28. Manach C. *Biodisponibilité des flavonoïdes*. Université Clermont Ferrand 2, 1998.
29. Bravo L. *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional significance*. Nutr. Rev., **56**, 317-333, 1998.
30. Keli S.O., et al. *Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke: the Zutphen study*. Arch. Intern. Med., **156**, 637-642, 1996.
31. Hertog M.G.L., et al. *Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in Seven Countries Study*. Arch. Intern. Med., **155**, 381-386, 1995.
32. Arts I.C., et al. *Dietary catechin in relation to coronary heart disease death among postmenopausal women*. Epidemiology, **12**, 668-675, 2001.
33. Arts I.C., et al. *Catechin intake and associated dietary and lifestyle factors in a representative sample of Dutch men and women*. Eur. J. Clin. Nutr., **55**, 76-81, 2001.
34. Hirvonen T., et al. *Intake of flavonoids, carotenoids, vitamin C and E, and risk of stroke in male smokers*. Stroke, **31**, 2301-2306, 2000.
35. Knekt P., et al. *Flavonoids intake and coronary mortality in Finland: a cohort study*. BMJ, **132**, 478-481, 1996.
36. Rimm E.B., et al. *Relation between flavanoids and risk for coronary heart disease in Male Health Professionals*. Ann. Intern. Med., **125**, 384-389, 1996.
37. Rimm E.B., et al. *Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men*. JAMA, **275**, 447-451, 1996.
38. Arts I.C., et al. *Dietary catechins and epithelial cancer incidence: the Zutphen Elderly Study*. Int. J. Cancer, **92**, 298-302, 2001.
39. Hertog M.G., et al. *Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study*. Lancet, **342**, 1007-1011, 1993.
40. Hertog M.G.L., et al. *Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands*. Nutr. Cancer, **20**, 21-29, 1993.
41. Hirvonen T., et al. *Flavonol and flavone intake and the risk of cancer in male smokers (Finland)*. Cancer Causes Control, **12**, 789-796, 2001.
42. Hirvonen T., et al. *Intake of flavonols and flavones and risk of coronary heart disease in male smokers*. Epidemiology, **12**, 62-67, 2001.
43. Knekt P., et al. *Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms*. Am. J. Epidemiol., **146**, 223-230, 1997.
44. Shirahata S., et al. *DNA breakage by flavan-3-ols and procyanidins in the presence of cupric ion*. J. Agric. Food Chem., **37**, 299-303, 1989.
45. I.S.L.I. *Safety assesment and health benefites of food components based on selected scientific criteria*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **39**, 203-, 1999.
46. Formica J.V., Regelson W. *Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids*. Food Chem. Toxicol., **33**, 1061-1080, 1995.
47. Czacot H., et al. *Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs*. Mutat. Res., **240**, 209-216, 1990.
48. Meyer A.S., et al. *Fruit hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro*. J. Agric. Food Chem., **46**, 1783-1787, 1998.
49. Cook N.C., Samman S. *Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources*. J. Nutr. Biochem., **7**, 66-76, 1996.
50. Beauvieux M.-C., et al. *Le stress oxydant et ses marqueurs biologiques*. Cah. Nutr. Diet., **37**, 45-51, 2002.
51. Fritz W.A., et al. *Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat*. Carcinogenesis, **19**, 2151-2158, 1998.

52. Heo Y.H., et al. Induction of quinone reductase activity by stilbene analogs in mouse Hepa 1c1c7 cells. *Arch. Pharm. Res.*, **24**, 597-600, 2001.
53. Gusman J., et al. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis*, **22**, 1111-1117, 2001.
54. Vercauteren J., et al. *Y-a-t-il encore de la place demain pour des aliments sans polyphénols ?* Lettre scientifique de l'institut français pour la nutrition, **68**, 1-8, 1999.
55. Léger C.L., et al. *Consommation de vin et prévention contre les maladies cardiovasculaires.* In: Alimentation méditerranéenne et santé: actualité et perspectives, J. L. Eurotext Eds., Montrouge, 2000, pp. 81-97.
56. Esterbauer H., Ramos P. *Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL.* *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **127**, 31-64, 1995.
57. Vinson J.A., et al. *Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model of heart disease.* *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2800-2802, 1995.
58. Vinson J.A., et al. *Plant polyphenols exhibit lipoprotein-bound antioxidant activity using an in vitro oxidation model for heart disease.* *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2798-2799, 1995.
59. Da Silva E.L., et al. *Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma.* *FEBS Lett.*, **430**, 405-408, 1998.
60. Yokozawa T., et al. *Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats.* *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 3549-3552, 2002.
61. Iwai Y., et al. *Antioxydative fonction of natto, a kind of fermented soybeans: effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fed rats.* *J. Agric. Food Chem.*, 2002.
62. Vinson J.A., et al. *A citrus extract plus ascorbic acid decreases lipids, lipid peroxides lipoprotein oxidative susceptibility, and atherosclerosis in hypercholesterolemic hamster.* *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1453-1459, 1998.
63. Tijburg L.B.M., et al. *Tea flavonoids and cardiovascular diseases: A review.* *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **37**, 771-785, 1997.
64. Fuhrman B., et al. *Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation.* *Am. J. Clin. Nutr.*, **61**, 549-554, 1995.
65. Serafini M., et al. *Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans.* *J. Nutr.*, **128**, 1003-1007, 1998.
66. Frankel E.N., et al. *Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine.* *Lancet*, **341**, 454-457, 1993.
67. Yamakoshi J., et al. *Isoflavone aglycone-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits.* *J. Nutr.*, **130**, 1887-1893, 2000.
68. Castelluccio C., et al. *Differential distribution of ferulic acid to the major plasma constituent relation to its potential as an antioxidant.* *Biochem. J.*, **316**, 691-694, 1996.
69. Nardini M., et al. *Inhibition of human low density lipoproteins oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives.* *Free Radic. Biol. Med.*, **19**, 541-552, 1995.
70. Bok S.-H., et al. *Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl-CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or mixture of citrus bioflavonoids.* *J. Nutr.*, **129**, 1182-1185, 1999.
71. Igarashi K., Ohmura M. *Effects of isorhamnetin, rhamnetin, and quercetin on the concentrations of cholesterol and lipoperoxide in the serum and liver on the blood and liver antioxidative enzyme activities of rats.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 595-601, 1995.
72. Pignatelli P., et al. *The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide.* *Am. J. Clin. Nutr.*, **72**, 1150-1155, 2000.
73. Janssen P.M.T.L.K., et al. *Effect of flavonoids quercetin and apigenin on hemostasis in healthy volunteers: results from an in vitro and a dietary supplement study.* *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 255-262, 1998.
74. Kinsella J.E., et al. *Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant food.* *Food Technol.*, **47**, 85-89, 1993.
75. Spencer J.P.E., et al. *Contrasting influences of glucuronidation and O-methylation of epicatechin on hydrogen peroxide-induced cell death in neurons and fibroblasts.* *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 1139-1146, 2001.
76. Yan J.-J., et al. *Protection against β -amyloid peptide toxicity in vivo with long-term administration of ferulic acid.* *Br. J. Pharmacol.*, **133**, 89-96, 2001.
77. Sun A.Y., et al. *The "French Paradox" and beyond : neuroprotective effects of polyphenols.* *Free Radic. Biol. Med.*, **32**, 314-318, 2002.
78. Saito M., et al. *Antiulcer activity of grape seed extract procyanidins.* *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1460-1464, 1998.
79. Vander A.J., et al. *Physiologie humaine.* Mc Graw-Hill, Montréal, 1995.
80. Smith C.M., Reynard A.M. *Essentials of pharmacology.* Philadelphia, 1995.
81. Glatt H., et al. *Sulfotransferases: genetics and role in toxicology.* *Toxicol. Lett.*, **112-113**, 341-348, 2000.
82. Dooley T.P., et al. *Expression profiling of human sulfotransferase and sulfatase gene superfamilies in epithelial tissues and cultured cells.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **277**, 236-245, 2000.
83. Piskula M.K., Terao J. *Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues.* *J. Nutr.*, **128**, 1172-1178, 1998.
84. Spencer J.P.E., et al. *The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids.* *FEBS Lett.*, **458**, 224-230, 1999.
85. Crespy V., et al. *Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen.* *Am. J. Physiol.*, **277**, G120-G126, 1999.
86. Kuhnle G., et al. *Epicatechin and catechin are O-methylated and glucuronidated in the small intestine.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **277**, 507-512, 2000.
87. Kuhnle G., et al. *Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **272**, 212-217, 2000.
88. Donovan J.L., et al. *Catechin is metabolized by both the small intestine and liver of rats.* *J. Nutr.*, **131**, 1753-1757, 2001.
89. Scheline R.R. *The metabolism of drugs and other organic compounds by intestinal microflora.* *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **26**, 332-342, 1968.
90. Griffiths L.A. *Studies on flavonoid metabolism.* *Biochem. J.*, **92**, 173-179, 1964.
91. Griffiths L.A., Barrow A. *Metabolism of flavonoid compounds in germ-free rats.* *Biochem. J.*, **130**, 1161-1162, 1972.
92. Bokkenheuser V.D., et al. *Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal bacteroides from humans.* *Biochem. J.*, **248**, 953-956, 1987.
93. Plumb G.W., et al. *Metabolism of chlorogenic acids by human plasma, liver, intestine and gut microflora.* *J. Sci. Food Agric.*, **79**, 390-392, 1999.
94. Das N.P., Griffiths L.A. *Studies of flavonoid metabolism. Metabolism of (+)-catechin in the Guinea pig.* *Biochem. J.*, **110**, 449-456, 1968.
95. Das N.P., Griffiths L.A. *Studies of flavonoid metabolism. Metabolism of (+)-[14C]catechin in rat and Guinea pig.* *Biochem. J.*, **115**, 831-836, 1969.
96. Andreasen M.F., et al. *Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant diferulic acids.* *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 304-314, 2001.
97. Day A.J., et al. *Deglycosylation and conjugation of flavonol glycosides by humans.* SFRR Europe Winter Meeting, Bioflavonoids and polyphenols in health and diseases, Dinard, France, 1999.
98. Shahrzad S., et al. *Pharmacokinetics of Gallic Acid and Its Relative Bioavailability from Tea in Healthy Humans.* *J. Nutr.*, **131**, 1207-1210, 2001.
99. Azuma K., et al. *Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration.* *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5496-5500, 2000.
100. Adam A., et al. *The bioavailability of ferulic acid Is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats.* *J. Nutr.*, **132**, 1962-1968, 2002.

101. Rondini L., et al. Sulfated ferulic acid is the main *in vivo* metabolite found after short-term ingestion of free ferulic acid in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 3037-3041, 2002.
102. Rechner A.R., et al. Novel Biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives *in vivo*. *Free Radic. Biol. Med.*, **30**, 1213-1222, 2001.
103. Choudhury R., et al. Urinary excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 278-286, 1999.
104. Bourne L.C., Rice-Evans C. Bioavailability of ferulic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 222-227, 1998.
105. Bitsch R., et al. Bioavailability of antioxidative compounds from Brettacher apple juice in humans. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **1**, 245-249, 2001.
106. Gonthier M.-P., et al. Chlorogenic Acid Bioavailability Largely Depends on Its Metabolism by the Gut Microflora in Rats. *J. Nutr.*, **133**, 1853-1859, 2003.
107. Olthof M.R., et al. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr.*, **131**, 66-71, 2001.
108. Olthof M.R., et al. Chlorogenic Acid, Quercetin-3-Rutinoside and Black Tea Phenols Are Extensively Metabolized in Humans. *J. Nutr.*, **133**, 1806-1814, 2003.
109. Cremin P., et al. LC/ES-MS detection of hydroxycinnamates in human plasma and urine. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1747-1750, 2001.
110. Zhao Z., et al. Ferulic Acid Sugar Esters Are Recovered in Rat Plasma and Urine Mainly as the Sulfoglucuronide of Ferulic Acid. *J. Nutr.*, **133**, 1355-1361, 2003.
111. Nardini M., et al. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5735-5741, 2002.
112. Booth A., et al. Urinary metabolites of caffeic and chlorogenic acids. *J. Biol. Chem.*, **229**, 51-59, 1957.
113. Rechner A.R., et al. Caffeic acid derivatives in artichoke extract are metabolised to phenolic acids *in vivo*. *Free Radic. Res.*, **35**, 195-202, 2001.
114. Bourne L., et al. Absorption of ferulic acid from low-alcohol beer. *Free Radic. Res.*, **32**, 273-280, 2000.
115. Virgili F., et al. Ferulic acid excretion as a marker of consumption of a french maritime pine (*Pinus Maritima*) bark extract. *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 1249-1256, 2000.
116. Chesson A., et al. Hydroxycinnamic acids in the digestive tract of livestock and humans. *J. Sci. Food Agric.*, **79**, 373-378, 1999.
117. Gonthier M.P., et al. Microbial aromatic acid metabolites formed in the gut account for a major fraction of the polyphenols excreted in urine of rats fed red wine polyphenols. *J. Nutr.*, **33**, 461-467, 2003.
118. Manach C., et al. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 1259-1266, 1999.
119. Hollman P.C.H., et al. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 703-707, 1996.
120. Piskula M.K., Terao J. Quercetin's solubility affects its accumulation in rat plasma after oral administration. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4313-4317, 1998.
121. Hollman P.C.H., et al. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoids quercetin from various food in man. *FEBS Lett.*, **418**, 152-156, 1997.
122. Paganga G., Rice-Evans C. The identification of flavonoids as glycosides in human plasma. *FEBS Lett.*, **401**, 78-82, 1997.
123. Olthof M.R., et al. Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. *J. Nutr.*, **130**, 1200-1203, 2000.
124. Sesink A.L.A., et al. Quercetin glucuronides but not glucosides are present in human plasma after consumption of quercetin-3-glucoside or quercetin-4'-glucoside. *J. Nutr.*, **131**, 1938-1941, 2001.
125. Manach C., et al. Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin or quercetin. *J. Nutr.*, **125**, 1911-1922, 1995.
126. Erlund I., et al. Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **56**, 545-553, 2000.
127. Manach C., et al. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *FEBS Lett.*, **409**, 12-16, 1997.
128. Crespy V., et al. Quercetin but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 618-621, 2002.
129. Crespy V., et al. Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J. Nutr.*, **131**, 2104-2114, 2001.
130. Morand C., et al. Quercetin 3-O- β -glucoside is better absorbed than other quercetin forms and is not present in rat plasma. *Free Radic. Res.*, **33**, 667-676, 2000.
131. de Vries J.H.M., et al. Red wine is a poor source of bioavailable flavonols in men. *J. Nutr.*, **131**, 745-748, 2001.
132. Hollman P.C.H., et al. Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. *Cancer Lett.*, **114**, 139-140, 1997.
133. Mullen W., et al. Determination of flavonols metabolites in plasma and tissues of rats by HPLC-radiocounting and tandem mass spectrometry following oral ingestion of [2-¹⁴C]quercetin-4'-glucoside. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6902-6909, 2002.
134. Sesink A.L.A., et al. Intestinal Uptake of Quercetin-3-Glucoside in Rats Involves Hydrolysis by Lactase Phlorizin Hydrolase. *J. Nutr.*, **133**, 773-776, 2003.
135. Wolfram S., et al. Quercetin-3-Glucoside Is Transported by the Glucose Carrier SGLT1 across the Brush Border Membrane of Rat Small Intestine. *J. Nutr.*, **132**, 630-635, 2002.
136. Arts I.C., et al. Quercetin-3-glucoside is transported by the glucose carrier SGLT1 across the brush border membrane of rat small intestine, author reply 2824. *J. Nutr.*, **132**, 2823, 2002.
137. Winter J., et al. C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1203-1208, 1989.
138. Aura A.-M., et al. Quercetin derivatives are deconjugated and converted to hydroxyphenylacetic acid but not methylated by human fecal flora *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1725-1730, 2002.
139. Morand C., et al. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am. J. Physiol.*, **44**, R212-R219, 1998.
140. Ader P., et al. Bioavailability and metabolism of flavonol quercetin in the pig. *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 1056-1067, 2000.
141. Nielsen S.E., et al. Human absorption and excretion of flavonoids after broccoli consumption. *Cancer Lett.*, **114**, 173-174, 1997.
142. Moon J.-H., et al. Accumulation of quercetin conjugates in blood plasma after a short-term ingestion of onion by women. *Am. J. Physiol.*, **279**, R461-R467, 2000.
143. Moon J.-H., et al. Identification of quercetin 3-O- β -D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Radic. Biol. Med.*, **30**, 1274-1285, 2001.
144. Day A.J., et al. Conjugation position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 1234-1243, 2000.
145. Day A.J., et al. Human metabolism of dietary flavonoids: identification of plasma metabolites of quercetin. *Free Radic. Res.*, **35**, 941-952, 2001.
146. Dangles O., et al. Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods Enzymol.*, **335**, 319-333, 2001.
147. Baba S., et al. Studies on drug metabolism by use of isotopes XXVII: urinary metabolites of rutin in rats and the role of intestinal microflora in the metabolism of rutin. *J. Pharm. Sci.*, **72**, 1155-1158, 1983.
148. Graefe E.U., et al. Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in human. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **37**, 219-233, 1999.
149. Gugler R., et al. Disposition of quercetin in man after single oral or intravenous doses. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **9**, 229-234, 1975.
150. Young J.F., et al. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am. J. Clin. Nutr.*, **69**, 87-94, 1999.
151. de Vries J.H.M., et al. Plasma concentrations and urinary excretion of antioxidant flavonols quercetin and kaempferol as biomarkers for dietary intake. *Am. J. Clin. Nutr.*, **68**, 60-65, 1998.
152. Bell J.R.C., et al. (+)-Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**, 103-108, 2000.
153. Lee M.-J., et al. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **4**, 393-399, 1995.

154. Unno T., et al. Analysis of (-)-epigallocatechin gallate in human serum obtained after ingesting green tea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 2066-2068, 1996.
155. Yang C.S., et al. Blood and urine level of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **7**, 351-354, 1998.
156. Kohri T., et al. Metabolic fate of (-)-[4-³H]epigallocatechin gallate in rats after oral administration. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4102-4112, 2001.
157. Higdon J.V., Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **43**, 89-143, 2003.
158. Yang C.S., et al. Inhibition of carcinogenesis by tea: bioavailability of tea polyphenols and mechanisms of action. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **220**, 213-217, 1999.
159. Baba S., et al. In vivo comparison of bioavailability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats. *J. Nutr.*, **131**, 2885-2891, 2001.
160. Shaw I.C., Griffiths L.A. Identification of the major biliary metabolite of (+)-catechin in rats. *Xenobiotica*, **10**, 905-911, 1980.
161. Kida K., et al. Identification of biliary metabolites of (-)-epigallocatechin gallate in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 4151-4155, 2000.
162. Abd El Mohsen M.M., et al. Uptake and metabolism of epicatechin and its access to the brain after oral ingestion. *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 1693-1702, 2002.
163. Natsume M., et al. Structures of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and urine after oral ingestion of (-)-epicatechin: differences between human and rat. *Free Radic. Biol. Med.*, **34**, 840-849, 2003.
164. Dvorakova K., et al. Pharmacokinetics of the green tea derivative, EGCG, by the topical route of administration in mouse and human skin. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **43**, 3331-3335, 1999.
165. Suganuma M., et al. Wide distribution of [³H](-)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue. *Carcinogenesis*, **19**, 1771-1776, 1998.
166. Meselhy M.R., et al. Biotransformation of (-)-epicatechin 3-O-gallate by human intestinal bacteria. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **45**, 888-893, 1997.
167. Harada M., et al. Identification of the major antioxidative metabolites in biological fluids of the rat with ingested (+)-catechin and (-)-epicatechin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 973-977, 1999.
168. Warden B.A., et al. Catechin are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. *J. Nutr.*, **131**, 1731-1737, 2001.
169. Stark A., Madar Z. Phytoestrogens: a review of recent findings. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, **15**, 561-552, 2002.
170. Rowland I., et al. Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br. J. Nutr.*, **89**, 838-852, 2003.
171. Piskula M.K., et al. Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Lett.*, **447**, 287-291, 1999.
172. Piskula M.K. Soy isoflavone conjugation differ in fed and food-deprived rats. *J. Nutr.*, **130**, 1766-1771, 2000.
173. Izumi T., et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J. Nutr.*, **130**, 1695-1699, 2000.
174. Richelle M., et al. Hydrolysis of Isoflavone Glycosides to Aglycones by β -Glycosidase Does Not Alter Plasma and Urine Isoflavone Pharmacokinetics in Postmenopausal Women. *J. Nutr.*, **132**, 2587-2592, 2002.
175. Setchell K.D.R., et al. Bioavailability, Disposition, and Dose-Response Effects of Soy Isoflavones When Consumed by Healthy Women at Physiologically Typical Dietary Intakes. *J. Nutr.*, **133**, 1027-1035, 2003.
176. Setchell K.D., et al. Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**, 411-419, 2003.
177. Tew B.-y., et al. A diet high in wheat fiber decreases the bioavailability of soybean isoflavones in a single meal fed to women. *J. Nutr.*, **126**, 871-877, 1996.
178. Watanabe S., et al. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and faeces of men after ingestion of 60 g backed soybean powder (kinako). *J. Nutr.*, **128**, 1710-1715, 1998.
179. Zubik L., Meydani M. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **77**, 1459-1465, 2003.
180. Fang N., et al. Characterization of isoflavones and their conjugates in female rat urine using LC/MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 2700-2707, 2002.
181. Setchell K.D., et al. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, **76**, 447-453, 2002.
182. Lamartiniere C.A., et al. Daidzein: bioavailability, potential for reproductive toxicity, and breast cancer chemoprevention in female rats. *Toxicol. sci.*, **65**, 228-238, 2002.
183. Chang Y.-C., Nair M.G. Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria. *J. Nat. Prod.*, **58**, 1892-1896, 1995.
184. Yasuda A., Ohsawa K. Urinary metabolites of daidzin orally administered in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 953-957, 1998.
185. Shelnut S.R., et al. Urinary pharmacokinetics of the glucuronide and sulfate conjugates of genistein and daidzein. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **9**, 413-419, 2000.
186. Yasuda A., et al. Urinary and biliary metabolites of daidzin and daidzein in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 1369-1374, 1994.
187. Sfakianos J., et al. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. *J. Nutr.*, **127**, 1260-1268, 1997.
188. Hendrich S. Bioavailability of isoflavones. *J. Chromatogr. B*, **777**, 203-210, 2002.
189. Yasuda A., et al. Urinary and biliary metabolites of genistein in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 413-417, 1996.
190. Xu X., et al. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than genistein in adult women. *J. Nutr.*, **124**, 825-832, 1994.
191. Radtke J., et al. Fasting plasma concentrations of selected flavonoids as markers of their ordinary dietary intake. *Eur. J. Nutr.*, **41**, 203-209, 2002.
192. Erlund I., et al. Plasma concentrations of the flavonoids hesperetin, naringenin and quercetin in human subjects following their habitual diets, and diets high or low in fruit and vegetables. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **56**, 891-898, 2002.
193. Felgines C., et al. Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *Am. J. Physiol.*, **279**, G1148-G1154, 2000.
194. Hsiu S.-L., et al. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sci.*, **70**, 1481-1489, 2002.
195. Bugianesi R., et al. Naringenin from Cooked Tomato Paste Is Bioavailable in Men. *J. Nutr.*, **132**, 3349-3352, 2002.
196. Manach C., et al. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and naringin after the ingestion of two doses of orange juice. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **57**, 235-242, 2003.
197. Gil-Izquierdo A., et al. Influence of industrial processing on orange juice flavanone solubility and transformation to chalcones under gastrointestinal conditions. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3024-3028, 2003.
198. Choudhury R., et al. Interactions of flavonoid naringenin in the gastrointestinal tract and the influence of glycosylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **265**, 410-415, 1999.
199. Ameer B., et al. Flavone absorption after naringin, hesperidin and citrus administration. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **60**, 34-40, 1996.
200. Honohan T., et al. Synthesis and metabolic fate of hesperetin-3-14C. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 906-911, 1976.
201. Dupondt S., et al. Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. *J. Nutr.*, **132**, 172-175, 2002.
202. Kuo S.-M. Transepithelial transport and accumulation of flavone in human intestinal Caco-2 cells. *Life Sci.*, **63**, 2323-2331, 1998.
203. Griffiths L.A., Smiths G.E. Metabolism of apigenin and related compounds in rat. Metabolite formation in vivo and by the intestinal microflora. *Biochem. J.*, **128**, 901-911, 1972.

204. Cao G., et al. *Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study.* Am. J. Clin. Nutr., **73**, 920-926, 2001.
205. Miyazawa T., et al. *Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans.* J. Agric. Food Chem., **47**, 1083-1091, 1999.
206. Milbury P.E., et al. *Bioavailability of elderberry anthocyanins.* Mech. Ageing Dev., **123**, 997-1006, 2002.
207. Matsumoto H., et al. *Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms.* J. Agric. Food Chem., **49**, 1546-1551, 2001.
208. Wu X., et al. *Absorption and Metabolism of Anthocyanins in Elderly Women after Consumption of Elderberry or Blueberry.* J. Nutr., **132**, 1865-1871, 2002.
209. Suda I., et al. *Direct absorption of acylated anthocyanidin in purple-fleshed sweet potato into rats.* J. Agric. Food Chem., **50**, 1672-1676, 2002.
210. Tsuda T., et al. *Absorption and metabolism of cyanidin 3-O-b-D-glucoside in rats.* FEBS Lett., **449**, 179-182, 1999.
211. Felgines C., et al. *Strawberry Anthocyanins Are Recovered in Urine as Glucuro- and Sulfoconjugates in Humans.* J. Nutr., **133**, 1296-1301, 2003.
212. Rechner A.R., et al. *The metabolic fate of dietary polyphenols in humans.* Free Radic. Biol. Med., **33**, 220-235, 2002.
213. Lapidot T., et al. *Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine.* J. Agric. Food Chem., **46**, 4297-4302, 1998.
214. Netzel M., et al. *Bioavailabilities of blackcurrent anthocyanins in humans.* In: Dietary anticarcinogens and antimutagens: chemical and biological aspects, I. T. Johnston and G. R. Fenwick Eds., Cambridge, U.K., 2000, pp. 43-53.
215. Nakamura Y., et al. *Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: application to tannic acid metabolism in the rat.* J. Agric. Food Chem., **51**, 331-339, 2003.
216. Déprez S., et al. *Transport of proanthocyanidins dimer, trimer and polymer across monolayers of human intestinal epithelial caco-2 cells.* Antiox. Redox signal., **3**, 957-967, 2001.
217. Donovan J.L., et al. *Procyanidins are not bioavailable in rats fed a single meal containing a grape seed extract or the procyanidin dimer B3.* Br. J. Nutr., **87**, 299-306, 2002.
218. Holt R.R., et al. *Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4beta-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa.* Am. J. Clin. Nutr., **76**, 798-804, 2002.
219. Tanaka N., et al. *Measurement of plasma procyanidin B-2 and procyanidin B-3 levels after oral administration in rat.* Phytomedicine, **10**, 122-126, 2003.
220. Sano A., et al. *Procyanidin B1 Is Detected in Human Serum after Intake of Proanthocyanidin-rich Grape Seed Extract.* Biosci. Biotechnol. Biochem., **67**, 1806-1814, 2003.
221. Baba S., et al. *Absorption and urinary excretion of procyanidin B2 [epicatechin-(4-8)-epicatechin] in rats.* Free Radic. Biol. Med., **33**, 142-148, 2002.
222. Spencer J.P.E., et al. *Decomposition of cocoa procyanidins in gastric milieu.* Biochem. Biophys. Res. Commun., **272**, 236-241, 2000.
223. Déprez S., et al. *Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolics acids.* J. Nutr., **130**, 2733-2738, 2000.
224. Rios L.Y., et al. *Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects.* Am. J. Clin. Nutr., **77**, 912-918, 2003.
225. Belgendouz L. *Effets protecteurs des polyphénols du vin contre la modification oxydative des lipoprotéines légères plasmatiques.* Université de Paris sud, 1997.
226. Pal S., et al. *Red Wine Polyphenolics Increase LDL Receptor Expression and Activity and Suppress the Secretion of ApoB100 from Human HepG2 Cells.* J. Nutr., **133**, 700-706, 2003.
227. Bertelli A.A.E., et al. *Plasma, urine and tissues levels of trans- and cis-resveratrol (3,4',5-trihydrostilbene) after short-term or prolonged administration of red wine to rats.* Int. J. Tissue React., **XVIII**, 67-71, 1996.
228. Asensi M., et al. *Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability.* Free Radic. Biol. Med., **33**, 387-398, 2002.
229. de Santi C., et al. *Glucuronidation of resveratrol, a natural product present in grape and wine, in the human liver.* Xenobiotica, **30**, 1047-1054, 2000.
230. de Santi C., et al. *Sulphation of resveratrol, a natural product present in grapes and wine, in the human liver and duodenum.* Xenobiotica, **30**, 609-617, 2000.
231. de Santi C., et al. *Sulphation of resveratrol, a natural compound present in wine, and its inhibition by natural flavonoids.* Xenobiotica, **30**, 857-866, 2000.
232. Vitrac X., et al. *Distribution of [14C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration.* Life Sci., **72**, 2219-2233, 2003.
233. Sanders T.A.B. *Olive oil and the mediterranean diet.* Int. J. Vitamin Nutr. Cancer, **71**, 179-184, 2001.
234. Bai C., et al. *Determination of Synthetic Hydroxytyrosol in Rat Plasma by GC-MS.* J. Agric. Food Chem., **46**, 3998 - 4001, 1998.
235. Del Boccio P., et al. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of oleuropein and its metabolite hydroxytyrosol in rat plasma and urine after oral administration.* J. Chromatogr. B, **785**, 47-56, 2003.
236. Vissers M.N., et al. *Olive Oil Phenols Are Absorbed in Humans.* J. Nutr., **132**, 409-417, 2002.
237. Manna C., et al. *Transport mechanism and metabolism of olive oil hydroxytyrosol in Caco-2 cells.* FEBS Lett., **470**, 341-344, 2000.
238. Edgecombe S.C., et al. *Oleuropein, an antioxidant polyphenol from olive oil, is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine.* J. Nutr., **130**, 2996-3002, 2000.
239. Visioli F., et al. *Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans.* FEBS Lett., **468**, 159-160, 2000.
240. Tuck K.L., et al. *The in vivo fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labeled compounds to rats.* J. Nutr., **131**, 1993-1996, 2001.
241. Tuck K.L., Hayball P.J. *Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects.* J. Nutr. Biochem., **13**, 636-644, 2002.
242. Miró-Casas E., et al. *Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry Quantitative Determination of Hydroxytyrosol and Tyrosol in Human Urine after Olive Oil Intake.* Anal. Biochem., **294**, 63-72, 2001.
243. Tuck K.L., et al. *Structural characterization of the metabolites of hydroxytyrosol, the principal phenolic component in olive oil, in rats.* J. Agric. Food Chem., **50**, 2404-2409, 2002.

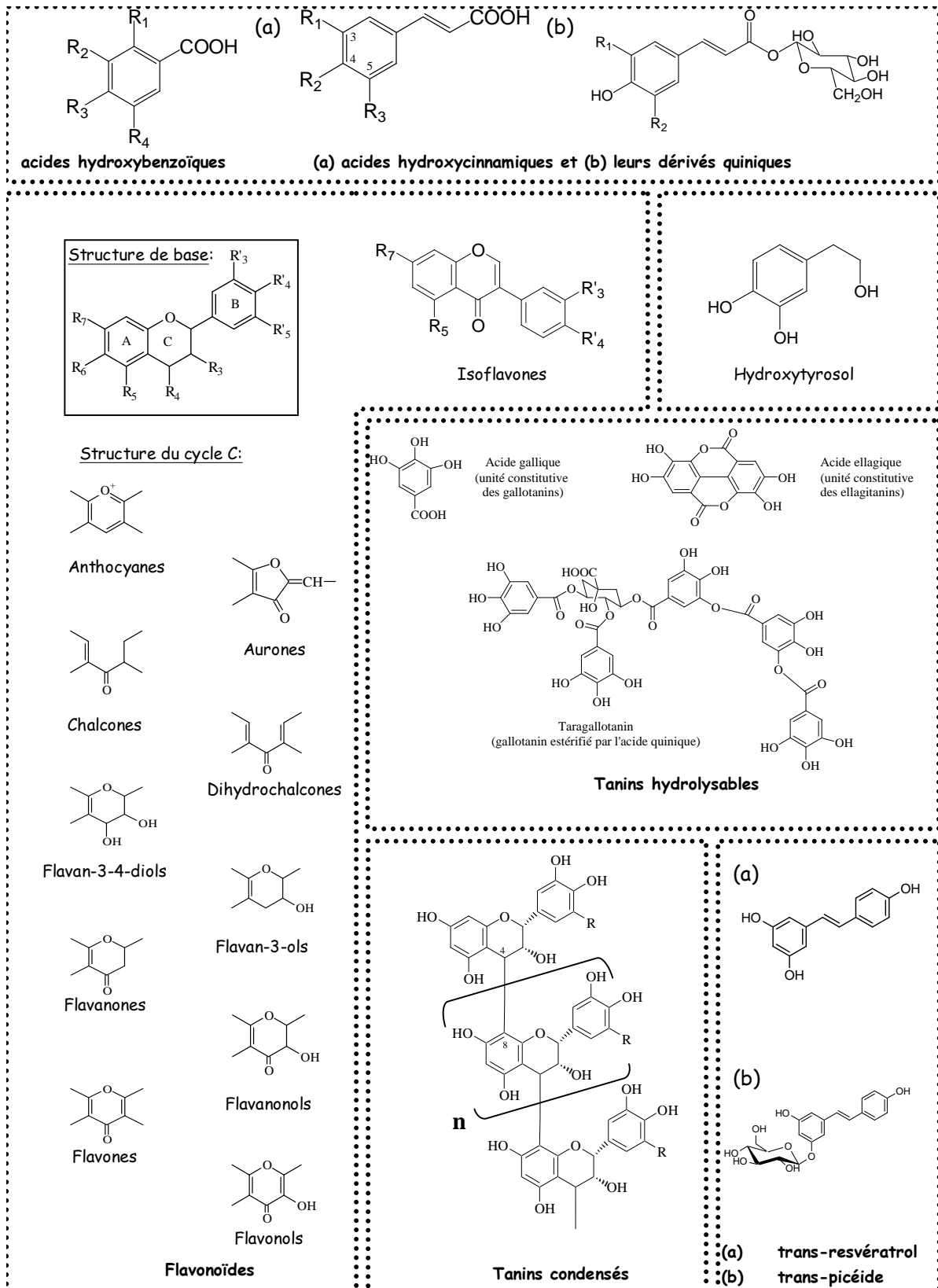


Figure 1 : Structure chimique des principaux composés phénoliques

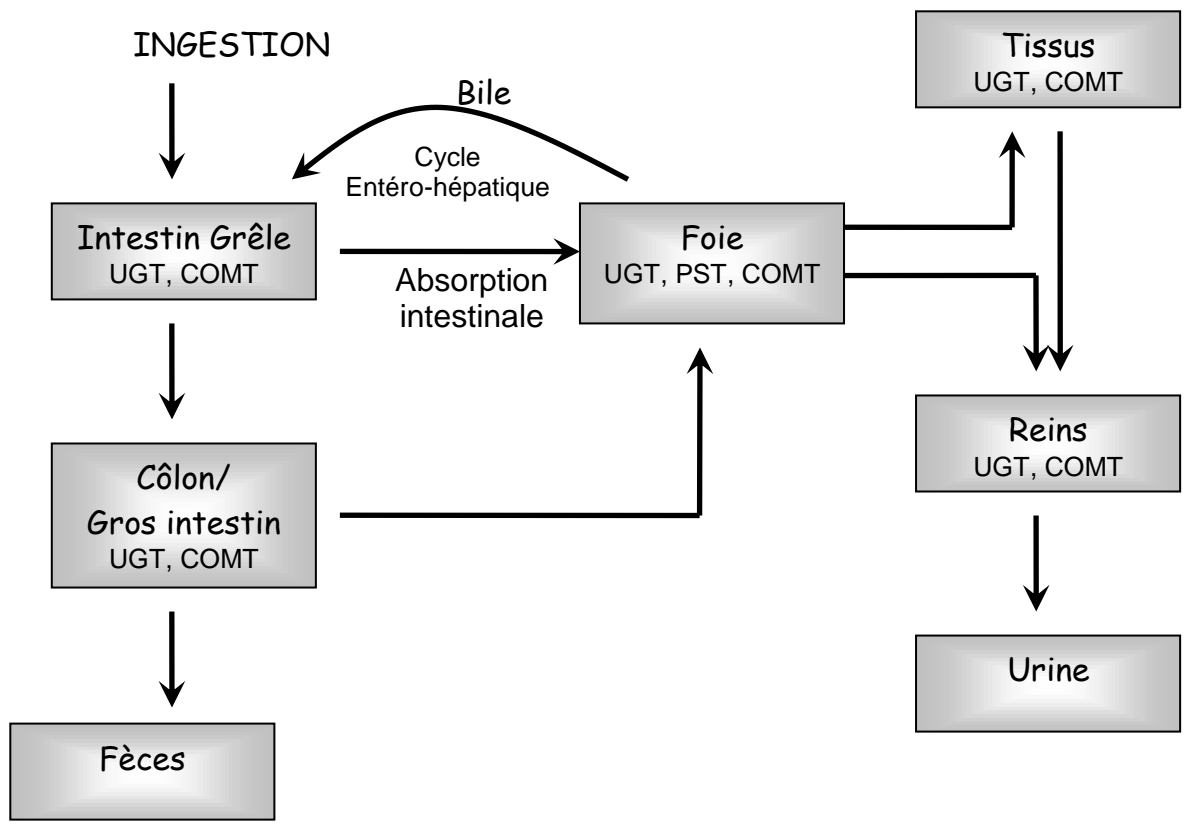


Figure 2. Schéma du métabolisme des polyphénols (adapté de [25])

UGT : uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransférase ; PST : phénolsulfotransférase ; COMT : catéchol O-méthyltransférase

Ingestion d'Acide Chlorogénique

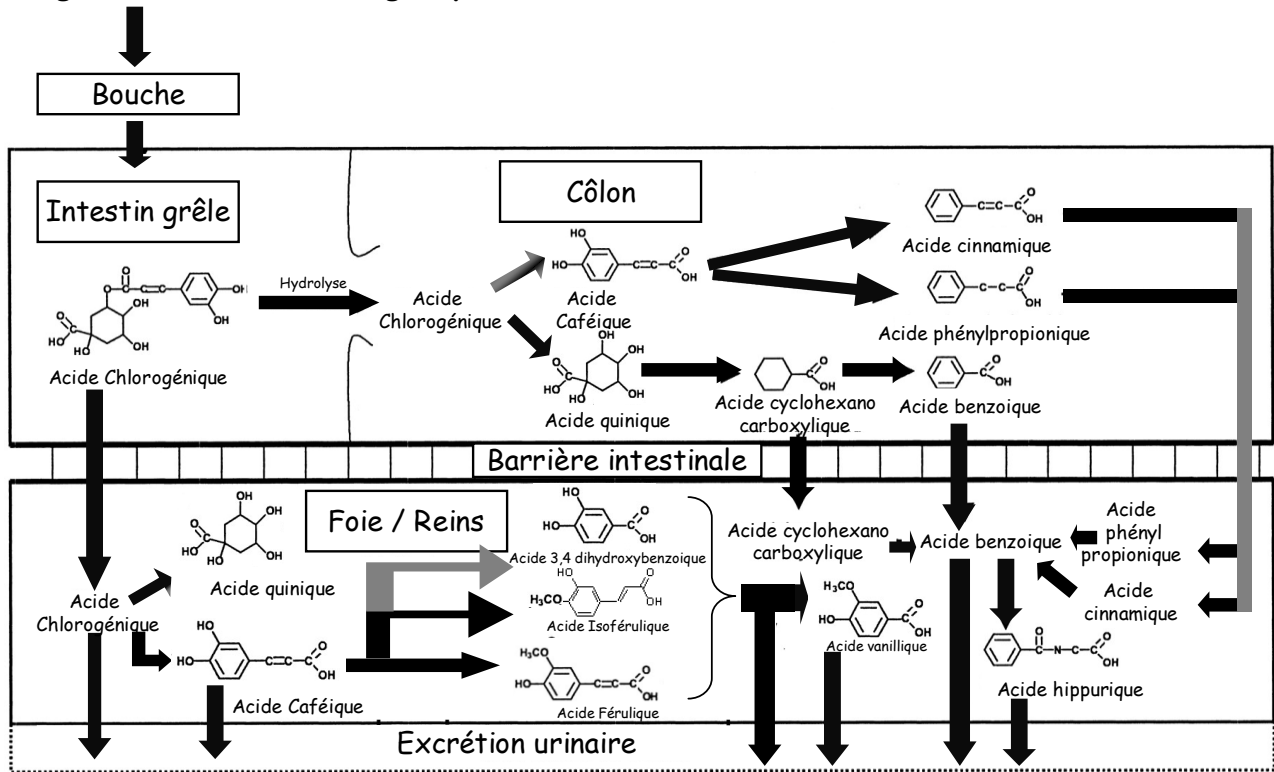


Figure 3 : Voie métabolique supposée des acides hydroxycinnamiques dans l'organisme, adapté de [102] et [108]
(les formes conjuguées ne sont pas indiquées)

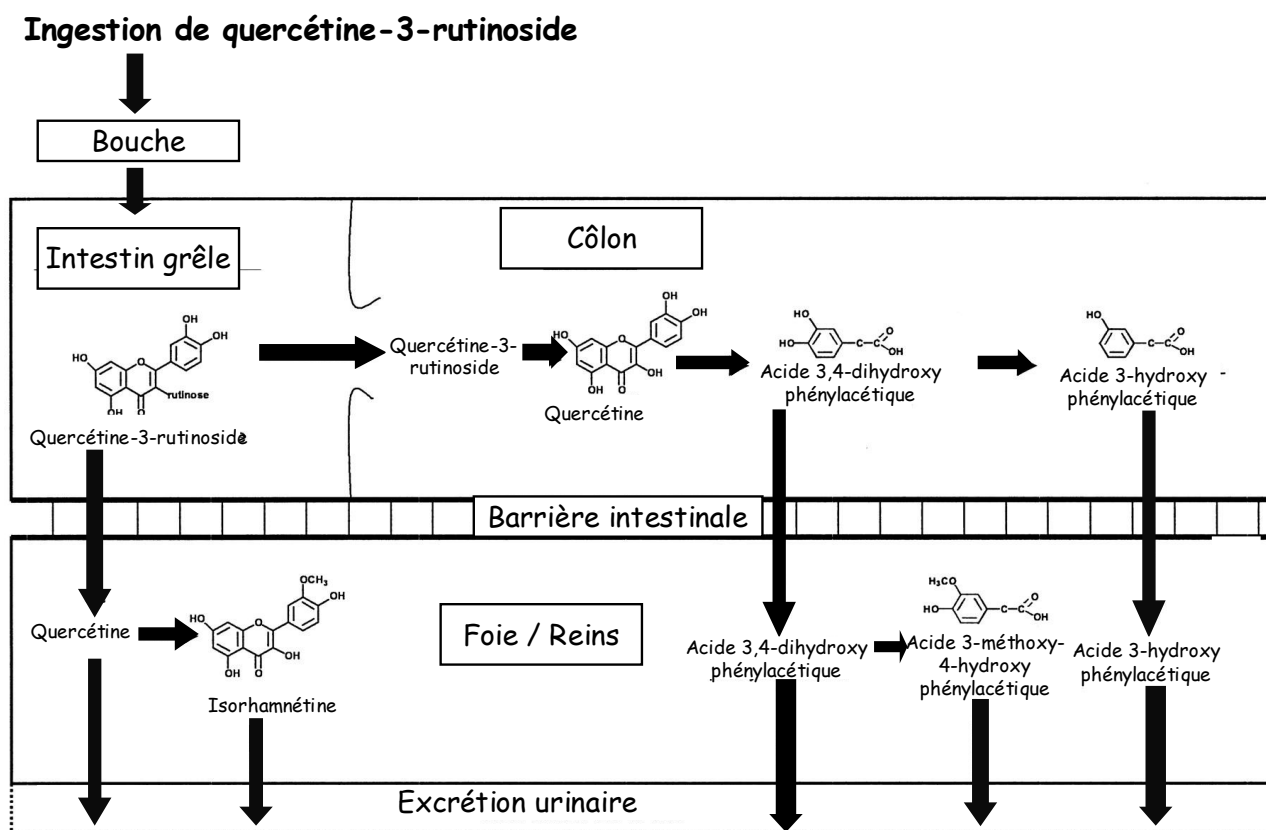


Figure 4 : Voie métabolique supposée de la quercétine-3-rutinoside dans l'organisme, d'après [108].

(les formes conjuguées ne sont pas indiquées)

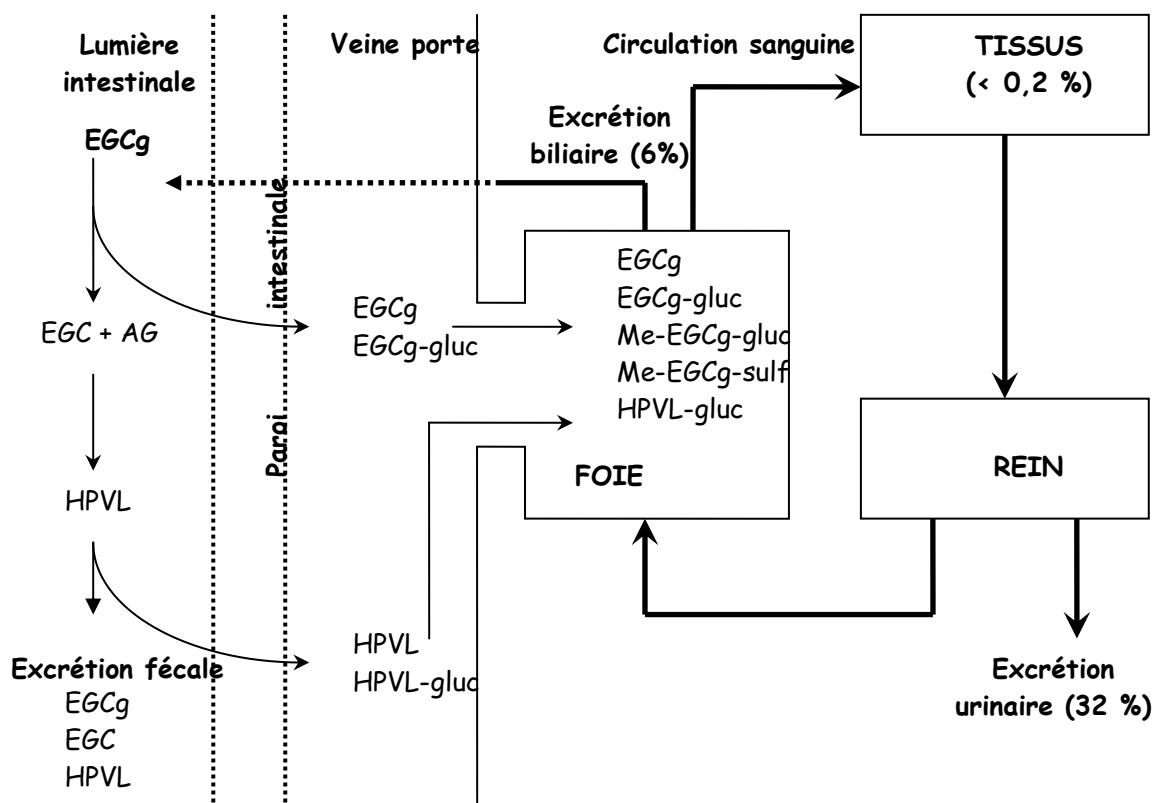


Figure 5. Voie métabolique empruntée chez le rat par la (-)-épigallocatechine après ingestion par voie orale (d'après [156])

EGCg : (-)-Epigallocatechine gallate ; EGCg-gluc : (-)-Epigallocatechine gallate glucuronide ; Me-EGCg-gluc : (-)-méthoxyépigallocatechine gallate glucuronide ; Me-EGCg-sulf : (-)-méthoxyépigallocatechine gallate sulfate ; HPVL : 5-(3',5'-dihydroxyphényl)- γ -valérolactone ; HPVL-gluc : 5-(5'-hydroxyphényl)- γ -valérolactone 3'-O- β -glucuronide ; AG : acide gallique

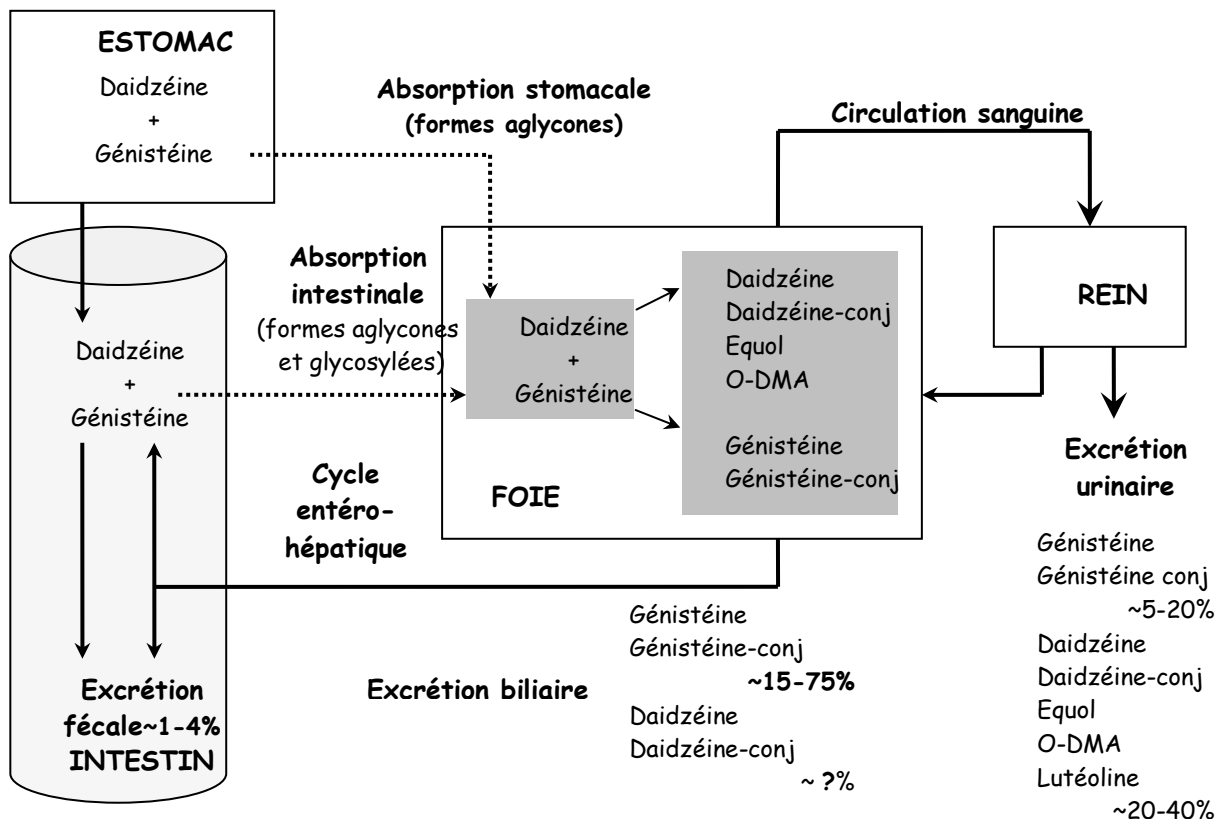


Figure 6 : Métabolisme et élimination des isoflavones

O-DMA : O-desméthylanglolsine
-conj : conjuguée (sulfatée, sulfoglucuronidée ou glucuronidée)