

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:

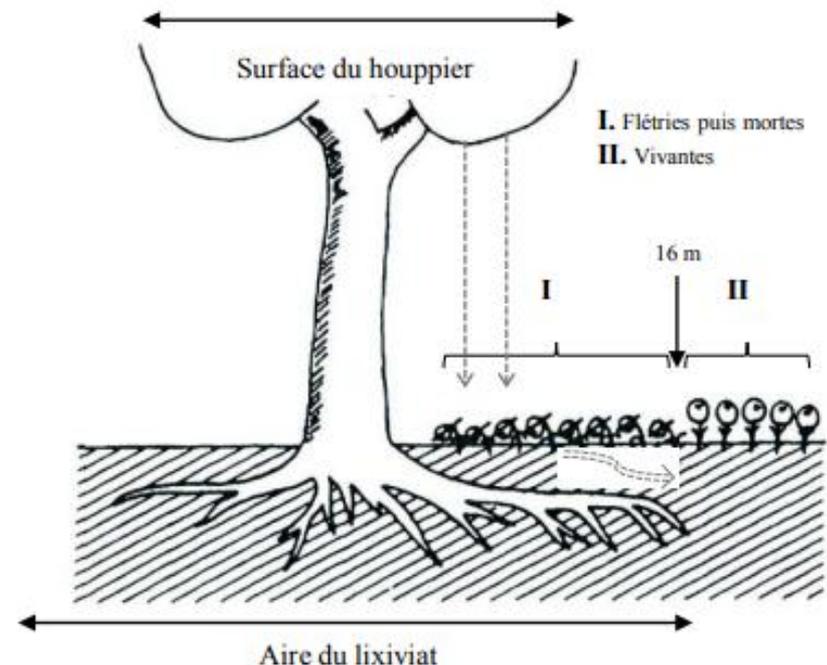
Allélopathie

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

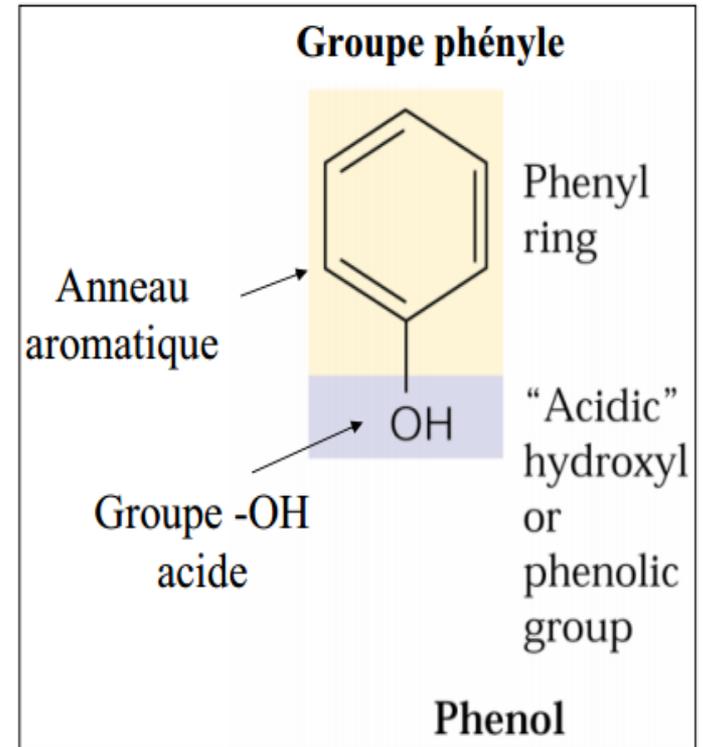
On peut identifier trois types de métabolites secondaires:

	<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"

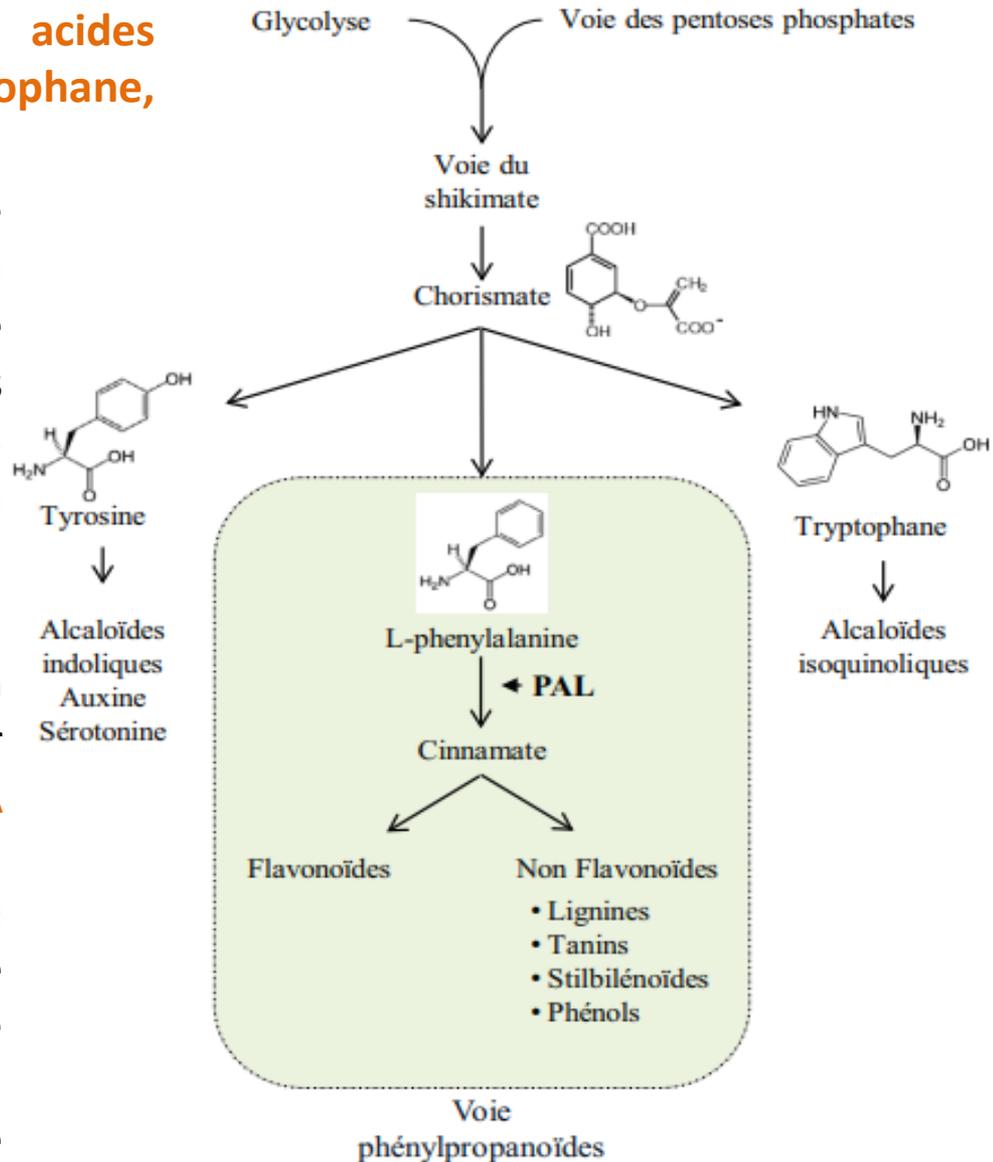
-Correspond à la voie de synthèse des acides aminés aromatiques de type tryptophane, phénylalanine, tyrosine.

❖ 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

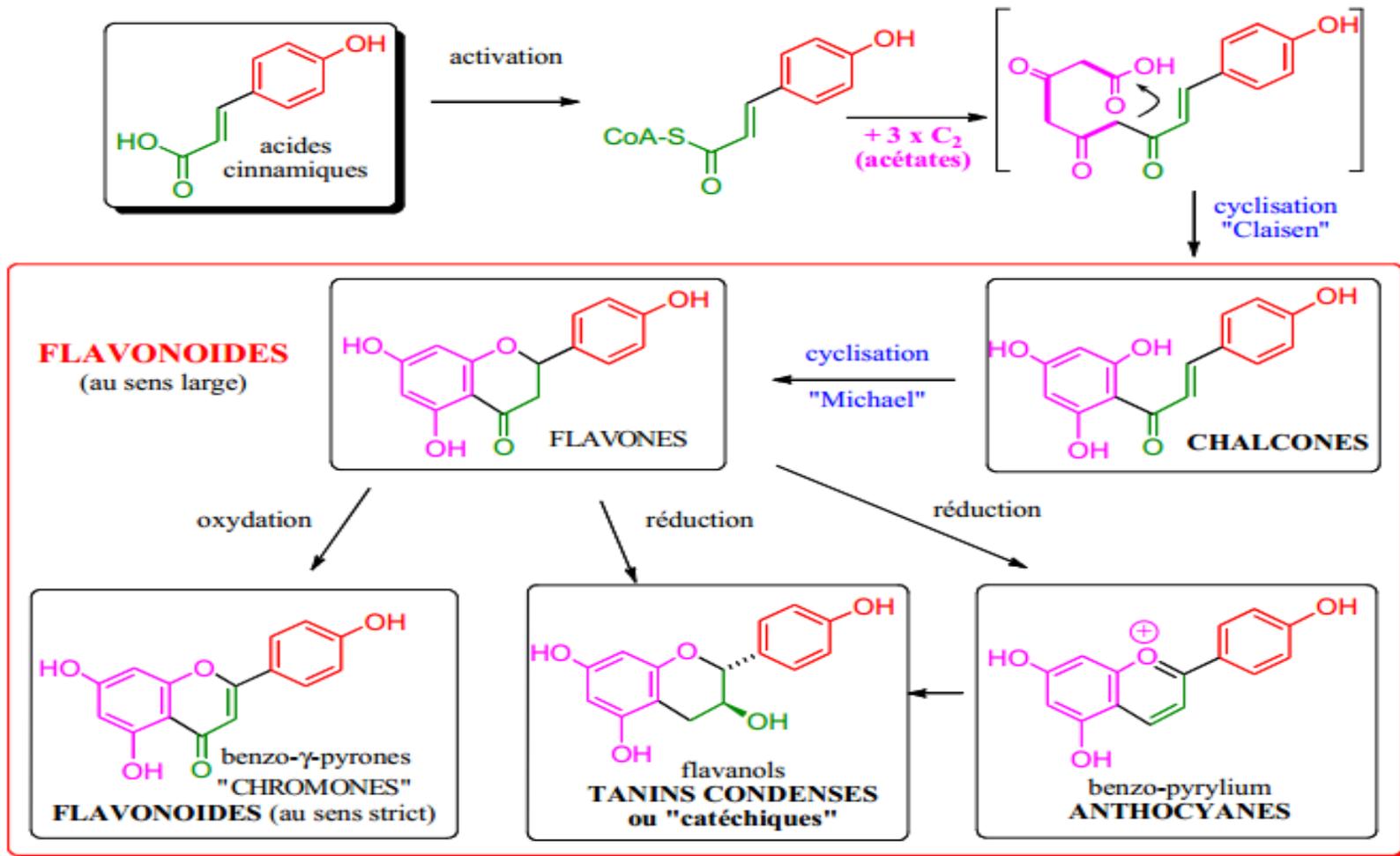


1-Biogenèse des composés phénoliques

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 ».

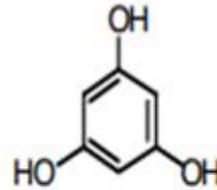


Origine biogénétique des différents polyphénols de type « flavonoïde » en C6-C3-C6

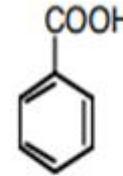
2-Classification des composés phénoliques

2-1 Phénols et acides phénoliques

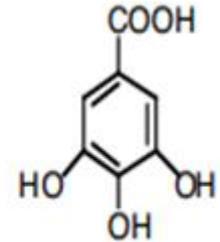
- ❖ Le terme acide-phénol s'applique à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.
- ❖ les acides phénols sont classés en:
 - Phénols simples C6: (catéchol) qui sont rares dans la nature
 - Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1)
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



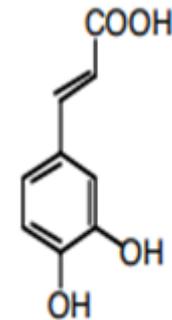
phloroglucinol 1



acide benzoïque 2



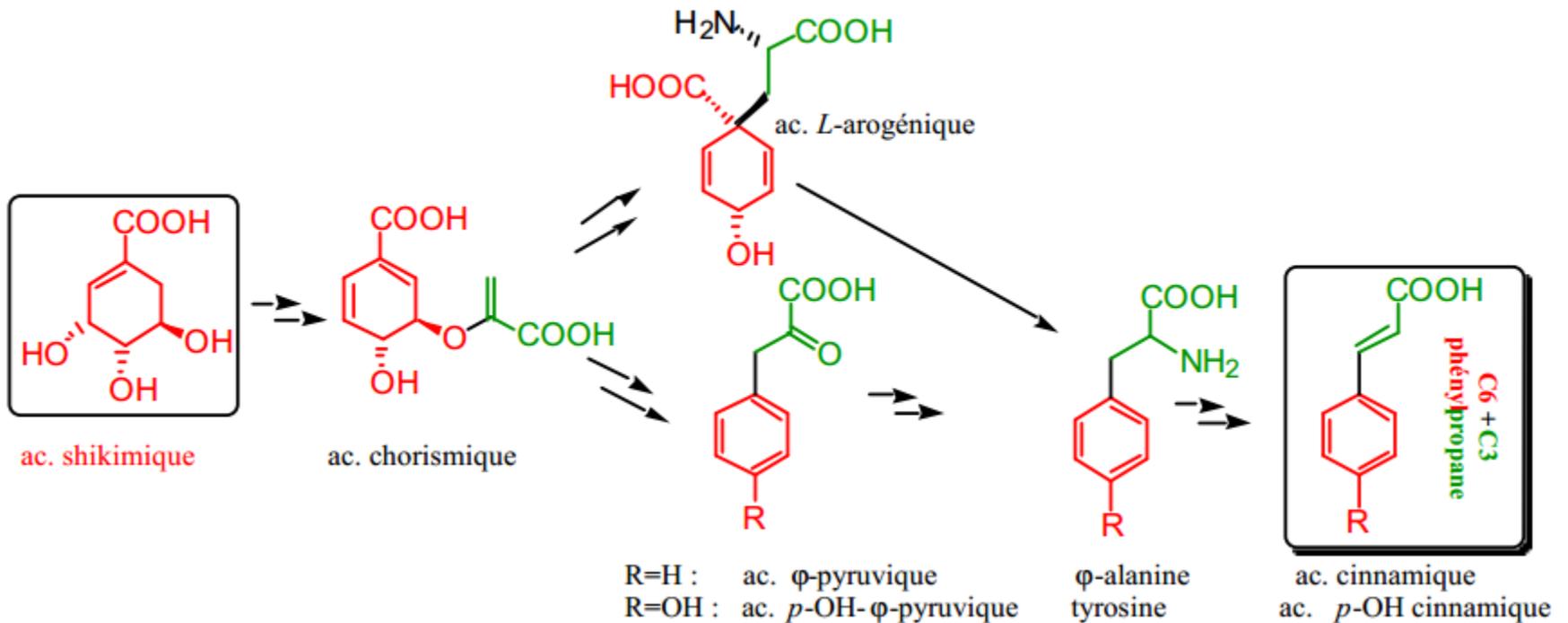
acide gallique 3



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.

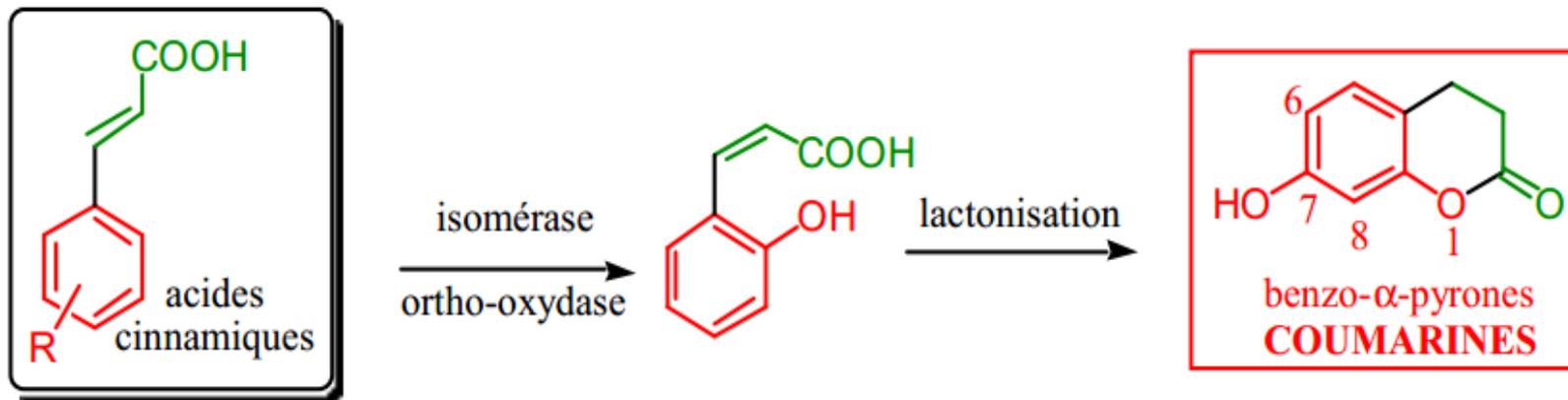


2-2-1 origine et structure chimique des coumarines

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":



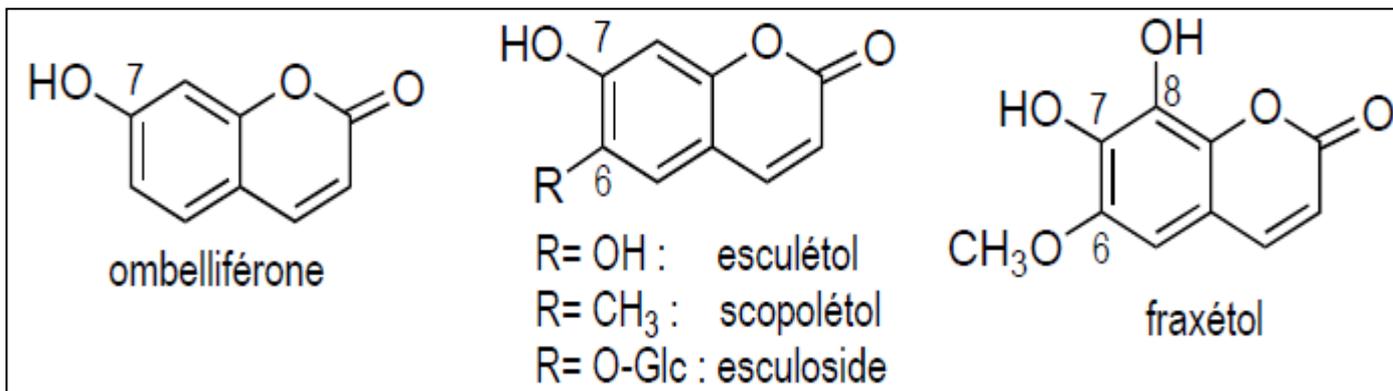
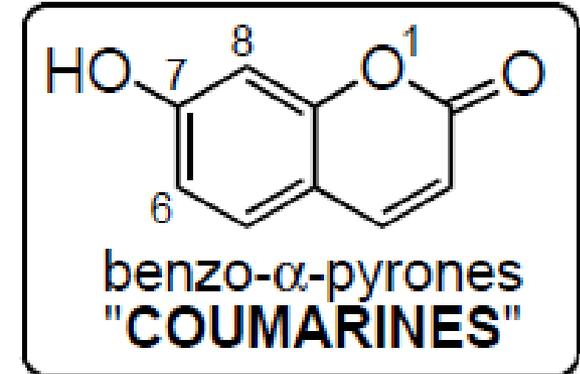
Cyclisation des "cinnamates" en coumarines.

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:

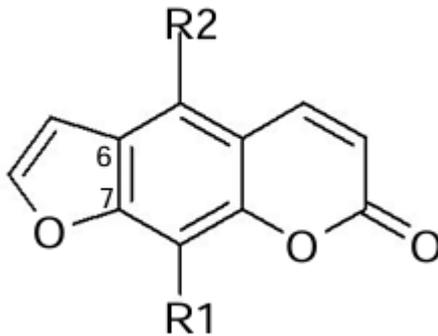
- La 7-hydroxycoumarine = ombelliférone, est le précurseur des coumarines:
- 6,7-di- hydroxy coumarine=esculétole,scopolétole
- 6.7.8-trihydroxylées = fraxétole.
- Les hydroxyles de ces coumarines simples peuvent être méthylés.
- l'un d'eux peut être engagé dans une liaison hétérosidique.



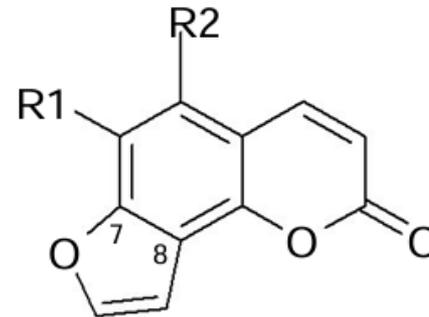
2-2-2 Classification des coumarines

- **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)** :

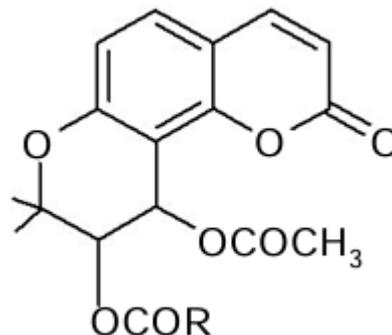
6,7 furocoumarines (linéaire)



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.

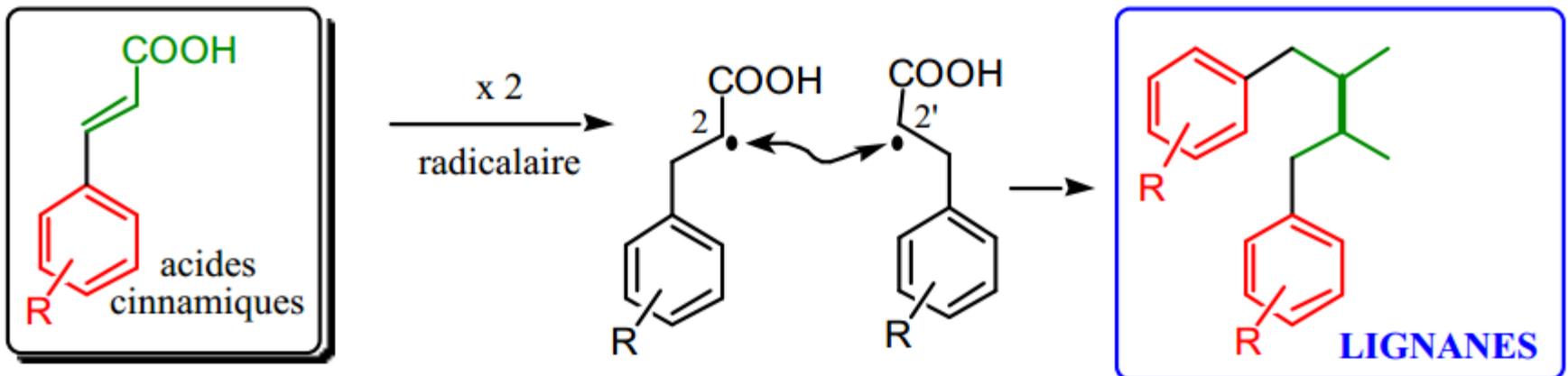


2-3- Les Lignanes

- ✓ 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 épaisissements 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.

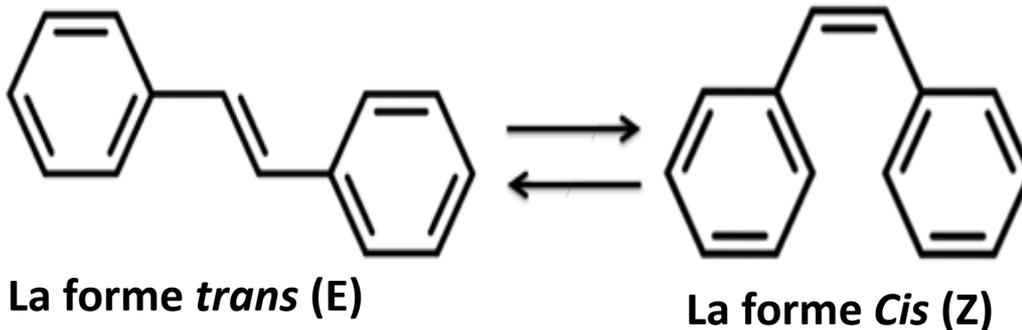
La complexité chimique et le caractère aléatoire des liens moléculaires entre les différents monomères entrant dans la composition des lignines font de ce biopolymère l'un des plus difficiles à dégrader. Cette caractéristique fait d'eux une barrière de défense idéale contre les agents pathogènes et les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

- les stilbéoïdes 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 hypogaea

Polygonacées



Fallopia japonica

Pinacées



Pinus strobus

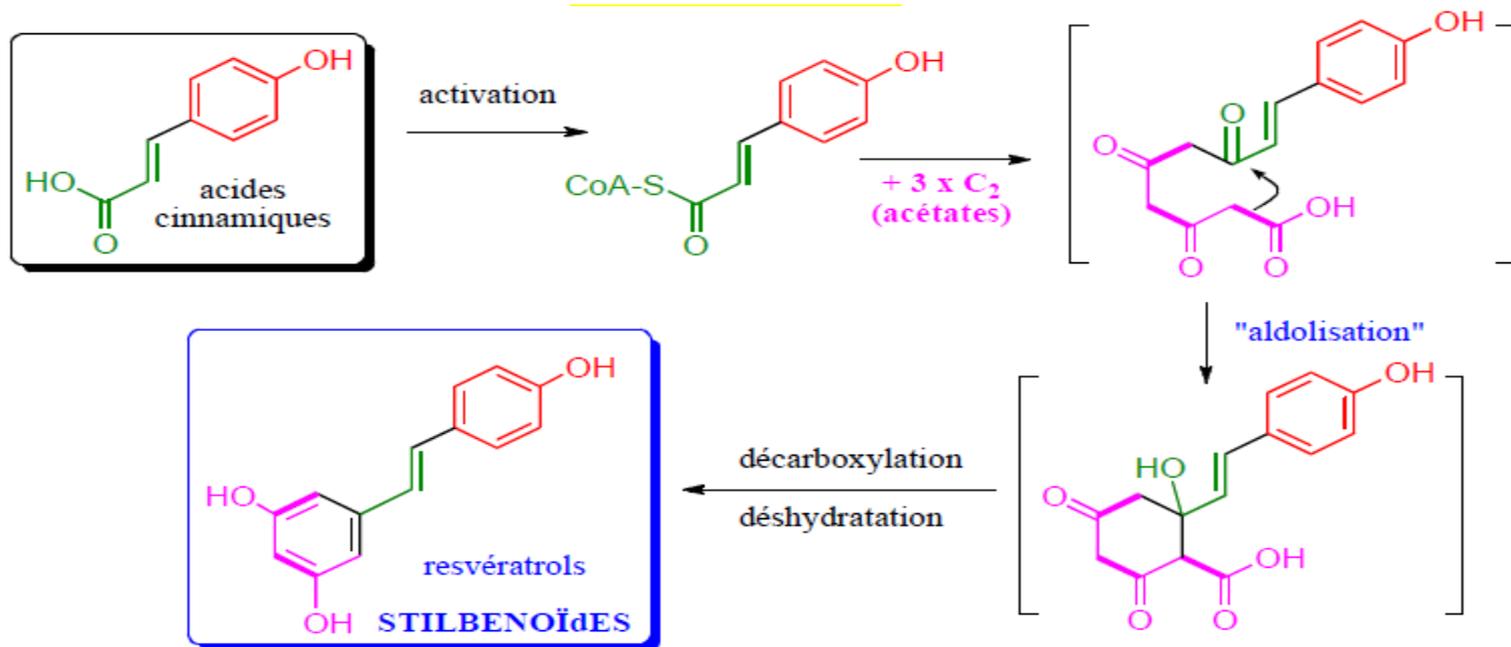
Vitacées



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.

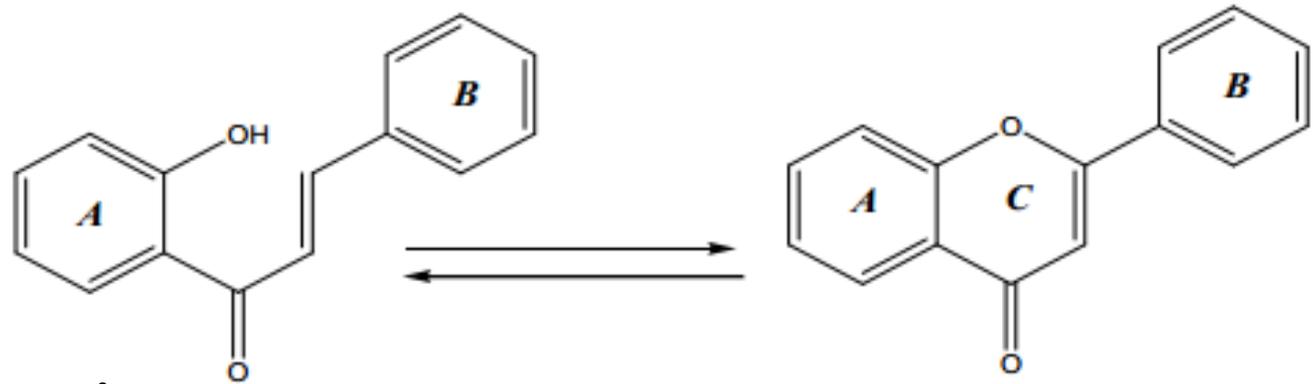
2-5 Les Flavonoïdes



- 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.
- Egalement 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, 280-315 nm) qui peut endommager les plantes**).
- Présents dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeune (feuilles et boutons floraux).
- Souvent sous forme d'hétérosides (solubles) stockés dans le suc vacuolaire .

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.

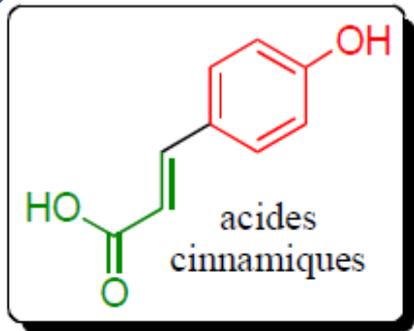


on peut distinguer:

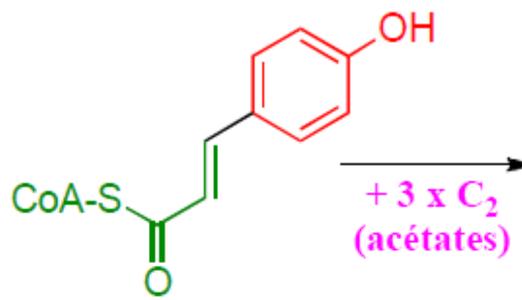
- Les **flavonoïdes sensu stricto**
- Les **anthocyanosides**
- Les **isoflavonoïdes**.

Structure de base d'un Flavonoïde

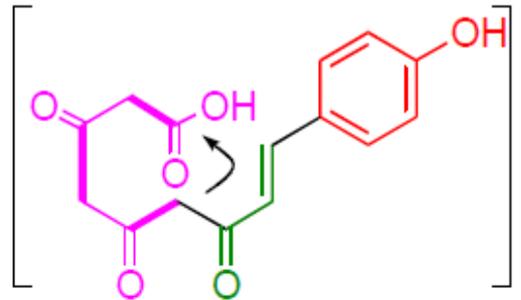
2-5-1 Biogenèse des flavonoïdes



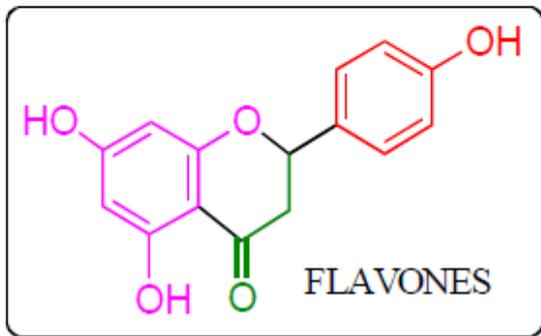
activation



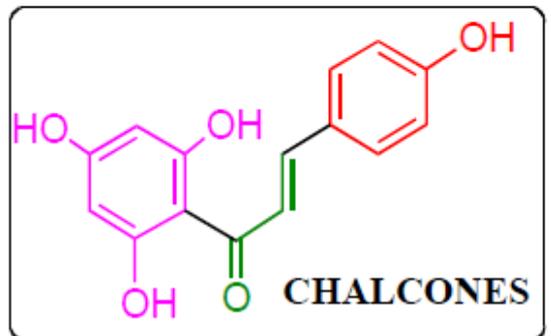
+ 3 x C₂
(acétates)



cyclisation
"Claisen"



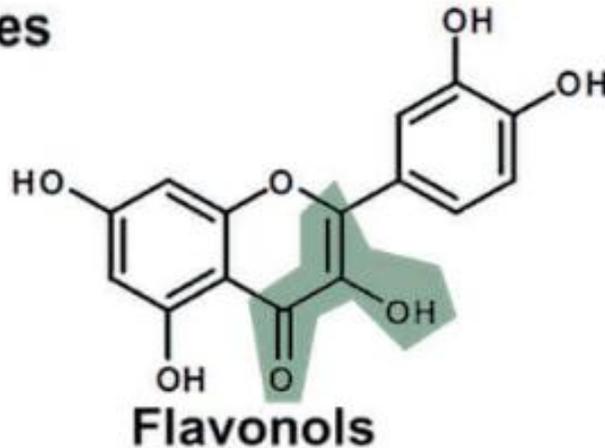
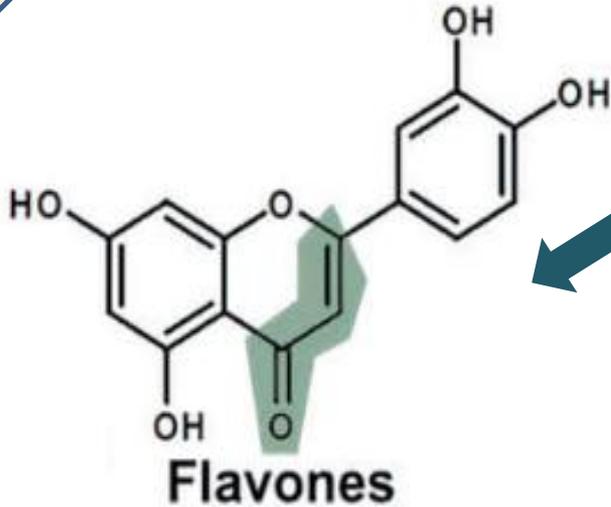
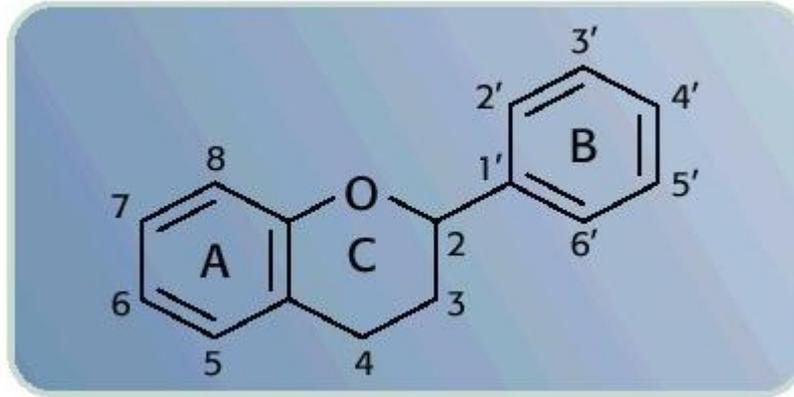
cyclisation
"Michael"



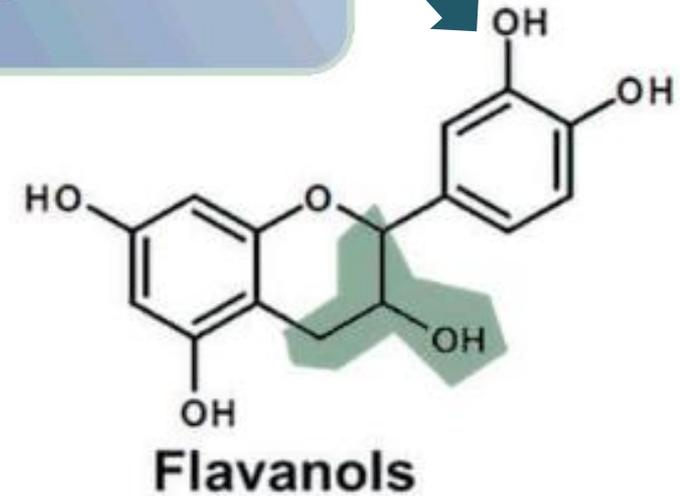
FLAVONOÏDES
(au sens large)

2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes

1-Les génines



Possédant un OH en C 3.

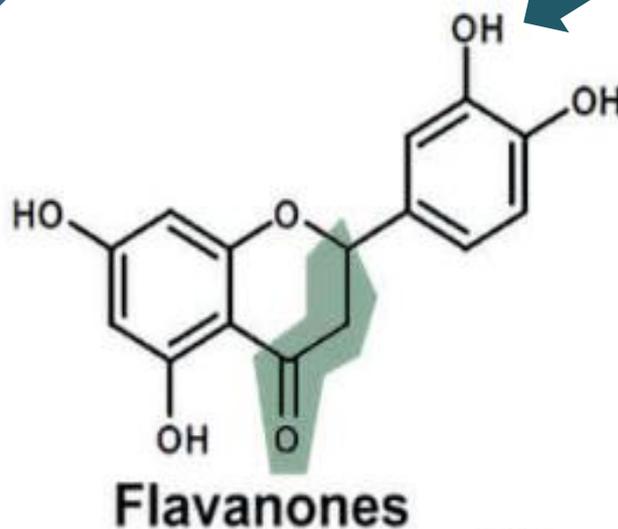
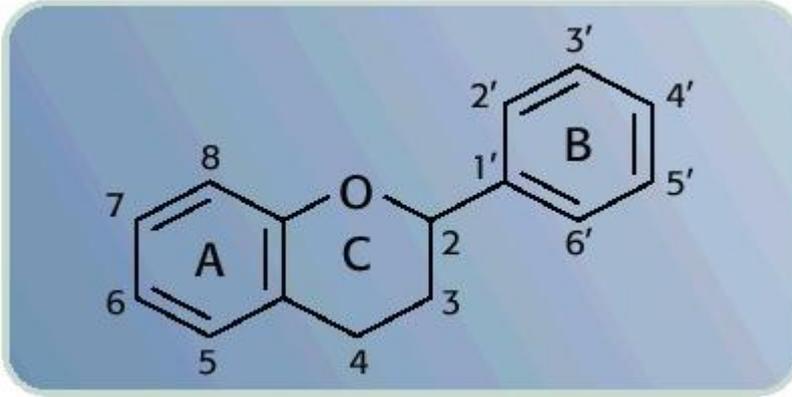


Hydroxylé en C 3.

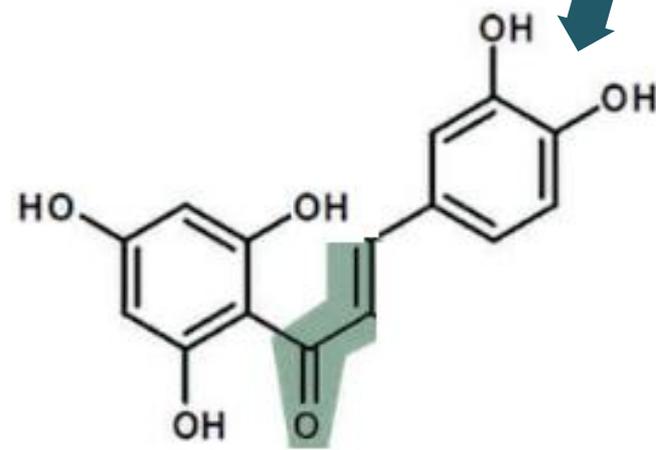
Absence de la double liaison entre C2 et C3

Absence de carbone carbonyle en C4

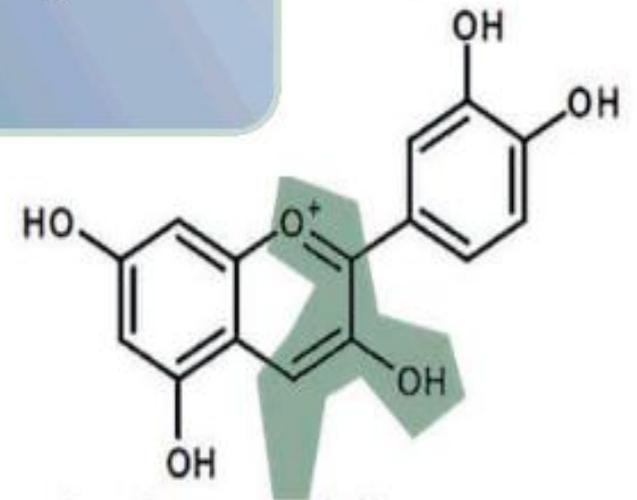
2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes



Flavanones



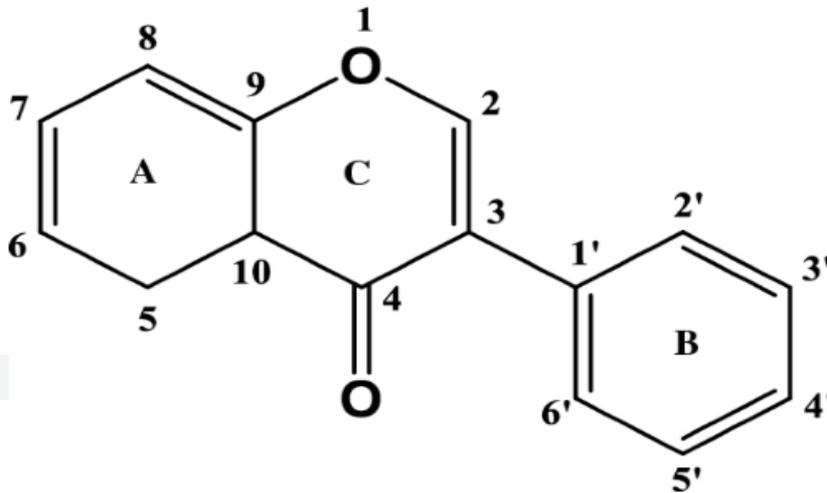
Chalcones
Cycle ouvert



Anthocyanidins
Le cycle C est chargé positivement.

2-5-2 Structure chimique et Classification des flavonoïdes

Isoflavonoïdes



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.

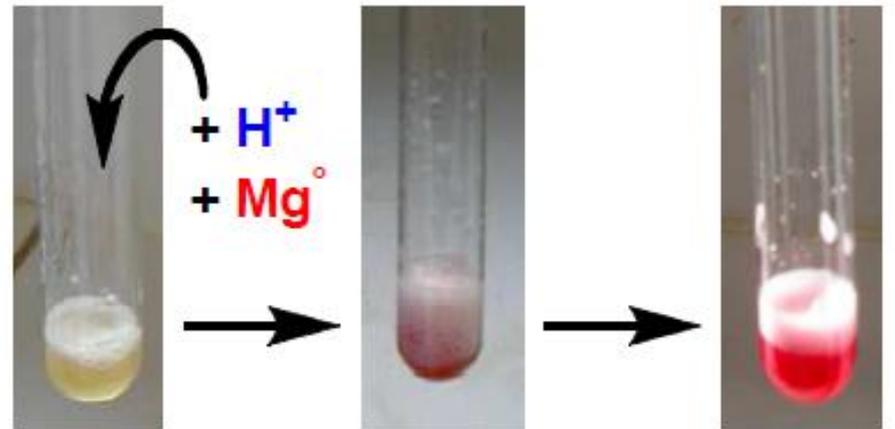
2- Extraction: est réalisée dans le méthanol ou un mélange méthanol- eau (70-90:30-10) voire un mélange acétone-eau. Procéder ensuite à évaporation sous-vide. Suivie par extraction liquide-liquide: par l'acétate d'éthyle puis butanol.

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).
- CCM : examen à l'UV et le visible.



4-Dosage :

Spectrophotométrique (mesure de l'absorbance après réaction avec AlCl_3)-

-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



2-6 Les Tanins

- ❑ Le nom dérive de tan, produit obtenu à partir de l'écorce du chêne.
- ❑ Historiquement, leur importance est liée à leur propriété tannante= transformer la peau fraîche en cuir.
- ❑ Racines, écorces, feuilles, fleurs et graines. Stockés dans les vacuoles, combinés aux protéines, aux sucres, ou aux alcaloïdes.
- ❑ Groupe hétérogène difficile à définir= n'a pas de structure chimique de base.
- ❑ molécules de haut poids moléculaire, fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives.
- ❑ Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3 000.

2-6-1 Structure chimique et classification des tanins

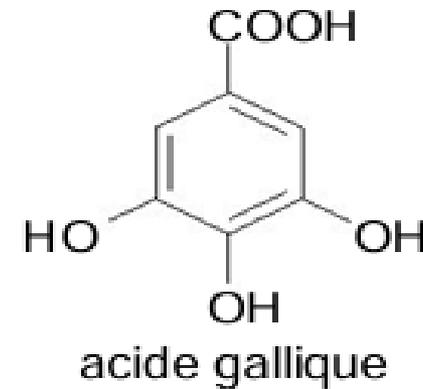
Chez les végétaux: deux groupes: Tanins hydrolysables et condensés.

1-Tanins hydrolysables: Ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol.

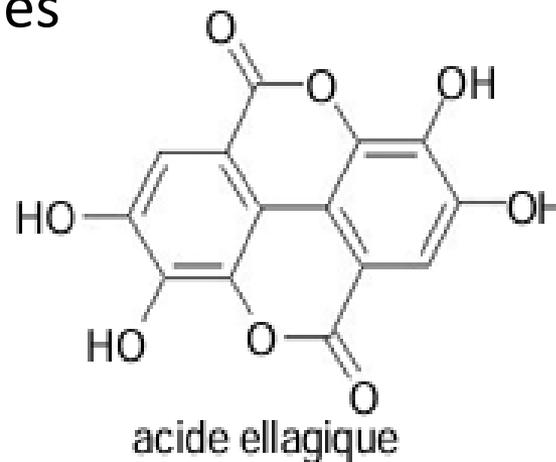
- Le sucre est très généralement le glucose.
- L'acide -phénol est soit l'**acide gallique** dans le cas des tanins galliques (ou gallotanins), soit l'acide **acide éllagique** et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (ou ellagitanins).

2-6-1 Structure chimique et classification des tanins

- **a-Les tanins galliques** : Ils donnent, par hydrolyse, des oses et de l'acide gallique.

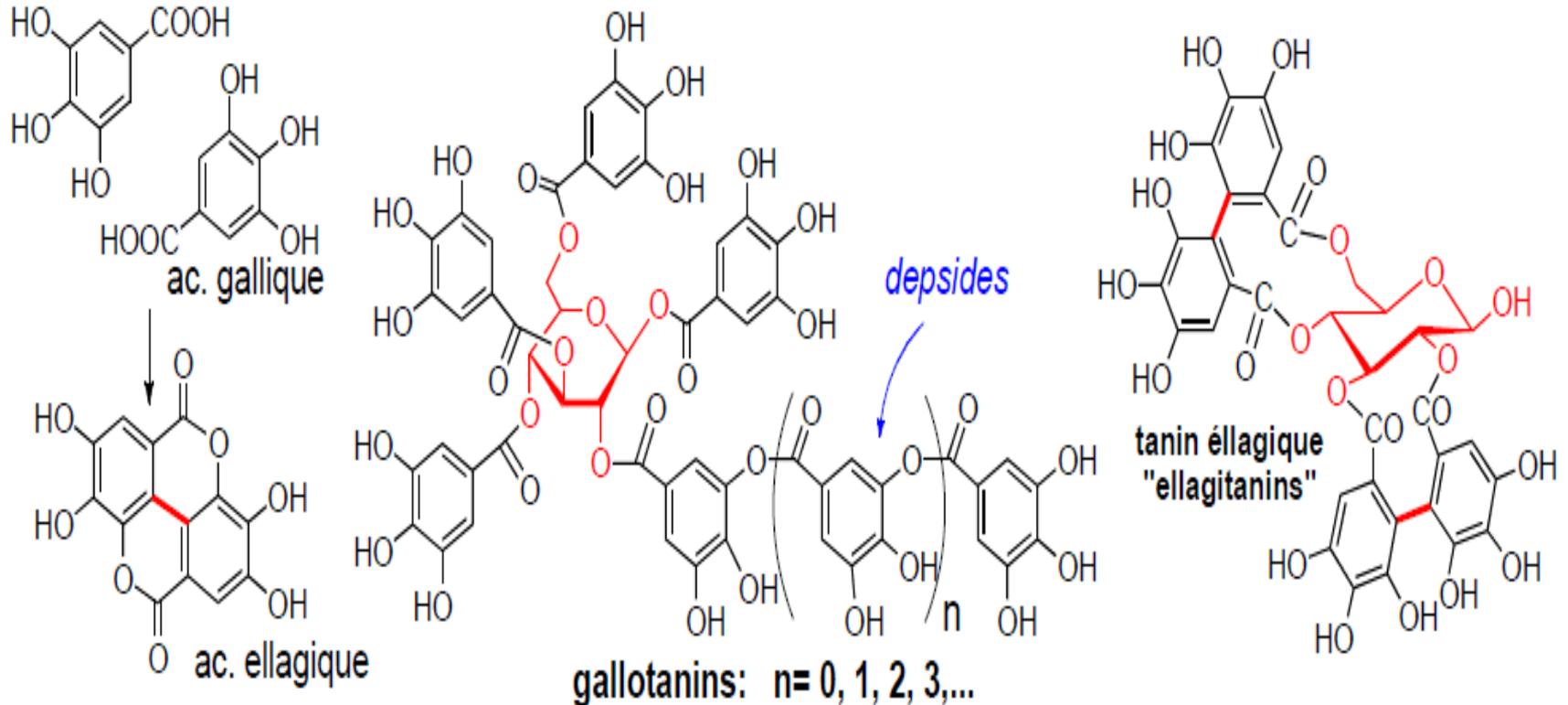


- **b-Les tanins ellagiques** :
Ils sont scindés par les acides ou les enzymes en oses et en acide ellagique.



2-6-1 Structure chimique et classification des tanins

Les tanins hydrolysables: Ce sont des polymères qui pour « cœur » un glucose polyestérifié par des acides gallique et/ou ellagique. Ils contiennent parfois de longues chaînes d'esters d'acide gallique par l'acide gallique = **depsides**.

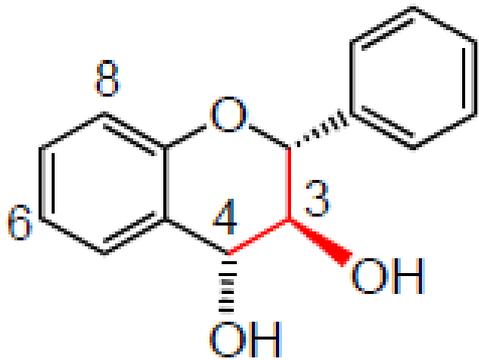


tanins gallique et ellagique = glucosylesters des acides gallique et ellagique

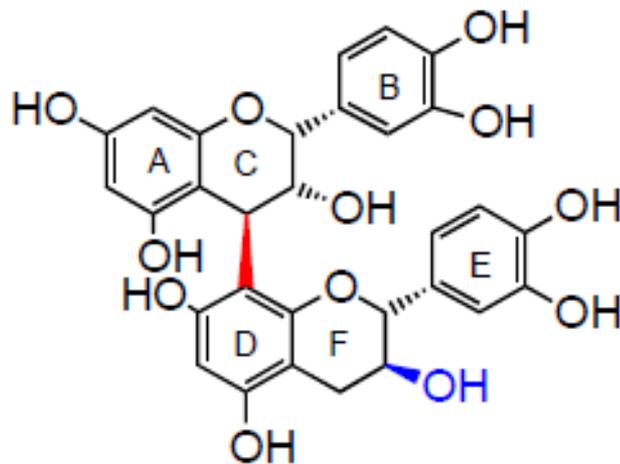
2-6-1 Structure chimique et classification des tanins

2-Tanins condensés “catéchiques” ou “procyanidoliques”

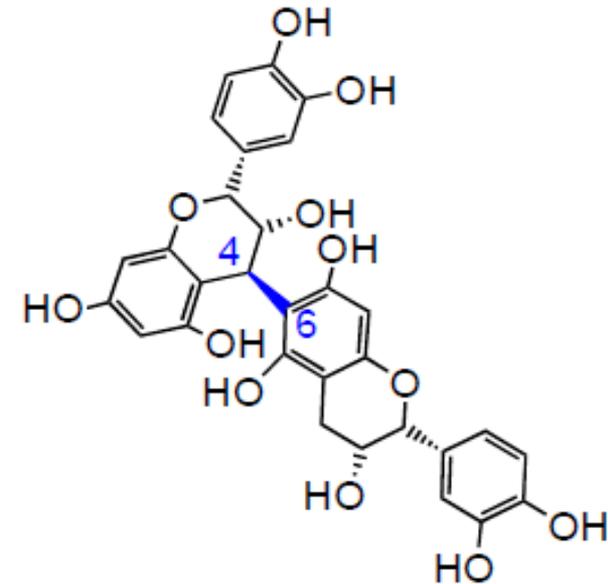
Ce sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de **flavan-3-ols** liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent **C4-C8** ou **C4-C6**.



flavan-3 ou 3,4di-ol



Procyanidines dimères
à liaison C4-C8



Procyanidines dimères
à liaison C4-C6

2-6-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

SOLUBILITÉ

- ❖ Les tanins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente).
- ❖ Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone.
- ❖ Comme tous les phénols les tanins réagissent avec le chlorure ferrique.
- ❖ Ils sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels de métaux lourds et par la gélatine.

2-6-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

CARACTÉRISATION

- Avec **les sels ferriques**, les tanins galliques et ellagiques donnent des colorations et des précipités bleu-noir et les tanins condensés des précipités brun verdâtre.
- **Les tanins galliques** donnent une coloration rose avec l'iodate de potassium (l'acide gallique libre est, lui, coloré en orange par ce réactif).
- **Les tanins ellagiques** sont colorés par l'acide nitreux en milieu acétique (d'abord rose, la coloration vire au pourpre puis au bleu).
- Le chauffage des **tanins condensés** en milieu acide libère des anthocyanes de couleur rouge

ANALYSE

L'analyse des extraits fait appel aux techniques habituelles :

- **CCM** (sur cellulose ou silice, révélation par examen des fluorescences en UV et par les réactifs cités ci-dessus),
- **Chromatographie liquide.**

2-6-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

EXTRACTION

Réalisée par **un mélange d'eau et d'acétone** (le méthanol provoque la méthanolyse des depsides galliques).

-Un rendement optimal est obtenu avec **les tissus frais ou conservés par congélation ou lyophilisation** car, dans les plantes ou parties de plantes sèches, une partie des tanins est irréversiblement combinée à d'autres polymères.

-Après élimination de l'acétone par distillation. la solution aqueuse est débarrassée des pigments et des lipides par un solvant tel que **le dichlorométhane**. L'extraction de la solution aqueuse par **l'acétate d'éthyle** permet de séparer les proanthocyanidols dimères et la plupart des tanins galliques. Les proanthocyanidols polymères et les tanins galliques de masse moléculaire élevée restent dans la phase aqueuse.

2-6-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

DOSAGE

Les meilleures méthodes pour détecter et doser les tanins sont celles qui visent à **évaluer leur capacité spécifique à précipiter les protéines.**

Dosages impliquant la précipitation protéique:

1-La méthode au sang hémolysé: utilisée principalement pour doser les **tanins**, en particulier les tanins condensés ou proanthocyanidines. Elle s'appuie sur la capacité des **tanins condensés** à se lier avec les protéines. les tanins réagissent avec l'**hémoglobine** pour former des **complexes tanins-protéines qui précipitent.**

-Après filtration, l'absorbance de la solution filtrée est mesurée à l'aide d'un **spectrophotomètre** à une longueur d'onde spécifique.

-La différence d'absorbance entre l'échantillon et un témoin sans tanins permet de quantifier la concentration en tanins condensés.

2-La méthode de l'albumine sérique bovine (BSA): les tanins forment des complexes avec l'albumine protéine contenue dans le sérum bovin.

3-La méthode à la poudre de peau:Le principe repose sur la capacité des tanins à se lier aux **protéines** présentes dans la peau animale en poudre.

2-6-3 Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage

Méthodes colorimétriques principales pour le dosage des tanins hydrolysables :

1. Méthode au rhodanine pour les gallotanins (acide gallique)

-la formation d'un complexe coloré entre l'acide gallique (formé après hydrolyse acide en utilisant une solution d'acide sulfurique ou chlorhydrique à température contrôlée) et la rhodanine, mesurable par spectrophotométrie (520 nm). et la concentration de gallotanins est déterminée par comparaison avec une courbe d'étalonnage d'acide gallique.

2. La méthode au test de vanilline: repose sur la réaction des tanins avec la vanilline en milieu acide. une réaction de condensation entre les tanins et la vanilline, formant un complexe coloré. La couleur produite est proportionnelle à la concentration de tanins dans l'échantillon.

3. Méthode colorimétrique au Folin-Ciocalteu

Le réactif de Folin-Ciocalteu est une méthode plus générale pour les polyphénols, mais il peut être utilisé pour doser les tanins hydrolysables après hydrolyse acide. Cette méthode mesure la capacité des phénols à réduire le réactif de Folin-Ciocalteu, ce qui produit une couleur bleue mesurable par spectrophotométrie.

2-6-4 Propriétés biologiques des tanins

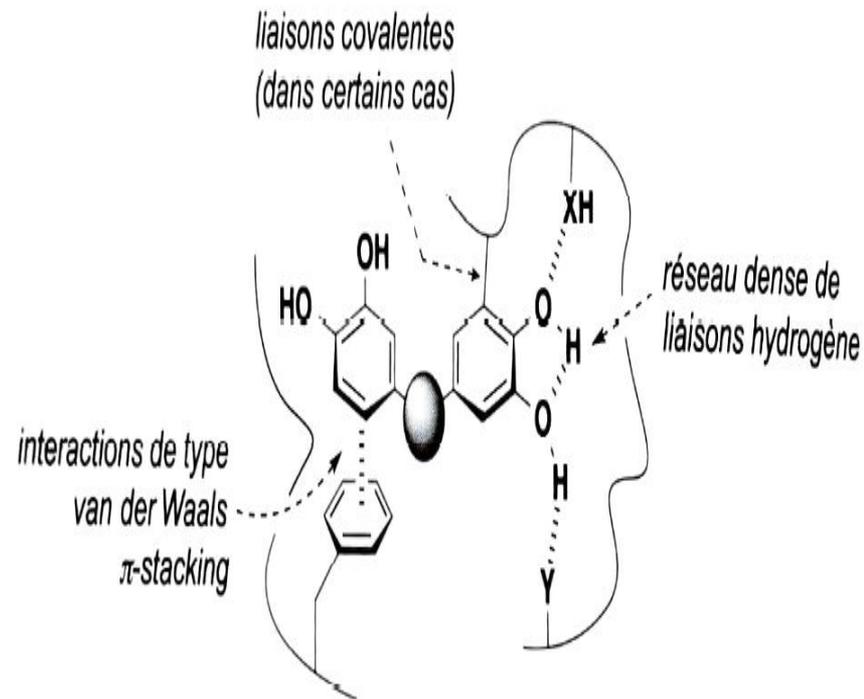
La plupart des propriétés biologiques des tanins sont liées au pouvoir qu'ils ont de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines (enzymes digestives et autres, protéines).

Complexation réversible: par liaisons hydrogène et par interactions hydrophobes.

-L'affinité des tanins pour les protéines augmente lorsque celles-ci sont riches en proline et de conformation flexible (protéines salivaires, collagène).

-**Précipitation des complexes** : Lorsque la liaison tanins-protéines est suffisamment forte ou lorsque les conditions (pH proche du point isoélectrique de la protéine) favorisent une faible solubilité, les complexes peuvent précipiter.

Complexation irréversible: l'oxydation des tanins conduit à des quinones (très réactives) qui réagissant avec les protéines, formeront des liaisons covalentes.



Interactions des tanins avec les macromolécules protéiques

2-6-4 Propriétés biologiques des tanins

LES APPLICATIONS MÉDICALES DES PLANTES À TANINS

Effet anti diarrhéique: en réduisant la perméabilité de la muqueuse intestinale. Cela empêche la perte excessive d'eau et d'électrolytes à travers la paroi intestinale, ce qui contribue à réduire la production de selles liquides.

Effet antispasmodique, En diminuant les spasmes intestinaux, les tanins réduisent la vitesse du transit intestinal.

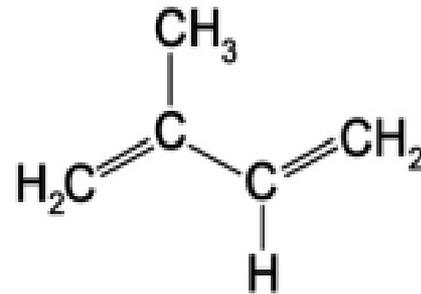
-par voie externe, ils **imperméabilisent les couches superficielles de la peau (tannage).**

-des molécules intéressantes pour **la régénération des tissus en cas de blessure superficielle ou de brûlure** (se lier aux fibres de collagène de la peau et des muqueuses).

-**Activité antioxydante (piégeurs de radicaux libres), antibactérienne, antivirale.**

Les terpénoïdes

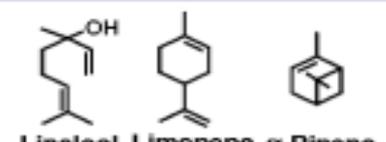
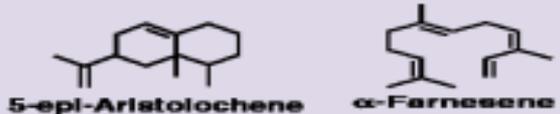
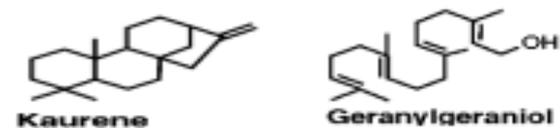
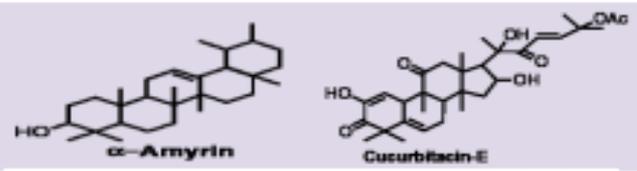
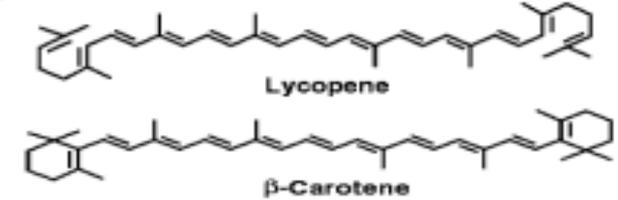
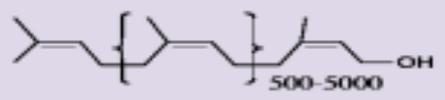
- ❑ Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte.
- ❑ Formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones : l'**isoprène** de formule **C₅H₈**.
- ❑ Ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux.



Structure chimique de l'isoprène

1-Classification

Classification: basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène

Classe	Formule brute	n° d'isoprène	Exemples
Hémiterpènes	C_5H_8	1	 Isoprene Methylbutenol
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	2	 Linalool Limonene α -Pinene
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	3	 5-epi-Aristolochene α -Farnesene
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	4	 Kaurene Geranylgeraniol
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	6	 α -Amyrin Cucurbitacin-E
Tétraterpènes	$C_{40}H_{64}$	8	 Lycopene β -Carotene
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	45-30000	 500-5000 le caoutchouc (<i>cis</i> -1,4-polyisoprène)

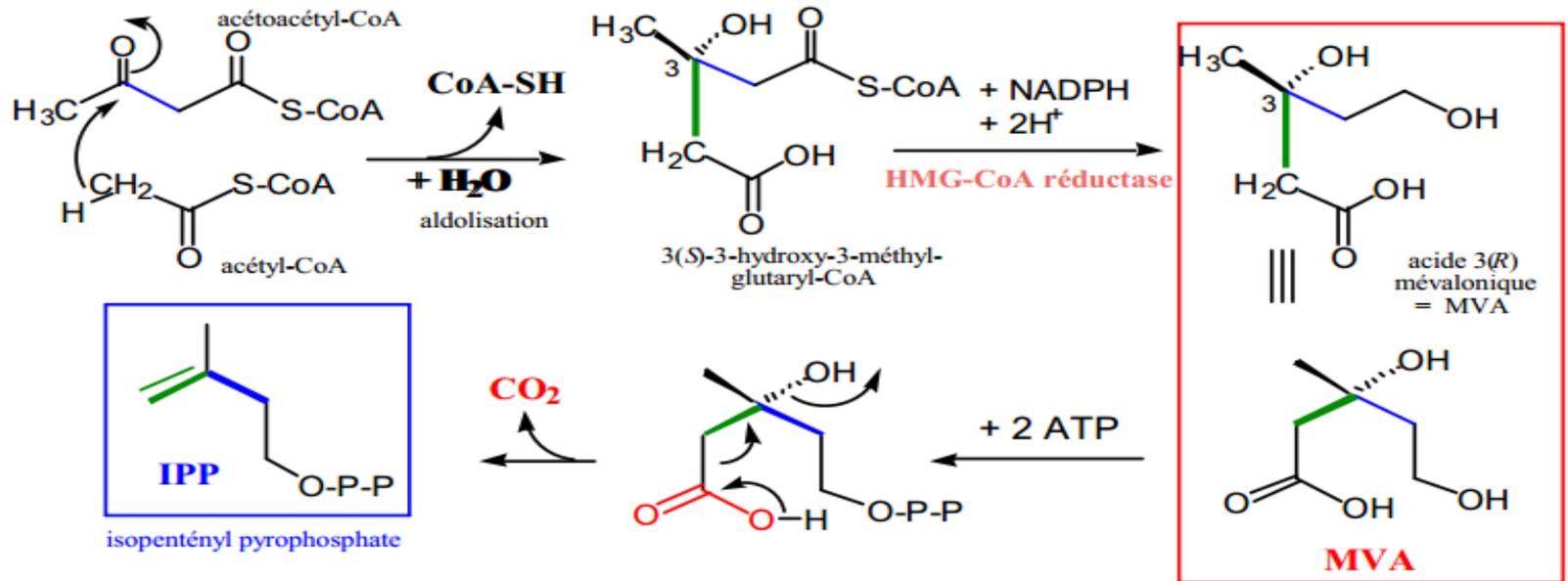
2-Biogenèse des terpénoïdes

Deux étapes essentielles :

- Formation de « l'isoprène activé »
- Couplages "tête-queue" d'unités en C-5 = prénylation

1-Formation de l'isoprène "activé" :

-a- Voie du mévalonate :

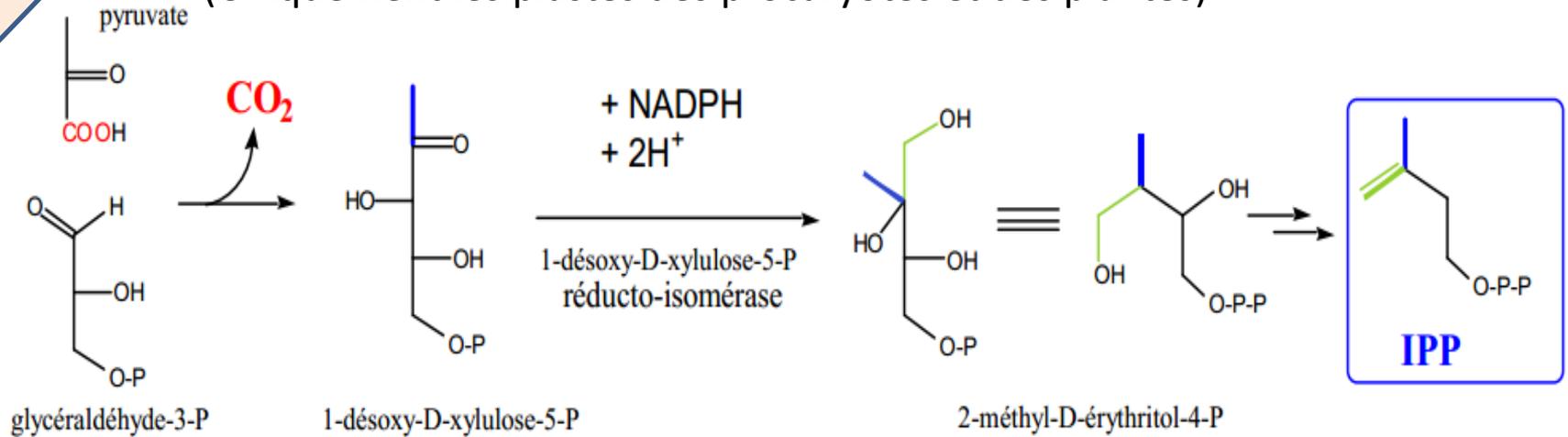


(bactéries ; algues ; plantes supérieures ; animaux)

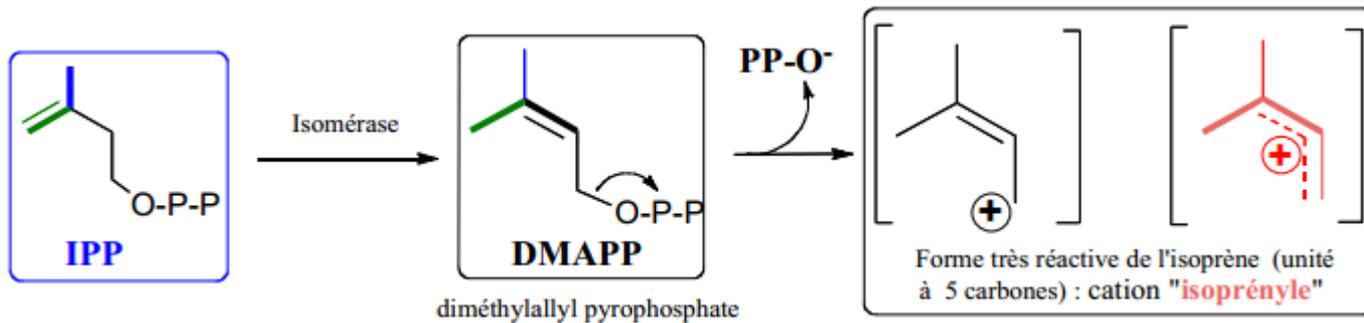
B-Voie du méthylérythritol-4-phosphate

Pyruvate + Glycéraldéhyde-3-Phosphate

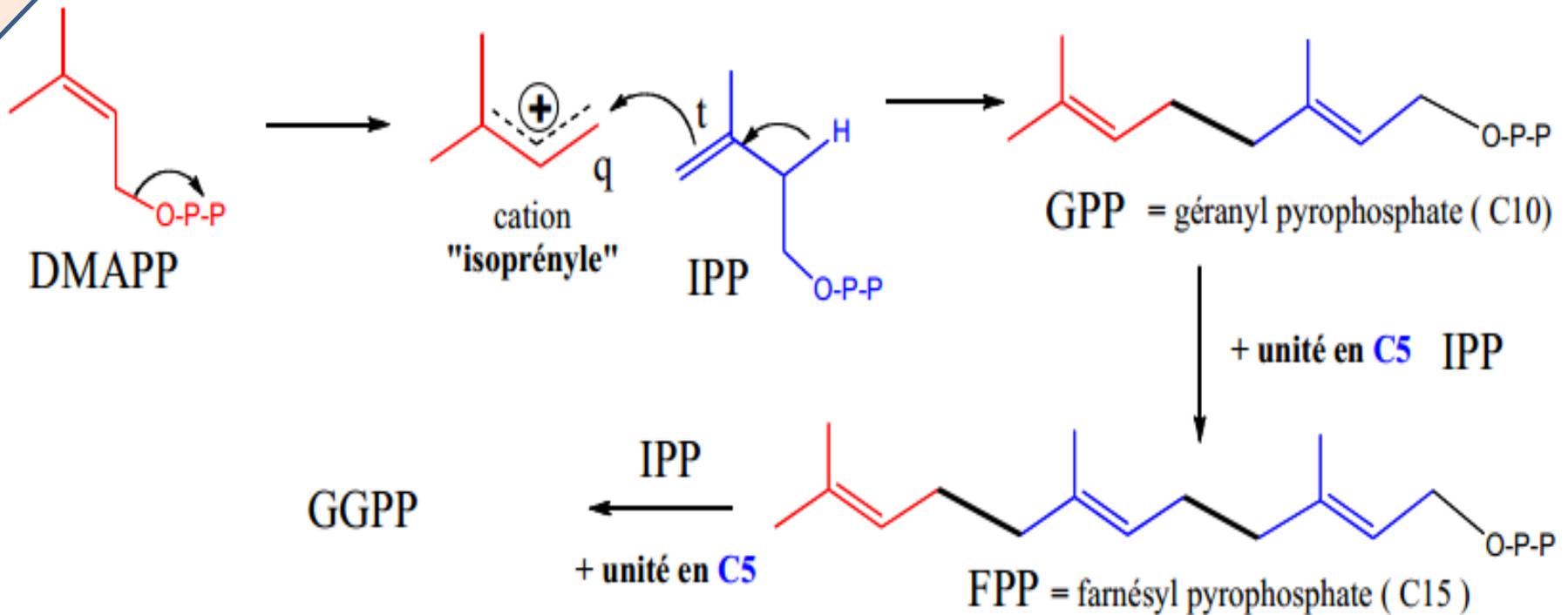
(Uniquement les plastes des procaryotes et des plantes)



c- Ionisation en « isoprène activé » :



Etape 2: Couplages "tête-queue" d'unités en C-5 (prénylation)



La biogenèse de l'isoprène résulte de deux voies principales de biosynthèse des isoprénoïdes :

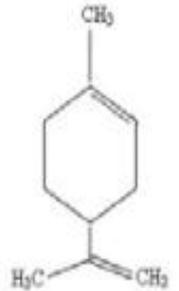
- **Voie du mévalonate (chez les animaux, champignons, et certains autres organismes)** : Cette voie produit l'IPP et le DMAPP à partir de l'acétyl-CoA.
- **Voie du méthylérythritol-4-phosphate (MEP) ou non-mévalonique (chez les plantes, bactéries, et certains parasites)** : Ici, le 1-désoxyxylulose-5-phosphate est converti en MEP, puis en IPP et DMAPP.
- La condensation de diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) avec l'isopentényl pyrophosphate (IPP) produit les **monoterpénoïdes**,
- $(\text{DMAPP}) + (2 \text{ IPP}) = \text{les sesquiterpénoïdes (2 IPP)}$
- $(\text{DMAPP}) + (3 \text{ IPP}) = \text{diterpénoïdes .}$

Les huiles essentielles (Mono et sesquiterpènes)

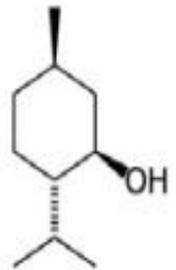
Selon la pharmacopée européenne: « *une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique sans chauffage* ».

-les mono- et sesquiterpénoïdes forment la majeure partie.

-Elles constituent une forme de médecine à part entière: **l'aromathérapie.**



Limonène



Menthol

Répartition, localisation des huiles essentielles

Répartition:

- Les HEs n'existent que chez les végétaux supérieurs.
- Peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: fleurs, feuilles, écorces, racines, rhizomes, fruits et graines.
- Composition chimique différente d'un organe à un autre au sein de la même espèce.
- Teneur en HEs sont plutôt faible < 10ml/kg (exceptionnellement 150ml/kg bouton floral giroflier)

Localisation: HEs se trouvent le souvent à l'intérieur de formations histologiques spécialisées localisées à la surface de la plante: cellules à huiles essentielles, poils sécréteur, canaux sécréteurs, poches sécrétrices.

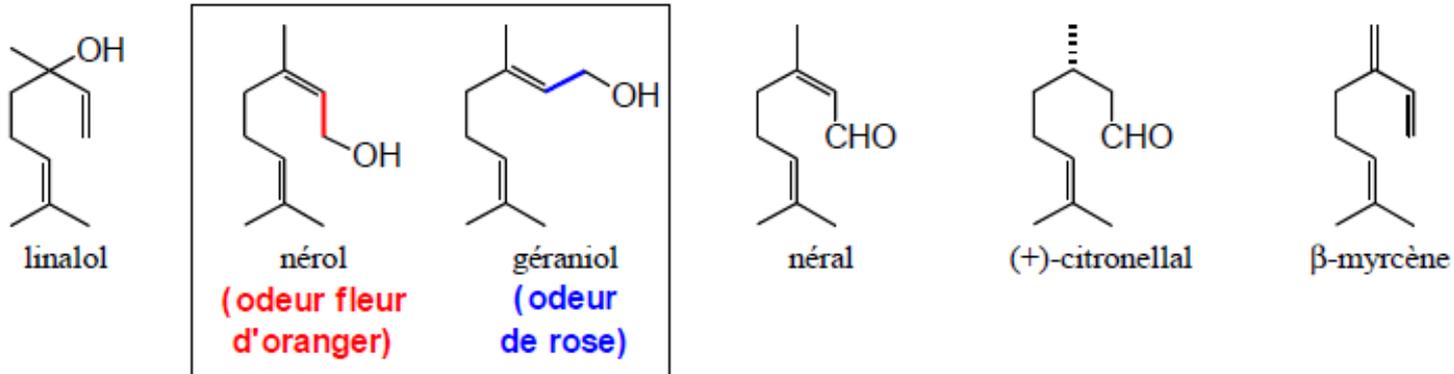
Composition chimique des huiles essentielles

Dans les HEs, on trouve:

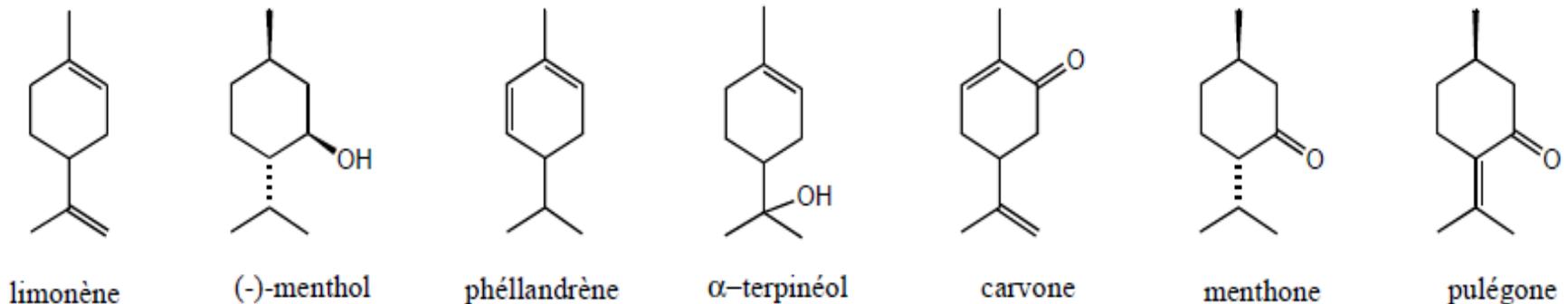
- **les terpènes** les plus volatiles c'est-à-dire de faible poids moléculaire = Mono et sesquiterpènes.
- **Phénylpropanoïdes.**

A/Monoterpènes: parfois + de 90%

Exemples de terpènes acycliques :

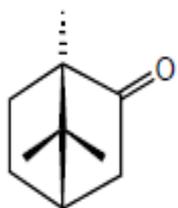


Exemples de monoterpènes monocycliques :

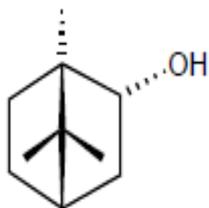


Composition chimique des huiles essentielles

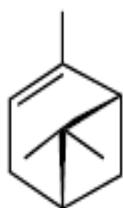
Exemples de monoterpènes bicycliques :



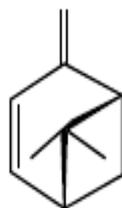
camphre



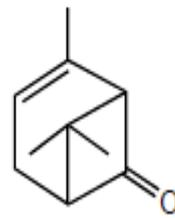
bornéol



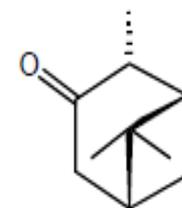
α -pinène



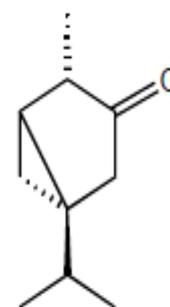
verbénène



chrysanthémone



pinocamphone



thuyone

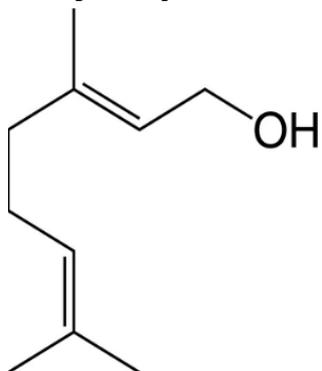


α -thuyène

Nombreuses fonctions:

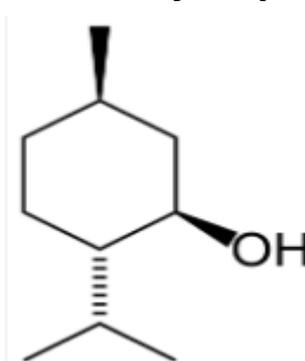
❖ Alcool:

acyclique



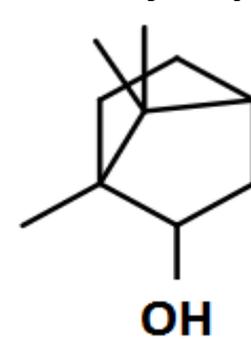
Géraniol

Monocyclique



Menthol

Bicyclique

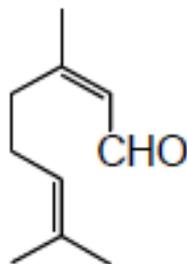


Bornéol

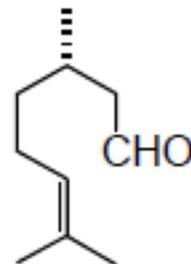
Composition chimique des huiles essentielles

❖ Aldéhydes :

Acycliques



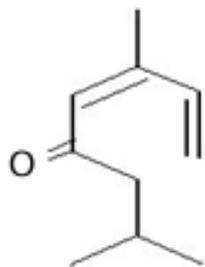
néral



(+)-citronellal

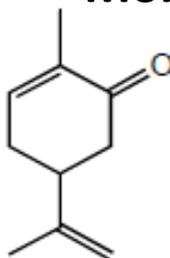
❖ Cétones :

Acyclique

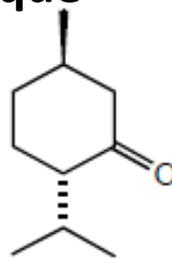


tagétone

Monocyclique

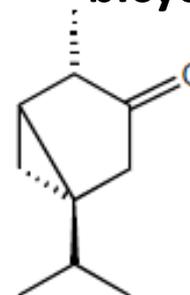


carvone

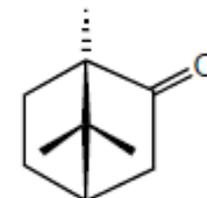


menthone

bicycliques

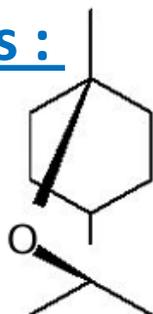


thuyone



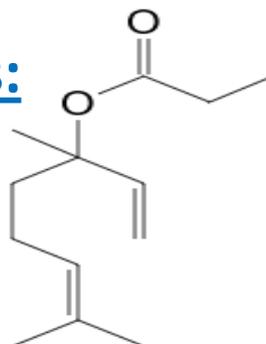
camphre

❖ Ethers :

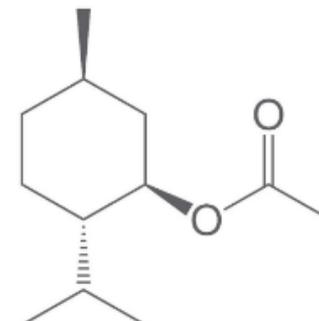


1,8-cinéole (eucalyptol)

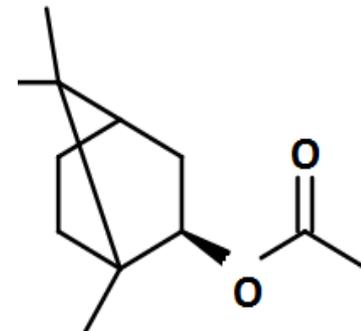
❖ Esters:



Linalyl propionate



Acétate de L-menthyle,

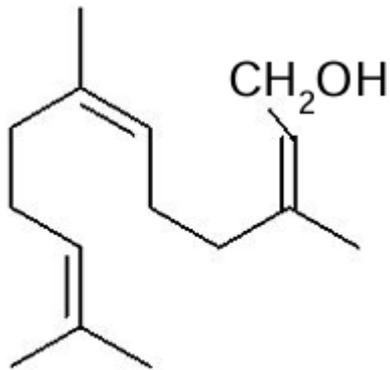


Acétate d'isobornyle

Composition chimique des huiles essentielles

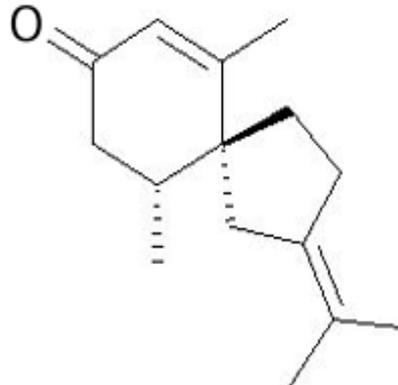
B/sesquiterpènes (C15):

❖ Alcool



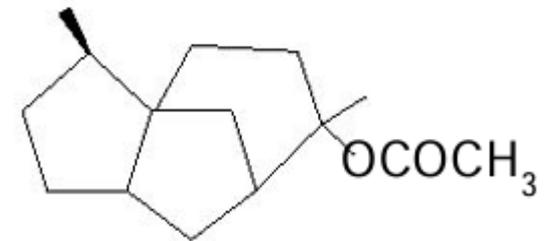
Farnésol

Cétone



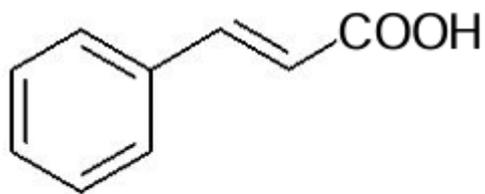
B-vétivone

Ester

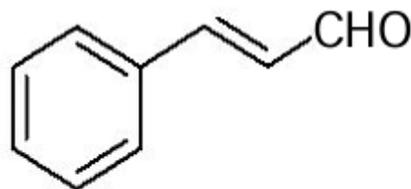


Acétate de cédryle

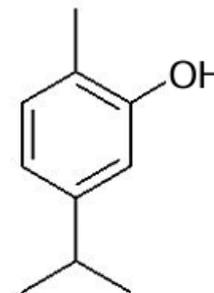
C / Composés aromatiques:



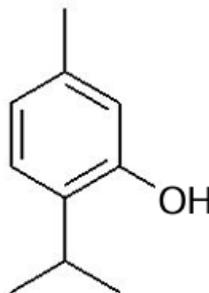
Acide cinnamique



Cinnamaldéhyde(cannelle)



Thymol



Carvacrol

Propriétés physiques et biologiques des huiles essentielles

Propriétés physiques des HEs

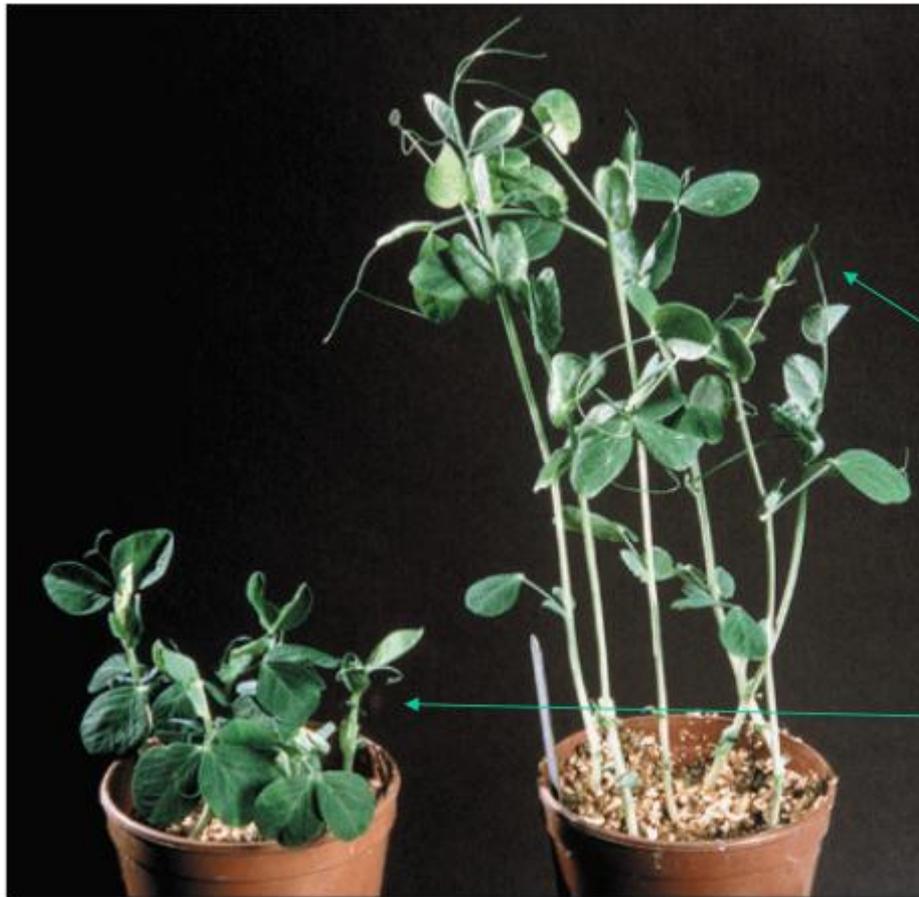
- Liquides à T° ordinaire.
- Entraînables par vapeur d'eau.
- Très rarement colorées (sauf azulènes).
- Densité < H₂O (sauf girofle, cannelle).
- Solubles dans alcools, éther, solv. organiques : liposolubles.
- Peuvent conférer leur odeur à l'eau (eaux dist. aromatisées).
- Altérables (conserv. limitée à 1 an).

Propriétés biologiques des HEs

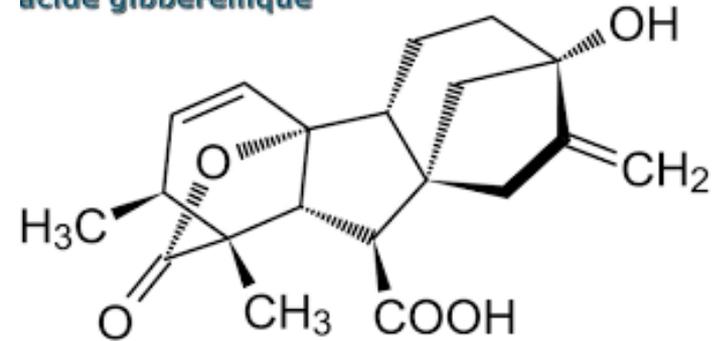
- **Anti-infectieuses:** antibactériennes, antivirales et Antiparasitaires, Antifongiques, Antiseptiques.
- **Anti-inflammatoires**
- **Régulatrices du système nerveux:** antispasmodiques, calmantes, analgésiques.
- **Drainantes respiratoires :** Expectorantes (augmente l'expulsion du mucus de la trachée ou des bronches par de l'expectoration ou de la toux),
- **Digestives :** permettent la stimulation de la sécrétion des sucs digestifs.
- **Cicatrisantes.**

Gibbérellines GA (Diterpènes C20)

Hormones végétaux impliquées divers processus de développement, notamment l'allongement des tiges, la germination, la dormance, la floraison, le développement des fleurs et la sénescence des feuilles et des fruits.



acide gibbérellique



Plantes traitées avec gibbérellines

Plantes contrôle

Saponosides(Triterpènes C30)

- Les saponines sont un groupe très varié de molécules détergentes et émulsifiantes naturelles.
 - caractérisés principalement par leurs propriétés tensioactives.
- Ces propriétés se traduisent notamment par la formation de mousse par agitation dans l'eau (former des solutions moussantes)
- Ces produits issus du métabolisme secondaire des plantes, sont constitués d'une partie lipophile appelée génine ou aglycone et d'une partie hydrophile osidique.



Saponosides(Triterpènes C30)

1-PARTIE OSIDIQUE : Les oses sont : glucose, galactose, rhamnose, arabinose... souvent associés à l'acide glucuronique. Ils sont répartis en une ou deux chaînes linéaires ou ramifiées fixées les génines.

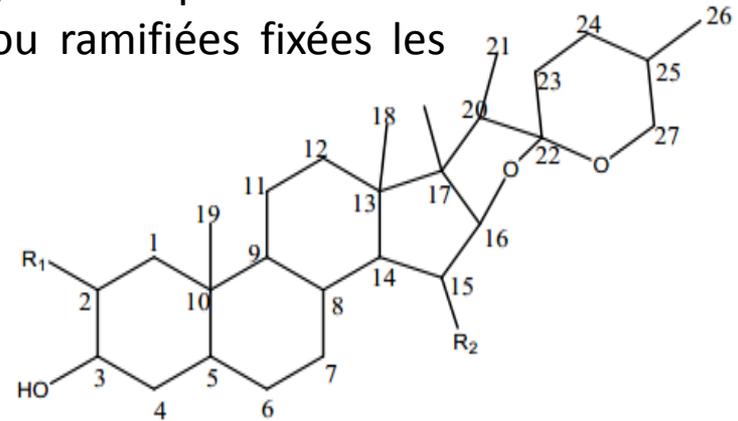
2-GENINES: selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique:

☐ Saponines à génines stéroïdiques

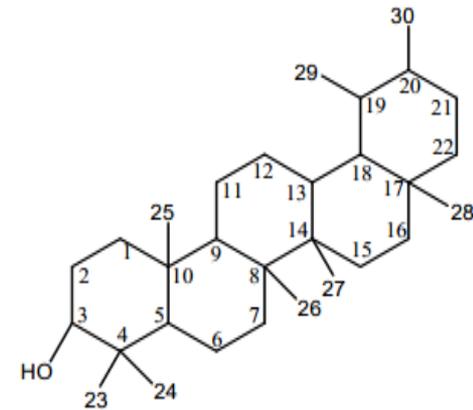
- presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones
- un squelette de 27 atomes de carbone qui comporte habituellement six cycles.

☐ Saponines à génines triterpènes

- Chez les dicotylédones
- squelette de 30 atomes de carbone qui comporte habituellement cinq cycles



SPIROSTANE



ALPHA-AMYRINE

Propriétés biologiques des saponosides (Triterpènes C30)

-**anti-inflammatoire (analgésique)** .

-Propriétés **antitussives** = Effet apaisant sur la muqueuse : En tapissant la muqueuse des voies respiratoires, agissant comme une barrière protectrice contre les irritants qui provoquent la toux.

Effet sur les sécrétions bronchiques : augmentent la production de mucus dans les voies respiratoires. En fluidifiant les sécrétions bronchiques, ils facilitent l'expulsion des mucosités (effet expectorant)

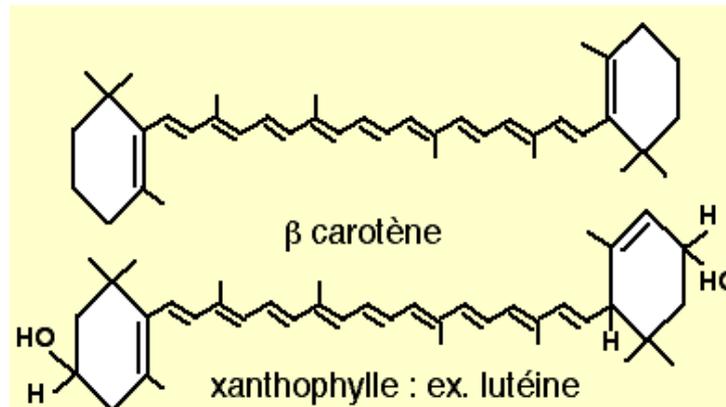
-**Effet diurétique** (favoriser la sécrétion rénale, augmentant ainsi le volume urinaire).

-**Action antibactérienne, antifongique , et anti-tumorale**: interagissent avec les stérols de la membrane cellulaire provoquant l'augmentation de la perméabilité membranaire et la mort cellulaire.

Les caroténoïdes (Tétraterpènes C40)

molécules **tétraterpéniques C40**, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) permettant ainsi l'absorption de la lumière visible entre 400 nm et 500 nm expliquant leur **couleur jaune-orangée** et leur **sensibilité à l'oxydation**.

- Les caroténoïdes sont employés **en industrie agro-alimentaire** principalement pour leur pouvoir colorant (**safran** : *Crocus sativus* L. Iridaceae).
- **Propriété antioxydante:**
- **prévention de certaines maladies:** cardiovasculaires, certains cancers.



Le caoutchouc (polyterpènes)

- Le caoutchouc est un polyterpénoïde [poly(cis-1,4-polyisoprène)] qui procure au latex ses propriétés physico-chimiques.
 - Le latex est une émulsion végétale contenant un grand nombre de métabolites secondaires, dont des alcaloïdes et ainsi que des protéines.
 - L'adhésivité et la couleur généralement blanche de latex sont dues au cis-1,4-polyisoprène en dispersion dans ce liquide
 - Le latex est exsudé par environ 10% des espèces végétales.
-
- Le latex est stocké dans des cellules allongées qui forment les canaux laticifères s'étendant le long de la plante.
 - Le rôle du latex est de protéger les plantes contre les insectes herbivores. De nombreuses molécules contenues dans le latex sont toxiques, le latex étant lui même collant. Cette dernière propriété provient du caoutchouc qui piège l'insecte herbivore ou bien colle ses pièces buccales.

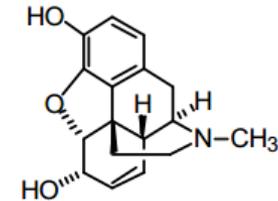


La brisure d'une tige d'euphorbe (Euphorbia) provoque un écoulement immédiat de latex.

3-Les Alcaloïdes

Un alcaloïde est **un composé d'origine naturelle** (le plus souvent végétale), **azoté**, plus ou moins basique, et doué, **à faible dose, de propriétés pharmacologiques.**

- Les alcaloïdes sont de structures très variées le plus souvent mono ou polycycliques.
- Le point commun est la présence de l'azote qui confère le caractère alcalin à la molécule.
- Les alcaloïdes sont principalement extraits des plantes.
- Dans le règne animal, ils sont présents notamment chez les éponges, les poissons et les amphibiens (grenouilles, crapauds et salamandres).
- Collectivement, les plantes produisent plus de 12 000 alcaloïdes qui sont classifiés d'après leur structure chimique ou bien selon leur voie de biosynthèse.



morphine



Opium Poppy - Papaver somniferum
Foto: botanika.wendys.cz



3-Les Alcaloïdes

Alcaloïdes

- Les alcaloïdes, **rares chez les bactéries** (pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa* toxines des cyanobactéries).
- Assez rares chez les champignons.
- sont donc des composés essentiellement présents chez les angiospermes (plantes à fleurs). Pratiquement absents chez les gymnospermes (les plantes à graines nues).
Très répandus chez les dicotylédones
- sont parfois présents dans la plante entière.
- souvent, les organes en voie de croissance ou en formation en contiennent le plus.
- Les feuilles en sont fréquemment pourvues (le tabac, *Nicotina tabacum*), le cocaier (*Erythroxillum coca* Lam.) et le théier (Théacées); dans les graines de café (Caféier Fam. *Rubiacees*); dans les fruits (le Pavot : *Papavéracées*). dans les écorces chez les quinquinas (*Cinchona pubescens* Vahl.) et les grenadiers (*Punica granatum* L.). Le plus souvent, c'est dans les vacuoles que l'on trouve les alcaloïdes en solution dans le liquide vacuolaire.

Propriétés physico-chimiques des Alcaloïdes

Tous les alcaloïdes renferment de l'azote N, de l'hydrogène H₂ et du Carbone C. La plupart contiennent de l'O₂, comme la morphine: C₁₇ H₁₉NO₃, la codéine C₁₈H₂₁NO₃, l'atropine C₁₇H₂₃NO₃, la cocaïne C₁₇H₂₁NO₄, la quinine C₂₀H₂₄N₂O₂.

- La plupart des alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ordinaire (nicotine, coniine).
- les alcaloïdes sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires: le chloroforme, l'éther, l'alcool, le toluène, et l'éther de pétrole.
- La basicité des alcaloïdes permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates).
- Les sels d'alcaloïdes, généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués, cristallisables et se conservant plutôt bien, constituent la forme commerciale habituelle.
- A l'état de base et en solution, les alcaloïdes sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.

Caractérisation des Alcaloïdes

- les méthodes de détection actuellement employées sont précédées d'une extraction.
- les sels d'alcaloïdes précipitent après leur combinaison avec les métaux: bismuth, mercure, tungstène, iode, etc.
- **Le réactif de Mayer** (le tétra-iodo-mercurate de potassium)  précipité blanc ou jaunâtre.
- **Le réactif de Dragendorf** (tétra-iodobismuthate de potassium)  précipité orangé ou rougeâtre.
- Le réactif de Mayer et de Dragendorf sont utilisés pour la révélation des plaques de CCM.

Extraction des Alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes est fondée, sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part, dans les solvants organiques.

Deux variantes sont possibles : **en milieu alcalin** ou **en milieu acide**.

Extraction en milieu alcalin

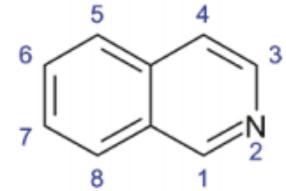
- La plante ou partie de plante pulvérisée + une **solution aqueuse alcaline** (Traitement par une base NH_4OH , Na_2CO_3) pour convertir les sels d'alcaloïdes en alcaloïdes libres, qui sont moins solubles dans l'eau mais plus solubles dans des solvants organiques.
- **Un solvant organique** (tel que le chloroforme, l'éther, ou le dichlorométhane,) est ajouté pour extraire les alcaloïdes libres.
- **élimination du marc** (poudre épuisée)
- Le solvant organique contient les alcaloïdes bases + impuretés solubles dans les solvants organiques (lipides, résine, chlorophylle).
- Épuisement par une solution aqueuse acide diluée pour **ré-extraire les alcaloïdes en les convertissant de nouveau en sels**.
- La solution aqueuse de sels d'alcaloïdes est alcalinisée par une base, puis épuisé par un solvant organique apolaire.
- La phase aqueuse alcaline contenant les impuretés est éliminée. Le solvant organique, évaporé alors, laisse un résidu d'alcaloïdes totaux (à l'état de bases).

Biosynthèse des Alcaloïdes

Les précurseurs des alcaloïdes sont:

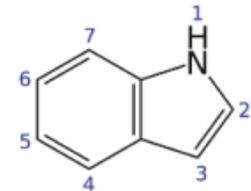
- ❖ les acides aminés aromatiques: phénylalanine, tyrosine pour les alcaloïdes isoquinoléiques et tryptophane pour les alcaloïdes indoliques. **La voie du shikimate** est responsable de la synthèse d'acides aminés aromatiques précurseurs des alcaloïdes mais aussi des composés phénoliques.
- ❖ d'autres acides aminés non aromatiques qui ont pour origine différents métabolites de **la glycolyse et du cycle de Krebs**.

Phénylalanine, Tyrosine →



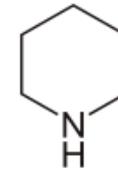
Alcaloïdes isoquinoléiques

Tryptophane →

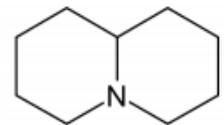


Alcaloïdes indoliques

Lysine →



Alcaloïdes pipériniques

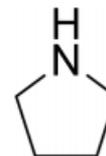


Alcaloïdes quinolizidiniques

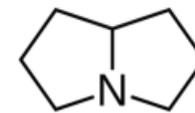
Acide glutamique ↓



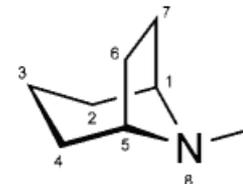
Ornithine →



Alcaloïdes pyrrolidiniques



Alcaloïdes pyrrolizidiniques



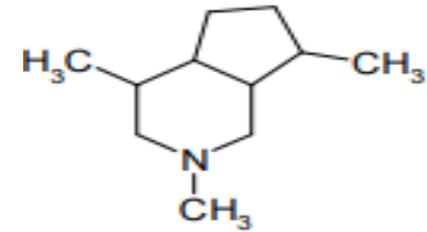
Alcaloïdes tropaniques

Classification des Alcaloïdes

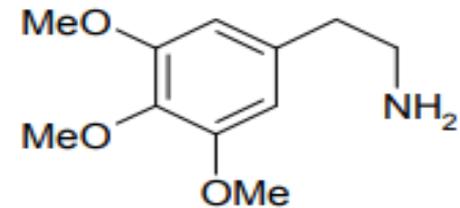
Les pseudo-alcaloïdes: présentent les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

Les proto-alcaloïdes: sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, mais ils sont élaborés à partir d'acides aminés, ex: sérotonine, mescaline.

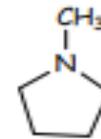
Les alcaloïdes vrais: classés suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle. Biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés ils possèdent une activité pharmacologique marquée.



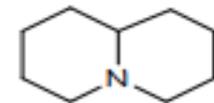
skytanthine



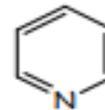
mescaline



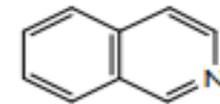
Pyrrolidine



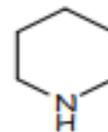
quinolizidine



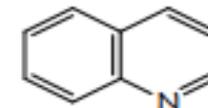
pyridine



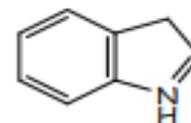
isoquinoline



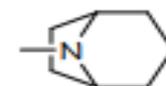
pipéridine



quinoléine



indole



tropane

Propriétés pharmacologiques des alcaloïdes

- Les alcaloïdes présentent des activités pharmacologiques très intéressantes et très variées:

Sur le système nerveux central

- Dépresseur (morphine)
- Stimulant (caféine)

Au niveau vasculaire:

- hypertenseurs (éphédrine),
- hypotenseur (yohimbine),
- la vincamine améliore la circulation cérébrale.

Autres actions

- anesthésiques locaux (cocaïne),
- anti-tumoraux (vinblastine),
- antipaludique (quinine),