

Métabolites secondaires

Ref. Buchanan, Cap. 24

Les métabolites secondaires (ou produits naturels des plantes)

Les métabolites secondaires:

-Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les **relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction.**

-Ils sont différents dans les différentes espèces

Au contraire les métabolites primaires:

-ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal

-se retrouvent dans toutes les espèces

La différence entre les deux catégories peut être très petite ou arbitraire (dépend du niveau de connaissance)

Fonction des métabolites secondaires

Il ont des fonctions très différents, exemples:

-Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (menthe par exemple)



-Attraction des pollinisateurs



-Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance)



-Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc.

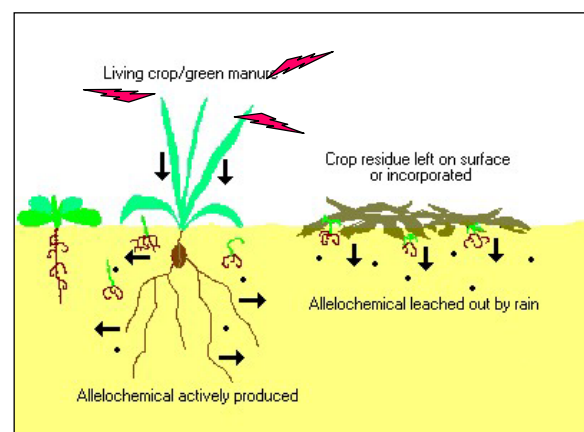
Réponses allélopathiques

L'allélopathie est l'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre (micro-organismes inclus) au moyen de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

Les plantes compétent les unes avec les autres pour obtenir le soleil et les substances nutritives.

Elles ont évoluées des mécanismes pour conquérir son propre espace.

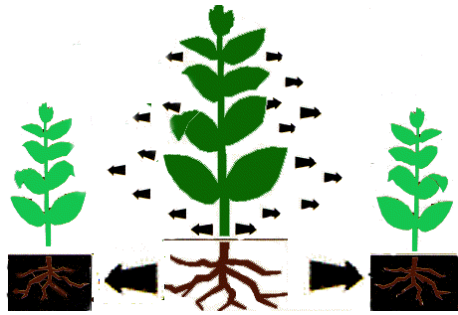
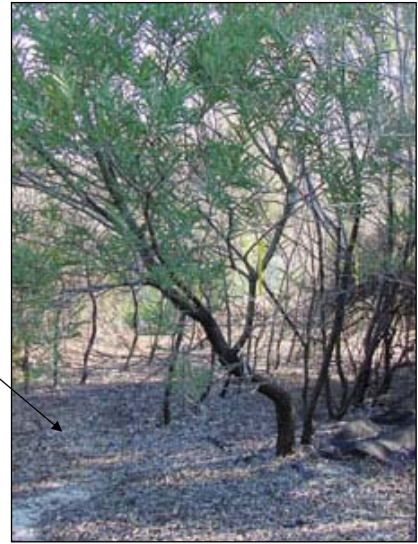
Le composés allélopathiques sont libérés dans l'air ou dans le sol.



Exemples

• *Acacia pruinocarpa* produit des composés allélopathiques qui empêchent la croissance des autres plantes compétitrices.

• Quand une graine germe, il peut libérer des substances qui inhibent la germination des autres plantes de la même espèce



Des recherches envisagent l'utilisation des composés allélopathiques comme herbicides ou pesticides naturels.

Types et origine des métabolites secondaires

On peut identifier trois types de métabolites secondaires:

	<u>Ils dérivent de:</u>	<u>No de différent molécules caractérisées</u>
-Terpénoïdes	→ l'IPP (isopentenyl diphosphate), une molécule à 5 C	→ 25000

-Alcaloïdes	→ Acides aminés	→ 12000

-Molécules phénoliques	→ Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	→ 8000

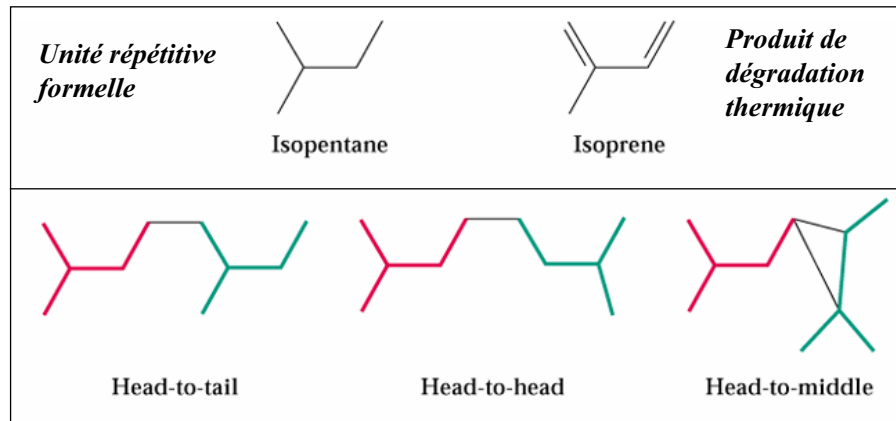
Ces voies synthétisent aussi des métabolites primaires

Les terpénoïdes

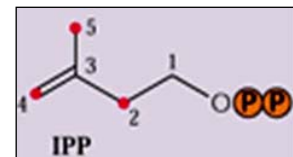
Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de charbon. Le nom a origine historique car les premiers membres du group ont été isolés de la térébenthine (terpentin)



-Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur dégradation thermique libère le gaz isoprène. Mais l'isoprène n'est pas le vrai précurseur des isoprénoïdes.



Précurseur:



Isopentenyl diphosphate

Classification des terpénoïdes

Ils sont distingués dans des différents classes selon le nombre de unités isopréniques qu'ils contiennent.

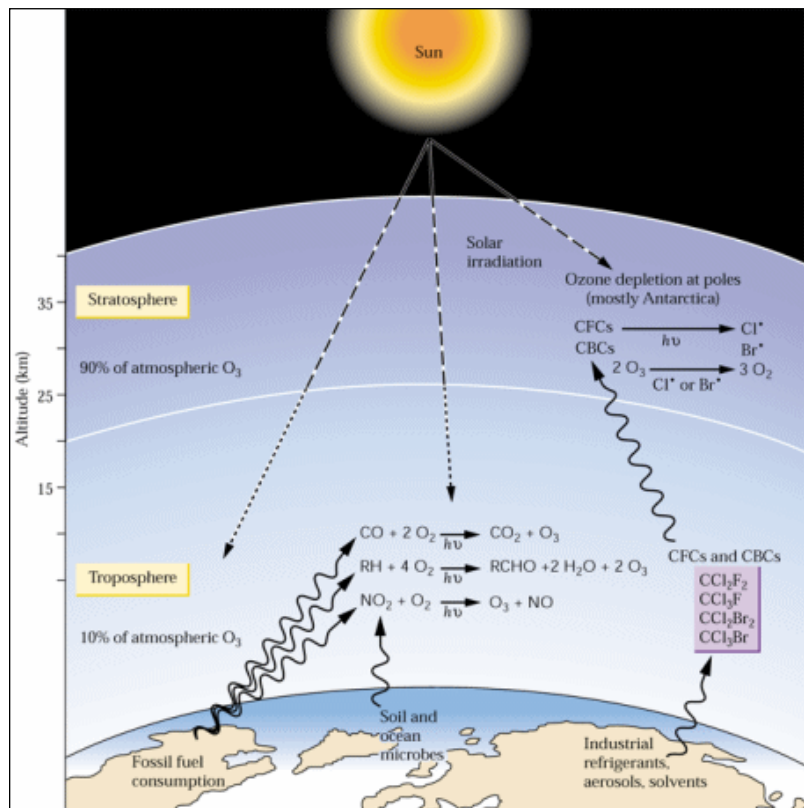
L'unité de numération est basée sur le premier terpénoïde isolé en 1850 qui était un C10.

Nom	no unité 5 x C	Exemple de molécule
EM iterpenes	1	Isoprène
MONO terpenes	2	Aromes volatiles, parfums
SESQUI terpenes	3	Phytoalexines
DI terpenes	4	Phytole, giberellines, phytoalexines, molécules avec action pharmacologique
TRI terpenes	6	Brassinostéroïdes, steroles de membrane, certains toxines
TETRA terpenes	8	Caroténoïdes
POLI terpenes	>8	Plastoquinones, ubiquinones, polymère (latex)

Isoprène

L'enzyme isoprène synthase est présent dans les chloroplastes de nombreuses plantes C3 mais on ne sait pas quelle est sa fonction. L'émission annuelle d'isoprène est estimée sur les 5×10^8 tonnes/an et a une grande influence car il favorise la production d'ozone dans la troposphère. Celui-ci est un agent polluant à cause de son action oxydante.

(L'ozone stratosphérique, par contre, a une action de filtre UV bénéfique pour la biosphère)

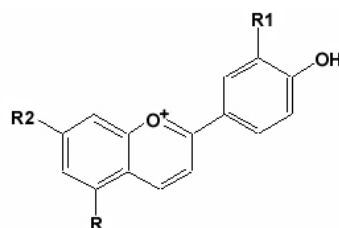


Les Phytoalexines

Les phytoalexines sont des molécules synthétisées par les plantes en réponse aux parasites (champignons en particulier);

Elles ont une fonction antibiotique pour stopper la croissance du pathogène

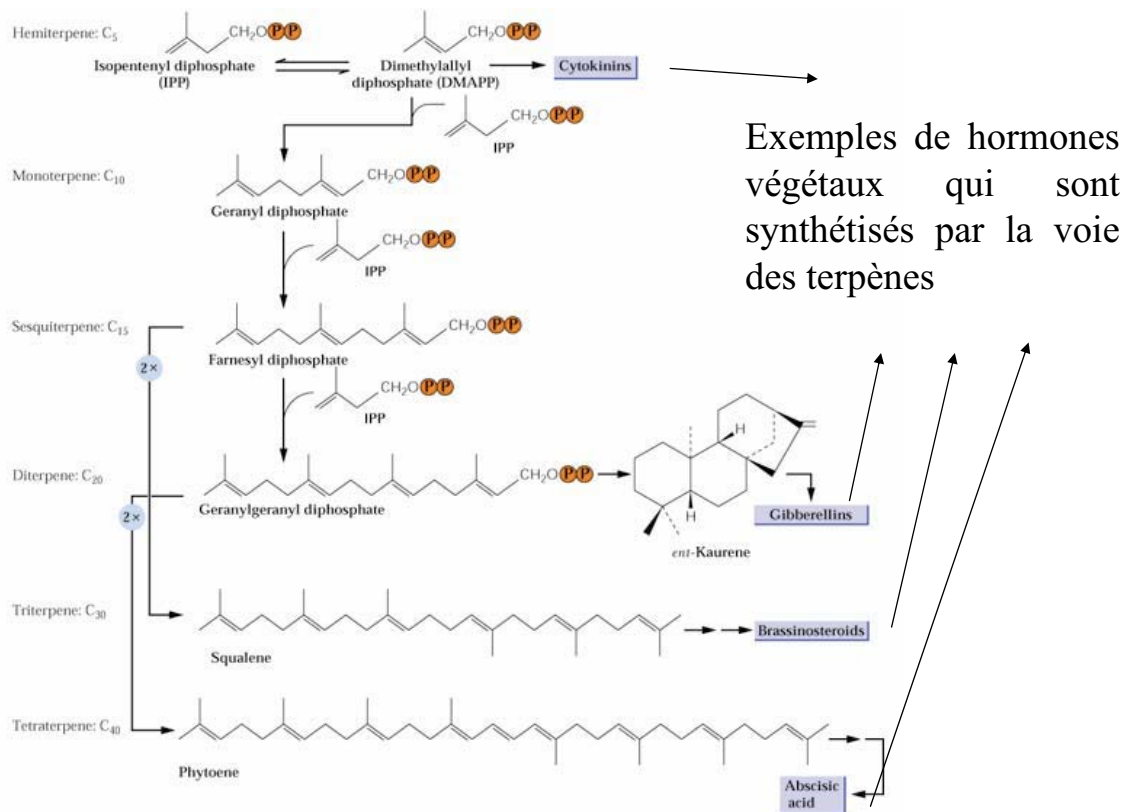
Ils sont souvent des molécules phénoliques (voir après)



R=OH, R1=H R2=OH; Apigeninidin
 R=OH, R1=OH R2=OH; Luteolinidin
 R=OCH3, R1=OHR2=OH; 5-Methoxyluteolinidn
 R=OH, R1=H, R2=CH3; 7-Methylapigeninidn



Les hormones végétaux



Les hormones végétaux

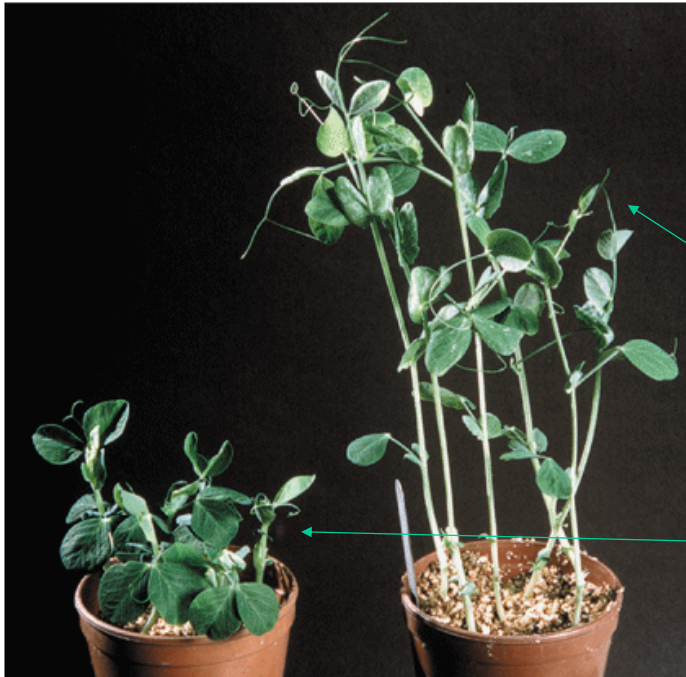
- Molécules signaux
- Ils influencent le développement des plantes
- Leur action est souvent influencé par les conditions environnementales

Ils ne sont pas des métabolites « secondaires! », ils sont indispensables au développement

Ça montre comment la distinction entre produits secondaires et primaires est tout à fait subtile

Gibbérellines (Di-terpènes)

Elles sont des hormones végétaux. Elles sont impliquées dans beaucoup de réponses chez les plantes



Ex. 1, Elles poussent l'allongement de la tige

Plantes traitées avec gibbérellines

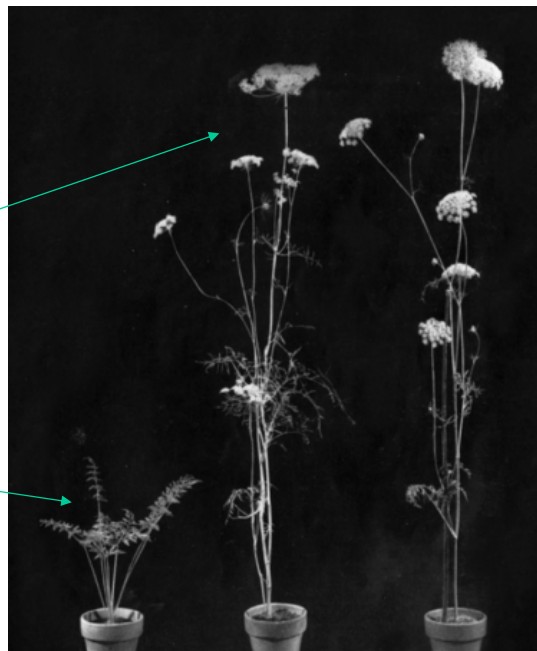
Plantes contrôle

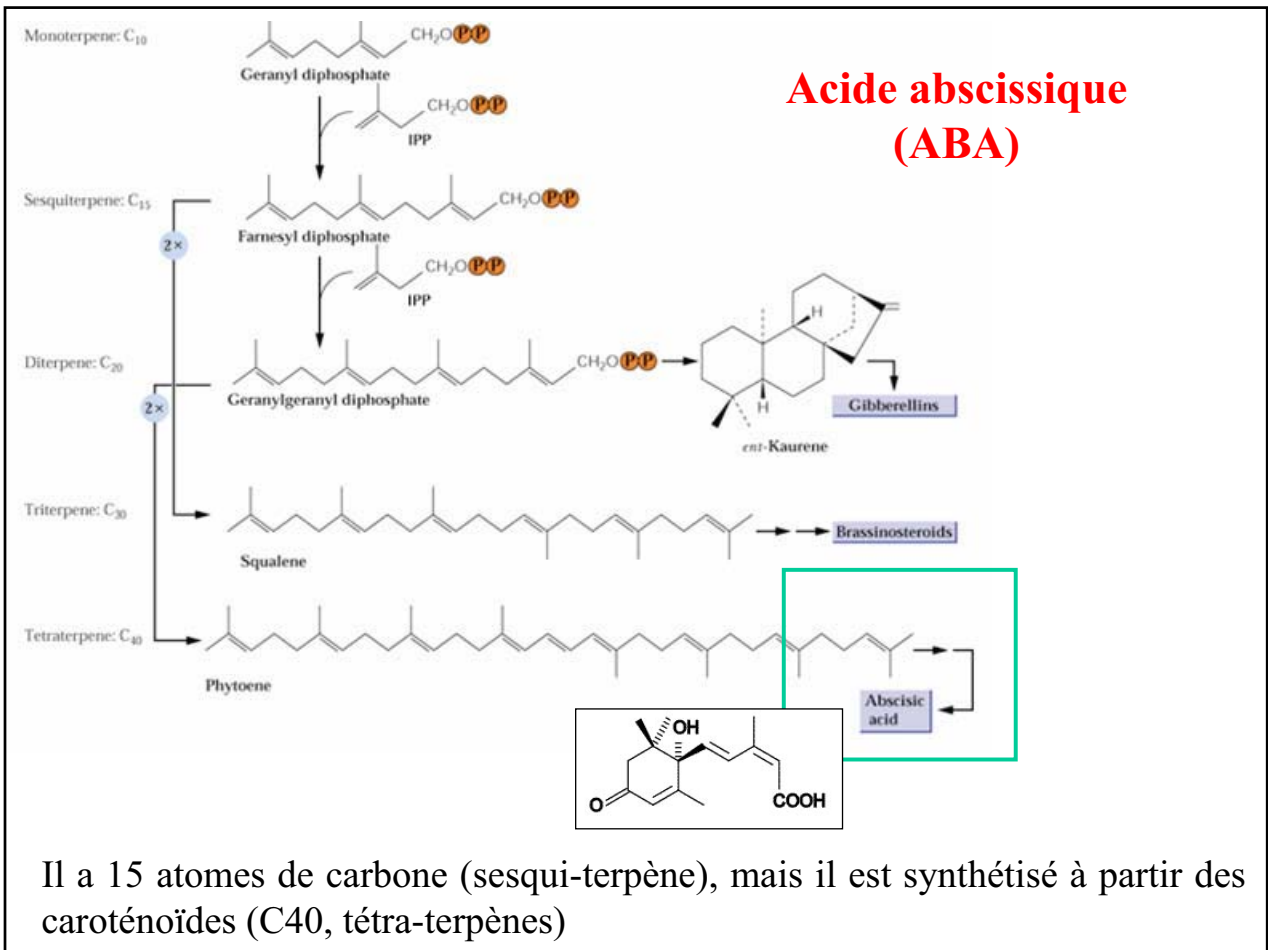
Gibbérellines (Di-terpènes)

Ex. 2, Elles stimulent la floraison

Plantes traitées avec gibbérellines

Plantes contrôle





Acide abscissique

Il stimule des différentes réponses:

- développement et maturation des graines
- tolérance de la déshydratation
- fermeture des stomates

(A) Feuille contrôle

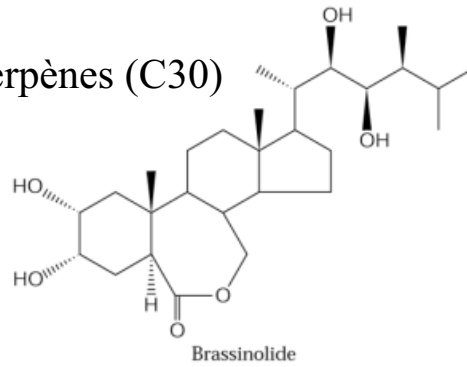


(B) Feuille traitée avec ABA

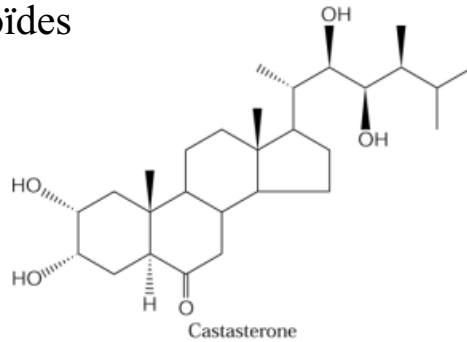


Brassinostéroïdes

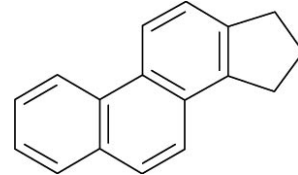
Ils sont des tri-terpènes (C30)



Ils sont des stéroïdes



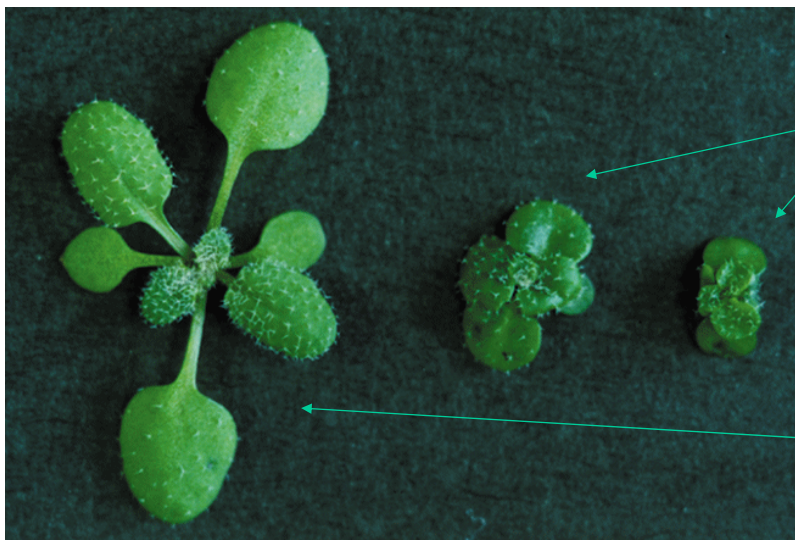
Stéroïdes: tous les lipides possédant un noyau cyclopentanophénanthrénique ou dérivant de celui-ci



Brassinostéroïdes

Ils sont importants dans le développement morphologique

Ex. Allongement des cellules végétales



Plantes qui ne synthétise pas Brassinostéroïdes (naine)

Plante sauvage

Biosynthèse terpénoïdes

La synthèse a quatre parties:

- 1- Synthèse du IPP
- 2- Condensation des unités de IPP
- 3- Elaborations du squelette
- 4- Modifications secondaires

Biosynthèse des terpènes

Beaucoup de composés secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des cellules spéciales, vésicules spécifiques ou dans la vacuole.

La synthèse a lieu dans le cytosol/ER

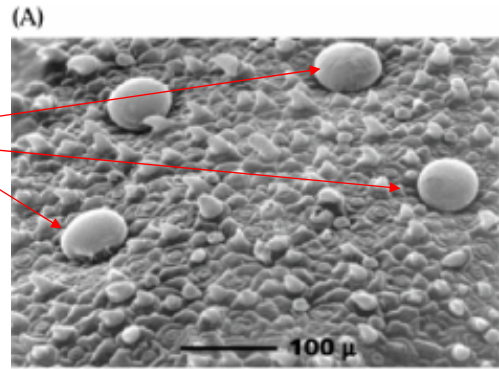
Sesqui (C15), Tri (C30), poly

ou les plastes

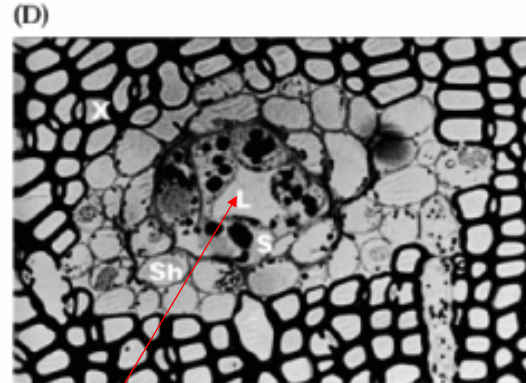
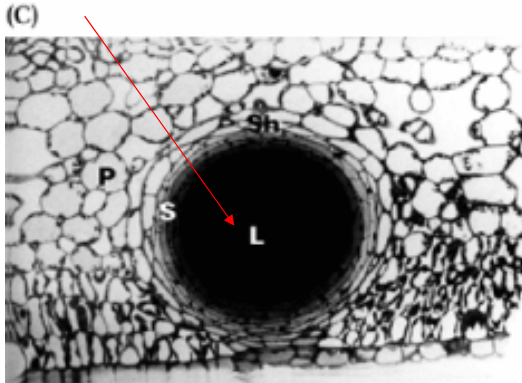
Isoprène, mono (C10), di (C20), tétra (C40).

Biosynthèse des terpènes

Feuille de thym: trichomes glandulaires où sont synthétisés les mono et sesquiterpènes qui sont responsable des arômes

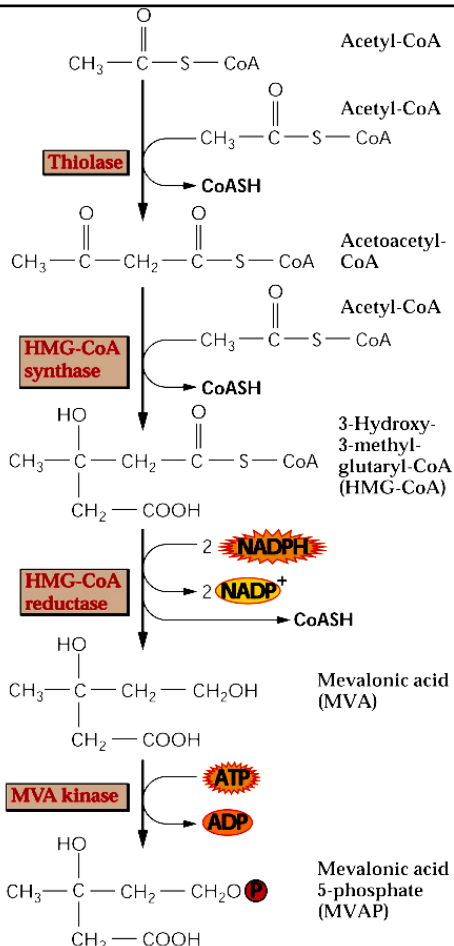


Feuille de citron: cavité de sécrétion



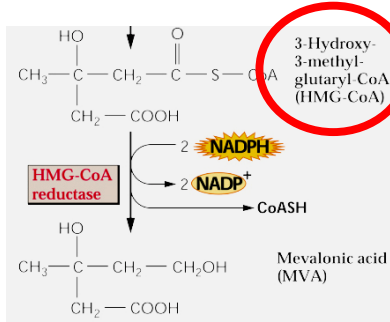
Tuyau résinifère du pin

Synthèse de l'IPP dans le cytosol/ER

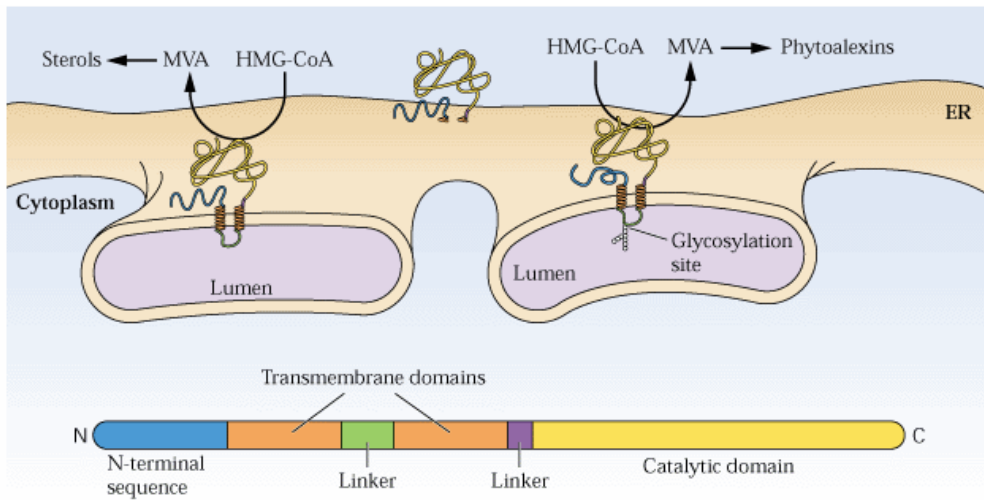


La synthèse dans le cytosol est connue sous le nom se «Voie de l'acétate/mévalonate» (le premier intermédiaire découvert).

Cet enzyme a une régulation très complexe.
Il est composé des différents sous-unités, et il y a plusieurs gènes pour chacune



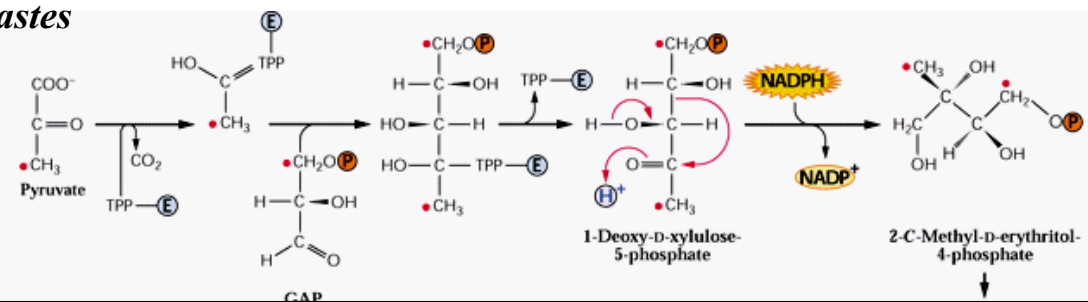
Chaque gène a une contrôle spécifique (ex. induction dans un tissu spécifique, dans une phase du développement, en réponse à une hormone ou à l'attaque des pathogènes)



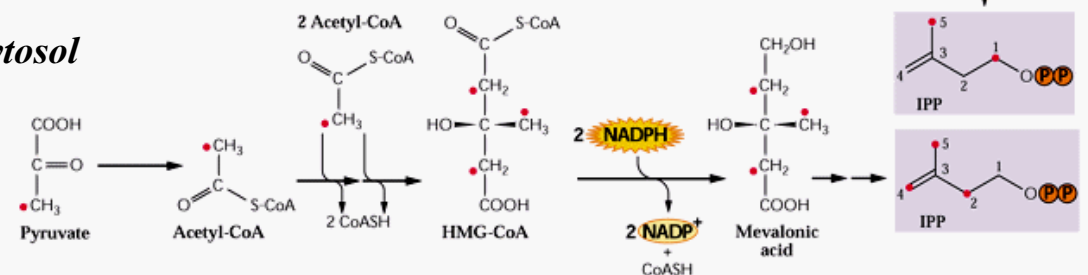
Synthèse du IPP dans les plastes

Il y a une voie de synthèse différente dans les plastes (pyruvate/glycéraldéhyde 3P)

Plastes

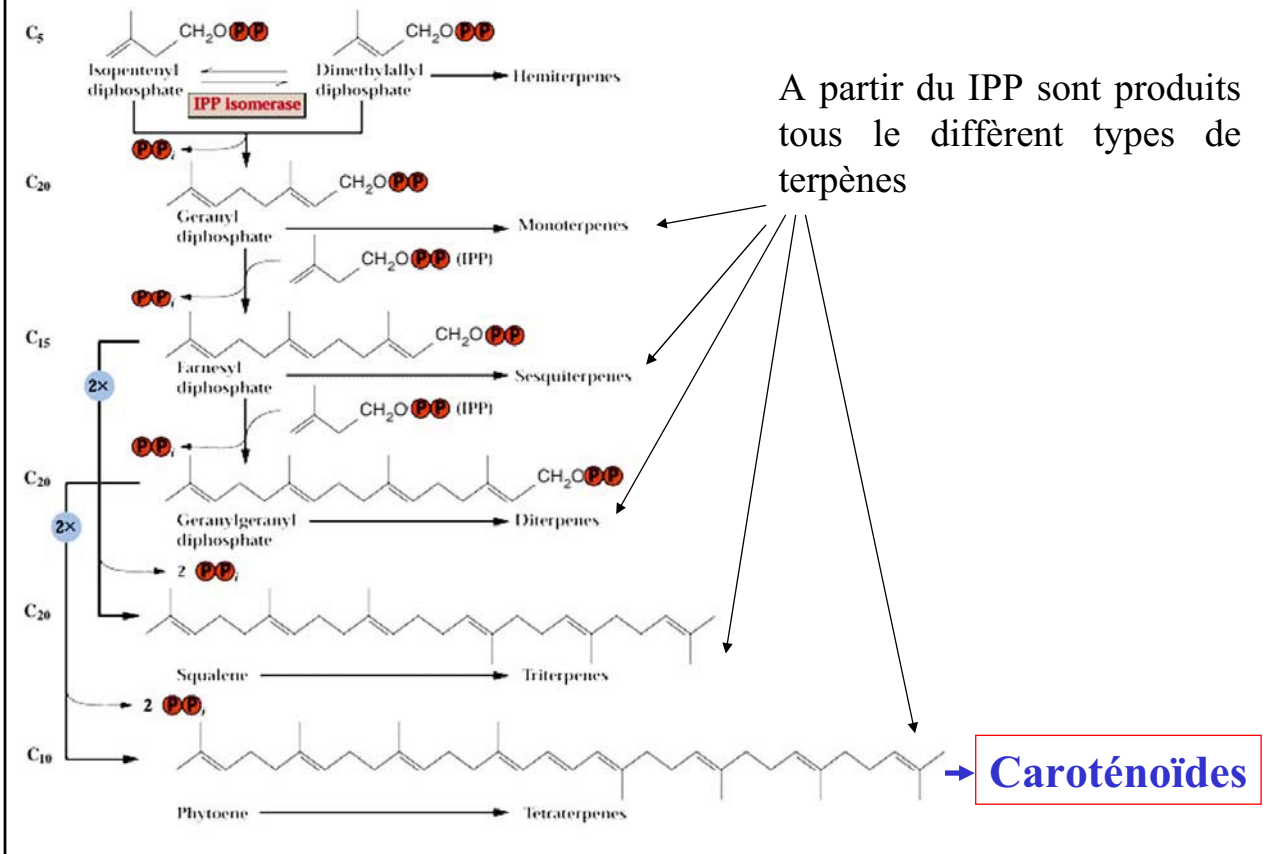


Cytosol



Cette voie a une origine probablement bactérienne, son organisation a été clarifiée par marquage ¹³C et RMN.

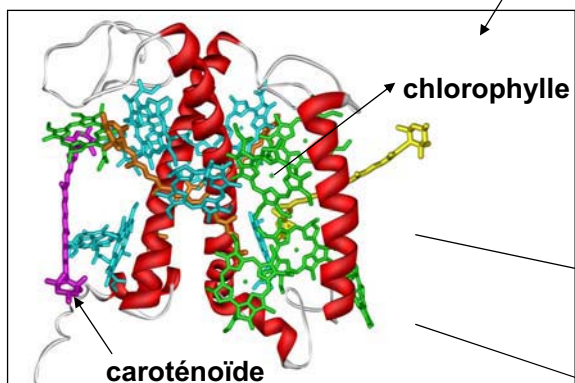
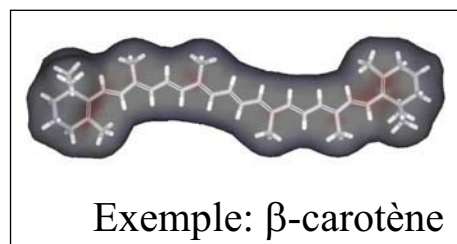
Condensation des unités isopréniques



Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont présent en grande quantité chez les chloroplastes aussi, mais la couleur est couverte par celle des chlorophylles.

Les caroténoïdes dans les deux types de plastes sont organisés de façon très différente: dans les chromoplastes ils sont organisés en cristalloïdes; dans les chloroplastes ils sont liés à des protéines où ils ont une fonction notamment dans la photoprotection.



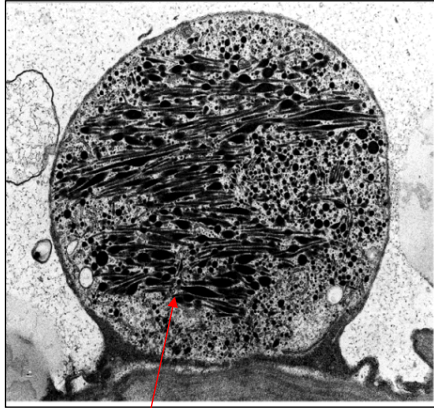
Capture de la lumière **Photoprotection**



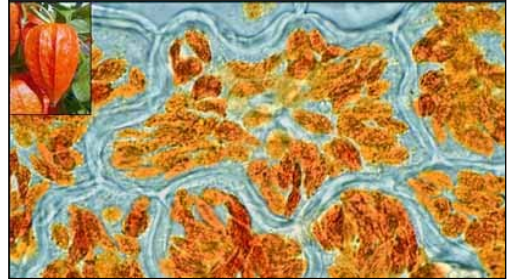
Chromoplastes: les plastes colorés

Ils sont des corpuscules colorés en jaunes, orange ou rouge. La couleur dépend de la combinaison de caroténoïdes contenus.

Présents dans les fruits (tomates, oranges, citrons), les fleurs, les racines (carotte, pomme de terre) aux quels donnent la pigmentation.

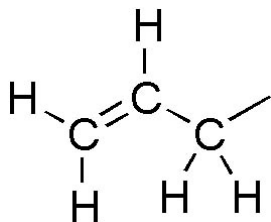
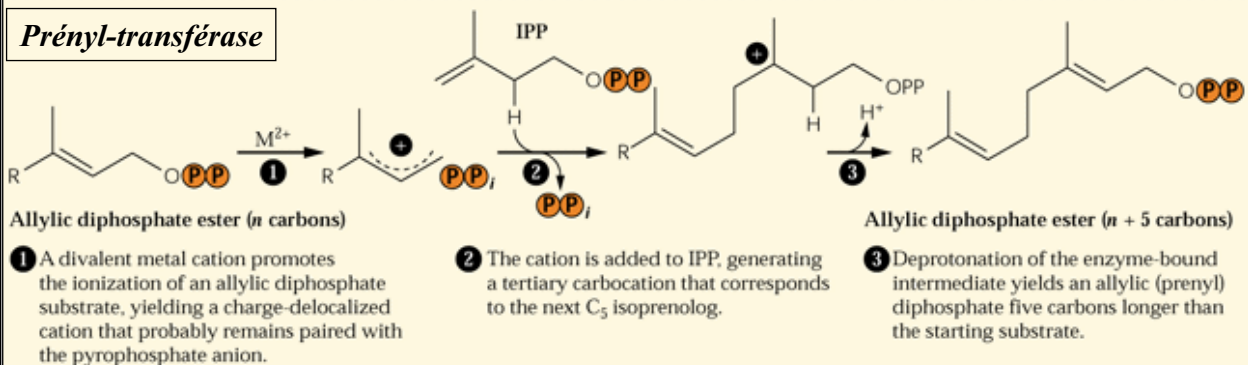


Caroténoïdes



Les enzymes *prényl-transférase* et *terpène synthase* sont responsable de la diversification des terpénoïdes par deux réactions opérées sur des différents substrats: l'une de l'addition répétitive d'unités C₅, l'autre de la cyclisation. Les deux réactions sont basées sur la formation de carbocations assistée par des ions métalliques, suivies par le collapsé.

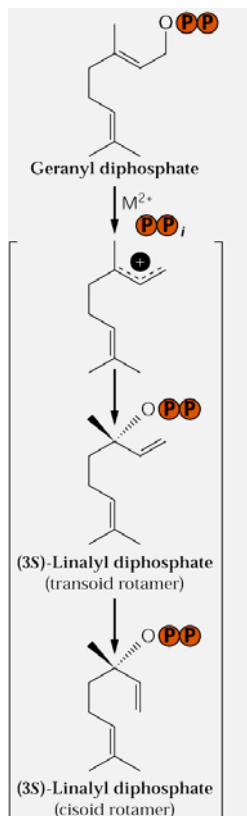
Prényl-transférase



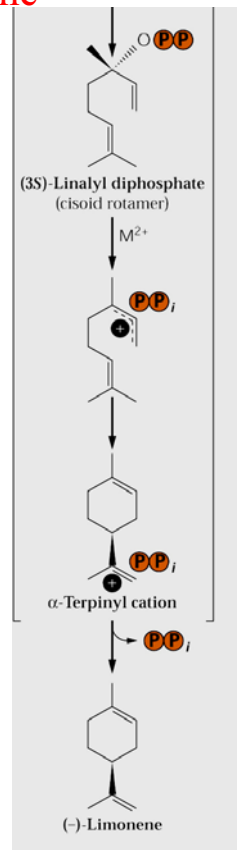
Groupe allylique

Elaborations du squelette

Ex. de production d'un terpénoïdes: limonène

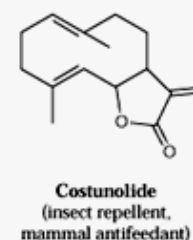
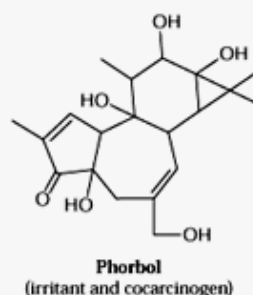
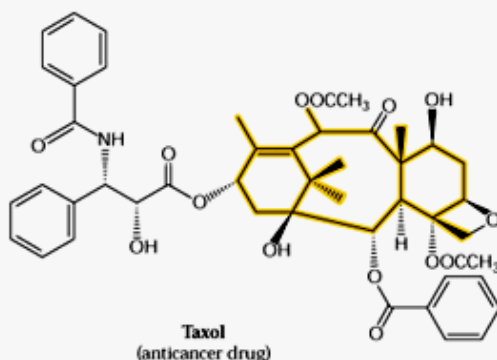
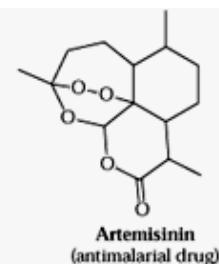
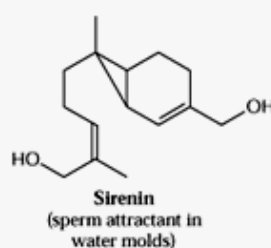
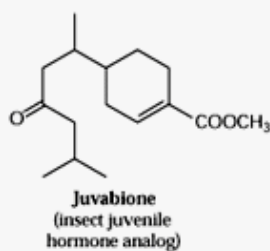


L'enzyme limonène synthase est le prototype des différentes *terpène synthases* responsable de cyclisations. Ces réactions impliquent la formation d'un carbocation induit par un ion métallique divalent et d'un anion délocalisé qui collapent avec la formation d'un intermédiaire allylique tertiaire (linalyl pyrophosphate). Cette isomérisation permet la rotation sur la liaison C2-C3 et la formation d'une structure stérique compatible avec la cyclisation par un intermédiaire carbocation



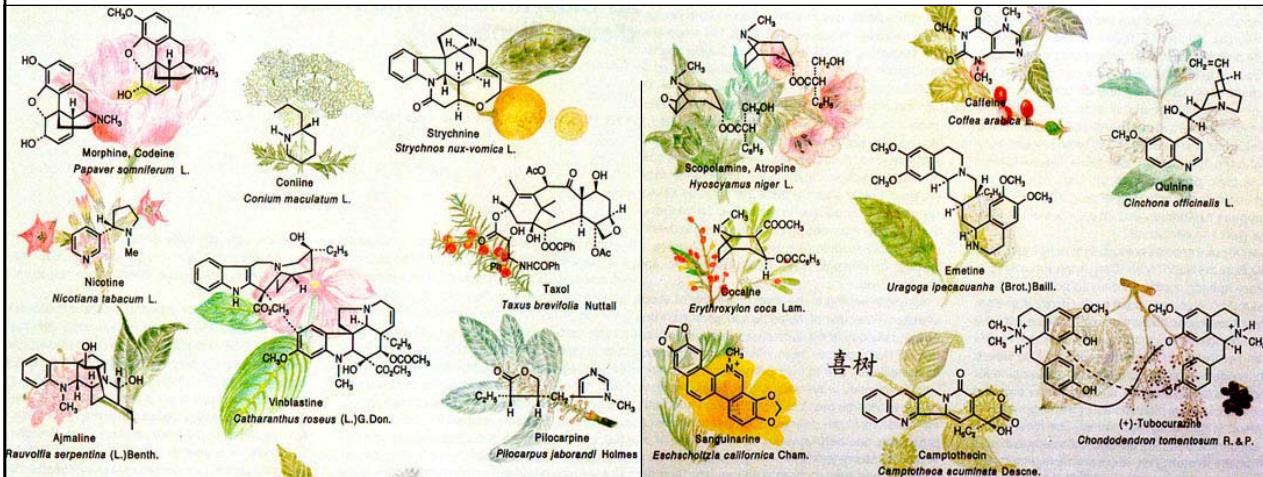
Modifications secondaires

Des modifications secondaires des composés cycliques parentaux produisent des milliers de composés dont la fonction est souvent directe contre des étapes du métabolisme animal et définie par sélection



Les Alcaloïdes

La définition originale de « alcaloïde » est la suivante:
produits d'origine végétale, basiques, contenant azote et pharmacologiquement actifs
 (1806, Friedrich Serturner; 1819, Carl Meissner)



En réalité plusieurs alcaloïdes ne sont pas ni alcalines, ni pharmacologiquement actifs pour les mammifères.

Les alcaloïdes sont connus depuis des milliers d'années

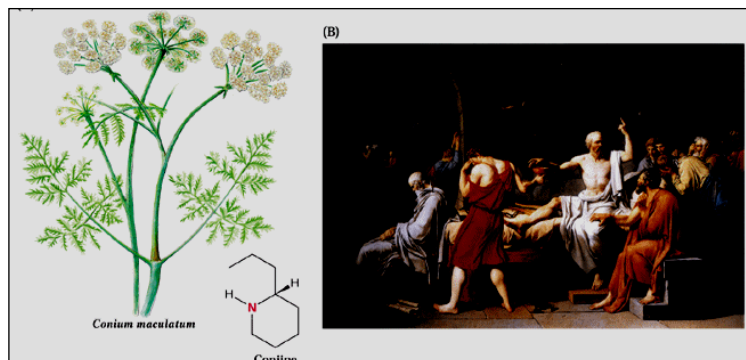
Ils ont été et sont utilisés comme:

Drogues:
 (morphine et codéine sont contenues dans le latex du pavot (opium))



Papaver somniferum

Poisons:
 (la ciguë contient coniine)

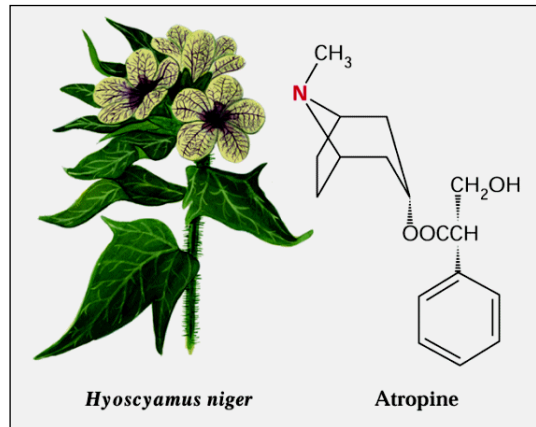


Cicuta maculata

Coniine

Médical:

L'atropine est utilisée par ex. pour dilater les pupilles



Les alcaloïdes sont utilisés aussi comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante/stimulante (curare, caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mescaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine)....



Les alcaloïdes sont présents aussi dans certains champignons et quelques animaux

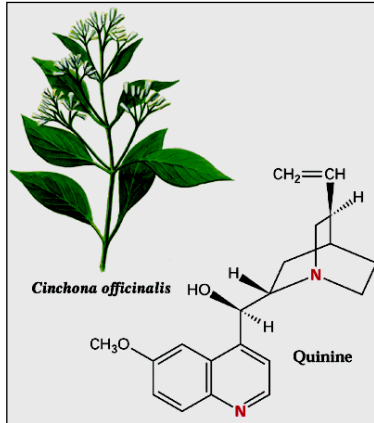
Pourquoi une plante devrait-elle investir autant d'azote dans la synthèse de composés avec des structures différentes?

La réponse la plus partagée est que ces composés soient actifs dans la défense des plantes

Les effets physiologiques sur les animaux sont souvent en accord avec cette hypothèse.

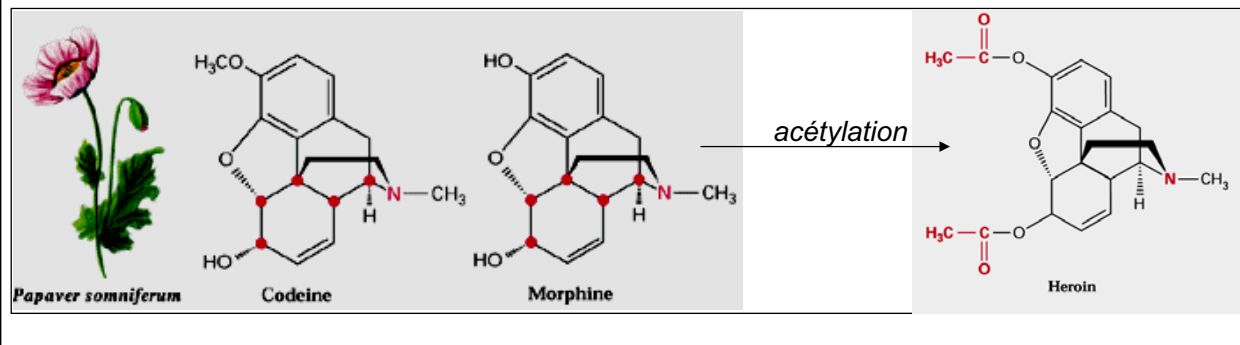
- Dès la découverte de la morphine, plus que 12.000 alcaloïdes ont été isolés.
- Le 20% des plantes à fleurs produit des alcaloïdes spécifiques.
- Certaines plantes, comme *Catharanthus roseus*, produisent jusqu'à une centaine d'alcaloïdes indoliques mono terpéniques.

Les alcaloïdes isolés à partir des plantes ont souvent été utilisés comme précurseurs d'une série de molécules d'intérêt pharmaceutique développés par modification chimique de la molécule de base.



L'intérêt d'utiliser les composés des plantes comme base pour le développement de nouveaux médicaments, insecticides, bactéricides, antifongiques consiste dans deux considérations principales:

- Ces organismes sont des prédateurs ou pathogènes des plantes, qui ont développé des défenses appropriées.
- Les mécanismes physiologiques des plantes sont suffisamment différents de ceux des autres organismes pour que plusieurs composés de défense puissent être synthétisés sans danger pour la plante même.



Nicotiana tabacum

Nicotine

The image shows a tobacco plant with green leaves and yellow flowers. Below it is the chemical structure of Nicotine, consisting of a pyridine ring and a pyrrolidine ring connected by a methylene bridge.

La nicotine est un des insecticides plus efficaces. Sa synthèse est stimulée par les blessures induites par les herbivores.

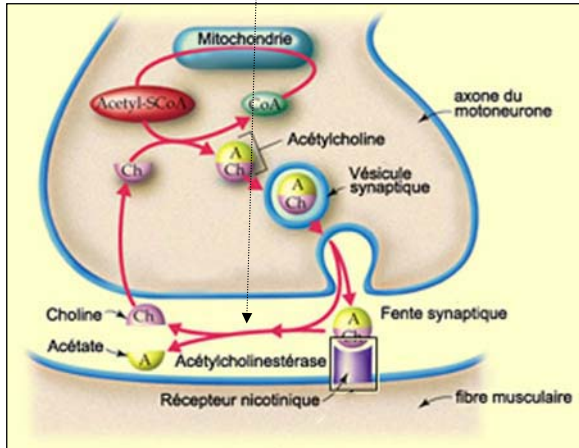
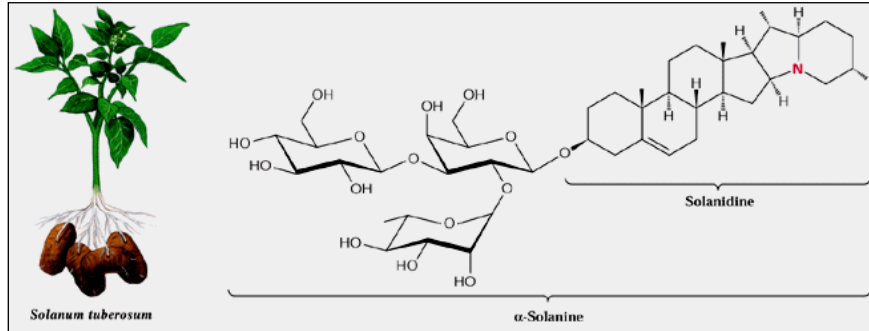
Coffea arabica

Caffeine

The image shows a branch of Coffea arabica with green leaves and white flowers. Below it is the chemical structure of Caffeine, a purine alkaloid with three methyl groups attached to the nitrogen atoms.

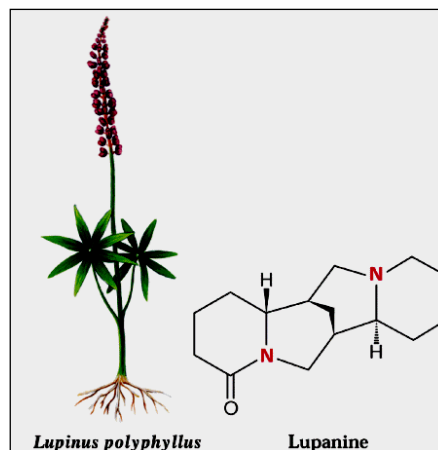
La caféine, présente dans les graines de cacao, café, cola, thé et maté tue presque la totalité des larves de Sphinx (*Manduca sexta*) en 24 heures. Son effet inhibiteur sur la *phosphodiesterase*, un enzyme impliqué dans la signalisation par le cAMP.

L'action tératogène de la solanine est due à son effet inhibiteur sur la *acétylcholinestérase*, un enzyme impliqué dans la signalisation par l'acétylcholine



L'activation continue d'un signal deviens toxique.

Les alcaloïdes de la famille des quinolizidines sont toxiques pour les mammifères, notamment les brebis.



Responsables de certains cas d'empoisonnement des brebis en automne quand les plantes portent les graines qui accumulent les lupanines. Leur saveur amer est un fort déterrent, ce qui prouve leur fonction de défense.

Les difficultés de la recherche sur les alcaloïdes

- Les molécules et les intermédiaires des voies synthétiques sont souvent très complexe. (du 1828 au 1904 pour la structure de la nicotine, du 1802 au 1952 pour la structure de la morphine)
- Les alcaloïdes s'accumulent sans être utilisés donc leur débit de synthèse peut être très faible et le concentration des enzymes encore plus.
- Les fortes quantités de phénols qui s'accumulent dans la plupart des plantes inactivent les enzymes pendant leur extraction des tissus.

Quelque solution

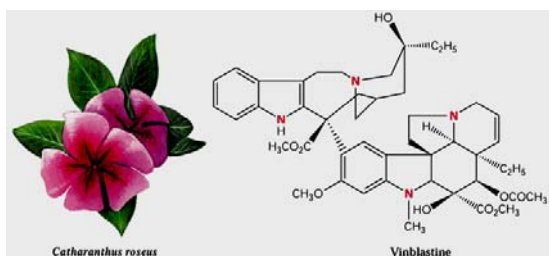
- 1) Utiliser des cultures cellulaires comme matériel de départ (les tissus non-différenciés produisent peu de phénols et, souvent, plus alcaloïdes)
- 2) Trouver un système d'induction spécifique de la voie biosynthétique (ex. un éliciteur)



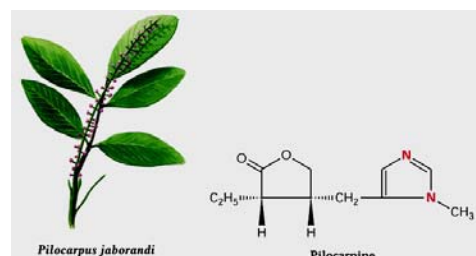
Les difficultés des cultures cellulaires

Plusieurs alcaloïdes ne se pas synthétisés en quantité significative en culture (es. vincristine, vinblastine, pilocarpine, morphine et codéine)

Probablement l'expression des gènes codant les enzymes de la voie biosynthétique sont exprimés de façon tissu-spécifique et/ou induits par le stress biotique/abiotiques.

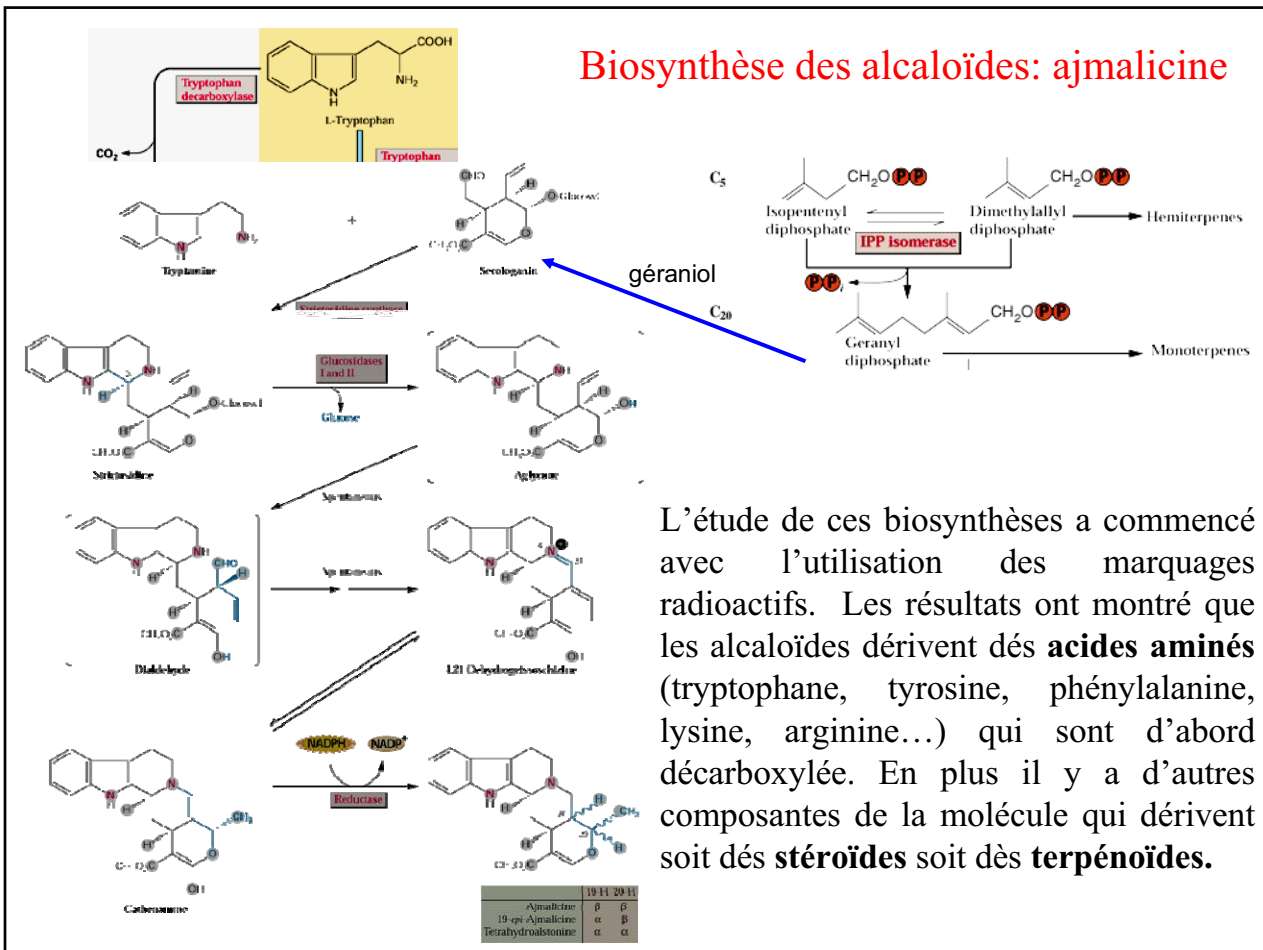


Anticancéreux utilisé dans certains cas de leucémie



Antiépileptique.

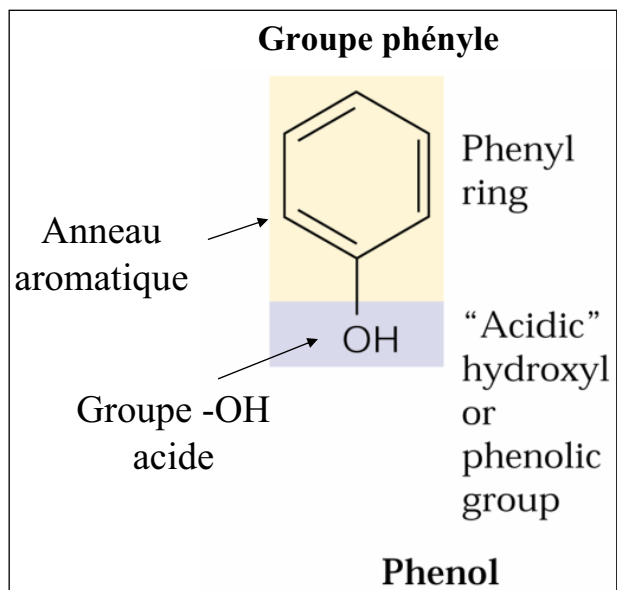
Biosynthèse des alcaloïdes: ajmalicine



L'étude de ces biosynthèses a commencé avec l'utilisation des marquages radioactifs. Les résultats ont montré que les alcaloïdes dérivent des **acides aminés** (tryptophane, tyrosine, phénylalanine, lysine, arginine...) qui sont d'abord décarboxylée. En plus il y a d'autres composantes de la molécule qui dérivent soit des **stéroïdes** soit des **terpénoïdes**.

Les Molécules Phénoliques

Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants.



Dans l'air ces groupes sont facilement oxydés.

Ils peuvent former des complexes avec les protéines et donner beaucoup de problèmes dans les extractions des protéines ou de l'ADN

-Ils sont typiques des plantes vasculaires, qui ont colonisées l'environnement aérien: le contenu en composés phénoliques est minimale chez les algues

Ils ont beaucoup des fonctions différents dans les différentes espèces:

- Défense contre les pathogènes
- Molécules de dissuasion alimentaire
- Attraction des pollinisateurs
- Protections des rayonnements UV
- Molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes
- Rôle structurel (ex. lignine, constituante du bois)

-Ils constituent le 40% du charbon organique dans la biosphère: à cause de la lenteur de leur minéralisation dans le terrain, cette phase constitue l'étape limitante du cycle du carbone dans la biosphère. Cette caractéristique permet la présence du «terrain organique», le plus fertile pour les cultures et le plus résistant à l'érosion et la solubilisation.

Quelques classes de molécules phénoliques:

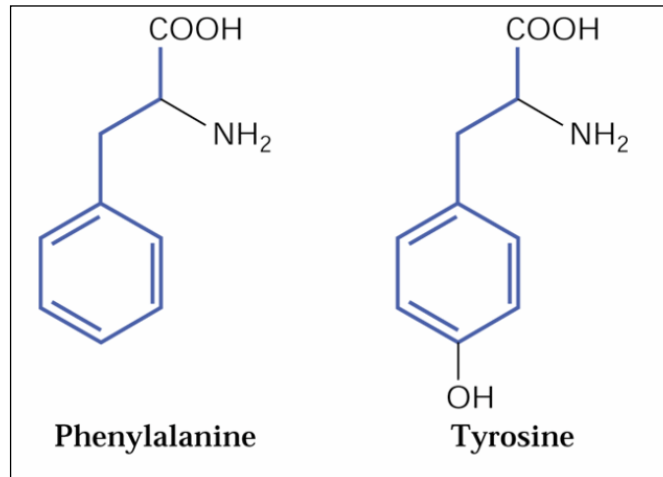
Lignines:	Rôle structurel
Lignanes:	Défense des pathogènes, antioxydants
Flavonoïdes:	Pigments, produits de défense, molécules signal

Molécules phénoliques - Biosynthèse

Comme les autres métabolites secondaires, chaque espèce produit un groupe spécifique de molécules

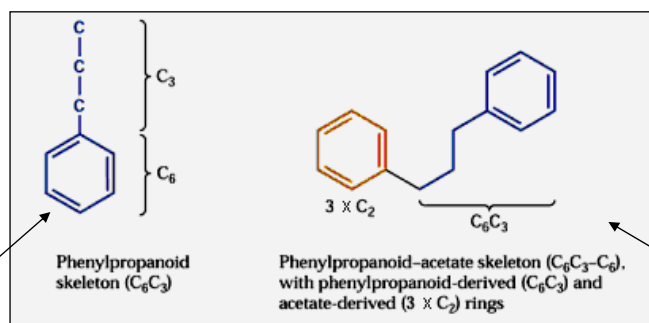
Donc les voies biochimiques sont aussi en partie espèce-spécifiques

La plus grande partie des molécules dérive de la voie des phénylpropanoïdes. Cette voie se départ de la tyrosine et la phénylalanine



Molécules phénoliques - Biosynthèse

Les molécules base de cette classe de composés sont souvent (mais pas toujours):

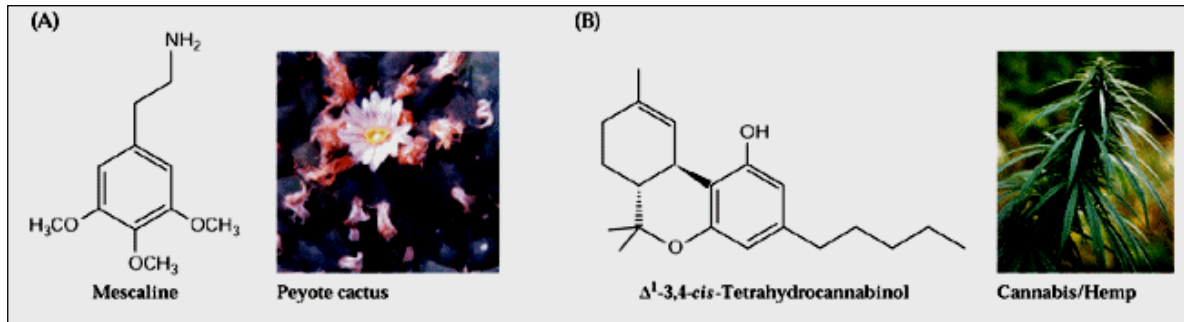


Phénylpropanoïde

Phénylpropanoïde-acétate

Les composants de cette classe ont des propriétés chimiques différentes: ils peuvent être hydrophiles, hydrosolubles ou des larges polymères insolubles

Des molécules phénoliques ne dérivent pas de substrats phénylpropanoïdes



Oui

Non, c'est dérivé par addition successive d'unités d'acétyl-CoA dérivées du malonyl-CoA

Molécules phénoliques - Biosynthèse

Voie de l'acide shikimique

- Tyrosine et Phénylalanine dérivent de la voie de l'acide shikimique
- Synthèse à partir de molécules intermédiaires de la glycolyse ou de la voie des pentoses phosphate
- Voie présente dans les plantes, les champignons, les bactéries mais pas chez les animaux (les acides aminés aromatiques sont essentiels dans l'alimentation)

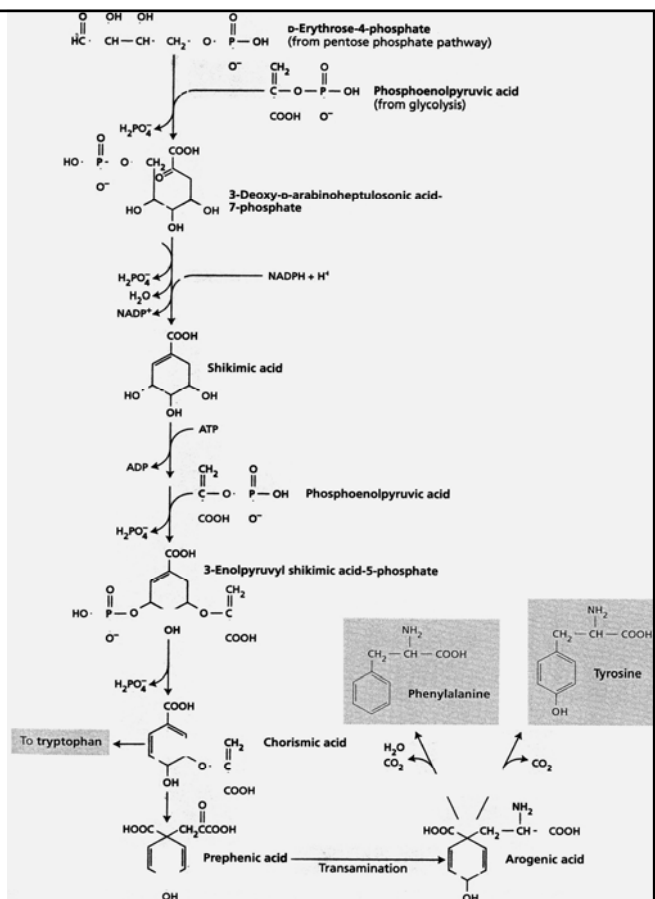
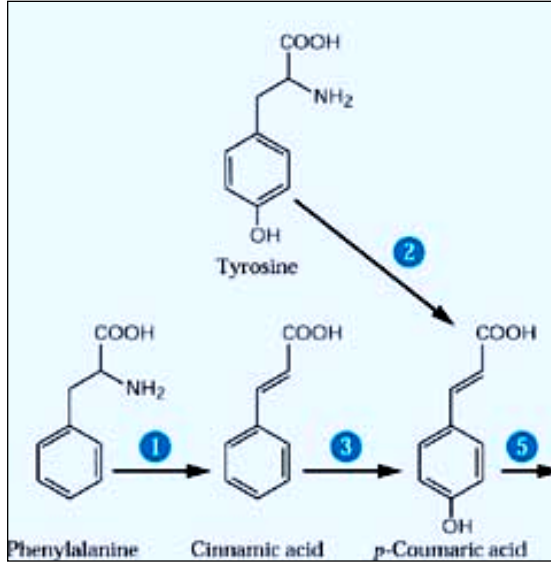


Figure 13.15 In the shikimic acid pathway, the aromatic amino acids are synthesized from carbohydrate precursors derived from the pentose phosphate pathway (*o*-erythrose-4-phosphate) and glycolysis (phosphoenolpyruvic acid).

Molécules phénoliques - Biosynthèse

L'étape d'engagement de la voie est catalysé par l'enzyme PAL (*phénylalanine ammonium lyase*) qui catalyse les réactions 1 et 2, donc peut utiliser tyrosine et phénylalanine, avec la *cinnamate hydroxylase* on obtient l'acide p-coumarique.

Voie des phénylpropanoïdes



Acide p-coumarique: précurseur de centaines de produits secondaires:

- lignines,
- lignanes,
- suberines,
- flavonoïdes,
- coumarines.

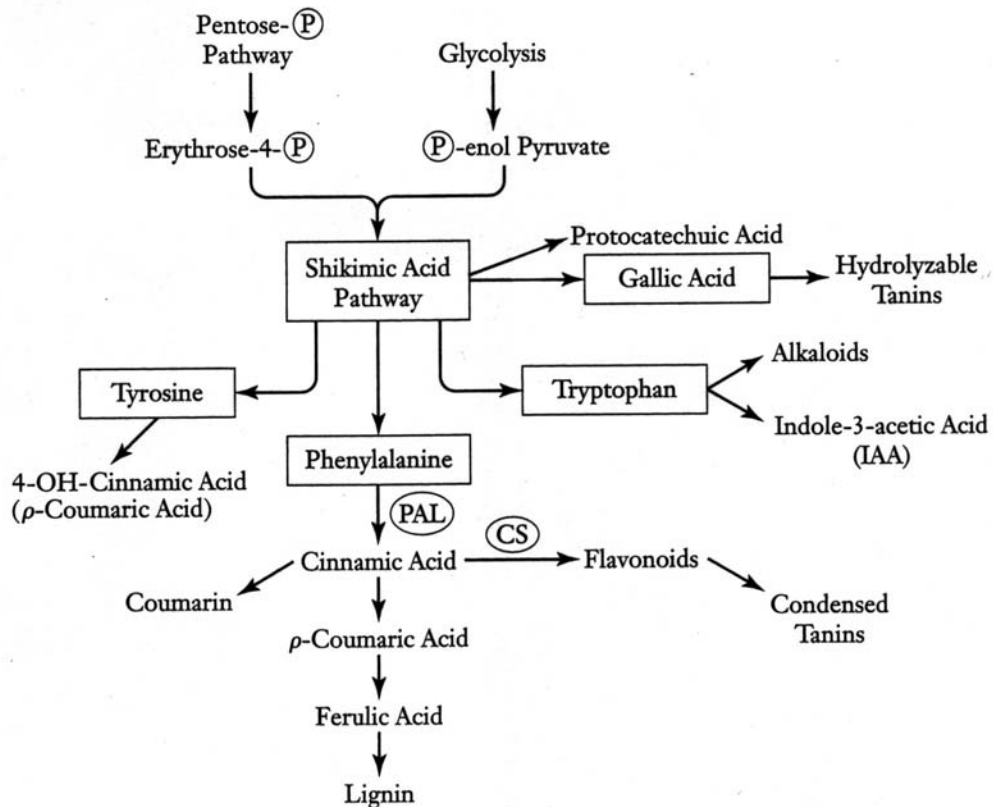


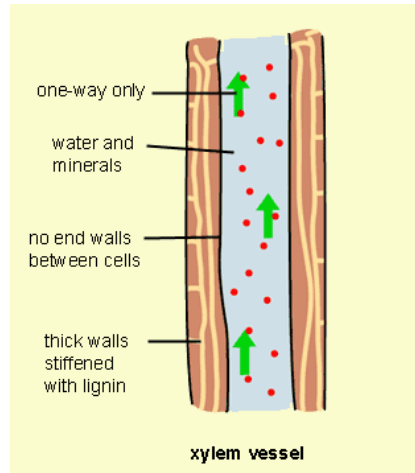
FIGURE 14.14 The central role of the shikimic acid pathway in the synthesis of various primary and secondary metabolites. PAL = phenylalanine ammonia lyase. CS = chalcone synthase.

Molécules phénoliques - Lignine

Rôle structurel dans les parois cellulaires

Elle est accumulée dans les structures de conduction et soutien structurel

XYLEME



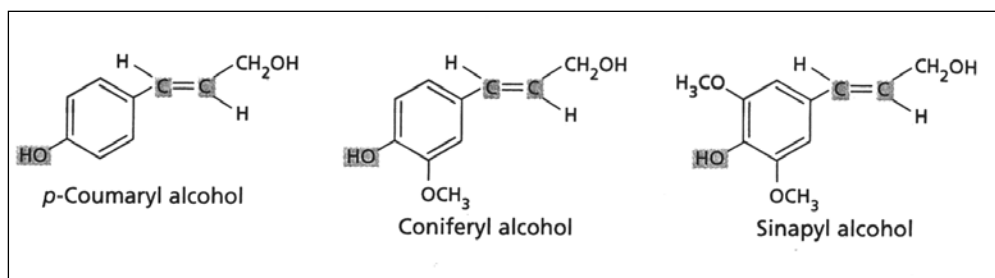
La rigidité permet la croissance verticale des plantes et le transport de l'eau par capillarité à toutes les cellules

Elle a aussi en rôle de protection parce que elle est très difficile à digérer par les herbivores

Composition de la lignine

La substance organique la plus abondante, après la cellulose.

Elle est un polymère ramifié de phénylpropanoïdes (trois types principaux d'alcools, mais la composition est différente dans les différentes espèces)



La structure précise n'est pas bien connue, mais sûrement très complexe...

Structure partielle de la lignine

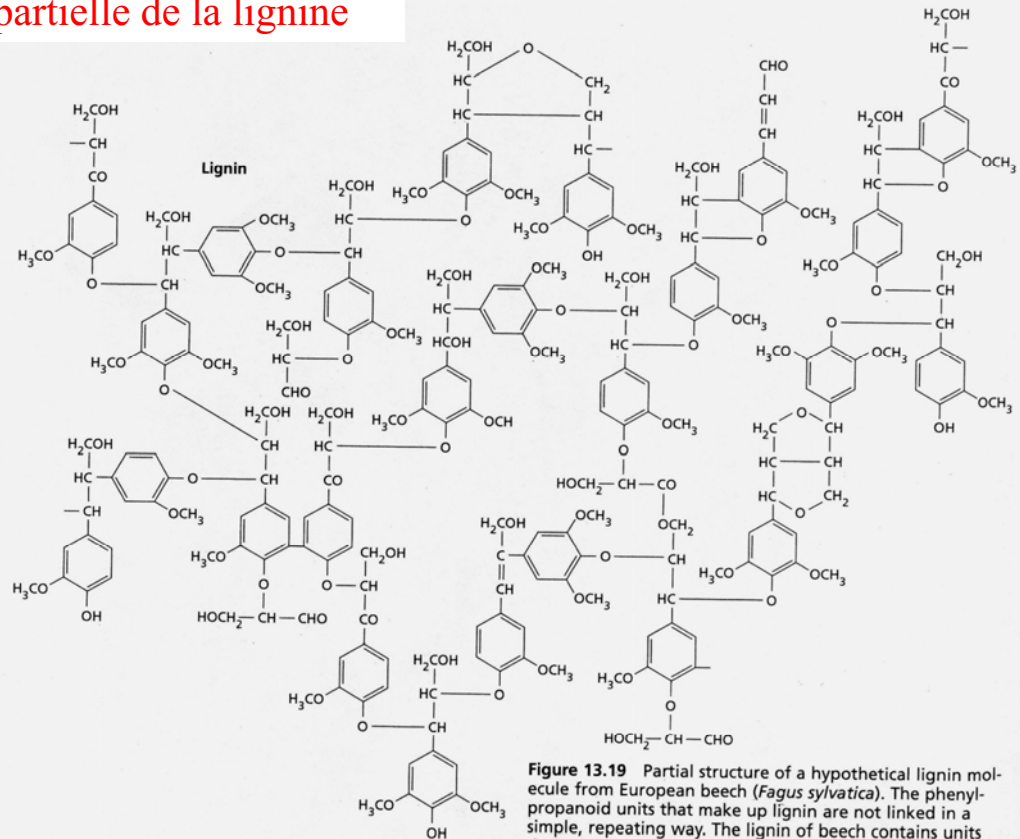


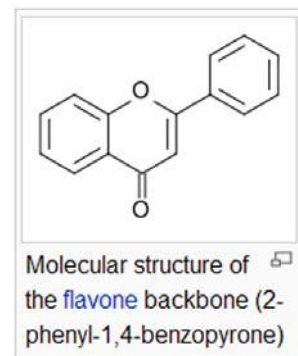
Figure 13.19 Partial structure of a hypothetical lignin molecule from European beech (*Fagus sylvatica*). The phenylpropanoid units that make up lignin are not linked in a simple, repeating way. The lignin of beech contains units derived from coniferyl alcohol, sinapyl alcohol, and *para*-coumaryl alcohol in the approximate ratio 100:70:7 and is typical of angiosperm lignin. Gymnosperm lignin contains relatively fewer sinapyl alcohol units. (After Nimz 1974.)

Molécules phénoliques - Flavonoïdes

Il y a au moins 4500 types de flavonoïdes

Ils sont divisés dans différentes classes:

- Anthocyanes
- Tannins
- Isoflavonoïdes



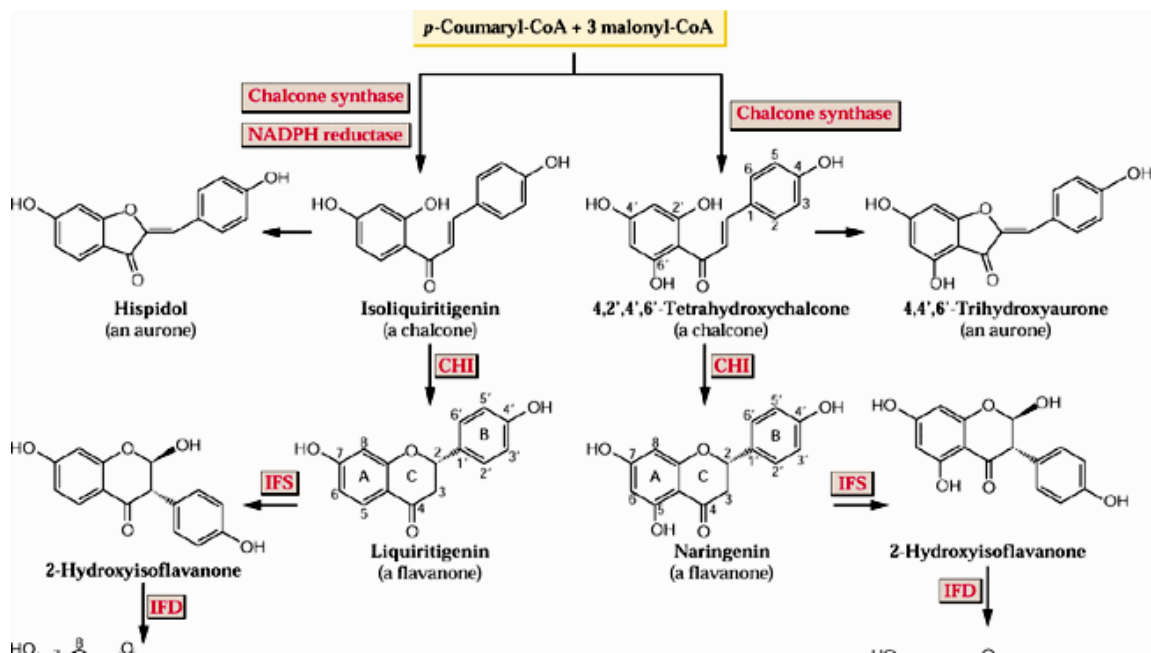
Ils ont des fonctions différents:

-interaction plantes-animaux (ex. attractions des pollinisateurs par la couleur des fleurs et transporteurs des grains dans les fruits; **déterrent**)

-protection du rayonnement UV

Ils sont déterminés par des anthocyanes dans la vacuole

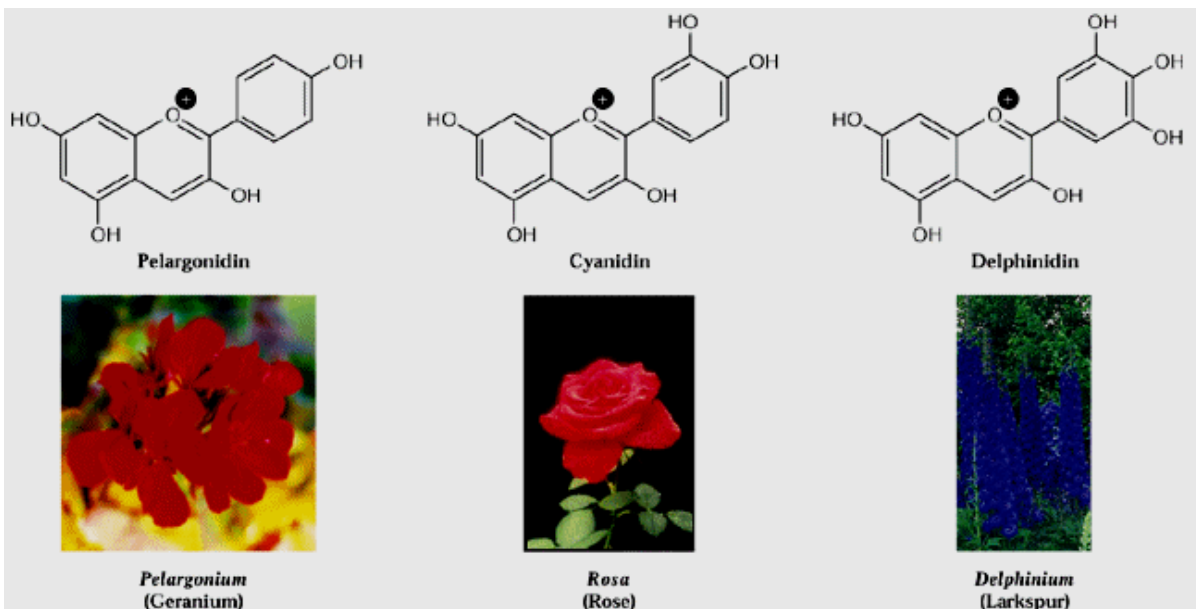
La *chalcone synthase* est le premier enzyme de la biosynthèse des flavonoïdes



Flavonoïdes - Anthocyanes

Attractions des pollinisateurs

Ils sont responsable de la plus grande partie des couleurs rouge, violet ou bleu en nature



Protection du rayonnement UV



Plante contrôle

Plante sous forte lumière

Flavonoïdes - Tannins

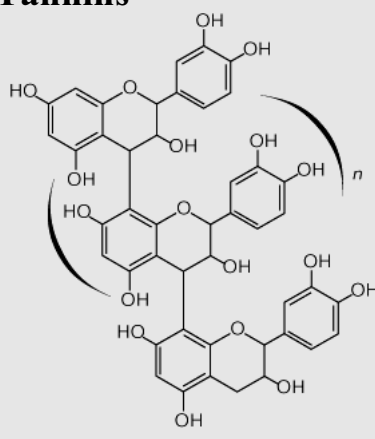
Ils ont des fonctions différents:

-Attracteurs ou déterrant alimentaires

Ex. Tannins



Red sorghum




Le sorgho rouge produit cette molécule dégoûtante pour les oiseaux.

Le sorgho blanc ne le produit pas et les oiseaux le mangent très rapidement


La plupart des arômes sont des substances phénoliques

Green tea



R = H (-)-Epicatechin
R = OH (-)-Epigallocatechin

Ginger rhizome




Gingerols

CCCC(O)CCCC1=CC=C(O)C(OC)=C1

n=4,6,8


Orchid



Phenylethyl alcohol

CC1=CC=C(C=C1)CCO

Red and black peppers




Nordihydrocapsaicin

CCCCCCCCCNC(=O)C1=CC=C(O)C(OC)=C1

R = Nordihydrocapsaicin
R = Capsaicin


Vanilla



Vanillin

CC1=CC=C(C=C1)C(=O)O

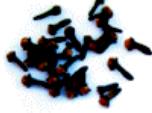
Coffee beans



Chlorogenic acid

OC1=CC=C(C=C1)C(=O)O[C@@H]2O[C@H](C(=O)O[C@@H](O)[C@H]2O)C3=CC=C(O)C=C3


Cloves



Chavicol
Eugenol

CC1=CC=C(C=C1)C=C


Cinnamon bark



Cinnamaldehyde

CC1=CC=C(C=C1)C=O

Nutmeg



Safrole
Myristicin

CC1=CC=C(C=C1)C=C

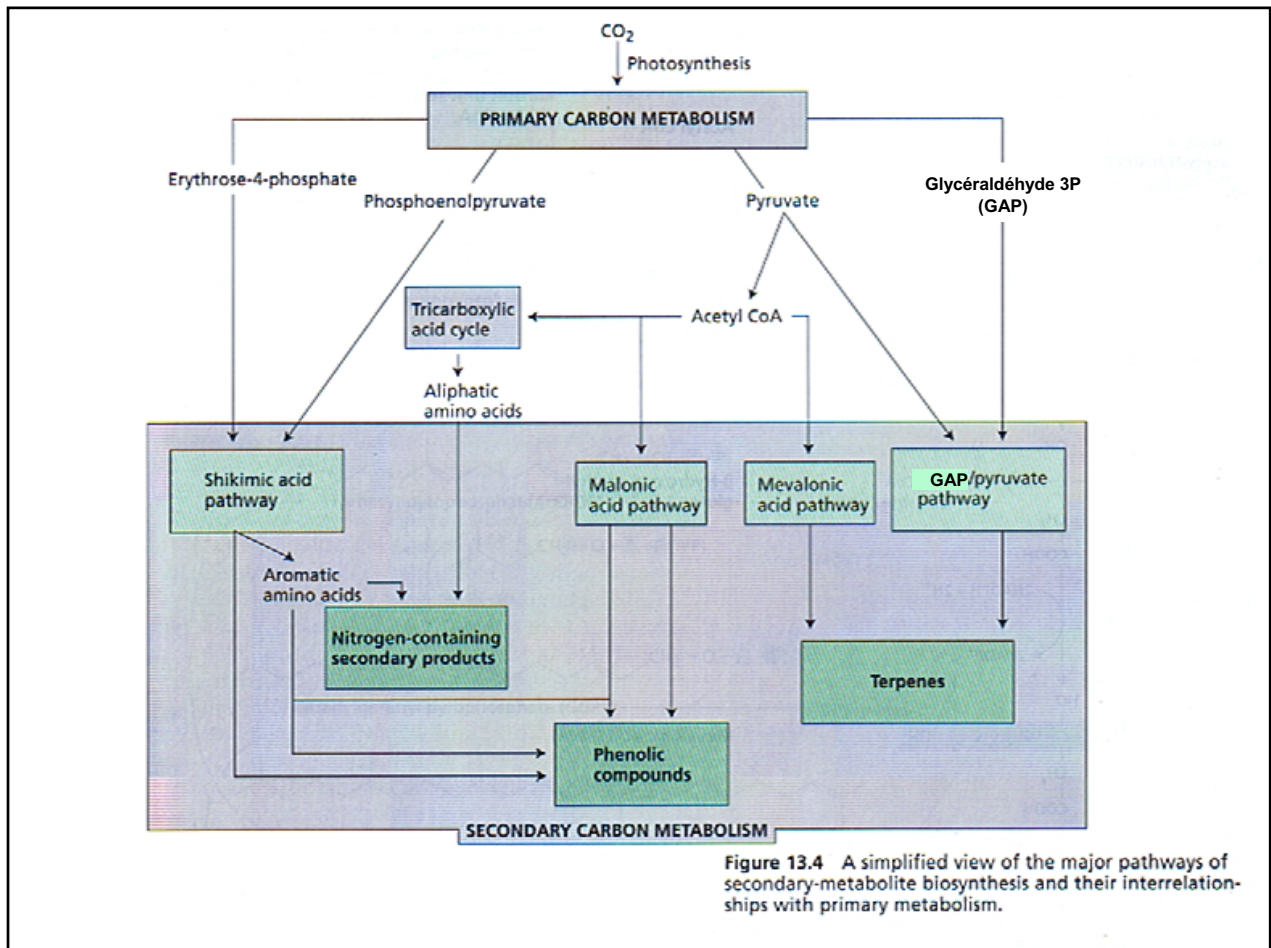


Figure 13.4 A simplified view of the major pathways of secondary-metabolite biosynthesis and their interrelationships with primary metabolism.

Molécules phénoliques - biotechnologie

Il y a beaucoup des molécules avec action pharmacologique

Médiateurs de la réponse inflammatoire

Antivirales

Hépatoprotecteurs

Ces molécules ont aussi un intérêt économique

On peut faire produire des molécules utiles en plus ou éliminer des molécules non favorables.

On peut penser de le modifier avec les biotechnologies

Exemples:

Augmenter la résistance aux pathogènes

Augmenter la qualité du bois ou des fibres

Production des molécules avec action pharmacologique

Production de pigments ou arômes