

## Constituants des agrumes à effet pharmacodynamique : les citroflavonoïdes.

Exposé présenté au cours des Journées médico-scientifiques organisées par le Centre de Recherche écobioologique et le Centre d'Etude de la Foire internationale agrumicole de Reggio Calabria, 3-5 avril 1982.

R. HUET\*

1927 - RANDOIN et LECOQ annoncent l'existence, dans les jus d'orange, d'un facteur antiscorbutique, différent de l'acide ascorbique, à fonction diphenol.

1936 - SZENT-GYORGYI et ses collaborateurs isolent de l'écorce du citron un mélange de composés flavoniques qu'ils appellent citrine. La citrine serait le complément indispensable de l'acide ascorbique pour soigner le scorbut. A cause de son action sur la perméabilité des vaisseaux capillaires, la citrine est aussi dénommée vitamine P. On supposera par la suite que la citrine est un mélange d'héspéridine et d'ériodictyne.

De nombreux travaux, plus de mille dénombrés en 1959, confirment ou infirment ces résultats.

1950 - Le terme vitamine P est proscrit par la Société américaine des Chimistes Biologistes et par l'Institut américain de nutrition. Il est remplacé par la dénomination de bioflavonoïdes.

1968 - Les bioflavonoïdes se sont révélés inoffensifs et ne font l'objet d'aucune contre-indication. Cependant la US Food and Drug Administration considérant que leur efficacité, en tant que médicaments, n'est pas clairement démontrée, leur retire son approbation. Il en résulte une nette diminution des recherches aux Etats-Unis. Mais les investigations continuent dans d'autres pays, principalement en France, en Allemagne, en Hongrie et en Russie et de nombreuses préparations pharmaceutiques sont utilisées. Elles renferment :

- du rutoside et ses dérivés hydrosolubles, isolé des feuilles de sarrasin ou de certains eucalyptus (*Eucalyptus macrorrhyncha*) ou encore des boutons floraux de *Sophora* ;

- des biflavonoïdes extraits de *Ginkgo biloba* ;
- des glucosides comme l'héspéridine et ses dérivés, (méthylchalcone) la naringine, la diosmine, ce dernier constituant existant en l'état mais en quantité très faible dans les jus d'agrumes.

Pour signifier leur origine, le terme de citroflavonoïde remplace souvent celui de bioflavonoïde. Le dictionnaire de pharmacie VIDAL comporte 21 formulations ; 7 formulations comportent le terme de citroflavonoïde, 7 autres spécifient héspéridine méthylchalcone. Les autres ont des spécifications plus vagues comme glucohéterosides, flavonoïdes de rutacées, extraits flavoniques d'écorces d'orange et même encore vitamine P. Dans 15 formulations, les citroflavonoïdes sont associés à l'acide ascorbique.

Ces dénominations laissent deviner une certaine ignorance de la composition exacte qui se cache sous le nom de citroflavonoïdes. Les flavonoïdes font partie du groupe des substances phénoliques dont plus de 2.000 ont été identifiées dans les végétaux. Les flavonoïdes se trouvent dans les plantes évoluées, les angiospermes. Ils comprennent des flavones, des flavanones, des flavanols et des flavonols, des catechols, avec une formule générale comprenant deux noyaux benzéniques, plus ou moins hydroxylés ou méthoxylés, et un noyau pyrone qui peut être ouvert par hydrogénation alcaline pour donner une chalcone.

Le Codex français définit les citroflavonoïdes comme «des composés flavoniques à action vitaminique P, extraits d'écorce de divers citrus».

En fait, les méthodes d'extraction peuvent être très différentes, si bien que l'extrait final a une composition variable.

KESTERSON et HENDRICKSON ont très précisément établi le mode de préparation des glucosides de flavanone : héspéridine de l'orange douce et naringine du pomélo :

\* - IRFA - B.P. 5035 - 34032 MONTPELLIER CEDEX.



La plus ancienne, la méthode DAVIS (1957) utilise la coloration jaune obtenue en milieu alcalin, en présence de diéthylène-glycol (pur et incolore). HENDRICKSON et KESTERSON, en 1959, ont utilisé une méthode spectrophotométrique dans l'UV. ROWELL et WINTER (1959) passent par la réduction des flavanones avec la borohydrure avant la mesure d'absorbance. On peut également utiliser la réaction borocitrique de WILSON, ou comme P. PARIS et CORNILLEAU la réaction de la cyanidine (formation d'une coloration rose par réduction avec l'hydrogène naissant - 1955). R. PARIS, J.P. GRAMOND et R. ROUSSELET ont poussé plus loin l'analyse de préparations pharmaceutiques en utilisant la chromatographie en couche mince (1972). Cette technique permet une bonne séparation des différents flavonoïdes. Elle a mis en évidence la diversité des préparations qui se présentent sous une même dénomination.

Actuellement, la chromatographie liquide haute pression permet des séparations se prêtant au dosage. Cette technique a été utilisée par S.V. TING et col. pour la détermination des flavones méthoxylées et reprise par J.P. BIANCHINI pour les mesures réalisées dans le cadre de nos travaux.

L'étude des propriétés thérapeutiques des citroflavonoïdes a sans doute souffert de l'hétérogénéité des préparations et du manque de connaissances précises sur leur composition. L. RANDOIN et R. LECOQ avaient déjà entrevu les propriétés du jus de citron indépendantes de celles de l'acide ascorbique. J.M. GAZAVE et J.L. PARROT ont apporté une contribution fondamentale à ces découvertes.

Ils ont séparé l'acide ascorbique et les citroflavonoïdes à partir d'un jus de citron et ils ont montré que pour des rats soumis à un régime carencé, le jus de citron privé d'acide ascorbique, ou bien l'acide ascorbique seul de synthèse, sont incapables de prévenir les manifestations du scorbut. Le facteur vitaminique présent dans le jus de citron privé d'acide ascorbique a été nommé facteur C<sub>2</sub> ou vitamine C<sub>2</sub>. La réunion de C<sub>1</sub> et de C<sub>2</sub> est nécessaire pour éviter l'apparition du scorbut. GAZAVE a décrit un procédé pour séparer le facteur C<sub>2</sub>, qu'il a identifié comme étant le cis-penta-hydroxy 3', 4', 5', 5, 7 flavanol 3.

Les citroflavonoïdes peu solubles seraient mal absorbés par les parois intestinales s'ils n'étaient pas auparavant, dans le tube digestif, modifiés dans leur structure par la flore intestinale : séparation de l'aglycone et de la partie osidique, ouverture du cycle B, perte des radicaux hydroxyyles. Les métabolites sont éliminés principalement par l'urine, sous forme d'acides phénols, mais aussi par la bile et les fèces.

C'est au niveau du foie que se formerait le facteur P ou C<sub>2</sub>, identifié par GAZAVE comme étant le cis-penta-hydroxy-flavanol ; cependant on a montré la fixation des flavonoïdes adsorbés sur des sites qui, d'une façon générale, «seraient ceux où la présence d'acide ascorbique est indispensable» : protéines sanguines, parois vasculaires, peau, cartilages, capsules surrénales. On sait le rôle que joue l'acide ascorbique dans les oxydations cellulaires, le couple acide l'ascorbique  $\rightleftharpoons$  acide dehydro-ascorbique permettant la

déshydrogénation des métabolites. Les flavonoïdes possédant un couple diphénol se branchent sur ces réactions. On a la réaction globale : acide l'ascorbique + oxyflavone  $\rightleftharpoons$  acide dehydro-ascorbique + flavone. Le facteur C<sub>2</sub> agit comme un catalyseur d'hydrogénation et il économise la dépense d'acide ascorbique par l'organisme. Par exemple, il inhibe la déplétion de la surrénale en acide ascorbique, sous l'effet d'un stress. Cette propriété paraît très importante, car l'administration de facteur C<sub>2</sub> permet d'éviter l'ajout massif de vitamine C dans les régimes déséquilibrés. Ajout massif qui présente deux inconvénients : paradoxalement une avitaminose antiscorbutique car l'organisme s'habitue à éliminer des doses importantes d'acide ascorbique et se trouve en manque dès que le patient revient à un régime normal ; par ailleurs, la maladie oxalique résultant de catabolisme de la vitamine C.

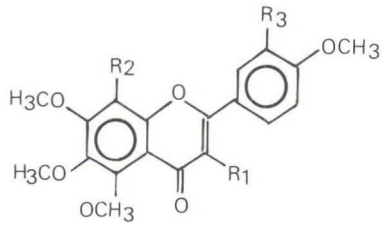
D'une façon plus localisée, l'acide ascorbique jouerait un rôle fondamental dans le maintien de l'intégrité du collagène. Il est indispensable à la maturation des fibroblastes avec apparition de proline, ainsi qu'à la transformation de cette proline en hydroxyproline (LEVENE et col. - 1972-1973). La membrane basale des capillaires sanguins, qui est de nature collagène, se dégrade rapidement en l'absence d'acide ascorbique, ce qui provoque la rupture de la paroi des capillaires. GAZAVE a montré que le facteur C<sub>2</sub>, comme l'acide ascorbique, se fixe au sein de la paroi des capillaires sanguins où il renforce l'action de l'acide ascorbique et l'économise en le préservant de l'oxydation. En retour, ce dernier exerce une potentialisation des propriétés vasculaires du facteur C<sub>2</sub>.

Ces composés diminuent la perméabilité des capillaires et donc les échanges liquidiens et la diffusion des protéines. Par ailleurs, ils ont un effet propre sur les cellules endothéliales en assurant aussi un renforcement de cette structure moléculaire. D'après BEZANGER, «ce renforcement serait obtenu grâce au rôle protecteur des diphénols vis-à-vis des catécholamines participant à la solidité vasculaire».

MERLEN estime que l'on doit considérer dans ce domaine tous les éléments de la microcirculation : artérioles et veinules subissant les variations de perméabilité et de résistance, les capillaires se montrant passifs.

D'après BEZANGER, l'emploi des citroflavonoïdes comme médicaments se justifie «dans tous les cas où l'on peut mettre en cause une diminution de la résistance capillaire : prévention des accidents hémorragiques d'origine hypertensive diabétique (hémorragies rétiniques) ... Les autres indications concernent la perméabilité accrue dans certains troubles : insuffisances veineuses (varices, hémorroïdes, capillarités), œdèmes, ascite des cirrhotiques. Une action anti-inflammatoire peut également être exploitée par inhibition de la formation et de la libération de l'histamine.

Ce sont là les cas principaux faisant appel aux citroflavonoïdes. S'y ajouteraient des propriétés anti-inflammatoires, radioprotectrices. L'activité sur le choc anaphylactique par prolongation de l'action de l'adrénaline et une activité anti-agrégante plaquettaire ont aussi été avancées.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
TANGERETINE	H	OCH <sub>3</sub>	H
TETRA-O-METHYL-SCUTELLAREINE	H	H	H
HEPTAMETHOXY-FLAVONE	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
NOBILETINE	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
SINENSETINE	H	H	OCH <sub>3</sub>

### FLAVONES POLYMETHOXYLEES

ROBBINS, dès 1966, a observé une diminution de l'adhésion intravasculaire des érythrocytes après administration de citroflavonoïdes, la plus grande efficacité étant reconnue aux flavones méthoxylées qui existent à basse concentration dans les Citrus et dans leurs huiles essentielles. De cette propriété résulte une action sur la viscosité sanguine, mise à profit pour combattre des incidents de circulation sanguine pouvant conduire à une insuffisance coronarienne et à l'infarctus du myocarde.

Dans le règne végétal, les phénols, polyphénols, flavones et tannins jouent un rôle de défense contre les agressions tout à fait remarquable, car ces composés sont doués d'une action inhibitrice sur les microbes et les virus. Ces propriétés ont été reconnues de longue date par les hommes, et l'usage du vin (rouge) et du thé (vert) a été un facteur du développement des civilisations. De même que la catéchine ou l'épigallocatechine du thé, les anthocyanoides du raisin, la naringénine et l'hespérétine des Citrus ont des propriétés germicides qui ont été reconnues. Les flavones polyméthoxylées, qui existent dans l'huile essentielle des Citrus - tengérétine, nobiletine, sinensétine - sont aussi douées d'une activité antimicrobienne et antivirale. Avec les autres composés de l'huile essentielle, elles font partie de l'arsenal de résistance des Citrus aux infections.

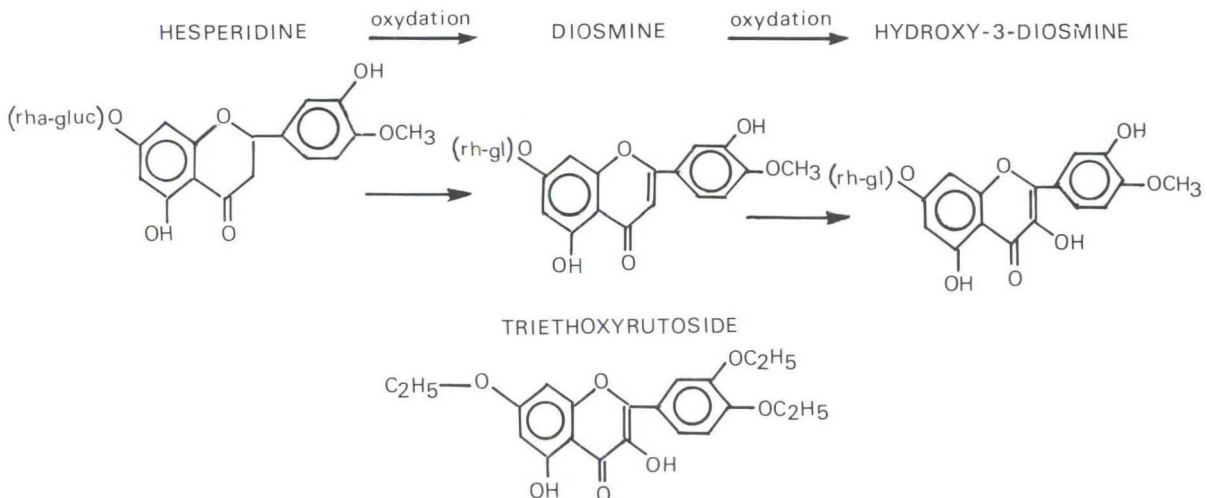
Tous les effets pharmacodynamiques que nous avons signalés n'ont pas fait l'unanimité du monde médical. Il y a pour cela au moins trois raisons.

La première, celle dont nous avons déjà parlée, est l'hétérogénéité des préparations introduites dans la formulation des drogues. Une plus grande rigueur dans la connaissance chimique de ces extraits permettrait d'améliorer les procédés de préparation et donc leur efficacité.

La seconde est liée à la très large diffusion des flavonoïdes dans le règne végétal. Si bien qu'il est très difficile, au cours de l'expérimentation sur les animaux, d'introduire un régime «témoin» sans flavonoïdes.

La troisième réside dans la douceur de leur action. Comme beaucoup de drogues utilisées en phytothérapie, leur activité peut paraître à la limite de l'efficacité. Si, en général, une innocuité totale leur est reconnue, cela ne suffit pas. Aussi apparaissent actuellement des composés semi-

### CITROFLAVONOIDES D'HEMISYNTHESE



synthétiques dont la biodisponibilité est renforcée ; diosmoside, obtenu par l'oxydation de l'hésperidoside, triéthoxyrutoside, éthoxasorutine.

En dehors de la recherche de toute action thérapeutique, mais à titre préventif, les composés flavoniques confèrent aux Citrus une place de choix dans une alimentation équilibrée.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AVROJO (P.E.).  
Role of Citrus fruit in human nutrition.  
*in Citrus Science and Technology*, vol. I, 1977, p. 22-23.
2. BEZANGER (L.).  
Citroflavanoïdes et dérivés d'hémisynthèse.  
*Plantes médicinales et phytothérapie*, 1977, Tome XI, n° spécial, p. 152-157.
3. GAZAVE (J.M.) et PARROT (J.L.).  
Acide ascorbique et agrumes dans l'alimentation humaine.  
*FRUITS*, vol. 30, n° 2, 1975, p. 103-112.
4. GAZAVE (J.M.).  
Le complexe vitaminique C contenu dans les fruits.  
*FRUITS*, vol. 32, n° 4, 1977, p. 275-284.
5. HUET (R.).  
Sur quelques méthodes de dosage des flavanones.  
*Les Cahiers de la Recherche agronomique*, n° 11, p. 45-52, 1961.
6. MARIE (J.L.).  
Les substances à «activité vitaminique P» (notamment les flavanoïdes). Chimie et Pharmacologie.  
*Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Paris V, 26 mars 1982.*
7. PARIS (R.), GRAMOND (J.P.) et ROUSSELET (R.).  
Sur l'analyse des citroflavanoïdes.  
*Plantes médicinales et phytothérapie*, 1972, Tome VI, n° 4, p. 292-298.
8. TING (S.V.) et col.  
Determination of some methoxylated flavones in Citrus juices by high performance liquid chromatography.  
*J. of Food Science*, vol. 44, n° 11, 1979, p. 69-71.
9. SINGLETON (V.L.).  
Naturally occurring food toxicants : Phenolic substances of plant origin common in foods.  
*in Advances in Food Research*, vol. 27, p. 149-242, 1981.
10. ZAMORANI (A.) et col.  
I Componenti amari degli Agrumi : Flavonoidi et Limonoidi.  
*Essenze Derivati Agrumari*, XLVII, n° 1, 1977, p. 23-52.

