

## LES ACIDES QUINIQUE ET SHIKIMIQUE CHEZ LES ANGIOSPERMES ARBORESCENTES

A. BOUDET

Enzymologie et Métabolisme, Equipe de recherche associée au C.N.R.S. Centre de Physiologie Végétale,  
118, route de Narbonne - 31077, Toulouse, France

(Reçu le 10 septembre 1972. Accepté le 15 septembre 1972)

**Key Word Index**—Angiospermae; woody plants; quinic acid; shikimic acid; alicyclic metabolism; chemotaxonomy.

**Résumé**—Dans les feuilles des Angiospermes arborescentes, l'acide quinique libre, largement répandu, prédomine très nettement sur l'acide shikimique. Au cours de l'année les teneurs varient considérablement: synthétisé dans les jeunes feuilles, cet acide peut s'accumuler de façon remarquable puis disparaît avec la maturité et la sénescence des organes sans que des corrélations puissent être établies avec la biosynthèse de depsides. L'ensemble de ces résultats est discuté en relation avec l'évolution biochimique, la compartimentation cellulaire et le métabolisme de l'acide quinique.

**Abstract**—In the leaves of woody Angiospermae, quinic acid occurs widely and in much higher concentration than shikimic acid. Its concentration shows considerable seasonal fluctuations. This compound accumulates in the first stages of growth, often at very high level, and disappears during maturity and leaf senescence; however, no evidence was found to support a correlation with depside formation. These results are discussed according to biochemical evolution, cellular compartmentation and pathways of quinic acid metabolism.

### INTRODUCTION

MALGRE leur identification très ancienne chez les végétaux, les acides quinique et shikimique furent longtemps considérés comme des curiosités chimiques. C'est surtout après 1950 que les deux composés reçurent une attention particulière à la suite de la découverte chez les microorganismes du rôle joué par l'acide shikimique dans la synthèse des acides aminés aromatiques.<sup>1</sup> Des recherches systématiques démontrent alors la présence de cet acide chez les végétaux supérieurs et particulièrement chez les Gymnospermes.<sup>2</sup> De plus, il est actuellement prouvé que l'acide shikimique constitue un intermédiaire normal du métabolisme aromatique,<sup>3</sup> son identification étant liée à son degré d'accumulation dans la plante. L'acide quinique apparaît également répandu dans des espèces variées, chez les Gymnospermes,<sup>4</sup> les Graminées,<sup>5</sup> les Rosacées,<sup>6-8</sup> les Anacardiacees,<sup>9</sup> les Hamamélidacées.<sup>10</sup> Cet acide présente vraisemblablement des liens biogénétiques avec l'acide shikimique; un rôle majeur dans la synthèse des unités aromatiques lui a été attribué par certains auteurs<sup>11,12</sup> mais sa position métabolique reste mal définie.

<sup>1</sup> B. D. DAVIS, *J. Biol. Chem.* **191**, 315 (1951).

<sup>2</sup> B. A. BOHM, *Chem. Rev.* **65**, 435 (1965).

<sup>3</sup> S. YOSHIDA, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**, 41 (1969).

<sup>4</sup> V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **249**, 1563 (1959).

<sup>5</sup> E. C. JONES et R. J. BARNES, *J. Sci. Food Agric.* **18**, 321 (1967).

<sup>6</sup> L. H. WEINSTEIN, W. R. SMITH et H. J. LAURENCOT, JR., *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **19**, 341 (1958).

<sup>7</sup> A. SCHNEIDER, *Compt. Rend.* **246**, 2029 (1958).

<sup>8</sup> L. CRONENBERGER, Thèse Doctorat Sciences Naturelles, Lyon (1960).

<sup>9</sup> V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **250**, 1721 (1960).

<sup>10</sup> V. PLOUVIER, *Compt. Rend.* **252**, 599 (1961).

<sup>11</sup> A. KIESEL, *Planta* **12**, 131 (1931).

<sup>12</sup> J. A. HALL, *Chem. Rev.* **20**, 305 (1937).

Les données sur l'importance relative de ces deux acides chez les végétaux et sur leur cinétique d'évolution qui pourraient apporter des éléments pour une meilleure compréhension de leurs relations et de leur rôle physiologique, demeurent très fragmentaires. Aussi, à la suite de premiers résultats obtenus chez *Quercus pedunculata*,<sup>13</sup> avons-nous recherché les acides quinique et shikimique et suivi les fluctuations saisonnières de leurs teneurs chez un ensemble d'Angiospermes arborescentes dont le contenu en acides alicycliques n'avait jusqu'à présent pas été examiné.

### RESULTATS

Les déterminations effectuées uniquement sur les feuilles permettent de dégager plusieurs caractéristiques communes à la grande majorité des espèces étudiées (Tableau 1); (i) prédominance quasi constante et très nette de l'acide quinique sur l'acide shikimique; (ii) présence chez la plupart des essences de teneurs très élevées en acide quinique, 2-4% de la masse sèche en moyenne; (iii) évolution saisonnière comparable des teneurs en acide quinique dans tous les cas étudiés: augmentation plus ou moins rapide dans les organes en croissance suivie d'une disparition progressive de l'acide avec le vieillissement des feuilles; et (iv) évolution sensiblement identique des teneurs en acide shikimique lorsque celui-ci est décelable.

TABLEAU 1. ESPECES RETENUES DANS L'ETUDE DE L'EVOLUTION SAISONNIERE DU CONTENU EN ACIDES ALICYCLIQUES D'ANGIOSPERMES ARBORESCENTES

Familles	Especes	Familles	Especes
Juglandacées	<i>Juglans regia</i> L.	Magnoliacées	<i>Liriodendron tulipifera</i> L.
Salicacées	<i>Salix caprea</i> L.		<i>Magnolia stellata</i> Maxim.
	<i>Populus nigra</i> L.	Platanacées	<i>Platanus acerifolia</i> Willd.
Bétulacées	<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	Rosacées	<i>Sorbus terminalis</i> Crantz
	<i>Corylus avellana</i> L.	Légumineuses	<i>Robinia pseudacacia</i> L.
	<i>Alnus glutinosa</i> L.		<i>Albizia julibrissin</i> Dur.
	<i>Carpinus betulus</i> L.	Acéracées	<i>Acer campestre</i> L.
Fagacées	<i>Quercus sessiliflora</i> Salisb.	Sapindacées	<i>Koelreuteria paniculata</i> Laxm.
	<i>Quercus pubescens</i> Willd.	Hippocastanacées	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.
	<i>Quercus toza</i> Bosc.	Tiliacées	<i>Tilia cordata</i> Miller
	<i>Quercus ilex</i> L.	Ericacées	<i>Arbutus unedo</i> L.
	<i>Quercus suber</i> L.	Oléacées	<i>Fraxinus excelsior</i> L.
	<i>Quercus rubra</i> L.	Boraginacées	<i>Ehretia macrophylla</i> Wall.
	<i>Fagus sylvatica</i> L.	Caprifoliacées	<i>Viburnum opulus</i> L.
	<i>Castanea sativa</i> Scop.		<i>Sambucus nigra</i> L.
Ulmacées	<i>Ulmus campestris</i> L.		
Moracées	<i>Morus alba</i> L.		
	<i>Ficus carica</i> L.		

Ces différents points sont bien illustrés par le comportement d'ensemble des Fagales (Fagacées, Bétulacées) pour lesquelles les résultats (Fig. 1) se révèlent analogues à ceux déjà obtenus pour *Quercus pedunculata*.<sup>13,\*</sup> En raison des variations très sensibles des quantités d'acide au cours du cycle annuel, les concentrations évoluent parallèlement aux teneurs.

\* Les différents *Quercus* présentent des types d'évolution voisins (cf. *Quercus suber*), chez *Quercus ilex* cependant l'acide quinique demeure abondant au dernier prélèvement.

<sup>13</sup> A. BOUDET, G. MARIGO et G. ALIBERT, *Compt. Rend.* **265**, 209 (1967).

Pour les représentants des autres familles, on retrouve le même type d'évolution mais si quelques essences renferment des quantités d'acide quinique supérieures à celles rencontrées chez les Fagales (*Arbutus*, *Koelreuteria*, jusqu'à 8 % de la masse sèche), dans la majorité des cas cet acide atteint un taux maximum de 3 % comme chez *Acer*, *Tilia*, *Aesculus*, *Ulmus* (Fig. 2a), *Ehretia*, *Platanus*, *Sorbus* ou seulement de 1-2 % chez *Salix*, (Fig. 2b) *Populus*, *Robinia*, *Ficus*, *Sambucus*, *Viburnum*. Enfin chez quelques genres, *Fraxinus*, *Morus*, *Juglans* (Fig. 2c), *Albizia*, les teneurs s'avèrent encore inférieures.

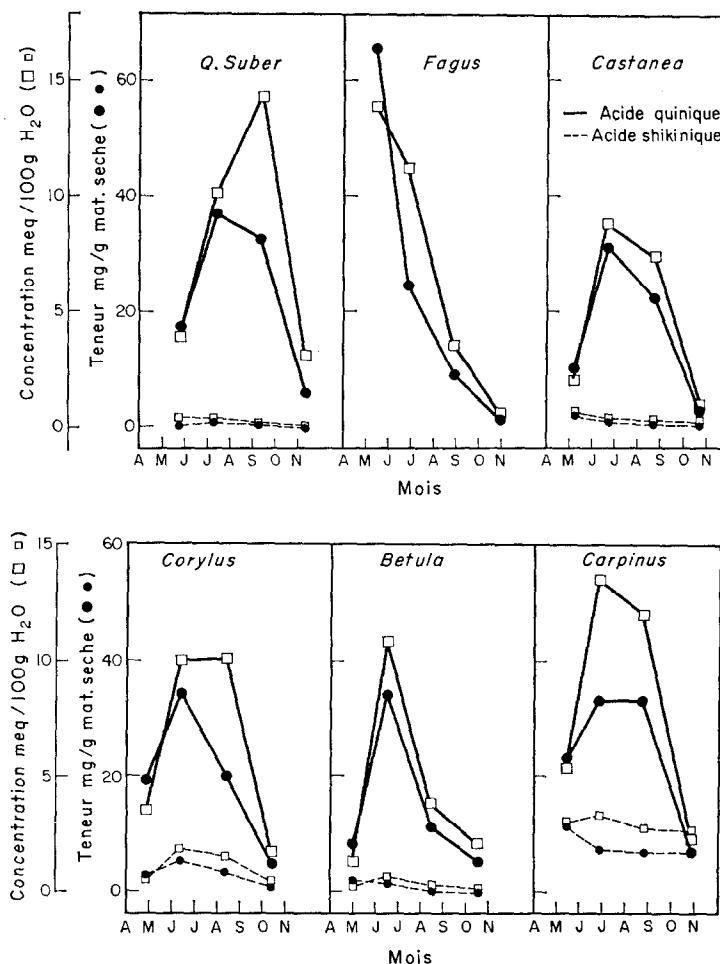


FIG. 1. EVOLUTION DES TENEURS ET DES CONCENTRATIONS EN ACIDES ALICYCLIQUES DANS LES FEUILLES DE DIFFERENTES ESPECES ARBORESCENTES AU COURS D'UN CYCLE ANNUEL.

L'acide shikimique quand il est détectable, atteint rarement un taux maximum de 0,2 %, hormis *Tilia* (1,4 %) et surtout *Alnus* qui fait exception à la règle générale et où l'acide shikimique prédomine largement sur l'acide quinique et représente jusqu'à 8 % de la masse sèche. Une place à part peut être enfin réservée aux Magnoliacées chez lesquelles on rencontre à la fois des quantités importantes des deux acides alicycliques (Fig. 3).

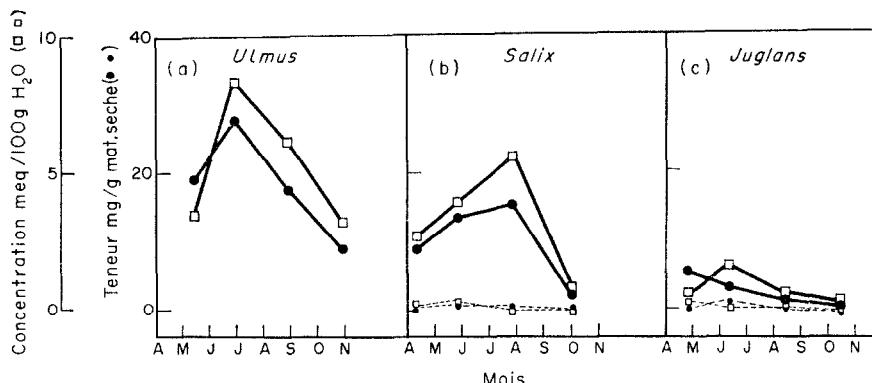


FIG. 2. EVOLUTION DES TENEURS ET DES CONCENTRATIONS EN ACIDES ALICYCLIQUES DANS LES FEUILLES DE DIFFERENTES ESPECES ARBORESCENTES AU COURS D'UN CYCLE ANNUEL.

#### Recherche du Contenu en Acides Alicycliques d'Angiospermes non Arborescentes

Si on confronte les résultats précédents aux déterminations effectuées antérieurement sur des plantes herbacées,<sup>5,14</sup> on constate que les valeurs relevées pour les espèces arborescentes apparaissent nettement plus importantes.

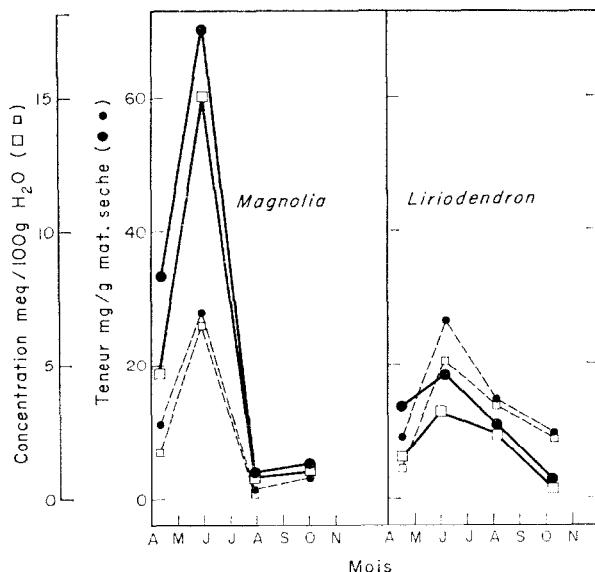


FIG. 3. EVOLUTION DES TENEURS ET DES CONCENTRATIONS EN ACIDES ALICYCLIQUES DANS LES FEUILLES DE DIFFERENTES ESPECES ARBORESCENTES AU COURS D'UN CYCLE ANNUEL.

La comparaison des teneurs en acide quinique des feuilles d'arbres, d'arbustes, d'arbrisseaux ou sous-arbrisseaux et de plantes herbacées d'une même famille (Tableau 2) ne permet cependant pas d'établir une relation entre la richesse en acide quinique et le caractère arborescent. Les Légumineuses étudiées se révèlent, en effet, dans leur ensemble,

<sup>14</sup> F. B. JOHNSTON et M. M. HAMMILL, *Can. Instit. Food Tech. J.* **1**, 3 (1968).

TABLEAU 2. COMPARAISON DES TENEURS EN ACIDE QUINIQUE CHEZ DES ARBRES, ARBUSTES OU PLANTES HERBACEES D'UNE MEME FAMILLE

Arbres	Arbustes arbisseaux sous-arbisseaux	Plantes herbacées	Ac. quinique mg/g mat. sèche
<b>Légumineuses</b>			
<i>Sophora japonica</i> L.			0
<i>Cercis siliquastrum</i> L.			0
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.			5,24
<i>Albizia julibrissin</i> Dur.			5
<i>Robinia pseudacacia</i> L.			2,5
<i>Laburnum anagyroides</i> Med.			0,96
<i>Virgilia capensis</i> Lamk.			0,64
	<i>Colutea orientalis</i> Miller		0
	<i>Cytisus scoparius</i> (L.) Link.		0
		<i>Melilotus sulcata</i> Desf.	0
		<i>Vicia hirsut a</i> Koch	0
		<i>Vicia sativa</i> L.	0,8
<b>Rosacées</b>			
<i>Prunus armeniaca</i> L.			10,92
<i>Prunus avium</i> L.			16,40
<i>Cydonia oblonga</i> Miller			40,80
<i>Prunus persica</i> L.			7
<i>Pyrus communis</i> L.			40,80
	<i>Crataegus oxyacantha</i> L.		2,8
	<i>Rubus</i> sp.		2,16
	<i>Spirea</i> sp.		5,6
		<i>Fragaria vesca</i> L.	traces
		<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	2,32
		<i>Geum urbanum</i> L.	1,52
		<i>Potentilla reptans</i> L.	0,56
<b>Ericacées</b>			
<i>Arbutus unedo</i> L.			35,60
	<i>Erica scoparia</i> L.		20
<b>Ombellifères</b>			
	<i>Bupleurum fructicosam</i> L.		7,6
		<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	0,40
<b>Oleacées</b>			
<i>Fraxinus excelsior</i> L.			5,36
	<i>Syringa vulgaris</i> L.		4,37
	<i>Forsythia viridissima</i> Lindl.		10,40
<b>Labiacées</b>			
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.		34,40
	<i>Thymus vulgaris</i> L.		8,88
		<i>Mentha rotundifolia</i> L.	12,52
		<i>Salvia verbenaca</i> (L.) Briq.	0,40
<b>Solanées</b>			
	<i>Lycium vulgare</i> Dunal		1,6
		<i>Solanum tuberosum</i> L.	1,44
		<i>Solanum lycopersicum</i> L.	8,8
		<i>Capsicum annuum</i> L.	2,8
<b>Apocynacées</b>			
	<i>Nerium oleander</i> L.		2,72
		<i>Vinca minor</i> L.	34,4
<b>Saxifragacées</b>			
	<i>Philadelphus coronarius</i> L.		13,84
	<i>Hydrangea hortensia</i> Sieb.		7,76
		<i>Saxifraga umbrosa</i> L.	73,6

très pauvres en acide quinique alors que certaines herbacées (*Saxifraga*, *Vinca*) présentent des teneurs élevées comme la majorité des espèces ligneuses déjà mentionnées.

#### *Recherche des Acides Quinique et Shikimique à l'état Combiné Chez Quercus pedunculata*

Les expériences réalisées sur des feuilles à trois stades de végétation (22 avril, 17 juillet, 4 novembre) et sur les différents organes (racines, épicotyles, feuilles) de jeunes plants de 30 jours n'ont pas permis de mettre en évidence la présence d'acides quinique et shikimique à l'état combiné chez *Quercus*.

#### DISCUSSION

Chez les Angiospermes arborescentes, la prédominance de l'acide quinique sur l'acide shikimique constitue une donnée pratiquement constante, résultat qui va à l'encontre des conceptions sur la richesse en acide shikimique des espèces ligneuses;<sup>15</sup> conceptions généralisées, il est vrai, à la suite de travaux portant essentiellement sur les Gymnospermes.

Comme le suggérait Plouvier,<sup>16</sup> la répartition des acides quinique et shikimique n'est pas assez spécifique pour qu'ils puissent être utilisés comme indicateurs taxinomiques. Cependant, l'examen des données antérieures sur la répartition de ces deux acides dans différents groupes végétaux<sup>2,17,18</sup> confronté à l'ensemble des résultats de ce travail, semble indiquer que l'aptitude à l'accumulation de l'acide quinique constituerait une tendance évolutive. En effet, l'acide shikimique présent chez les formes de vie élémentaires (Bactéries) a été mis en évidence chez tous les groupes de Cormophytes inférieures. L'acide quinique n'a pour sa part été identifié à l'état libre qu'au niveau des Gymnospermes, parfois en grande quantité et souvent associé à l'acide shikimique. Chez les Angiospermes, on constate à la suite des résultats de cette étude l'abondance de l'acide quinique et, à l'opposé, l'absence d'acide shikimique, les Magnoliales, formes primitives, se distinguant par la présence simultanée des deux acides alicycliques en quantités importantes, situation proche de celle des Gymnospermes.

Dans le cadre de l'évolution biochimique des espèces végétales, l'acide quinique pourrait ainsi représenter un exemple typique de composé absent des formes primitives et apparu tardivement; ou du moins, l'aptitude des végétaux à l'accumulation de l'acide shikimique aurait évolué en une aptitude à l'accumulation de l'acide quinique. Bien qu'il n'ait pas été possible d'établir de relation stricte entre les teneurs en acide quinique et l'état arborescent caractérisé par une intense production de lignine, cette évolution pourrait être corrélative d'une augmentation progressive de la capacité de synthèse en composés phénoliques.

L'évolution des teneurs en acide quinique apparaît comparable pour toutes les espèces étudiées et ces résultats se révèlent en accord avec ceux déjà obtenus pour des Gymnospermes,<sup>4</sup> des Rosacées,<sup>7</sup> des Anacardiacées<sup>9</sup> et des Hamamélidacées.<sup>10</sup> A une période au cours de laquelle les phénomènes de synthèse prennent le pas sur les processus de dégradation, succède une phase où le catabolisme l'emporte sur l'anabolisme. Ce type de fluctuation serait donc commun à l'ensemble des végétaux renfermant de l'acide quinique. Cette unité de comportement semble indiquer une participation bien définie de cet acide à la physiologie des végétaux.

<sup>15</sup> M. HASEGAWA, dans *Wood extractives* (édité par W. E. HILLIS), p. 263, Academic Press, London (1962).

<sup>16</sup> V. PLOUVIER, *Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.* 7, 44 (1961).

<sup>17</sup> M. HASEGAWA, T. NAKAGAWA et S. YOSHIDA, *J. Jap. Forest. Soc.* 39, 159 (1957).

<sup>18</sup> H. KINZEL et A. WALLAND, *Z. Pflanzenphysiol.* 54, 371 (1966).

L'évolution des teneurs en acide shikimique, lorsque cet acide est détectable, ne correspond pas, en revanche, aux résultats déjà mentionnés par Plouvier<sup>4,9</sup> chez des Gymnospermes et des Anacardiacees et par Hulme chez la Pomme<sup>19</sup> où cet acide apparaît postérieurement à l'acide quinique et persiste plus longtemps en fin de végétation. Ces évolutions séquentielles avaient parfois conduit à considérer l'acide quinique comme un précurseur de l'acide shikimique; les éléments de ce travail ne peuvent confirmer cette interprétation, mais l'analogie constatée dans les courbes d'évolution des deux acides semble démontrer leur intervention dans les mêmes processus métaboliques.

En ce qui concerne l'acide quinique, deux points essentiels se dégagent en outre de ces courbes d'évolution, l'importance du phénomène d'accumulation et son caractère transitoire.

Cette accumulation à un niveau aussi élevé dans un large groupe d'espèces ne paraît pas, en effet, avoir été mentionnée pour d'autres acides organiques ni pour d'autres métabolites intermédiaires en général; ces résultats mettent l'accent sur une des particularités de la cellule végétale, celle de stocker en grandes quantités certains composés et en particulier les acides organiques. Cette situation serait certainement rendue possible grâce à l'existence d'une compartimentation cellulaire,<sup>20</sup> la majeure partie de l'acide quinique étant dans le cas présent vraisemblablement localisée dans la vacuole. Des transferts entre sites de synthèse ou d'utilisation et sites de stockage pourraient se produire par action de mécanismes encore hypothétiques évoqués par Ranson:<sup>21</sup> simple diffusion, modification de la nature chimique, systèmes de transport enzymatiques ou autres. Les résultats de cette étude fournissent des éléments concrets pour aborder le problème général du déterminisme de l'accumulation d'un métabolite donné chez les végétaux.

Par ailleurs, l'accumulation provisoire de l'acide quinique au cours d'un cycle annuel et sa disparition des feuilles en fin de végétation posent le problème de son rôle dans la plante. Si on considère en dehors de tout phénomène de migration une utilisation *in situ*, la formation de depsides pourrait en partie apporter une réponse; nous avons en effet démontré la transformation exclusive de l'acide quinique <sup>14</sup>C en acide chlorogénique chez *Coffea*.<sup>22</sup> Dans les conditions retenues, les déterminations effectuées chez *Quercus pedunculata* n'ont cependant pas permis de caractériser des quantités significatives d'acide quinique à l'état combiné. D'après ces résultats, un végétal riche en acides alicycliques ne présente pas forcément une aptitude à la synthèse ou du moins à l'accumulation de depsides bien qu'il dispose largement d'un des éléments constitutifs de l'ester. La formation d'acide chlorogénique ne correspond pas à une orientation métabolique obligatoire de l'acide quinique.

Le Chêne et le Cafier représentent donc deux cas extrêmes dans l'utilisation de l'acide quinique. Le premier accumule ce composé à l'état libre sans que l'acide chlorogénique soit perceptible, dans le genre *Coffea*, au contraire, l'acide quinique présent en très faible quantité est entièrement mobilisé pour l'édition du depside abondant dans tous les organes.

En dehors de cette voie de transformation, la participation de l'acide quinique à la synthèse des unités aromatiques par l'intermédiaire de la voie de l'acide shikimique, déjà suggérée chez différents végétaux,<sup>23,24</sup> semble probable chez le Chêne.<sup>25</sup>

<sup>19</sup> A. C. HULME et L. S. C. WOOLTORTON, *J. Sci. Food Agric.* **9**, 150 (1958).

<sup>20</sup> D. H. MACLENNAN, H. BEEVERS et J. L. HARLEY, *Biochem. J.* **89**, 316 (1963).

<sup>21</sup> S. L. RANSON, dans *Biosynthetic Pathways in Higher Plants* (édité par J. B. PRIDHAM et T. SWAIN), p. 179, Academic Press, London (1965).

<sup>22</sup> J. P. COLONNA et A. BOUDET, *Compt. Rend.* **272**, 952 (1971).

<sup>23</sup> L. H. WEINSTEIN, C. A. PORTER et H. J. LAURENCOT, JR., *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **21**, 201 (1961).

<sup>24</sup> R. ROHRINGER, A. FUCHS, J. LUNDERSTÄDT et D. J. SAMBORSKI, *Can. J. Bot.* **45**, 863 (1967).

<sup>25</sup> A. BOUDET, à paraître.

Cependant, on ne peut réduire le rôle métabolique de l'acide quinique à celui d'une forme de stockage des unités alicycliques, bien que cette éventualité ait souvent été retenue. Des expériences réalisées chez le Chêne démontrent, en effet, son renouvellement rapide et suggèrent l'existence de voies de transformation qui lui sont propres.<sup>25</sup> Si la tendance à l'accumulation de l'acide quinique reflète une évolution, celle-ci se serait également manifestée par l'apparition d'aptitudes métaboliques nouvelles. Les résultats obtenus en faveur de cette hypothèse feront l'objet d'une prochaine publication.

#### EXPERIMENTALE

*Matériel végétal.* D'une manière générale, les prélèvements dans la nature ont toujours eu lieu vers 9 hr du matin. Pour les espèces du Tableau 1, la première récolte est effectuée 15 jours après le débourrement, les suivantes respectivement 2, 4 et 6 mois après cette date de référence. Les prélèvements des échantillons du Tableau 2 ont été réalisés dans la région toulousaine pendant les mois de mai et juin 1970. Les jeunes plants de Chêne de 30 jours sont obtenus dans des conditions définies antérieurement.<sup>26</sup>

*Méthodes.* Le matériel végétal est stabilisé par immersion pendant 10 min dans l'EtOH à 95° G.L. à ébullition, ou le plus souvent par lyophilisation. Dans le premier cas, la teneur en eau est appréciée sur un lot parallèle soumis ultérieurement à la lyophilisation. Les acides quinique et shikimique ont été extraits puis séparés et dosés par GLC en utilisant des méthodes déjà décrites.<sup>27</sup>

La recherche d'éventuelles formes combinées des acides quinique et shikimique a été envisagée selon deux protocoles: (i) dosage par GLC, des acides alicycliques avant et après hydrolyse de l'extrait végétal; et (ii) identification par PC des acides quinique et shikimique après hydrolyse d'une fraction phénolique exempte d'acides alicycliques à l'état libre.

*Remerciements*—Je tiens à remercier vivement Monsieur A. Carrasco pour son excellente collaboration technique tout au long de ce travail.

<sup>26</sup> A. BOUDET, Thèse Doctorat Sciences Naturelles, Toulouse (1972).

<sup>27</sup> A. BOUDET, G. ALIBERT et J. L. PUECH, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **52**, 1119 (1970).