**FYSIOLOGIE HOOFDSTUK 7: Secundaire metabolieten**

1. Secundaire metabolieten

* Metabolisme
  + = som van alle chemische reacties die plaatsvinden in organisme
  + = evenwicht tussen synthese en afbraakprocessen
  + Anabool = de biosynthetische delen vh metabolisme (fotosynthese, eiwitsynthese,…)
  + Katabolisme = het afbraak deel vh metabolisme
  + Centraal staat de glycolyse & de citroenzuurcyclus
* **Primair metabolisme** 
  + = metabolisme betrokken in de synthese van essentiële componenten (eiwitten, lipiden, AZ,…)
  + = metabolieten die essentieel zijn voor de ontwikkeling & groei vd plant
* **Secundair metabolisme** 
  + = organische moleculen die geen directe rol hebben in groei en ontwikkeling vd plant
  + = metabolieten die niet essentieel zijn
  + Kenmerken
    - Enorme variëteit en veelvuldig gebruik op alle mogelijke manieren
    - Kleine hoeveelheden
    - Secundaire functie: bescherming & verdediging vd levenscyclus vd plant
      * Effect van vraat van insecten/dieren verminderen,….etc
    - Fysiologische rol: metabolieten hebben iets te maken met interactie plant & omgeving vb: verdediging, signalen,… (vaak onduidelijk)
    - Specificiteit: soort-/ orgaan- / celspecifiek
      * bep. metabolieten zeer specifiek voor 1 plantensoort
      * bep. metabolieten komen voor in specifieke weefsels en/of organen
  + Rol in dagelijks gebruik
    - Vormen bron van kleur-, geur en smaakstoffen, rubber, latex en geneeskrachtige producten
  + Gemeenschappelijke biosynthesewegen met 1° metabolieten
  + Indeling in 5 groepen
    - **Terpenen**
    - **Fenolen**: coumarines, lignine, flavonoïden en tanninen
    - **Glycosiden**: saponines, cardiacale glyc., cyanogne clyc. & glucosinolaten
    - **Alkaloïden**
    - **Flavonoïden**
* Grafiek ppt p1: 2° metabolieten in verband met 1° metabolieten
  + Terpenen => uit acteyl coA of pyruvaat
  + Fenolische verbindingen: flavonoïden & fenolen => uit acetylcoA & malonic acid
  + Stikstofverbindingen: alkaloïden => uit citroenzuurcyclus
  + Glucosiden => uit terpeen + suikers
* Examen: Wat allemaal geven?
  + (1) 2° metaboliet algemene uitleg hierboven, (2) structuur(eigenschappen), (3) biosynthese (ook p1 ppt grafiek), (4) voorbeelden & werking

2. Terpenen

* Terpenen
  + = etherische oliën
  + = ook in rubber, latex,… (= polymeren van terpenoïden)
  + Naam afgeleid van eerste producten geïsoleerd uit terpentijn
  + Één vd meest diverse klassen van natuurlijke producten

**Structuur**

* Basisstructuur: **isopropeen-eenheden** = isopentaan = 5C = hydrofobe moleculen
  + Genoemd naar het alkeen gas isopropeen dat ontstaat door thermische decompositie
* 5C kunnen op verschillende wijze achter elkaar geplaatst worden => diversiteit
  + 5C isopropeen-eenheden head to tail => 10C, 15C,…
  + 5C isopropeen-eenheden + functionele groepen + cyclisatie + conjugatie met suikers of oxidatie (O2 toevoegen) => afgeleide structuren vb 20C (cyclisatie)
* Nomenclatuur: gebaseerd op aantal isopropeen-eenheden waaruit skelet bestaat
  + **Hemiterpenen** = half terpenen = 5C
  + **Monoterpenen** = 10C
  + **Sesquiterpenen** = 15C
  + => Historische fout in naamgeving => vroeger was kleinste molecule dat gevonden was 10C => ‘bouwsteen’ => dus 5C was volgens hun ‘hemi’
* Tabel:
  + Structuur niet ku tekenen, maar wel eig weten zoals hydrofoob, aantal C, cyclisatie, kleine moleculen vluchtig,…
  + Vb: limonene = hydrofoob => lost slecht op in water => daarom vluchtige olie
  + Vb: cholesterol (30C)

**Biosynthese**

* Waar komen terpenoïden vandaan?
  + Gemeenschappelijke precursor IPP / isopentenyldifosfaat
* 1) Vorming isopreeneenheid/precursor IPP (5C) via 2 pathways gemaakt
  + A) **mevalonaat pathway** => in cytoplasma
    - Reacties
      * 3acteyl CoA -> 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coA (6C) (HMG) + NADPH -> mevalonzuur (MVA) + NADP+
      * MVA + 2ATP -> isopentenyl pyrofosfaat + CO2
    - Stap 1: acetyl coA
      * = precursor voor isopentenyldifosfaat IPP
      * = organische molecule coenzyme A die carrier is voor een organische groep acetyl
      * 3x acteyl coA (3C) = 6C molecule
    - Stap 2:
      * Molecule w gereduceerd => ontstaat mevalonzuur = precursor IPP
      * Vrijstelling van coA
    - Stap 3:
      * 2x fosforyleren door ATP => ontstaat difosfaat = pyrofosfaat
      * Di = dubbele fosfaat aan molecule
      * Bi = molecule is 2x gefosforyleerd op versch. plaatsen
    - Stap 4:
      * mevalonzuur difosfaat => CO2 afgesplitst => 5C IPP (gefosforyleerd)
  + B) **niet-mevalonaat pathway** => in chloroplast & bacteriën
    - Pyruvaat + glyceraldehyde-3P -> 1-deoxi-D-xylulose 5P (DOXP) -> 4-difosfocytidyl-2C-methyl-D-erythritol (MEP) -> -> (Fd)(NADPH) -> IPP+ DMAPP
    - Stap 1: Precursors = pyruvaat (3C) & glyceraldehyde-3-fosfaat (3C suiker)
      * 3C + 3C => 6C => 1CO2 afsplitsen => 5C suiker + CO2
    - Stap 2: Reductie molecule naar MEP (naam NK)
    - Stap 3: MEP bindt met CTP => vrijstelling 1 fosfaat
      * 1ste P van CTP, 2de P van MEP
      * CTP = cytosinetrifosfaat = hoog energetisch
    - Stap 4: omzetting naar IPP door reductie
* 2) Koppeling terpeen-eenheden => vorming terpenen
  + Koppeling terpeen-eenheden **door prenyl transferase**
  + Sequentie van addities van IPP & isomeer dimethylalyldifosfaat => basiskelet terpenen
    - Stap 1: Aaneenschakeling IPP’s (5C) door head to tail condensatiereacties
      * 1IPP + 1 dimethyldifosfaat => 10C molecule geranylpyrofosfaat
        + = de basis voor alle monoterpenen
      * Stap gekatalyseerd door prenyltransferase
    - Stap 2: verdere head to tail additie van IPP
      * Leidt tot farnesylpyrofosfaat & daarna tot geranylgeranylpyrofosfaat
        + = de basissen voor de sequiterpenen & diterpenen
    - Stap 3: aaneenschakeling van 2 sequi of 2 diterpenen via head to tail
      * Leidt tot triterpenen en tetraterpenen
    - Stap 4: Nadien zullen terpenoïd synthasen de cyclisatie & afsplitsen vd difosfaatgroep katalyseren
    - Stap 5: via secundaire enzymatische modificaties verdere functionele groepen plaatsen

**Voorbeelden & werking**

* Voorkomen ppt p9
  + In druppels worden de terpenoïden opgestapeld op de wasachtige buitenlaag
    - => plakkerig
* Voorbeelden terpenen (zie ook ppt p2)
  + Hormonen abscisinezuur, gibberelline, caroteen, chlorophyl pigmenten, sterolen
    - = terpenoïden die beschouwd kunnen worden als 1° metabolieten
      * Reden: grote rol in groei en ontwikkeling vd plant
    - => echter ook doorgaan als 2° metabolieten
      * Reden: functie in verdediging van planten herbivore insecten
  + Pyrethrin
    - = monoterpeen ester geïsoleerd uit bloemen Chrysanthemum sp.
    - Functie: betrokken in defensie van tegen vraat door insecten & als commercieel insecticide
      * Reden: Pyrethrin zijn neurotoxines die interfereren met Na kanalen in membraan vd zenuwcellen van insecten
    - Voordeel: lage toxiciteit voor mammalia (en mens) & hoge afbreekbaarheid
  + Hars
    - = geproduceerd door coniferen
    - Functie: afstotende werking op insecten
      * Reden: in hars zit mengeling van monoterpenen, pinine & myrecene
      * => vieze smaak & wnnr hars verhard => insecten zitten vast
  + Essentiële oliën
    - = mengsel van alcoholen, aldehyden, ketonen en terpenoïden
      * Terpenen in speciale haartjes (trichomen) geproduceerd op opp.
    - = geproduceerd door citrusplant, eucalyptus, tijm, rozemarijnplanten
    - Functie: typische geur & smaak aan planten geven
    - Functie: afstotende werking op insecten
      * Reden: De terpenoïden in deze oliën zijn vluchtig (hemi, mono & sesuiterpenen)
        + Secretorische cellen produceren en secreteren oliën in extracellulaire holte tssn cel & cuticula
        + Als insect blad eet => essentiële oliën vrij
  + Rubber
    - = als kleine partikels in een witte emulsie (latex) in plant
    - Functie: verharden als blootgesteld aan lucht => insect zit vast
    - Latex
      * = mengsel van harsen, terpenen, suikers en eiwitten
      * aangemaakt in floeem => accumuleert in latificeren (= kanalen)
      * Functie latexproductie: vraat van insecten tegen gaan ~ hars

3. Glycosiden

* Glycosiden
  + = moleculen die een glycosidische binding bevatten tssn suiker & terpenoïden
  + Structuur: terpenoïden + suikers
  + Indeling: **Sapnoninen, cardiacale glycosiden, cyanogene glycosiden, glucosinolaten**

**Saponinen**

* Naam afkomstig van de eerste componenten die uit Saponaria (zeepkruid w geïsoleerd)
* Structuur
  + Opgebouwd uit hydrofobe terpenen met hydrofiele suikergroep
    - Terpenoïde: apolaire molecule met hydroxylering
    - Suikergroep: stoelen met OH groepen
  + **Aglyconen** of sapogeninen = saponinen zonder suikergroep
* Werking
  + Detergent
    - Hydrofoob + hydrofiel => saponinen reageren als opp. actieve stof/ deterg.
  + Wassen van textiel, substituut van zeep vroeger
  + Insectwerend
    - Niet toxisch, maar bittere smaak
    - Veroorzaken irritaties aan maag en/of darm
    - Als rechtstreeks geïnjecteerd in bloedstroom w => veroorzaken hemolyse vd rode bloedcellen
  + Rol als opp actieve stof in detergenten, fotografische filmen, shampoo en tandpasta

**Cardiacale glycosiden**

* Wijd verspreid (> 200 soorten)
* Structuur
  + terpenoïde + suiker (~ saponinen)
  + bevatten een glycosidische binding en lacton ring (cyclisch esther!) ⬄ saponinen)
  + vaak met zeldzame suikers (⬄ saponinen)
* voorbeelden & werking
  + Detergent (~ saponinen)
  + Blokkeren hartspier
    - Vb: Digitoxine in vingerhoedskruid of Digitalis
    - Ze verstoren de werking vd Na+/K+ ATPase pomp die werking hartspier reguleert
    - => hierdoor rol in geneeskunde
      * In juiste dosis verlagen ze het hartritme & hartslag verstevigen
* Voorbeelden
  + Digitoxine in vingerhoedskruid of Digitalis

**Cyanogene glycosiden**

* Cyanogene glycosiden = glycosiden die **HCN** vrijstellen
  + HCN = zeer toxisch/ giftig
* Structuur
  + Basisstructuur: AZ (Phe, Tyr, Val, Iso) of nicotinezuur + suikergroep
    - R groep = het terpenoïde
* Voorbeelden & werking
  + Bescherming tegen vraat: cyanogense
    - Pas na enzymatische afbraak is het toxisch (want HCN vrijgesteld)
    - Enzymatische afbraak
      * 1) suiker vrijstellen via werking v/e glycosidase => aglycone vorming
      * 2) leidt tot vorming labiel product dat HCN spontaan vrijgesteld
        + Soms stap versneld door werking hydroxynitrillasen
    - Discussiepunt: sommige dieren ku HCN afbreken => niet toxisch
    - Cyanogenese enkel bij verwonding
      * Ruimtelijke scheiding tssn enzymen & cyanogene glycosiden
      * Vb: Sorghum: glycosidase enzymen => geproduceerd in mesofylcel

cyanogene glycoside (vb: dhurrin) => in epidermiscel

* + - * Slechts als weefsel verwond is => inhoud beide cellen vermengen => cyanogense vindt plaats
  + In voedselbronnen
    - Vb: in maniok = plant waarvan wortels als zetmeelbron w geteeld
      * Toxische effecten vermijden door zorgvuldige bereiding plant
    - Vb: in pitten vd appel (niet toxisch)
* Voorbeeld: dhurrine in Sorghum
  + Accumuleert als planten onder T of droogtestress komen te staan
  + => Probleem voor veevoeders

**Glucosinolaten**

* Glucosinolaten
  + = N en S houdende componenten
  + = precursoren van mosterdolie
  + Gevonden in de mosterdfamilie (Brassicaceae)
* Structuur
  + Glucosinolaten zijn thioglucosiden (structuur zie ppt)
  + Suikergroep = altijd een glucosemolecule en R groep = terpenoïde
* Werking
  + Scherpe smaak geven aan mosterd, mierikswortel, kolen & smaak aan broccoli, bloemkool en kolen
  + Bescherming tegen vraat
    - Enzymatische afbraak tot mosterdolie
      * 1) afsplitsen vd suikergroep door thioglucosidase /**myrosinase**
      * 2) spontane vorming van thiocyanaat, iso-thiocyanaat en/of nitril
    - Ruimtelijke scheiding tssn glucosinolaten & enzyme thioglucosidase

4. Fenolen

**Structuur**

* Basisstructuur: gehydroxyleerde aromatische ring
  + Ontstaan andere moleculen uit vb: **coniferyl alcohol, cinnaminezuur**

**Biosynthese**

* 1) De shikimaatbiosyntheseweg
  + = Biosynthese van aromatische AZ door sequentie van reacties
  + Waaronder phenylalanine en tryptofaan
* 2) Synthese fenolen
  + Precursors = fenylalanine & tryptofaan
  + 1) deaminatie van **fenylalanine** => **cinnaminezuur** 
    - Reactie gekatalyseerd door **Phenylalanine ammonia lyase (PAL)**
      * PAL = enzyme dat de swicth van 1° (AZ) naar 2° (fenolen) reguleert

= wordt geactiveerd door stressomstandigheden

* + 2) Cinnaminezuur omgezet tot **coumarinezuur** 
    - Door additie van hydroxylgroep
  + 3) Verdere additie hydroxyl & methoxyrgoep geeft **caffeïnzuur & ferulinezuur**
    - Simpele fenolen
      * = **coumarinezuur, cinnaminezuur, caffeïnezuur, ferulinezuur**
      * = directe precursors van de complexe fenolen
  + 4) simpele fenolen w omgezet tot complexe fenolen
    - **coumarines, lignine, flavonoïden, isoflavonoïden, anthocyanen** (=verdedigingsfunctie & antioxidant)

**Werking**

* Betrokken in plant/herbivoor interacties
  + Vb: indien fungus CW binnendringt => fenolen accumuleren op die plaats => snelheid CW afbreken daalt
* Structurele component (vb lignine)
* Bepalen smaak van veel producten: gember, kaneel, kruidnagel, vanille en geur van orchideeën

**Voorbeelden & werking**

Coumarines

* Structuur: basisstructuur is lacton
  + Lacton w gevormd na ringsluiting van hydroxycinnaminezuur
* Werking:
  + Geurmolecule vb: geur van gemaaid gras door vrijkomen coumarines
  + Rattenvergif
    - = synthetische dicoumarol (warfarine)
    - Oorsprong: Omzetting coumarine oiv schimmels => dicoumarol = toxisch
      * Dicoumarol inhibeert de werking van vitamine K in dieren
      * Vitamine K = essentiele cofactor in bloedstolling

Lignine

* Structuur: basisstructuur is sterk vertakt polymeer van 3 simpele fenolische alcoholen
  + Coumarinezuur (AS), coniferylzuur (GS), sinapylzuur (AS)
* Biosynthese
  + 1) In CW vd plant w alcoholen omgezet tot vrije radicalen door e- weg te nemen
    - Door werking van peroxidasen
  + 2) Vrije radicalen reageren spontaan & ad random => vormen lignine
    - Ad random fixt de grote diversiteit
  + 3) herhaling leidt tot sterk vertakte 3D structuren
* Werking
  + Essentiële component van hout: structuur & verdediging tegen vraat
    - Structuur: Lignine w gevormd in de sec. diktegroei
    - Verdediging: Lignine kan slecht of niet verteerd w door herbivoren
      * => lignine zal accumuleren op plaats waar CW w afgebroken door vb fungi => bindt covalent aan cellulose (CW) => cellulose verteerbaarheid daalt => CW trager afgebroken

5. Flavonoïden

* Flavonoïden
  + = uitgebreide klasse van producten (> 4500)
  + = horen bij fenolen
  + Vaak opgeslagen in vacuolen
* French paradox: skinny & fat
  + Fransen eten veel ervan en zijn skinny
  + Verklaring: resveratrol = 1 vd flavonoïden die op bloedgroep gunstig werkt

**Structuur**

* 3 ringstructuren
* fenolskelet

**Voorbeelden & werking**

* Anthocyanen
  + Functie: pigmenten die bloemkleur geven => bestuivers aantrekken
* Fytoalexinen
  + Functie: bescherming wnnr infectie optreedt
* Anderen
  + Functie: Betrokken in ontstaan vd symbiose tussen N fixerende rhizobiumbacteriën en wortelcellen => gesecreteerd bij stikstoffixatie
  + Functie: Bescherming door schadelijk UV te absorberen
    - Want plant blootgesteld aan UV => verhoogde flavonoïd productie
* Tanninen/ looizuren
  + Naam afkomstig van gebruik van plantenextracten om dierlijke huiden te looien om er leder van te maken
  + 2 categorieën:
    - gecondenseerde tanninen = polymeren van flavonoïde eenheden verboden met sterke C-C bindingen
    - hydroliseerbare tanninen = de basisstructuur is een suiker verbonden met gallinezuur => polymeren vormen
  + Functie: astringerende smaak => scherp, uitdrogend gevoel in mond
  + Functie: voedingswaard van voeding doen dalen
    - Door binden met eiwitten die niet opgenomen w tijdens vertering
* Apigenin en Luteolin gemaakt door de alfa-alfa bloem (vlinderbloemige)
  + => 1 bladspecifiek en 1 wortelspecifiek

6. Alkaloïden

* Alkaloïden
  + = heterogene groep
  + Hebben geen gemeenschappelijke biosynthese (⬄ alle andere groepen)
    - Gevolg: alkaloïden zijn chemisch niet verwant
  + Gemeenschappelijke kenmerken
    - Hoge oplosbaarheid in H2O
    - Minstens 1 N atoom
    - Hoge biologische activiteit
    - Heterocyclisch (ringstructuur)
    - Zwakke base

**Structuur**

* Ringstructuren (heterocyclisch)
* Minstens 1 N atoom

**Biosynthese**

* Gesynthetiseerd uit AZ (tyrosine, triptofaan, ornithine, argenine, lysine) = precursors
  + vb ornithine + N stikstofbase nucleotide => nicotinezuur & nicotine
  + vb: purine derivaat => cafeïne

**Voorbeelden & werking**

* Farmacologisch belang
  + Door interferentie met werking van neurotransmitters in zenuwstelsel
    - => effecten in mens & dier
  + Hoge dosissen zijn toxisch, lage dosissen hebben rol in geneeskunde
  + Alkaloiden en alkaloidrijke extracten gebruikt voor vb spierontspanners, pijnstilers,…
  + Vb: codeïne (pijnstiller en koortswerend middel), morfine (pijnstiller), papaverine
* Verdediging tegen vraat
  + Bittere smaak => afstotende smaak voor herbivoren
  + Alle alkaloïden biologisch actief, meestal zelfs toxisch
    - Vb: nicotine = zeer giftig voor insecten => gebruikt als insecticide
      * Altijd aanwezig in planten
    - Vb: N-acetylnicotine = wordt enkel geproduceerd wnnr tabaksplant wordt aangevallen door insecten die ongevoelig zijn voor nicotine
      * Geïnduceerd op plaats van verwonding + andere bladeren
* Verdediging tegen pathogeenaanval: antibiotische werking
* Therapeutische waarden
  + Vb: vinblastine en vincristine
    - Geproduceerd in plantje enkel op Madagscar (zeer zeldzaam)
    - Kan de celdeling van cellen stoppen in metafase door de vorming van microtubuli te inhiberen
    - Gebruikt in behandeling van Hodgekins disease, leukemie&andere kankers
    - Probleem: lage hoeveelheden => extractie en zuivering moeilijk
      * Oplossing: celculturen en/of callusweefsel produceren waarin de alkaloiden geproduceerd ku w