

En générale, les cucurbitacines et leurs extraits sont considérés toxiques. Leur degré de toxicité dépend de la plante mère, du type d'extrait et des substitués du composé en question. Par exemple, l'exposition aux jus de la plante médicinale *Ecballium Elaterum* spécifiquement sous forme diluée conduit à une inflammation des membranes avec irritation (Luis Rios et *al.*, 2002).

Les effets toxiques semblent correspondre à un composé: la cucurbitacine B. Certaines études menées avec des composés analogues semblent indiquer l'implication des substitutions des chaînes latérales dans la toxicité du composé alors que les substitutions de l'anneau A ne le sont pas. Par exemple, les dérivés des cucurbitacines I et D respectifs: les cucurbitacines L et R sont moins toxiques que le composé de départ.

D'autant plus, la présence du groupe acétyle dans la chaîne latérale C-25 augmente la toxicité des cucurbitacines (Ricio et *al.*, 2005 ;Muza et *al.*, 1994). Les données corroborent les résultats trouvés par Oh et al (2002).

Qui ont obtenu une DL_{50} de 0,9 μM pour la cucurbitacine D et ses dérivés (Luis Rios et *al.*, 2002).

3.1-Toxicité in vitro

Beaucoup de recherches ont étudié la toxicité des cucurbitacines aglycones sur différents types de cellules. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur la cytotoxicité des cucurbitacines glycosylés. Les résultats de certaines études sont résumés dans le tableau II (AnnexeII).

La plupart des études menées confirment l'effet inhibiteur in vitro des cucurbitacines sur les cellules procaryotes et eucaryotes. Bartalis et Halaweish (2005) ont montré que la lipophilicité augmente la toxicité des cucurbitacines sur les cellules HepG2 (cellules de hépatocellulaire humain).

D'autre part, Duncan et Duncan en 1997 ont noté que la prolifération de la culture primaire et des lignées immortelles de cellules endothéliales étaient plus sensibles que les cellules confluentes à des concentrations faibles de cucurbitacine E (50nM pendant 24 h). Ceci indique que les tissus et les cellules en croissance sont plus sensibles aux cucurbitacines que les cellules stationnaires (quiescentes). Cette speculation a été confirmée par le fait que l'exposition des explants de carcinome de prostate et des cellules immortelles du même carcinome aux cucurbitacines E a conduit à un blocage cytotinétique par inhibition de la croissance cellulaire et le développement des anomalies morphologiques (Duncan et *al.*, 1996).

3.2- La toxicité in vivo

3.2.1- Toxicité aiguë chez les animaux de laboratoire

Les données du tableau II ont été en partie confirmées par Tessier et Paris (1978), qui ont isolé et caractérisé la cucurbitacine A, le 23, 24-dihydrocucurbitacine A, la cucurbitacine E et la cucurbitacine L. La toxicité de ces composés a été testée par leur administration intrapéritonéale chez la souris. Une administration unique de chaque composé, à une dose de 10 mg / kg de poids corporel entraîne un effet purgatif et perturbe la respiration ce qui entraîne la mort dans 12 à 24 heures.

La Cucurbitacine D est la plus étudiée des cucurbitacines. Les études de la toxicité aiguë de ce composé ont été effectuées sur des souris, des rats, des chats et des chiens (tableau III). Les symptômes de toxicité varient entre les espèces, mais comportaient: des périodes de tachypnée séparées par des intervalles de respiration normale, une diarrhée, et adynamie, suivie d'une prostration, un coma grave puis la mort. Chez les chats et les chiens, des vomissements ont été remarqués (Edery et *al.*, 1961).

La période de latence chez les chats et les chiens était aussi court que 45 minutes, alors qu'elle était de plus de 6 et 10 heures chez les souris et les rats, respectivement, même après exposition aux fortes doses de cucurbitacines (Edery et *al.*, 1961).

Les études anatomo-pathologique des animaux tués par des doses élevées de cucurbitacine D ont révélé une congestion au niveau de l'intestin et du pancréas, et parfois aussi au niveau des reins et du foie. Les poumons ont été fortement œdémateux en raison des grandes quantités de liquide qui les a pénétré. Dans certains cas, des quantités appréciables de liquide ont été trouvés aussi dans les cavités thoracique et abdominale (Edery et *al.*, 1961).

La dose létale minimale des cucurbitacines A et B injectées par voie intraveineuse chez les lapins était aux alentours de 0.7 et 0.5 mg / kg de poids corporel respectivement (Enslin, 1954). Par ailleurs, après administration intraveineuse d'un mélange de cucurbitacine A et B à un chat anesthésié (0.32mg/kg) aucun effet immédiat n'a été enregistré à l'égard de la respiration, la pression sanguine et la survie. Toutefois, après administration d'un mélange constitué de 0.7 mg/kg de cucurbitacine A et 0.3 mg/kg de cucurbitacine B, le chat est mort avec un oedème pulmonaire (David et Vallance, 1955).

D'une autre part, un essai sur l'activité anti-inflammatoire de ces composés a été effectuée sur des souris mâles en utilisant le jus de fruits frais d'*Ecballium Elaterium*. Un certain nombre de fractions de l'extrait hydrosoluble du jus de fruit entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire. La fraction la plus efficace semble contenir la cucurbitacin B. Le jus des fruits semble contenir plus que 24.8g de cucurbitacine B par litre (Sezik, 1997). Des études expérimentales effectuées sur des lapins traités par moelle au goût amer des végétales de l'amarant à peau lisse, qui avait empoisonné des jeunes garçons, ont montré

Tableau.I. valeur de la DL₅₀ (mg/kg) chez la souris après administration orale des dérivés de cucurbitacines (David et Vallance., 1955).

Dérivées de cucurbitacines	DL ₅₀
Cucurbitacine B	LD10:5
Cucurbitacine C	100
Cucurbitacine D	5
Cucurbitacine E	340
B-glycoside de cucurbitacine E	40
Cucurbitacine I	5
B-glycoside de Cucurbitacine I	650

Tableau .II. DL₅₀ (mg/kg) des cucurbitacines après administration intra-péritonéale (David et Vallance., 1955).

Classe de cucurbitacine	Souris Albinos	Rat Albinos
Cucurbitacine A	1.2	2
Cucurbitacine B	1	Non testé
Cucurbitacine C	0,8	>4

Les données du tableau II sont basées sur des études menées en utilisant seulement 3 doses 5 mâles et 2 femelles par dose. Les valeurs de DL₅₀ ont été estimées selon la formule de Kärber (David et Valance, 1955).

Tableau.III. DL₅₀ (mg/kg) de cucurbitacine D dans divers espèces après différentes voies d'administrations (David et Vallance., 1955).

Animal	Edery et al., 1961				le Men et al., 1969
	Voie				Voie
	i.v.	s.c.	orale	i.p.	orale
Souris	0.96	4.6	6.3	1.75	5
Rat	0.9(1)	3.4	8.2	1.3	
Chat	1(1)				
chien					

Voies d'administration: i.v.= intraveineuse ; s.c.= subcutanée ; i.p = intrapéritoniale

que les animaux deviennent inquiets, présentent des impulsions et une respiration accélérée. Le pouls devient progressivement plus faible et la respiration de plus en plus difficile jusqu'à ce que dans les deux à trois heures après le traitement.

3.2.2 - Toxicité subaigue / subchronique chez les animaux de laboratoire

Dix groupes, de souris male. (Swiss Webster) ont été nourris avec un régime de base contenant 1.10 ou 20% d'une courge. (Straightneck), (Blackjack), ou des fruits de *Texana cucurbita* pendant 10 semaines. Les animaux ont été autorisés à consommer les différents régimes gdlitum. Les fruits ont été ajoutés à l'aliment sous forme de poudre sèche (pelées, épépinées, et fruits séchés et mis en fines poudre) remplaçant le saccharose. Les deux cultures de courge ne contiennent pas de cucurbitacines tandis que les fruits de *Texana cucurbita* contiennent 3.56 g de cucurbitacine E glycoside et 1.39 g de cucurbitacine I par kg de fruits frais, c'est-à-dire le régime à base de Cucurbita contient autour de 0.05/ 0.5 et 1 g de cucurbitacines total par kg d'aliment, respectivement.

Tous les animaux traités par *Texana cucurbita* à 10% et à 20% sont décédés dans les 3 à 6 jours suivants.

Trois des huit animaux dans le groupe *Texana cucurbita* 1% sont morts au cours de l'étude après 10 semaines. Les animaux survivants de ce groupe ont montré une réduction du gain de poids corporel, une diarrhée sévère à la fois par rapport aux souris nourries leur régime de base et par rapport aux souris nourries les deux cultures de courge non amères (toutes les concentrations). D'autant plus, ils ont démontré une réduction du taux d'hémoglobine, d'hématocrite et dans la numération des globules rouges (Stoewsand et *al.*, 1985).

Une série d'études ont été réalisées avec la cucurbitacine D purifiée sur des souris, des rats, des chats, des chiens, des lapins et des singes par Edery et *al.* (1961). Une augmentation de la perméabilité capillaire semblait être le principal effet toxicologique produit par la cucurbitacine D. Aucune libération de l'histamine n'a pu être démontré ni chez les animaux intacts ou chez les animaux ayant reçus au niveau de leur patte une perfusions de cucurbitacine D. La baisse de la pression artérielle systémique semble être due principalement à la réduction de la circulation du fluide causée par l'augmentation de la perméabilité capillaire. Il paraît que le fluide s'accumule dans les viscères et au niveau des cavités, ce qui a été prouvé par un oedème pulmonaire chez les animaux après dissection. L'action de cucurbitacine D sur le cœur semblait être d'une importance secondaire dans la chute de la tension artérielle. Une bradycardie a été observée chez les animaux intacts, ainsi que dans le cœur isolé traité avec la cucurbitacine D.

L'effet sur le système respiratoire semble être de nature périphérique puisque l'excitabilité du centre respiratoire est resté inchangé, même après de fortes doses de cucurbitacine D. L'atteinte des mouvements de l'appareil respiratoire semble apparemment due à une augmentation du tonus bronchique, ce qui pourrait être le résultat d'une accumulation du liquide autour des alvéoles. La cucurbitacine D provoque une forte irritation de la muqueuse intestinale et augmente la motilité, mais ne présente aucune action sur l'intestin isolé. Il semble d'une manière peu probable que la cucurbitacine D possède une activité centrale importante.

Toutefois, une synergie a été observée entre la cucurbitacine D et le sodium thiopentane, ce qui pourrait être expliqué par une facilitation de la pénétration de ce stupéfiant dans les cellules du cerveau.

De nombreuses modifications pathologiques ont été remarquées chez les animaux tests accumulant des doses élevées. Le foie a démontré une hépatomégalie, une périhépatite et une dégénération. Une inflammation des ligaments gastro-spléniques ont été trouvées tout au long de l'intestin avec une néphrite interstitielle et une suggestion des poumons, montrant des taches de l'emphysème compensatoires (Edery et *al.*, 1961).

3.2.3- Toxicité subaigue/subchronique chez les animaux domestiques

Barri et ses collègues (1983) ont réalisé plusieurs études basées sur l'utilisation d'une alimentation mélangée avec des feuilles et des fruits des deux cucurbitacées: la coloquinte (*Colocynthis Citrillus*) et la courge (*Lagenaria siceraria*). Bien que le contenu de ces plantes en cucurbitacines expérimentale soit inconnu, les résultats peuvent être brièvement résumés comme suit :

- Une très forte toxicité du *Citrullus colocynthis* a été démontrée à travers les études réalisées sur des chèvres, des veaux et des moutons.
- Des doses quotidiennes de 1 g / kg de poids corporel de fruits frais de *Citrullus colocynthis*, des graines séchées et de la pulpe sèche des fruits entraînaient la mort dans les 10 jours des chèvres nourries avec une sonde gastrique. Trois chèvres ayant reçues 0.25 g de feuilles séchées de coloquinte par kg d'aliment ont décédé le jour 7, 8, 9 de l'étude, respectivement.
- Les veaux ont été nourris des quantités similaires (1 ou 10 g) de fruits de coloquinte par kg de poids corporel. Les trois veaux qui ont reçu 10 g de fruits / kg de poids corporel sont morts après 18 heures, 2 jours et 15 jours respectivement. Dans les deux cas, le premier signe clinique dérivé est la diarrhée. D'autres signes ont été remarqués: une manque d'appétit (anorexie), consommation réduite d'eau, une malaise, une dyspnée, avec prostration et une flexion latérale de la tête et du cou. Une déshydratation, une malaise général, des yeux

enfoncés et une anémie étaient les signes préliminaires observées chez les chèvres et les veaux ayant reçu des doses faibles.

- Les constatations anatomopathologiques chez les chèvres traitées avec des fruits ou des feuilles ont été regroupés en : hémorragies dans l'endocarde, le rein, la rate et la vésicule biliaire et une congestion dans les poumons et le foie, avec une entérite et une emphysème pulmonaire. Une oedème de la paroi de la vésicule biliaire et une nécrose focale du foie ont été les signes prélimaires chez les chèvres ayant reçu 0.5 et 5 g / kg de poids corporel / jour. Les veaux ayant reçu des doses élevée sont montré les mêmes signes que les chèvres, mais l'hémorragie de l'endocarde et la paroi de la vésicule biliaire a été la plus marquée. Il y avait une nécrose hépatique sévère avec gélatinisation du bassinet du rein chez les veaux trouvés avec de faibles doses (Barri et *al.*, 1983).

Dans une autre étude, deux groupes de moutons de mâles de désert ont reçu quotidiennement 1. 5 ou 10 g de fruits frais haché de coloquinte (en suspension dans l'eau) / kg de poids corporel ou des portions quotidiennes de 0.25 ou 10 g de feuilles fraîches hachées des coloquinte / kg de poids corporel. En parallèle, deux groupes de moutons de désert ont reçu des aliments normaux.

Les fortes doses ont été extrêmement toxiques et mortelles. Les signes de toxicité dans les groupes ayant reçus les faibles doses étaient: diarrhée, difficulté de respiration, a perte de l'état, faiblesse des membres postérieurs, du décubitus et une flexion latérale du cou. Les symptômes ont apparus entre 5 et 8 jours. Les animaux menet après 9 et 25 jours. Les résultats anatomopathologiques dans la plupart des animaux se présentent sous forme d"entérite, une hémorragie, des changements du contenu lipidique avec congestion au niveau des reins et du foie. Une congestion avec hémorragie ont obsrvées la vésicule biliaire chez tous les groupes, à l'exception de ceux traités avec les plus fortes doses..

Au niveau du sérum, un seul changement représenté par une diminution du taux des protéines a été canstaté, ce qui pourrait être la conséquence d'une dysfonctionnement hépatique. Les études hématologiques sont révéle une augmentation concomitante de l'hématocrite et une hématoconcentration : augmentation du nombre des globules rouges et de la concentration d'hémoglobine (Elawad et *al.*, 1984).

Une autre expérisuentitison a été menée sur des poussios de 7 jours après avoir reçu une alimentation contenant 2% ou 10% de graines de *Citrullus colocynthis* pendant 6 semaines. Pendant l'expérience, le poids corporel moyen et la consomation d'aliments ont été significativement réduites chez le groupe traité par 10% de graines. L'analyse hématologique a révéle une augmentation significative des activités de la lactate déshydrogénase (LDH), aminotransférase de l'aspartate et de la créatimine kinase avec augmentation sur des lipides totaux et du zinc dans le sang. Les lésions observées dans l'intestin, le foie, les reins et les

tissus ont été réversibles et ont disparus après 4 semaines du retrait des graines *Citrullus colocynthis* du régime expérimental (Bakhiet et Adam, 1995).

Un caractère connu des effets toxiques rapportés chez les animaux domestiques et l'expérimentation exposés aux cucurbitacines isolées ou purifiées à partir des plantes, ou à des extraits de plantes contenant ces substances est une irritation violente de la muqueuse intestinale. D'autre part plus, après une exposition prolongée, il y a apparition de changement dans le contenu lipidique du foie, une emphysème ou œdème et une nécrose des cellules des tubules rénaux (Luis Rios., *al* 2002).

3.2.4- Etudes subchroniques et anti-tumorigènes chez les animaux de laboratoire

Aucune donnée n'est disponible à propos de la toxicité chronique des cucurbitacines glycosylées ou non glycosylées chez les animaux sains ou les tissus. Toutefois, certains de ces composés ont été testés pour leur activités chimiothérapeutiques contre les cellules tumorales.

L'administration de 0.8 à 1.6 mg/kg cucurbitacine B inhibait le développement des tumeurs chez des rats présentant un carcinosarcome de Walker 256 et des souris présentant un carcinome pulmonaire de Lewis. Toutefois, vu que la marge entre les doses actives et la dose toxique est faible, le composé a été déclaré peu prometteur en tant qu'agent thérapeutique. La Cucurbitacine E avait une très faible activité contre le carcinosarcome Walker 256 chez le rat (Kupchan et *al.*, 1967).

Dans une étude similaire, Konopa et *al.* (1974b) ont injecté les cucurbitacines B, D, E, I, J, K, L et le tétrahydrocucurbitacine I à des souris atteintes de sarcome de Crocker 180. Les taux des cucurbitacines administrées ont été approximativement égales à la dose maximale tolérée déterminée dans l'étude (0.4 à 0.8 mg / kg de poids corporel pour les cucurbitacines B, D et I, et 4 mg / kg pour la cucurbitacine E). Tous les cucurbitacines testées étaient cytotoxiques pour les cellules KB et les cellules HeLa in vitro. Bien qu'elles soient cytotoxiques in vitro, les cucurbitacines J, K, L et le tétrahydrocucurbitacine I n'inhibent pas la croissance des cellules tumorales implantées dans les études in vivo (Luis Rios., *al* 2002).