

I- GENERALITES

Le mot «terpène» tire son origine du mot terpentin ou térébenthine, une oléorésine provenant du térébinthe (*Pistacia terebenthinus*) (Berthet et Costesec, 2006). Ce composé a été découvert en 1818 comme étant un mélange d'hydrocarbures avec un ratio carbone-hydrogène de 5 : 8. Depuis, plusieurs huiles essentielles possédant le même rapport carbone-hydrogène ont été identifiées et classées parmi les terpènes (Ruzicka et *al.*, 1953; Ruzicka, 1959).

Les terpènes, également désignés sous la nomination d'isoprénoïdes, constituent une vaste famille de substances naturelles. Le squelette carboné de ces composés est formellement constitué d'un élément de base commun à squelette ramifié, à cinq atomes de carbone et dérivé de l'isoprène (hémiterpène) : le 2-méthylbuta-1, 3-diène (**Fig. 1**) (Connolly et Hill, 1992).

La chaîne carbonée insaturée des terpènes est ensuite modifiée par oxydation, réduction ou élimination de carbone (Saxena et Basit, 1982). De cet assemblage résulte une grande variété de produits ou dérivés tels que : huiles essentielles, résines, stéroïdes, caroténoïdes, ubiquinone, dolichol, tocophérol, phytol et des polymères comme le caoutchouc (Saxena et Basit, 1982; Berthet et Costesec, 2006).

Les terpènes se distinguent des autres classes de métabolites secondaires par leur origine commune et leur nature hautement lipophile (hydrophobe). Prés de 20 000 terpènes ont été isolés et caractérisés à l'heure actuelle et la liste ne cesse de s'agrandir, ce qui dépasse tout autre groupe de produits végétaux. Les petites molécules sont isolées principalement des plantes où elles sont responsables de l'odeur caractéristique du végétal (cas du géranium). Les plus grandes molécules de terpène telles que : le phytol (constituant de la chlorophylle), les caroténoïdes, le caoutchouc, etc., certains terpènes importants ont pu aussi être isolés de sources animales (ex : squalène de l'extrait de l'huile de foie de requin) (Marouf, 2000).

II- BIOSYNTHESE

L'existence des motifs isopréniques est suggérée pour la première fois par Wallach en 1887. Il fut le premier à proposer l'hypothèse que des condensations successives d'unités isoprènes de manière « tête-à-queue » donnent des composés chimiques à n fois cinq atomes de carbone (Wallach, 1887; Jens et Pederson, 2000).

Quelques dizaines d'années plus tard (1953), le chimiste Léopold Ruzicka, après plus de trente années consacrées à l'étude des terpènes, transformait cette hypothèse en une règle générale dite « la règle isoprénique » dont le principe a été, depuis confirmé expérimentalement (Itokawa et *al.*, 1981; Bruneton, 1999). Cette règle considère que le diphosphate d'isopentényl, produit de la phosphorylation et de la décarboxylation du

mévalonate, désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique (Berthet et Costesec, 2006).

En réalité, l'isopentényl diphosphate (IPD ou IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP), équivalents biologiques de l'isoprène, constituent les deux précurseurs communs pour tous les isoprénoïdes. Ces molécules précurseurs peuvent s'isomériser grâce à une enzyme, l'IPP isomérase (**Fig.2**) (Ramos-Valdiva et al., 1997).

Ces composés mènent, tout au long d'une chaîne réactionnelle commune comprenant la fixation progressive d'unités isoprènes (polymérisation) jusqu'au composé clé de chaque groupe particulier (3 blocs majeurs), qui vont être à la base des polymères supérieurs: le géranyl diphosphate (GPP: DMAPP + IPP) en C₁₀; le farnésyl diphosphate (FPP: GPP + IPP) en C₁₅; le géranylgeranyl diphosphate (GGPP: FPP + IPP) en C₂₀ (**Fig. 3**) (Heller et al., 1998 ; Richter, 1993).

D'une manière générale, il est indispensable d'insister sur le fait que l'existence de tous les terpènes est conditionnée par trois séquences réactionnelles fondamentales:

- Formation de l'isoprène actif
- Couplage «tête-à-queue» des unités en C₅ justifiant l'existence des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes, des sesterpènes et des polyterpènes.
- Couplage «queue -à -queue» des unités en C₁₅ ou C₂₀ justifiant l'existence des triterpènes.

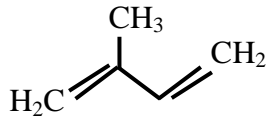
Hormis ces trois séquences capitales, le reste de la biosynthèse sera facilement interprété comme une suite de réactions très classiques (Bruneton, 1987).

2.1- Formation de l'isoprène actif

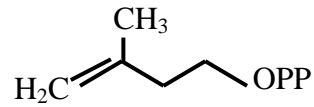
Les terpènes ne sont pas vraiment formés dans la nature à partir de l'isoprène, un composé qui n'a jamais été détecté dans un organisme vivant (Bruneton, 1987). En effet, la synthèse des différents composés terpéniques commencent par la formation de l'IPP qui peut s'isomériser en pyrophosphate de diméthylallyl (DMAPP) (Guignard, 1973).

La formation d'IPP a été considérablement étudiée dans les années 50, spécialement sur des préparations de foie; ce qui a conduit à la découverte de la voie du mévalonate (MVA), longtemps considérée comme l'unique voie de biosynthèse des isoprénoïdes chez les organismes vivants (Spurgeon et Porter, 1981).

Au cours des dernières années, une voie alternative indépendante du mévalonate à été découverte chez plusieurs eubactéries, chez les algues et dans les chloroplastes de plantes supérieures (**Tab. 1 et 2 voir annexe**), elle est appelée voie du 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate (voie du MEP) (Rohmer et al., 1996).

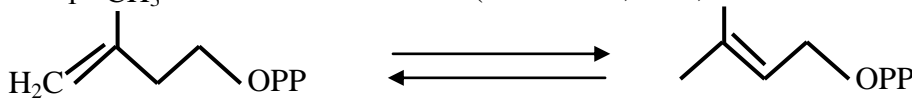


a - L'unité isoprène : le 2-méthyl buta-1,3-diène



b - L'isopentényl diphosphate (IPD ou IPP) : le pyrophosphate du 2 - méthyl - 3-butène - 1yle

Figure 1 : L'isoprène et sa forme active L'IPD (Heller et *al.*, 1998, Berthet et Costesec, 2006)



Le diphosphate d'isopentényle (IPP)

Le diméthylallyl diphosphate (DMAPP)

Figure 2 : Réaction catalysée par l'isopentényl diphosphate isomérase (Heller et *al.*, 1998)

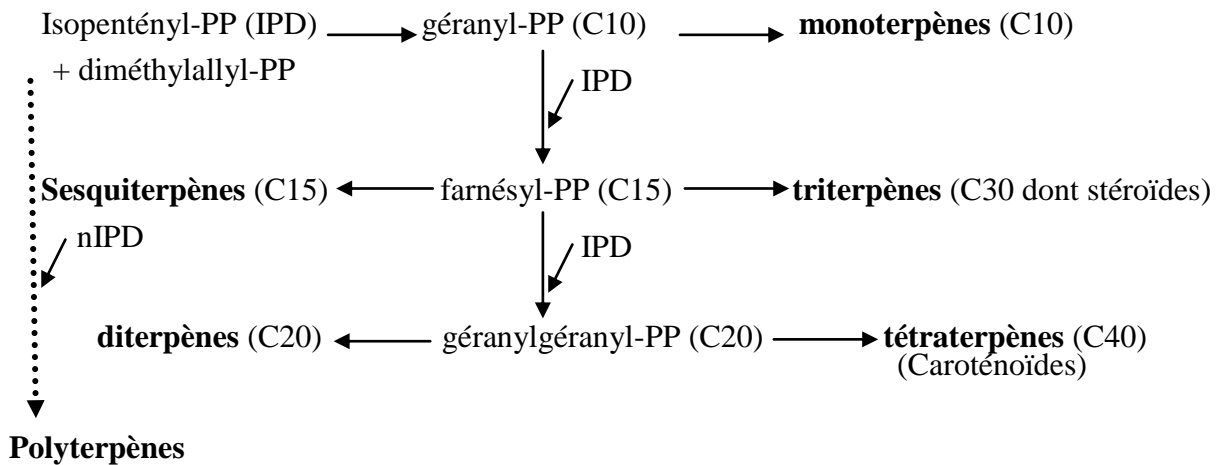


Figure 3 : Formation des isoprénoïdes par une chaîne réactionnelle commune (Richter, 1993).

2.1.1- Voie du mévalonate (MVA)

C'est une voie commune aux végétaux et aux animaux qui est à l'origine des triterpènes et des stéroïdes (Guignard, 2000).

La recherche des précurseurs de l'IPP a été réalisée par des études d'incorporation de composés radioactifs. Le foie et la levure de bière ont été les principaux systèmes biologiques étudiés pour élucider cette voie de biosynthèse. Le premier précurseur reconnu a été l'acétate. Au début des années 40, Bloch et Rittenberg ont découvert que l'incorporation d'acétate de sodium deutéré chez les souris et les rats permet la formation de cholestérol deutéré (Bloch et Rittenberg, 1942). Un peu plus tard, des études similaires ont montré que l'acide mévalonique constitue un intermédiaire spécifique de la synthèse de l'IPP aussi bien chez les animaux et les champignons que chez les plantes et les bactéries (Spurgeon et Porter, 1981).

La synthèse de l'IPP débute dans le cytosol par la condensation de trois molécules d'acétyl-CoA, conduisant à un composé en C₆, le 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA (HMG-CoA), dont la réduction par une HMG-CoA réductase fournit le mévalonate (MVA).

Le mévalonate subit alors deux phosphorylations successives assurées par deux kinases distinctes, d'où la formation d'un mévalonate activé, le mévalonyl diphosphate (MAVPP). Ce MAVPP, en présence d'ATP, qui lui fournit l'énergie, et d'une MAVPP décarboxylase, se décarboxyle en IPP. Cet IPP, peu réactif, est isomérisé par une IPP isomérase, en DMAPP (Fig. 4) (Heller et al., 1998).

2.1.2- Voie du glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP) ou voie du 2-C-méthyl-D-érythritol 4-phosphate (MEP)

La constatation, à la fin des années quatre-vingt, que des bactéries (*Rhodospseudomonas* spp., *Methylobacterium* spp.) élaboraient à partir de précurseurs marqués des hopanoïdes (i.e. des triterpènes) dont le marquage ne correspondait pas au marquage théorique attendu a conduit à l'élucidation, chez diverses bactéries et chez une algue verte (*Scenedesmus obliquus*), des principales étapes d'une nouvelle voie de biosynthèse de l'IPP. Il a également été démontré que cette voie conduit dans les *plastides* des végétaux supérieures (*Daucus*, *Lemna*, *Hordeum*) aux polyprénols: plastoquinone, caroténoïdes et phytols (Bruneton, 1999).

Cette deuxième voie constitue de ce fait une voie spécifique des végétaux et de certains procaryotes (Tab. 3 et 4 voir annexe). Elle a lieu dans le chloroplaste. Elle est à l'origine de la majorité des terpènes végétaux: caroténoïdes des chloroplastes, des chromoplastes, phytol de la chlorophylle, chaîne des plastoquinones, mais aussi monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, et polyterpènes (Guignard, 2000).

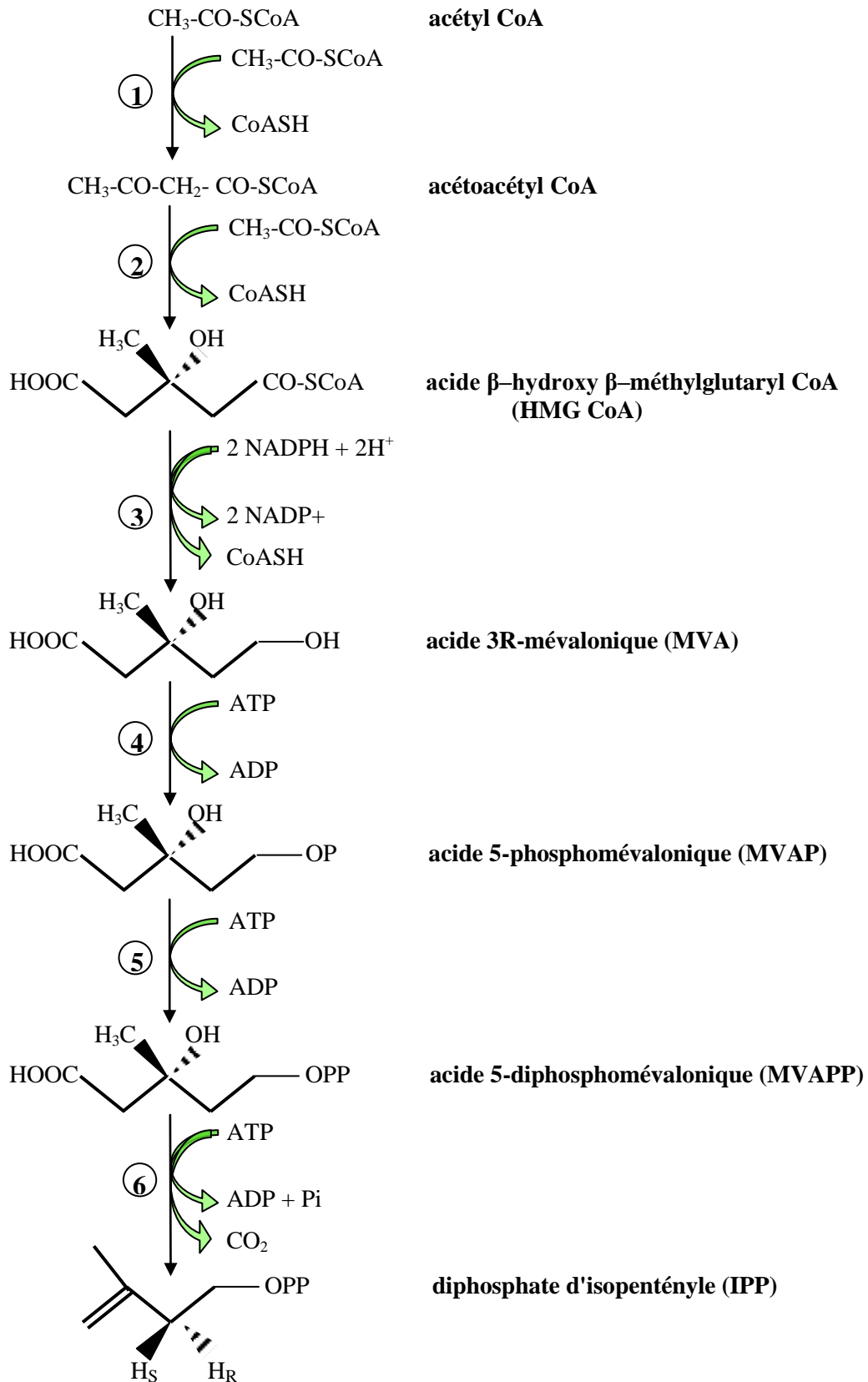


Figure 4 : Principales étapes de biosynthèse du diphosphate d'isopentényle à partir de l'acétyl CoA (Gershenzon et Croteau, 1990 ; Bach et *al.*, 1990 ; Bach, 1987).

- | | |
|--|---|
| 1 : Acétoacétyl CoA thiolase | 4 : mévalonate kinase |
| 2 : HMG CoA synthétase | 5 : mévalonate 5-phosphate kinase |
| 3 : HMG CoA réductase décarboxylase | 6 : mévalonate 5-phosphate décarboxylase |

La voie débute par la condensation du GAP et du pyruvate (PYR) tous deux issus du métabolisme du glucose, dans une réaction de transacétylation. Le premier intermédiaire, le 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP), est synthétisé sous l'action de la DXP synthase à partir du GAP et du PYR en présence du cofacteur thiamine diphosphate. Sous l'action d'une réductoisomérase, le 1-désoxy-D-xylulose 5-phosphate isoméro-réductase (DXR), le DXP subit un réarrangement et une condensation intramoléculaire pour devenir le MEP, second intermédiaire de la voie (**Fig. 5**) (Lange et Croteau, 1999).

De nombreuses études ont récemment permis de compléter la voie grâce à la découverte d'un certain nombre d'intermédiaires métaboliques comme le 4-(cytidine 5-diphospho)-2-C-méthyl-D-érythritol, le 2-phospho-4-(cytidine 5-diphospho)-2-C-méthyl-D-érythritol, 2-C-méthyl-D-érythritol 2,4-cyclodiphosphate et le (E)-4-hydroxy-3-méthylbut-2-ényl. Le dernier précurseur de cette voie indépendante du mévalonate est finalement transformé soit en diphosphate d'isopentényle soit en diphosphate de diméthylallyle. Toutes les protéines qui interviennent dans ces étapes ont pu être caractérisées en grande partie grâce à de nombreuses études sur des mutants d'*E. coli* (Eisenreich et *al.*, 2001; Kuzuyama et Seto, 2003).

En aval de l'IPP, la polymérisation des unités isopréniques se produit selon le même processus que l'IPP soit d'une origine cytosolique ou chloroplastique:

- L'IPP s'isomérisé en DMAPP en donnant du pyrophosphate de géranyle (GPP) en C₁₀;
- Une addition similaire d'IPP conduit au pyrophosphate de farnésyle (FPP) en C₁₅;
- Puis au pyrophosphate de géranylgeranyle (GGPP) en C₂₀ (Guignard, 2000).

2.2- Couplage tête-à-queue des unités isopréniques

L'addition du DMAPP sur la double liaison de l'IPP est catalysée par une prényltransférase, la GPP-synthase: la réaction implique l'ionisation du pyrophosphate d'allyl et le départ du groupe pyrophosphate qui permet l'attaque électrophile simultanée et stéréosélective du carbocation allylique formé sur la double liaison du pyrophosphate d'isopentényle. La condensation s'accompagne de l'élimination d'un proton de l'IPP.

La même réaction de prénylation peut se poursuivre: l'addition du GPP sur un IPP conduit au FPP et ainsi de suite pour former la série des pyrophosphates de prényls allyliques homologues. L'élongation est catalysée par des prényl-transférases dont certaines sont spécifiques pour une longueur de chaîne donnée (**Fig. 6**) (Bruneton, 1999).

2.3- Couplage queue à queue des unités en C₁₅ et C₂₀

Le mécanisme de ce couplage «queue-à-queue» n'a été que tardivement élucidé avec l'isolement d'un autre intermédiaire: le pyrophosphate de présqualène. La structure cyclopropanique de ce dernier permet de penser que la liaison C₂-C₃ d'un FPP est alkylée par une autre molécule de FPP et que l'élimination d'un proton conduit à la formation du

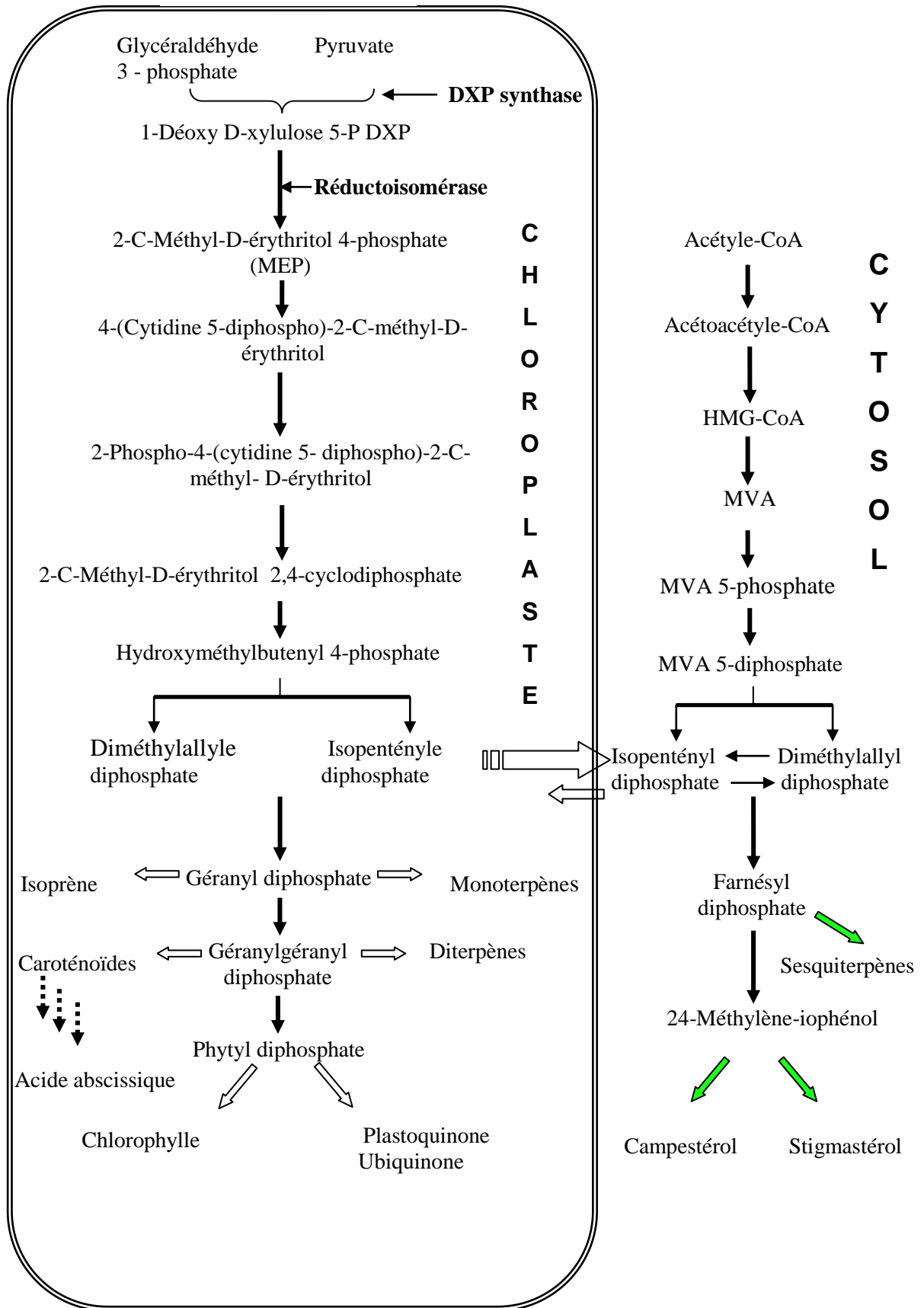


Figure 5 : Voies de biosynthèse des isoprénoïdes chez les plantes et leur localisation cellulaire (Disch et *al.*, 1998).

cyclopropane. Si le milieu est déficient en NADPH, le pyrophosphate de squalène s'accumule. Dans le cas contraire, il se réarrange en squalène, sans doute par l'intermédiaire d'un carbocation cyclopropanique. Un mécanisme identique explique la formation de phytoène (précurseurs des carotènes : doublement du GGPP) (**Fig. 6**) (Bruneton, 1999).

2.4- Biosynthèse des triterpènes pentacycliques

Dans les plantes supérieures, l'oxydosqualène est l'intermédiaire biosynthétique commun des stéroïdes et des triterpènes. Le squalène formé est oxydé par le squalène oxydase (**Fig. 7 a**). La cyclisation enzymatique du 2, 3-oxydosqualène peut se faire selon des conformations «chaise-bateau-chaise» pour donner le cation protostenyle, lui-même converti ensuite en cycloartenol ou lanostérol. Ces cyclisations sont catalysées respectivement par les 2, 3- oxydosqualène cyclase (OSCS), le cyclosynthase (CS) et le lanostérol synthase (LS) (Goodwin, 1980).

La synthèse des triterpènes peut se faire également selon des conformations «chaise-chaise-chaise» pour donner le cation dammarenyle tétracyclique. Ce dernier peut subir ultérieurement des réarrangements conduisant à la formation des triterpènes pentacycliques (**Fig. 7 b**) (Manitto, 1980).

III-NOMENCLATURE

En fonction du nombre d'unités isopréniques (C_5H_8), les terpènes peuvent être classés chimiquement en: monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), diterpènes ($C_{20}H_{32}$), triterpènes ($C_{30}H_{48}$), tetraterpènes ($C_{40}H_{64}$) et polyterpènes qui contiennent le multiple de $N \times 5$ carbones, avec N allant de 9 jusqu'à 10^5 (Anton et Bernard, 2001 ; Marouf, 2000).

3.1-Les monoterpènes

Ces dérivées du GPP existent sous la forme d'hydrocarbures simples (limonène, myrcène...), d'aldéhydes (linalal, géraniol...), d'alcools (linalol, géraniol...) et d'acides (acide linalique, géranique) voire d'esters (acétate de linalyle) (Singh et *al.*, 1989; Kaufman et *al.*, 1999).

Cette classe renferme 200 composés répartis sur 15 squelettes différents. Ils peuvent être acycliques dites linéaires ou à chaîne ouverte, c'est le cas du géraniol, un alcool monoterpénique qui se forme probablement par élimination enzymatique du diphosphate du géranyl diphosphate. Une oxydation supplémentaire du géraniol conduit à un acide carboxylique: l'acide géranique (Richter, 1993; Ralaivao, 1995).

Le citronellol est un autre alcool monoterpénique; ses dérivés aldéhydes sont le citral et le citronellal. Il existe également des monoterpènes cétones (cas du tagétone), des oléfines tels que le myrcène et le cis ocimène (**Fig. 8**). Des monoterpènes bicycliques, tricycliques ou

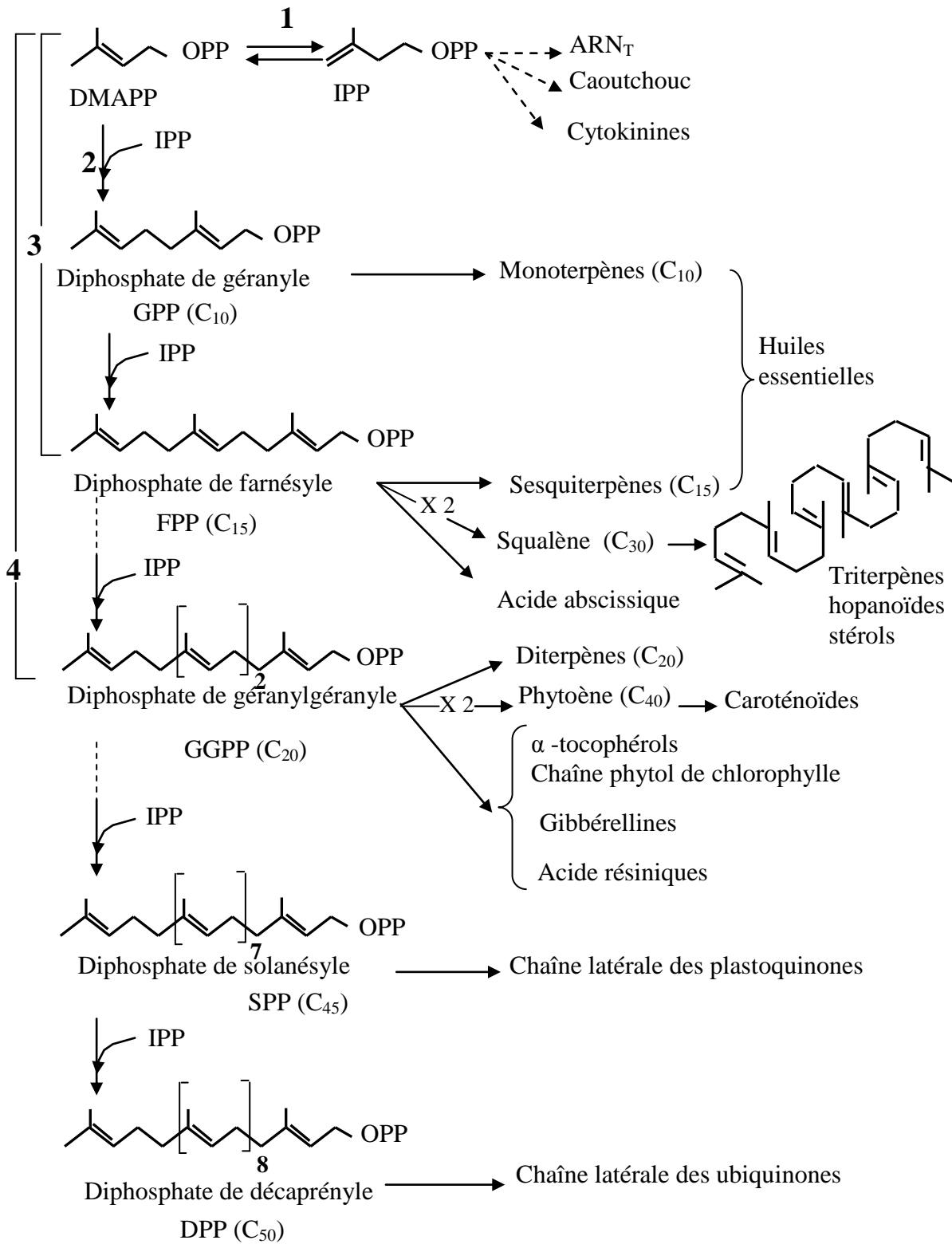


Figure 6: Mode d'élongation des composés terpéniques à partir du chaînon élémentaire, le diphosphate d'isopentényle (IPP) (Bach, 1987; Singh *et al.*, 1990).

- 1 : isopentényl diphosphate isomérase
- 2 : géranyl diphosphate synthétase
- 3 : farnésyl diphosphate synthétase
- 4 : géranylgéranyl diphosphate synthétase

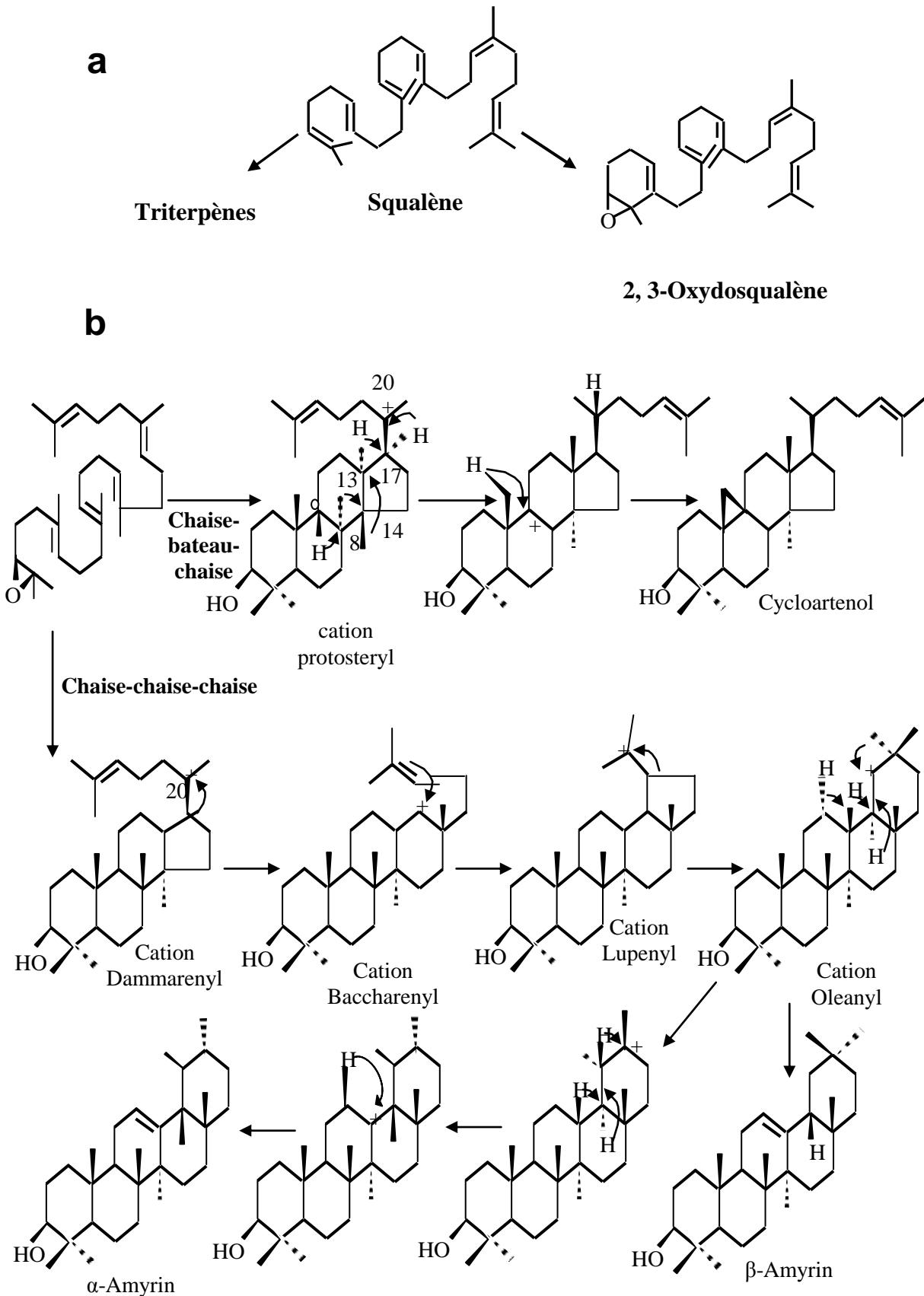


Figure 7 : Biosynthèse de triterpènes pentacycliques (Goodwin, 1980; Manitto, 1980)

a- Oxydation du squalène par le squalène oxydase

b- La cyclisation enzymatique du 2,3-oxydosqualène

irréguliers ont pu être aussi rencontrés (**Fig. 8**) (Richter, 1993).

3.2- Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes forment un sous groupe d'environ 5 000 composés terpéniques répartis de la même façon que les monoterpènes. Ces composés peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques (Guignard, 2000; Wink, 2003).

3.2.1- Les sesquiterpènes linéaires

Les sesquiterpènes linéaires sont peu nombreux. Le farnésol (**Fig. 9**) représente le type relativement rare des composés à chaîne ouverte (acyclique) de ce groupe. Ce composé largement répandu dans le règne végétal (parfum) se forme par déphosphorylation de son précurseur, le FPP. L'hormone juvénile des insectes en est un époxyde qui possède une structure très semblable. Le farnésol remplace le phytol dans la chaîne latérale des bactériochlorophylles (Richter, 1993).

3.2.2- Les sesquiterpènes cycliques

Plus fréquents sont les sesquiterpènes monocycliques et bicycliques. L'acide S (+) – abscissique (**Fig. 9**), une phytohormone présente dans les bourgeons, les feuilles, les graines et les fruits de nombreuses plantes est parmi les sesquiterpènes monocycliques les plus répandus (Asakawa et al., 1988). D'autres composés tels que: l' α -cadinène, composé hydrocarboné strict, l'alcool carotol et la gingembérine appartiennent au groupe des sesquiterpènes bicycliques (Richter, 1993).

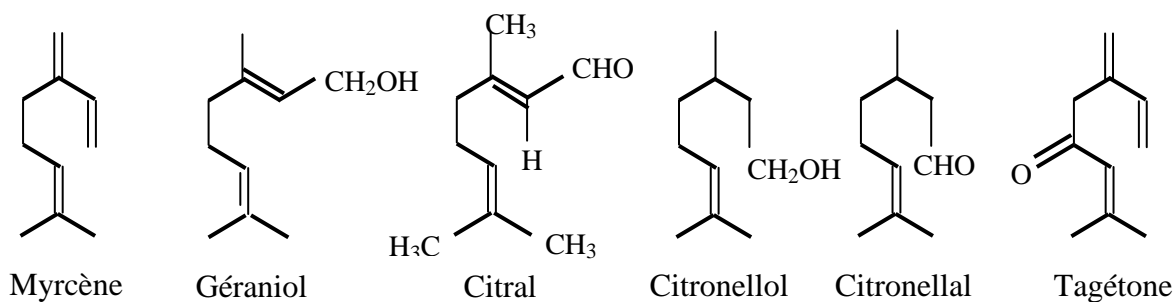
D'autant plus, les azulènes constitue un groupe particulier de sesquiterpènes. Ces composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue, sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ils sont insaturés et constitués de deux cycles penta et heptacarbonés (groupe de chamazulène des essences de camomille et de matricaire) (Cu, 1990).

3.3- Les diterpènes

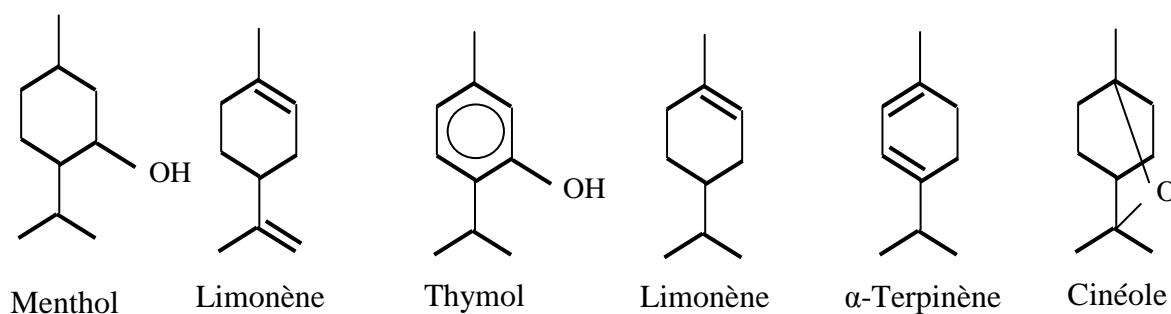
Leur représentant le plus simple est le géranylgéraniol qui est un produit du déphosphorylation du GGPP (Xu et al., 2004).

Les gibbérellines sont aussi des diterpènes à fonction biologique importante. Le squelette *ent*-gibbérellane (**Fig. 10**), est à la base de leur structure moléculaire tétracyclique. Les gibbérellines forment un groupe de composés très semblables structurellement. La première gibbérelline a été découverte par *Kurosawa*, en 1926, dans le filtrat d'une culture d'ascomycète phytopathogène, *Gibberella fujikuroi* (actuellement: *Fusarium heterosporum*). Actuellement il y a beaucoup d'autres, qui sont des hormones caractéristiques des plantes supérieures (Richter, 1993).

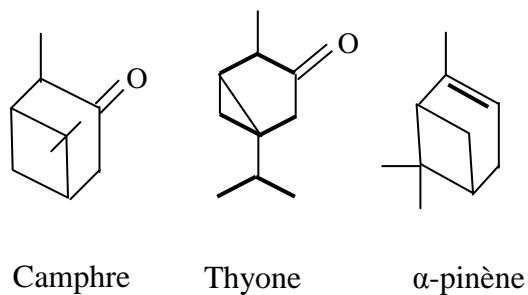
a/ Acycliques ou à chaîne ouverte



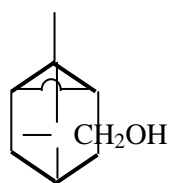
b/ Monocycliques



c/ Bicycliques



d/ Tricycliques



e/ Irréguliers

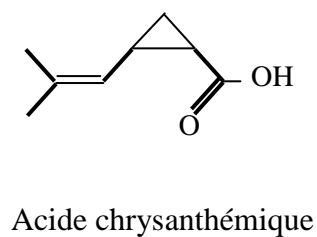


Figure 8: Quelques exemples de monoterpènes (Heller, 1998; Guignard, 2000)

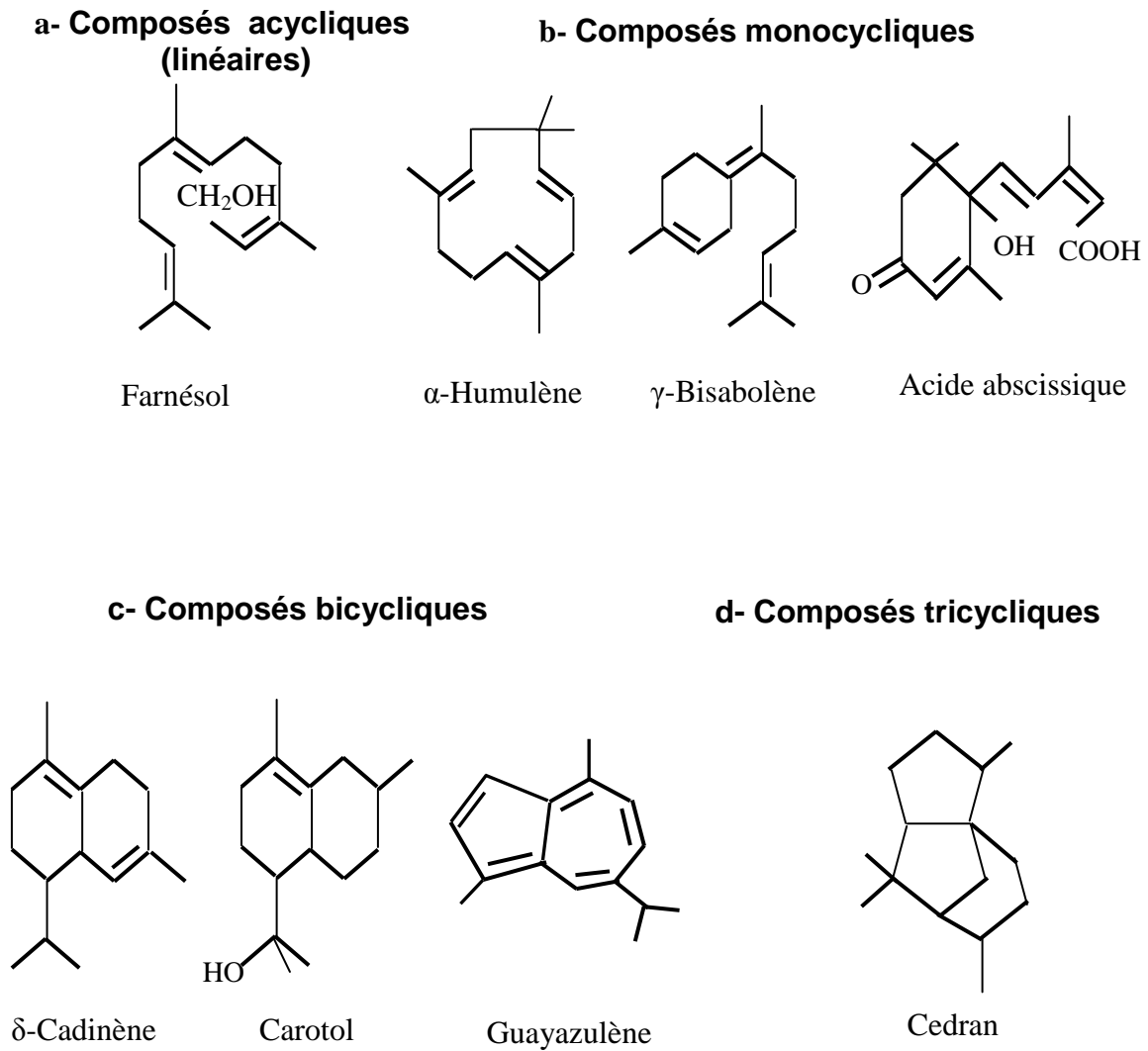


Figure 9: Quelques exemples de composés sesquiterpéniques (Bruneton, 1999; Guignard, 2000)

3.4- Les triterpènes

Les triterpènes constituent une classe de métabolites secondaires composés de 30 carbones. Ils peuvent être rencontrés à l'état libre (squalène, phytostérols, triterpènes pentacycliques) ou sous forme d'hétérosides (saponosides) (Guignard, 2000).

Au niveau biosynthétique, les 200 squelettes connus jusqu'à ce jour, isolés de sources naturelles proviennent de la cyclisation du 3 S-2, 3-époxydo-2, 3-dihydro- squalène et quelquefois du squalène lui-même. Ces molécules sont presque toujours hydroxylées en position 3 étant donné l'ouverture de l'époxyde lors de la cyclisation (Xu et al., 2004).

Ces molécules sont formées par l'assemblage queue à queue de deux FPP et leur voie de biosynthèse est partagée entre les animaux et les végétaux. Leur structure de base commune renferme le stérane, un composé hydrocarboné alicyclique saturé (Da Costa et Jones, 1971).

Les principaux groupes de triterpènes et leurs glycosides sont représentés par des composés tetracycliques dérivés en prostatane, cycloartane, dammarane, euphane, et des composés pentacycliques dérivés de l'ursane, gammacerane, lupane, et hopane (**Fig. 11**) (Szakiel et al., 1995).

Tetra ou pentacycliques, ils comprennent plusieurs groupes dont un grand nombre de composés possèdent une fonction importante sur le plan biologique. Les principaux groupes impliqués dans la défense des végétaux face aux insectes sont les cucurbitacines, les limonoïdes et les saponines. Toutefois les stérols, les alcaloïdes stéroïdaux, les hormones stéroïdes et les glycosides cardiotoniques présentent également des activités anti-herbivores intéressantes (Da Costa et Jones, 1971).

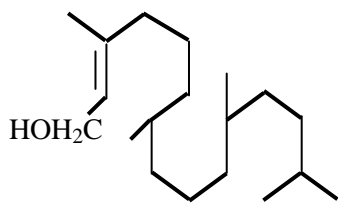
3.4.1- Les stérols

Le squalène est un composé hydrocarboné insaturé, dont la molécule résulte de l'assemblage de deux moitiés symétriques qui a tendance à la cyclisation (**Fig. 7a**) (Richter, 1993).

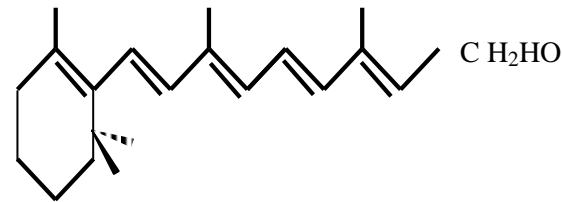
Chez les vertébrés, le cholestérol provenant du lanostérol sert de précurseur à de nombreux stéroïdes animaux (**Fig. 12**) (hormones stéroïdes, provitamine D, acide gallique). Il existe à l'état de traces chez les végétaux (Dinan, 2001). Chez la levure, c'est l'ergostérol qui sert de précurseur. Chez les végétaux, le premier composé stable après cyclisation du squalène est le cycloarténol. C'est le précurseur pour les stérols caractéristiques des plantes supérieures, les phytostérols. Ceux-ci constituent, en commun avec divers lipides, les biomembranes des cellules végétales, où ils se trouvent probablement sous la forme de stérols glycosides et de composés acylés de ces derniers. Les phytostérols typiques se distinguent du cholestérol par leurs chaînes latérales en C₁ et en C₂ sur le carbone C-24 ou par une double liaison supplémentaire en C-22 (Richter, 1993 ; Dinan, 2001).

a- Composés à chaîne ouverte

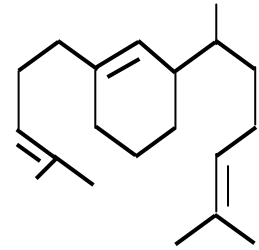
b- Composés monocycliques



Phytol

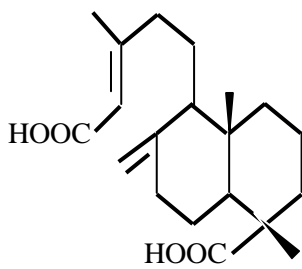


Vitamine A

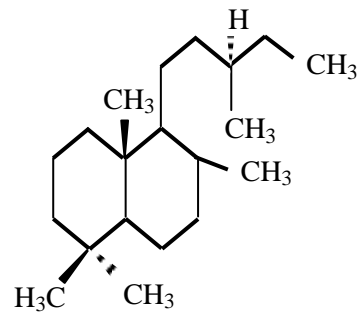


α -Camphorène

c- Composés bicycliques

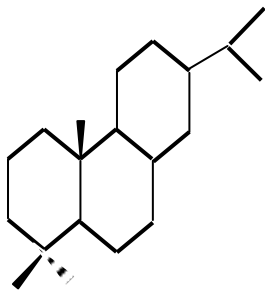


Acide agathique

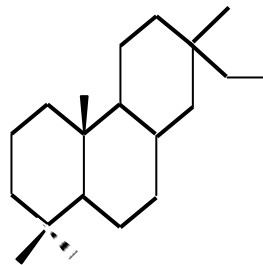


Labdane

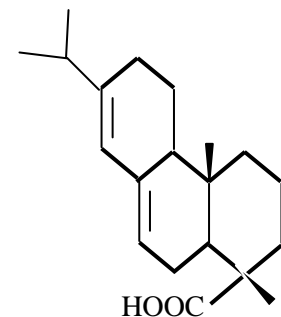
d- Composés tricycliques



Abiétane

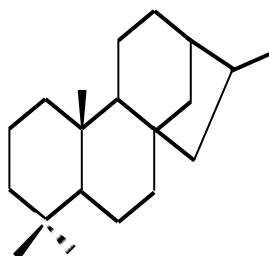


Pimarane

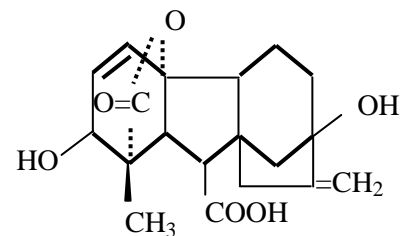


Acide abiétique

e- Composés tetracycliques



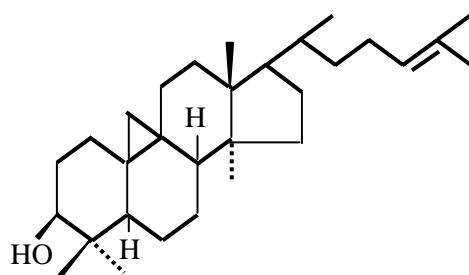
Kaurane



Gibbérelline

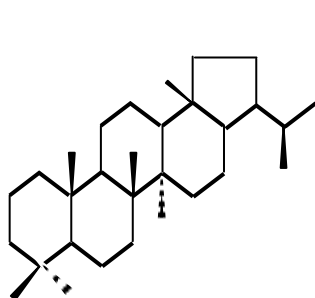
Figure 10: Les différents types de diterpènes (Guignard, 2000; Xu et al., 2004)

a- Triterpène tétracyclique

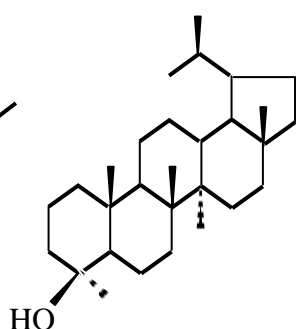


Cucurbitacine

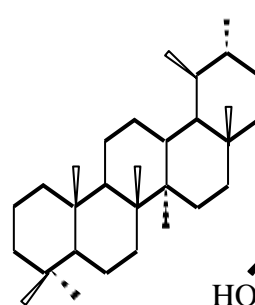
b- Triterpène pentacyclique



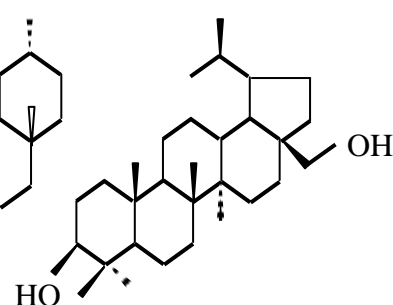
Hopane



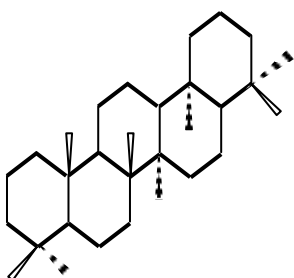
Lupéol



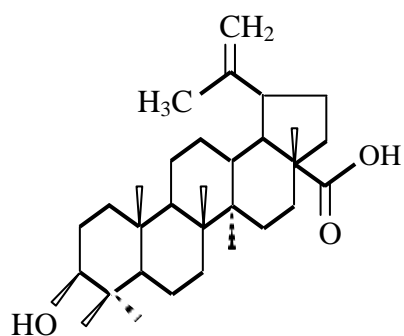
Ursane



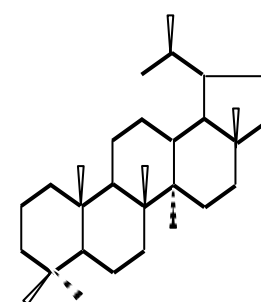
Butillinol



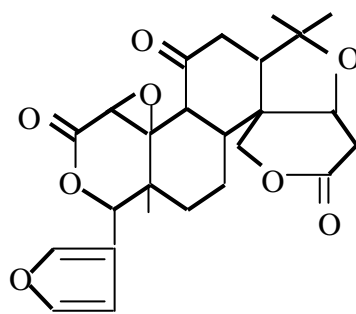
Gammacerane



L'acide butillinique



Lupane



Limonine

Figure 11: Principaux composés triterpéniques (Guignard, 1979; Szakiel et *al.*, 1995)

3.4.2- Les saponines

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires fréquemment rencontrés chez les végétaux. Ils tirent leur nom du latin *sapo* signifiant savon en raison de leur propriété à former des solutions moussantes en présence d'eau (Bruneton, 1999).

Une hydrolyse acide ou enzymatique les décompose en sucres et en aglycone, nommé sapogénine. Les chaînes glucidiques de tailles et de séquences variées (composées à partir d'un petit nombre de sucres, jusqu'à 10) sont rattachées à un groupe hydroxyle (le plus souvent en C-3) ou à deux groupes hydroxyle de l'aglycone, aussi bien qu'à un groupe carboxyle (le plus souvent en C-17), par des liaisons glycosidiques ou esters (Ishaaya et al., 1969; Richter, 1993).

Selon que le groupe génine est un triterpène ou un stérol, il est à distinguer des saponines triterpènes ou des saponines stéroïdes (**Tab.6 voir annexe**) (Richter, 1993).

3.4.2.1- Les saponines triterpéniques

La grande majorité (environ 120 composés) des saponines végétales appartiennent à ce groupe. Leur aglycone possède la plupart du temps une structure de base pentacyclique, plus rarement tétracyclique. Les aglycones (sapogénines) abondants du type triterpène sont la β -amyrine, l'acide ursolique et l'acide oléanolique (**Fig. 13**) (Ishaaya et al., 1969).

3.4.2.2- Les saponines stéroïdes

La structure de leur aglycone dérive exclusivement de la structure du stérane et comprend 27 atomes de carbone. La chaîne latérale située au niveau de l'atome C-17 se compose, soit des structures cycliques E et F (lactanes) (type spirostanol), soit seulement du cycle E (type furostanol). Dans ce dernier cas, le C-26 porte un groupe hydroxyle, qui réagit avec le D-glucose et forme une liaison glycosidique (Richter, 1993).

3.4.3- Les alcaloïdes stéroïdes

Les alcaloïdes stéroïdes établissent le lien avec les alcaloïdes, autre groupe important de métabolites secondaires végétaux. Les alcaloïdes stéroïdes pourraient être inclus dans le groupe des alcaloïdes *sensu stricto*, en particulier à cause de la présence d'azote dans leur structure moléculaire. Pourtant, leur mode de biosynthèse les désigne nettement comme des isoprènoïdes (Richter, 1993).

La plupart des alcaloïdes stéroïdes se présentent sous forme de glycosides (glyco-alcaloïdes). Leur aglycone possède 21 ou 27 carbones. Parmi les composés en C₂₇, deux groupes sont à distinguer : ceux principalement produits par les *Liliaceae* et ceux produits principalement par les *Solanaceae*. Parmi ces derniers, la tomatine, la solanine et la démissine de *Solanum demissum* qui protègent la plante de la voracité du doryphore (Richter, 1993).

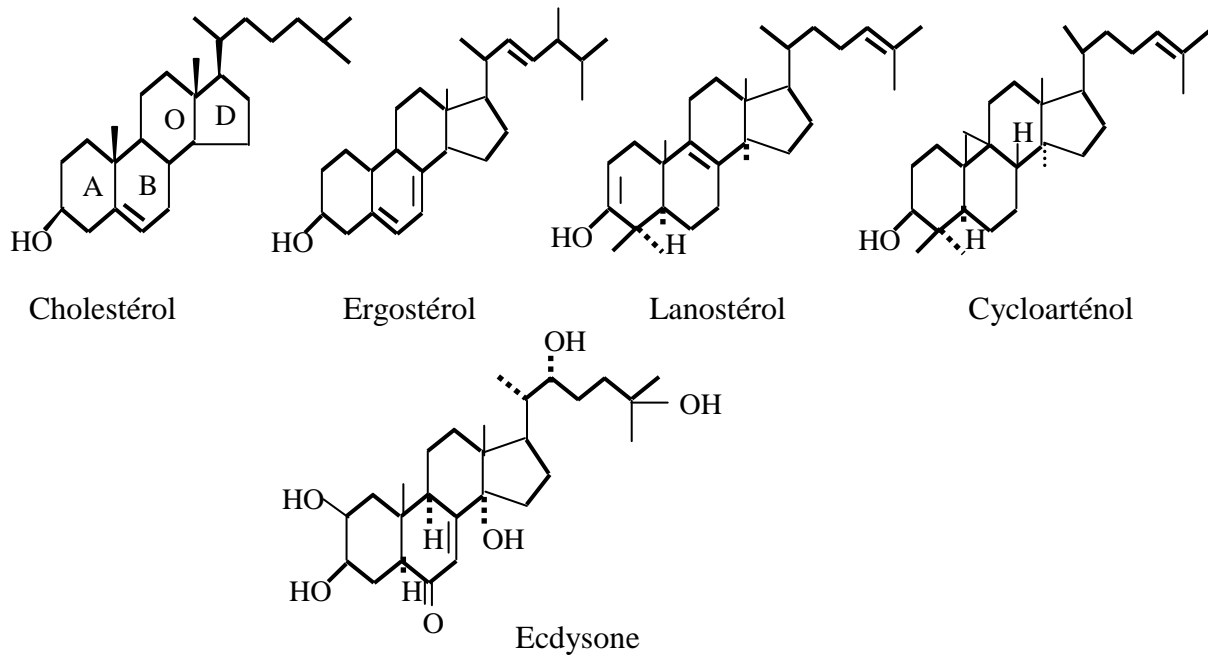


Figure 12 : Exemples de stérols (Richter, 1993 ; Guignard, 1979)

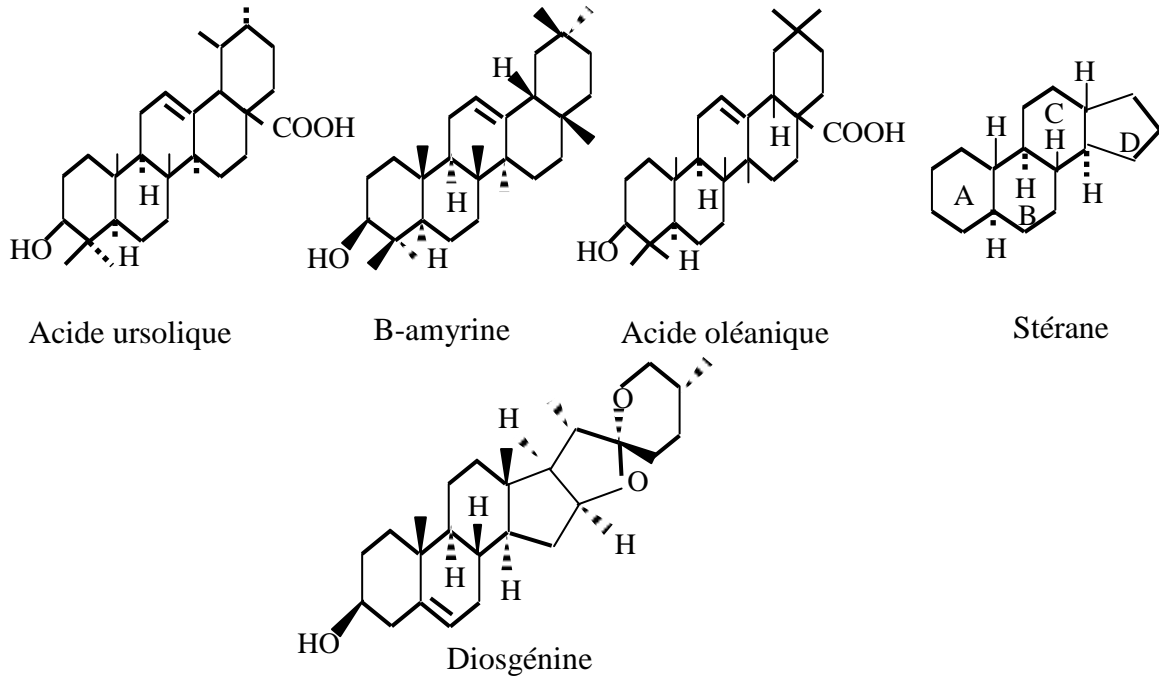


Figure 13 : Exemples de saponines (Ishaaya et al., 1969; Guignard, 1979)

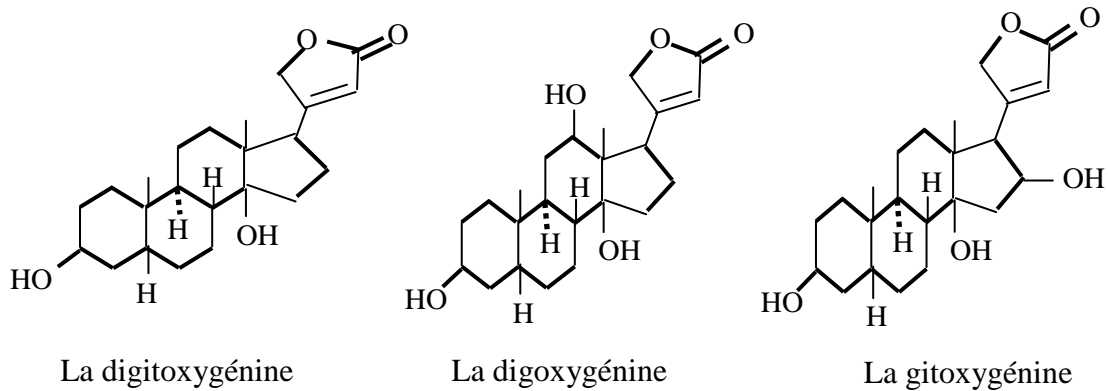


Figure 14 : Exemples de glycosides cardiotoniques (Richter, 1993)

3.4.4- les glycosides cardiotoniques

Les glycosides cardiotoniques (**Fig. 14**) ont une structure très semblable à celle des saponines, qu'ils accompagnent dans de nombreuses espèces végétales (d'environ 15 familles).

De point de vue structural, ces composés sont des glyco-stéroïdes (Richter, 1993). Suivant la partie aglycone, deux groupes de glycostéroïdes sont à distinguer. Les cardénolides en C₂₃ qui possèdent un cycle lactone à 5 chaînons et une liaison insaturée et les bufadiénolides en C₂₄ qui présentent un cycle lactone à 6 chaînons et deux liaisons insaturées. C'est le cycle lactone qui rend ces composés cardiotoniques (Malcom et Zalucki, 1996).

Dans les aglycones cardiotoniques de *Digitalis*, comme la digitoxigénine, la digoxigénine et la gitoxigénine, le groupe méthyle du C₋₁₀ est conservé au contraire de ce qui se passe pour ceux de *Strophantus* (**Tab. 7 voir annexe**) (Richter, 1993).

Comme pour les saponines, plusieurs résidus glucidiques peuvent se trouver dans la molécule en chaîne linéaire terminée par un hexose, le plus souvent le glucose (Malcom et Zalucki, 1996).

3.5- Les tetraterpènes

Les caroténoïdes ainsi que les acides caroténoïdiques (moins nombreux et moins abondants) sont des composés biologiques importants de ce groupe (Richter, 1993).

La production annuelle des caroténoïdes est estimée à 2×10^8 tonnes par an. Leur nom vient du fait que le premier d'entre eux a été isolé de la racine de carotte par le pharmacien Arnaud, en 1885. Ils sont constitués dans les plastes et se présentent souvent sous forme cristalline. Ils se trouvent soit à l'état d'hydrocarbures (lycopène, carotène), soit à l'état de dérivés hydroxylés (xanthophylle), cétoniques (canthaxanthine), d'époxydes (violaxanthine) ou de dérivés furaniques (flavoxanthine) (**Fig. 15**) (Guignard, 2000).

Ces pigments jaunes très répandus dans les règnes animal et végétal sont uniquement produits par les végétaux, les champignons et les bactéries (Bruneton, 1987).

La charpente en C₄₀ de ce groupe de composés se forme par l'assemblage en configuration cis de 2 GGPP avec formation d'une nouvelle double liaison centrale. Le produit clé de la biosynthèse des caroténoïdes alors obtenu, dans les plantes supérieures et les champignons, est le 15-cis-phytoène. Des déshydrogénations successives augmentent le nombre général de doubles liaisons et donc le système de conjugaison ce qui entraîne une intensification de la couleur des composés produits. Le 15-cis-phytoène possédant 3 liaisons conjuguées est incolore alors que le lycopène, produit final des étapes de déshydrogénation, est un caroténoïde caractéristique d'un vive rouge orangé (Malcom et Zalucki, 1996).

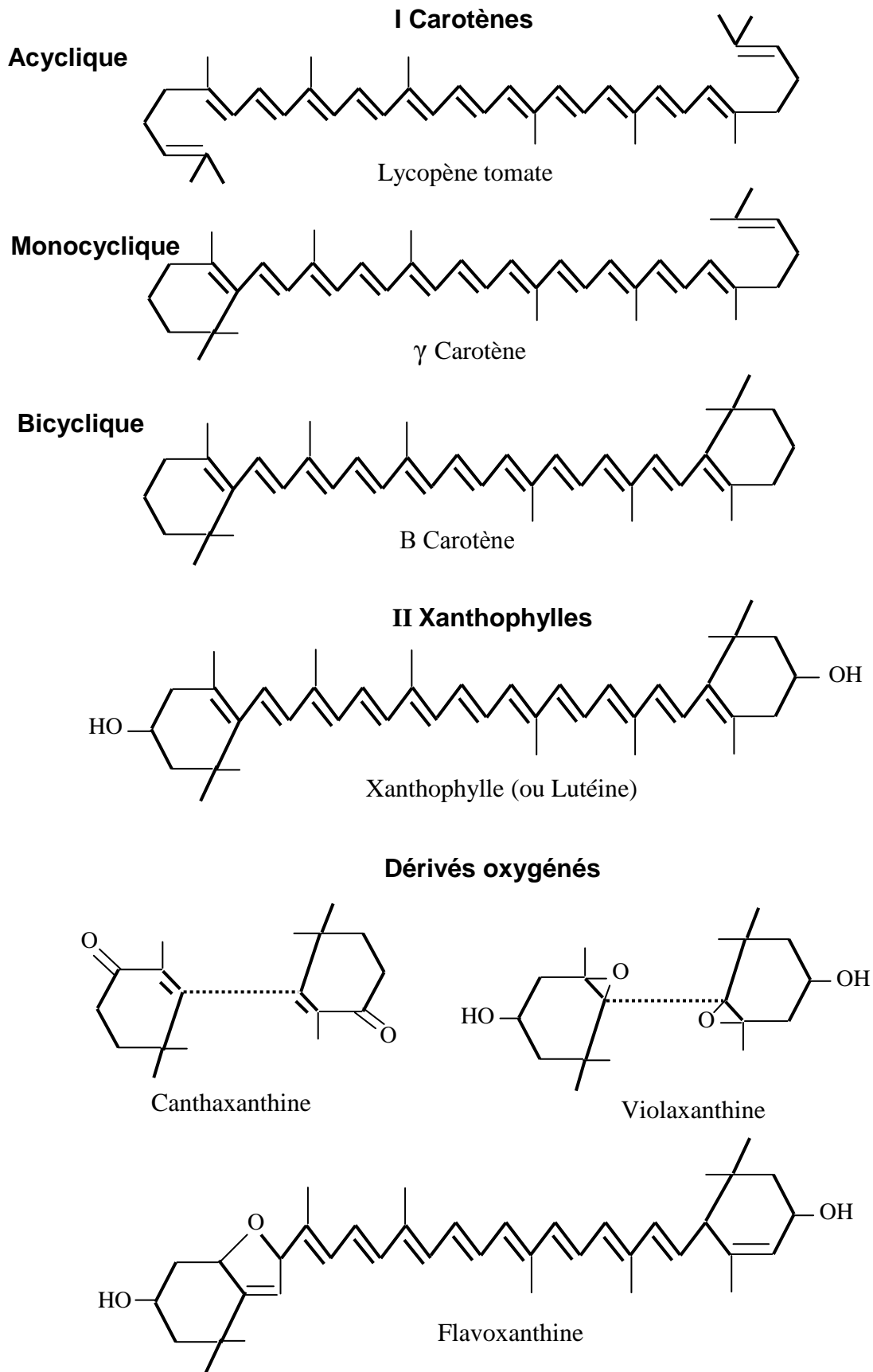


Figure 15 : Carotènes et leur dérivés oxygénés comme principaux exemples de tetraterpènes (Guignard, 1979 ; Guignard, 2000)

Quelques caroténoïdes sont caractérisés par une cyclisation limitée aux extrémités de leur chaîne. Une double β -cyclisation du lycopène conduit au β -carotène (**Fig. 15**), qui un fois clivé symétriquement, conduit aux molécules de vitamine A (Malcom et Zalucki, 1996).

Les xanthophylles comme la violaxanthine (**Fig. 15**) formés à partir des caroténoïdes renferment des atomes d'oxygène (Malcom et Zalucki, 1996).

Lors de la dégradation oxydative des caroténoïdes, la chaîne peut se raccourcir à une de ses extrémités. C'est ainsi que se forme l'acide abscissique à partir de la violaxanthine. La dégradation aux deux extrémités de la chaîne conduit aux acides caroténoïdes comme la crocétine, aglycone de la crocine, substance jaune vive des étamines du safran "*Crocus sativus*" (Malcom et Zalucki, 1996).

3.6- Les polyterpènes

Les polyterpènes sont des macromolécules présentant une structure linéaire. Les polyterpènes hautement polymérisés (500 à 5 000 restes) sont les composants du latex rencontrés dans trois cents espèces végétales environ. Ils existent soit sous forme E, soit sous forme Z. Des terpènes alcools possédant 30 à 110 carbones tel que le solanésol existent dans de nombreux tissus végétaux. Le caoutchouc, la gutta-percha et le chiclé représentent quelques composés macromoléculaires importants de cette classe (Guignard, 2000).

3.6.1- Le caoutchouc

La molécule de caoutchouc est un polyterpène (polyisoprénoïdes) de 500 à 5 000 unités d'isoprène ou plus, groupées dans des chaînes non ramifiées. Sa masse moléculaire relative est de 350 000 environ. Toutes les doubles liaisons montrent une configuration cis. Il est produit par coagulation thermique de la sève de l'hévéa (Ganou, 1993).

3.6.2- La gutta-percha

La gutta-percha est obtenue principalement par dessiccation du latex de *Palaquium balata* (Sapotaceae) et est utilisée comme isolant. Ses molécules, avec leurs 2000 unités isoprène à configuration trans, sont plus petites que celles du caoutchouc (Richter, 1993).

3.6.3- Le chiclé

Ce polyterpène caoutchouteux est tiré du latex concentré du sapotier. Son emploi principal réside dans la fabrication du chewing-gum. Actuellement, cette fabrication se fait à partir de composés synthétiques, ester de polyvinyl et polyéthylène, entre autres (Richter, 1993).

IV- REPARTITION

Les terpènes sont très largement distribués et possèdent des fonctions physiologiques primordiales (Judd et *al.*, 2002).

4.1- Monoterpènes et sesquiterpènes

Les Monoterpènes et les sesquiterpènes volatils sont les principaux composants des huiles essentielles caractéristiques des Manganoliales, des Laurales, des Illiciales, des Piperales, les Myrtaceae, les Lamiaceae, les Verbenaceae et les Asteraceae. Ces composés ne se trouvent pas seulement dans les tissus végétatifs (dans des cellules sphériques ou dans différents canaux ou lacunes situés dans les tissus parenchymateux), mais aussi dans des glandes florales odoriférantes (où ils sont libérés et fonctionnent souvent comme attractifs floraux (Judd et *al.*, 2002).

4.2- Les sesquiterpènes lactones

Ces substances constituent un groupe numériquement important environ 3000 structures. Ils ont une distribution botanique assez sporadique. Présentes chez les champignons et les bryophytes, rencontrés aussi chez les angiospermes (Apiaceae, Lauraceae, Menispermaceae, Magnoliaceae) et, très majoritaire, chez les Asteraceae. Chez ces dernières, les lactones sont fréquemment localisées dans des poils sécréteurs situés au niveau des feuilles, des tiges et des bractées de l'inflorescence. Assez souvent présentes dans les akènes, elles sont rares dans les organes souterrains (lactucine des racines de chicorée, héliénine de l'aunée) (Bruneton, 1999).

4.3- Diterpènes

Présents chez certains insectes et chez divers organismes marins, ils sont surtout répandus chez les végétaux. Si certains sont universels (le cas des gibbérellines), d'autres ont une distribution plus restreinte. Particulièrement abondants chez les Lamiales et les Astérales, plus de 1200 produits répartis en une certaine de squelettes ont été décrits chez les seules Asteraceae. Ils sont plus dispersés chez les Gentianales, les Géraniales et les Fabales (Stoll et *al.*, 1950; Bruneton, 1999).

Les diterpènes présents chez les Conifères, les Lamiacées, les Renonculacées, les Thyméléacées, les Euphorbiacées,...sont des constituants des oléorésines, des latex, etc., (Anton et Bernard, 2001).

4.4- Les triterpènes

L'écorce du bouleau blanc (*Betula papyrifera*) contient plusieurs *triterpènes à squelette de lupane*. Parmi ceux-ci, on dénombre l'acide butillinique, le butillinol et le lupéol. L'écorce de cet herbes contient une faible quantité d'acide butillinique (Pezutto et *al.*, 2002).

Les saponosides à génine triterpénique sont de loin les plus nombreux. Ils existent chez quelques animaux marins et quelques ptéridophytes, pratiquement inexistant chez les gymnospermes. Ils sont rencontrés, pour l'essentiel, chez les angiospermes, dicotylédones :

Araliaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Fabiaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Sapindaceae, etc., (Judd et al., 2002).

Les saponosides à génine stéroïdique sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones: Liliaceae (Allium, Smilax, Asparagus), Agavaceae (Agave, Yucca), Dioscoreaceae (Dioscorea). Toutefois, ils peuvent être rencontrés chez les Fabaceae (fenugrec), les Solanaceae (tabac) ou chez les Scrophulariaceae (digitales).

Les hétérosides cardiotoniques ont une distribution assez restreinte: quelques dizaines de genres répartis inégalement dans une quinzaine de familles. Si le nombre de genres concernés est assez important chez les Aselepiadaceae (Aselepias), Colotropis, Cryptostegia, Menabea, Pachycarpus, Periploca, Xysmalobium, ou les Apocynaceae (Acokantera, Adenium, Apocynum, Cerbera, Nerium, Strophanthanthus, Thevetia), dans la plupart des cas, la faculté d'élaborer ces structures, ne concerne qu'un nombre de genres très limité par famille: Cheiranthus, Erysimum (Brassicaceae), Euonymus, Lophopetalum (Celastraceae), Cotyledon, Kalanchoe, Tylecodon (Crassalaceae), Coronilla (Fabaceae), Homeria, Moraea (Iridaceae), Boweia, Convallaria, Drimia (Liliaceae), Antiaris, Antiaropsis, Castilla, Maquira, Naucleopsis (Moraceae), Adonis, Helleborus (Ranunculaceae), Corchorus (Tiliaceae) (Bruneton, 1999).

4.5- Les tetraterpènes

Ces pigments sont largement répandus dans la nature: ils s'accumulent en effet dans les chloroplastes de tous les tissus photosynthétiques. Ils sont localisés dans des complexes protéiques de la membrane des thylakoïdes (Bruneton, 1999).

La β -carotène, la lutéine, la violaxanthine et la néoxanthine sont presque présents dans les feuilles de tous les végétaux. Les caroténoïdes s'accumulent aussi dans des pétales de fleurs (Souci, pensée, Oeillet d'Inde), dans des fruits qui peuvent renfermer les caroténoïdes chloroplastiques ou accumuler d'autres dérivés (Capsanthine des piments; apocaroténoïdes des Citrus (maïs: Zéaxanthine) où leur concentration peut, parfois, être très élevée (rocou). Beaucoup plus rarement, ils sont rencontrés chez des champignons (Bruneton, 1999).

V- PROPRIETES BIOLOGIQUES

Les isoprénoïdes comme étant des composés présents chez tous les êtres vivants avec des structures et des propriétés physico-chimiques variées, possèdent des activités biologiques très diverses. Ces activités biologiques sont remarquées aussi bien chez les animaux que chez l'homme, et jouent un rôle significatif dans la médecine humaine (Patôcka, 2003).

5.1- Les monoterpènes

Le fait que les monoterpènes soient stockés aussitôt produits indique le rôle biologique ainsi que les fonctions multiples de ces composés. Des qualités thérapeutiques par inhibition

de la croissance bactérienne ainsi que des qualités allélopathiques favorisant la germination et la croissance du végétal sont attribuées aux monoterpènes (Fisher *et al.*, 1994).

Pour les conifères, les monoterpènes auraient un rôle protecteur puisqu'ils serviraient de moyen de défense contre l'invasion des insectes, les champignons et autres herbivores (Gershenzon et Croteau, 1991). Un des meilleurs exemples des dérivés de monoterpènes toxiques pour les insectes sont les pyréthrinoïdes, des feuilles et fleurs de certains *chrysanthemum*. Ces composés neurotoxiques entraînent une hyperactivité, des mouvements désordonnés voire la paralysie de l'insecte. De sa part, le citronellol inhibe l'oviposition d'*Amrasca devastans* (Homoptera: cicadellidae) (Saxena et Basit, 1982).

D'un autre point de vue, il a été remarqué qu'après une blessure causée par les insectes ou autres, il y a formation d'une résine visqueuse à proximité du site détérioré. Cette oléorésine composée de monoterpènes (C₁₀H₁₆) et de diterpènes (C₂₀H₃₂) servirait de barrière de protection, par colmatage des brèches, vis-à-vis des insectes et tuerait les champignons par sa forte odeur et sa toxicité (Hewitt, 1999).

Une autre stratégie de défense développée par plusieurs plantes consiste de faire attirer les ennemis des herbivores. C'est le cas de certains pins, dont l'augmentation de l'émission monoterpénique due à la blessure de l'herbe par la coccinelle attire les guêpes qui chassent ces herbivores (Langenheim, 1994).

5.2- Les sesquiterpènes

Les dialdéhydes drimanes comme le polygodial de *Polygonum hydropiper* (Polygonaceae), sont des sesquiterpènes bicycliques antiappétants très puissants. Ils inhibent la prise alimentaire de divers insectes dont *Spodoptera littoralis*, *S. exempta*, *Leptinotarsa decemlineata*, et *Myzus persicae* (Asakawa *et al.*, 1988). L'activité répulsive de ces terpènes envers certaines larves de Lépidoptères semble due à l'inhibition des effets stimulants du glucose, sucrose et inositol, au niveau des cellules chémoréceptrices des pièces buccales de l'insectes (Frazier, 1986). Le gossypol, dimère de sesquiterpène phénolique du coton et des genres proches de Malvaceae, est toxique pour de nombreux ravageurs dont *Spodoptera littoralis* et *Heliothis virescens*. Sa toxicité résulterait de sa complexation avec des protéines ou enzymes du tube digestif, réduisant ainsi leur digestibilité ou leur activité (Meisner *et al.*, 1977).

L'hormone juvénile (HJ) principale des insectes qui est un époxyde est capable de perturber le processus hormonal de l'insecte une fois en son contact. Certains composés à activité anti-HJ participent à la protection des plantes face aux insectes (Bowers *et al.*, 1976). C'est le cas des précocènes I et II, isolés de *Ageratum houstonianum*, qui agissent directement

sur les corps allates des insectes. En en réduisant l'activité neurosécrétoire, ils entraînent un retard de mue chez plusieurs insectes (Unnithan et *al.*, 1978).

Certaines molécules comme le farnésol ou le nérolidol ont également des propriétés aromatiques qui rentrent dans la composition des huiles essentielles mais il s'agit essentiellement de phytoalexines, molécules de défense synthétisées par les plantes en réponse à une agression comme une infection par des micro-organismes. La principale phytoalexine du piment est le capsidiol, celle du pois la pisatine. La scopolétine ou le capsidiol sont synthétisés par le tabac (Assman, 1993).

L'acide abscissique, sesquiterpène monocyclique, est par contre, l'une des cinq grandes hormones végétales actuellement connues. Cet acide intervient notamment dans la chute des feuilles et des fruits, les dormances, la floraison des plantes de jours longs.... Il a une action partiellement antagoniste de celle des autres phytohormones, et a également une influence sur les biomembranes et provoque par son action sur les membranes des cellules de garde une fermeture rapide des stomates. Sur une toute petite échelle, l'acide abscissique pourrait aussi se former à partir de la violaxanthine, une xanthophylle, et pourrait être glycosylé formant alors une réserve inactive (Guignard, 1979 ; Richter, 1993).

Les lactones sesquiterpéniques possèdent des activités anti-tumorales, cytotoxiques, antibiotiques, anti-appétantes ou répulsives vis-à-vis des insectes (Boatto et *al.*, 1994). Ces activités biologiques sont dues à la présence de γ - lactone- α -méthylénique, dont le motif est commun aux trois familles de lactones sesquiterpéniques. Toutefois l'activité antimicrobienne provenant des lactones sesquiterpéniques est controversée quant à l'action du groupe γ - lactone- α -méthylénique (Bourrel et *al.*, 1993).

5.3- Les diterpènes

En général non volatils et donc présents dans les résines, les diterpènes peuvent avoir de multiples fonctions (Richter, 1993).

La famille des diterpènes, comprend plusieurs composés importants sur le plan biologique dont les plus importants semblent être : les gibbérellines (phytohormones du développement), le phytol et le taxol (Graebe, 1987; Croteau et *al.*, 2000).

Les gibbérellines, de squelette *ent*-gibbérellane tétracyclique des hormones des plantes supérieures. Ces composés présentent des activités physiologiques similaires: Stimulation de la croissance en longueur, induction et augmentation des divisions cellulaires dans certains tissus, synergisme avec l'acide indoleacétique lors des processus de différenciation du cambium et induction de la floraison chez de nombreuses plantes (Richter, 1993).

Le phytol avec sa structure linéaire, est indisponible à la constitution de la molécule de chlorophylle qui ne devient biologiquement active que par l'adjonction de la chaîne phytyle.

Le phytol peut également composer la chaîne latérale de la vitamine K₁, une polyprénylquinone (Guignard, 2000).

Cette classe renferme aussi une foule de composés pharmacologiquement actifs. C'est le cas du taxol, un composé extrait de l'écorce de l'if du pacifique et de son analogue le taxolène obtenu par hémisynthèse à partir du précurseur du taxol. Ces molécules agissent lors de la division cellulaire en inhibant la dépolymérisation de la tubuline (Foa et *al.*, 1994; Guignard, 2000).

Par ailleurs, les diterpènes de la résine du pin sont des facteurs clés de la résistance aux ravageurs *Dendroctonus frontalis* (Hodges et *al.*, 1979).

5.4- Les triterpènes

Les triterpènes comprennent plusieurs substances et de nombreux composés importants sur le plan biologique: stérols, glycosides cardiotoniques, cucurbitacines, saponines,... (Richter, 1993).

5.4.1- Les Stérols

Les stéroïdes sont des constituants des membranes chez les animaux et des cires (Heller et *al.*, 1998). Chez les vertébrés, le cholestérol sert de précurseur pour les hormones stéroïdes, la provitamine D, ...). Tandis que l'ergostérol constitue le précurseur de l'ergocalciférol (vitamine D₂, antirachitique) par ouverture du cycle β sous l'action des rayons ultraviolets (Heller et *al.*, 1998).

Les phytostérols, qui sont des constituants des biomembranes des cellules végétales, sont aussi les précurseurs des brassinostéroïdes, facteurs de croissance actifs sur différents organes, et précurseurs des stérols animaux (corticostérone) (Heller et *al.*, 1998).

L'ecdysone, précurseur de l'hormone de mue des insectes possède une structure très proche du cholestérol. Sa synthèse dépend des stérols végétaux absorbés par l'insecte phytophage. Environ 200 composés parents de l'ecdysone dont l'ecdystérone, hormone active de mue et métamorphose, existent dans plus de 100 familles végétales (Dinan, 2001). Les phytoecdysones inhibent le développement, la croissance et la reproduction de plusieurs espèces d'insectes (Singh et *al.*, 1982). Leur production peut être induit suite aux dommages causés par un insecte, comme c'est le cas dans les racines d'épinard (Schmelz et *al.*, 1999). Elles ont un effet antiappétant sur certaines espèces dont les récepteurs sensoriels répondent à la présence de 20-hydroxyecdysone, le plus répandu de ces composés (Descoins et Marion Poll, 1999).

5.4.2- Les glycosides cardiotoniques

L'action spécifique des **glycosides cardiotoniques** s'exerce sur l'inhibition de l'ATPase Na⁺/K⁺ dépendante ce qui permet la libération des ions calcium intracellulaire, ceux-ci seront

remplacés par les ions K^+ . Cette action renforce la contraction cytosolique du muscle cardiaque (Pengelly, 2004).

5.4.3- Les cucurbitacines

Ces **triterpènes tetracycliques** sont isolés à partir des Cucurbitacées. Une vingtaine de composés sont à dénombrer. Elles sont très amères et ce sont des antiappétants pour de nombreux arthropodes. Elles sont également antagonistes des hormone stéroïdiennes des insectes, agissant au niveau du récepteur aux ecdystéroïdes (Dinan *et al.*, 1997).

5.4.4- Les saponines triterpéniques

Ces saponines sont considérés par certains chercheurs comme étant responsables de la plupart des activités biologiques des plantes de la médecine traditionnelle orientale. En effet, la littérature scientifique rapporte des propriétés médicinales très variées: anticarcinogénique, anti-inflammatoire, antitumoral, antiviral, antifongique, antithrombique, cardiovasculaire, cytotoxique, immunomodulateur, spermicide et molluscicide (Rao *et al.*, 2000).

L'activité biologique **des saponines** a souvent été mise en relation avec leur capacité à s'attaquer aux érythrocytes présents dans le plasma sanguin. Cette activité hémolytique est généralement expliquée par l'interaction des saponines avec les stérols de la membrane cellulaire des érythrocytes. Les dommages causés sont irréversibles : la perméabilité de la membrane est modifiée ce qui entraîne une perte de l'hémoglobine sanguin. Cette propriété a amené la mise en place de tests hémolytiques permettant la détection des saponines dans les drogues ou extraits de plantes (Sparg *et al.*, 2004).

De nombreuses saponines possèdent une activité cytotoxique *in vitro* envers une grande variété de lignées cellulaires cancéreuses. Les valeurs d'IC₅₀ mentionnées dans la littérature varient entre environ 4 ng/mL à 20 µg/mL en fonction de la nature de la saponine et de la lignée cellulaire (Lacaille-Dubois, 2000). L'OSW-1, un cholestane acétylé isolé de *Ornithogalum saundersiae*, est l'une des saponines les plus cytotoxiques. Son IC₅₀ inférieure à 1 nM en fait un agent anticancéreux environ 10 à 100 fois plus puissant que ceux actuellement utilisés en phase clinique comme le taxol, la camptothécine et la mitomycine C. Des études ont montré que les effets cytotoxiques de l' OSW-1 pouvaient être causés par une induction de l'apoptose des cellules cancéreuses. De surcroît, cette saponine n'a exercé qu'une faible toxicité *in vitro* sur des lignées cellulaires saines humaines (Deng, *et al.*, 1999).

Pour les saponines à génine triterpénique, la Virgaureasaponine E a exercé une activité anticancéreuse significative *in vivo* sur des souris porteuses d'un fibrosarcome. Dans cette expérience, la réduction de la taille de la tumeur était proportionnelle à la dose de saponine administrée par voie intrapéritonéale trois fois par semaines pendant 30 jours. Les résultats les plus probants ont montré une inhibition significative de 60 % de la croissance de la tumeur à

une concentration de 0,1 mg/kg. Cet effet pourrait être dû à une activité immunostimulante telle que l'envoi du Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) (Plohmann et al., 1997).

Les saponines des holothuries d'origine méditerranéenne (saponines marines) sont mal connues. Ces substances toxiques se trouvent surtout dans les tubules de Cuvier des Holothuries et dans la paroi de leur corps. Elles sont sécrétées pour légitime défense contre les prédateurs et les parasites et peuvent aussi intervenir dans la maturation des gamètes (Cherbonnier, 1956; Tortonese, 1965).

5.4.5- Les saponines stéroïdes

Les saponines s'avèrent toxiques et antiappétantes pour de nombreuses espèces d'insectes (Ishaaya et al., 1969). Leur toxicité serait due à leur liaison avec les stérols libres du tube digestif, réduisant ainsi le taux d'assimilation de ces stérols dans l'hémolymphe ce qui interfère avec le processus de mue. Elles peuvent également interférer avec des fonctions trophiques plus complexes comme les ectosymbioses de fourmis champignonnistes (Rahbé et al., 1988).

Les triterpenes pentacycliques interviennent dans les plantes, comme antifongiques, et antimicrobien, il se substituent aux stérols membranaires et conduisent à la destruction des membranes (Guignard, 2000).

Par ailleurs, *les triterpènes au squelette de lupane* sont intéressants pour le développement d'agents thérapeutiques (Pavlova et al., 2003).

Le lupéol ou lup-20(29)-en-3 β -ol est le triterpène de la famille du lupane le plus souvent retrouvé dans le règne végétal. Il constitue un exemple type de triterpène pentacyclique présentant une potentialité thérapeutique prouvée. Il a déjà été isolé des écorces externes du bouleau blanc (O'Connel et al., 1988), mais c'est dans celles du bouleau jaune qu'il est le plus abondant (0,6-1,1%) (Habiyaremye et al., 2002). Il est reconnu principalement pour ses propriétés anti-inflammatoires. En effet, une forte activité anti-inflammatoire a été démontrée chez un groupe de souris atteinte d'arthrite. Dans cette expérience, l'effet observé était comparable à celle de l'acide acétylsalicylique à une dose de 100 mg/kg de poids corporel (Geetha et al., 1998).

Les résultats de la recherche ont montré que l'activité anti-inflammatoire du lupéol était due à une action immunosuppressive, à l'inhibition de la migration des cellules au site d'inflammation et à la réduction de sécrétion de facteurs proinflammatoires (Fernández et al., 2001).

En outre, ce composé a démontré une activité antiangiogénique significative *in vitro* sur des cellules de la veine ombilicale humaine à une dose comprise entre 30-50 μ g/mL. Une molécule donnée est dite douée d'activité antiangiogénique lorsqu'elle inhibe la formation de

vaisseaux sanguins qui alimentent, par exemple, une tumeur (You et al., 2003). Toutefois, une autre étude a identifié le lupéol comme composé actif des feuilles de *Dendropanax cf. querceti*. Les résultats indiquent une activité anticancéreuse *in vitro* sur le carcinome hépatocellulaire humain (Hep-G2, IC₅₀ = 77 µM) (Moriarty et al., 1998). Récemment, il a été démontré que le lupéol pouvait induire l'apoptose des cellules leucémiques humaines (HL-60). Des changements morphologiques caractéristiques de l'apoptose ont été observés lorsque ces cellules étaient traitées avec le lupéol (Aratanechemuge et al., 2004).

La toxicité du lupéol chez l'animal est très faible. Son administration par voie orale à une dose de 2 g/kg de poids corporel n'a pas affecté l'état de santé d'un groupe de rats et de souris et aucune mortalité n'a été enregistrée après écoulement de 96 heures (Patocka, 2003).

Un autre exemple très intéressant est **l'acide butillinique** ou l'acide 3β-hydroxy-lup-20(29)-en-28-oïque qui constitue sans aucun doute le composé le plus étudié de la série des triterpènes pentacycliques de la famille du lupane. En effet, les nombreuses revues publiées sur le sujet durant les dernières années démontrent bien l'intérêt de la communauté scientifique envers ce produit naturel (Baglin et al., 2003 ; Cichewicz et al., 2004). Cet acide a été reconnu comme principe actif de plus de 2500 espèces végétales à travers le monde (Baglin et al., 2003).

L'acide butillinique possède une activité très intéressante vis-à-vis : des tumeurs, du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), du virus de l'herpes simplex HSV-1 (Pavlova et al., 2003), une activité anti-inflammatoire (Recio et al., 1995) et des propriétés cosmétiques telles que l'atténuation des rides et de la cellulite (Cho et al., 1996).

En plus, l'acide butillinique possède une activité *in vitro* contre deux lignées de malaria résistantes soit *Plasmodium falciparum* K1 (IC₅₀ = 19,6 µg/mL) et T9-96 (IC₅₀ = 25,9 µg/mL) (Steele et al. 1999).

De nombreuses études ont confirmé l'activité antiphlogistique de cette acide (Patocka, 2003). Des études portant sur l'activité de l'extrait méthanolique des rhizomes de *nucifera* ont indiqué une inhibition marquée de l'œdème induit par le carragénane et la sérotonine au niveau de la patte du rat. Cette inhibition était comparable à celle observée suite à l'administration d'agents anti-inflammatoires standards tels que : le phénylbutazone et le dexaméthazone. Les auteurs de ces études ont conclu que les dérivés de lupane présentent une affinité pour les récepteurs des glucocorticoïdes (Patocka, 2003). Ce mécanisme d'action a été confirmé par une autre étude effectuée en utilisant trois triterpènes isolés de *D. leucomelas*: l'acide butillinique (Recio et al., 1995), l'acide oléanolique (Singh et al., 1992) et l'acide ursolique. Tous les triterpènes testés ont montré une activité anti-inflammatoire (Najid et al., 1992).

L'acide butyllinique semble avoir aussi une activité antivirale contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Fujioka *et al.*, 1994 et Yoshiki *et al.*, 1996), un résultat qui a été publié en 1994 dans le " *Journal of Natural Products* ". En effet, l'acide butyllinique a été utilisé sur des lymphocytes H₉ infectés par le VIH. Les résultats ont démontré une inhibition de la réplication du VIH (IC₅₀ de 1,4 µM) dans les lymphocytes H₉ avec blocage de la pénétration du virus de type 1 (VIH-1) dans ces cellules (Mayaux *et al.*, 1994).

Depuis ce temps, de nombreux dérivés ont été synthétisés dans l'intérêt de trouver des composés antiviraux actifs sur le VIH à de plus basses concentrations et pouvant rivaliser avec les agents thérapeutiques utilisés pour le traitement de cette pathologie. Parmi les dérivés les plus prometteurs, les analogues S-O- (3,3-diméthylsuccinyl) d'acide butyllinique (Kashiwada *et al.*, 1996) et 3,28-di-O-(3,3-diméthylglutaryl) de butyllinol (Sun *et al.*, 1998) ont exercé les plus fortes inhibitions (ED₅₀ < 3,5 x 10⁻⁴ µM).

Par ailleurs, pour tester son activité antitumorale *in vivo*, le groupe de Pezzuto ont utilisé des souris athymiques auxquelles ils ont injectées par voie sous-cutané des cellules du mélanome humain (MEL-2) (Pisha *et al.*, 1995). Les souris ont été traitées ou non avec différentes doses d'acide butyllinique. La progression tumorale a été évaluée sur une période de 40 jours. Les résultats ont indiqué une inhibition significative de la croissance des tumeurs. De plus, les souris témoins dont la tumeur avait beaucoup progressé ont été traitées, 40 jours après le début de l'expérience, avec l'acide butyllinique. Une diminution de la taille de leurs tumeurs de 80% a été notée ce qui a permis d'augmenter significativement leur durée de vie. L'expérience a également montré que l'acide butyllinique était faiblement toxique chez la souris. En effet, à toutes les doses testées (50, 250 et 500 mg/kg de poids corporel), aucun signe de toxicité n'a été observé sur l'ensemble des individus (Pisha *et al.*, 1995). En plus, l'équipe de Zuco a effectué des tests *in vivo* de même nature sur des souris athymiques et aucune souris n'a montré de signe de toxicité apparente ou de perte de poids après le traitement à l'acide butyllinique (Zuco *et al.*, 2002).

Des études récentes ont clairement indiqué que le potentiel anticancéreux de l'acide butyllinique était étendu à d'autres types de lignées cellulaires (Fulda *et al.*, 1999; Schmidt *et al.*, 1997; Zuco *et al.*, 2002). En effet, cet acide possède, entre autres, une action chimiothérapeutique significative sur le cancer du colon, du foie, du sein, du poumon, des ovaires et sur les glioblastomes (cerveau).

Par ailleurs, il a été reporté que l'acide butyllinique induisait l'apoptose (mort cellulaire programmée) par un mécanisme faisant intervenir des changements dans le potentiel membranaire des mitochondries et la production d'espèces oxygénées réactives (Schmidt *et al.*, 1997). En résumé, ces procédés entraînent l'envoi de facteurs apoptogéniques

mitochondriales dans le milieu intracellulaire ce qui enclenche l'activation des caspases et, enfin, la fragmentation du matériel génétique (ADN) (Fulda et *al.*, 1997).

5.5- Les tetraterpènes

Les caroténoïdes (environ 600) constituent le groupe principal des tetraterpènes dans la nature (Pengelly, 2004). Ils caractérisent à la fois les organismes végétaux et animaux. Cependant ils ne peuvent être synthétisés que par les végétaux, les champignons et les bactéries (Richter, 1993).

Les caroténoïdes sont des substances colorées, ce qui implique leur rôle comme pigment responsable de la coloration de fleurs et des fruits, soit comme pigment accessoires (photorécepteurs) de la photosynthèse contribuant de même que les flavonoïdes aux relations plantes-animaux (attraction des insectes et des oiseaux, conséquences sur la pollinisation et la dissémination des graines, etc.). Ils constituent aussi un écran protecteur contre les dommages que pourraient causer les excès de lumière notamment les rayons ultra-violet. Ces composés ce sont aussi des pigments assimilateurs accessoires qui peuvent transmettre à la chlorophylle l'énergie lumineuse (Guignard, 1979 ; Heller et *al.*, 1998).