

Université Constantine 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Département de Biochimie.

Support de cours Licence Biochimie

Génie Biochimiques : Valorisation des substances Végétales.

Prof. MERGHEM R

CHAPITRE 3 :

LES TERPENES ET LEURS DERIVES

Introduction et généralités

I- Synthèse de l'Isopentényl pyrophosphate IPP

II- Etude de quelques grands groupes de terpènes.

1/ Les monoterpènes

2/ Les sesquiterpènes, composés en C₁₅

3/ Les diterpènes

4/ Les triterpènes (Composés à C₃₀) et dérivés (Stéroïdes):

5/ Les tetraterpènes (caroténoïdes)

6/ Les polyterpènes (caoutchouc naturel)

III- Méthodes d'études des composés terpéniques

Introduction et généralités:

Avec les polyphénols, les terpénoïdes sont classés aussi parmi les substances secondaires importantes du métabolisme chez les végétaux. Les terpènes peuvent être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés. Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue:

- Les terpènes proprement dits ou monoterpènes (C₁₀)
- Les sesquiterpènes (C₁₅)
- Les diterpènes (C₂₀)
- Les triterpènes (C₃₀)
- Les tétraterpènes (C₄₀)
- Les polyterpènes (C₄₀₀₀)

Les stéroïdes rentrent dans le groupe des terpénoïdes et les caroténoïdes sont des tétraterpènes.

Définition:

Ce sont des produits naturels, formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités isopréniques.

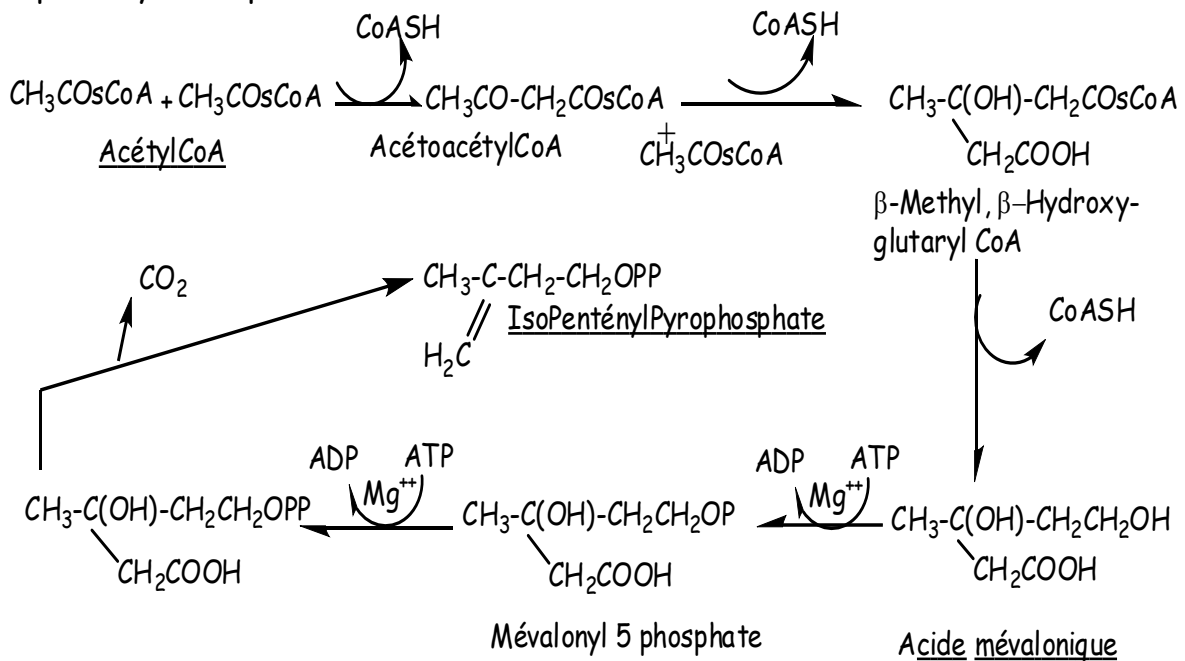
I- Synthèse de l'Isopentenyl pyrophosphate IPP.

L'Isopentenyl Pyrophosphate (**IPP**) qui est l'**unité biologique isoprénique** à partir de laquelle se forment par polymérisation et isomérisation tous les autres dérivés.

Deux molécules d'Acétyl CoA réagissent sous l'influence d'une cétothiolase pour donner de l'acéto-acétyl CoA, lequel en présence d'un enzyme condensant, fixe une troisième molécule d'acétyl CoA avec formation du β -(OH) β -(CH₃)-glutaryl-CoA. La réduction du carboxyle combiné au CoA en alcool se produit ensuite en formant de l'acide mévalonique (MVA). Cette réduction se fait en 2 étapes par l'intermédiaire du NADPH.

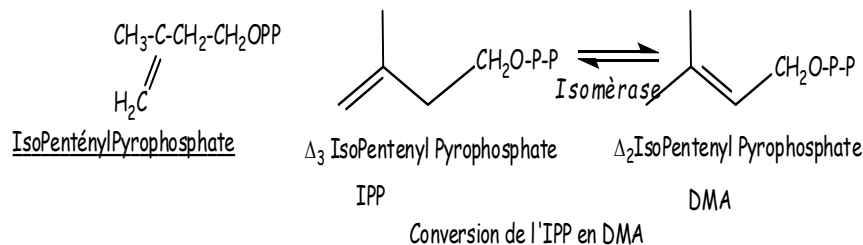
Dans un premier temps, il se forme un aldéhyde qui n'apparaît pas à l'état libre mais reste fixé sur l'enzyme assurant la réduction. L'acide mévalonique et, alors, phosphorylé par l'ATP qui lui cède en 2 étapes, 2 groupements phosphates, formant

un pyrophosphate. Ainsi activé, l'acide mévalonique est converti en pyrophosphate d'isopentényl avec perte de CO₂.

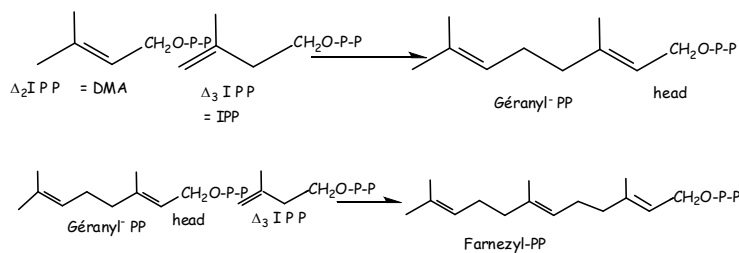


Formation de l'IPP à partir de l'acétyl CoA via l'acide mévalonique
Figure 1 : Synthèse de l'Isopentényl pyrophosphate IPP.

C'est l'IPP, qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement; il s'isomérisé en pyrophosphate de diméthyl-allyl soit schématiquement:



Le pyrophosphate de diméthyl-allyl formé se condense avec une nouvelle molécule d'IPP, en donnant le pyrophosphate de **Géranyl**.



Formation du Géranyl et farnézyll PP précurseurs des mono (C₁₀) et sesqui (C₁₅) terpènes à partir des C₅ unités isopréniques (isopréniques)

Une addition similaire d'IPP conduit au pyrophosphate de Farnesyl C_{15} , puis s'il y a addition d'une autre molécule on aura la formation du pyrophosphate de Géranyl-géranyl C_{20} et ainsi de suite jusqu'à des terpènes comprenant 45 à 50 atomes de Carbone. La synthèse des terpènes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique.

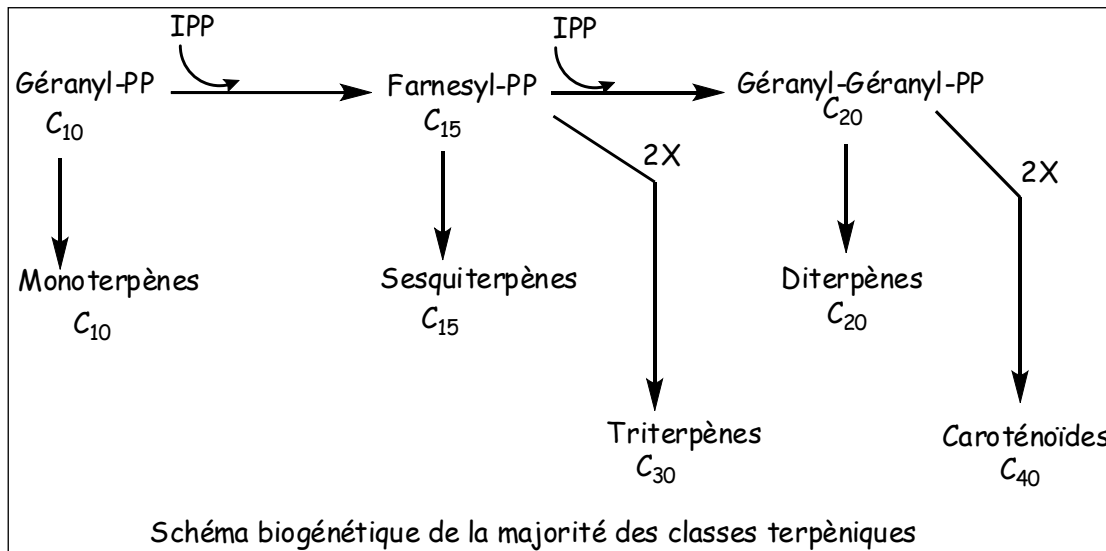


Figure 2 : Polymérisation successive d'IPP- conversion en terpénoïdes supérieurs.

II- Etude de quelques grands groupes de terpènes.

1/ Monoterpènes ou huiles essentielles :

Définition et importance:

Ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux.

Beaucoup de monoterpènes réguliers (C_{10}) se trouvent sous formes cyclisées. Ils constituent une part importante des huiles essentielles.

Beaucoup de plantes contenant des huiles essentielles sont utilisées en nature pour leurs propriétés médicinales et en alimentation comme épices ou aromates.

- Epices : substances végétales aromatiques ou piquantes utilisées pour les assaisonnements.
- Aromates: substances naturelles à odeur pénétrante et agréable.

Principales famille de plantes riches en terpènes:

Les huiles essentielles se rencontrent dans un nombre limité d'Angiospermes parmi les familles des Myrtacées (*Eucalyptus*), Rutacées (*Pyrus malus*, *Citrus*), Lauracées (*Nerium*), Labiées (*Thymus*, *Mentha*, *Lavandula*, *Rosmarinus*, *Origanum*) et Astracées (camomille, *Inula*).

Localisation

On trouve les huiles dans les organes divers: au niveau des fleurs (chez le bergamotier, giroflier), feuilles (laurier, menthe, thym, citronnelle), rhizome (gingembre), écorce (cannelier), fruit (Anis), graines (muscadier).

Les teneurs, de l'ordre de 1% peuvent atteindre 15% (bouton floral giroflier). Ces huiles se trouvent le plus souvent à l'intérieur de formations histologiques spécialisées localisées à la surface de la plante. Ces substances ont vraisemblablement un rôle écologique: communication (pollinisation), défense, action télétoxique sur les germinations.

1 - Monoterpènes réguliers:

Les structures connues peuvent être acycliques ou cycliques:

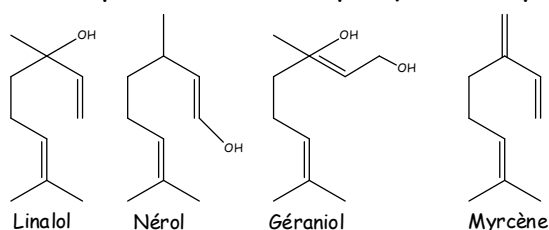


Figure 3 : exemples de terpènes acycliques:

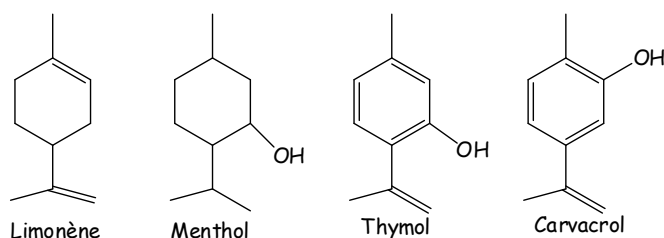


Figure 3' : exemples de monoterpènes cycliques:

Caractéristiques, propriétés et utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles contiennent majoritairement des mono et sesquiterpènes, mais aussi des composés dérivés du phénylpropane.

Les huiles essentielles sont liquides à la température ordinaire, non ou peu colorée, avec un pouvoir rotatoire et un indice de réfraction élevés.

Ils sont solubles dans les alcools et liposolubles.

Quelques propriétés et utilisations

a) Pouvoir antiseptique:

Vis-à-vis de bactéries pathogènes et des champignons, le thymol est 2 fois plus antiseptique que le phénol. On utilise :

- les feuilles d'eucalyptus (*Myrtacées*) dont l'huile essentielle contient 71% à 80% de cinéole comme antiseptique pulmonaire.
- le clou de girofle: *Syzygium aromaticum*, dont l'**eugénol** représente 70% à 90% du produit d'hydrodistillation. L'essence de girofle, bactéricide et fongicide, sert comme calmant de la douleur de la pulpe dentaire et comme analgésique.
- le **thymol** de *Thymus sp* est utilisé aussi comme antiseptique.
- autres sources : le sapin, pin maritime.

b) Propriétés dynamisantes:

Les feuilles d'eucalyptus sont utilisées pour l'arbre bronchique, le genévrier *Juniperus* pour les reins, diurétique.

c) Propriétés spasmolytiques:

Les huiles essentielles des ombellifères : anis vert, fenouil doux sont riches en anéthole.

Les huiles essentielles de certaines Labiées : les menthes (*Mentha sp*), la verveine odorante (*Lippia citriodora*) sont riches en menthol et dérivés, exercent une action stimulante de la digestion.

d) Toxicité des huiles essentielles:

Le développement de l'utilisation des produits naturels (aromathérapie) devrait prendre en compte le fait que les huiles essentielles contiennent des cations monoterpéniques ayant des effets entraînant des crises épileptiformes et de troubles psychiques.

La thyone de *Thya occidentalis* et *Artemisia absinthium* sont toxiques. Il faut relever également la toxicité du menthol à fortes doses : 2 grammes peuvent tuer un adulte.

e) Rôle biologique: Le rôle biologique des essences est à l'heure actuelle mal connu. Certains terpènes linéaires pourraient avoir une fonction énergétique : mise en réserve pendant le jour, ils seraient dégradés durant la nuit en acétyl CoA.

L'acide abscissique, (sesquiterpène) est une hormone végétale qui intervient notamment dans les mécanismes de dormance.

2/ Sesquiterpènes, composés en C₁₅ :

Ce sont des hydrocarbures de formule C₁₅H₂₄ (n=3), soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes vrais (en C₁₀H₁₆).

- Composés acycliques: on peut citer le farnésène et le farnésol (alcool correspondant du farnésène, essence de Tilleul, baumes du Pérou).
- Composés monocycliques: Le zingibérène (du Gingembre) et L'humulène (du Houblon)
- Composés bicycliques: Le cadinène (du goudron de Cade: Genévrier du midi)

3/ Les diterpènes

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en C₂₀H₃₂ (n=4). Le phytol, la vitamine A, les acides résiniques des conifères, les gibbérélines sont des exemples de diterpènes.

La vitamine A est rencontrée de façon exceptionnelle chez les végétaux, le persil par exemple en est bien pourvu. Les animaux savent la synthétiser à partir du carotène.

4/ Les triterpènes (Composés à C₃₀) et dérivés (Stéroïdes):

Ces composés en C₃₀ (n=6) sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre (phytosterols), estérifiés, ou sous forme hétérosidiques (saponosides):

- Stérols: stigmastérol, sistostérol.
- Stéroïdes: diosgénine, digitoxigénine
- Limonine: principe amer du citron et des oranges
- L'acide oléanolique (Olivier, Aubépine)
- L'acide glycyrrhétic uni à l'acide glycuronique dans la glycyrrhizine de la réglisse).

5/ Les tetraterpènes (caroténoïdes):

Les seuls représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorées en jaune, orange ou rouge auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs. Leur nom dérive du carotène qui a été isolé pour la première fois de la racine de la carotte (*Daucus carota*). On trouve les caroténoïdes, soit sous forme d'hydrocarbures (lycopène, carotène), soit à l'état de dérivés hydroxylés (xanthophylle,) ou de dérivés cétoniques (Canthaxanthine). Lycopène (tomate : *Lycopersicum esculentum*) ; zeaxanthine (maïs : *Zea mays*), violaxanthine (Violette) et enfin la cricétine (Safran).

Les carotènes sont synthétisés par dimerisation (tête à tête) de 2 molécules de pyrophosphate de géranyl-géranyl-PP. Une première molécule de pyrophosphate de géranyl géranyl se combine avec le groupe SH d'un enzyme spécifique, il y a élimination du groupe pyrophosphate, puis la molécule formée s'unit à une seconde molécule de pyrophosphate de géranyl géranyl tandis que l'enzyme est régénéré. Il se forme du phytoène qui est à l'origine des diverses types de carotènes. Ces différentes réactions ne se produisent qu'au niveau des plastes et sont donc caractéristiques des plantes vertes.

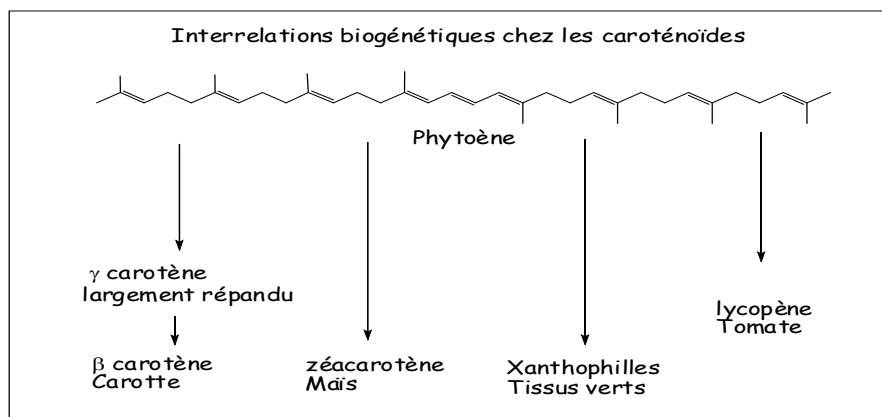


Figure 5 : Interrelations chez les caroténoïdes

Les carotènes jouent un rôle majeur dans la captation de l'énergie lumineuse lors de la photosynthèse. Ils ont un rôle photoprotecteur vis à vis des radiations nocives, notamment ultra violettes UV.

6- Les polyterpènes (caoutchouc naturel)

Les polyisoprénoïdes présentent une structure linéaire.

Les gommés les plus exploitées sont celles d'*Hevea brasiliensis* (Euphorbiacées) et du *Gutta percha* (Sapatacées).

III- Méthodes d'études des composés terpéniques

Méthodes d'extraction et de séparation des monoterpènes:

La partie aromatique ou volatile d'une plante ou organe peut être séparée par différentes méthodes:

- Distillation (Hydro distillation, hydro diffusion),
- Extraction par solvant (hexane)
- Expression (extraction par usage de presse)

Seules la distillation ou l'entraînement à la vapeur et l'expression sont utilisées pour la préparation des huiles essentielles officinales (huiles essentielles à usage pharmaceutique ou thérapeutique).

Caractérisation et dosage :

Tous les composés volatils et entraînés par la vapeur d'eau se retrouvent dans les huiles essentielles, La distillation fractionnée permet ensuite de séparer les différents constituants

La chromatographie gaz-liquide rend actuellement de grands services pour le fractionnement et l'identification. Les différents composés sont caractérisés et dosés suivant leurs fonctions (alcool, aldéhyde, cétone).

Ils présentent des réactions colorées dont beaucoup sont communes:

- réaction de Salkowski (addition d'acide sulfurique à la solution chloroformique: coloration jaune, puis rouge)
- réaction de Liebermann (anhydride acétique, puis acide sulfurique: coloration verte, rouge ou bleu violacé)
- réaction de Rosenthaler (vanilline chlorhydrique: coloration rose)

Identification structurale

Les méthodes chromatographiques et spectrales sont généralement utilisées pour la séparation et l'identification des composés terpéniques.

Méthodes chromatographiques

- Chromatographie liquide-solide

C'est la plus ancienne des méthodes chromatographiques. Elle met à profit la propriété que possèdent certaines substances en solution d'être retenues par la surface d'une phase stationnaire très finement divisée appelée adsorbant. C'est une chromatographie d'adsorption.

Deux procédés comme la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie liquide à basse pression (CLBP) sont utilisées pour séparer les composés terpéniques dans cette méthode.

- Chromatographie liquide-liquide CLHP:

C'est la chromatographie liquide à haute performance HPLC. Elle convient parfaitement à la séparation des molécules mal séparées par chromatographie d'adsorption. Le phénomène mis en jeu est un phénomène de partage entre deux liquides non miscibles. Beaucoup de composés terpéniques ont été séparés par ce procédé.

- Chromatographie en phase gazeuse (CPG):

Cette méthode chromatographique permet de séparer des mélanges gazeux complexes par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire liquide, ou parfois solide placée à l'intérieur d'une colonne.

Méthodes spectrales

- Spectrométrie de masse (SM)

C'est une technique courante de détermination de structure. Elle donne accès à la masse moléculaire d'un composé et aux divers fragments issus de l'ion moléculaire initial. Les réactions de fragmentation se produisent à l'état gazeux.

- Résonance Magnétique Nucléaire RMN