

1.1- Définition et structure chimique

Les cucurbitacines constituent un groupe de triterpénoïdes avec un squelette à base de 19(10 β)-abeo-10 α -Lanost-5-ène (cucurbitane) (**Fig.1**). Ces composés ne sont pas des stéroïdes étant donné qu'un groupement méthyle est localisé en C-9 au lieu qu'en position C-10 dans le cas des stéroïdes. En plus, la structure des cucurbitacines comprend un groupement diméthyle en position C-4. Les différentes substitutions et les positions des insaturations offrent une grande diversité à ces composés chimiques (**Fig.2**). Par exemple, tous les cucurbitacines connues présentent une double liaison en C-5 et C-6. Beaucoup d'entre eux présentent aussi une double liaison en C-1 et/ou en C-23. Souvent plusieurs atomes de carbones sont substitués par des atomes d'oxygène, enrichissant ainsi cette famille en composés à haut niveau d'oxydation. Le groupement hydroxyle est habituellement présent en C-16(α), C-20(β) et C-25, tandis qu'un groupement carbonyle est typiquement présent en C-11 et C-22 (Luis Rios et *al.*, 2006). D'autre part, les carbones en position C-2 et C-3 peuvent être indifféremment remplacés par un groupement hydroxyle ou carbonyle. D'autres substitutions typiques sont possibles incluant une double liaison en C-1, parfois un hydroxyle en C-24 et rarement un hydroxyle en C-9. Par ailleurs, l'hydroxyle en C-25 est parfois acétylé (Miro et *al.*, 1995). Certaines cucurbitacines présentent un cinquième anneau. C'est le cas par exemple de l'anhydro-22-deoxo-3-épi-isocucurbitacines D et de l'hexanor-cucurbitacines I. Dans certains cas, l'anneau A est trinsaturé ce qui donne l'allure à une cucurbitacine aromatisée (**Fig. 2**) (Miro et *al.*, 1995 ; Matos et *al.*, 1991).

La première cucurbitacine isolée en 1983 était une substance cristalline qui a reçu le nom trivial d' α -élatérine. Les essais de la détermination de la structure chimique ont été initiés au début du 20^{ème} siècle et n'ont réussi qu'en 1960. Leur potentiel toxique a été identifié en 1932.

Finalement, les cucurbitacines peuvent être retrouvés sous forme libre ou glycosylée. Habituellement, la forme est liée à la présence d'hydroxyle en C-2 β , C-3 et/ou en C-25 pour les monosides ou en C-26 ou C-27 pour les bidesmosides (Miro et *al.*, 1995; Dinan et *al.*, 2001).

En général, les différentes cucurbitacines sont distinguables par des lettres corrélatives : cucurbitacines B, C, ... etc. Cependant, certains de ses composés sont spécifiés par la modification chimique subie (exemple le 23-dihydrocucurbitacine B ou le 3-épi-cucurbitacine F). Dans d'autres cas, le nom du composé est tiré du genre ou de l'espèce d'où la substance a été isolée originalement (briogénine de *Bryonia* ou cyaponosides de *Cayaponia tayaya*) (Himeno et *al.*, 1992 ; Himeno et *al.*, 1994 ; Luis Rios et *al.*, 2006).

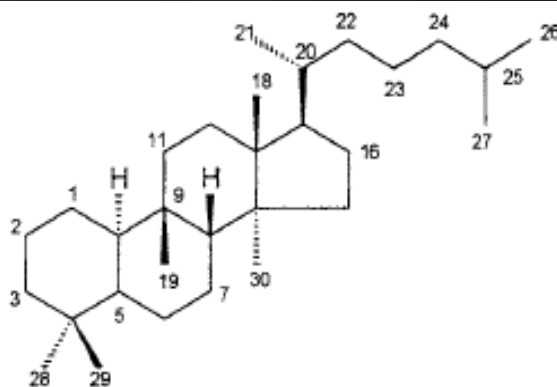
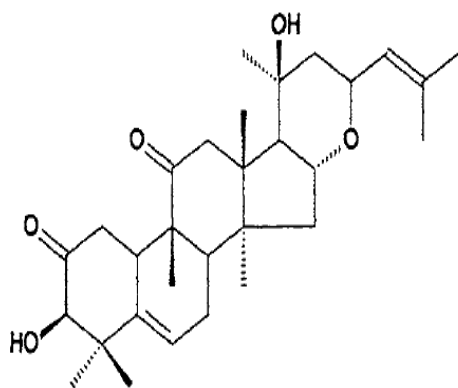
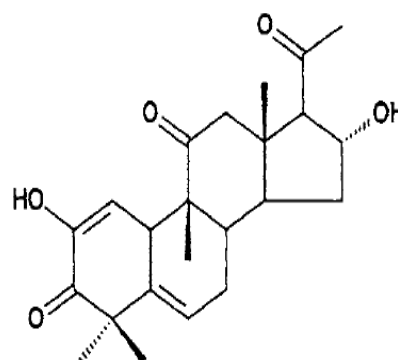


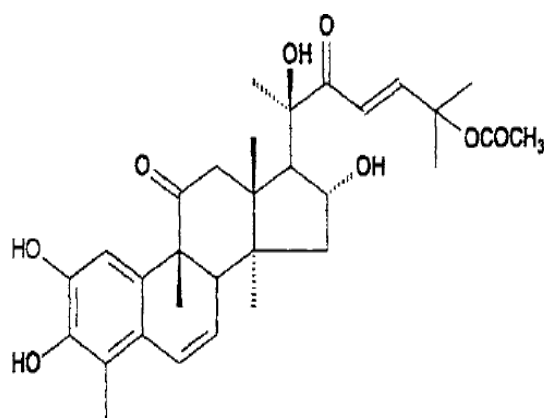
Fig. 1. Structure du noyau cucurbitane [19-(10_9β)-abeo-10α-lanost-5-ene] (Luis Rios et *al.*, 2006)



L' Anhydro-22-deoxo-3-épi-isocucurbitacine D



L' Hexanocucurbitacine I



Le 6,7-Dehydrofevucordine A

Fig. 2. Divers modifications chimiques dans la structure générale d'une cucurbitacine (Luis Rios et *al.*, 2006)

1.2- Distribution dans la nature

Les cucurbitacines sont trouvées dans la plupart des plantes de la famille des cucurbitacées. Elles sont très connues dans les espèces suivantes : *Bryonia*, *Cucumis*, *Cucurbita*, *Luffa*, *Coccinia*, *Echionocystis*, *Lagenaria* dans le genre *Citrullus* et dans le concombre glissé, (*Ecballium elaterium*) (Gry et *al.*, 2006). D'autres plantes productrices de cucurbitacines ont été identifiées en dehors de la famille des cucurbitacées : *Gratiola* (Scrophulariaceae), *Begonia tuberhybrida*, (Begoniaceae), *Anagallis avensis* (Primulaceae) *Phormium tenax* (Libiaceae), *Lepidium sativum* (Cruciféros) (Teuscherand et lindequist., 2006).

Les cucurbitacines sont responsables du goût amer de ces plantes. Les plantes du genre *Momordica* contient un groupe spécial de cucurbitacines appelé les momodiscosides. L'espèce le plus important de ce genre de plantes est la courge amer «*Momordica charantia*», appelé aussi le comcombres amer ou *Balsam pea* (Gry et *al.*, 2006).

Cependant, les niveau des cucurbitacines varient entre les tissus. Ils peuvent être concentrés dans les fruits et les racines des plantes nues mais présentes en faibles quantités dans les feuilles et le reste des tissus. Dans la plupart des plantes, les racines sont les seuls tissu amers (Rymal et *al.*, 1984) .

Vue leur importance économique, les fruits sont les plus souvent analysés pour leur contenue en cucurbitacines car elles sont essentiellement produites dans cette partie. Elles atteignent leur concentration maximale à la maturité avec certaines exceptions (Gry et *al.*, 2006).

1.3- Catégories des cucurbitacines

Suivant leurs caractéristiques structurales, les cucurbitacines ont été divisées en différents catégories (Chen et *al.*, 2005).

1.3.1- Cucurbitacine A

La Cucurbitacine A n'est pas largement distribuée, elle est trouvée seulement dans les espèces de la famille de cucurbitacées (Chen et *al.*, 2005).

1.3.2- Cucurbitacine B

La Cucurbitacine B a été trouvée dans de nombreuses espèces de cucurbitaceae. Elle présente des activités anti-inflammatoires, préventives et curative significatives contre l'hépatotoxicité provoquée par le CCl₄. Une cucurbitacine B glycosylée a été isolée à partir des rhizomes de *Begonia heracleifolia* (Begoniaceae). Le deacétoxcucurbitacine B 2-O-glycoside a été obtenue à partir des racines de *Picrorhiza kurrooa* (Scrophulariaceae) avec un autre composé dite: le 2-O-glucoside de 23,24-dihydrocucurbitacin B(Chen et *al.*, 2005).

1.3.3- Cucurbitacine C

La cucurbitacine C est très rare dans la nature. Elle est identifiée seulement chez *Cucumis sativus* (cucurbitacéæ). La cucurbitacine C inhibe la croissance de *Phytophthora cartorium* à une concentration de 10mg / ml (Gry et *al.*, 2006).

1.3.4- Cucurbitacine D

Contrairement à la cucurbitacine B, la cucurbitacine D, qui présente un manque de groupement acétyle en position 25-OH, est la plus répandue des cucurbitacines connues. Elle présente une action cytotoxique significative contre une variété de lignées cellulaires cancéreuses humaines (cancer du poumon, cancer du côlon, cancer humain de la prostate hormono-dépendant) (Chen et *al.*, 2005).

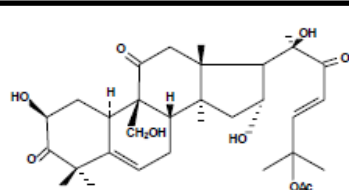
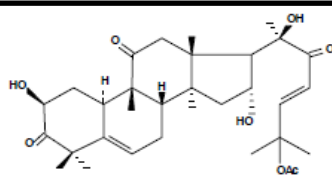
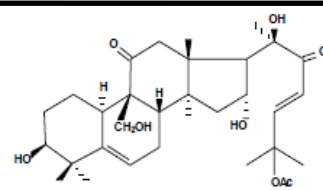
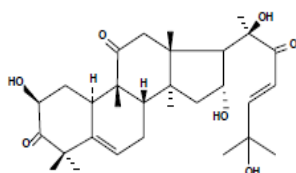
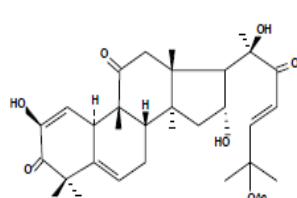
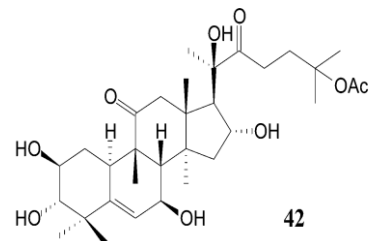
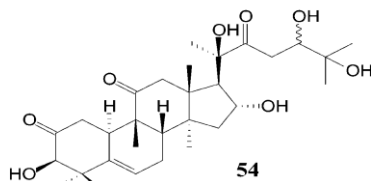
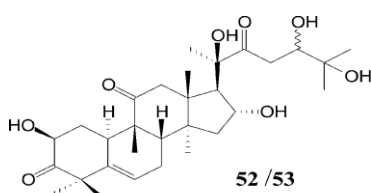
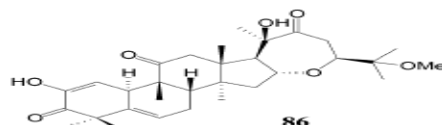
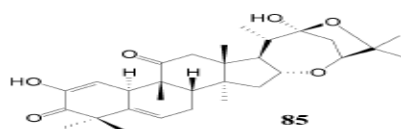
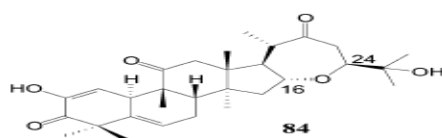
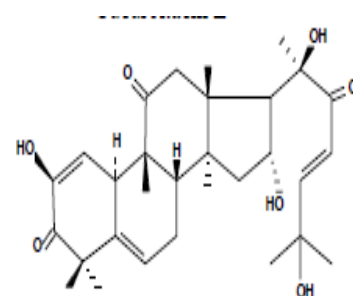
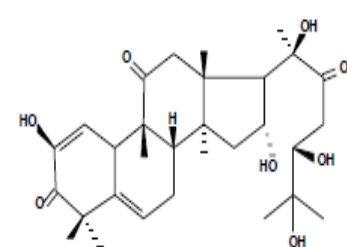
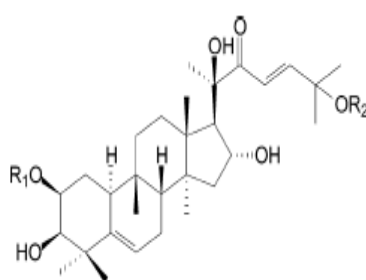
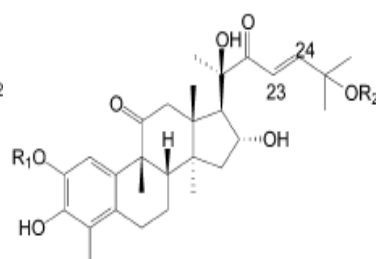
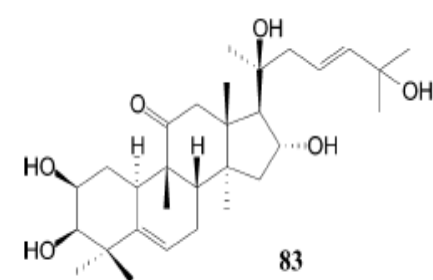
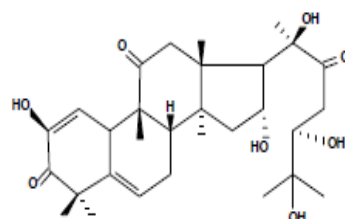
1.3.5- Cucurbitacine E

A partir Des racines d'*Ebracteata Wilbrandia*, une cucurbitacine E (α -élaterine), une dihydrocucurbitacine E et une dihydrocucurbitacine E 2-glucoside ont été obtenus. Par ailleurs isocucurbitacine E et un 23,24-dihydroisocucurbitacine E ont été isolés à partir de *Phrophetarum Cucumis* (Cucurbitaceae).

La Cucurbitacine E présente une activité anoxigène forte et inhibe l'adhésion cellulaire par un mécanisme impliquant la perturbation du cytosquelette. Il a été également signalé que la cucurbitacine E exerce une activité inhibitrice directe sur la croissance in vitro l'explantation du cancer de la prostate (IC₅₀ 7-50 nM en 2-6 jours d'exposition) et le mécanisme de rupture d'actine peut sous-tendre l'activité toxicologiques observés à partir de modèles in vivo. La cucurbitane glycoside à partir d'*Integrifolium Gymnopetalum* (Cucurbitaceae) peut être également considéré comme un congénère de la cucurbitacine E (Chen et *al.*, 2005).

1.3.6- Cucurbitacine F

La Cucurbitacine F isolée à partir de *Dolichostylus Elaeocarpus* (Elaeocarpaceae) a révélé une activité cytotoxique contre les cellules tumorales humaines et semble antagoniser l'action des hormones stéroïdes des insectes. Depuis les années 1970, de nombreux travaux se sont intéressés aux études de constituants phytochimiques et sur les activités de cucurbitacines à partir de plantes du genre *Hemsleya* et d'autres genres taxonomiquement apparentées de la famille des cucurbitacées. La plupart de ces plantes sont des médicaments traditionnels chinois connus ou des médicaments à base de plantes avec des principes de traitement des maladies et des principes pharmacologiques de traitement. *Hemsleya Graciliflora.*, *Hemsleya amabilis.*, *Lijiangensis Hemsleya*, et. *Hemsleya gigantha* ont été traditionnellement utilisées pour le traitement d'une variété de maladies et de symptômes, comme la fièvre, la douleur et l'inflammation (Chen et *al.*, 2005).

**Cucurbitacine A****Cucurbitacine B****Cucurbitacine C****Cucurbitacine D****Cucurbitacine E****Cucurbitacine F****Cucurbitacines G et H****Cucurbitacine R, S et T****Cucurbitacine J****Cucurbitacine K****Cucurbitacine O****Cucurbitacine P****Cucurbitacine Q****Cucurbitacine I****Fig.3.** Les douze principales catégories de cucurbitacines (Chen et *al.*, 2005)

1.3.7- Cucurbitacines G et H

Les cucurbitacines G et H ont la même structure, à l'exception de la différence de la stéréochimie qui en C-24 n'est pas encore prouvée. A partir des racines d'*Ebracea wilbrandia*, des cucurbitacine G et H avec le 3-épi-G isocucurbitacine ont été isolés (**Fig. .3**).

1.4- Biosynthèse et métabolisme

1.4.1- Biosynthèse

Comme le reste des triterpènes tétracycliques, les cucurbitacines sont formées d'un cycle ouvert de 3 S isomères de 2,3 – dihydrosqualene (**Fig.4**).

Cette cyclisation initiale se poursuit par des réarrangements plus importants pour donner d'autres composés de cucurbitacines (Connolly et *al.*, 1991).

Une fois, l'orientation appropriée à l'intérieur de l'enzyme correspondant a eu lieu, des stéroïdes, des cucurbitacines ou d'autres triterpènes sont formés. Dans le cas des cucurbitacines, l'époxyde adopte la conformation d'une chaise-bateau-chaise et la cyclisation permet la formation d'un cation protostane, le précurseur immédiat des cucurbitacines à travers une série de déplacements de groupement de 1,2-proton et méthyle (Luis Riose et *al.*, 2002).

Les premières cucurbitacines formées chez les plantes de la famille des cucurbitaceae sont les cucurbitacines B et E. Les autres classes des cucurbitacines peuvent être formées de ces premières par action des acétyles estérases, qui peuvent être de plus en plus modifiées par des D²³-reductases (**Fig. 5**) (Schabort et Potgieter., 1968).

1.4.2- Métabolisme

Quatre produits glycosylés résultant du métabolisme des cucurbitacines digérées ont été isolés par HPLC préparative à partir d'extrait des deux Cleoptères: *Diabortica undecimpunta* et *Hawardi barber*. Ces composés identifiés par spectrophotométrie de masse et des données spectrales de C 13 NMR sont : le 23,24-dihydrocucurbitacine I-2-O-D-glycoside et le 23,24-dihydrocucurbitacine L-2-O-D-glcoside, le 23,24-dihydrocucurbitacine B-2-O-D-glycoside et le 23,24-dihydrocucurbitacine E-2-O-D-glycoside (Andersen et *al.*, 1988).

La nature des transformations métaboliques subies *in vivo* était examinée après l'ingestion de cucurbitacine D hautement purifiée par des adultes de *Diabortica Undecimpunctata howardi* et *Diabortica virgifera virgifera* (deux espèces de Cleoptères). Après 24h, des métabolites glycosylés, acétylés et non – acétylés ont été détectés dans l'extrait des corps complets de chacune d'espèces des Coléoptères. Après 6 jours de consommation, il est devenu apparent que les quatre métabolites étaient présents. Ceci indique que des réactions de glucosylation , d'hydrogénation, des insaturations et d'acétylation ont eu lieu *in vivo*.

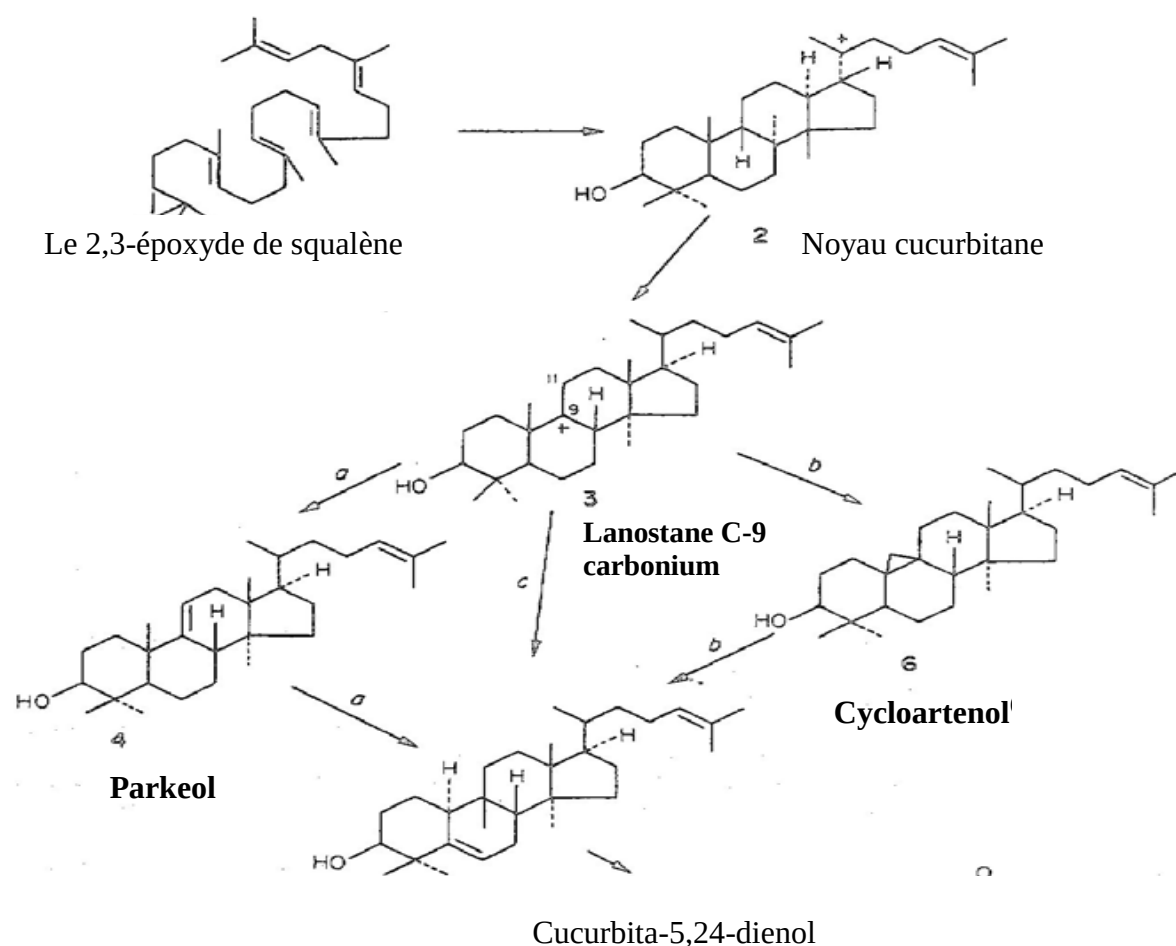


Fig.4. Hypothèse de la biosynthèse de cucurbita-5, 24-dienol, précurseur des cucurbitacines (Balliano et *al.*, 1983).

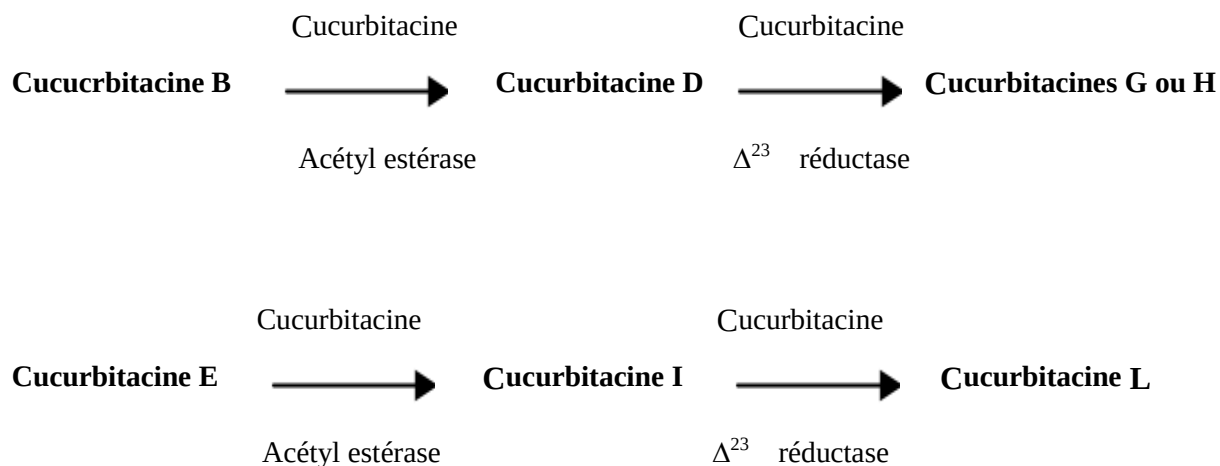


Fig.5. Formation des autres classes de cucurbitacines à partir des cucurbitacines B et E chez les cucurbitaceae (Gry et *al.*, 2008).

D'autre part, les quantités totales des métabolites glycosylés étudiés varient d'un maximum de 327.5 µg\individu dans *Diabortica virgifera virgifera* à 631.6µg\individu dans *Diabortica Undecimpunctata howardi* (Andersen et *al.*, 1988).

1.5- Propriétés physicochimiques

A la température ambiante, les cucurbitacines sont en générale des substances cristallines. La plupart des cucurbitacines sont solubles dans l'éther de pétrole, le chloroforme, le benzène l'acétate d'éthyle et le méthanol. Elles sont insolubles dans l'éther et dans l'eau (Gry et *al.*, 2006).

Ces composés présentent généralement un maximum d'absorption de la lumière ultraviolette entre 228 et 234 nm. Les groupements chimiques réactifs de ces substances sont les nombreux groupements cétones et alcools présents dans leurs structures (Gry et *al.* , 2006).

1.6- Extraction

La solubilité des cucurbitacines est variable en fonction de la configuration des substitutions. Par exemple, des aglycones libres sont facilement solubles dans le dichlorométhane le rendent un solvant de choix pour l'extraction de ces composés (Luis Rios et *al.*, 2002).

Toutefois, des mélanges d'autres solvants tels que l'acétone, le méthanol ou l'éthanol ont également été utilisés. En revanche, pour les glycosides présentant un degré plus élevé de polarité, l'extraction avec le méthanol ou l'acétate d'éthyle peut être nécessaire, même si, beaucoup de ses composés sont solubles dans le chloroforme ou le dichlorométhane.

Dans tout les cas, il convient d'éliminer les pigments ou les matières grasses avec l'hexane ou l'éther de pétrole avant de commencer l'extraction (Luis Rios et *al.*, 2002).

1.7- Isolement et identification

La chromatographie sur couche mince (TLC) est la bonne méthode de détection des cucurbitacines dans les extraits de plante.

Les résultats les plus fiables sont obtenues par la TLC de haute performance (HPTLC) avec des plaques de silica gel et une phase mobile à base de chloroforme méthanol (95 :10) ou à base de toluène-acétate d'éthyle (25 :75). Des plaques de HPTLC en phase inverses (RP) avec un mélange méthanol-eau (7 :3) ont été aussi utilisées pour la séparation des cucurbitacines (Luis Rios et *al.*, 2002).

L'HPLC produit une bonne séparation entre les différentes classes des cucurbitacines notamment ceux présentant une similitude structurale. La phase stationnaire de l'HPLC est formée d'une colonne C₁₈ et la phase mobile est à base d'acétonitrile-eau et la détection est réalisée à 230nm (Luis Rios et *al.*, 2002).