

## MÉTABOLISME DU CHLORO-2 (*p*-CHLOROPHÉNYL)-3 PROPIONATE DE MÉTHYLE ET PROBLÈME DE SÉLECTIVITÉ

V. PONT et G. F. COLLET

Station fédérale de recherches agronomiques de Changins, CH 1260 Nyon, Switzerland

(Reçu le 7 septembre 1979)

**Key Word Index**—*Triticum; Avena; Gramineae; herbicide; metabolism; 2-chloro-3-(*p*-chlorophenyl)propionic acid methyl ester.*

**Abstract**—The product of hydrolysis of the active principle of the herbicide Bidisine® is degraded in at least two different ways. One way gives *p*-chlorobenzoic acid. The other, more important one, gives a conjugate with L-cysteine, which is further oxidized. The ability to oxidize the conjugate provided a means of distinguishing between susceptible and resistant plant species.

### INTRODUCTION

Nous avons montré dans une récente publication [1] la formation de *S*-(carboxy-1*p*-chlorophényl-2 éthyl)cystéine (**3**) à partir de l'acide chloro-2 (*p*-chlorophényl)-3 propionique (**2**) provenant de la saponification de la matière active de la Bidisine®, le chloro-2 (*p*-chlorophényl)-3 propionate de méthyle (**1**). Nous avons aussi pu mettre en évidence, dans les phases éthérees, à côté d'acide trihydroxy-2,3,4 benzoïque (**4**), de faibles quantités d'acide *p*-chlorobenzoïque (**6**).

Nous voulions établir les voies de dégradation de **1** et déterminer la relation entre le métabolisme et la résistance du blé ou la sensibilité de la folle avoine, telle qu'elle a été démontrée précédemment [2-4]. Nous avons utilisé pour cette comparaison le test coléoptile (TC) et des cultures hydroponiques de jeunes plantes après traitement foliaire.

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs trouvées pour l'inhibition en %, occasionnées par **1** sur l'elongation des coléoptiles de *Triticum aestivum* en fonction de la concentration du milieu (Tableau 1), montrent une concentration critique ( $1 \times 10^{-4}$  M) au-delà de laquelle l'inhibition s'accroît brusquement pour aboutir rapidement à la mort des cellules (effet 'catastrophe') [1]. Celle-ci est la conséquence de la rupture de la membrane plasmique [5].

L'évolution de la radioactivité des phases aqueuses et éthérees en fonction de l'accroissement de l'inhibition [1] (Tableau 1) suggère la formation, aisée jusqu'au seuil de la 'catastrophe', d'un composé de la phase aqueuse dont la transformation en catabolites de la phase éthéeree devient rapidement difficile avec l'augmentation de l'inhibition. C'est pourquoi nous avons isolé le composé **3** soluble dans l'eau obtenu *in*

*vivo* et l'avons administré à un test coléoptile de blé à  $4,5 \times 10^{-5}$  M. Au terme des 24 hr de test, 55% de la radioactivité sont solubles dans l'éther et portent essentiellement sur les composés plus polaires que **2**, de  $R_f$  0-0,23 (solvant A) déjà mentionnés précédemment [1]. Dans tous nos essais, ce domaine de  $R_f$  comporte généralement trois pics à 0; 0,10 et 0,23 approximativement.

Dans le but de mieux caractériser ces composés, nous avons soumis à une hydrolyse par la  $\beta$ -glucosidase l'importante phase aqueuse (62%) provenant du test coléoptile de blé à  $10^{-4}$  M: 9% de la radioactivité de cette phase passent dans l'éther et correspondent aux composés de  $R_f$  0-0,23 (solvant A). Ces composés, parmi lesquels on retrouve le produit **4** ( $R_f$  avec les solvants A: 0,10; B': 0,24; C: 0,70), correspondent ainsi à des dérivés hydroxylés provenant de l'oxydation de **3**. En ce qui concerne l'acide *p*-chlorobenzoïque (**6**) très peu abondant (1-3% de la radioactivité totale), mis en évidence précédemment [1], il se forme par scission oxydative de la double liaison de l'acide *p*-chlorocinnamique *trans* (**5**) provenant de **2**. Un test coléoptile de blé réalisé avec de l'acide *p*-chlorocinnamique *trans*[ $3-^{14}\text{C}$ ] à  $3 \times 10^{-5}$  M donne en effet de l'acide *p*-chlorobenzoïque mais aucun autre composé principal formé à partir de **1** (solvants A, A' et B). On retrouve la moitié de la radioactivité sous forme de produit de départ et seulement 10% sous forme de produit **6** à partir du test effectué avec **5**. En revanche, on ne retrouve pas de dérivé **5** au terme des tests réalisés avec la matière active de la Bidisine. La situation est donc probablement différente entre un test coléoptile utilisant le composé **5** qui doit franchir la membrane plasmique et un test réalisé à la même concentration à partir de **1** qui se transformerait pour 1-3% seulement en **5** (puis en **6**) dans de cytoplasme. Koecher *et al.* [6] ont mis en évidence la même transformation sous l'action de microorganismes du sol. Nous pouvons donc écrire le Schéma 1 qui suit.

Tableau 1. Inhibition en% ( $\pm 3\%$ ) de la croissance (test coléoptile TC) pour diverses concentrations de **1** et répartition des phases aqueuse et éthérée ainsi que de **2** non transformé en% ( $\pm 1\%$ ) de la quantité de **1** pénétrée

Concentration de <b>1</b> (M)	Inhibition (%)	Phase aqueuse (%)	Phase éthérée (%)	Produit <b>2</b> (%)
$1 \times 10^{-5}$	13	48	42	4
$3 \times 10^{-5}$	17	49	41	3
$1 \times 10^{-4}$	38	62	29	11
$3 \times 10^{-4}$	89*	—	—	—
$8 \times 10^{-4}$	88*	7	81	79

\*Coléoptiles morts.

On peut penser que la formation des glucosides est réversible ainsi que nous l'avons montré à propos du catabolite principal d'un autre herbicide, le MBT [7, 8] ou de composés naturels (phénols) [9]. Quant au dérivé **3**, autre produit de condensation, même s'il ne peut pas redonner le produit de départ, il représente de même un composé de détoxication temporaire, capable aussi de former à nouveau des catabolites solubles dans l'éther (liposolubles). Nous avons vu que la formation de **3** n'est guère inhibée pourvu que la cellule soit toujours vivante. En revanche, l'oxydation de **3** est rapidement empêchée même pour des inhibitions modestes. On peut donc envisager une action de **2** sur le site responsable des oxydations. Ducruet et Gauvrit (communication-personnelle) ont en effet mis en évidence une désorganisation, sous l'action de **1**, de la membrane mitochondriale occasionnant en particulier un ralentissement des transferts électroniques.

Nous avons ensuite comparé l'action de **1** (dl) sur deux graminées. Les résultats de tests réalisés sur des

coléoptiles ou des plantes entières d'*Avena fatua* et de *Triticum aestivum* confirment la sensibilité de la folle avoine observée en champ. Le Tableau 2 montre que les coléoptiles d'*Avena* sont environ 10 fois plus sensibles que ceux de *Triticum*.

Au terme des tests coléoptiles, le composé **1** n'est plus présent dans le milieu que sous forme saponifiée **2** [5]. Seule la radioactivité du milieu final du test coléoptile d'*Avena* à  $10^{-4}$  M provoquant rapidement la mort du matériel n'est pas totalement extractible à l'éther diéthylique; on retrouve dans ce milieu 3,5 fois plus de composés radioactifs solubles dans l'eau que dans l'extrait coléoptilaire correspondant. Ce fait confirme l'éclatement de la membrane plasmique démontrée précédemment [5] et la libération dans le milieu des composés hydrophiles formés dans la cellule.

Les résultats obtenus à partir du traitement foliaire de blé et de folle avoine à  $5 \times 10^{-4}$  M de **1** confirment ceux obtenus à partir des tests coléoptiles malgré la disparité des valeurs due à l'hétérogénéité du matériel

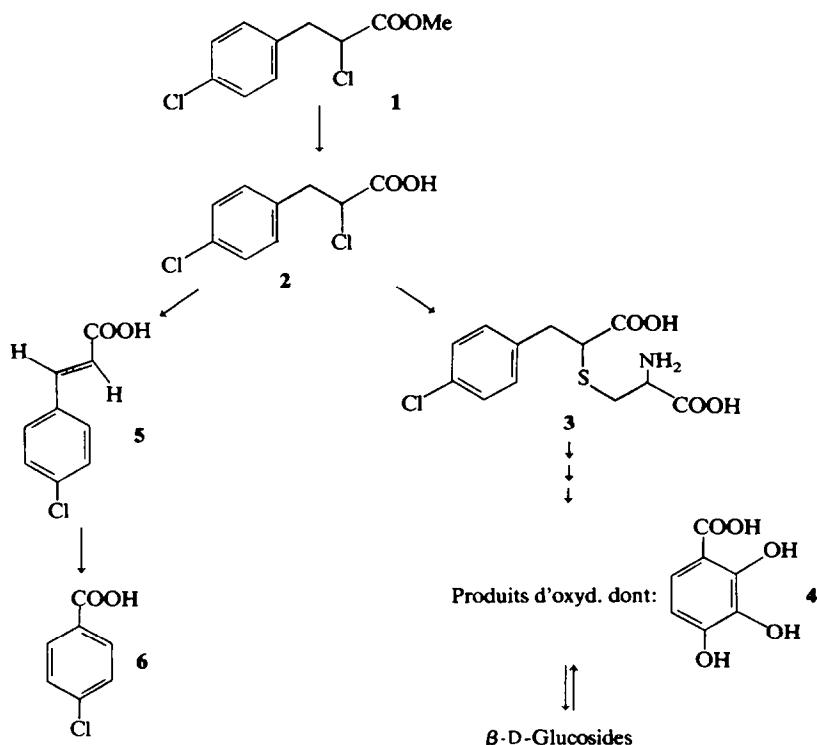


Schéma 1. Principales voies métaboliques de dégradation de la substance active de la Bidisine.

Tableau 2. Inhibition en % ( $\pm 3\%$ ) de l'élongation des coléoptiles (TC) de *Triticum* (T) résistant et *Avena* (A) sensible pour  $1 \times 10^{-5}$  et  $1 \times 10^{-4}$  M de **1**, pénétration et répartition en nmol/coléoptile ( $\pm 2\%$ ) entre les principaux produits du métabolisme

Conc. de <b>1</b> (M)		Inhibition (%)	Pénétration	Produit <b>2</b>	Phase aqueuse dont <b>3</b>	$R_f$ 0-0,23
$1 \times 10^{-5}$	T	13	2,20	0,08	1,06	0,85
	A	70	0,82	0,10	0,53	0,13
$1 \times 10^{-4}$	T	38	11,58	1,26	7,13	0,40
	A	100*	1,78	1,40	0,21	0,02

\*Coléptiles morts.

et à la difficulté d'obtenir des pénétrations reproductibles. On constate néanmoins toujours chez *Avena* un ralentissement du métabolisme affectant surtout la transformation de **3**. Étant donné la difficulté de calculer des erreurs statistiques, nous ne donnerons, à titre d'exemple, que quelques valeurs rapportées au poids sec relatives aux teneurs des principaux produits du métabolisme. Ainsi, 24 hr après le traitement foliaire, on retrouve, chez le blé, 0,28  $\mu\text{mol/g}$  de **3** et 0,40  $\mu\text{mol/g}$  de composés de  $R_f$  0-0,23; l'extrait de folle avoine correspondant donne respectivement 0,83 et 0,02  $\mu\text{mol/g}$ . La proportion de la radioactivité qui intéresse le composé **3** retrouvé et ses produits d'oxydation est toujours supérieure à 50% (jusqu'à 89%); ce fait indique que la formation de **3** n'est pas dépendante de la stéréochimie. Il faut de plus dissocier le site d'action catastrophe situé dans la membrane [5] et le site de détoxication; ce dernier, qui fait intervenir un composé hydrophile (cystéine ou glutathion [10]), est probablement situé dans le cytoplasme.

On constate donc, en ce qui concerne le métabolisme de **1**, que la différence entre plante sensible et résistante n'est pas d'ordre qualitatif (Tableau 2). Elle se traduit avant tout, chez la plante sensible, par une transformation plus difficile du composé **3**. La formation de ce produit de condensation demeure toujours facile pourvu que les tissus soient vivants. Sur le plan du métabolisme, la différence entre les deux types de plantes est donc peu marquée; elle traduit certainement la difficulté d'utilisation pratique de la Bidisine®.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

La firme Bayer à Leverkusen nous a fourni le chloro-2 (*p*-chlorophényl)-3 propionate de méthyle [ $3-^{14}\text{C}$ ] (**1**), substance active de la Bidisine®. Le dérivé saponifié [ $3-^{14}\text{C}$ ] (**2**) a été obtenu par hydrolyse de **1**. Le test coléoptile (TC) et les

exactions qui suivent ont été décrits ailleurs [1]. Les traitements foliaires (stade 3 feuilles) ont été réalisés en immergant le matériel dans la solution de **1** additionnée de mouillant (Tween 80). Au terme des essais, le matériel lyophilisé a été extrait avec le mélange  $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$  50%. On sépare les produits solubles dans  $\text{H}_2\text{O}$  des produits solubles dans l'éther diéthylique. Les analyses chromatographiques ont été réalisées sur couche mince de gel de silice HF254 de Merck. Nous avons utilisé les solvants:  $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}-\text{HOAc}-\text{H}_2\text{O}$ , A = 85:20:1:3; A' = 85:40:4:10;  $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ , B = 64:36:8; B' = 50:47:14;  $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}-\text{NH}_3$  17%, C = 20:20:10. La détection des composés, radioactifs ou non, a déjà été décrite [1].

**Remerciements**—Nous remercions la maison Bayer-Leverkusen de nous avoir gracieusement fourni le composé **1** marqué. Ce travail doit beaucoup à l'assistance technique de Mmes C. Berney et M. L. Rérat, ainsi que de MM. J. P. Kradolfer et D. Thomas.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Collet, G. F. et Pont, V. (1978). *C. R. Acad. Sci. Paris* **286**, 681.
- Fedtke, C. (1972) *Weed Res.* **12**, 325.
- Schmidt, Th., Fedtke, C. et Schmidt, R. R. (1976) *Z. Naturforsch. Teil C* **31**, 252.
- Fedtke, C. et Schmidt, R. R. (1977) *Weed Res.* **17**, 233.
- Collet, G. F. et Pont, V. (1980) (sous presse).
- Koecher, H., Lingens, F. et Koch, W. (1976) *Weed Res.* **16**, 93.
- Collet, G. F. et Pont, V. (1974) *Weed Res.* **14**, 151.
- Pont, V., Jarczyk, H. J., Collet, G. F. et Thomas R. (1974) *Phytochemistry* **13**, 785.
- Collet, G. F. et Pont, V. (1977) in *Plant Growth Regulators* (Kucher, T., Ivanova, I. et Karanove, eds.) pp. 519-523. Sofia.
- Lamoureux, G. L., Stafford, L. E., Shimabukuro, R. H. et Zaylskje, R. G. (1973) *J. Agric. Food Chem.* **21**, 1020.