



**Composés phénoliques et analogues structuraux  
de phytoalexines : influence des structures  
et des substituants sur l'inhibition *in vitro*  
de micromycètes et d'enzymes lytiques**

**A study of some phenolics and structural analogues of phytoalexines.  
The influence of structure and several substituants  
on the *in vitro* inhibition of fungi and some lytic enzymes**

A. RAVISÉ, B. S. KIRKIACHRIAN \*, J. CHOPIN \*\* et G. KUNESCH \*\*\*

O.R.S.T.O.M., 93140 Bondy

\* Faculté Sciences pharmaceutiques biologiques, 92290 Chatenay-Malabry

\*\* Université Claude-Bernard, Lyon I, 69621 Villeurbanne

\*\*\* C.N.R.S., Laboratoire des médiateurs chimiques, Brouessy, 78470 Saint-Rémy-Lès-Chevreuse

Nos investigations concernent les aptitudes de plusieurs catégories de composés phénoliques à inhiber *in vitro* la croissance de micromycètes parasites, surtout le *Phytophthora parasitica*, et l'activité d'enzymes lytiques, hydrolases et transéliminases pectiques,  $\beta$ -glucosidase.

Les substances étudiées peuvent être réparties en trois groupes. L'un correspond à des analogues structuraux de phytoalexines. Parmi ceux-ci se trouvent des coumarines structurellement proches de celles du Tabac, de la Pomme de terre, des Rhododendrons, du Mélilot, des coumestanes analogues à ceux accumulés chez des Phaséolées et la Luzerne, des isoflavonoïdes correspondant à des phytoalexines de la Betterave, du Haricot et de Légumineuses fourragères. Les études sur la biosynthèse d'isoflavonoïdes considérés comme des phytoalexines, effectuées par Barz et Grisebach, Dewick, Hijewegen, ont précisé les principales étapes intermédiaires de leur élaboration. Celles-ci correspondent notamment à des isoflavanes, isoflavanones et isoflavones dont nous avons étudié plusieurs dérivés. Le troisième groupe concerne des produits — ou leurs analogues structuraux — tels que des flavones ou leurs dérivés glycosylés, des homo-isoflavanones et des néoflavonoïdes existant dans les tissus de plantes appartenant à des familles botaniques où n'ont pas été identifiées de phytoalexines : Liliacées, Graminées, Dalbergiées, Guttiférées, Lotoïdées, Malvacées, Rubiacées, Sterculiacées, Théacées, etc...

L'inhibition de l'activité d'hydrolases et de transéliminases pectiques ainsi que de celle de la  $\beta$ -glucosidase présente deux caractéristiques communes : elle n'est pas compétitive pour le substrat et dans la majorité des cas non cumulative. Elle s'avère possible pour les enzymes pectinolytiques avec des rapports entre effecteur et substrat variant de 1/15 à 1/60. Le rendement et la vitesse d'établissement de l'inhibition, aux différents rapports entre effecteur et enzyme, caractérisent l'efficacité de chaque

N° : 2178

Cote B

Date : 29 DEC. 1982

groupe de composés phénoliques. Cependant, pour les isoflavonoïdes et des néoflavonoïdes, nous avons établi que l'aptitude inhibitrice est indépendante du degré de réduction de la molécule de l'effecteur. Parmi les produits très actifs sur les hydrolases et les transéliminases pectiques se trouvent le  $\pm$  (O)-méthyl sativan, isoflavane analogue structural du vestitol de la Luzerne, les isoflavanones diméthoxylées proches des phytoalexines de la Betterave et du Haricot, des phényl coumarines di ou triméthoxylées sur le noyau coumarinique ou sur le reste phényl. Par contre, les coumarines halogénées s'avèrent de mauvais inhibiteurs de toutes les activités enzymatiques. Les produits réduisant faiblement l'activité des hydrolases pectiques sont les C-glycosyl flavones, l'un des coumestanes et des néoflavonoïdes. Parmi ces derniers, une alkyl-4 coumarine portant une fonction aldéhyde en position-4 est un bon effecteur des activités endo PG et endo PMG. Des variations analogues sont observées pour l'inhibition des transéliminases pectiques.

Si la glycosylation des flavones n'intervient pas sur la réduction d'activité des enzymes pectinolytiques, probablement parce que les sommets substitués n'interfèrent pas avec les sites d'inhibition, le O-glucoside lutéoline et les C-glycosyl flavones sont moins actifs que les aglycones correspondants pour l'inhibition de la  $\beta$ -glucosidase.

L'inhibition de la croissance et de la réalisation du cycle végétatif du *Phytophthora parasitica* varie suivant les substances éprouvées. Schématiquement, pour une structure déterminée, telle que isoflavonoïde, homo-isoflavanone ou coumarine, les dérivés di- ou éventuellement tri-méthoxylés sont les plus actifs. La position des substituants influe aussi sur l'inhibition. Les flavones glycosylés sont plus toxiques pour le *Phytophthora parasitica* que les aglycones correspondants. Cependant, dans le cas d'un champignon parasite sécrétant une  $\beta$ -glucosidase, le *Colletotrichum musae*, le glucoside-7 lutéoline est hydrolysé pendant l'incubation et sa toxicité est comparable à celle de l'aglycone tandis que les C-glycosyl flavones, non hydrolysées, s'avèrent plus toxiques.

D'après nos résultats, de nombreux constituants phénoliques des plantes inhibent *in vitro* la croissance de champignons pathogènes et l'activité d'enzymes lytiques, avec des variantes suivant leurs structures et leurs substituants, notamment le mode de glycosylation. Qu'il s'agisse de produits du métabolisme intermédiaire de phytoalexines ou de substances préexistantes à l'infection, on peut présumer qu'ils peuvent contribuer aux réactions de défense de l'hôte. L'étude de la stimulation de leur synthèse pourrait contribuer à faire évoluer les méthodes curatives. De même, des essais d'application d'analogues structuraux différemment substitués pour éviter leur dégradation par la plante hôte ou pour faciliter leur transport dans les tissus, pourraient constituer une voie nouvelle de lutte contre le parasitisme fongique. Dans nos essais nous avons constaté que des substituants halogénés, fréquemment utilisés comme fongicides, inhibent seulement la croissance du *Phytophthora parasitica* mais sont inactifs contre les enzymes lytiques tandis que d'autres catégories de substituants confèrent des propriétés inhibitrices plus étendues. Enfin, une autre perspective de recherche, abordée pour les couples Tomate-*Phytophthora parasitica* et Vigne-*Plasmopara viticola*, consiste en l'application d'un médiateur chimique, peu fongicide, pouvant en présence de l'agent pathogène stimuler, parmi les réactions de défense de la plante-hôte, la synthèse de composés phénoliques.