

CHAPITRE II: LES METABOLITES SECONDAIRES



Métabolites primaires et secondaires

- Les métabolites présents chez tous les êtres vivants (animaux et végétaux) = **métabolites primaires**.
- Le métabolisme primaire englobe les molécules suivantes : **glucides, lipides, protéines, acides nucléiques**.
- **un rôle direct dans les fonctions vitales** comme la nutrition, la croissance et la reproduction :
- **Former de l'énergie sous forme d'ATP** par l'intermédiaire de la glycolyse, de la voie des pentoses phosphates, du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire (phosphorylation oxydative)
- **Former des intermédiaires de biosynthèse** : acides aminés, acides nucléiques pour la formation polymères (protéines).
- Les métabolites primaires sont classés en quatre grandes catégories selon leurs propriétés biochimiques: **les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques**.

Les métabolites secondaires

- Beaucoup de composés sont présents dans certaines espèces végétales et pas dans d'autres. Par conséquent ils ne peuvent pas être impliqués dans **le métabolisme basal (primaire)** de chaque plante = **Métabolites secondaires**.

Le métabolisme secondaire des plantes, aussi appelé métabolisme spécialisé, fait référence à la synthèse et l'identification d'un ensemble de biomolécules de structures et de fonctions variées qui interviennent dans **l'interaction des plantes** avec leur environnement biotique et abiotique.

Les métabolites secondaires:

-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**.

-L'estimation du nombre total de métabolites secondaires dans l'ensemble du règne végétal varie de 200 000 à plus de 500 000 selon les auteurs.

Rôle des métabolites secondaires

- **Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores** : Rôle essentiel dans la **défense contre les prédateurs des plantes**, et tout particulièrement les animaux herbivores, les pathogènes du sol, tels que les nématodes et les insectes rhizophages, repose sur la libération et l'accumulation de composés phénoliques dans les sols environnants.



Ex: **Les phytoestrogènes** sont des métabolites secondaires qui miment chimiquement les estrogènes et perturbent la reproduction des animaux. Les estrogènes, et en particulier l'estradiol, sont essentiels à la reproduction des vertébrés: les phytoestrogènes interagissent avec les récepteurs aux estrogènes (RE) comme antagonistes.



Rôle des métabolites secondaires

- **Attraction des pollinisateurs:** Le rôle le plus connu des flavonoïdes est la production de la couleur des fleurs et de couleurs vives reconnues par les pollinisateurs des plantes



-

Rôle des métabolites secondaires

- ❖ Les MS sont impliqués dans **les réponses adaptatives des plantes aux facteurs abiotiques de leur environnement**: tels que la température, l'hydrométrie, l'hygrométrie, l'exposition au rayonnement dans le spectre visible et ultraviolet (UV), la concentration en oxygène, la pression atmosphérique, etc
- ❖ Les plantes dans leur environnement sont en compétition avec les autres plantes pour les ressources de l'environnement.



L'interaction entre plantes impliquant la libération dans l'environnement de molécules chimiques médiatrices a été dénommée:

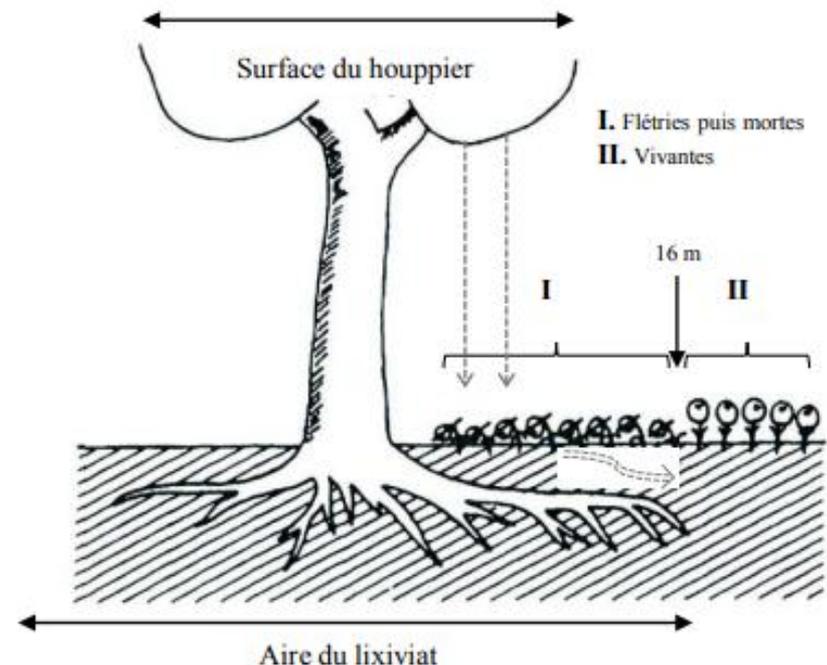
Allélopathie

L'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre (microorganismes inclus) au moyen de molécules chimiques médiatrices (métabolites secondaires).

Rôle des métabolites secondaires

Exemples de réponses allélopathiques

- **Ex-** les feuilles du noyer (*Juglans nigra*) produisent des toxines qui tuent toute une gamme de plantes de son environnement lorsque celles-ci se situent à moins de seize mètres de son tronc. le transport de la molécule (le 4-Glucoside 1,4,5 trihydroxynaphtalène dans le sol par ruissellement. La molécule toxique, la juglone, est ensuite obtenue après hydrolyse et oxydation dans le sol.



CHAPITRE II: LES METABOLITES SECONDAIRES

TYPES ET ORIGINE DES MÉTABOLITES SECONDAIRES

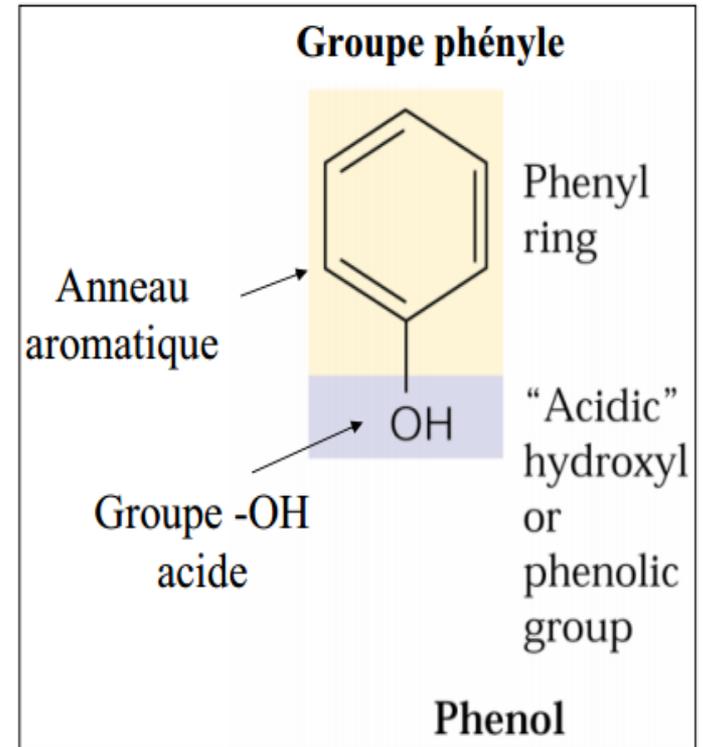
On peut identifier trois types de métabolites secondaires:

	<u>Dérivés de:</u>	<u>No de molécules identifiées</u>
Composés phénoliques	Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	8000
Terpénoïdes	l'IPP (isopentenyl diphosphate), une molécule à 5 C	25000
Alcaloïdes	Acides aminés	12000

Les composés phénoliques

Généralités

- Avec plus de 8 000 composés, les composés phénoliques représentent l'une des familles les plus importantes de métabolites secondaires
- Structuellement, caractérisés par la présence d'au moins **un noyau benzénique** auquel est directement lié au moins **un groupe hydroxyle, libre ou engagé** dans une autre fonction : éther ($R'-O-R$), ester ($RCOOR'$), hétéroside.



1-Biogenèse des composés phénoliques

- **Aromagenèse**=la synthèse du noyau aromatique=cyclogénèse est réalisée uniquement par **les végétaux et les microorganismes**.
- Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies biogénétiques:
- **Voie de l'acide shikimique → "shikimates"**.
- **Voie de l'acide acétique → "polyacétates"**

1-Biogenèse des composés phénoliques

1-A- Voie de l'acide shikimique → "shikimates"

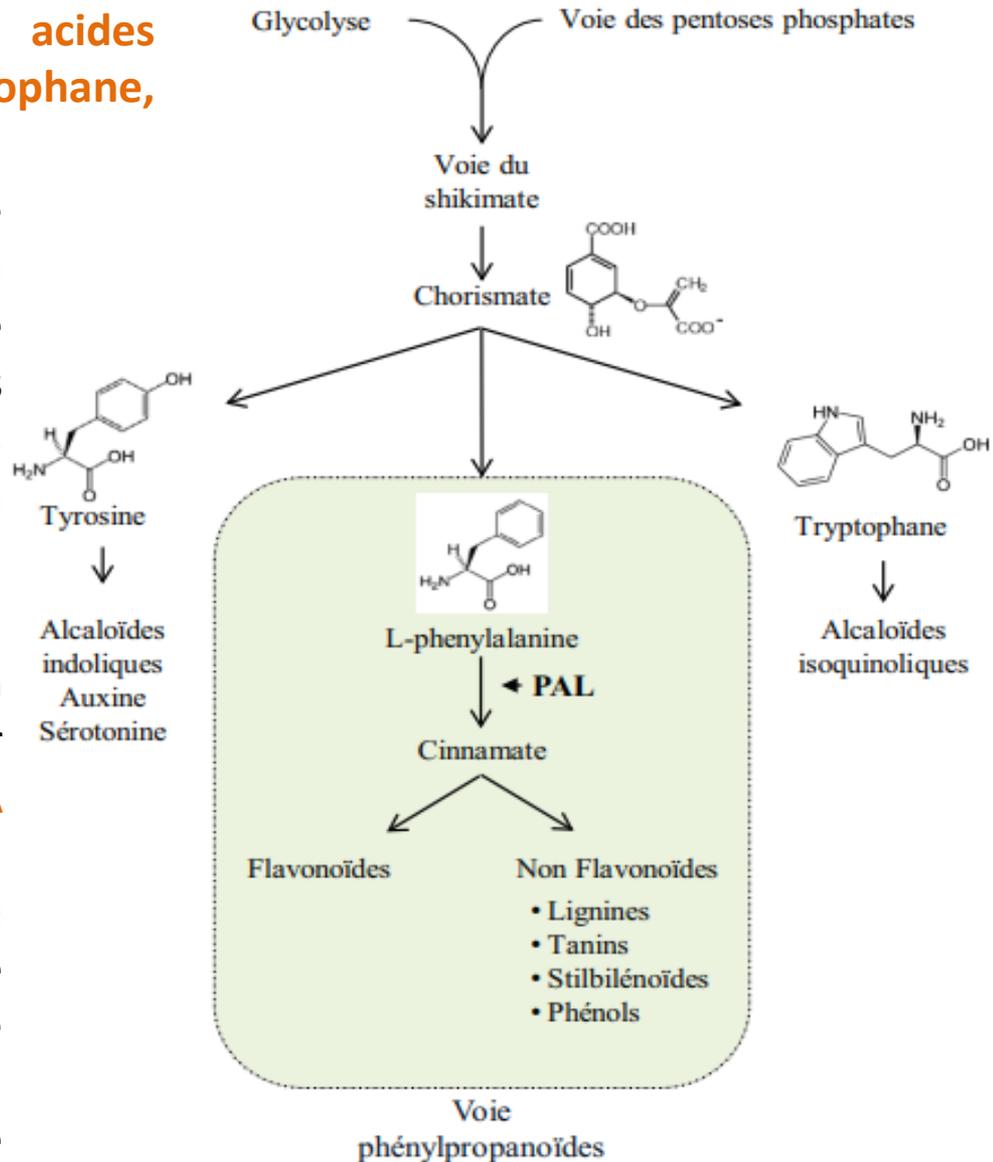
-Correspond à la voie de synthèse des acides aminés aromatiques de type tryptophane, phénylalanine, tyrosine.

❖ débute par la condensation d'une unité de phosphoenolpyruvate issue de la glycolyse avec l'érythrose-4-phosphate produit lors de la voie des pentoses phosphates produisant le 3 dehydroshikimate, qui est réduit en shikimate.

❖ Le shikimate subit une phosphorylation, suivie d'une condensation avec un groupement phosphoenolpyruvate pour produire le chorismate **précurseur des AA aromatiques**.

❖ La phénylalanine ammonia-lyase (PAL) catalyse l'élimination non oxydative de l'ammoniac à partir de L-phénylalanine pour donner du trans-cinnamate

❖ Le cinnamate est le précurseur de nombreux composés phénylpropanoïdes

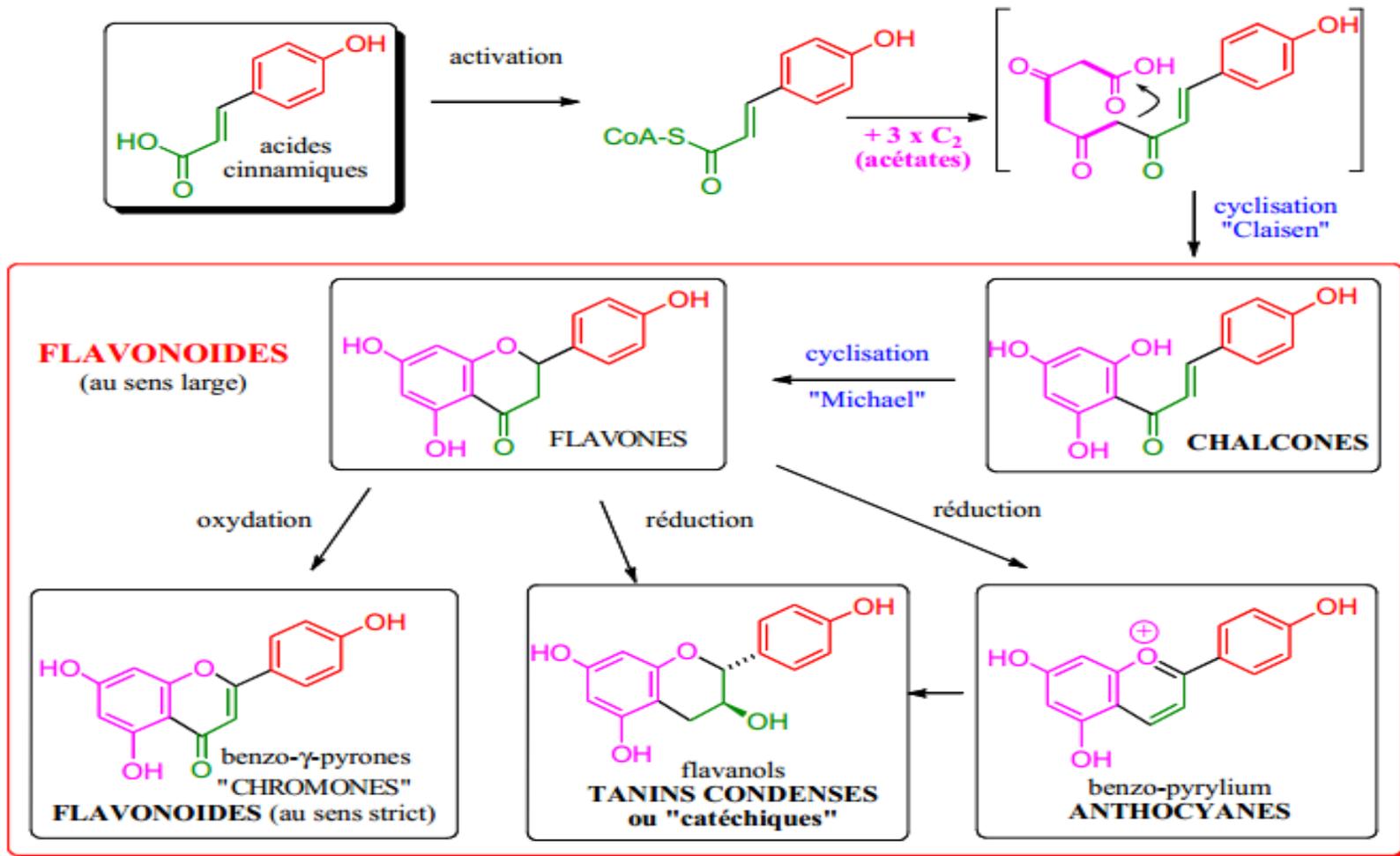


1-Biogenèse des composés phénoliques

1-B- La Voie mixte : "acétates" + shikimates »

Combinaison de l'acide cinnamique et triacétate puis cyclisation

Origine de tous les composés en C6-C3-C6 : les flavonoïdes au « sens large ».

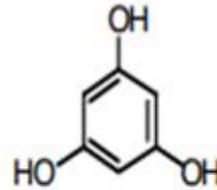


Origine biogénétique des différents polyphénols de type « flavonoïde » en C6-C3-C6

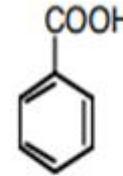
2-Classification des composés phénoliques

2-1 Phénols et acides phénoliques

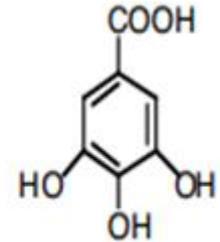
- ❖ Le terme acide-phénol s'applique à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.
- ❖ les acides phénols sont classés en:
 - Phénols simples C6: (catéchol) qui sont rares dans la nature
 - Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1)
 - Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3)



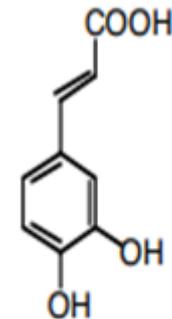
phloroglucinol 1



acide benzoïque 2



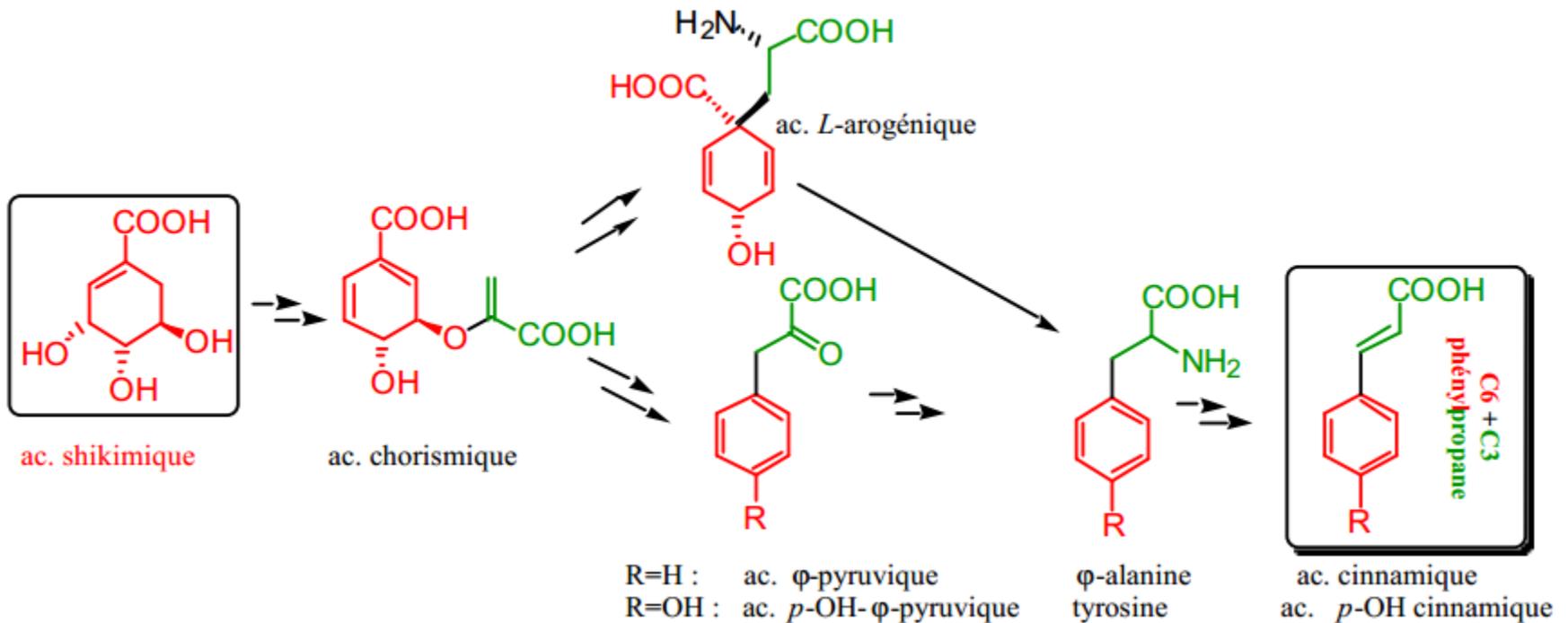
acide gallique 3



acide caféique 4

2-1-1-Biogenèse des composés phénoliques

Biogenèse des acides "cinnamiques" C6-C3 :
Origine des acides phénols en C6-C3.



2-1-2-Propriétés physico-chimiques, caractérisation, extraction des acides phénoliques.

- Les phénols sont:
- **solubles dans les solvants organiques polaires** (méthanol, acétone, acétate d'éthyle, solutions hydro-alcooliques et mélanges);
- **solubles dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium.**
- **Les formes hétérosidiques sont solubles dans l'eau.**
- Tous les phénols sont **instables** et sont facilement **oxydables** surtout **en milieu alcalin.**
- **Ils présentent des propriétés réductrices surtout marqués chez les polyphénols**
- L'extraction de ces composés, conduite de préférence sur du matériel frais, est généralement obtenue à l'aide d'un alcool (méthanol) ou d'acétate d'éthyle
- **Méthodes analytiques : CCM, CPG, en CPG/SM et chromatographie liquide.**

2-1-3-Intérêt pharmacologique et nutritionnel, emplois

- Le rôle physiologique et/ou écologique de ces molécules est assez mal connu.
- Leur intérêt thérapeutique potentiel est très limité:
- On note par ailleurs que plusieurs composés de cette série sont antibactériens et antifongiques, en particulier à l'égard des organismes phytopathogènes.
- Les acides-phénols présents en quantité notable dans les fruits et légumes, sont des piègeurs de radicaux libres (antioxydants):participer à la prévention de pathologies en partie liées à un excès de radicaux et au stress oxydatif (affections cardiovasculaires et dégénératives).

2-2- Les coumarines

- Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd., Fabaceae) d'où fut isolée, en 1820, « la coumarine ».
- Groupe abondant (+ 800),
- Soit libres, soit hétérosides ; dans tous les organes mais principalement dans tissus âgés ou lésés.

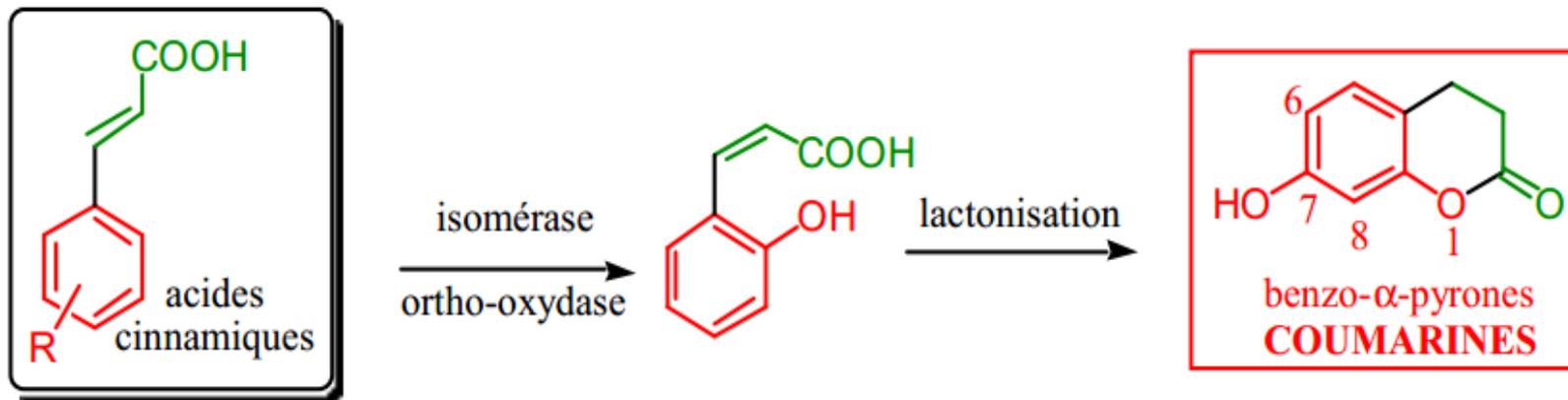


2-2-1 origine et structure chimique des coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le **noyau benzo- α pyrone** (coumarine) résultant de la **lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique**.

Origine des coumarines.

Lactonisation des acides "cinnamiques":



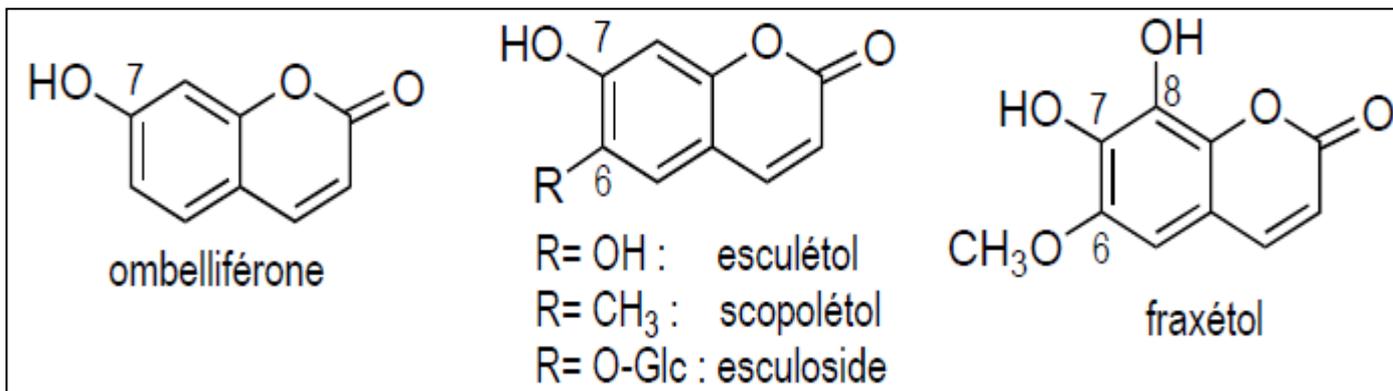
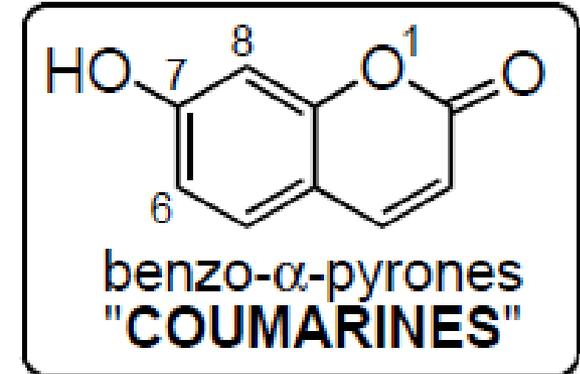
Cyclisation des "cinnamates" en coumarines.

2-2-2 Classification des coumarines

Noyau "benzo- α -pyrone" toujours porteur d'un OH en 7, libre ou étherifié (-OCH₃ ou sucre).

A/Coumarines simples:

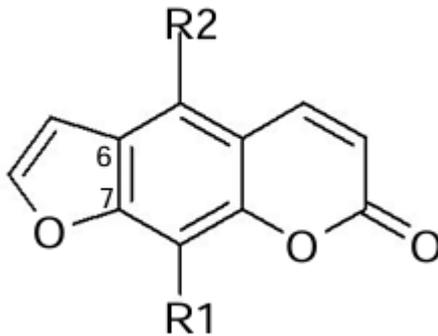
- La 7-hydroxycoumarine = ombelliférone, est le précurseur des coumarines:
- 6,7-di- hydroxy coumarine=esculétole,scopolétole
- 6.7.8-trihydroxylées = fraxétole.
- Les hydroxyles de ces coumarines simples peuvent être méthylés.
- l'un d'eux peut être engagé dans une liaison hétérosidique.



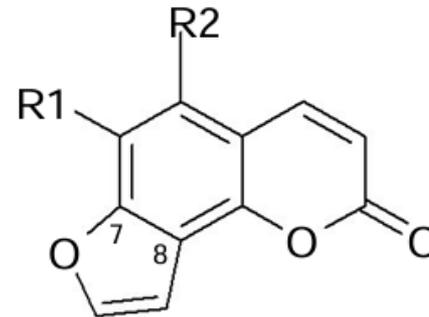
2-2-2 Classification des coumarines

- **B/Coumarines complexes** : où un noyau furanne (C_4H_4O) ou pyranne (C_5H_6O) est associé au noyau benzo- α -pyrone.
- **les furocoumarines (ou furanocoumarines)** :

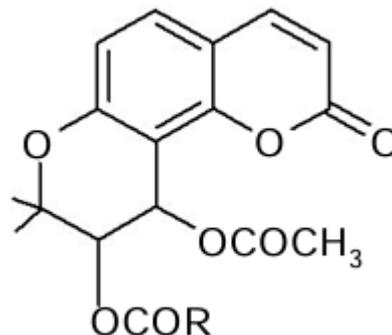
6,7 furocoumarines (linéaire)



7,8 furocoumarines (angulaire)



- **Les pyrannocoumarines** :



2-2-2 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage :

- Les coumarines sont des **solides cristallisés blancs ou jaunâtres**.
- Saveur généralement amère.
- **Les hétérosides** sont assez solubles dans l'eau et solubles dans l'alcool.
- **Les génines** sont solubles dans l'alcool et les solvants organiques.
- Les coumarines hydroxylées possèdent une intense **fluorescence bleue en lumière ultraviolette**.
- **L'extraction:** par l'alcool ou les solvants organiques et Entraînement à la vapeur d'eau.
- **caractérisation:** par fluorescence des solutions extractives et CCM : examen en lumière UV.
- **Dosage:** Spectrofluorométrie, spectrophotométrie , HPLC.

2-2-3 Propriétés pharmacologique et emplois

Coumarines simples

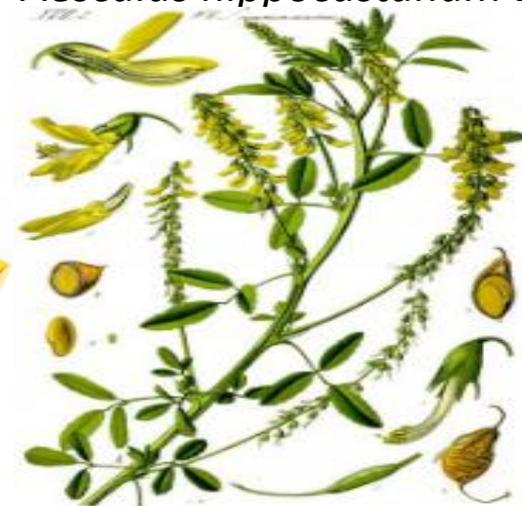
- **Propriétés vitaminique P:** L'esculoside +++abondant dans l'écorce du tronc du Marronnier d'inde *Aesculus hippocastanum* L. est très utilisé en thérapeutique pour ses Propriétés **vitaminique P** (augmente la résistance et diminue la perméabilité des capillaires, veinotonique et vasculoprotecteur).

Propriétés antivitaminés K: Dicoumarol = les sommités fleuries du Mélilot *Melilotus officinalis*

- Il a été préparé par synthèse.
- Il a servi de modèle à certaines molécules (préparée par synthèse) à activité anti-vitaminiques K et à propriétés anticoagulantes.
- **EX:** acénocoumarol SINTROMR



Marronnier d'inde
Aesculus hippocastanum L



Mélilot *Melilotus officinalis*

2-2-3 Propriétés pharmacologique et emplois

Coumarines complexes

En thérapeutique

▪ Les furanocoumarines sont utilisées pour leurs propriétés **photosensibilisantes**, liées à des **processus photochimiques** induits par les furanocoumarines en présence **d'oxygène**, sous l'influence du rayonnement UV solaire qui conduisent la formation de la mélanine et donc à la pigmentation cutanée.

EX: le bergaptène et la **xanthotoxine** utilisés dans le traitement photochimiothérapique du **psoriasis** et du **vitiligo** et d'autres affections dermatologiques

Le **psoriasis** est caractérisé par un hyperprolifération et troubles de la différenciation kératinocytaire)



Le vitiligo Maladie de la peau caractérisée par des taches blanches dépigmentées



En cosmétique: Produit de brunissage: L'HE de bergamote utilisée dans les produits solaires= Ils augmentent le nombre de mélanocytes et accroissent la production de mélanine assurant une meilleure protection contre les radiations UV.

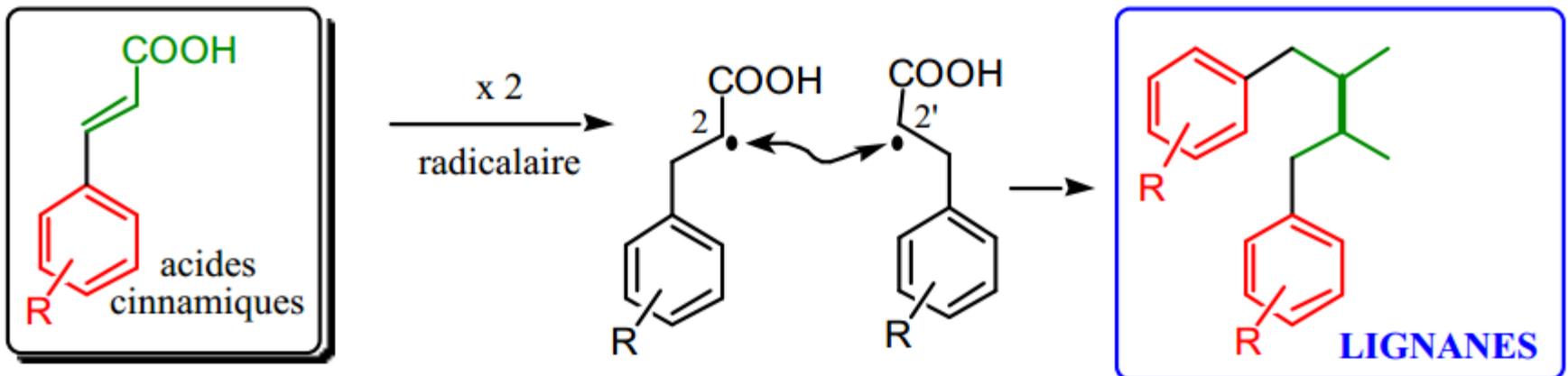


2-3- Les Lignanes

- ✓ Famille regroupant plus de 3000 substances naturelles.
- ✓ se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes.
- ✓ Composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques.

2-3-1 Biogénèse des Lignanes

La dimérisation d'unités en C6-C3 « acide cinammiques » par des réactions de couplage radicalaire. Ceci implique un grand nombre de couplages possibles parmi lesquels cinq sont fréquents (8-8, 8-1', 8-3', 8-0-4', 3-3'.



2-3-2 Cas particulier de la lignine

Élément indispensable aux végétaux trachéophytes dont ils forment les épaissements du xylème, elle leur confère une résistance importante.

-Assurant au même titre que la cellulose un rôle structurant majeur: .

-La lignine est la plus importante source naturelle de structures aromatiques et sa dégradation est un élément important du cycle du carbone.

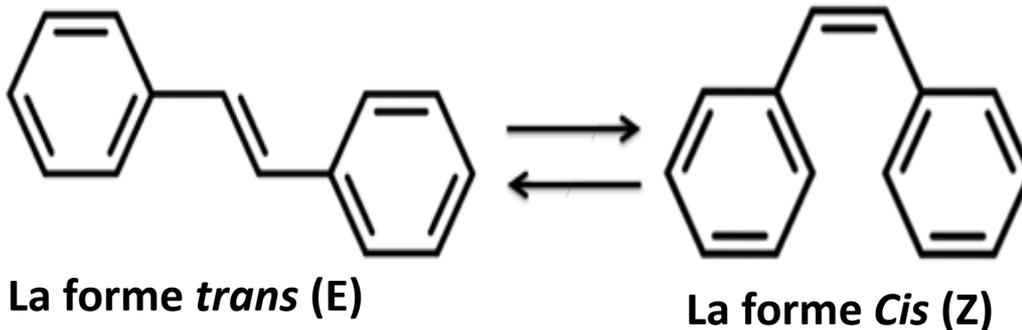
La complexité chimique et le caractère aléatoire des liens moléculaires entre les différents monomères entrant dans la composition des lignines font de ce biopolymère l'un des plus difficiles à dégrader. Cette caractéristique fait d'eux une barrière de défense idéale contre les agents pathogènes et les herbivores.

2-3-4 Intérêt biologique des lignanes

- propriétés cytostatiques et antitumorales établies *in vitro* ou *in vivo*.
- activités anti-HIV,
- neuroprotectrices,
- anti-agrégantes plaquettaires.

2-4- Les stilbénoides

- les stilbénoides sont des composés phénoliques possédant deux noyaux benzéniques séparés par un pont éthane ou éthène.
- Les stilbènes ont pour structure de base le 1,2-diphényléthylène. la forme *trans* (E) et la forme *cis* (Z), cette dernière étant obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme *trans*-stilbène étant la forme la plus stable et bioactive.
- les stilbènes peuvent être libres ou complexés à un hétéroside, parfois même sous forme polymérique.
- retrouvés chez 72 espèces de plantes réparties dans 31 genres et 12 familles.



Fabacées



Arachis hypogea

Polygonacées



Fallopia japonica

Pinacées



Pinus strobus

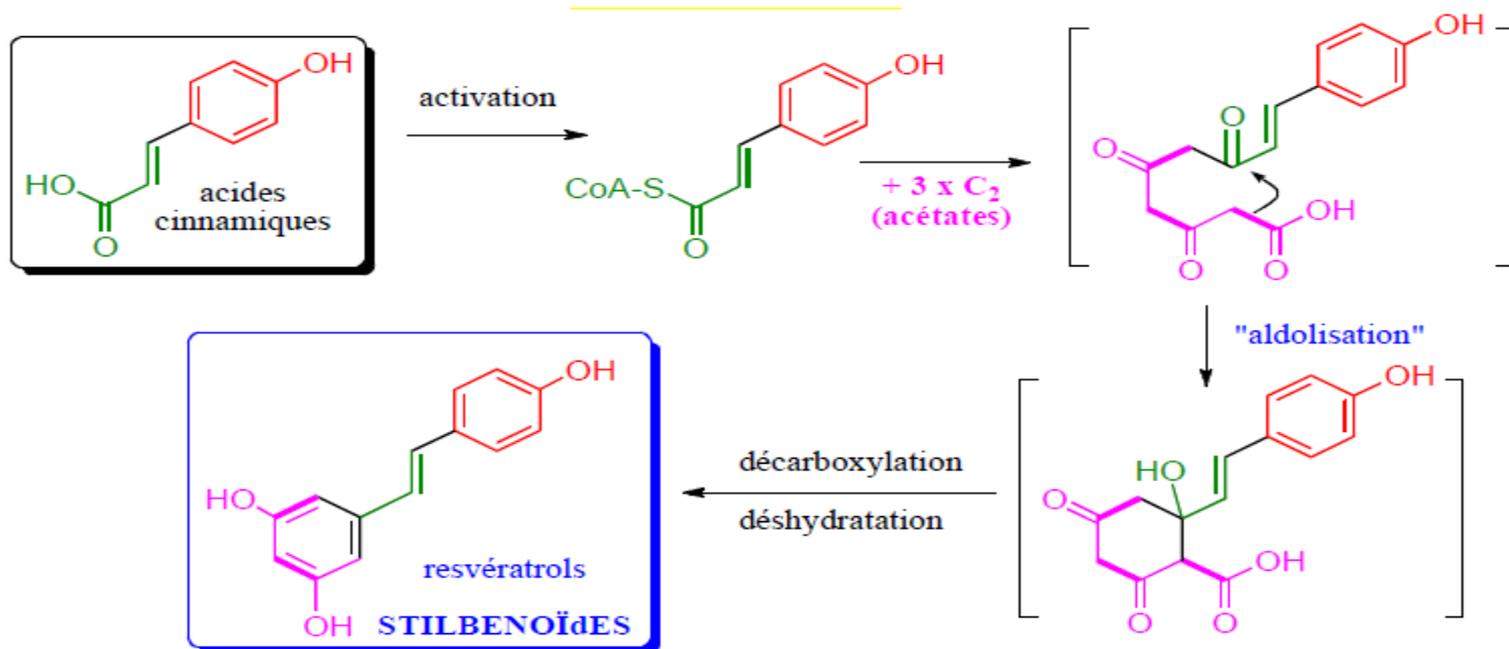
Vitacées



Photothèque INRA
Vitis vinifera var.
Pinot noir

2-4-1 Biogénèse des stilbénoides

Origine des composés en C6-C2-C6 : la cyclisation du triacétate s'effectue selon une réaction d'aldolisation



Biogénèse des polyphénols de type « stilbène » en C6-C2-C6

2-4-2 Rôle des stilbénoides

- **Agents de défense des plantes contre ces pathogènes:** De nombreuses études ont mis en évidence les propriétés toxiques des stilbènes vis à vis de différents agents phytopathogènes ou de ravageurs:
 - Propriétés anti-fongiques: L'expression par transgénèse de la pinosylvine synthétase chez le blé lui confère une résistance à la rouille provoquée par le champignon *Puccinia recondita* .
 - Activités anti-bactériennes chez la vigne.
 - Effet insecticide.
- **Toxicité sur les végétaux:** Les stilbènes peuvent moduler le développement des plantes environnantes en stimulant ou en inhibant l'élongation des racines et des parties végétatives selon les espèces végétales.

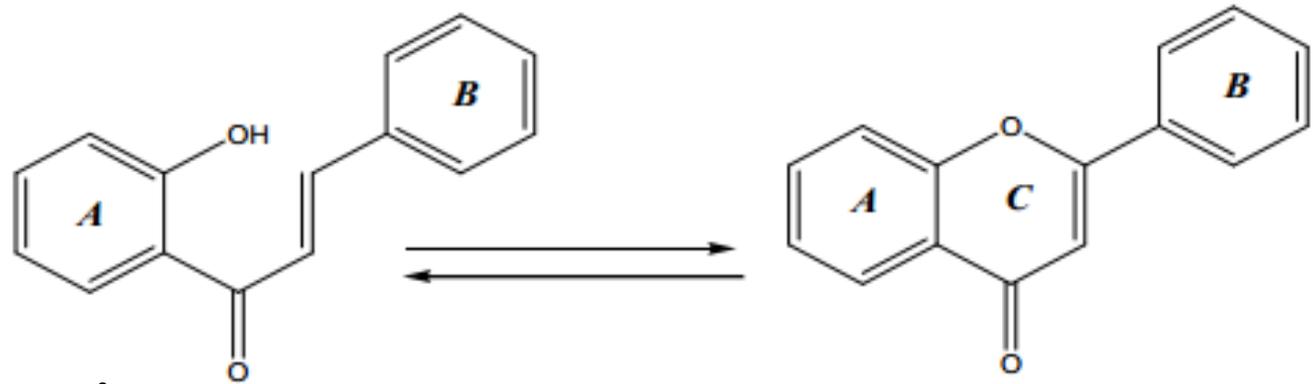
2-5 Les Flavonoïdes



- Pigments quasiment universels des végétaux.
- Responsables de la coloration des fleurs (flavonoïdes jaunes (aurones, chalcones, flavonols jaunes) ou anthocyanosides rouges ou mauves) : pouvoir attracteur conditionne la pollinisation enthomophile.
- Également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles= assurent la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnement UV (**leur spectre d'absorption dans la partie la plus énergétique du rayonnement UV (UV-B, 280-315 nm) qui peut endommager les plantes**).
- Sous forme d'hétérosides (solubles). Stockés dans le suc vacuolaire des organes jeunes (épiderme de feuilles, pellicule fruit).

2-5-1 Biogenèse des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3.

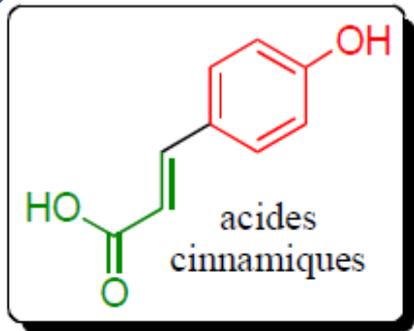


on peut distinguer:

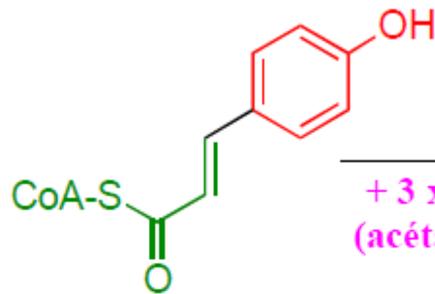
- Les **flavonoïdes sensu stricto**
- Les **anthocyanosides**
- Les **isoflavonoïdes**.

Structure de base d'un Flavonoïde

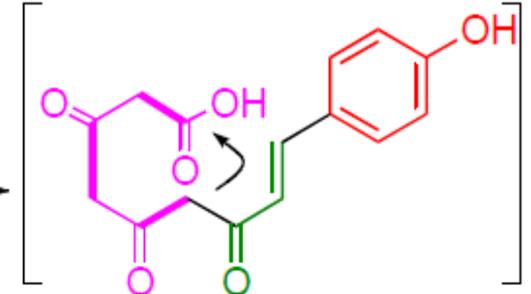
2-5-1 Biogenèse des flavonoïdes



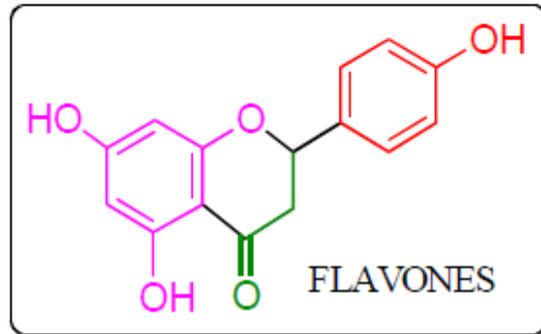
activation



+ 3 x C₂
 (acétates)

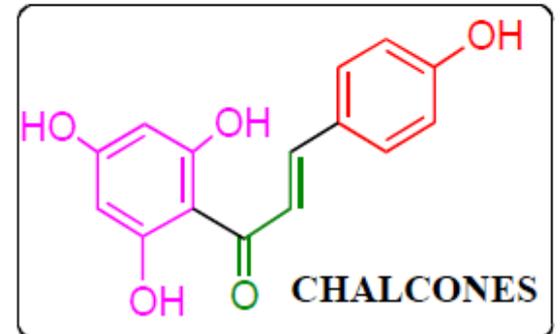


cyclisation "Claisen"



cyclisation

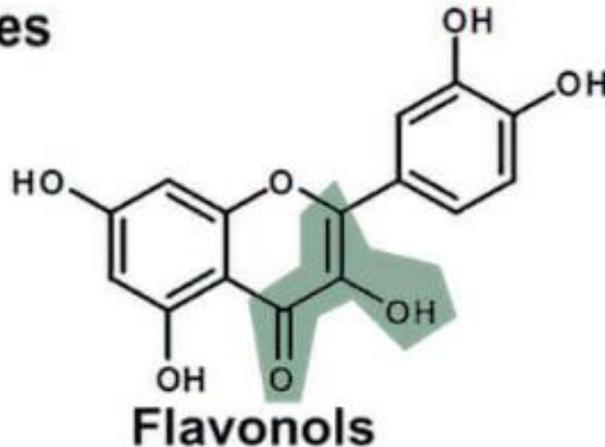
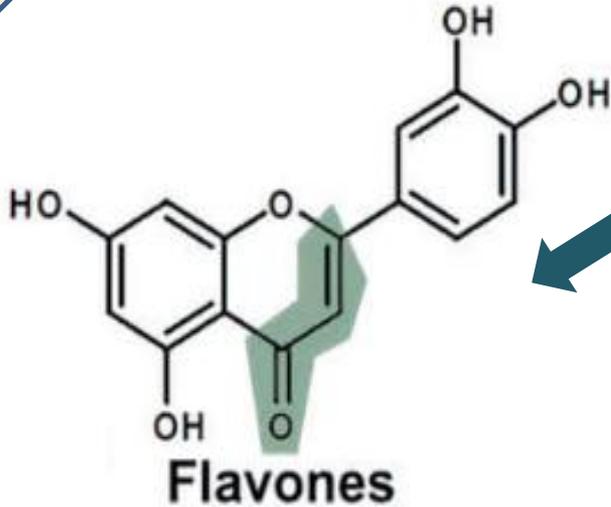
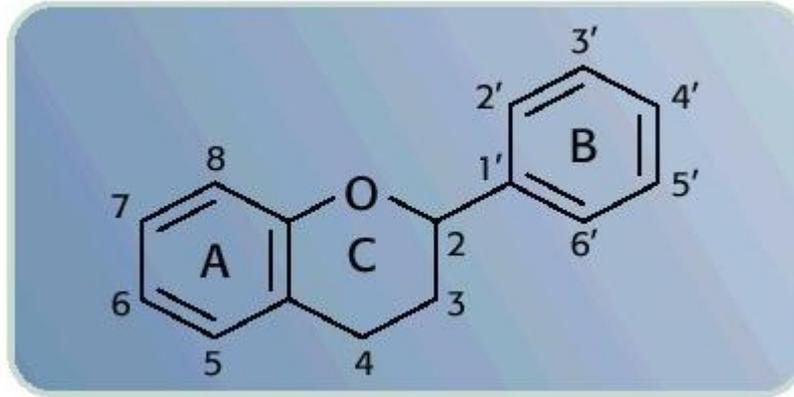
"Michael"



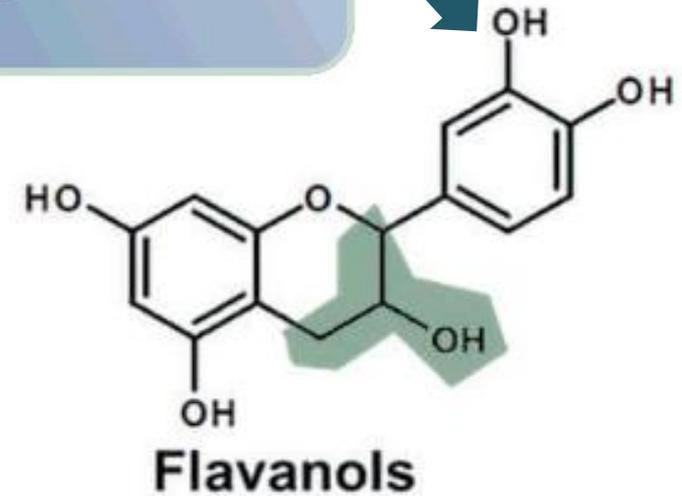
FLAVONOÏDES
 (au sens large)

2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes

1-Les génines



Possédant un OH en C 3.

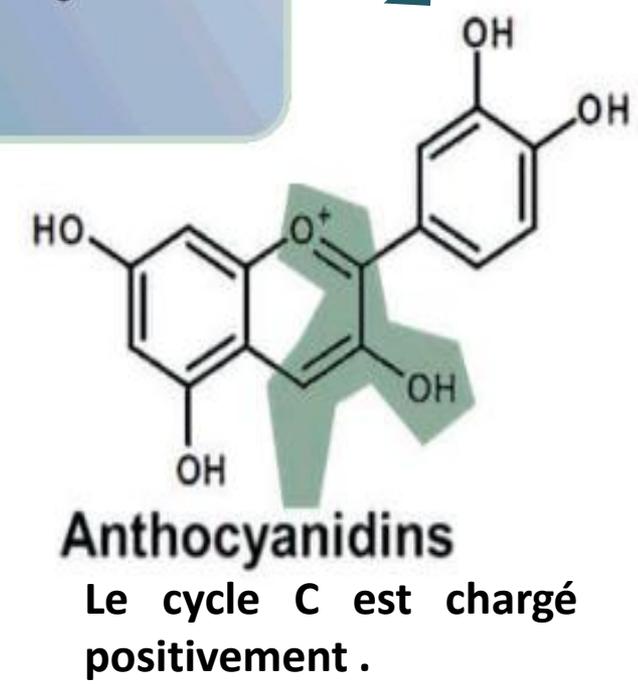
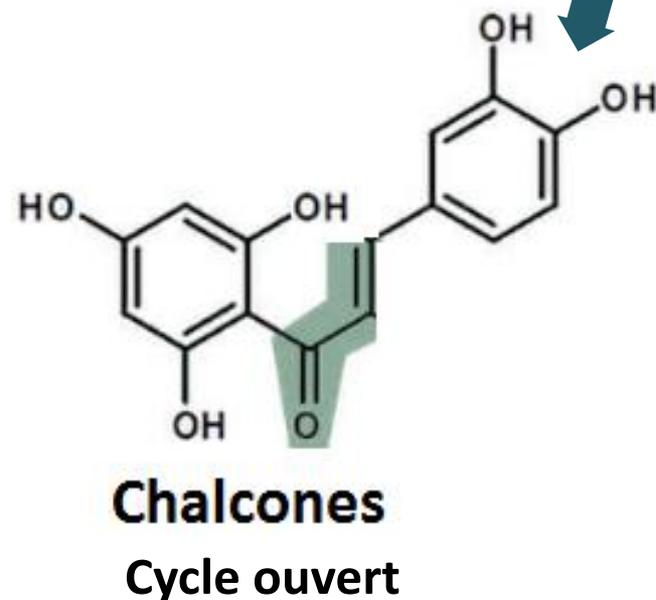
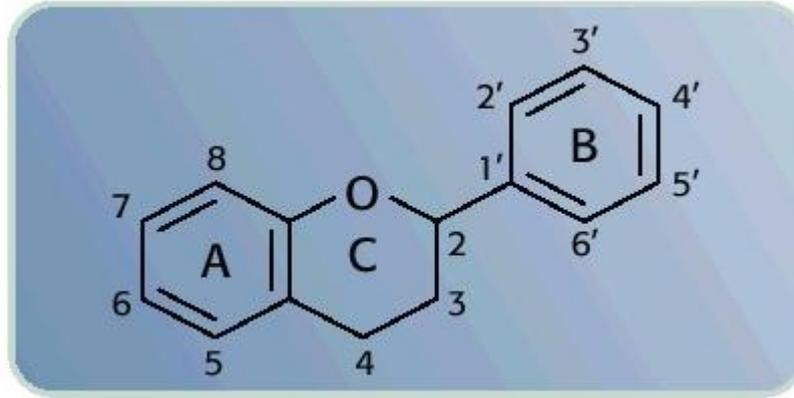


Hydroxylé en C 3.

Absence de la double liaison entre C2 et C3

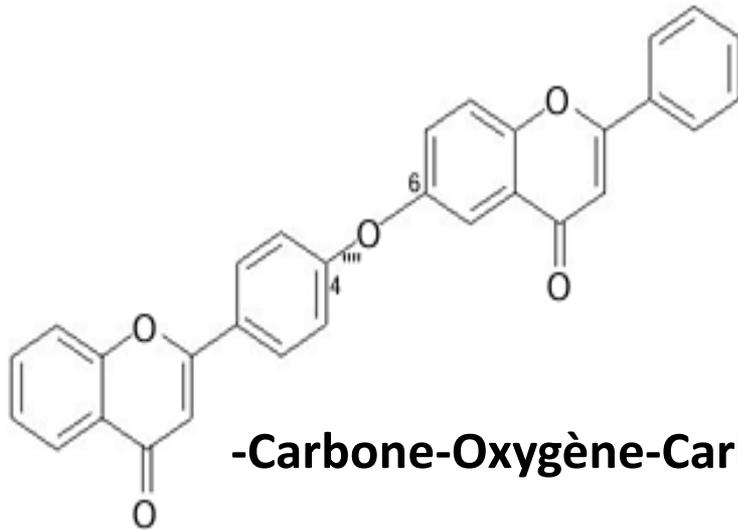
Absence de carbone carbonyle en C4

2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes

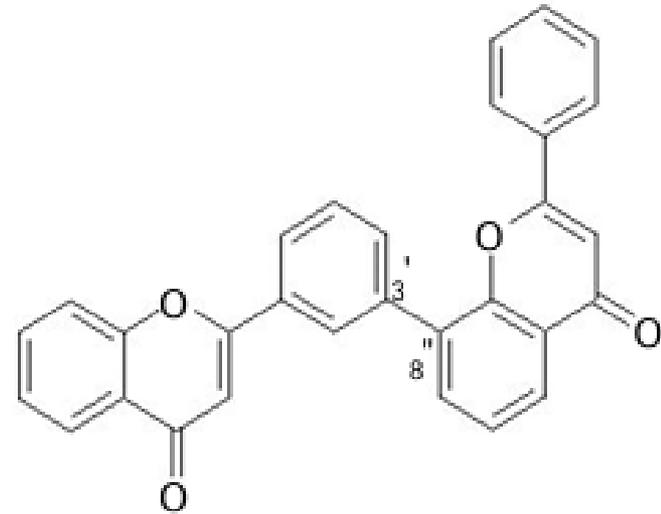


2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes

Les biflavonoïdes :



-Carbone-Oxygène-Carbone



-Carbone-Carbone

2-Les Hétérosides

Les sucres sont des monooses (Glc, Rha, xyl) des di-oses

2-5-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

Les flavonoïdes sont des solides cristallisés dont la teinte varie du blanc ivoire au jaune vif.

1-Solubilité : Les hétérosides sont hydrosolubles (surtout à chaud), solubles dans les autres solvants organiques polaires.

- Les génines sont solubles dans les solvants organiques apolaires.

2- Extraction: est réalisée dans le méthanol ou un mélange méthanol- eau (70-90:30-10) voire un mélange acétone-eau. Procéder ensuite à évaporation sous-vide. Suivie par extraction liquide-liquide: par l'acétate d'éthyle puis butanol.

2-5-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

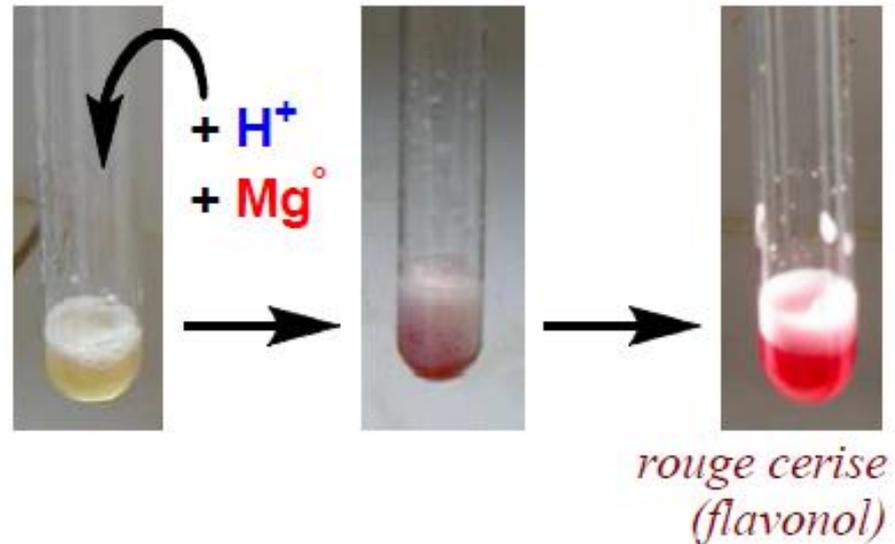
3- Caractérisation:

-Réaction de Cyanidine : Poudre de Mg en milieu chlorhydrique :

- orange : flavone
- rouge cerise : flavonol
- rouge violacé : flavanone
(négative avec les chalcones).

Poudre de Zn en milieu chlorhydrique : (flavonoïdes vraies).

-CCM : examen à l'UV et le visible.



4-Dosage :

Spectrophotométrie (mesure de l'absorbance après réaction avec AlCl₃)-

-HPLC.

2-5-4 Propriétés biologiques des flavonoïdes

-Action veinotonique et vasculoprotectrice

(la rutine ou la diosmine): pour traiter des problèmes en rapport avec l'insuffisance veineuse :

- jambes lourdes,
- œdèmes des membres inférieurs,
- varices,

-Activité antioxydante antibactérienne,
Anti-inflammatoires, antifongique
Anticancéreux, Antidiabétique, Antivirale

