

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2013

THESE 2013 / TOU3 / 2041

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Jean CHRISTAUD

***Hoodia gordonii* (MASSON) Sweet ex Decne
APOCYNACEAE**

DATE DE SOUTENANCE

Le 21 Juin 2013

Directeur de thèse : Monsieur Nicolas FABRE

JURY

Président :	Professeur Nicolas FABRE
1 ^{er} assesseur :	Professeur Isabelle FOURASTE
2 ^{ème} assesseur :	Madame Thi HA DANG (Maître de conférence)
3 ^{ème} assesseur :	Docteur Vincent DUBARRY (Pharmacien)

A NOTRE JURY

Professeur Nicolas FABRE

Professeur des Universités

Merci de m'avoir confié ce travail. J'ai été sensible à votre aide rapide et efficace, votre grande patience et votre gentillesse. Je suis très honoré que vous assuriez la présidence de ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère gratitude.

Professeur Isabelle FOURASTE

Professeur émérite

Vous êtes à l'origine de notre travail. Vos corrections détaillées nous ont beaucoup apporté. Votre participation active en tant que botaniste remarquable nous honore.

Professeur Thi HA DANG

Maître de Conférence des Universités

Nous vous remercions de nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger notre travail. Professeur durant nos études, nous gardons de vous un excellent souvenir.

Docteur Vincent DUBARRY

Docteur en Pharmacie, ancien interne des Hôpitaux de Bordeaux

Tu m'as accueilli au sein de ton officine à Bordeaux. Tu es pour moi un des meilleurs exemples de compétence et d'éthique. J'ai pu apprécier l'excellent relationnel que tu crées avec tes patients. J'aime la façon dont tu exerces ce métier. Merci pour ta présence qui représente beaucoup pour moi.

REMERCIEMENTS

A ma mère, qui m'a porté à bout de bras bien souvent, car les moments difficiles étaient nombreux. Etude d'anales, fiches, recopiage de cours, organisation d'examens, je ne connais personne qui puisse donner autant, merci.

A mon père, ton soutien intense, ton implication dans mes études, ta présence sans faille, merci.

A Julie, c'est toi qui a fait les expériences, passé les épreuves difficiles en premier, tu as été mon meilleur exemple de rigueur et de ténacité dans le travail, ta capacité à apprendre par cœur des matières indigestes m'a toujours émerveillé. Tu as éprouvé ces études avant moi, me facilitant grandement la tâche, tu m'as ouvert la voie, sans toi rien n'aurait été pareil.

Aux pharmaciens de ma famille vivants ou défunts qui m'ont précédé, trop nombreux pour les citer, un de plus ;

A la meilleure de mes binômes, Lauriane, aussi bien brillante, agréable que modeste.

A Corinne, indispensable dans la présentation de cette thèse, merci pour tout le temps passé, pour ta disponibilité, toujours dans la bonne humeur.

A Mona, merci pour ces moments de traductions impossibles, ton aide précieuse, ta patience et ta gentillesse.

A ma meilleure amie, Marie-Laure, tu as transformé ma vie étudiante, en souvenir de tous les moments passés ensemble et pour tous les bonheurs futurs, ton amitié est un cadeau.

A mes amis

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
1 BOTANIQUE	2
1.1 NOMS.....	2
1.1.1 NOM SCIENTIFIQUE.....	2
1.1.2 NOMS VERNACULAIRES	2
1.1.3 SYNONYMES	2
1.2 CLASSIFICATION	3
1.2.1 HISTORIQUE.....	3
1.2.2 CLASSIFICATION CLASSIQUE (ENDRESS ET BRYUNS, 2000)	4
1.2.3 CLASSIFICATION PHYLOGÉNÉTIQUE	5
1.3 REPARTITION GEOGRAPHIQUE	5
1.4 DESCRIPTION BOTANIQUE	7
1.4.1 CARACTERISTIQUES BOTANIQUES DU GENRE <i>HOODIA</i>	7
1.4.1.1 APPAREIL VEGETATIF DES PLANTES DU GENRE <i>HOODIA</i>	8
1.4.1.2 FLEUR DES PLANTES DU GENRE <i>HOODIA</i>	9
1.4.2 CARACTERISTIQUES BOTANIQUES DE <i>HOODIA GORDONII</i>	10
1.4.2.1 APPAREIL VEGETATIF DE <i>HOODIA GORDONII</i>	10
1.4.2.2 FLEUR DE <i>HOODIA GORDONII</i>	11
2 COMPOSITION CHIMIQUE.....	12
2.1 GLYCOSIDES OXYPREGNANES	13
2.1.1 HOODIGOGENINE A = GORDONOSIDE A	15
2.1.2 HOODIGOSIDE A	15
2.1.3 HOODIGOSIDE B	15
2.1.4 P57AS3.....	16
2.1.5 HOODIGOSIDE C = GORDONOSIDE C	16
2.1.6 HOODIGOSIDE D.....	16
2.1.7 HOODIGOSIDE E = GORDONOSIDE H	17
2.1.8 HOODIGOSIDE F	17
2.1.9 HOODIGOSIDE G.....	17
2.1.10 HOODIGOSIDE H	18
2.1.11 HOODIGOSIDE I.....	18
2.1.12 HOODIGOSIDE J.....	18
2.1.13 HOODIGOSIDE K	19
2.1.14 GORDONOSIDE B.....	19
2.1.15 GORDONOSIDE D.....	19
2.1.16 GORDONOSIDE E.....	19
2.1.17 GORDONOSIDE F	20
2.1.18 GORDONOSIDE G	20
2.1.19 GORDONOSIDE I	20
2.1.20 GORDONOSIDE L	20

2.2	GLYCOSIDES A CALOGENINE.....	21
2.2.1	HOODIGOSIDE L (1).....	22
2.2.2	HOODIGOSIDE V (2).....	22
2.2.3	HOODIGOSIDE M (3).....	23
2.2.4	HOODIGOSIDE N (4).....	23
2.2.5	HOODIGOSIDE O (5).....	24
2.2.6	HOODIGOSIDE P (6).....	24
2.2.7	HOODIGOSIDE Q (7).....	25
2.2.8	HOODIGOSIDE R (8).....	25
2.2.9	HOODIGOSIDE S (9).....	26
2.2.10	HOODIGOSIDE T (10).....	26
2.2.11	HOODIGOSIDE U (11).....	27
2.3	AUTRES GLYCOSIDES PREGNANES	28
2.3.1	HOODIGOSIDE W.....	28
2.3.2	HOODIGOSIDE X.....	29
2.3.3	HOODIGOSIDE Y.....	29
2.3.4	HOODIGOSIDE V.....	30
2.3.5	HOODIGOSIDE Z.....	30
2.3.6	HOODISTANALOSIDES.....	31
2.3.6.1	HOODISTANALOSIDE A.....	31
2.3.6.2	HOODISTANALOSIDE B.....	32
3	PHARMACOLOGIE.....	33
3.1	EFFET DE HOODIA GORDONII.....	33
3.1.1	ETUDE DE L'EFFET INHIBITEUR SUR LA CONSOMMATION DE NOURRITURE ET D'EAU DE P57AS3 (COMPOSE SUPPOSE ACTIF DE <i>HOODIA GORDONII</i>) <i>IN VIVO</i> CHEZ LE RAT PAR ADMINISTRATION ORALE VAN HEERDEN <i>et al.</i> (2007).....	33
3.1.1.1	PRESENTATION DES MOLECULES ISOLEES.....	34
3.1.1.2	RECHERCHE D'UNE DOSE ACTIVE POUR P57AS3.....	34
3.1.1.3	COMPARAISON DES EFFETS DE P57AS3 ET DE LA FENFLURAMINE.....	36
3.1.1.4	CONCLUSION.....	39
3.1.2	ETUDE DE L'EFFET DE <i>HOODIA GORDONII</i> SOUS FORME DE FARINE <i>IN VIVO</i> CHEZ LE POULET PAR ADMINISTRATION ORALE MOHLAPO <i>et al.</i> 2009.....	40
3.1.2.1	ETUDE DES EFFETS EN FONCTION DE LA QUANTITE ADMINISTREE.....	41
3.1.2.2	ETUDE APPROFONDIE DES EFFETS POUR UNE DOSE DE 300 MG.....	42
3.1.2.3	CONCLUSION.....	44
3.2	PHARMACODYNAMIE.....	45
3.2.1	ETUDE D'UN POSSIBLE MODE D'ACTION CENTRAL - MACLEAN et LUO (2004).....	45
3.2.1.1	HYPOTHESE.....	45
3.2.1.2	EXPERIENCES.....	45
3.2.1.3	CONCLUSION.....	56

3.2.2 ACTION DE P57AS3 AU NIVEAU DES RECEPTEURS AMERS HUMAINS - LE NEVE <i>et al.</i> (2010).....	57
3.2.2.1 HYPOTHESE.....	57
3.2.2.2 EXPERIENCES.....	58
3.2.2.3 DISCUSSION.....	60
3.3 PHARMACOCINETIQUE.....	63
3.3.1 DONNEES PHARMACOCINETIQUES DE P57AS3 - MADGULA <i>et al.</i> (2008).....	63
3.3.1.1 INTRODUCTION.....	63
3.3.1.2 ESSAI DE STABILITE METABOLIQUE AU NIVEAU DES MICROSOMES DE FOIE HUMAIN.....	63
3.3.1.3 ESSAI D'INHIBITION DES CYTOCHROMES P450 (1A2, 2C9, 3A4 ET 2D6).....	64
3.3.1.4 EVALUATION DU TRANSPORT INTESTINAL.....	66
3.3.1.5 CONCLUSION.....	69
3.3.2 DONNEES PHARMACOCINETIQUES DE LA HOODIGOGENINE A ET DE <i>HOODIA GORDONII</i> - MADGULA <i>et al.</i> (2010).....	70
3.3.2.1 INTRODUCTION.....	70
3.3.2.2 EXPERIENCES.....	70
3.3.2.3 CONCLUSION.....	75
4 TOXICITE.....	76
4.1 INTRODUCTION.....	76
4.2 EXPERIENCES.....	76
4.2.1 TEST DE MUTATION BACTERIENNE.....	76
4.2.2 TEST DE MUTATION GENETIQUE SUR DES CELLULES DE LYMPHOME DE SOURIS.....	77
4.2.3 TEST DU MICRONOYAU DE LA MOELLE OSSEUSE CHEZ LA SOURIS.....	77
4.3 RESULTATS.....	77
4.3.1 TEST DE MUTATION BACTERIENNE.....	77
4.3.2 TEST DE MUTATION GENETIQUE SUR DES CELLULES DE LYMPHOME DE SOURIS.....	78
4.3.3 TEST DU MICRONOYAU DE LA MOELLE OSSEUSE CHEZ LA SOURIS.....	79
4.4 DISCUSSION.....	79
5 STANDARDISATION.....	80
5.1 HISTORIQUE.....	80
5.2 RECHERCHE DE FALSIFICATIONS.....	82
5.2.1 METHODE.....	82
5.2.2 RESULTATS ET DISCUSSION.....	82
5.2.2.1 IDENTIFICATION DES EMPREINTES CHIMIQUES HPTLC.....	82
5.2.2.2 ANALYSE DES ESPECES DU GENRE <i>HOODIA</i> , DES GENRES APPARENTES ET DES COMPLEMENTS ALIMENTAIRES.....	84
CONCLUSION.....	87
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	89

INTRODUCTION

Hoodia gordonii est une plante vivace, succulente, de la famille des APOCYNACEAE. Elle est originaire du désert du Kalahari en Afrique du Sud, Namibie et Botswana.

Cette plante est intimement liée à un peuple indigène d'Afrique du Sud, le peuple San ou Bushmen, qui connaissait quelques milliers d'années avant le reste du monde, ses puissantes propriétés. Son utilisation par les chasseurs leur permettait durant leurs longues sorties d'éviter toute sensation de faim ou de soif.

En 1998, le C.S.I.R. (Conseil de Recherche Scientifique et Industrielle) dépose un brevet couvrant également le constituant supposé actif P57AS3. Il attribue par la suite une licence d'exploitation à la firme Phytopharm, qui, à son tour, sous-traite ses droits de développement et de commercialisation au géant pharmaceutique Pfizer. Ce n'est que suite à un scandale médiatique et à une longue bataille juridique qu'un accord de partage des bénéfices sur commercialisation avec la communauté des bushmen est conclu. Aujourd'hui, Unilever, propriétaire de Slim-Fast, détient les droits exclusifs de *Hoodia gordonii* et du composé supprimeur d'appétit P57AS3.

Hoodia gordonii est un exemple de recherche ethnobotanique, par lequel les propriétés d'une plante indigène du sud du continent africain pourraient bénéficier aux millions de personnes souffrant de surpoids dans le monde.

Effectivement, après un grand progrès des traitements grâce aux molécules de synthèse, la recherche revient vers la pharmacopée naturelle. Des enquêtes de terrain sur les divers usages des plantes sont effectuées, pour ensuite vérifier expérimentalement leur bien-fondé à la lumière des connaissances scientifiques modernes. Les connaissances en pharmacologie ou en physiologie ne sont pas pour autant mises de côté.

La découverte d'une substance anorexigène dépourvue d'effets indésirables représenterait une avancée scientifique considérable. L'obésité, si répandue dans les pays occidentaux, est un facteur de risque d'un certain nombre de maladies comme l'hypertension artérielle, l'infarctus du myocarde ou le diabète. Elle serait la cause de près de 300 000 décès par an aux Etats-Unis. Un produit pouvant aider le consommateur à contrôler son apport calorique serait grandement bénéfique.

Cette propriété coupe-faim a, depuis une dizaine d'années, suscité un intérêt considérable parmi la population générale et les sociétés commerciales dans le monde. De nombreuses recherches ont été effectuées entre autres sur la composition de la plante, son mécanisme d'action et les méthodes de dosage de ses constituants.

1 BOTANIQUE

1.1 NOMS

1.1.1 NOM SCIENTIFIQUE

Hoodia gordonii (Masson) Sweet ex Decne in DC. Prodr. 8:665.1844

1.1.2 NOMS VERNACULAIRES

Dans leur dialecte, les bushmen qualifiaient *Hoodia gordonii* sous les noms de « xhoba », « khoba » ou « khowa ». Cette plante pouvait également être désignée sous des termes plus généraux comme « veldkros » regroupant l'ensemble des herbes et arbustes d'Afrique australe au relief peu marqué, ou « gaap » ou « guaap » qualifiant les plantes comestibles.

1.1.3 SYNONYMES

Selon les classifications, différentes dénominations de cette plante se sont succédées :

Stapelia gordonii Masson 1796

Gonostemon gordonii Masson 1826

Monothylaceum gordonii Masson 1837

Les études moléculaires ont d'autre part prouvé que d'autres espèces sont en réalité des variétés de *Hoodia gordonii*

Hoodia bainii Dyer 1878

Hoodia burkei Brown 1909

1.2 CLASSIFICATION

1.2.1 HISTORIQUE

En 1796, une espèce du genre *Stapelia* a été étudiée par Robert Gordon et publiée par Masson comme *Stapelia gordonii* Masson.

Les changements de classifications ont provoqué des changements de noms, le genre *Stapelia* est transformé en *Gonostemon* en 1826, puis *Monothylaceum* en 1837, le genre *Hoodia* n'apparaît que longtemps après la découverte de la plante qui nous intéresse ici, en 1844, emprunté au nom d'un producteur anglais de plantes succulentes : Monsieur Hood. Ceci coïncide avec l'attribution par Joseph Decaisne du nom définitif : *Hoodia gordonii* Masson. Le nom d'espèce : *gordonii* fait référence à Robert Gordon qui fut le premier à découvrir l'espèce.

En 1890, N.E. Brown a classé certaines espèces du genre *Stapelia* dans un nouveau genre *Trichocaulon* N. E. Br. (Bruyns, 2005).

Les genres *Hoodia* et *Trichocaulon* étaient différenciés, entre autres, par la taille de leurs fleurs : les espèces du genre *Hoodia* présentaient une grande corolle en forme de coupe, jusqu'à 100 mm de diamètre, tandis que les fleurs des espèces du genre *Trichocaulon* étaient petites, 6 -18 mm de diamètre.

Cependant, la plupart des caractères utilisés pour séparer *Hoodia* et *Trichocaulon* avaient des exceptions et dans une révision par Bruyns (1993), les espèces épineuses du genre *Trichocaulon* ont été déplacées vers le genre *Hoodia* et les espèces sans épines vers le genre *Lavrancia* Plowes. Par conséquent, le genre *Trichocaulon* n'est plus reconnu.

Le genre *Hoodia* est classé dans le groupe des Stapeliades, groupe de plantes succulentes appartenant à la famille des APOCYNACEAE.

Les Stapeliades faisaient autrefois partie de la famille des ASCLEPIADACEAE, mais sont maintenant placés dans la tribu des CEROPEGIEAE ASCLEPIADOIDEAE sous-famille des APOCYNACEAE.

1.2.2 CLASSIFICATION CLASSIQUE (ENDRESS ET BRYUNS, 2000)

Selon la nomenclature occidentale, on peut classer *Hoodia gordonii* de la manière suivante :

Taxon : EUCARYOTA

Règne : PLANTAE

Sous règne : TRACHEOBIONTA

Super embranchement : SPERMATOPHYTES

Embranchement : ANGIOSPERMES

Division : MAGNOLIOPHYTA

Classe : MAGNOLIOPSIDA

Sous classe : ASTERIDEAE

Ordre : GENTIANALE

Famille : APOCYNACEAE

Sous famille : ASCLEPIADOIDEAE

Tribu : CEROPEGIEAE

Sous tribu : STAPELIINAE

Genre : *Hoodia* Sweet ex Decne

Espèce : *Hoodia gordonii* (Masson) Sweet ex Decne 1844

1.2.3 CLASSIFICATION PHYLOGÉNÉTIQUE

APG III (The Linnean Society of London, 2009 et <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>)

Empire : EUCARYOTA

Règne : PLANTAE

Embranchement : ANGIOSPERMES

Clade : DICOTYLEDONES VRAIES

Clade : ASTERIDEAE

Clade : LAMIIDEAE

Ordre : GENTIANALES

Famille : APOCYNACEAE

Genre : *Hoodia* Sweet ex Decne

1.3 REPARTITION GEOGRAPHIQUE

A l'état sauvage, *Hoodia gordonii* pousse principalement sur des collines et des pentes rocheuses. Elle se trouve surtout dans les régions où la pluie tombe rarement mais en grande quantité et très rapidement.

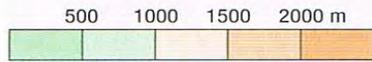
On retrouve *Hoodia gordonii* dans tout l'extrême sud-ouest du continent africain : Namibie et la région du Cap au nord-ouest de la république d'Afrique du Sud (désert du Kalahari).

AFRIQUE-ÉQUATORIALE FRANÇAISE



Afrique du Sud-Lesotho

★ site touristique important



Le Cap capitale de province
 limite de province

— autoroute
 — route
 — voie ferrée
 ✈️ aéroport

● plus de 1 000 000 h.
 ● de 500 000 à 1 000 000 h.
 ● de 100 000 à 500 000 h.
 ● moins de 100 000 h.

1.4 DESCRIPTION BOTANIQUE

(WENNERT A. L., 2012)

1.4.1 CARACTERISTIQUES BOTANIQUES DU GENRE *HOODIA*

Le genre *Hoodia* a été découvert et décrit par le botaniste Robert Sweet en 1830. Tous les représentants du genre *Hoodia* se trouvent dans les zones de pluie d'été de l'Angola, du Botswana, de la Namibie et de l'Afrique du Sud, ainsi que dans les zones de pluie d'hiver de la Namibie.

Tous les taxons, sauf un, sont présents à l'ouest de vingt-six degrés de longitude et à partir de trente-trois degrés de latitude sud et jusqu'en Angola. La seule exception est *Hoodia currorii* (Hook.) Decne. sp *lugardii* (N.E.Br.) Bruyns que l'on trouve au Botswana et dans la province de Limpopo en Afrique du Sud. Les centres de diversité sont en Namibie (onze) et en Afrique du Sud (neuf).

Les espèces de ce genre occupent des habitats arides très divers, sur les côtes comme en montagne, mais typiquement dans les plaines arides graveleuses ou schisteuses ainsi que sur les pentes et les crêtes. On ne connaît pas exactement les conditions d'habitat favorables aux espèces du genre *Hoodia* mais on ne pense pas que la disponibilité d'habitat soit un facteur limitatif.

Plusieurs espèces partagent de vastes superficies (dont plusieurs de plus de dix mille kilomètres carrés) avec des populations très abondantes. D'autres poussent en groupes isolés de faible densité globale et sont réparties sur des superficies relativement petites (moins de mille kilomètres carrés). Chez la plupart des espèces la répartition n'est pas uniforme.

Il faut noter par ailleurs que des espèces du genre *Hoodia* ont disparu de certaines parties de leurs aires de répartition à la suite des activités d'exploitations minières, d'agriculture et de prélèvements.

1.4.1.1 APPAREIL VEGETATIF DES PLANTES DU GENRE *HOODIA*

Le genre *Hoodia* se compose de plantes à tiges cylindriques, épineuses et charnues (qui correspondent au caractère de succulence). Ces tiges sont dressées et ramifiées à la base, elles mesurent en moyenne quatre-vingt centimètres. Elles sont robustes et de couleur gris vert.

Elles ont de nombreuses côtes mamelonnées dont chaque mamelon se termine par une excroissance en forme d'épine : un aiguillon mou. Les feuilles, dont la nervure principale est effilée, sont vivaces.

Sur ce seul élément botanique, il est très difficile de différencier les individus du genre *Hoodia* de ceux du genre *Trichocaulon* très proche morphologiquement.



1.4.1.2 FLEUR DES PLANTES DU GENRE *HOODIA*

Les éléments principaux permettant de différencier le genre *Hoodia* du genre *Trichocaulon* sont le pédicelle¹ et la corolle. Chez les espèces du genre *Hoodia*, le pédicelle est plus long, la corolle est deux fois plus large que longue et présente une dépression centrale.



Le calice est formé de cinq sépales imbriqués à la base. Ceux-ci ont une forme ovale à lancéolée.

La corolle, de couleur jaune à brun, plus ou moins alterne et actinomorphe², mesure de huit millimètres à dix-sept centimètres de diamètre, elle est portée par un pédicelle long de deux centimètres à partir des sillons supérieurs de la tige. Les pétales sont de taille et de forme variables : petits ou grands, ayant une forme de plat ou de coupe. A l'extérieur, ils sont glabres et lisses tandis que l'intérieur est glabre avec de petites pustules. Les pétales peuvent également être légèrement poilus.

Les étamines sont soudées en un corps cylindrique appelé colonne qui entoure les deux carpelles libres. Cette colonne produit deux excroissances : la couronne externe et la couronne interne qui vont jouer deux rôles, d'une part celui de guide en attirant les insectes vers la colonne des étamines, d'autre part celui de barrière pour repousser les visiteurs indésirables.

¹ Pédicelle : dans une inflorescence composée, dernière ramification du pédoncule portant une fleur unique à son sommet

² Actinomorphe : se dit d'une fleur dont les différentes parties présentent une symétrie radiale par rapport au réceptacle

Les cinq lobes de la couronne externe sont peu visibles seulement marqués par la présence de cinq petites dents recourbées. Les cinq lobes de la couronne interne sont séparés par des sillons destinés à recevoir les pollinies amenées par les insectes. Ces pollinies comportent de courts caudicules.

Ce mécanisme très particulier explique pourquoi les hybrides sont très rares même lorsque les différentes espèces poussent côte à côte.

Les fleurs durent plusieurs jours.

Une fois fécondées, les carpelles se transforment en follicules rouge-vert, élancés, pouvant atteindre jusqu'à vingt centimètres. Chaque fruit s'ouvre libérant ainsi un nuage de graines rondes ou en forme de poire, ailées ayant au niveau apical une touffe de poils.

1.4.2 CARACTERISTIQUES BOTANIQUES DE *HOODIA GORDONII*

Cette plante succulente a été découverte en 1777, par le colonel R. J Gordon sur la rive septentrionale de l'Orange River, dans le district de Gordonia en Afrique du Sud, lors d'une expédition. Il l'adressa au botaniste Francis Masson qui en fit la première description sous le nom de *Stapelia gordonii*. Ce n'est que plus tard qu'elle sera transférée dans le genre *Hoodia* par Robert Sweet.

1.4.2.1 APPAREIL VEGETATIF DE *HOODIA GORDONII*

Les tiges de *Hoodia gordonii* sont charnues et épaisses. Elles sont couleur vert eau à vert gris. Elles ont un goût amer.

Elles peuvent atteindre une hauteur de soixante-dix centimètres et ont généralement un diamètre de cinq centimètres. Elles sont constituées de rangées de mamelons coriaces qui constituent une alternance de côtes et de sillons. Ces mamelons se terminent par une fine épine brune, longue d'environ un centimètre.

Chaque tige, très anguleuse, comporte onze à dix sept côtes saillantes. Cette structure assure à *Hoodia gordonii* un port cactiforme.

1.4.2.2 FLEUR DE HOODIA GORDONII

Les inflorescences sont par groupe de une à quatre fleurs pédonculées à la base. Le pédoncule pubescent mesure entre un centimètre et demi et deux centimètres.

Les sépales, de petite taille de l'ordre de quelques millimètres, ovales à lancéolés sont glabres et situés contre la corolle.

La corolle composée de cinq pétales distincts, présente une dépression centrale faisant penser à un bouton et mesure entre cinq et dix centimètres de diamètre. A l'extérieur les pétales glabres sont de couleur brun clair parcourus par de fines nervures noires tandis qu'à l'intérieur ils sont de couleur plus soutenue allant du marron clair au pourpre. La face interne des pétales est parsemée de fines papilles glabres rouge foncé, ressemblant à du velours avec au sommet un fin poil. Il s'agit de la caractéristique botanique majeure de la corolle de cette espèce. Les marges, légèrement recourbées vers l'extérieur, sont de couleur pourpre pâle.

En contre bas, la couronne externe, d'un pourpre plus sombre, touche les marges de la corolle. Les lobes peuvent être soit émarginés³ soit plus courts, obtus et bifides au sommet de l'apex⁴.

La couronne interne peut être soit indivisée soit divisée à partir du milieu vers le sommet en deux appendices étalés à la base et devenant plus obtus au sommet.

Les fleurs ont une odeur de viande avariée ce qui leur a valu le nom de « fleur charogne ». Il s'agit d'une stratégie évolutive afin d'attirer les insectes pollinisateurs tels que les mouches (*Musca domestica*) qui se nourrissent essentiellement de viande avariée.

Le fruit est un follicule mesurant de neuf à onze centimètres, fusiforme, effilé sur le côté, plus crochu au sommet.

³ Emarginé : très légèrement échancré au sommet

⁴ Apex : extrémité d'un organe (tige, racine, feuille) correspondant généralement à une zone de croissance

2 COMPOSITION CHIMIQUE

En 1998, P57AS3, un glycoside stéroïde oxypregnane a été isolé des extraits de *Hoodia gordonii*, et a été breveté par le CSIR (Conseil de Recherche Scientifique et Industrielle) en Afrique du Sud (VAN HEERDEN et al.1998).

La majorité des métabolites secondaires isolés de la sous-famille des ASCLEPIADOIDEAE ont été caractérisés comme des glycosides prégnanes comprenant une partie glucidique 6-desoxy ou 2,6-didesoxy.

Les études de la composition chimique ont permis d'isoler onze glycosides oxyprégnanes, hoodigosides A-K (PAWAR et al. Jun. 2007) et dix glycosides calogénines, hoodigosides L-U (PAWAR et al. Nov. 2007).

Ces composés ont été utilisés comme marqueurs pour développer des méthodes HPLC et LC-MS pour l'identification et le contrôle de qualité des drogues végétales et des compléments alimentaires de *Hoodia gordonii* (AVULA et al. 2006 et 2007 ; voir standardisation).

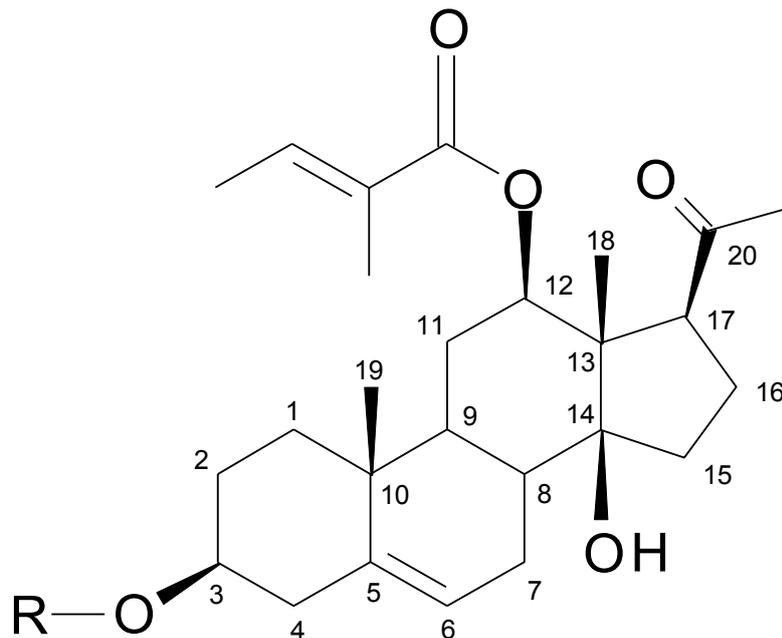
En 2007, des études concurrentes, menées par DALL'ACQUA et INNOCENTI, ont permis d'isoler dix dérivés stéroïdiens, gordonosides A-L, qui sont dans quelques cas également nommés hoodigosides par PAWAR.

Les dernières études (SHUKLA et al. 2009) conduisent à l'isolement et la caractérisation de sept glycosides prégnanes comprenant deux nouveaux types d'aglycones.

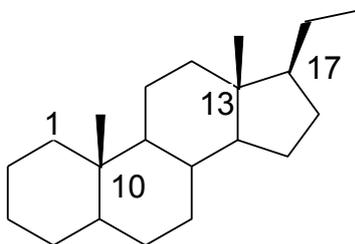
2.1 GLYCOSIDES OXYPREGNANES

Glycosides dérivés du 12-glycoside hydroxyprégnane

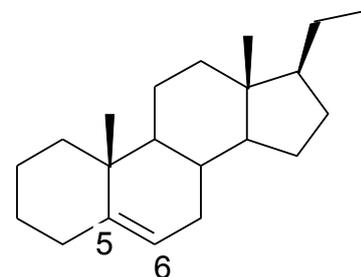
L'aglycone, Hoodigogénine A, est un dérivé prégnane caractéristique du genre *Hoodia*, en raison de la substitution ester tigloyl en C-12.



Le noyau prégnane qui représente la base structurale, est un carbure saturé stéroïdien, à jonction des noyaux A et B *cis*, diméthylé en 10 et en 13 et comportant une chaîne latérale à deux carbonnes (éthyle) en position 17 β .



Noyau prégnane



Noyau prégnène

La présence d'une liaison éthylénique en 5,6 fait de lui un noyau prégnène. Ce noyau est hydroxylé en 3 β et 14 β et présente une fonction cétone en 20.

Les différents glycosides oxyprégnanes de *Hoodia gordonii* se distinguent par leur chaîne osidique (R).

Tableau présentant pour chaque glycoside oxyprégnane sa chaîne osidique R et l'auteur de référence

R	Nom	Référence
H	Hoodigogénine A	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
H	Gordonoside A	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
The-Cym	Hoodigoside A	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
The-The-Cym	Hoodigoside B	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
The-Cym-Cym	P57AS3	Van Heerden <i>et al.</i> (2007)
The-Cym-Cym-Cym	Hoodigoside C	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
	Gordonoside C	Dall'Acqua <i>et Innocenti</i> (2007)
The-The-Cym-Cym	Hoodigoside D	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-The-Cym-Cym	Hoodigoside E	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
	Gordonoside H	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Glu-Ole-The-Cym-Cym	Hoodigoside F	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-Cym-The-Cym-Cym	Hoodigoside G	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-Cym-Cym-Cym-Cym	Hoodigoside H	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-Ole-Cym-Cym-Cym	Hoodigoside I	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-Ole-Dig-Cym-Cym	Hoodigoside J	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
Glu-Glu-Cym	Hoodigoside K	Pawar <i>et al.</i> (Jun. 2007)
The-Ole-CymCym	Gordonoside B	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Dig-Ole-Cym-Cym	Gordonoside D	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Ole-Ole-Cym-Cym	Gordonoside E	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Ole-Cym-Cym-Cym	Gordonoside F	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Cym-Cym-Cym-Cym	Gordonoside G	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Dig-Ole-Ole-Cym-Cym	Gordonoside I	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)
Ole-Cym-Cym-Cym-Cym	Gordonoside L	Dall'Acqua <i>et innocenti</i> (2007)

The = thévétopyranose, Cym = cymaropyranose, Glu = glucopyranose,

Ole = oléandropyranose, Dig = digitoxose

Ces premières études de la composition chimique de *Hoodia gordonii* ayant été réalisées quasiment simultanément, on retrouve pour un même composé deux noms différents suivant l'auteur.

2.1.1 HOODIGOGENINE A = GORDONOSIDE A

Formule brute : $C_{26}H_{38}O_5$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β ,14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

Synthèse : GEOFFROY et al. 2011

Une méthode de synthèse de l'hoodigogénine A a récemment été mise au point pour pallier aux difficultés de culture de *Hoodia gordonii* qui est une plante protégée, ainsi qu'au rendement d'extraction très faible compris entre 0.003% et 0.02%. Elle s'effectue à partir de réactifs disponibles dans le commerce. Elle offre un rendement de 3%. Cette synthèse représente une alternative très intéressante aux méthodes d'extraction qui ont un rendement 100 fois inférieur. De plus, les analogues de l'hoodigogénine A sont maintenant accessibles par cette méthode. Des études biologiques avec des composés de haute pureté sont actuellement en cours.

2.1.2 HOODIGOSIDE A

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{40}H_{62}O_{12}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β ,14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.3 HOODIGOSIDE B

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{47}H_{74}O_{16}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.4 P57AS3

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₄₇H₇₄O₁₅

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-thévétopyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.5 HOODIGOSIDE C = GORDONOSIDE C

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₅₄H₈₆O₁₈

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-thévétopyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.6 HOODIGOSIDE D

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₅₄H₈₆O₁₉

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-thévétopyranosyl-(1 → 4)-β-D-thévétopyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.7 HOODIGOSIDE E = GORDONOSIDE H

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{53}H_{84}O_{20}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.8 HOODIGOSIDE F

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{60}H_{96}O_{23}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-pregn-5-en-20-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oleandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-thevetopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.9 HOODIGOSIDE G

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{60}H_{96}O_{23}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl (1 \rightarrow 4)- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.10 HOODIGOSIDE H

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₆₀H₉₆O₂₂

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl - (1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.11 HOODIGOSIDE I

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₆₀H₉₆O₂₂

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-β-D-oléandropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.12 HOODIGOSIDE J

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : C₅₉H₉₄O₂₂

Nom : 12-O-β-tigloyl-3β, 14β-dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-β-D-oléandropyranosyl-(1 → 4)-β-D-digitoxopyranosyl - (1 → 4)-β-D-cymaropyranosyl-(1 → 4)-β-D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.13 HOODIGOSIDE K

Glycoside oxyprégnane

Aglycone = Hoodigogénine A

Formule brute : $C_{45}H_{70}O_{18}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-3 β ,14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.14 GORDONOSIDE B

Formule brute : $C_{54}H_{86}O_{18}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.1.15 GORDONOSIDE D

Formule brute : $C_{53}H_{84}O_{17}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-digitoxypyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre amorphe blanche

2.1.16 GORDONOSIDE E

Formule brute : $C_{54}H_{86}O_{17}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre amorphe blanche

2.1.17 GORDONOSIDE F

Formule brute : $C_{54}H_{86}O_{17}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre amorphe blanche

2.1.18 GORDONOSIDE G

Formule brute : $C_{54}H_{86}O_{17=}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.1.19 GORDONOSIDE I

Formule brute : $C_{60}H_{96}O_{20}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-digitoxypyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre amorphe blanche

2.1.20 GORDONOSIDE L

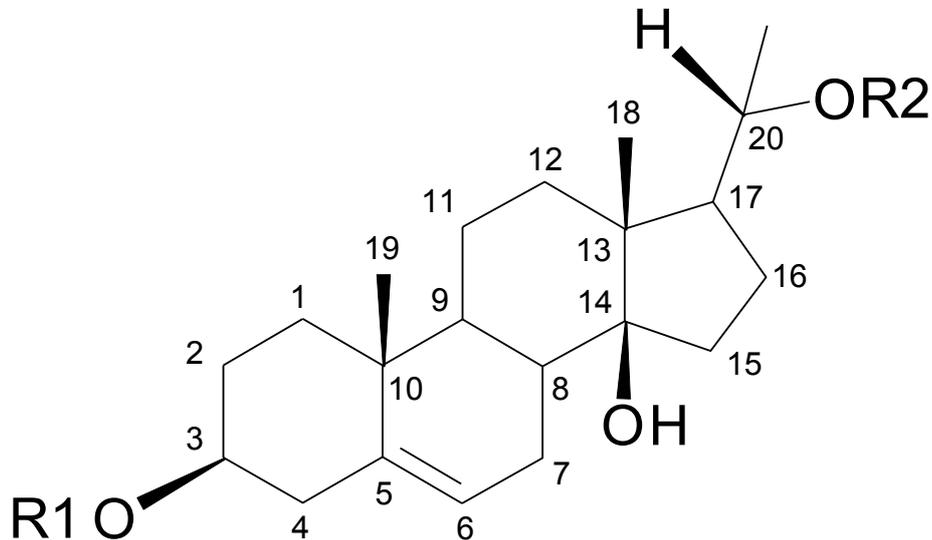
Formule brute : $C_{61} H_{98} O_{20}$

Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques :
poudre blanche amorphe

2.2 GLYCOSIDES A CALOGENINE

Il s'agit de dix bisdesmosides à calogénine et d'un monodesmoside à calogénine
PAWAR *et al.* (Nov. 2007)



L'aglycone, la calogénine, n'est pas spécifique du genre *Hoodia*. Il est retrouvé dans de nombreuses plantes de la famille des ASCLEPIADACEAE. Ces composés ne peuvent pas être des marqueurs uniques pour l'identification des espèces du genre *Hoodia*.

Cependant, la fonctionnalité tigloyl attachée au C-4 du sucre terminal est un trait distinctif des glycosides à calogénine de *Hoodia gordonii*.

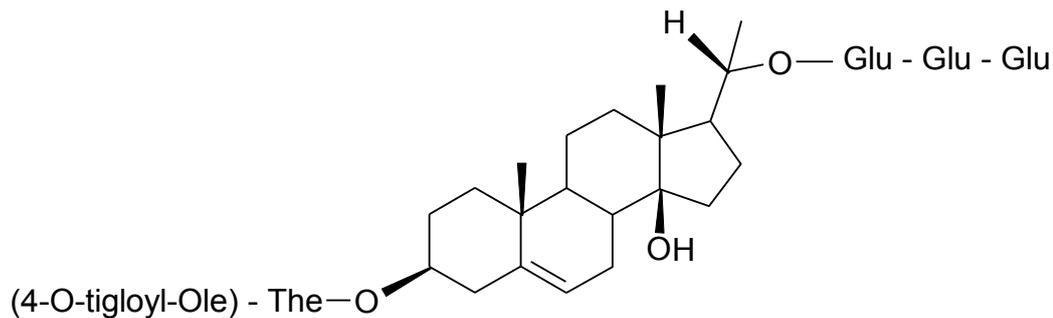
Calogénine = prégn-5-ène-3 β ,14 β ,20 α -triol

2.2.1 HOODIGOSIDE L (1)

Bisdesmoside à calogénine, composé majeur de l'extrait méthanolique

Formule brute : $C_{58}H_{94}O_{26}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl-3-O-β-(4-O-tigloyl)-D-thévétopyransyl)-(1 → 4)-β-D-oléandropyranoside

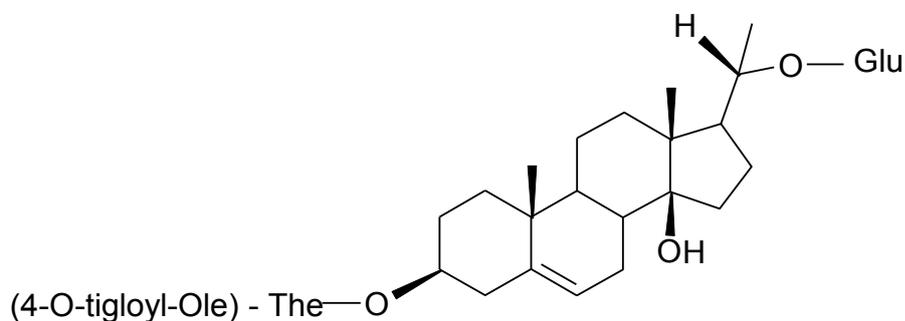
Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.2.2 HOODIGOSIDE V (2)

Bisdesmoside calogénine

Formule brute : $C_{46}H_{74}O_{16}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-3-O-β-(4-O-tigloyl)-D-thévétopyransyl)-(1 → 4)-β-D-oléandropyranoside

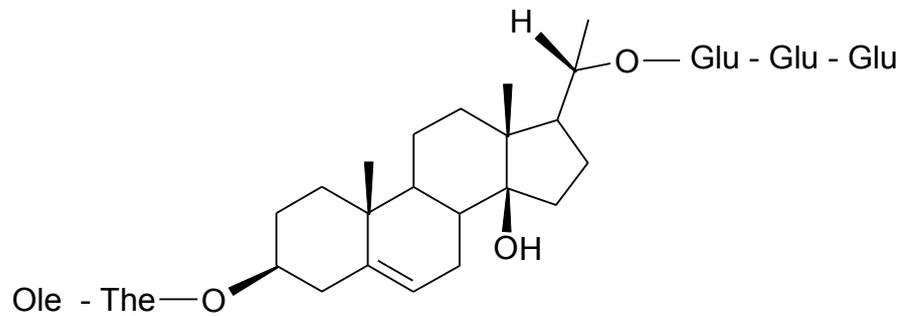
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.3 HOODIGOSIDE M (3)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{53}H_{88}O_{25}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -D-thévétopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

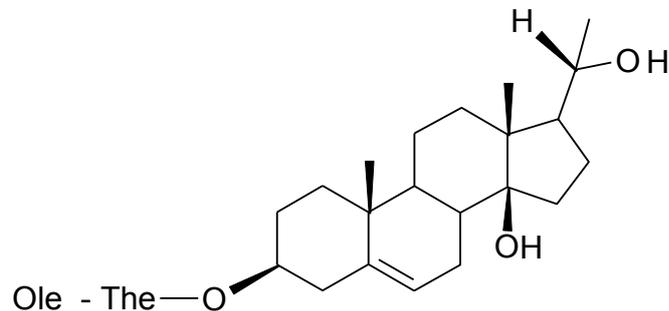
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.4 HOODIGOSIDE N (4)

Monodesmoside calogénine

Formule brute : $C_{35}H_{58}O_{10}$

Formule développée :



Nom : calogénin-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

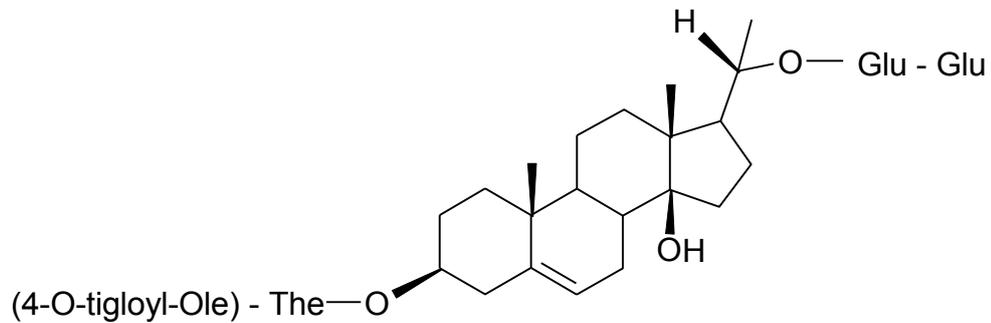
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.5 HOODIGOSIDE O (5)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{52}H_{84}O_{21}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

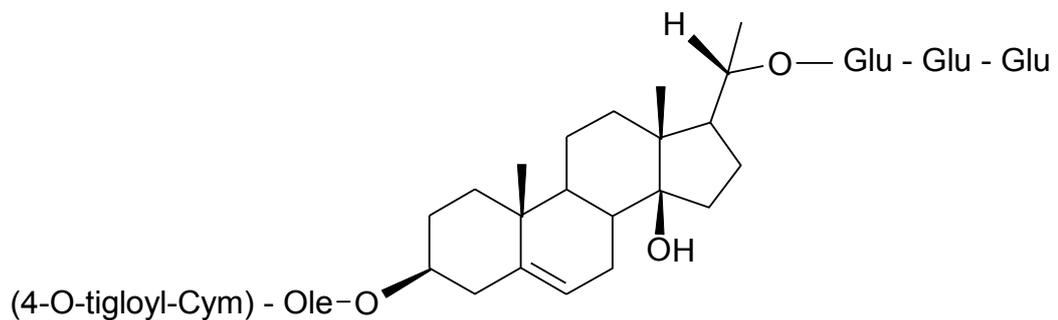
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.6 HOODIGOSIDE P (6)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{58}H_{94}O_{25}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

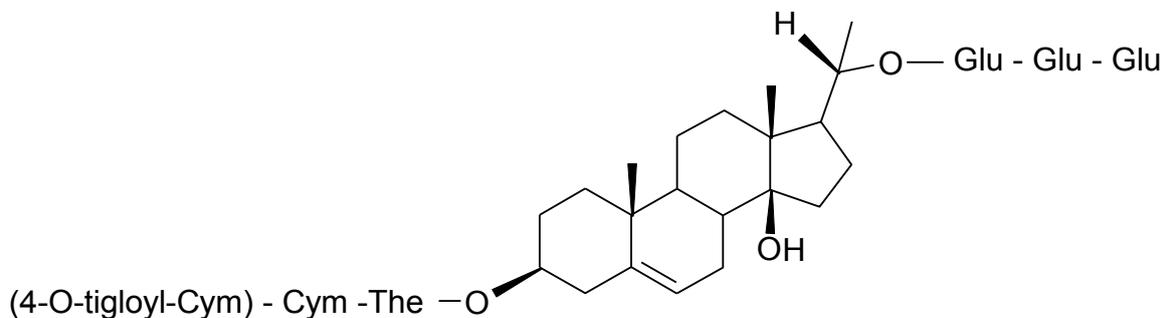
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.7 HOODIGOSIDE Q (7)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{65}H_{106}O_{29}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

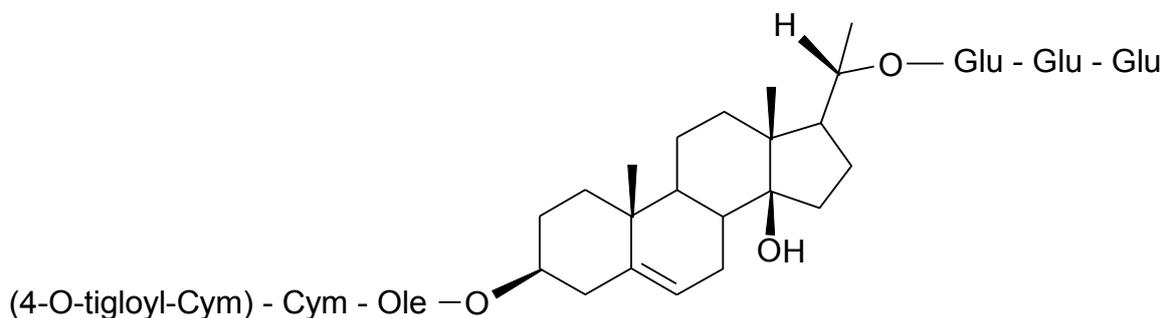
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.2.8 HOODIGOSIDE R (8)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{65}H_{106}O_{28}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

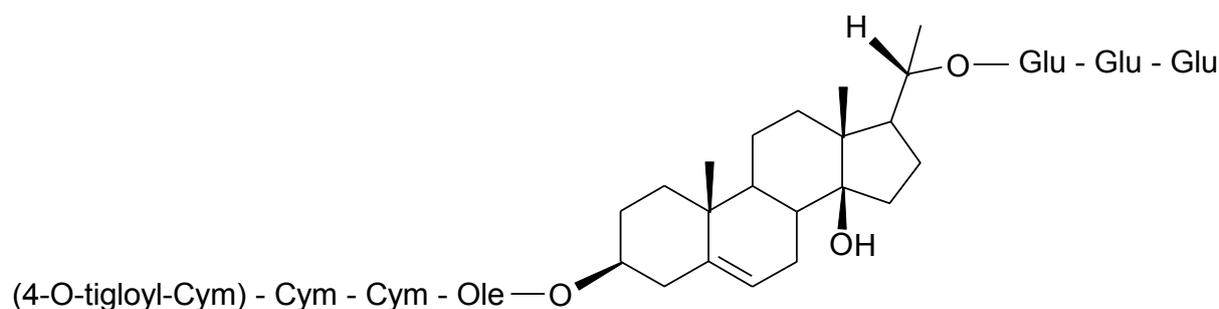
Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.2.9 HOODIGOSIDE S (9)

Bisdesmoside calogénine

Formule brute : $C_{72}H_{118}O_{31}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

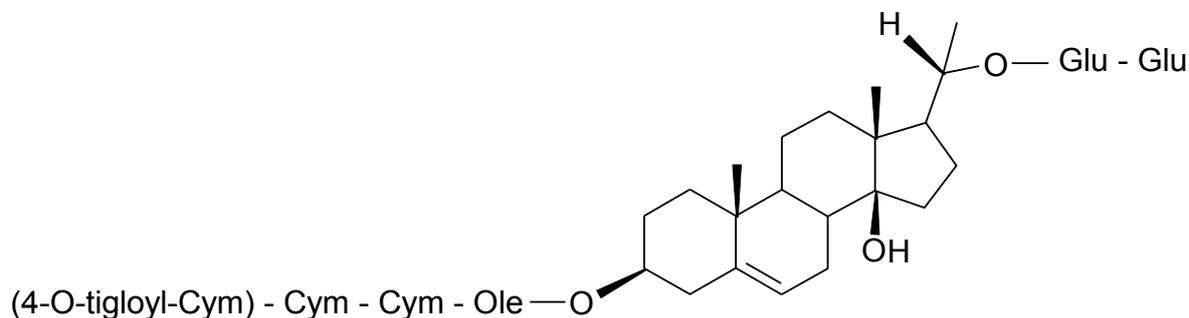
Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.2.10 HOODIGOSIDE T (10)

Bisdesmoside calogénine

Formule brute : $C_{66}H_{108}O_{26}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

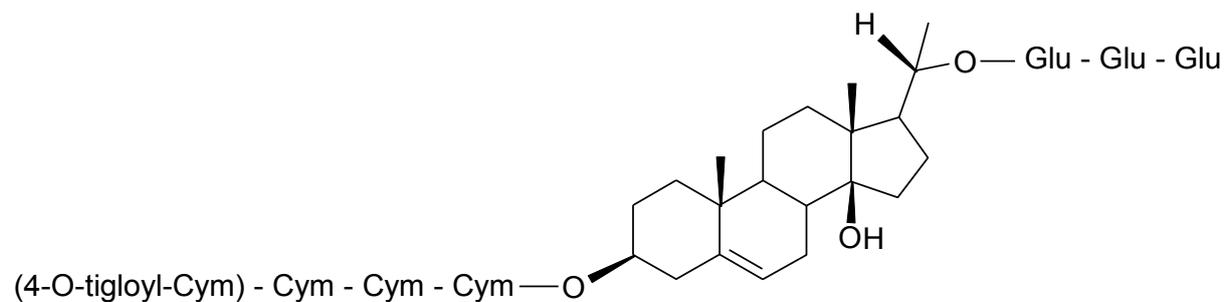
Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.2.11 HOODIGOSIDE U (11)

Bidesmoside calogénine

Formule brute : $C_{72}H_{118}O_{31}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-cymaropyranosyl--(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : poudre blanche amorphe

2.3 AUTRES GLYCOSIDES PREGNANES

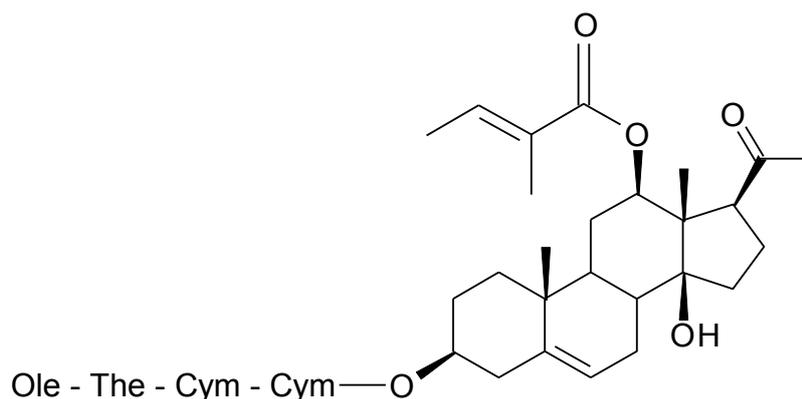
Les études les plus récentes (SHUKLA *et al.* 2009) ont permis l'isolement et la caractérisation de sept glycosides prégnanes, dont trois composés connus. Ces éléments ont été identifiés comme les glycosides de l'hoodigogénine A, l'isoramanone, la calogénine et deux nouveaux chénotypes d'aglycones, à savoir l'hoodistanal et le déhydrohoodistanal.

2.3.1 HOODIGOSIDE W

Aglycone : hoodigogénine A

Formule brute : $C_{54}H_{86}O_{18}$

Formule développée :



Nom : 12-O- β -tigloyl-14 β -hydroxyprégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-oléandropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-thévétopyransyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

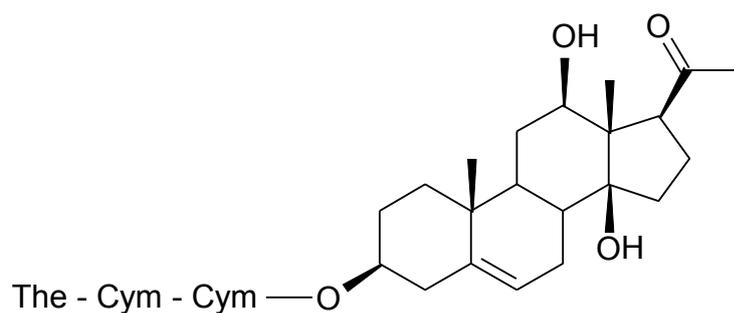
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.3.2 HOODIGOSIDE X

Aglycone : isoramanone

Formule brute : $C_{42}H_{68}O_{14}$

Formule développée :



Nom : 12 β ,14 β -dihydroxyprégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4) - β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

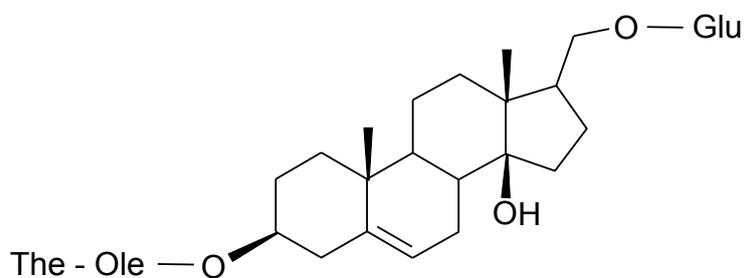
2.3.3 HOODIGOSIDE Y

Bisdesmoside

Aglycone : calogénine

Formule brute : $C_{41}H_{68}O_{15}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

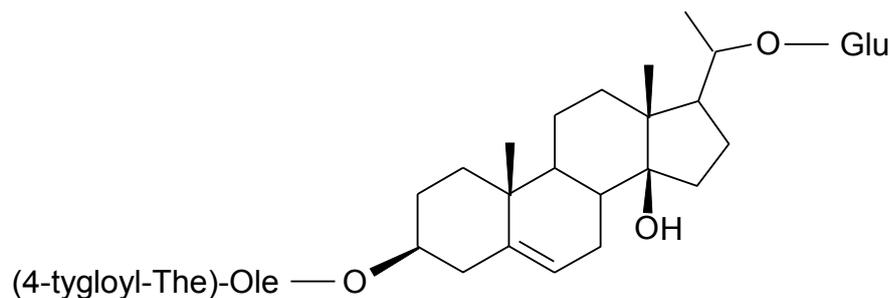
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.3.4 HOODIGOSIDE V

Aglycone : calogénine

Formule brute : $C_{58}H_{94}O_{25}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

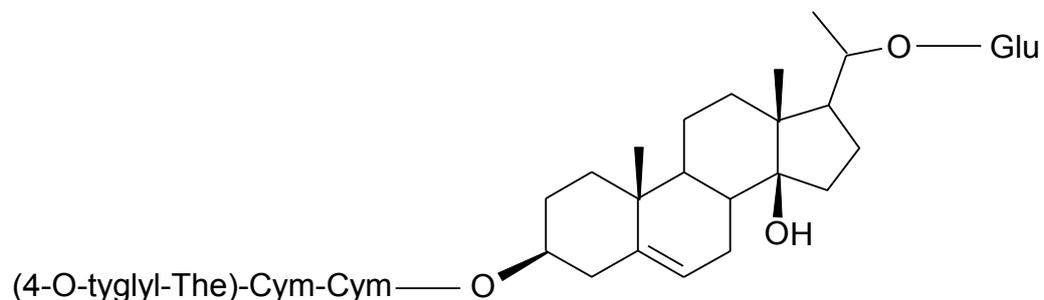
Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

2.3.5 HOODIGOSIDE Z

Aglycone : calogénine

Formule brute : $C_{53}H_{86}O_{19}$

Formule développée :



Nom : calogénin-20-O- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside

Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

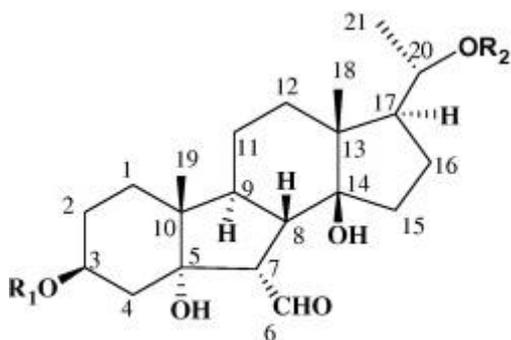
2.3.6 HOODISTANALOSIDES

Les hoodistanaloses sont des glycosides prégnanes présentant au niveau de leur aglycone une fonction aldéhyde en position 6. Les deux aglycones se différencient par la présence ou non d'une insaturation en 5.

2.3.6.1 HOODISTANALOSIDE A

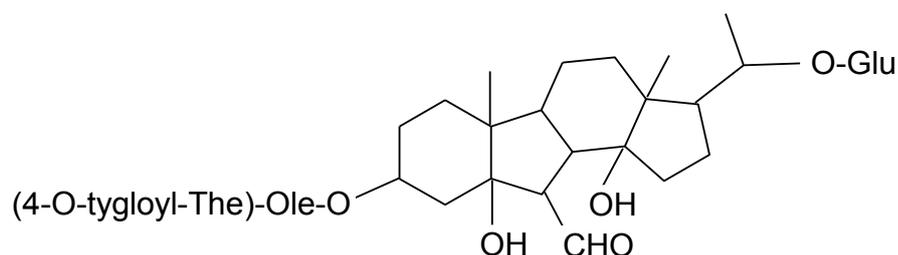
Abéo-stérol glycoside

Aglycone : Hoodistanal



Formule brute : $C_{46}H_{74}O_{18}$

Formule développée :

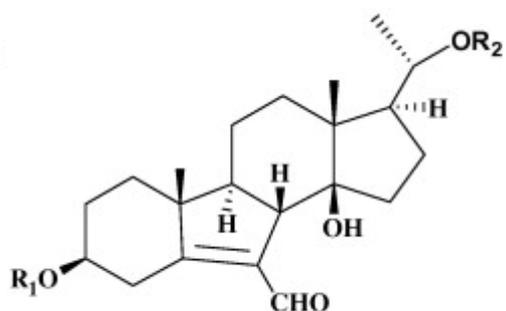


Nom : 5 α ,14 β -dihydroxy-5(6 \rightarrow 7)abéo-prégn-7 α -al-20-O- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tygloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

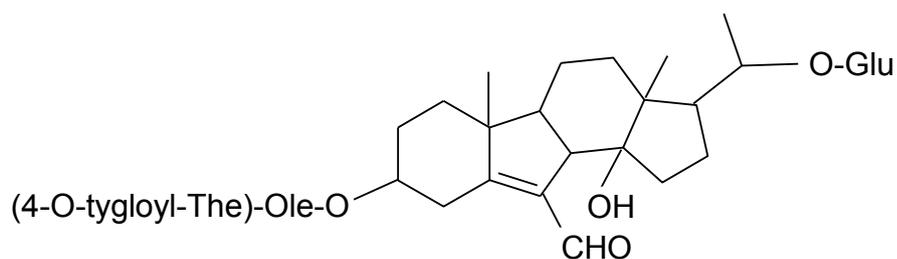
2.3.6.2 HOODISTANALOSIDE B

Aglycone : Déhydrohoodistanal



Formule brute : $C_{46}H_{72}O_{17}$

Formule développée :



Nom : 14 β -hydroxy-5(6 \rightarrow 7)abéo-prégn-5-èn-7-al-20-O- β -D-glucopyranosyl-3-O- β -(4-O-tigloyl)-D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-oléandropyranoside

Caractéristiques : Poudre blanche amorphe

3 PHARMACOLOGIE

Au début des années soixante, une enquête a été conduite au Conseil pour la Recherche Scientifique et Industrielle (C.S.I.R., Afrique du Sud) pour déterminer la valeur nutritive et les effets toxiques à long terme de la consommation de plantes indigènes jusqu'alors très méconnues. Plus de mille espèces de plantes sauvages sud-africaines ont été étudiées dont des plantes du genre *Hoodia*.

En 1983, vingt ans après le début de la recherche initiale, une enquête détaillée sur *Hoodia pilifera* a été entreprise, concluant à des effets supprimeurs d'appétit des extraits de cette plante sur les rats. Cette recherche a été étendue à d'autres espèces comme *Hoodia gordonii* menant au dépôt d'un brevet par Van Heerden *et al.* en 1998.

Les expériences étudiées ont pour but de répondre à plusieurs questions :

- 1) *Hoodia gordonii* sous différentes présentations, ou l'un de ses constituants isolé, ont-il un effet chez l'animal ? Existe-t-il une variation en fonction de l'espèce choisie ?
- 2) Quel est le mode d'action à l'origine de ce ou ces effets ?
- 3) Que peut-on dire de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion par l'organisme des molécules issues de cette plante ?

3.1 EFFET DE HOODIA GORDONII

L'effet de *Hoodia gordonii* a été observé chez deux espèces différentes le rat et le poulet, en administrant par voie orale soit un composé purifié supposé actif P57AS3, soit la plante sous forme de farine.

3.1.1 ETUDE DE L'EFFET INHIBITEUR SUR LA CONSOMMATION DE NOURRITURE ET D'EAU DE P57AS3 (COMPOSE SUPPOSE ACTIF DE HOODIA GORDONII) IN VIVO CHEZ LE RAT PAR ADMINISTRATION ORALE VAN HEERDEN *et al.* (2007)

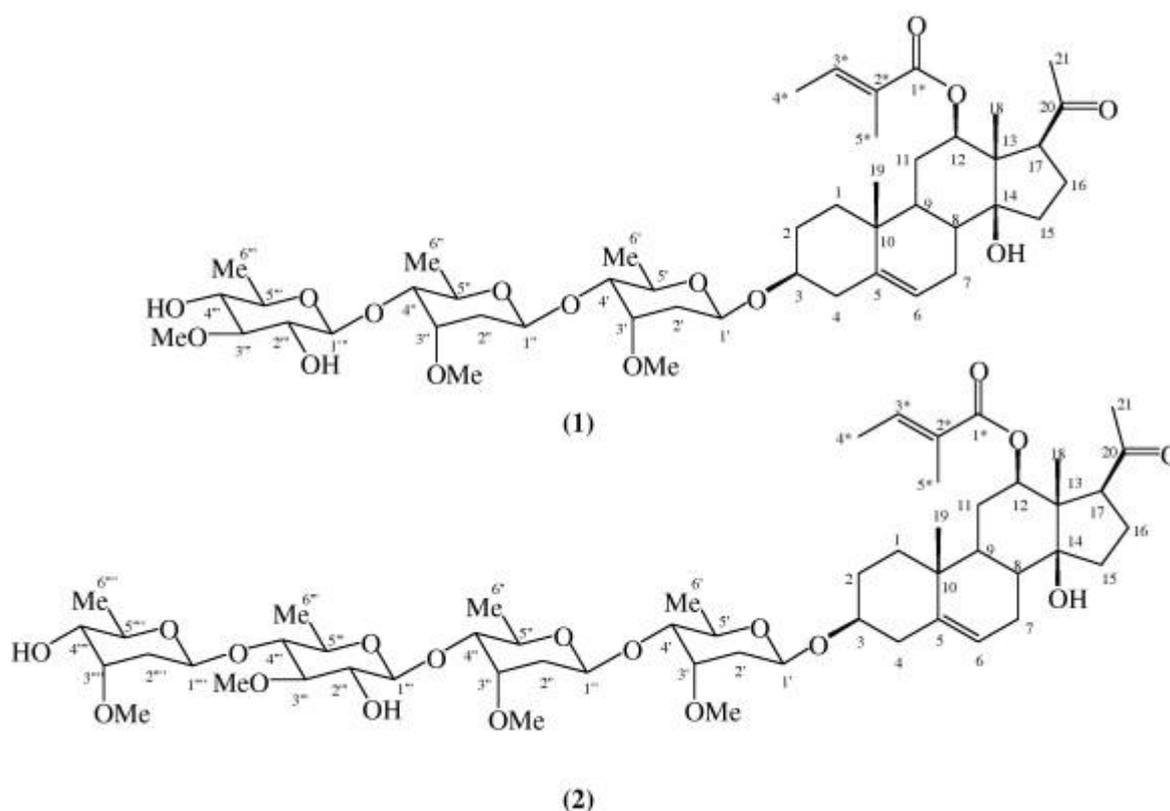
Les études initiales conduites au CSIR ont montré que certaines espèces du genre *Hoodia*, en particulier *H. pilifera* et *H. gordonii*, possédaient des propriétés supprimeur d'appétit.

Ce travail décrit l'isolement, l'explication de structure de deux glycosides prégnanes extraits de *H. pilifera* et *H. gordonii*. Il a également pour but d'évaluer l'activité de P57AS3, considéré actuellement comme composé actif de *H. gordonii*, en essayant de déterminer *in vivo* chez le rat une possible activité inhibitrice sur la consommation d'eau et de nourriture lors d'une administration par voie orale et d'en comparer l'intensité avec une molécule de référence, la Fenfluramine.

3.1.1.1 PRESENTATION DES MOLECULES ISOLEES

12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranoside (= P57AS3, numéro 1)

12-O- β -tigloyl-3 β , 14 β -dihydroxy-prégn-5-èn-20-one-3-O- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D- thévétopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-cymaropyranose (numéro 2)



3.1.1.2 RECHERCHE D'UNE DOSE ACTIVE POUR P57AS3

P57AS3 isolé et purifié a été administré par voie orale chez le rat à cinq doses différentes, le volume restant constant. Chaque groupe de traitement est constitué de trois animaux, et de six animaux pour le groupe contrôle qui n'a reçu que le véhicule en guise de contrôle (amidon de pomme de terre). La molécule n'a été administrée que les trois premiers jours.

La consommation de nourriture et d'eau ainsi que le poids ont été contrôlés pendant huit jours.

Effet de la consommation de P57AS3 sur la prise alimentaire

Traitement oral (mg/kg/jour)	Prise alimentaire (g)					
	J -7 à -1 (moyenne)	J 1	J 2	J 3	J 4	J 5, 6, 7 (moyenne)
0	22,55	20,84	20,78	19,3	28,42	21,81
6,25	20	10,19	8,84	8,67	11,76	19,24
12,5	20,45	10,77	5,83	8,12	10,85	14,14
25	21,63	9,38	7,81	8,37	11,26	12
37,5	22,12	9,7	7,59	8,36	11,71	14,36
50	21,61	10,25	7,45	9,94	10,85	12,57

Effet de la consommation de P57AS3 sur la consommation d'eau

Traitement oral (mg/kg/jour)	Consommation d'eau (g)					
	J -7 à -1 (moyenne)	J 1	J 2	J 3	J 4	J 5, 6, 7 (moyenne)
0	29,01	26,9	27,7	27,98	27,53	35,38
6,25	23,26	56,15	55,06	38,22	30,44	30,76
12,5	24,55	45,72	34,5	26,97	42,57	37,71
25	33,24	21,53	33,57	32,16	37,39	34,12
37,5	24,96	32,92	23,79	24,63	39,19	38,78
50	30,73	49,3	30,96	38,53	41,99	45,94

Effet de la consommation de P57AS3 sur le poids

Traitement oral (mg/kg/jour)	Poids (g)					
	J 1	J 2	J 3	J 4	J 5	J 8
0	156,2	159	163,2	163,9	171,8	175,3
6,25	156	153,2	150,3	147,4	147	165,8
12,5	158,7	157,1	158,3	149,2	151,1	156,7
25	160,9	159	154,4	155,1	154,8	157,5
37,5	153,9	154,3	150,5	146,2	149,8	157,3
50	160,5	157,3	154,1	155,1	152,5	157,4

Une diminution nette de la prise alimentaire ainsi qu'un fléchissement de la prise de poids, même avec la dose la plus faible (6,25 mg/kg), sont deux éléments fortement significatifs de l'effet suppresseur d'appétit.

Aucun effet lié à la dose sur la consommation d'eau n'a été trouvé.

Le traitement n'a pas affecté la santé des animaux sur cette période.

3.1.1.3 COMPARAISON DES EFFETS DE P57AS3 ET DE LA FENFLURAMINE

L'effet de P57AS3 a également été comparé à celui de la Fenfluramine, connue pour ses propriétés réprimant l'appétit. Chaque groupe est constitué de six animaux. Trois traitements ont été administrés à J1, J2 et J3. L'aliment contrôle est à nouveau l'amidon de pomme de terre.

Les doses des composés testés sont les doses supposées d'activité optimale. La Fenfluramine est un composé connu, la dose utilisée est de 15 mg/kg/jour. Pour P57AS3, l'expérience précédente montre une activité maximale pour la dose de 30 mg/kg/jour.

Effet de P57AS3 et de la Fenfluramine sur la consommation de nourriture et d'eau chez les rats

La différence a été montrée significative en utilisant le test de Student « t-test » :

* P < 0,05 ; ** P < 0,01 ; *** P < 0,001.

Comparaison de l'effet de la consommation de P57AS3 par rapport à la fenfluramine sur la prise alimentaire

Traitement oral (mg/kg/jour)	Prise alimentaire (g)			
	J -1	J 1	J 2	J 3
0	22,2 +/- 1,7	19,3 +/- 2,2	20,5 +/- 2,8	19,6 +/- 1,7
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	22,6 +/- 4,3	10,1*** +/- 1,9	6,2*** +/- 1,1	7,7*** +/- 1,6
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	23 +/- 3,8	7,4*** +/- 3,5	14,4*** +/- 1	15,6*** +/- 0,6

Traitement oral (mg/kg/jour)	Prise alimentaire (g)				
	J 4	J 5	J 6	J 7	J 8
0	21,8 +/- 3,1	21,6 +/- 2,3	22,6 +/- 3,2	22,3 +/- 2,5	20,2 +/- 3,1
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	10,2*** +/- 2,6	12,5*** +/- 5,3	14,8** +/- 5,6	16,8* +/- 6,6	18,3 +/- 6,4
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	22,3 +/- 1,5	23,1 +/- 2,3	24,0 +/- 4,0	22,0 +/- 1,6	20,6 +/- 1,8

Comparaison de la consommation de P57AS3 par rapport à la fenfluramine sur la consommation d'eau

Traitement oral (mg/kg/jour)	Consommation d'eau (g)			
	J -1	J 1	J 2	J 3
0	28,4 +/- 1,6	28,6 +/- 3,8	26,8 +/- 3,5	31,3 +/- 4,9
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	30,4 +/- 7,4	27,3 +/- 5,4	27,8 +/- 7,5	30 +/- 4,1
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	31,2 +/- 5	24,1 +/- 4,2	28,1 +/- 4,1	38 +/- 9

Traitement oral (mg/kg/jour)	Consommation d'eau (g)				
	J 4	J 5	J 6	J 7	J 8
0	25,3 +/- 2,8	28,4 +/- 2,2	25,8 +/- 3,8	30,3 +/- 6,6	29,9 +/- 6,3
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	27,9 +/- 10,0	30,2 +/- 11,5	26,0 +/- 7,8	30,5 +/- 8,6	34,5 +/- 10,0
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	34,2* +/- 4,7	33,7 +/- 2,8	32,2 +/- 4,5	36,6 +/- 7,0	32,7 +/- 6,8

Effet du P57AS3 et de la Fenfluramine sur le poids des rats

La différence a été montrée significative en utilisant le test de Student « t-test » : * P < 0,05 ; ** P < 0.01.

Comparaison de l'effet de P57AS3 par rapport à la fenfluramine sur le poids

Traitement oral (mg/kg/jour)	Poids (g)		
	J - 7	J - 5	J - 3
0	146 +/- 8,4	147 +/- 9,0	155 +/- 9,8
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	145 +/- 9,9	150 +/- 11,1	155 +/- 15,4
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	143 +/- 9,5	143 +/- 9,9	151 +/- 10,2

Traitement oral (mg/kg/jour)	Poids (g)			
	J 1	J 3	J 5	J 8
0	166 +/- 9,5	172 +/- 12,1	178 +/- 11,0	190 +/- 13,6
P57AS3 (30 mg/kg/jour)	167 +/- 16,1	161 +/- 11,8	158** +/- 11,1	167* +/- 17,3
Fenfluramine (15 mg/kg/jour)	161 +/- 13,3	157* +/- 10,5	165 +/- 11,8	177 +/- 11,3

L'administration de P57AS3 entraîne une réduction de la prise alimentaire durant la période d'étude avec une perte de poids concomitante.

La Fenfluramine entraîne une faible diminution de la prise alimentaire mais aussi une augmentation du poids contrairement à P57AS3 même si cette prise de poids est supérieure pour le groupe contrôle.

La consommation d'eau ne montre pas de variation significative.

3.1.1.4 CONCLUSION

Cette étude montre de façon significative pour P57AS3 une activité inhibitrice de l'appétit accompagnée d'une perte de poids après une administration par voie orale pendant trois jours chez le rat. Cette activité est supérieure à celle de la Fenfluramine.

3.1.2 ETUDE DE L'EFFET DE *HOODIA GORDONII* SOUS FORME DE FARINE *IN VIVO* CHEZ LE POULET PAR ADMINISTRATION ORALE MOHLAPO *et al.* 2009

L'étude de Van Heerden montre l'activité d'un composé isolé P57AS3, Mohlapo s'intéresse à l'activité de la farine de *Hoodia gordonii*.

De nouveaux critères sont appréciés comme la perte qualitative de poids et le métabolisme. Mohlapo observe chez une autre espèce, le poulet, une différence d'activité. La consommation de poulet étant très répandue dans le monde, il pourrait être intéressant d'en modifier l'apport nutritionnel, c'est-à-dire obtenir des poulets moins gras avec plus de muscles.

Cette étude consiste à évaluer l'effet d'une supplémentation en *Hoodia gordonii* pulvérisée chez des poulets Ross 308. Celle-ci est réalisée en fin de croissance (entre le 30^{ème} et le 42^{ème} jour d'âge). La productivité et les caractéristiques de la carcasse sont étudiées.

Les poids initiaux ont été pris avant chaque expérience. Le poids vif moyen des poulets a été calculé quotidiennement par pesée, il correspond au poids total des poulets de chaque enclos divisé par le nombre de poulets de l'enclos.

Ces poids vifs ont été utilisés pour calculer les taux de croissance.

Le ratio de conversion alimentaire par enclos a été calculé comme l'alimentation totale consommée divisée par la différence des poids des oiseaux au début et à la fin de l'expérience.

Le ratio de conversion alimentaire a été calculé comme la quantité totale des aliments consommés divisée par le gain en poids des oiseaux vivants ajouté à la prise en poids des oiseaux morts ou abattus.

La digestibilité a été calculée entre le 36^{ème} et le 42^{ème} jour d'âge. La digestibilité apparente est égale à la différence entre les quantités de nutriments ingérés et excrétés divisée par la quantité de nutriments ingérés.

Les contenus énergétiques métabolisables apparents des régimes alimentaires et la rétention d'azote ont également été calculés.

Des échantillons d'excréments ont été analysés pour quantifier le calcium, le phosphore, les matières grasses et les fibres.

A 42 jours d'âge, tous les poulets restants par enclos ont été abattus pour analyser les caractéristiques de la carcasse. Des parties de la carcasse et la graisse abdominale ont été pesées.

Les effets de la supplémentation en *Hoodia gordonii* ont été étudiés par analyses statistiques.

3.1.2.1 ETUDE DES EFFETS EN FONCTION DE LA QUANTITE ADMINISTREE

La première expérience a pour but de comparer l'effet en fonction de la quantité de *Hoodia gordonii* administrée.

H. gordonii est administré sous forme de farine à plusieurs dosages pour déterminer la dose la plus active.

L'expérience a nécessité 360 poulets mâles et femelles. Ils ont été élevés 29 jours de leur naissance au début de l'expérience. L'expérience a pris fin lorsque les poulets avaient 42 jours. Nourriture et eau ont été proposées à volonté durant l'expérience. *H. gordonii* a été administré chaque matin à 8 heures.

Le protocole expérimental dans un environnement randomisé, a pour arrangement factoriel :

2 (mâles et femelles) x 6 (dosages de supplémentation)

Ces 12 traitements sont répétés trois fois, soit un total de 36 enclos comprenant 10 oiseaux chacun.

Comparaison des effets en fonction du niveau de supplémentation en *Hoodia gordonii*

	Niveau de supplémentation en mg de farine						SE
	0	100	200	300	400	500	
Prise alimentaire (g/oiseau/jour)	140,7	141	142,8	142,7	140,2	142,4	4,2
Ratio de conversion des aliments	2,1	2,5	2,3	2,2	2,3	2,5	0,2
Taux de croissance (g/oiseau/jour)	70	59	64	67	65	62	5,65
Poids d'un oiseau à 42 jours (g)	2028	1990	2018	1988	1960	1982	6305
Pourcentage d'augmentation de poids	11	11,4	10,7	11	10,7	10,2	0,45
Teneur en azote de la viande (%)	44,7	44,3	44,5	44,6	44,8	44,3	0,74

	Niveau de supplémentation en mg de farine						SE
	0	100	200	300	400	500	
Carcasse (g/oiseau)	1570	1567	1582	1581	1540	1523	79,4
Habillage (%)	75	73	74	73	73	71	2,1
Cuisses (%)	12,7	12,6	12,9	12,7	13	12,6	0,2
Blancs (%)	32	32	31	31	31	31	0,6
Coussinets adipeux (%)	1,5 ^a	1,3 ^{ab}	1,1 ^{ab}	0,9 ^b	1,3 ^{ab}	1,3 ^{ab}	0,12
Gésiers (%)	2,5	2,5	2,5	2,6	2,3	2,4	0,17
Foie	2,8	2,8	2,9	2,8	3,1	3,3	0,26

^{a,b} des exposants différents entre 2 colonnes indiquent une différence significative
SE : erreur standard

La variation quantitative n'a aucune conséquence ($P > 0,05$) sur la prise alimentaire, le taux de croissance, le ratio de conversion alimentaire et le poids vif des poulets.

La supplémentation quotidienne avec 300 mg de *Hoodia gordonii* a réduit ($P < 0,05$) le poids du coussinet adipeux des poulets de 40%.

3.1.2.2 ETUDE APPROFONDIE DES EFFETS POUR UNE DOSE DE 300 MG

La seconde expérience a pour but d'examiner l'effet de la farine de *Hoodia gordonii* sur la productivité et les caractéristiques de la carcasse des poulets.

L'expérience a nécessité 360 poulets dans un protocole randomisé avec un arrangement factoriel :

2 (mâles et femelles) x 3 (dosages de supplémentation)

Ces 6 traitements sont répétés six fois, soit un total de 36 enclos avec 10 oiseaux chacun. L'expérience débute au trentième jour d'âge des poulets et s'achève 6 ou 12 jours après. Les poulets sont alors analysés.

Effets de la supplémentation en *Hoodia gordonii* sur la productivité et les caractéristiques de la carcasse

	Niveau de supplémentation			
	H ₃₀₀ D ₁₂	H ₃₀₀ D ₆	H ₀ D ₀	SE
Prise alimentaire (g de matière sèche/oiseau/jour)	144	149,3	146	2,41
FCR	2,16	2,05	2,16	0,06
Taux de croissance (g/oiseau/jour)	67,1	73	68,3	2,4
Poids vif d'un oiseau à 42 jours(g)	1974	2065	2004	41,2
Prise alimentaire en % du poids	10,8	10,8	11	0,32
Contenu des blancs en N (%)	44,9	44,5	44,5	0,44
Digestibilité de la matière sèche (décimal)	0,41	0,49	0,41	0,03
Digestibilité de l'azote (décimal)	0,78	0,79	0,77	0,01
Rétention de l'azote (g/oiseau/jour)	2,91	2,93	2,83	0,08
Métabolisme apparent (MJ/kg DM)	14,23	14,42	14,44	0,14
Poids de la carcasse (g/oiseau)	1558	1584	1595	37,6
Habillage (%)	76,4	77,7	78,2	1,84
Cuisses (%)	12,9	13,6	13,1	0,37
Poitrine (%)	32,1	32,6	33,3	1,02
Coussinets adipeux (%)	0,9 ^a	1,1 ^b	1,1 ^b	0,09
Gésiers (%)	2,5	2,6	2,6	0,09
Foie (%)	2,8	2,7	2,8	0,07

H₃₀₀D₁₂ : 300 mg de *Hoodia gordonii* par oiseau et par jour pendant 12 jours

H₃₀₀D₆ : 300 mg de *Hoodia gordonii* par oiseau de J30 à J36

H₀D₀ : pas de supplémentation

SE : erreur standard

Le niveau de supplémentation en *Hoodia gordonii* n'a aucun effet ($P > 0,05$) sur l'apport alimentaire, le taux de croissance, le poids, le ratio de conversion alimentaire et toutes les caractéristiques de la carcasse, sauf pour les coussinets adipeux.

La supplémentation quotidienne avec 300 mg de *Hoodia gordonii* par oiseau réduit en matières grasses le poids des coussinets de 18%. Ceci ne pouvait pas être expliqué en termes de différences dans la prise alimentaire, la digestibilité ou le taux de croissance.

3.1.2.3 CONCLUSION

Lors de cette étude, la supplémentation en farine d'*Hoodia gordonii* n'a eu aucun effet sur la prise alimentaire. Ceci est contraire aux études précédentes qui montraient un effet positif sur la sensation de satiété chez le rat et ainsi une réduction de la prise alimentaire.

Au cours des deux expériences, *Hoodia gordonii* administrée sous forme de poudre de plante n'a aucun effet sur le taux de croissance, le poids, le ratio de conversion des aliments et le rendement en viande des poulets.

Ces résultats peuvent être expliqués par une ingestion d'aliments et une digestibilité similaires chez les poulets, quel que soit le traitement. Contrairement aux présentes conclusions, VAN HEERDEN *et al.* (2007) ont montré que la supplémentation avec un composé isolé et purifié P57AS3 de *Hoodia gordonii* réduit le taux de croissance et le poids des rats.

La supplémentation quotidienne avec 300 mg de *Hoodia gordonii* pulvérisé dans les deux expériences a réduit le poids du coussinet adipeux de 40% et 18% respectivement.

Toutefois, l'analyse de régression a indiqué que la plus faible quantité de coussinet adipeux serait obtenue pour une supplémentation de 247 mg / oiseau / jour. La réduction du coussinet adipeux a été obtenue sans une réduction significative de la prise alimentaire et de la digestibilité. L'explication physiologique de cet effet n'est pas claire et mérite d'être étudiée plus avant.

D'autres recherches sont nécessaires pour étudier les raisons biochimiques de la réduction du poids des coussinets adipeux des poulets par une supplémentation en *Hoodia gordonii*.

3.2 PHARMACODYNAMIE

La pharmacodynamie est l'étude des mécanismes d'action à l'origine de l'effet d'une substance.

3.2.1 ETUDE D'UN POSSIBLE MODE D'ACTION CENTRAL - MACLEAN et LUO (2004)

3.2.1.1 HYPOTHESE

L'effet anorexigène de *Hoodia gordonii* et en particulier de son actif supposé P57AS3, résulte d'une augmentation de la production en Adénosine triphosphate (ATP) au niveau de l'hypothalamus qui constitue le signal pour la sensation de satiété.

P57AS3 présente des analogies structurales avec les glycosides cardiaques à noyau stéroïdien qui ont une action supposée sur les pompes Na^+ / K^+ ATPase.

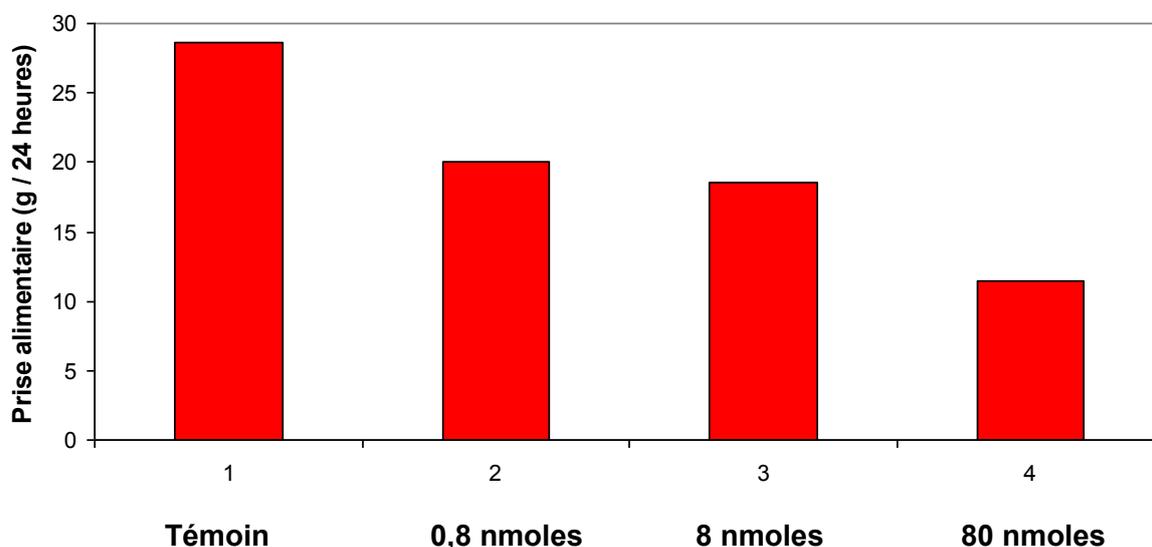
L'ATP semble être un moyen de détection de la satiété, qui déclenche les réponses endocriniennes neuronales appropriées, comme observé dans d'autres centres homéostatiques hypothalamiques fondamentaux pour la température et l'osmolarité.

3.2.1.2 EXPERIENCES

3.2.1.2.1 EFFETS DE L'INJECTION DE P57AS3 ET D'AUTRES GLYCOSIDES STEROÏDIENS SUR LA PRISE ALIMENTAIRE PENDANT 24 HEURES

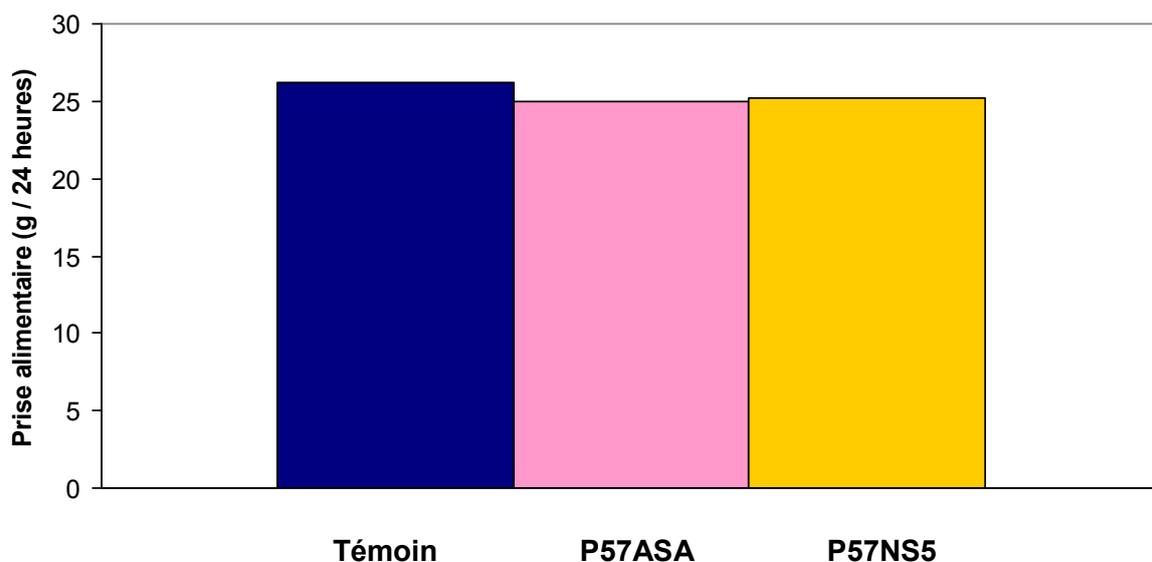
Pour déterminer si l'activité anorexigène se produisait au niveau du cerveau, plus particulièrement au sein de l'hypothalamus, P57AS3 a été injecté au niveau du troisième ventricule de rats à des doses de 0,4 à 40 nmol dissout dans 4 μL de DMSO. Le DMSO seul a été injecté à titre de témoin. N = 6 animaux par groupe. $P < 0,05$

Injections intracérébroventriculaires de P57AS3



P57AS3 a réduit la prise alimentaire de 50-60 %. L'effet a augmenté avec la dose, une dose de 0,4 nmol a produit un effet significatif bien que relativement mineur. L'effet observé persiste durant 24-48 heures en fonction de la dose. Parallèlement, une injection intra-péritonéale de 20 nmol de P57AS3 n'a pas réduit, de façon significative, la prise alimentaire (données non présentées).

Injections intracérébroventriculaires P57ASA (aglycone de P57AS3) ou P57NS5 (composé substitué en 19) de 40 nmol



Les deux autres molécules testées, P57ASA (= aglycone de P57AS3) et P57NS5 (P57AS3 substitué en 19) à la dose de 40 nmol dans le DMSO, n'ont pas modifié la prise alimentaire des 24 heures suivant l'injection.

Enfin, l'injection de ouabaïne à 8 nmol dans le DMSO a abouti à l'hyperactivité motrice, phénomène précédemment rapporté, mais n'a eu aucun effet uniforme sur l'apport alimentaire (résultats non présentés).

3.2.1.2.2 EFFETS DE P57AS3 SUR L'ABSORPTION DE ⁸⁶Rb (RUBIDIUM) DANS LES CULTURES DE NEURONES HYPOTHALAMIQUES FOETAUX

P57AS3 présente un cycle à 4 sommets et une substitution OH en 14 qui lui confèrent des analogies structurales avec les cardénolides sans qu'ils présentent le cycle Δ -lactone spécifique des digitaliques.

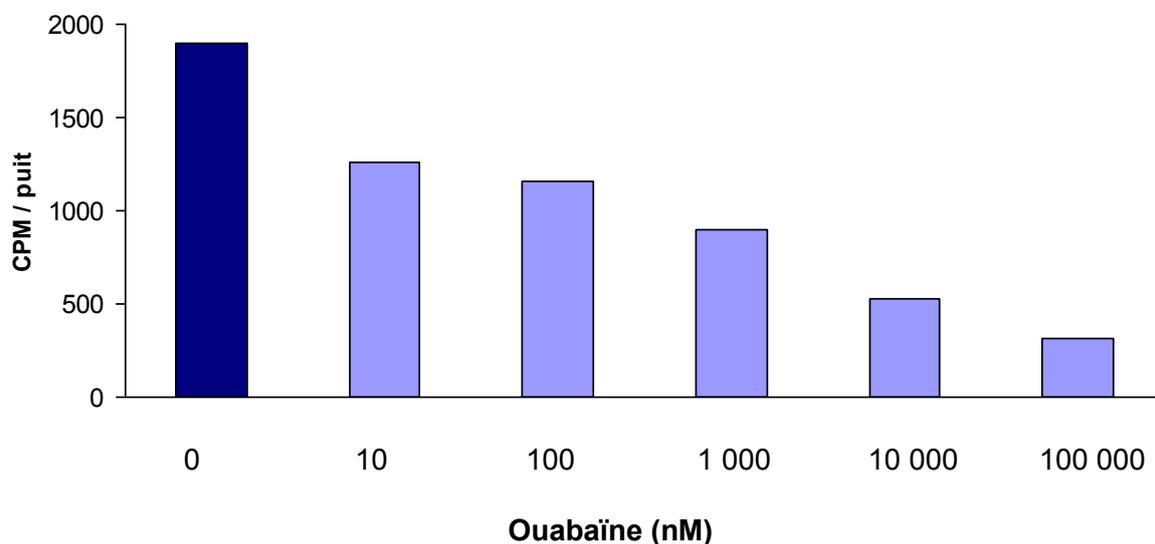
C'est pourquoi, l'hypothèse a été faite que P57AS3 puisse réagir avec un site de liaison des glycosides cardiaques, comme la Na^+ / K^+ ATPase, et que cela pourrait se traduire par une anorexie.

La ouabaïne, hétéroside cardiotonique, est un inhibiteur connu de la pompe Na^+ / K^+ ATPase, l'action de P57AS3 sur cette inhibition par la ouabaïne sera étudiée.

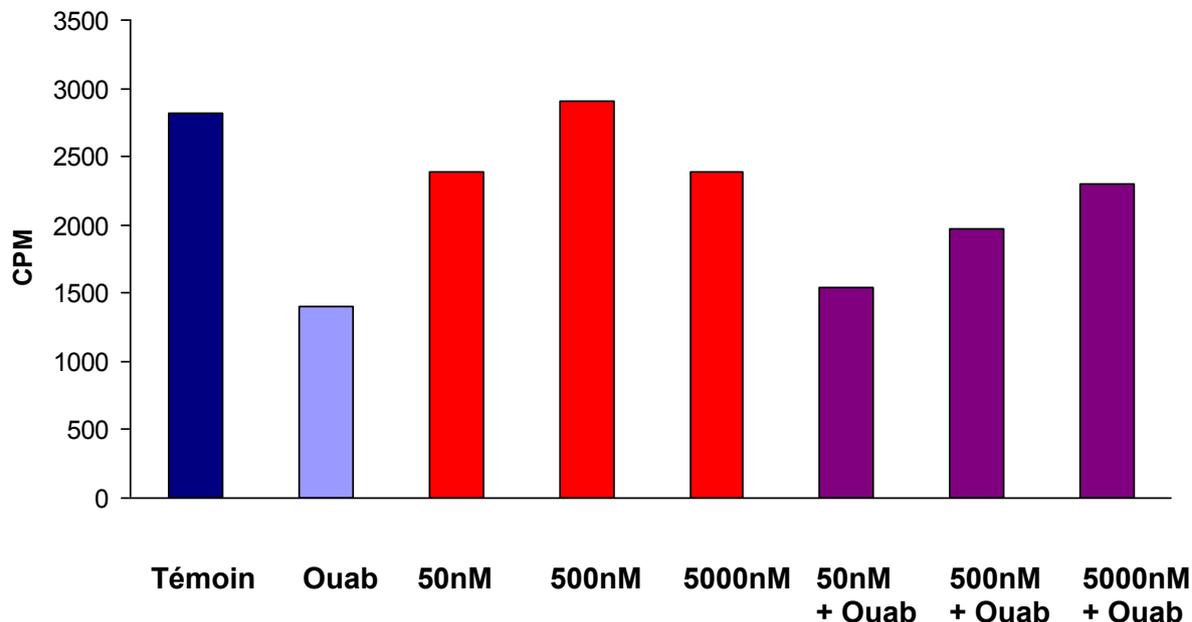
Le flux de potassium à travers les membranes cellulaires peut être mesuré en utilisant un isotope du rubidium (⁸⁶Rb) qui a des propriétés chimiques similaires à celles du potassium et émet une faible radioactivité facilement détectable. Il permet d'évaluer l'activité de la pompe Na^+ / K^+ ATPase, principal indicateur des échanges cellulaires sodium-potassium.

Dans les cultures de cellules hypothalamiques entières, on a montré que P57AS3 a inhibé l'effet de la ouabaïne sur l'absorption du ⁸⁶Rb. La ouabaïne inhibe de façon dose-dépendante l'absorption de ⁸⁶Rb par les cellules hypothalamiques par un effet inhibiteur sur les échanges sodium - potassium médiés par la pompe Na^+ / K^+ ATPase.

Inhibition de l'absorption de ^{86}Rb dans les cultures de neurones hypothalamiques par la Ouabaïne



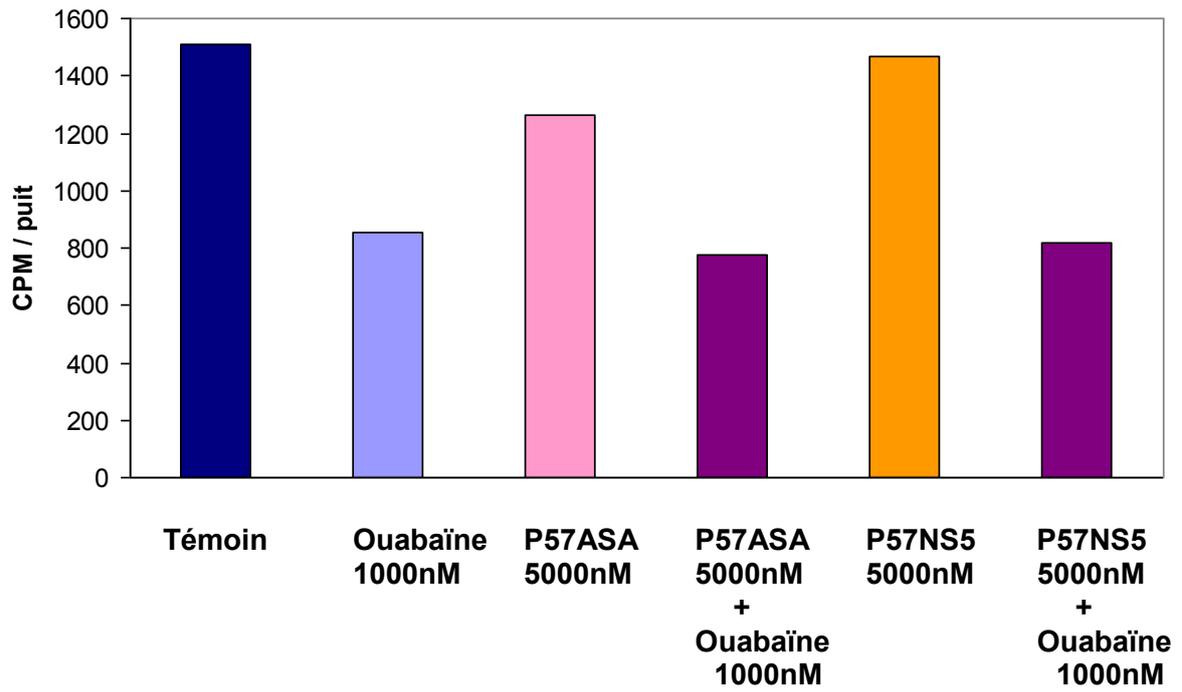
Absorption du ^{86}Rb dans les cultures de neurones hypothalamiques : effet de P57AS3 avec ou sans ouabaïne



X nM = concentration de P57AS3 ; Ouab = ouabaïne 1000 nM

Sur une large gamme de concentrations, P57AS3 seul n'a aucun effet sur l'absorption de ^{86}Rb . Cependant le composé a bloqué l'inhibition de l'absorption qui se produit avec la ouabaïne seule. Cette activité a été observée pour les deux plus fortes concentrations étudiées 500 nM et 5000 nM.

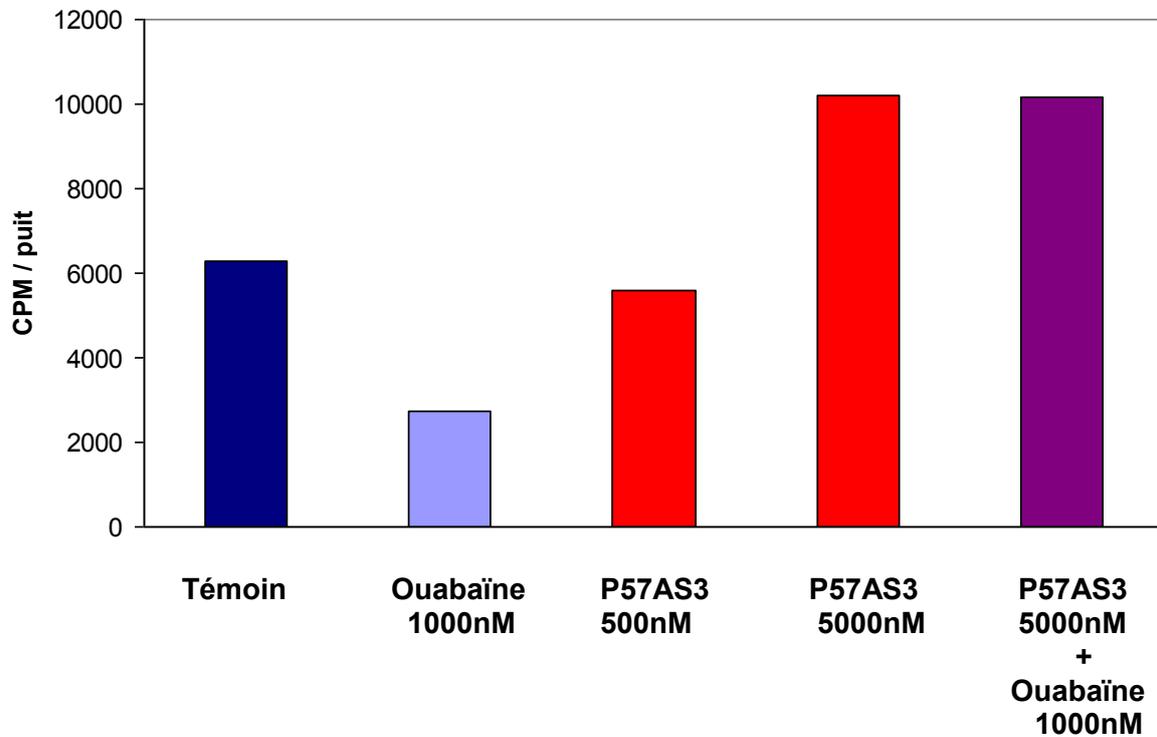
Effet de P57ASA et P57NS5 seul ou avec la ouabaïne



Les composés P57ASA et P57NS5 n'ont aucun effet.

3.2.1.2.3 EFFET DE P57AS3 SUR L'INHIBITION PAR LA OUABAÏNE DE L'ABSORPTION DE ⁸⁶Rb DANS DES PRELEVEMENTS D'HYPOTHALAMUS DE RATS

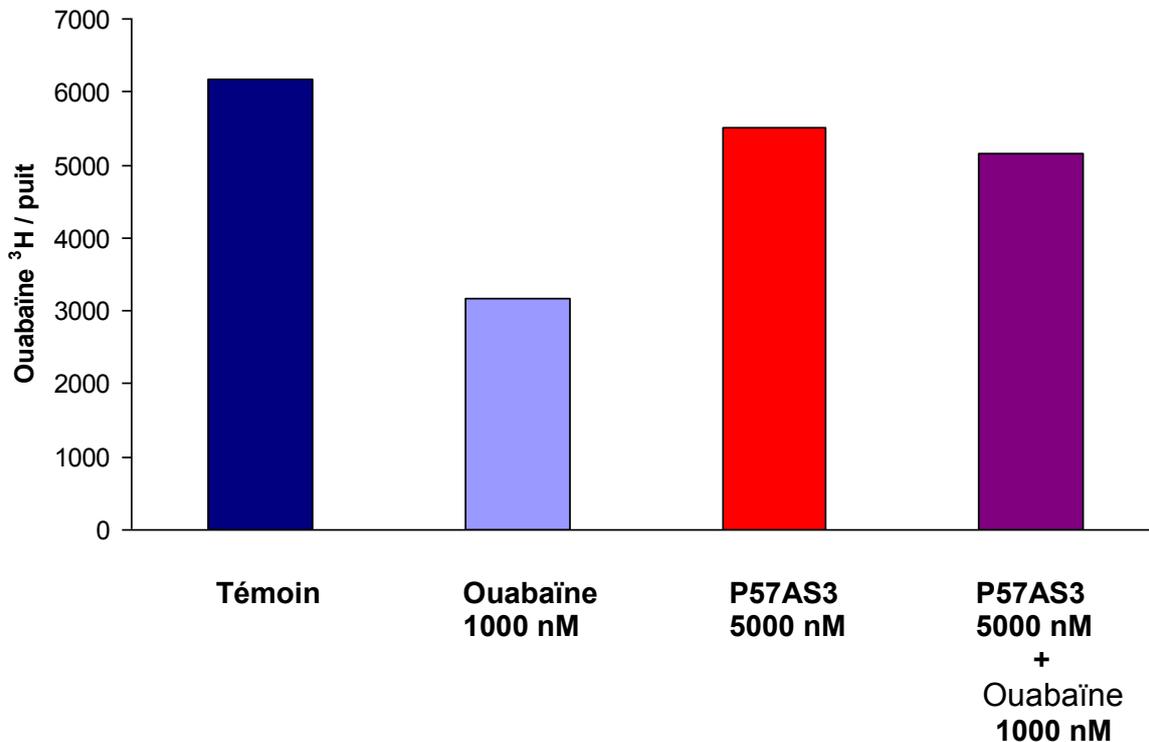
Absorption du ⁸⁶Rb dans des prélèvements d'hypothalamus de rats



Un effet similaire de P57AS3 sur l'absorption de ⁸⁶Rb a été observé sur des prélèvements d'hypothalamus. De la même façon, la ouabaïne inhibe l'absorption cellulaire de ⁸⁶Rb. Comme dans les cultures, P57AS3 a presque entièrement bloqué l'effet inhibiteur de la ouabaïne.

P57AS3 entre-t-il en compétition avec la ouabaïne au niveau du récepteur de la pompe Na^+ / K^+ ATPase ? Afin de confirmer que P57AS3 ne se lie pas au récepteur de la ouabaïne une nouvelle expérience a été réalisée en utilisant un système de cellules entières.

Liaison de la ouabaïne tritiée dans les cultures de neurones hypothalamiques : effet de P57AS3 seul ou avec la ouabaïne



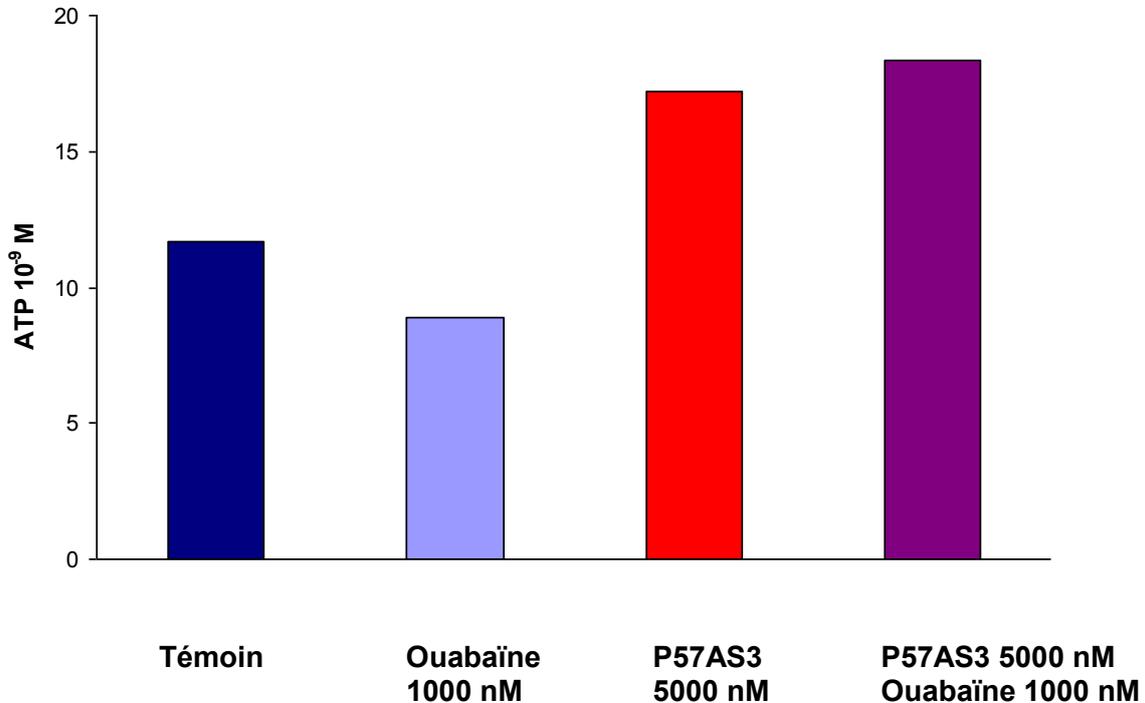
La ouabaïne tritiée se lie aux cellules des cultures de neurones hypothalamiques et est spécifiquement inhibée par les concentrations plus élevées de ouabaïne non tritiée, la ouabaïne non tritiée ajoutée entre en compétition avec la ouabaïne tritiée. Par contre cette liaison n'a pas été affectée en présence de P57AS3. P57AS3 n'agit pas par compétition sur le récepteur de la ouabaïne.

3.2.1.2.4 EFFET DE P57AS3 SUR LE CONTENU EN ATP DES CULTURES DE NEURONES HYPOTHALAMIQUES ET DES PRELEVEMENTS D'HYPOTHALAMUS

Bien qu'il existe plusieurs explications possibles pour le blocage par P57AS3 de l'effet inhibiteur de la ouabaïne sur l'activité supposée de la pompe Na^+ / K^+ ATPase, il a été supposé que cet effet n'était pas lié à l'interférence avec la liaison de la ouabaïne ou à un effet toxique direct du composé. L'activité de la Na^+ / K^+ ATPase est directement dépendante de la disponibilité en ATP, par conséquent, le contenu en ATP de la culture de cellules hypothalamiques a été mesuré après incubation avec les glycosides stéroïdiens isolés de *Hoodia gordonii*.

La ouabaïne seule n'a aucun effet ou a légèrement réduit le contenu en ATP. P57AS3 à 5000 nM, soit seul soit en combinaison avec la ouabaïne, a permis un gain d'ATP jusqu'à deux fois supérieur suite à 30 minutes d'incubation *in vitro*.

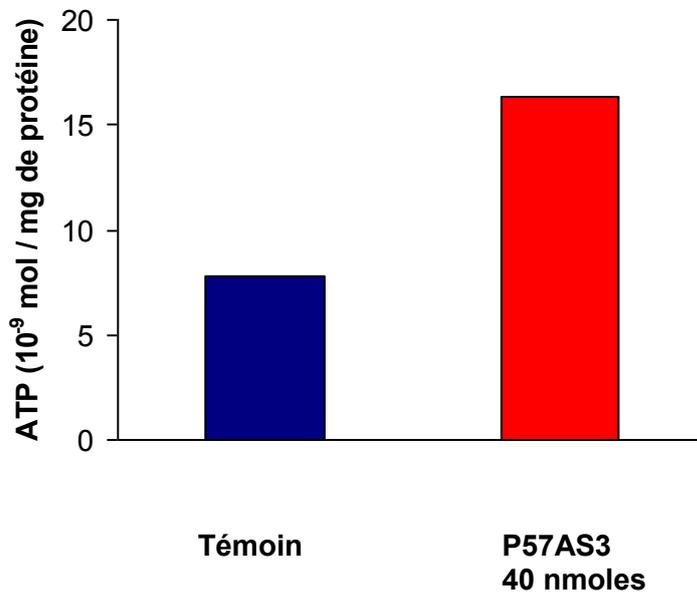
**Contenu en ATP dans les cultures de neurones hypothalamiques :
effet de P57AS3 seul ou avec la ouabaïne**



**3.2.1.2.5 EFFET DE P57AS3 SUR LE CONTENU EN ATP DE
L'HYPOTHALAMUS DE RATS SUIVANT UN REGIME NORMAL
OU HYPOCALORIQUE**

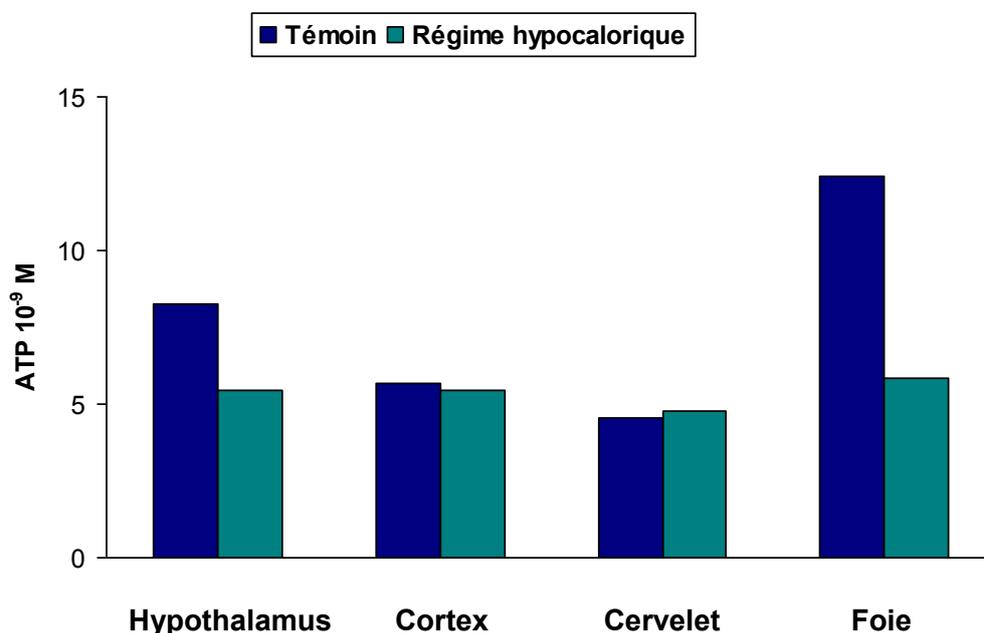
Pour étudier la modification possible du contenu en ATP de l'hypothalamus chez les rats, des expériences ont d'abord été réalisées pour évaluer l'effet de P57AS3 sur le contenu en ATP hypothalamique, et par la suite sur des animaux maintenus à un régime hypocalorique. Deux régimes possibles : apport alimentaire à volonté ou apport limité à 10 g par jour avec dans les deux cas de l'eau à la demande. Les animaux ont été ensuite sacrifiés et les régions du cerveau et du foie ont été échantillonnées pour doser leur contenu en ATP.

Contenu en ATP de l'hypothalamus des rats recevant un apport alimentaire à volonté, effet des injections ICV de P57AS3



Chez les rats recevant un apport alimentaire à volonté, les injections de P57AS3 ont augmenté le contenu hypothalamique en ATP ($P < 0,05$).

Contenu en ATP au niveau de régions du cerveau et du foie des rats : effet de 4 jours de régime hypocalorique



Chez le rat recevant pendant 4 jours un régime hypocalorique, la teneur en ATP au niveau de l'hypothalamus basal a été réduite d'environ 40% ($P < 0,001$).

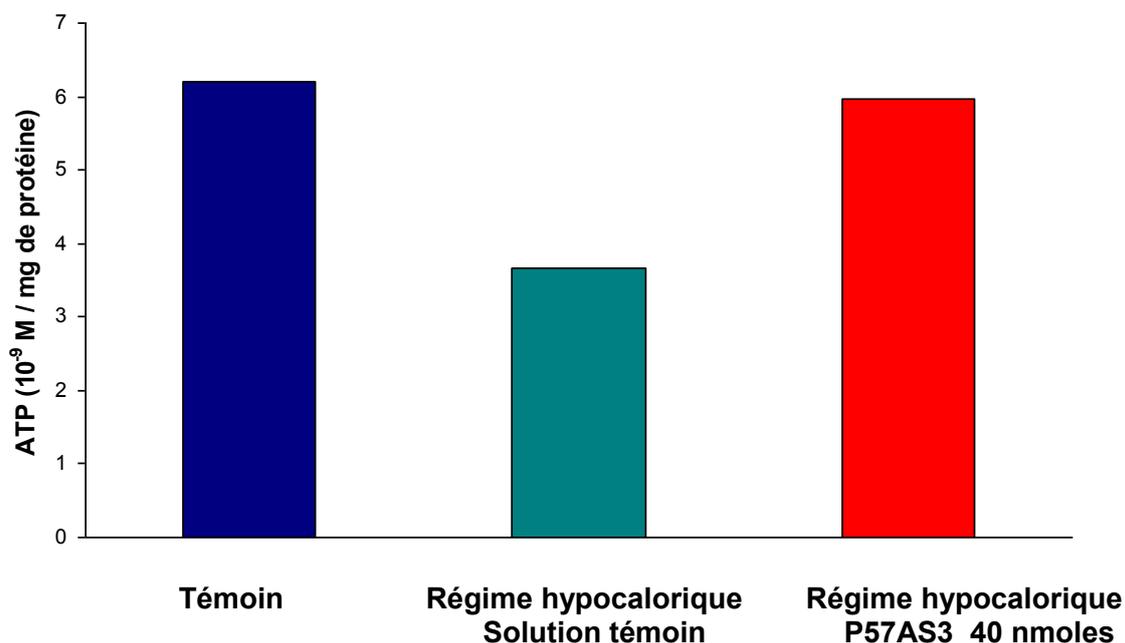
Le contenu en ATP hépatique a été significativement réduit d'environ 60%. Les teneurs en ATP du cortex et du cervelet sont considérées comme inchangées par rapport aux rats nourris à volonté.

Les expériences ultérieures ont pour but de déterminer si P57AS3 bloque la diminution ou encore provoque une augmentation de l'ATP hypothalamique qui a été observée chez les animaux recevant un régime hypocalorique.

Pendant 4 jours, les rats ont reçu soit un régime hypocalorique (5 g par jour), soit un apport de nourriture à volonté.

A la fin de la quatrième journée, une injection intra-cérébro-ventriculaire (ICV) de 40 nmol de P57AS3 ou d'une solution témoin leur a été administrée. Ils ont ensuite été maintenus au régime hypocalorique pendant les 24 heures suivantes. Enfin l'hypothalamus a été prélevé pour en déterminer le contenu en ATP.

Contenu en ATP de l'hypothalamus des rats recevant le régime hypocalorique : effet de l'injection ICV de P57AS3 ou de la solution témoin



Le contenu en ATP de l'hypothalamus a diminué de la même façon qu'après un régime non suivi d'injection chez les rats ayant reçu un régime hypocalorique suivi d'une injection de solution témoin. Par contre ce contenu en ATP est similaire à celui des rats nourris à volonté pour les rats ayant reçu un régime hypocalorique et l'injection de 40 nmoles de P57AS3.

Dans une expérience similaire au cours de laquelle les rats ont été autorisés à se nourrir à volonté suivant l'injection ICV, P57AS3 n'a pas inhibé de manière significative la prise alimentaire chez les rats ayant subi un régime (résultats identiques obtenus après régime avec l'injection de la solution témoin ou sans régime avec l'injection de la solution témoin).

Les quantités moyennes en grammes de prise alimentaire quotidienne sont comparables pour les trois groupes : 21,0 g pour les rats ayant subi un régime hypocalorique suivi d'une injection de P57AS3 (avec un écart type de 4,3) ; 23,0 g pour ceux ayant subi un régime hypocalorique suivi d'une injection de la solution témoin (avec un écart type de 6,9) ; 21,8 g pour ceux n'ayant pas subi de régime avec injection de la solution témoin (écart type de 6,9).

Par contre les animaux n'ayant pas subi de régime ayant reçu l'injection de P57AS3 ont une prise alimentaire moyenne plus faible de 12,4 g par jour (écart type de 3,3).

3.2.1.3 CONCLUSION

Ces études ont conduit à la conclusion clé que P57AS3 augmente la production en ATP dans les neurones hypothalamiques.

Par ailleurs des injections intra-cérébro-ventriculaires de P57AS3 purifié ont démontré que le composé a un probable mécanisme d'action central. Pour autant rien ne permet d'affirmer que P57AS3 se lie ou modifie des récepteurs ou des protéines connues, y compris Na^+ / K^+ ATPase. Toutefois P57AS3 inhibe l'effet de la ouabaine, molécule inhibitrice de cette ATPase.

Les études ont montré que la substance augmente la teneur en ATP de 50-150 % dans les neurones hypothalamiques. En outre, l'administration intra-cérébro-ventriculaire de P57AS3 au niveau du troisième ventricule réduit de 40-60 % l'apport alimentaire des 24 heures qui suivent, et augmente la teneur en ATP dans les prélèvements hypothalamiques 24 heures après l'injection.

Chez les rats nourris avec un régime faible en calories pendant 4 jours, le contenu en ATP dans l'hypothalamus a chuté de 30-50 % ce qui a été bloqué par l'injection ICV de P57AS3.

3.2.2 ACTION DE P57AS3 AU NIVEAU DES RECEPTEURS AMERS HUMAINS - LE NEVE *et al.* (2010)

3.2.2.1 HYPOTHESE

En se basant sur le goût amer des extraits de *H. gordonii*, il a été supposé que les effets présumés de *H. gordonii* pouvaient provenir en partie de l'action de ses glycosides stéroïdiens au niveau de la lumière de l'intestin grêle.

Des preuves scientifiques récentes suggèrent en effet l'existence de mécanismes fonctionnels de détection du goût au niveau de l'intestin qui ressemblent à ceux du neuroépithélium de la langue. Plusieurs récepteurs de la famille T2R, récepteurs du goût amer, ainsi que des composants de la voie de signalisation du goût tels que les α -gustducine⁵, se sont révélés être exprimés dans la lignée des cellules endocrines du pancréas, ainsi que dans la muqueuse gastrique et intestinale des rongeurs, et aussi dans les tissus du côlon de l'homme. Les données de ces études suggèrent que les récepteurs du goût amer exprimés au niveau de l'intestin grêle sont impliqués dans la détection des composants alimentaires.

Par ailleurs, des études *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ont montré que les composés doux et amers, connus pour être à l'origine de la médiation de signaux gustatifs dans la cavité orale, déclenchent la sécrétion d'hormones à partir des cellules endocrines de l'intestin et conduisent à une activation neuronale dans le cerveau.

Cette étude a pour but de démontrer que les glycosides stéroïdes de *Hoodia gordonii* provoquent la sécrétion de cholécystokinine (CCK) *ex vivo* par l'intestin de rat, et *in vitro* par des cultures de cellules endocrines humaines. Cette sécrétion pourrait être médiée par les récepteurs intestinaux amers. Enfin l'activation du récepteur amer et la sécrétion ultérieure d'hormone de la satiété *in vitro* ont été liées à des caractéristiques structurelles essentielles du glycoside stéroïdien.

⁵ Gustducine : sous-unité alpha des protéines G trimériques couplées aux récepteurs heptahélicoïdaux du goût transmettant la sensation d'amertume (récepteurs T2R). La gustducine active la phosphodiesterase 1A entraînant une baisse de l'AMP cyclique des cellules gustatives

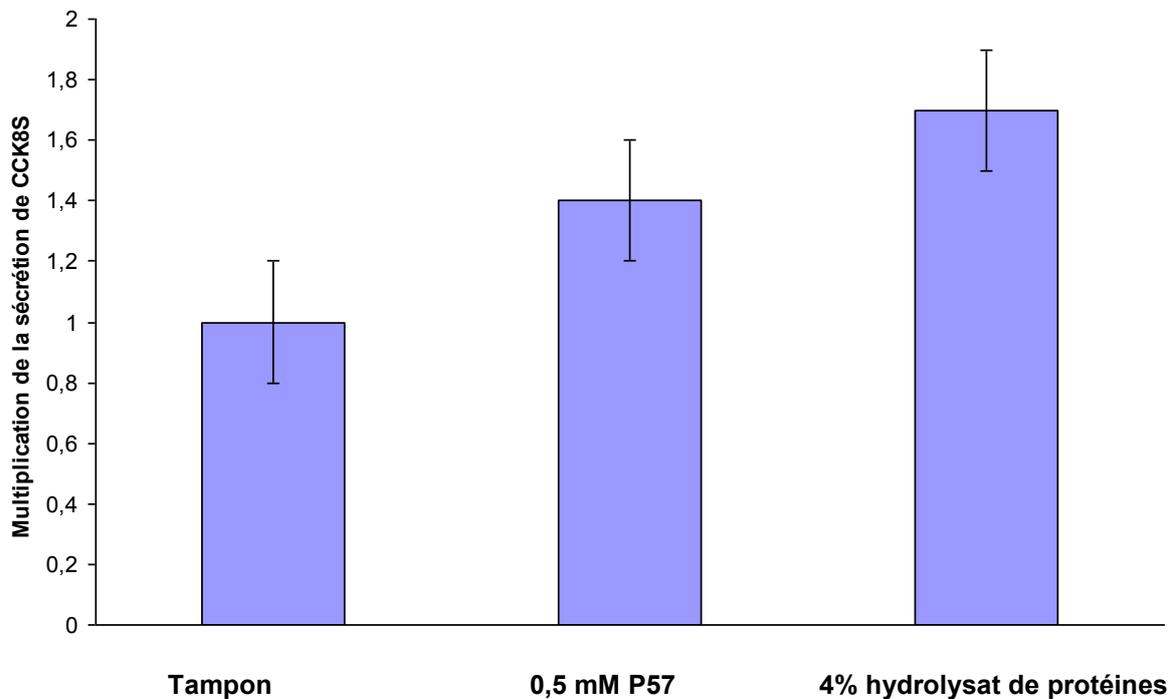
3.2.2.2 EXPERIENCES

Les expériences étudient l'effet d'un glycoside stéroïdien isolé de l'extrait de *Hoodia gordonii* P57AS3 (P57), pur à 92%.

3.2.2.2.1 P57AS3 INDUIT UNE SECRETION SIGNIFICATIVE DE CCK-8S EX VIVO CHEZ LE RAT

Lors de la mise en contact de tissus duodénaux de rat avec 0,5 mM de P57, il a été observé une augmentation importante (multiplication par $1,4 \pm 0,2$) de la sécrétion de CCK-8S ($P < 0,001$). Lors du contrôle positif par un hydrolysat de protéines (4%), la sécrétion de CCK a été multipliée par $1,7 \pm 0,2$ ($P < 0,001$).

Induction de la sécrétion de CCK ex vivo au niveau du duodénum du rat :



3.2.2.2 P57AS3 INDUIT LA SECRETION DE CCK PAR LES CELLULES ENDOCRINES HUMAINES HUTU-80

Les cellules HuTu-80 ont été exposées à des concentrations croissantes de P57AS3 (P57) pendant 2 heures. La médiation de la sécrétion de CCK par P57 a été démontrée par l'augmentation de l'activation du récepteur CCK₁R dans une lignée cellulaire.

L'activation de CCK₁R en présence de P57 a été en moyenne triplée ($P < 0,001$) par rapport au contrôle.

Parallèlement, les effets de P57 après élimination de son groupement tigloyl ont été évalués. La sécrétion de CCK par les cellules HuTu-80 a été alors complètement abolie. De même l'aglycone seule n'a pas été en mesure d'induire de façon significative la sécrétion de l'hormone par les cellules.

L'effet de P57 sur la sécrétion de CCK par les cellules HuTu-80 n'est pas clairement dose dépendant. Les concentrations inférieures à 30 μ M ne provoquent pas de sécrétion, tandis que les concentrations de 60 à 500 μ M montrent des effets similaires sur l'activation des CCK₁R.

L'effet de P57 sur la sécrétion de CCK par les cellules HuTu-80 est spécifique. En effet, d'autres éléments amers (DB, PTC et quinine) n'ont eu aucun effet sur la libération de CCK.

3.2.2.3 P57AS3 ACTIVE SELECTIVEMENT LES RECEPTEURS HUMAINS AMERS TAS2R7 ET TAS2R14

25 récepteurs amers humains TAS2, exprimés de façon hétérologue dans les cellules HEK293, ont été testés. Le suivi de la concentration en Ca²⁺ a révélé que 0,25 mM de P57AS3 activait spécifiquement hTAS2R7 et hTAS2R14, alors que TAS2R38 et TAS2R43 montrent une réponse non spécifique chez les cellules induites, sans mise en évidence d'une dose-dépendance. En revanche, l'augmentation de la concentration en Ca²⁺ chez les cellules exprimant TAS2R7 et TAS2R14 était dose-dépendante à la fois avec P57AS3 et son aglycone pour des concentrations allant de 30 à 250 μ M. L'absence d'un plateau pour une concentration élevée de composé, qui permettrait de calculer une valeur IC₅₀, est due à la faible solubilité de P57 et de son aglycone à des concentrations supérieures à 250 μ M.

3.2.2.2.4 CARACTERISTIQUES STRUCTURELLES DE L'ACTIVATION DE TAS2R7 INDUITE PAR P57AS3 ET DE LA SECRETION DE CCK PAR LES CELLULES ENDOCRINE HUMAINES

Les éléments structurels communs à tous les glycosides stéroïdiens de *Hoodia gordonii* sont le noyau stéroïde, le groupe tigloyl et la chaîne glucidique. Pour comprendre quelles structures sont essentielles à l'activation de TAS2R, l'effet sur TAS2R7 et TAS2R14 par l'aglycone seule (hoodigogénine A), le composé et l'aglycone dépourvus du groupement tigloyl ont été évalués.

Alors que la suppression du groupement tigloyl abolit, dans tous les cas, l'activation des deux récepteurs, l'élimination des résidus glucidiques ne modifie pas significativement cette activation. L'aglycone semble être un meilleur agoniste de TAS2R14 que P57AS3 ($P < 0,001$).

Pour approfondir l'étude du rôle du groupement tigloyl sur l'activation de TAS2R7 et TAS2R14, plusieurs composés contenant cette fonction ont été testés comme géranyl-tigloyl, citronellyl-tigloyl et phénethyl-tigloyl. Ces composés n'activent ni TAS2R7, ni TAS2R14.

Un inhibiteur du récepteur amer a été identifié. La co-incubation de 03A3 (100 μ M) et de P57AS3 (0,25 mM) a provoqué une inhibition significative de la production de Ca^{2+} dans les cellules exprimant TAS2R. Toutefois, 03A3 inhibe tous les récepteurs TAS2R, ce qui suggère qu'il n'est pas spécifique à TAS2R14.

3.2.2.2.5 TAS2R14 EST EXPRIME PAR LES CELLULES HUMAINES HUTU-80 ET PAR LES CELLULES DE L'INTESTIN PROXIMAL (CONTRAIREMENT A TAS2R7)

Des expériences PCR ont permis de détecter la transcription de TAS2R14 dans les cellules HuTu-80, les cellules du duodénum et du jéjunum humain normal. Par contre la présence de transcription pour TAS2R7 n'a pas pu être détectée.

3.2.2.3 DISCUSSION

Cet article montre pour la première fois que le glycoside stéroïdien P57AS3 (P57) isolé de *Hoodia gordonii* provoque *ex vivo* sur des tissus duodénaux de rats ou sur des cellules endocrines humaines une libération de CCK.

Par ailleurs il a été établi que P57 est un agoniste naturel et spécifique des récepteurs amers humains TAS2R7 et TAS2R14, les autres récepteurs amers humains ne sont pas concernés. Il a été démontré que TAS2R14, contrairement à TAS2R7, est exprimé dans la lignée des cellules humaines HuTu-80 ainsi que dans les cellules du duodénum et du jéjunum humain.

Le groupement tigloyl de la molécule stéroïde a été reconnu comme une caractéristique structurale essentielle à la fois pour l'activation du récepteur amer et la sécrétion d'hormones.

L'activation spécifique exclusive de TAS2R7 et TAS2R14 étant démontrée, il a été soutenu, sans preuve concluante, en étudiant l'effet de P57 sur des cellules surexprimant TAS2R14 et des cellules endocrines humaines, que la sécrétion de CCK par les cellules HuTu-80 est véhiculée par TAS2R14. Les expériences tendent à démontrer que le glycoside stéroïdien P57AS3 pourrait, via l'activation du récepteur amer des cellules endocrines, provoquer la libération de CCK-8. CCK-8 a des effets centraux sur la suppression d'appétit, l'activation du récepteur amer au niveau de l'intestin pourrait donc faire partie du mécanisme suppresseur d'appétit.

Les tissus de rats exposés *ex vivo* à P57 ont répondu par une sécrétion de CCK considérablement augmentée. Ce modèle tissulaire prend en compte la morphologie dans laquelle les cellules endocrines sont entourées par les entérocytes et un système nerveux entérique intact. Toutefois de nouvelles études restent nécessaires pour confirmer que P57 provoque une augmentation *in vivo* des concentrations plasmatiques de CCK, ceci pourrait expliquer les effets de *H. gordonii* sur l'apport alimentaire. En outre, un mode d'action médié par l'activation du récepteur amer reste hypothétique.

Il a été montré au cours de précédentes études (WU et al. 2002) que rT2R6, gène orthologue du gène humain codant pour le récepteur TAS2R7 (identique à 70%), est exprimé dans les muqueuses gastriques et duodénales du rat. Par contre pour TAS2R14, aucun orthologue proche n'a encore été découvert chez le rat. Ainsi, la sécrétion de CCK dans le duodénum de rat dépend de l'orthologue TAS2R7, toutefois son activation n'a pas été reconnue semblable à celle du récepteur humain. Il faut s'attendre à quelques différences entre l'activation par les glycosides de *Hoodia gordonii* du récepteur humain et de celui du rongeur : chez les rongeurs seuls les glycosides possédant au moins deux sucres présentaient un effet coupe-faim, par contre dans les systèmes cellulaires humains l'aglycone seule possédait une activité activatrice similaire à l'égard de TAS2R7 et TAS2R14.

En utilisant la lignée cellulaire endocrine humaine HuTu-80, il a été démontré que P57 peut multiplier par deux à trois fois la sécrétion de CCK, mais avec une dose-dépendance inhabituelle. Il est probable que, dans cette lignée cellulaire endocrine qui possède un large éventail de différents récepteurs et voies de signalisation, les effets de P57 soient masqués à faible concentration et qu'un seuil de concentration soit nécessaire pour le couplage stimulus-sécrétion final. Toutefois cette stimulation de la sécrétion de CCK par P57 chez les cellules HuTu-80 est spécifique, car d'autres composés amers comme DB, PTC, et la quinine, même à des concentrations élevées (10 mM) n'ont pas induit la sécrétion de CCK. P57 se distingue donc des autres composés amers par sa capacité à induire une libération de CCK chez les cellules HuTu-80.

La spécificité de structure permettant la liaison à l'origine de la libération de CCK a été démontrée par la suppression du groupe tigloyl qui a aboli la capacité de stimulation de la sécrétion de CCK. Par ailleurs, l'élimination de la chaîne osidique a diminué l'action activatrice de la sécrétion de CCK chez les cellules HuTu alors que cette transformation a accru l'activation de TAS2R14 dans les cellules HEK. Cela semble lié à une faible densité de récepteurs pour les cellules HuTu ainsi qu'à une hydrophobicité beaucoup plus élevée de l'aglycone à l'origine d'une diffusion accrue et de l'élimination par les cellules au cours du temps d'incubation. Ce problème ne pouvait être résolu par une augmentation des concentrations car celles utilisées étaient déjà à la limite de la solubilité.

Le composé 03A3 inhibe TAS2R14 et réduit sensiblement la sécrétion d'hormone en réponse à l'activation de P57. Il n'y a pas de conclusion possible du fait de sa non spécificité au récepteur TAS2R14.

L'acide tiglique seul ainsi que trois autres composés contenant chacun un groupement tigloyl n'ont pas réussi à activer TAS2R7 ou TAS2R14. Cela démontre que la fonction tigloyl en tant que telle n'est pas la seule caractéristique structurale nécessaire pour l'activation TAS2R. Des études de relation structure-activité sont actuellement impossibles en raison d'une disponibilité très limitée de structures apparentées à P57.

P57AS3 privé de sa chaîne osidique présente une sélectivité augmentée pour le récepteur TAS2R14. L'utilisation d'un modèle de simulation de la digestion a récemment permis à MAGDULA (2010) de suggérer que P57 est en partie déglycosylé lors de la digestion gastro-intestinale.

La transcription de TAS2R14 a été identifiée dans les cellules HuTu-80 ainsi que dans des échantillons de tissus de duodénum et jéjunum humains. En revanche la transcription de TAS2R7 n'était pas détectable. Cependant, la répartition cellulaire et subcellulaire détaillée des protéines TAS2R14 dans les tissus intestinaux, combinée aux données de colocalisation des hormones intestinales, est nécessaire avant de pouvoir affirmer la pertinence physiologique de l'activation de TAS2R14.

Pour conclure, cette étude va dans le sens d'un mécanisme coupe faim de l'extrait de *Hoodia gordonii* provenant en partie d'un de ses principaux stéroïdes glycosides P57. Il a été montré que P57 induit la libération de CCK par une culture de cellules endocrines, probablement par l'activation d'un sous type de récepteur amer humain. Le même mécanisme pourrait être impliqué dans la sécrétion de CCK à partir de tissus duodénaux de rat *ex vivo*. La CCK est connue pour induire la satiété chez les rongeurs et chez l'homme. De plus les terminaisons vagales afférentes de la lamina propria sont à proximité immédiate des cellules endocrines, ce qui suggère que la transformation des signaux chimiques en signaux neuronaux pourrait avoir lieu à cet endroit. Combiné avec une interaction directe possible de CCK sécrétée par l'intestin avec le récepteur CCK2 dans le cerveau, l'inhibition supposée de la prise alimentaire associée à la consommation de *H. gordonii* chez le rat et chez l'homme pourrait résulter en partie de cette voie de communication intestin-cerveau.

3.3 PHARMACOCINETIQUE

Comme les compléments alimentaires sont habituellement consommés en même temps que d'autres produits à but thérapeutique, la connaissance de leur stabilité métabolique, leur transport intestinal et les interactions avec les enzymes du métabolisme est requise pour déterminer leur efficacité et leurs interactions possibles avec les médicaments co-administrés. Ces facteurs jouent un rôle important pour caractériser les propriétés d'Absorption, Distribution, Métabolisation et Excrétion (ADME) d'une molécule pharmacologiquement active.

3.3.1 DONNEES PHARMACOCINETIQUES DE P57AS3 - MADGULA et al. (2008)

Stabilité métabolique *in vitro* et transport intestinal de P57AS3 (P57) et interactions avec les enzymes du métabolisme

3.3.1.1 INTRODUCTION

Cette étude a pour but de déterminer la stabilité métabolique de P57 dans les microsomes de foie humain et les interactions avec les enzymes hépatiques (CYP1A2, 2C9, 3A4 et 2D6).

Elle a également permis d'évaluer le transport intestinal de P57 dans le modèle cellulaire de transport et d'absorption intestinale sur culture de cellules Caco-2.

3.3.1.2 ESSAI DE STABILITE METABOLIQUE AU NIVEAU DES MICROSOMES DE FOIE HUMAIN

La stabilité métabolique de la phase I a été déterminée dans les microsomes de foie humain.

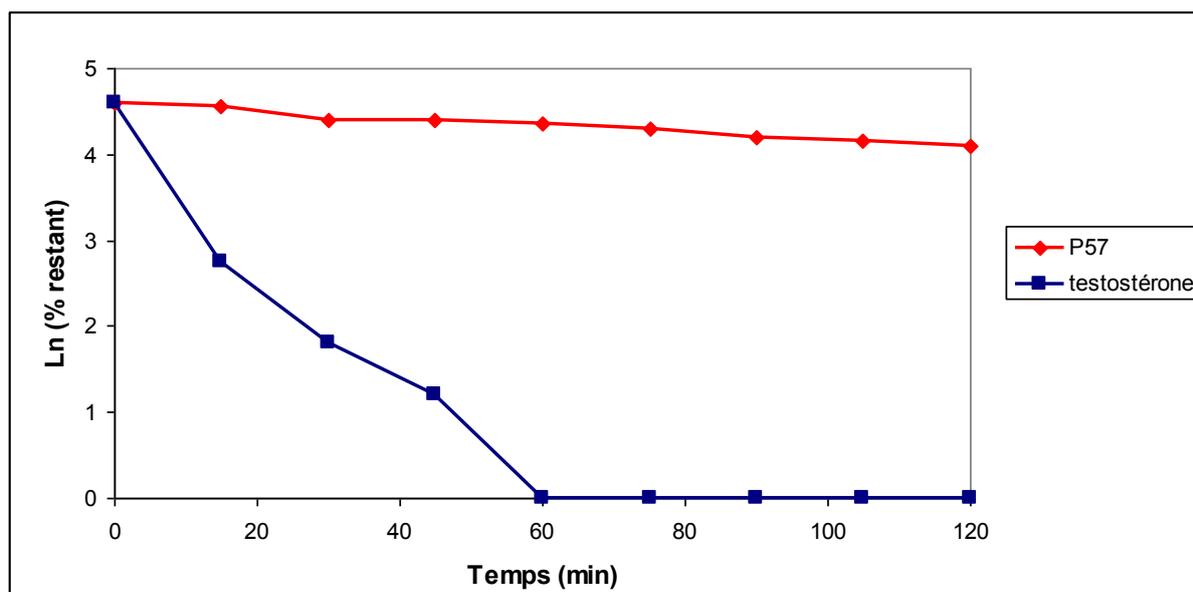
Les réactions de phase I, particulièrement le métabolisme oxydatif réalisé par les cytochromes P450, sont principalement impliquées dans la déplétion métabolique du médicament.

La prédiction de la clairance du sang humain peut être faite à partir des données de clairance intrinsèque *in vitro* du médicament.

La détermination de demi-vie microsomale *in vitro* est l'approche la plus simple pour mesurer la clairance intrinsèque. Dans cette méthode, le médicament test est incubé avec des microsomes de foie en présence de cofacteurs et le taux de consommation de premier ordre du médicament est mesuré.

Lors d'une expérience où P57 (10 μ M) a été incubé avec les microsomes de foie pour une période de deux heures, en étudiant le taux de clairance, une demi-vie ne pouvait être calculée parce que plus de 50% du médicament restait alors que la testostérone, médicament standard, montrait une demi-vie de $9,6 \pm 1,2$ minutes et une clairance intrinsèque de $194 \pm 8,7$ mL/min/kg.

Comparaison de la déplétion de P57 et de la testostérone au niveau des microsomes hépatiques en fonction du temps



Comme montre le graphique ci-dessus, la testostérone a disparu rapidement et a montré une déplétion métabolique extensive à 30 min (soit plus de 90% de déplétion), alors que 84% de la molécule P57 sont restés inchangés après 30 minutes d'incubation.

A deux heures, 58% sont restés inchangés, ce qui indique une haute stabilité du composé dans les microsomes de foie humain.

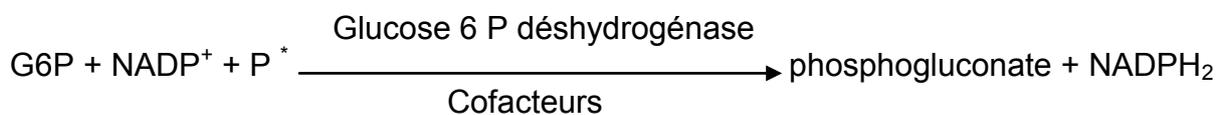
3.3.1.3 ESSAI D'INHIBITION DES CYTOCHROMES P450 (1A2, 2C9, 3A4 ET 2D6)

Méthode

Même si tous les isoenzymes de la famille du cytochrome 450 (CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 et 3C5) sont impliqués dans le métabolisme, les CYP 1A2, 2C9, 3A4 et 2D6 jouent un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques.

L'inhibition de ces isoenzymes par P57AS3 a été évaluée et comparée à celles d'inhibiteurs connus.

La fluorescence a été mesurée pour différentes concentrations d'inhibiteurs lors de la réaction suivante :



Cette mesure est proportionnelle au pourcentage d'inhibition sur le CYP.

Résultats

Les résultats montrent que P57 inhibe l'activité catalytique du CYP3A4 de manière dose dépendante mais l'effet n'est pas très important ($\text{IC}_{50} = 45 \mu\text{M}$).

L'activité des autres isoenzymes (1A2, 2C9, 2D6) n'est pas plus affectée pour la plus haute concentration testée (100 μM).

Kétoconazole, furafylline, sulfaphenazole et quinidine (inhibiteurs connus des CYP 3A4, 1A2, 2C9 et 2D6 respectivement) ont pour IC_{50} : 0,08 / 2 / 0.2 / 0.012 μM respectivement.

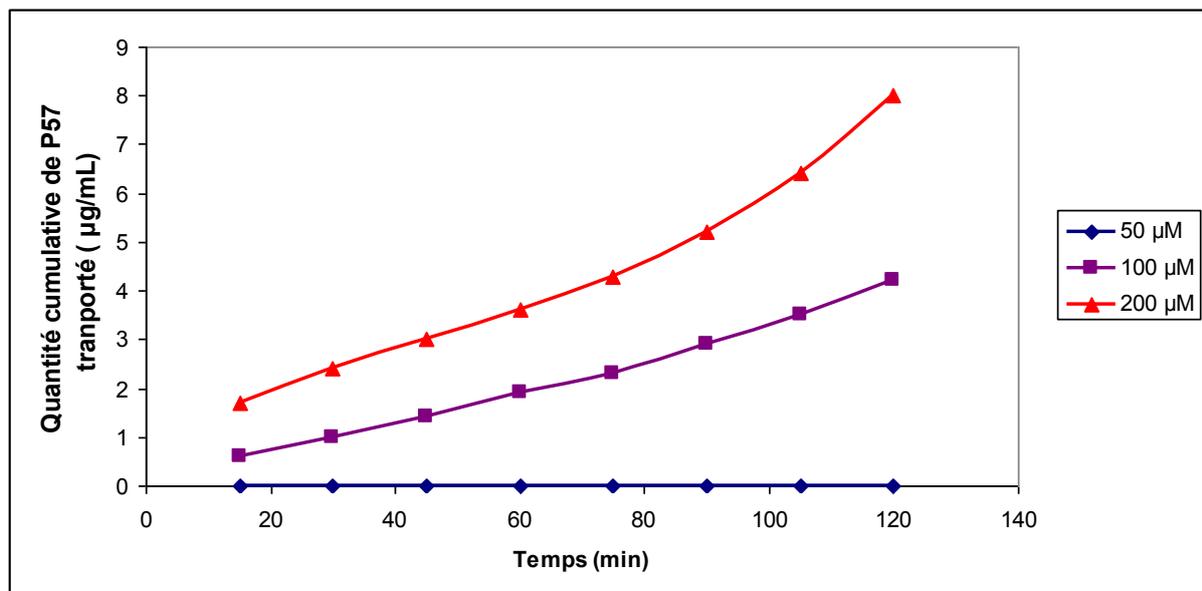
3.3.1.4 EVALUATION DU TRANSPORT INTESTINAL

La présence ou l'absence d'un métabolisme de premier passage intestinal est d'une grande importance pour déterminer la biodisponibilité orale de chacun des candidats médicaments.

Pour prédire la biodisponibilité de P57AS3, on a examiné son transport *in vitro* et sa perméabilité dans le modèle cellulaire d'absorption intestinale sur cellules Caco-2.

Le transport de P57AS3 à 50, 100 et 200 μM , à travers les monocouches de cellules Caco-2 a été suivi pendant 2 heures, dans les directions d'absorption (A vers B) et de sécrétion (B vers A). La quantité cumulative de P57AS3 transportée à travers les monocouches cellulaires Caco-2, en fonction du temps, est montrée ci dessous.

Direction de A vers B (absorption)



La perméabilité apparente a été calculée à partir de l'équation suivante :

$$P_{\text{app}} = (dq/dt) \times (1/C_0) \times (1/A)$$

Où dq/dt est le taux de transport

C_0 est la concentration initiale dans le compartiment donneur

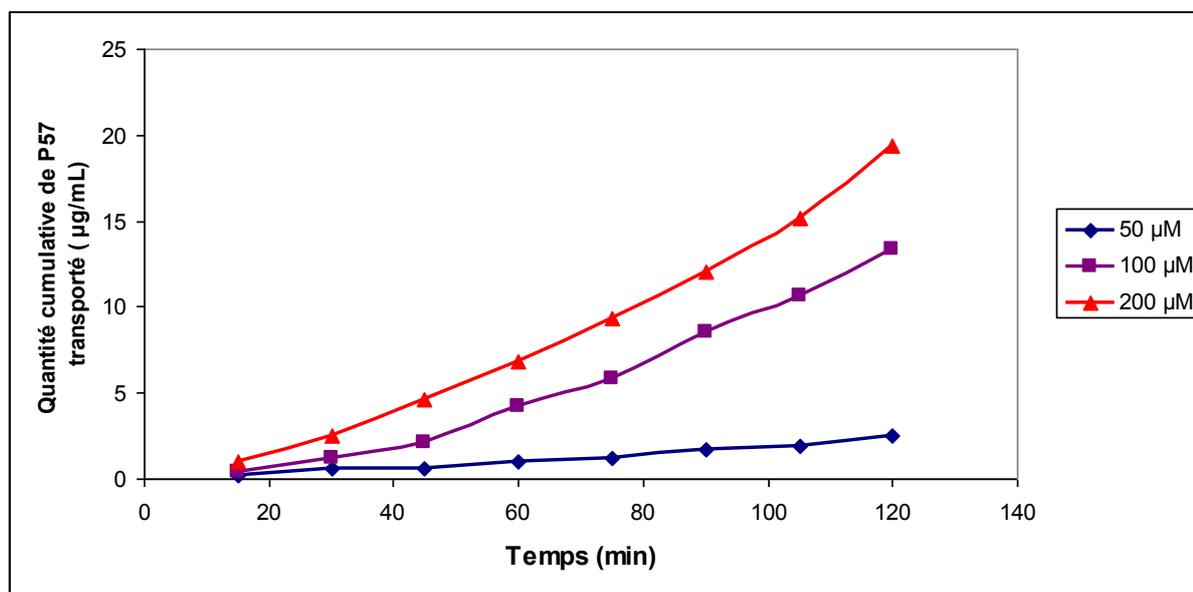
A est la surface du filtre

La quantité cumulative de P57AS3 a été tracée en fonction du temps pour obtenir le taux de transport qui correspond à la pente de cette droite.

Dans la direction d'absorption, P57AS3 a montré des valeurs de P_{app} de $2,7 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ (100 μM) et $3,4 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ (200 μM) et le pourcentage de transport était de 1,7 à 1,9 %.

Aucun transport mesurable n'a été vu à 50 μM dans la direction de l'absorption.

Direction de B vers A (sécrétion)



Dans la direction de la sécrétion, le transport était beaucoup plus élevé (6,7-18,7%) que dans la direction de l'absorption, avec une valeur de P_{app} de $4,1 \cdot 10^{-6}$ cm/s (50µM), $8,4 \cdot 10^{-6}$ cm/s (100µM) et $13,0 \cdot 10^{-6}$ cm/s (200µM).

Une perméabilité considérablement supérieure dans la direction de la sécrétion par rapport à la direction de l'absorption a indiqué un efflux significatif de P57AS3, qui était concentration-dépendant. Des ratios d'efflux de 3,1 et 3,8 ont été obtenus respectivement à 100 µM et 200 µM.

NB ratio d'efflux = $P_{app} B-A / P_{app} A-B$

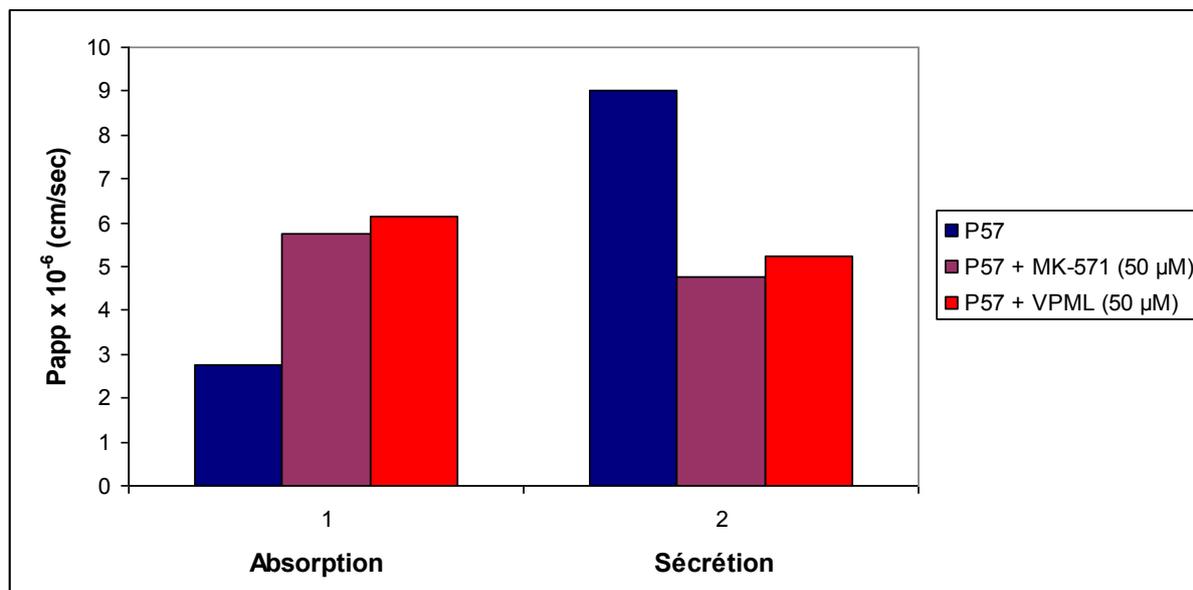
Les cellules Caco-2 expriment au moins trois protéines majeures d'efflux de la famille des protéines de transport ABC (=ATP Binding Cassette) : P-gp, MRP1 et MRP2. Leur transport est unidirectionnel et utilise l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. Les monocouches de cellules Caco-2 expriment P-gp, MRP1 et MRP2 sur le côté apical et MRP2 sur le côté basolatéral.

A la plus faible concentration de P57AS3 (50 µM), le médicament a été efflué en totalité, alors qu'aux concentrations plus élevées (100 et 200 µM) un transport concentration-dépendant dans la direction de l'absorption a été observé, ce qui pourrait être lié à une possible saturation des protéines P-gp, MRP ou autres transporteurs inconnus.

Selon la FDA, n'importe quel composé montrant un ratio d'efflux égal ou supérieur à 2 est considéré comme un substrat ou un inhibiteur de la P-gp.

Le vérapamil, inhibiteur connu de la P-gp et MK571, inhibiteur des protéines MRP1 et MRP2, ont été utilisés dans l'étude pour vérifier si ces transporteurs étaient impliqués dans l'efflux de P57AS3.

Perméabilité de P57AS3 en présence ou non de MK-571 ou vérapamil (50 μ M)



En présence de MK571, la perméabilité de P57AS3 (100 μ M) dans la direction de l'absorption, a augmenté de $2,7 \cdot 10^{-6}$ cm/s à $5,3 \cdot 10^{-6}$ cm/s, alors qu'en présence du vérapamil cette perméabilité a augmenté jusqu'à $5,71 \cdot 10^{-6}$ cm/s.

Dans la direction de la sécrétion, la perméabilité de P57 en présence de MK571, a chuté de $8,4 \cdot 10^{-6}$ cm/s à $4,5 \cdot 10^{-6}$ cm/s, alors qu'en présence de vérapamil elle a chuté à $4,8 \cdot 10^{-6}$ cm/sec.

Il est connu que les substrats de la P-gp inhibent les transports des médicaments médiés par la P-gp.

Cela améliore l'efficacité des traitements et modifie le profil pharmacocinétique de nombreux médicaments.

Il a été intéressant d'observer qu'en l'absence de vérapamil, inhibiteur de la P-gp, la perméabilité de P57AS3 dans le sens de l'absorption était beaucoup plus faible que dans le sens de la sécrétion ($2,7$ vs $8,4 \cdot 10^{-6}$ cm/s), alors qu'en présence de vérapamil (50 μ M) la perméabilité dans le sens de l'absorption est légèrement supérieure ($5,7$ vs $4,8 \cdot 10^{-6}$ cm/sec) à la perméabilité dans le sens de la sécrétion. Ceci indique un blocage total des pompes d'efflux.

Le ratio d'efflux (3,1) pour 100 μ M de P57AS3 a été diminué à 0,7 et 0,8 respectivement par 50 μ M d'inhibiteur de MRP et par l'inhibiteur de la P-gp.

Ceci indique une contribution équivalente des P-gp et MRP dans le transport d'efflux de P57AS3.

3.3.1.5 CONCLUSION

P57AS3 est métaboliquement stable en présence de microsomes de foie humain.

Le composé a inhibé l'activité du CYP3A4 avec un IC50 d'une valeur de 45 µM (inhibition faible), alors que l'activité des cytochromes P450 CYP 1A2, 2C9 et 2D6 n'a pas été inhibée.

Dans le modèle Caco-2, P57AS3 a montré un transport plus important dans la direction de la sécrétion que dans la direction de l'absorption avec un ratio d'efflux de 3,1 à 3,8 pour des concentrations en P57AS3 de 100 à 200 µM respectivement.

L'efflux a été inhibé par des inhibiteurs sélectifs des protéines associées MRP1/MRP2 (MK-571) et P-gp (vérapamil). Le transport intestinal de P57AS3 est médié par la P-gp et les transporteurs MRP.

3.3.2 DONNEES PHARMACOCINETIQUES DE LA HOODIGOGENINE A ET DE HOODIA GORDONII - MADGULA et al. (2010)

Propriétés pharmacocinétiques *in vitro* de la hoodigogénine A de *Hoodia gordonii*

3.3.2.1 INTRODUCTION

Dans la présente étude, la stabilité gastrique et intestinale de P57AS3 a été déterminée en reproduisant les conditions du milieu gastrique Simulated Gastric Fluid = SGF (pH 1,2) et du milieu intestinal Simulated Intestinal Fluid = SIF (pH 6,8).

In vitro, les propriétés pharmaco-cinétiques de l'hoodigogénine A (qui est l'aglycone de P57AS3) ont été aussi étudiées.

Les perméabilités de la barrière intestinale et de la barrière hémato-encéphalique ont été étudiées respectivement dans les modèles cellulaires Caco-2 (human colonic adenocarcinoma) et MDR1-MDCK (cellules MDCK transfectées par un rétrovirus portant le gène P-gp humain MDR1).

Les phases I et II de stabilité métabolique, ont été déterminées respectivement dans les microsomes de foie humain et les fractions S9 (cofacteur de glucuronoconjugaison). Les interactions avec les cytochromes CYP1A2, 2C9, 3A4 et 2D6 ont été déterminées en utilisant de l'ADN recombinant d'enzymes surexprimées.

La liaison de l'hoodigogénine A aux protéines de plasma humain a été déterminée par dialyse à l'équilibre.

3.3.2.2 EXPERIENCES

3.3.2.2.1 STABILITE GASTRIQUE ET INTESTINALE DE P57AS3 ET DE SON AGLYCON

La stabilité gastrique et intestinale d'une molécule indique si la non absorption de celle-ci dans le tractus intestinal provient de la perméation intestinale ou d'un processus de dégradation dans les fluides gastro-intestinaux avant l'absorption à travers la membrane. La quantité de composé dégradé dans les fluides gastro-intestinaux, joue un rôle pivot pour évaluer la perméation de la membrane intestinale.

Le profil de dégradation indique que la perte en principe actif à partir du tractus gastro-intestinal est due à la perméation de membrane plutôt qu'à un procédé de dégradation de la drogue.

La stabilité dans le tractus gastro-intestinal peut être évaluée en incubant la molécule dans les fluides gastriques et intestinaux représentatifs de l'exposition de la drogue *in vivo* à ces fluides, par exemple, 1h dans SGF et 3h dans SIF.

3.3.2.2 STABILITE DE P57AS3 ET DE L'HOODIGOGENINE A DANS SGF (PH 1,2)

Temps d'incubation (min)	P57AS3 (µg / mL)	Hoodigogénine A formée (µg / mL)	% de P57AS3 dégradé	Hoodigogénine A (µg / mL)	% de Hoodigogénine A dégradée
0	10,0 +/- 0,4	0	0	9,7 +/- 0,8	0
15	7,5 +/- 0,6	3,0 +/- 0,2	25	9,6 +/- 0,6	1
30	5,5 +/- 0,1	3,3 +/- 0,2	45	9,5 +/- 0,7	2
60	0	3,7 +/- 0,2	100	9,5 +/- 0,6	2

3.3.2.2.3 STABILITE DE P57AS3 ET DE L'HOODIGOGENINE A DANS LE SIF (PH 6,8)

Temps d'incubation (min)	P57 (µg / mL)	% de P57 dégradé	Hoodigogénine A (µg / mL)	% de Hoodigogénine A dégradée
0	9,3 +/- 0,6	0	9,8 +/- 0,8	0
60	9,0 +/- 0,5	3,2	9,7 +/- 0,6	1
120	9,0 +/- 0,6	3,2	9,7 +/- 0,7	1
180	8,5 +/- 0,7	8,6	9,7 +/- 0,6	1

P57AS3 a été incubé dans SGF pendant 60 minutes. Il a été observé en fonction du temps une disparition du composé ainsi qu'une apparition concomitante de hoodigogénine A, ceci indique que toute la perte de glycoside P57 peut se produire avant la perméation de membrane.

Par ailleurs, quand l'hoodigogénine A a été incubée dans SGF, elle a été hautement stable (2% de dégradation).

Dans le SIF, le glycoside P57AS3 a été dégradé jusqu'à un niveau de 8,6% mais la formation de hoodigogénine A n'a pas été observée. En même temps, l'aglycone a été stable pendant 180 minutes (1% de dégradation). Une molécule montrant une dégradation d'au moins 5% lors de ces expériences est considérée comme potentiellement instable.

La dégradation de P57AS3 dans les fluides intestinaux et gastriques reconstitués, indique son instabilité dans les fluides biologiques.

3.3.2.2.4 PERMEABILITE VIS-A-VIS DE LA BARRIERE INTESTINALE

Perméabilité et ratio d'efflux de l'hoodigogénine A à travers les monocouches des cellules Caco-2

Composé et concentration	$P_{app} \times 10^{-6}$	cm/s	Ratio d'efflux
	A-B	B-A	
Hoodigogénine A 50 μ M	32,7 +/- 3,1	30,7 +/- 4,16	0,9
100 μ M	33,1 +/- 4,7	30,0 +/- 4,3	0,9
200 μ M	33,8 +/- 4,6	30,1 +/- 3,5	0,9
Propranolol 200 μ M	34,5 +/- 2,1	32,1 +/- 2,2	0,9
Atenolol 200 μ M	1,8 +/- 0,1	1,9 +/- 0,2	1

Direction de l'absorption : A-B

Direction de la sécrétion : B-A

Un transport bidirectionnel de hoodigogénine A a été observé à travers les monocouches Caco-2.

Les molécules tests doivent être de haute solubilité, on choisit deux perméabilités différentes pour établir une comparaison.

Le propranolol a été choisi pour sa haute solubilité et sa haute perméabilité.

L'atenolol a été choisi pour sa haute solubilité et sa faible perméabilité.

Les valeurs P_{app} de l'hoodigogénine A sont semblables à celles du propranolol. Les résultats de cette étude indiquent que l'hoodigogénine A est une molécule à haute perméabilité et son transport à travers la monocouche Caco-2 a été substantiel et linéaire pendant la durée de l'expérience.

3.3.2.2.5 PERMEABILITE VIS-A-VIS DE LA BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE

Perméabilité et ratio d'efflux de l'hoodigogénine A à travers les monocouches cellulaires MDR1- MDCK

Composé et concentration	$P_{app} \times 10^{-6}$	cm/sec	Ratio d'efflux
	A-B	B-A	
Hoodigogénine A 50 μ M	22,3 +/- 2,6	22,2+/-2,6	1
100 μ M	22,7 +/- 3,0	22,6+/-2,8	1
200 μ M	22,4 +/- 2,4	22,2+/-2,8	1
Caféine 5 μ M	19,6 +/- 2,7	19,9+/-3,7	1
Atenolol 200 μ M	0,2 +/- 0,002	0,5+/-0,001	1,9

Direction de l'absorption : A-B

Direction de la sécrétion : B-A

Un transport bidirectionnel de l'hoodigogénine A est également observé dans le modèle cellulaire MDR1- MDCK

La caféine a été utilisée comme molécule témoin passant la BHE, avec un transport par diffusion passive. Elle montre une haute perméabilité et un transport bidirectionnel.

L'aténolol a été utilisé comme molécule témoin ne passant pas la BHE.

Les valeurs P_{app} de l'hoodigogénine A sont semblables à celles de la caféine transportée passivement ce qui indique que l'hoodigogénine A peut pénétrer la barrière hémato-encéphalique efficacement.

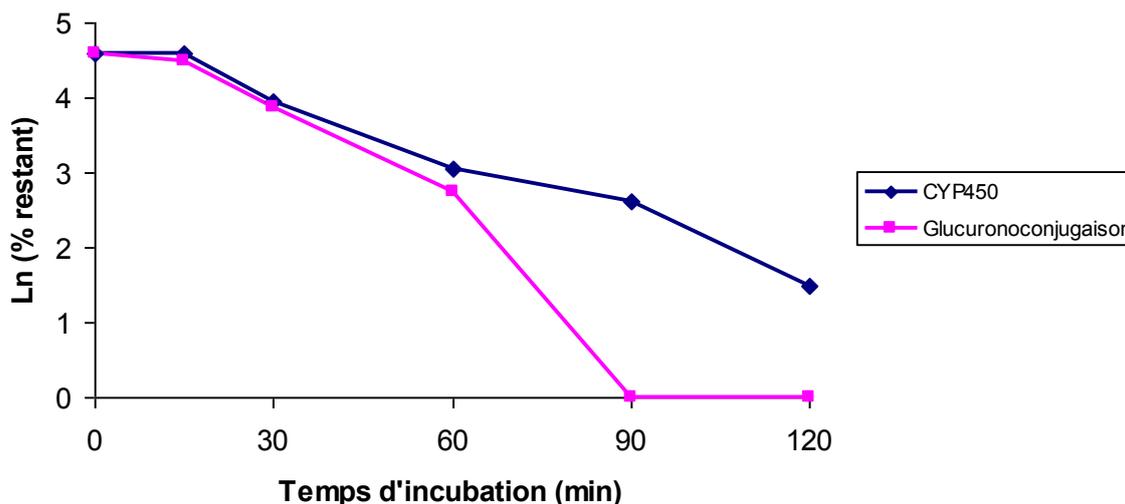
Les données indiquaient que le composé était lipophile. On sait aussi que la plupart des molécules ayant un poids moléculaire inférieur à 500 et une haute lipophilie suivent de façon prédominante un système de transport par diffusion passive.

La quantité cumulée transportée à travers la monocouche a augmenté linéairement avec le temps, ce qui indique une diffusion passive pour l'hoodigogénine A. L'intégrité de la monocouche a été maintenue à la concentration la plus élevée d'hoodigogénine A (200 μ M).

3.3.2.2.6 STABILITE METABOLIQUE - REACTIONS DE PHASE I (CYP 450) ET DE PHASE II (GLUCURONOCONJUGAISON, SULFATATION)

La sulfatation prédomine aux faibles concentrations alors que la glucuroconjugaison prédomine pour les doses élevées.

Déplétion métabolique temps-dépendante de l'hoodigogénine A en présence de microsomes de foie humain et de fractions S9



La déplétion métabolique de l'hoodigogénine A en présence de cofacteurs de l'oxydation (microsomes de foie humain) et de la glucuroconjugaison (fraction S9) pourrait s'expliquer en partie par la présence d'un groupement "hydroxy" libre en position 3 β sur l'hoodigogénine A qui le rend encore plus sensible aux réactions de phase II.

L'étude a également démontré que l'hoodigogénine A a été efficacement métabolisée par les réactions à la fois de phase I et II, la glucuroconjugaison étant plus efficace que l'oxydation.

La prédiction de la clairance sanguine peut être faite à partir des données de la clairance intrinsèque *in vitro* d'une drogue. La détermination de la demi-vie microsomale *in vitro* est l'approche la plus simple pour prédire la clairance intrinsèque. Lors de l'incubation avec les microsomes de foie humain, l'hoodigogénine A a montré une demi-vie ($T_{1/2}$) de 26,4 \pm 2,4 minutes avec une clairance intrinsèque (Cl_{int}) de 70,74 \pm 8,7 mL/min/kg. Dans la fraction S9, $T_{1/2}$ = 15,5 \pm 1,2 minutes et Cl_{int} = 120 \pm 9 mL/min/kg.

La capacité de l'hoodigogénine A à inhiber les activités majeures des cytochromes a été évaluée. L'hoodigogénine A a inhibé l'activité catalytique du CYP3A4 de façon dose-dépendante avec un IC_{50} de 3 μ M. Cependant, l'effet inhibiteur était bien inférieur à celui du kétoconazole (IC_{50} = 0,05 μ M), inhibiteur de CYP450. Les activités des CYP 1A2 et 2C9 ont été inhibées de façon modérée avec des IC_{50} de 50 et 40 μ M respectivement, bien supérieures à celles de la furafylline (2 μ M) et du sulfaphénazole (0,20 μ M), inhibiteurs des CYP1A2 et CYP2C9 respectivement. Il n'y a pas eu d'inhibition du CYP2D6.

3.3.2.2.7 LIAISON AUX PROTEINES PLASMATIQUES

La liaison aux protéines plasmatiques est particulièrement importante car seules les molécules non liées montrent une activité pharmacologique, ainsi, la disponibilité de la molécule est souvent altérée par la liaison aux protéines.

Parmi les différentes méthodes employées pour la détermination de la liaison spécifique, la dialyse à l'équilibre donne des mesures plus précises et reproductibles de la liaison aux protéines.

Dans la présente étude, l'hoodigogénine A a montré une forte liaison aux protéines plasmatiques humaines à de faibles concentrations (5 µg/mL), alors qu'à de plus fortes concentrations (15 et 30 µg/mL) la drogue libre est disponible (4,85 - 7,77%).

3.3.2.3 CONCLUSION

La présente étude démontre que le glycoside P57AS3 est hautement instable dans les fluides biologiques SGF et SIF et son produit d'hydrolyse majeur est l'hoodigogénine A.

Un transport bidirectionnel symétrique indique que l'hoodigogénine A est absorbée par diffusion passive à travers les modèles cellulaires monocouches Caco-2 et MDR1-MDCK.

Malgré sa haute perméabilité intestinale, le métabolisme extensif, dans les microsomes de foie humain additionnés de la fraction S9, pourrait limiter la biodisponibilité orale de l'hoodigogénine A à cause de sa haute clairance intrinsèque et de son exposition réduite dans le système *in vivo*.

L'inhibition *in vitro* des enzymes du CYP3A4 par l'hoodigogénine A pourrait poser le risque d'une interaction potentielle avec d'autres molécules métabolisées par le CYP3A4 et conduire à une efficacité altérée ou une toxicité du composé.

L'importance de la liaison aux protéines de l'hoodigogénine A peut conduire à une concentration plasmatique faible de drogue libre et à la nécessité de doses supérieures pour atteindre la concentration thérapeutique *in vivo*.

4 TOXICITE

Tests de génotoxicité d'un extrait de *Hoodia gordonii* (SCOTT *et al.*)

4.1 INTRODUCTION

La génotoxicité de l'extrait de *Hoodia gordonii* a été évaluée dans deux essais in vitro : un test de mutation bactérienne et un test de mutation génétique utilisant des cellules de lymphome de souris.

D'autre part, l'activité mutagène de *Hoodia gordonii* a été évaluée sur la moelle osseuse du micronucleus de la souris.

Cette étude respecte donc, la norme des trois tests standards recommandés par la FDA pour les produits alimentaires.

4.2 EXPERIENCES

4.2.1 TEST DE MUTATION BACTERIENNE

Le test a été mené selon les procédures standard établies par Ames. Cinq souches de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537) ont été utilisées. Le test de mutation bactérienne pour des concentrations en *Hoodia gordonii* allant jusqu'à 1000 µg / plaque (limite de solubilité) a été réalisé selon deux méthodes.

Une méthode par incorporation directe dans laquelle la solution de *Hoodia gordonii*, ou le solvant seul, ou un contrôle positif (agent mutagène), est ajouté à la gélose et une suspension bactérienne avec ou sans activateur métabolique S9. Après centrifugation, le mélange est dans ce cas directement versé sur une plaque de gélose.

Une méthode de pré-incubation dans laquelle les plaques sont incubées 30 minutes à 37°C avant ajout de gélose, agitation et transfert sur une plaque de gélose.

Dans les deux cas, il y a incubation 72 heures à 37°C avant le comptage des colonies.

Le test est évalué positif (substance mutagène) s'il y a au moins doublement du nombre des colonies mutantes d'une des souches testées (par rapport au solvant seul) à deux niveaux de concentration consécutifs ou au niveau de concentration le plus élevé seulement. Il doit également y avoir des preuves d'une relation dose – réponse liée aux concentrations croissantes en *Hoodia gordonii*.

4.2.2 TEST DE MUTATION GENETIQUE SUR DES CELLULES DE LYMPHOME DE SOURIS

La cytotoxicité de l'extrait de *Hoodia gordonii* a été évaluée pour des concentrations allant de 0,195 à 50 mg/mL (limite de solubilité).

Ce test permet de rechercher une capacité à induire une mutation au niveau du locus de la thymidine kinase du lymphome de souris, cellules L5178Y TK+.

La croissance totale relative a été utilisée comme indicateur de la cytotoxicité. Les cellules ont été exposées à l'extrait de *Hoodia gordonii* en l'absence ou en présence d'activation métabolique S9 pendant 3 ou 24 heures. Ont également été réalisés des contrôles négatifs et positifs. Ensuite, 48 h après l'exposition, la résistance à la 5-trifluorothymidine (TFT) est déterminée en l'ajoutant dans le milieu de clonage pour la sélection des mutants. La fréquence des mutants a été calculée.

Ce test a été considéré positif (mutagène) lorsque la fréquence des mutants d'une ou plusieurs concentrations est statistiquement significativement supérieure à celle du contrôle négatif, il doit y avoir un lien important avec la concentration comme indiqué par l'analyse de tendance linéaire.

4.2.3 TEST DU MICRONOYAU DE LA MOELLE OSSEUSE CHEZ LA SOURIS

Les souris ont reçu par gavage oral unique différentes doses d'extrait de *Hoodia gordonii* (2000, 1000, 750, 500 et 350 mg/kg) afin d'observer la tolérance pendant 48 heures. Des contrôles négatifs et positifs ont été réalisés.

L'activité mutagène est définie par une augmentation statistiquement et biologiquement significative au niveau du micronucleus des érythrocytes polychromatiques par rapport au groupe témoin négatif. Des signes de toxicité au niveau de la moelle osseuse ont également été évalués à partir des proportions relatives des érythrocytes polychromatiques et normochromatiques.

4.3 RESULTATS

4.3.1 TEST DE MUTATION BACTERIENNE

Aucune augmentation biologiquement significative du nombre de mutants n'a été observée à aucune concentration en *Hoodia gordonii* testée, pour aucune des souches bactériennes, en présence ou non de S9, par rapport au solvant seul.

Le contrôle positif pour chacune des souches testées provoque au minimum un doublement du nombre des colonies mutantes par rapport au solvant seul.

L'extrait de *Hoodia gordonii* a donc été considéré comme non mutagène dans les conditions utilisées pour ce test.

4.3.2 TEST DE MUTATION GENETIQUE SUR DES CELLULES DE LYMPHOME DE SOURIS

Lors d'une période d'exposition courte, une toxicité modérée a été observée. La plus forte concentration testée a abouti à 52% et 71% de survie respectivement en l'absence et en présence d'activation métabolique par S9.

En utilisant un temps d'exposition de 24 heures en l'absence d'activation métabolique par S9, la survie relative a été réduite à 50% par rapport au contrôle dans les deux plus hauts niveaux de concentration.

Sur la base de ces résultats, afin d'évaluer un éventuel effet génotoxique à des concentrations cytotoxiques ou insolubles, l'extrait de *Hoodia gordonii* a été évalué jusqu'à un maximum de 200 µg / mL dans les essais de mutation. Deux essais indépendants ont été réalisés. Dans chaque expérience, lors de l'addition de l'extrait, aucun précipité n'a été observé pour les trois plus hauts niveaux de concentration.

Lors d'une exposition de 3 heures en l'absence de S9, une relation dose – toxicité a été observée réduisant la croissance totale relative à 43% de la valeur contrôle pour 150 µg/mL. Un effet toxique moins prononcé a été observé en présence de S9.

Lors d'une exposition de 24 heures en l'absence de S9, aucune cellule n'a survécu au plus haut niveau de concentration de l'extrait de *Hoodia gordonii* (200 µg/mL), tandis qu'une concentration de 100 µg/mL a réduit la croissance totale relative à 13%.

En l'absence d'activation métabolique S9, une augmentation légère mais statistiquement significative de la fréquence des mutants a été observée dans la première expérience, au plus haut niveau de concentration de l'extrait de *Hoodia gordonii* (150 µg/mL). Toutefois, la fréquence des mutants observée à ce niveau de concentration était comprise dans les gammes historiques de contrôle, et l'effet n'a pas été reproduit dans la seconde expérience en utilisant un long temps d'exposition. En outre, la fréquence de mutants dans la première expérience était plus faible que le facteur d'évaluation globale suggéré par la méthode des micropuits (125×10^{-6}) le test est donc négatif.

4.3.3 TEST DU MICRONOYAU DE LA MOELLE OSSEUSE CHEZ LA SOURIS

Des signes de toxicité ont été observés pour tous les groupes traités (2000, 1000, 750, 500 et 350 mg/kg).

Des cas de mortalité ont été observés pour les animaux recevant des doses de 1000 ou 500 mg/kg d'extrait de *Hoodia gordonii* (deux des quatre animaux de chaque groupe).

La dose de 400 mg/kg a donc été choisie comme la plus élevée pour le test du micronoyau. A cette dose les signes observés étaient un poil dressé, désordonné, une posture voûtée et l'abdomen gonflé (un animal a montré des yeux mi-clos). Aucun cas de mortalité. La proportion d'immaturation sur la totalité des érythrocytes n'a pas été affectée, indiquant une absence de toxicité pour la moelle osseuse.

4.4 DISCUSSION

Les résultats de ces études démontrent que l'extrait de *Hoodia gordonii* est dépourvu de toute activité génotoxique significative dans les conditions des essais. Aucun signe de mutagenicité n'a été observé à n'importe quelle concentration testée, y compris ceux qui ont causé la cytotoxicité dans un test de mutation bactérienne.

Dans le test du lymphome de souris, l'extrait de *Hoodia gordonii* induit une augmentation légère, mais statistiquement significative de la fréquence des mutants en l'absence de l'activation métabolique par S9 suivant un temps d'exposition court (3h). Ceci a été observé au plus haut niveau de concentration pour lequel on pouvait constater une réaction de précipitation. La fréquence de mutation observée alors n'a pas été reproduite lors de l'utilisation d'un long temps d'exposition. En conséquence l'évènement a été considéré comme imputable à un évènement fortuit non lié à l'action de l'extrait de *Hoodia gordonii* et sans importance biologique. Aucun signe d'activité mutagène n'a été observé quelles que soient les conditions en présence d'activation métabolique S9.

En outre, l'extrait de *Hoodia gordonii* n'a montré aucune preuve d'activité mutagène lors de l'évaluation de la génotoxicité dans un essai sur la moelle osseuse de la souris *in vivo*. Les biomarqueurs caractéristiques de l'extrait de *Hoodia gordonii* ont été identifiés dans le plasma des souris après l'administration confirmant l'absorption et la présence dans le tissu cible.

En résumé, les effets potentiels génotoxiques de l'extrait de *Hoodia gordonii*, ont été évalués *in vitro* et *in vivo*. L'extrait de *Hoodia gordonii* a été démontré non génotoxique dans un test de mutation bactérienne *in vitro*, un test de mutation génétique *in vitro* utilisant des cellules de lymphome de souris, et dans le dosage de la moelle osseuse chez la souris *in vivo*. Ces données indiquent que le risque d'une activité génotoxique est faible.

5 STANDARDISATION

5.1 HISTORIQUE

En 1998, le Council for Scientific and Industrial Research (C.S.I.R.) d'Afrique du Sud a breveté le glycoside oxyprégnane P57AS3 qui a été considéré comme constituant actif de *Hoodia gordonii*. Dans la dernière décennie (RUMALLA *et al.* 2008), la connaissance ethnobotanique concernant les propriétés anorexigènes de cette plante a conduit à la formulation de plusieurs produits de phytothérapie à visée amaigrissante prétendant contenir *H. gordonii*. Sur le marché américain, ceux-ci sont disponibles comme compléments alimentaires en vente libre, et *H. gordonii* s'est révélée être l'une des plantes les plus convoitées pour la perte de poids. Comme *H. gordonii* est une plante succulente de croissance lente, la demande accrue de matières premières ne peut être satisfaite par l'offre réduite de cette plante menacée. Par conséquent, l'inquiétude grandit quant à la possibilité de falsification, de sécurité et de la qualité de ces produits. C'est pourquoi, l'élaboration d'une méthode simple pour l'identification et l'analyse de la qualité des matériaux végétaux de *H. gordonii* ainsi que des produits qui prétendent en contenir s'est montrée indispensable.

Dans un premier temps, des méthodes LC-ESI⁶-TOF⁷ et LC-UV pour la détermination de P57AS3 présent chez des espèces du genre *Hoodia* et dans des compléments alimentaires ont été établies (AVULA *et al.* 2006). Une méthode plus récente CCMHP^{*} a également été signalée, elle utilise P57AS3 comme marqueur pour l'identification des matières premières de *H. gordonii*. En outre, il a été suggéré l'utilisation de composés bon marché et que l'on trouve partout comme le β -sitostérol, le saccharose et le fructose en tant que normes de référence de substitution.

Cependant, les études phytochimiques ont montré que *H. gordonii* possède un large éventail de glycosides prégnanes uniques comprenant plusieurs aglycones stéroïdiens chimiquement distincts. Par conséquent, l'utilisation de P57AS3 seul, ou l'utilisation comme marqueurs de composés tels que le β -sitostérol, le saccharose et le fructose ne peut pas établir l'identité complète de *H. gordonii*.

Une méthode HPTLC⁸ a été développée par AVULA *et al.* en 2007 pour l'analyse simple et rapide d'empreintes chimiques de quatre espèces du genre *Hoodia*, de compléments alimentaires qui prétendent contenir *Hoodia gordonii* et de plantes de genres liés au genre *Hoodia* (c'est-à-dire les genres *Orbea*, *Cynanchum*, *Gonolobus*, *Vincetoxicum*, *Gymnema*, *Hemidesmus*, *Marsdenia*, *Asdepias*, *Huernia*, *Staphelia*, *Tridentea*, *Paranthus*, *Edithocolea*, *Ceropegia*, *Caralluma* et *Opuntia*)

⁶ ESI : ionisation électrospray

⁷ TOF : Time Of Flight

⁸ HPTLC : High Performance Thin Layer Chromatographie (CCMHP en français)

La méthode développée a été appliquée avec succès pour l'identification des 11 glycosides pregnanes de quatre espèces différentes du genre *Hoodia*, 24 espèces de genres apparentés et 13 compléments alimentaires qui prétendent contenir *Hoodia gordonii*. Différentes matrices d'échantillons ont pu être analysées avec succès, fournissant une large gamme d'applications pour cette méthode, y compris des gélules, des capsules, des comprimés, des sprays, des thés, des barres, des poudres, et des jus. La méthode développée a été validée pour la spécificité, la stabilité, la répétabilité et la robustesse. Les résultats de la méthode HPTLC ont été vérifiés par méthode LC⁹-UV-MS¹⁰.

Toutefois cette dernière méthode nécessite un matériel sophistiqué, ce qui restreint son applicabilité de façon systématique. Ces questions ont exprimé le besoin d'une méthode plus simple, plus rapide et plus robuste.

Des méthodes par HPLC-UV et HPLC-MS (JANSSEN *et al.* 2008) ont permis une analyse quantitative des glycosides stéroïdiens de *Hoodia gordonii*, dans une large gamme de matrices dont les matières végétales séchées, les compléments alimentaires et les produits alimentaires.

D'autres techniques de spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide (AVULA *et al.* Aug. 2008) ont été utilisées pour identifier et caractériser huit glycosides stéroïdes en C-21 différenciés selon leur aglycone hoodigogénine A ou calogénine.

Une UPLC¹¹ (AVULA *et al.* Nov. 2008) s'est avérée être un des développements les plus prometteurs de séparation chromatographique haute vitesse avec une sensibilité et une résolution augmentées.

Une méthode HTPLC (RUMALLA *et al.* 2008) rapide et fiable a été développée pour l'analyse de onze glycosides stéroïdiens. La méthode a été également utilisée pour l'étude de comparaison des différents genres apparentés et des compléments alimentaires. Cette méthode offre un large éventail d'applications, comprenant gélules, comprimés, sprays, sachets de thé, barres et jus.

⁹ LC : Chromatographie Liquide

¹⁰ MS : Spectrophotométrie de Masse

¹¹ UPLC : Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance

5.2 RECHERCHE DE FALSIFICATIONS

Lors des études de la composition des produits retrouvés dans le commerce ou sur internet, sensés contenir *Hoodia gordonii*, les différentes méthodes mettent en évidence l'existence d'une falsification importante. J'ai choisi de vous présenter les résultats de la méthode la plus récente développée en 2008 par Rumalla.

5.2.1 METHODE

Cette méthode HTPLC permet l'authentification de *Hoodia gordonii* par comparaison des couleurs de bandes et les valeurs de Rf des empreintes chimiques de chromatographie sur couche mince avec celles des onze composés standards dont P57AS3.

Quatre espèces différentes du genre *Hoodia*, vingt-quatre espèces de genres apparentés et treize compléments alimentaires prétendant contenir *Hoodia gordonii* ont été analysés.

Les résultats de la méthode HTPLC ont été vérifiés par méthode LC-UV-MS.

5.2.2 RESULTATS ET DISCUSSION

5.2.2.1 IDENTIFICATION DES EMPREINTES CHIMIQUES HPTLC

La méthode a été développée pour les composés standards, puis elle a été appliquée à la matière végétale de *Hoodia gordonii* et aux produits prétendant contenir *H. gordonii*.

Les résultats ont été observés après ajout du réactif anisaldéhyde (la plupart des composés n'absorbant pas en UV). Les composés standards (glycosides prégnanes) ont paru dans le chromatogramme à des valeurs Rf sensiblement différentes.

Composés standards issus de *Hoodia gordonii* et leurs valeurs Rf déterminées par méthode HTPLC

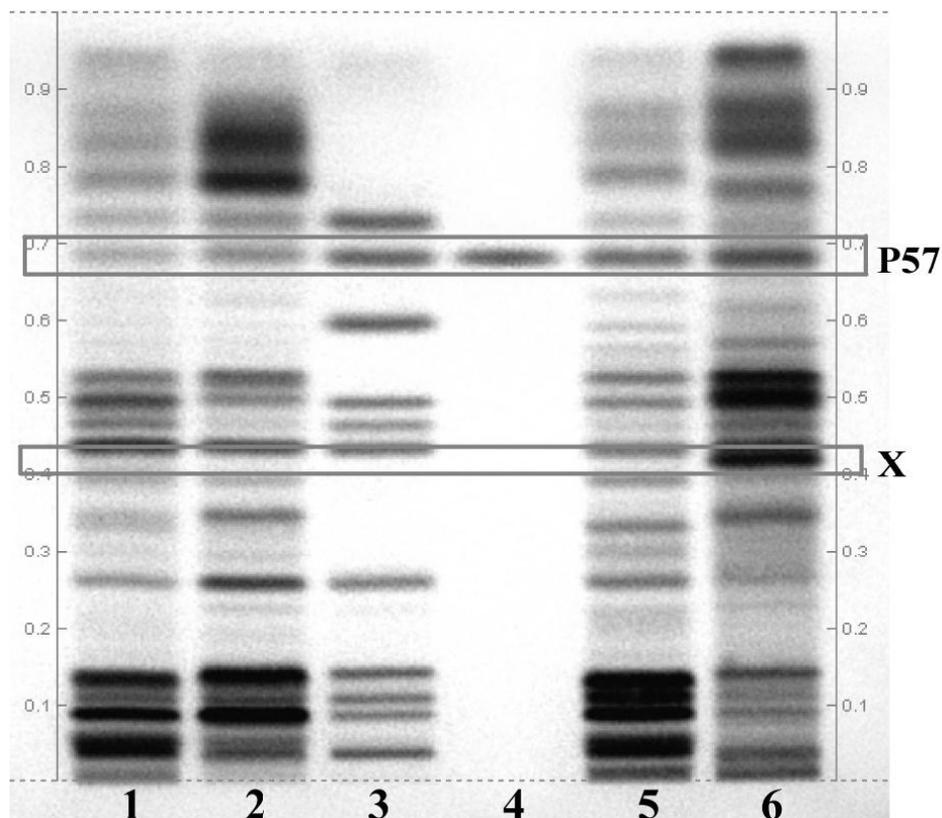
Composé	Rf
Hoodigoside M	0,08
Hoodigoside L	0,18
Hoodigoside P	0,20
Hoodigoside U	0,25
Hoodigoside O	0,31
Hoodigoside E	0,41
Hoodigoside F	0,42
Hoodigoside J	0,46
Hoodigoside N	0,53
P57	0,62
Hoodigoside C	0,68

Pour l'identification positive, un échantillon doit présenter des bandes avec des caractéristiques chromatographiques, y compris les couleurs et les valeurs de Rf, similaires à celles des composés standards. Une bonne résolution et des bandes bien définies ont été obtenues lorsque la chambre était saturée avec la phase mobile (dichlorométhane/méthanol/eau soit 75/17/22 en volume) pendant 20 minutes à température ambiante. Les plaques en gel de silice 60F₂₅₄ ont été prélavées avec du méthanol puis séchées.

5.2.2.2 ANALYSE DES ESPECES DU GENRE *HOODIA*, DES GENRES APPARENTES ET DES COMPLEMENTS ALIMENTAIRES

Comparaison des différentes espèces du genre *Hoodia* (RUMALLA 2008)

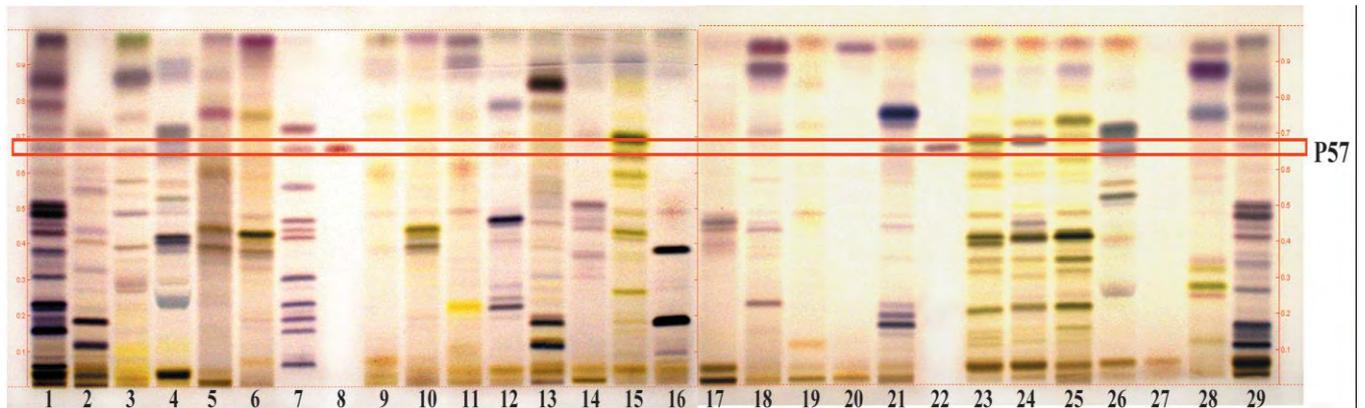
Pistes : 1, *H. gordonii* ; 2, *H. currorii* ; 3, 11 glycosides oxyprégnanes ;
4, P57AS3 ; 5, *H. ruschii* ; 6, *H. parviflora*.



Les onze glycosides prégnanes ont été identifiés dans tous les échantillons d'*Hoodia* spp, sauf pour l'hoodigoside N qui était présent en quantité très minime dans *H. parviflora*. Par ailleurs *H. parviflora* a montré une bande X qui lui était propre, non identifiée jusqu'alors.

Comparaison d'*H. gordonii* avec d'autres espèces végétales (RUMALLA 2008)

Pistes : 1, 29, *H. gordonii* ; 2, *Caralluma fimbriata* ; 3, *Opuntia ficus-indica* ; 4, *Orbea variegata* ; 5, *Cynanchum stratum* ; 6, *Gonolobus cundurango* ; 7, onze glycosides oxyprégnanes ; 8, 22, P57AS3 ; 9, *Gymnema sylvestris* ; 10, *Marsdenia cundurango* ; 11, *Asdepias labriformis* ; 12, *Huernia keniensis* ; 13, *Tridentea choanantha* ; 14, *Ceropegia dichtoma* ; 15, *Staphelia flavirostris* ; 16, *Edithocolea grandis* ; 17, *Cynanchum stauntonii* ; 18, *Cynanchum marnieranum* ; 19, *Vincetoxicum hirundinaria* ; 20, *Hemidesmus indicus* ; 21, *Heurnia recondita* ; 23, *Staphelia gigantea* ; 24, *Staphelia schinsii* ; 25, *Staphelia leendertziae* ; 26, *P. globosus* ; 27, *Hoodia* spp. ; 28, *Cynanchum perrieri*



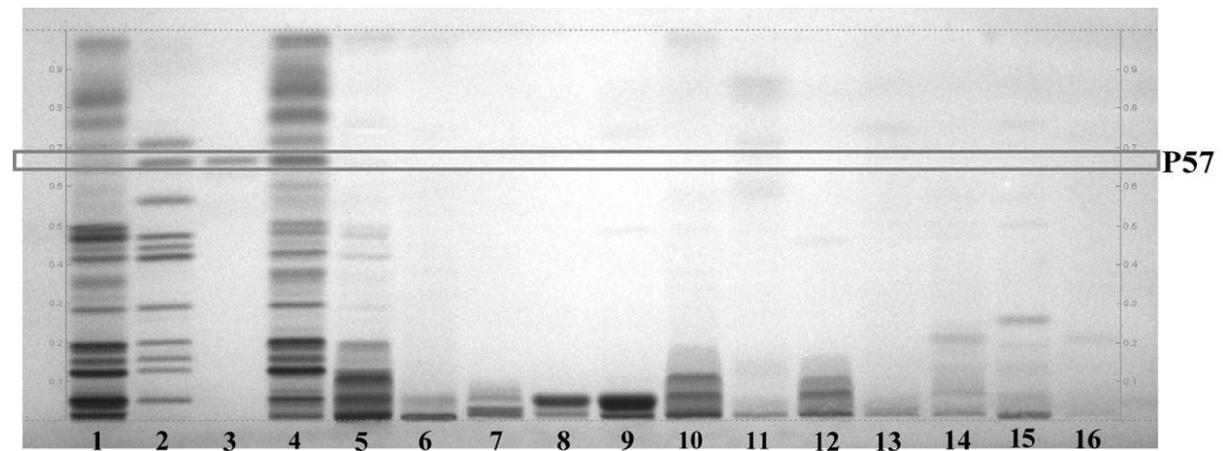
Tous les genres testés ont montré des empreintes différentes de celles du genre *Hoodia*. L'échantillon piste 27 est un produit commercial, son empreinte ne montre aucun marqueur authentifié de *H. gordonii*, ceci indique que cet échantillon ne contient pas *H. gordonii*.

Cette méthode a été étendue à l'identification et l'analyse de la qualité de 13 compléments alimentaires supposés contenir *H. gordonii*.

Comparaison de *H. gordonii* avec des compléments alimentaires de diverses formes galéniques (RUMALLA 2008)

Pistes : 1 *H. gordonii* ; 2, onze glycosides oxyprégnanes ; 3, P57AS3 ; 4, 6, 12 à 16, gélules ; 5, 7, comprimés ; 8, jus ; 9, barre ; 10, sachet de thé ; 11, spray.

Ces échantillons prétendent contenir soit des mélanges complexes d'espèces du genre *Hoodia* (5, 7, 9, 16), soit *H. gordonii* seul (4, 6, 8)



Deux produits (4 et 5) ont montré des empreintes similaires à celle de *H. gordonii*, ceci indique la présence d' *H. gordonii* dans ces compléments alimentaires.

Onze produits (6 à 16) ne montrent la présence d'aucun des onze glycosides prégnanes. Ces profils chimiques différents de ceux des espèces du genre *Hoodia* peuvent être attribués à d'autres produits végétaux.

CONCLUSION

Les connaissances sur *Hoodia gordonii* n'ont cessé de s'étendre depuis le dépôt du brevet par le C.S.I.R. en 1998.

Sa composition est constituée quasi exclusivement de glycosides prégnanes qui présentent des aglycones de cinq types différents : hoodigogénine A spécifique du genre *Hoodia*, calogénine, isoramanone, ainsi que deux nouveaux types d'aglycone hoodistanal et déhydrohoodistanal. Ces composés sont nombreux, et même si les hoodigosides = glycosides oxyprégnanes, ayant pour base l'hoodigogénine A, sont utilisés comme marqueurs pour développer des méthodes d'identification et de contrôle, une seule molécule P57AS3 semble accaparer l'ensemble des recherches.

P57AS3 est un glycoside oxyprégnane isolé de *H. gordonii* couvert par le brevet déposé en 1998. Il a montré de façon significative une activité inhibitrice de l'appétit accompagnée d'une perte de poids après une administration par voie orale chez le rat. Un mode d'action central a été étudié. Il agirait en augmentant la production d'ATP dans les neurones hypothalamiques, augmentation à l'origine de la sensation de satiété. D'autres études ont été menées, montrant une action de P57AS3 sur les récepteurs amers humains à l'origine d'une partie du mécanisme suppresseur d'appétit. Ce mécanisme impliquerait une libération accrue de CCK. Le groupement tygloyl de l'aglycone a été reconnu comme une caractéristique structurale essentielle. Des études pharmacocinétiques ont montré que P57AS3 est métaboliquement stable en présence de microsomes de foie humain. Seul le CYP3A4 subit une inhibition faible. Son transport intestinal est médié par la P-gp et les transporteurs MRP.

L'Agence nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM), anciennement (AFSSAPS), « interdit depuis le 12 avril 2012 l'importation, la préparation, la prescription et la délivrance de préparations magistrales de *Hoodia gordonii* dans le cadre de préparations amincissantes ».

Parution au JORF n°0134 du 10 juin 2012 page 9842 texte n° 12

Cette interdiction a pour origine « la survenue de plusieurs cas d'atteintes hépatiques, musculaires, cardiaques et neurologiques parfois graves rapportés aux Etats-Unis et au Canada, qui sont fortement suspectés d'être dus à la consommation de produits contenant notamment *Garcinia cambodgia* ou *Hoodia gordinii*, finalement retirés des marchés américains et canadiens en mai 2009 ».

Il serait bon de souligner que le peuple bushmen consommait *H. gordonii* régulièrement et que la quantité représentée par les gélules disponibles sur le marché n'est rien à côté du cœur de la plante fraîchement coupée. Cette toxicité supposée ne serait-elle pas plutôt la conséquence directe des pathologies des patients ou encore d'un produit falsifié ?

Sur internet, par contre, tout commerce est possible, et on peut s'en procurer avec tous les risques de détournement, d'inefficacité et de toxicité liés au manque de traçabilité et de contrôle.

Quoi qu'il en soit la plante sauvage est rare et ne peut plus être commercialisée à un niveau international. *Hoodia gordonii* est aujourd'hui une espèce protégée dont l'exportation est interdite. Son exploitation durant les dix dernières années a toutefois conduit à une extrême rareté de cette plante. Force est de constater que la commercialisation mondiale d'une plante peu répandue et de croissance lente ne peut que conduire à sa disparition.

L'histoire de *Hoodia gordonii* montre les méfaits de l'exploitation d'une plante à grande échelle sans respect de la biodiversité, sans respect des peuples à l'origine de sa découverte, avec pour seul objectif le profit financier.

Il semble essentiel de tirer un enseignement de la médecine des bushmen qui vivent en phase avec la nature, se limitant à une utilisation réduite aux besoins, prenant sans cesse soin de la préserver.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AVULA B., WANG Y.H., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., SCHANEBERG B., KHAN I.A. (2006)
"Determination of the appetite suppressant P57 in *Hoodia gordonii* plant extracts and dietary supplements by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (LC-MSD-TOF) and LC-UV methods"
J. AOAC
May-Jun ; 89 (3) : 606-11
- AVULA B., WANG Y.H., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., SMILLIE T.J., KHAN I.A. (Nov 2008)
"A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera, and dietary supplements using UPLC-UV-MS"
J. Pharm. Biomed. Anal.
Nov ; 4 ; 48 (3) : 722-31
- AVULA B., WANG Y.H., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., SMILLIE T.J., KHAN I.A. (Aug 2008)
"Identification and structural characterization of steroidal glycosides in *Hoodia gordonii* by ion-trap tandem mass spectrometry and liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry"
Rapid Commun Mass Spectrom.
Aug ; 22 (16) : 2587-96
- AVULA B., WANG Y.H., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., SMILLIE T.J., KHAN I.A. (2007)
"Chemical fingerprinting of *Hoodia* species and related genera : chemical analysis of oxypregnane glycosides using high-performance liquid chromatography with UV detection in *Hoodia gordonii*"
J. AOAC
Nov-Dec ; 90 (6) : 1526-31
- DALL'ACQUA S., INNOCENTI G. (2007)
"Steroidal glycosides from *Hoodia gordonii*"
Steroids
Jun ; 72 (6-7) : 559-68
- ENDRESS M.E., BRYUNS P.V. (2000)
"A revised classification of the Apocynaceae s.l."
The Botanical Review"
66 : 1-56
- GEOFFROY P., RESSAULT B., MARCHIONI E., MIESCH M. (2011)
"Synthesis of hoodigogenin A, aglycone of natural appetite suppressant glycosteroids extracted from *Hoodia gordonii*"
Steroids
Jun ; 76 (7) : 702-8

HALDA J.J. (1998)

“Synopsis of the genus *Hoodia* (ASCLEPIADACEAE, STAPELIEAE)”
Acta. Mus. Richnov., 5 (1) : 28-33

JANSSEN H.G., SWINDELLS C., GUNNING P., WANG W., GRÜN C.,
MAHABIR K., MAHARAJ V.J., APPS P.J. (2008)

“Quantification of appetite suppressing steroid glycosides from *Hoodia gordonii* in
dried plant material, purified extracts and food products using HPLC-UV and HPLC-
MS methods”

Anal. Chim. Acta.

Jun ; 9 ; 617 (1-2) : 200-7

MACLEAN D.B., LUO L.G. (2004)

“Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-
sensing of satiety : studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside”
Brain Res.

Sep ; 10 ; 1020 (1-2) : 1-11

MAGDULA V.L., AVULA B., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., KHAN I.A.,
WALKER L.A., KHAN S.I. (2008)

“In vitro metabolic stability and intestinal transport of P57AS3 (P57) from *Hoodia
gordonii* and its interaction with drug metabolising enzymes”

Planta Med.

Aug ; 74 (10) : 1269-75

MAGDULA V.L., AVULA B., PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., KHAN I.A.,
WALKER L.A., KHAN S.I. (2010)

“Characterization of in vitro pharmacokinetic properties of hoodigogenin A from
Hoodia gordonii ”

Planta Med.

Jan ; 76 (1) : 62-9

MOHLAPO T.D., NG“AMBI J.W., NORRIS D., MALATJE M.M. (2009)

“Effect of *Hoodia gordonii* meal supplementation at finisher stage on productivity and
carcass characteristics of Ross 308 broiler chickens“

Trop. Anim. Health

Oct ; 41 (7) : 1591-6

PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., KHAN I.A. (Nov 2007)

“New calogenin glycosides from *Hoodia gordonii*”

Steroids

Nov ; 72 (13) : 881-91

PAWAR R.S., SHUKLA Y.J., KHAN S.I., AVULA B., KHAN I.A. (Jun 2007)

“New oxypregnane glycosides from appetite suppressant herbal supplement *Hoodia
gordonii*”

Steroids

Jun ; 72 (6-7) : 524-34

- RUMALLA C.S., AVULA B., SHUKLA Y.H., PAWAR R.S., SMILLIE T.J., KHAN I.A. (2008)
“Chemical fingerprint of *Hoodia* species, dietary supplements, and related genera by using HTPLC”
J. Sep. Sci.
Dec ; 31 (22) : 3959-64
- SCOTT A.D., ORSI A., WARD C., BRADFORD R. (2011)
“Genotoxicity testing of a *Hoodia gordonii* extract”
Food Chem Toxicol.
Feb ; 16
- SHUKLA Y.J., PAWAR R.S., DING Y., LI X.C., FERREIRA D., KHAN I.A. (2009)
“Pregnane glycosides from *Hoodia gordonii*”
Phytochemistry
Mar ; 70 (5) : 675-83
- The Linnean Society of London (2009)
“Botanical Journal of the Linnean Society”
161 (2) : 105-121
- VAN HEERDEN F. R., VLEGGAR R., HORAK R. M., LEARMONTH R.A., MAHARAJ V., WHITTAL R. D. (1998)
“Pharmaceutical compositions having appetite-suppressant activity”
PTC/GB98/01100
- VAN HEERDEN F.R. (2008)
“*Hoodia gordonii* : a natural appetite suppressant”
J. Ethnopharmacol.
Oct ; 28 ; 119 (3) : 434-7
- VAN HEERDEN F.R., MATHINUS HORAK R., MAHARAJ V.J., VLEGGAR R., SENABE J.V., GUNNING P.J. (2007)
“An appetite suppressant from *Hoodia* species”
Phytochemistry
Oct ; 68 (20) : 2545-53
- WENNERT A. L. (2012)
“*Hoodia gordonii* (Masson) Sweet ex Decne : une plante d’Afrique du Sud, de son utilisation traditionnelle vers un éventuel avenir thérapeutique”
Th. D. Pharm., Lorraine, 2012
- WU S.V., ROZENGURT N., YANG M., YOUNG S.H., SINNETT-SMITH J., ROZENGURT E. (2002)
“Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells”
Proc. Natl. Acad. Sci. USA
99: 2392-2397

**ABSTRACT : *Hoodia gordonii* (MASSON) Sweet ex Decne
APOCYNACEAE**

Hoodia gordonii (MASSON) Sweet ex Decne is a perennial, succulent plant, belonging to the APOCYNACEAE family. It grows in the Kalahari Desert in South Africa, Namibia and Botswana. Hunters of the San tribe or Bushmen used its properties as an appetite suppressant and a thirst quencher during their long hunting trips.

In 1998, the C.S.I.R. in South Africa also filed a patent covering the supposed active constituent P57AS3, one of the thirty-eight pregnane glycosides isolated from *H. gordonii*. The anorectic and thirst quenching properties of *H. gordonii* and P57AS3 is thought to stimulate the Na⁺/K⁺ ATPase pumps in the hypothalamus. Moreover, the activation of human TAS2 receptors could be part of an appetite suppressant mechanism. *H. gordonii* does not appear to be toxic. Identification and analysis methods have been developed.

KEY WORDS :

Hoodia gordonii
P57AS3
Kalahari Desert
South Africa
Pregnane glycosides
Anorexigen
Thirst quenching
Na⁺/K⁺ ATPases
TAS2 receptors

**RESUME en français : *Hoodia gordonii* (MASSON) Sweet ex Decne
APOCYNACEAE**

Hoodia gordonii (MASSON) Sweet ex Decne, est une plante vivace, succulente, de la famille des APOCYNACEAE. Elle est originaire du désert du Kalahari en Afrique du Sud, Namibie et Botswana. Les chasseurs du peuple San ou Bushmen utilisaient ses propriétés coupe-faim et coupe-soif durant leurs longues sorties.

En 1998, le C.S.I.R. en Afrique du Sud dépose un brevet couvrant également le constituant supposé actif P57AS3, un des trente-huit glycosides prégnanes isolés de *H. gordonii*. Les propriétés anorexigène et désaltérante de *H. gordonii* et de P57AS3 ont été observées chez l'animal. Un possible mode d'action central de P57AS3 ferait intervenir les pompes Na⁺/K⁺ ATPases au niveau de l'hypothalamus. Par ailleurs l'activation des récepteurs amers humains pourrait faire partie du mécanisme supprimeur d'appétit. *H. gordonii* ne semble pas présenter de toxicité. Des méthodes d'identification et d'analyse ont été développées.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : PHARMACIE

MOTS-CLES : *Hoodia gordonii*
 P57AS3
 Désert du Kalahari
 Afrique du Sud
 Glycosides prégnanes
 Anorexigène
 Coupe soif
 Na⁺/K⁺ ATPases
 Récepteurs TAS2

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté de Pharmacie Toulouse
Laboratoire de Pharmacognosie
35 Chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex 4

Directeur de thèse : Professeur Nicolas FABRE