

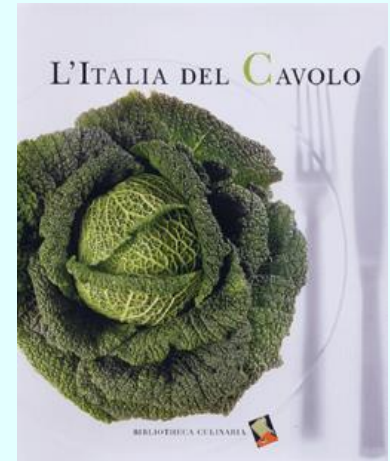
## **Disclaimer, Copyright e Privacy Policy Video a cura dell'Università degli Studi di Firenze - tutti i diritti riservati.**

Il video e tutti i contenuti presenti all'interno di questo video sono protetti dai diritti d'autore. Possono essere utilizzati, personalmente dagli aventi diritto, per esclusivo scopo didattico e di ricerca; non possono essere commercializzati, diffusi, distribuiti, modificati né utilizzati in altro modo che non sia espressamente autorizzato dai titolari e/o detentori dei diritti d'autore. Ai fini del rispetto della normativa in materia di protezione dati l'utilizzo dei video è consentito esclusivamente per uso personale, mentre ne è vietata ogni ulteriore operazione di trattamento senza il preventivo consenso dell'interessato. Si ricorda che al fuori dell'uso strettamente personale, per ogni ulteriore utilizzo lo studente sarà considerato Titolare del trattamento e soggetto agli obblighi di legge previsti per tale figura. Ogni violazione sarà punita sulla base della vigente normativa sul diritto d'autore e sulla protezione dei dati personali.

Copyright © 2020 by Università degli Studi di Firenze

The video and all its contents are protected by copyright. They can be used, personally by those entitled, for the exclusive teaching and research purposes; they cannot be marketed, disseminated, distributed, modified or used in any other way that is not expressly authorized by the owners and / or holders of copyright. For the purposes of compliance with data protection law, the use of videos is only allowed for personal use, while any further processing operation is prohibited without the prior consent of the data subject. Please note that outside the strictly personal use, for any further use the student will be considered Data Controller and subject to the legal obligations provided for that figure. Any infringement will be punished according to the current legislation on copyright and on privacy protection.

# I GLUCOSINOLATI



I glucosinolati sono presenti nelle cosiddette «piante dall'odore pungente»...

Ad oggi:

Più di 200 strutture diverse conosciute.

Distribuzione specie-specifica  
*Presenti soprattutto nell'ordine delle Brassicales* (famiglia Brassicacee, dette anche Crucifere)

Cosa sono?

**Metaboliti ricchi in zolfo, derivati da amino acidi**



# I GLUCOSINOLATI: struttura chimica

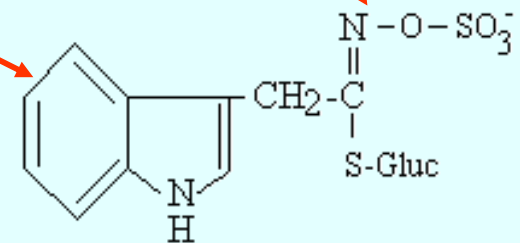
## 1) Piccola catena alchilica di varia natura (generalmente aromatica)

Deriva da aminoacidi tipo trp, phe, tyr, met e loro omologhi a catena più lunga

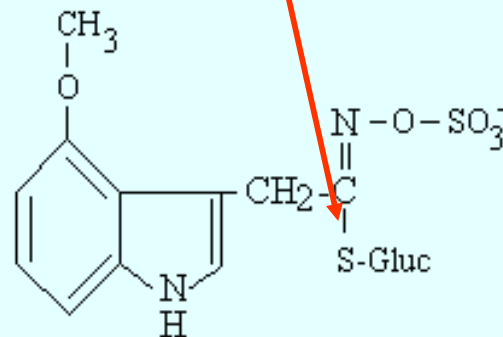
## 2) Gruppo C=N-O-SO<sub>3</sub>

(C, N e solfato SO<sub>4</sub>!)

## 3) Legame tioestere con uno zucchero (generalmente il glucosio)

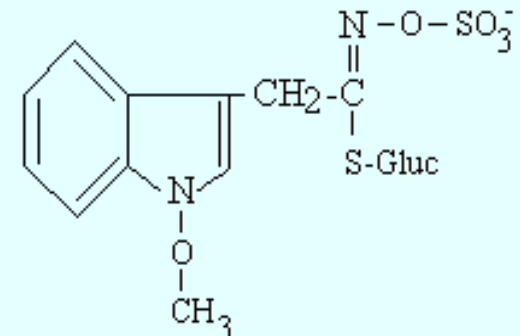


3-Indolylmethyl glucosinolate

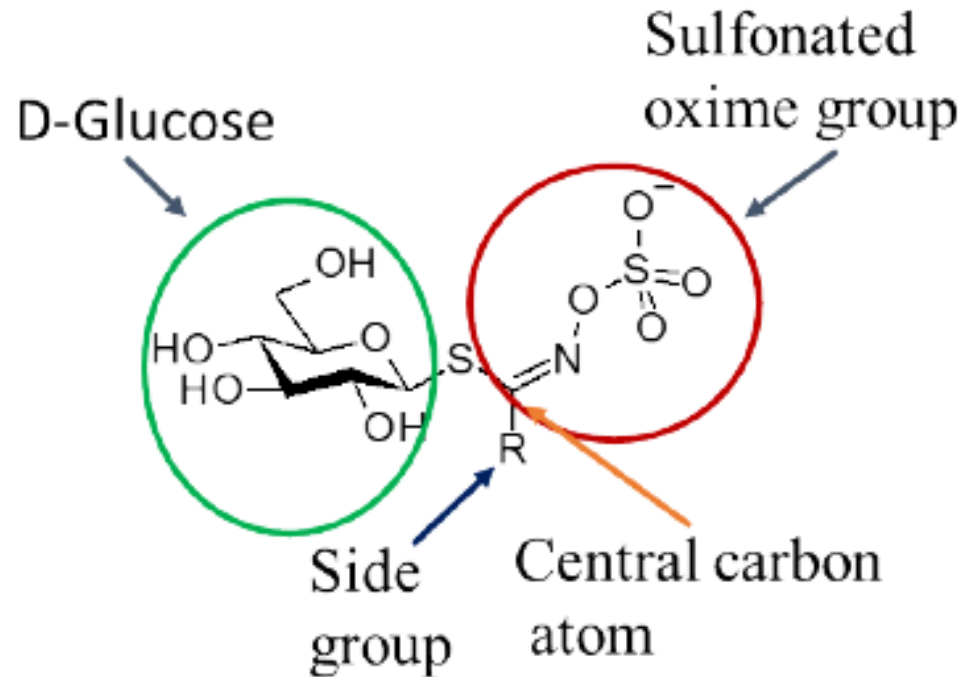


4-Methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate

1-Methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate



In pratica...



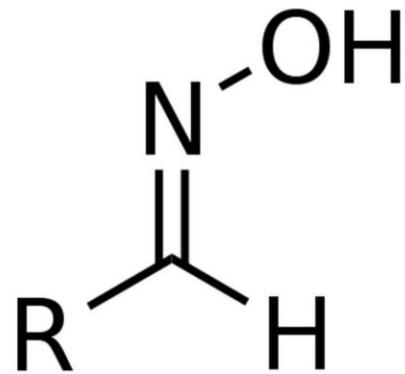
**Fig. 6:** General structure of glucosinolates

**Le OSSIME sono gruppi con il doppio legame C=N ed un gruppo OH**  
(aldossime e chetossime a seconda di R e H).

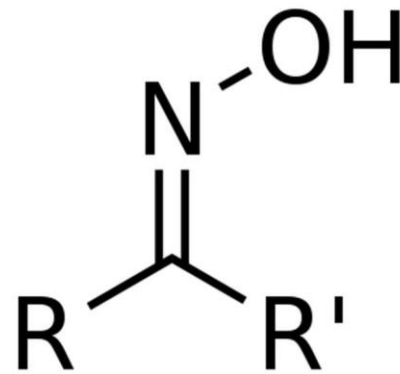
**Nel caso dei glucosinolati non c'è OH ma il solfato SO<sub>4</sub>.**

## **CHETOSSIME SULFONATE**

Sarebbero **chetossime sulfonate** perché uno degli R è il radicale del precursore, l'altro è un -SH esterificato con uno zucchero, in più l'OH è sostituito con SO<sub>4</sub>.

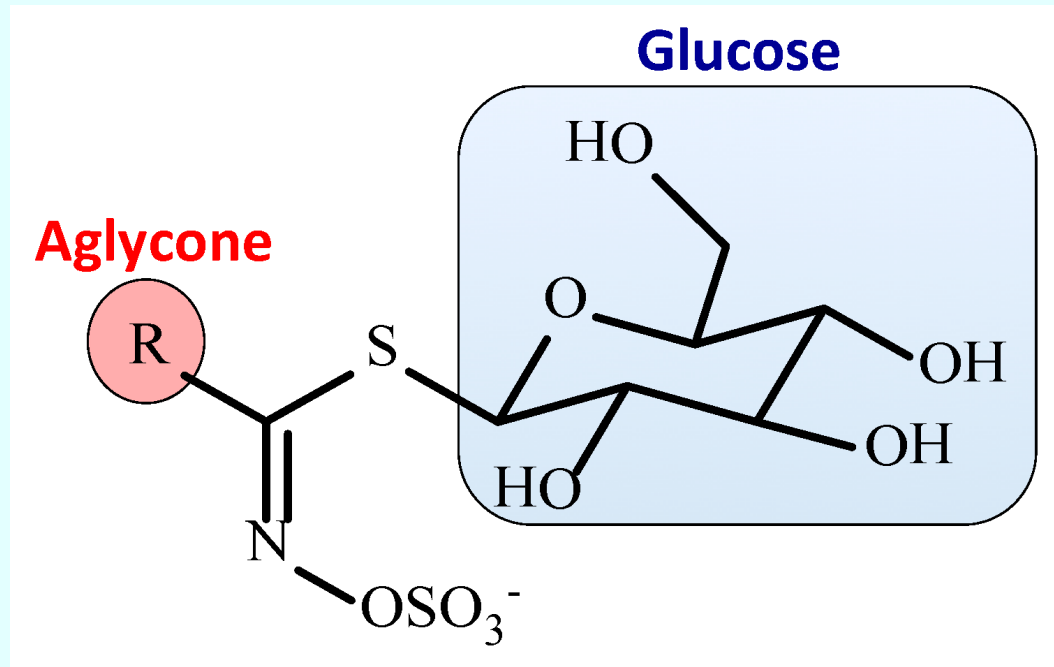


Aldossime

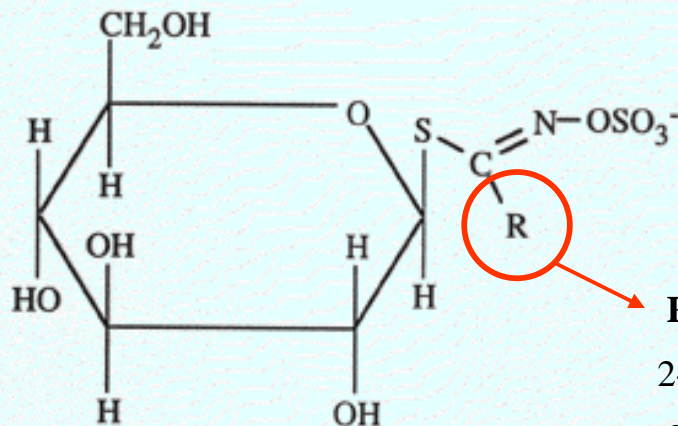


Chetossime

Quindi, AGLICONE + GLUCOSIO = **Glucoside**



Tantissime strutture diverse a seconda del tipo di radicale alchilico, finora sono note circa **200** diverse molecole.



**Trivial name**

Sinigrin

Gluconapin

Glucobrassicinapin

Progoitrin

Gluconapoleiferin

Glucoiberin

Glucocheirolin

Glucoerucin

Glucoberteroin

Glucobrassicin

Neoglucobrassicin

4-Hydroxyglucobrassicin

4-Methoxyglucobrassicin

Glucobrassicin-1-sulfonate

**R-glucosinolate**

2-Propenyl

3-Butenyl

4-pentenyl

2-Hydroxy-3-butenyl

2-Hydroxy-4-pentenyl

3-Methylsulfinylpropyl

3-Methylsulfonylpropyl

4-Methylthiobutyl

5-Methylthiopentyl

3-Indolylmethyl

1-Methoxy-3-indolylmethyl

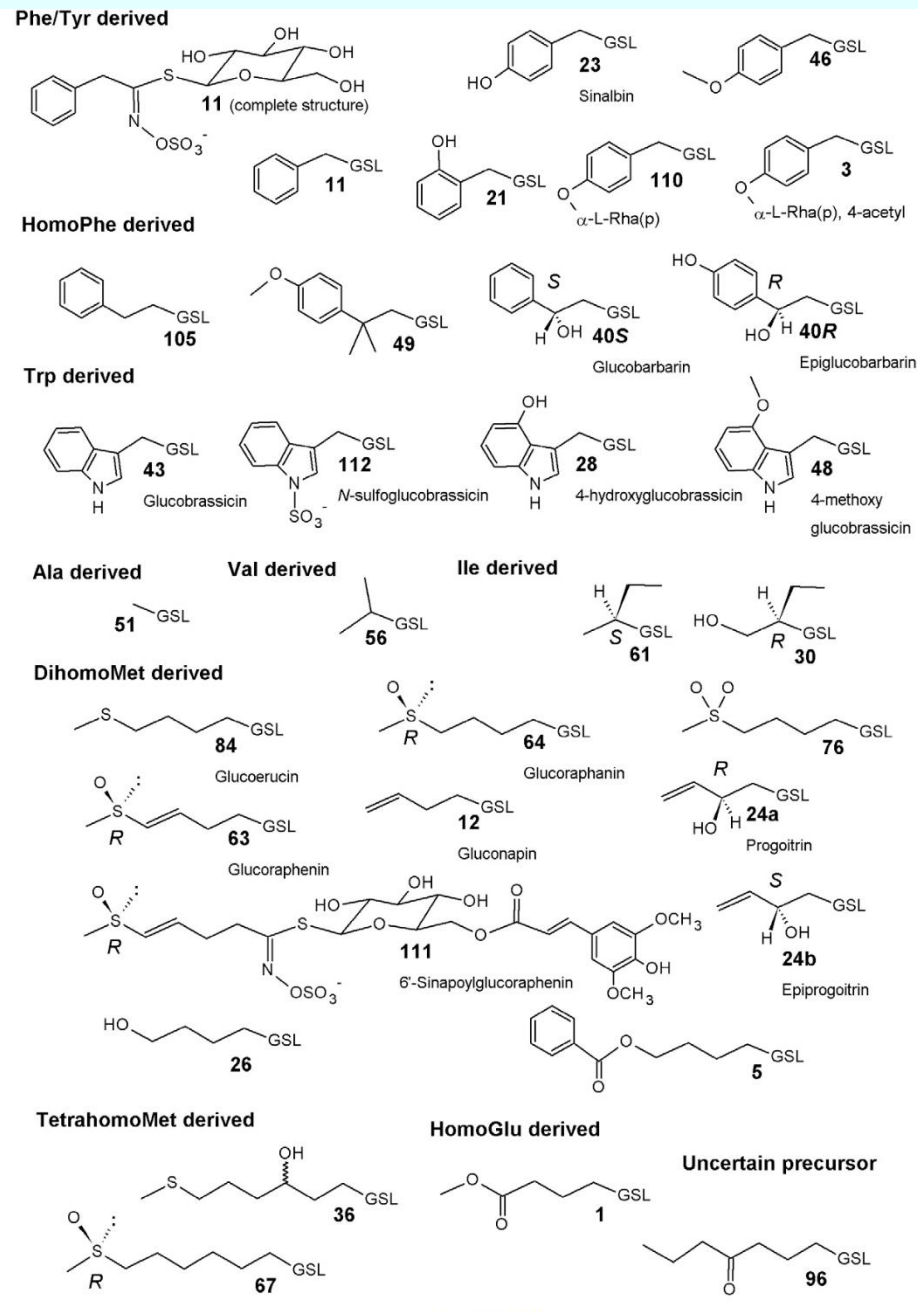
4-Hydroxy-3-indolylmethyl

4-Methoxy-3-indolylmethyl

1-sulfonate-3-indolylmethyl



Le tantissime  
strutture sono  
divisibili in **famiglie**  
a seconda  
dell'aminoacido  
precursore





# **BIOSINTESI DEI GLUCOSINOLATI**

## **Glucosinolati alifatici:**

Metionina

Alanina

Leucina

Isoleucina

Valina

## **Glucosinolati aromatici:**

Triptofano

Fenilalanina

Tirosina

La biosintesi dei glucosinolati parte dall'aminoacido precursore ed avviene in **tre fasi**:

**I) Allungamento della catena laterale dell'aminoacido**

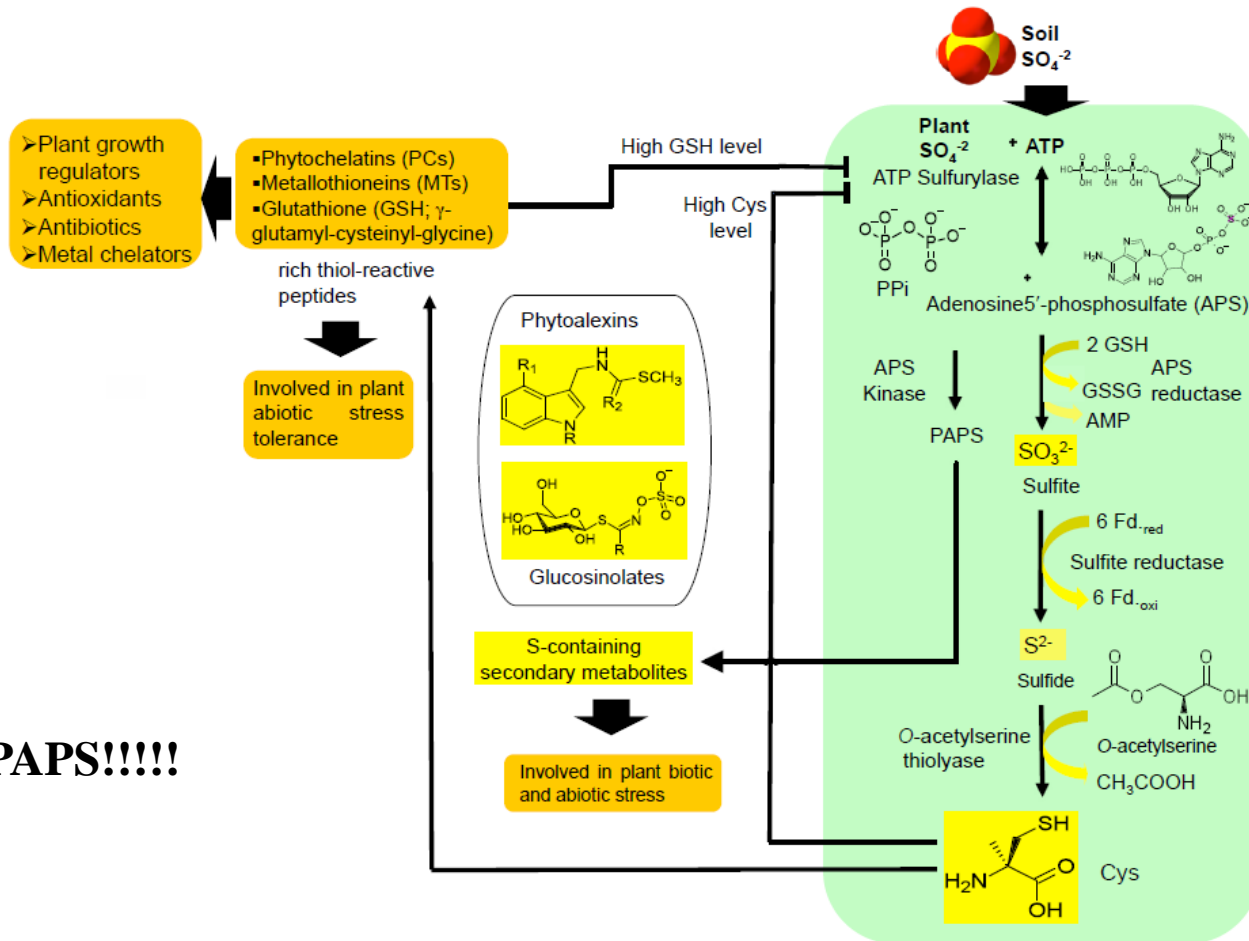
**II) Sviluppo della struttura di base**

**III) Modificazioni secondarie della catena laterale**

# BIOSINTESI DEI GLUCOSINOLATI:

Sono composti particolari, gli unici a contenere **zolfo sia ossidato che ridotto**.

Vediamo prima da dove arrivano il solfato e lo zolfo ridotto:



**CYS e PAPS!!!!**

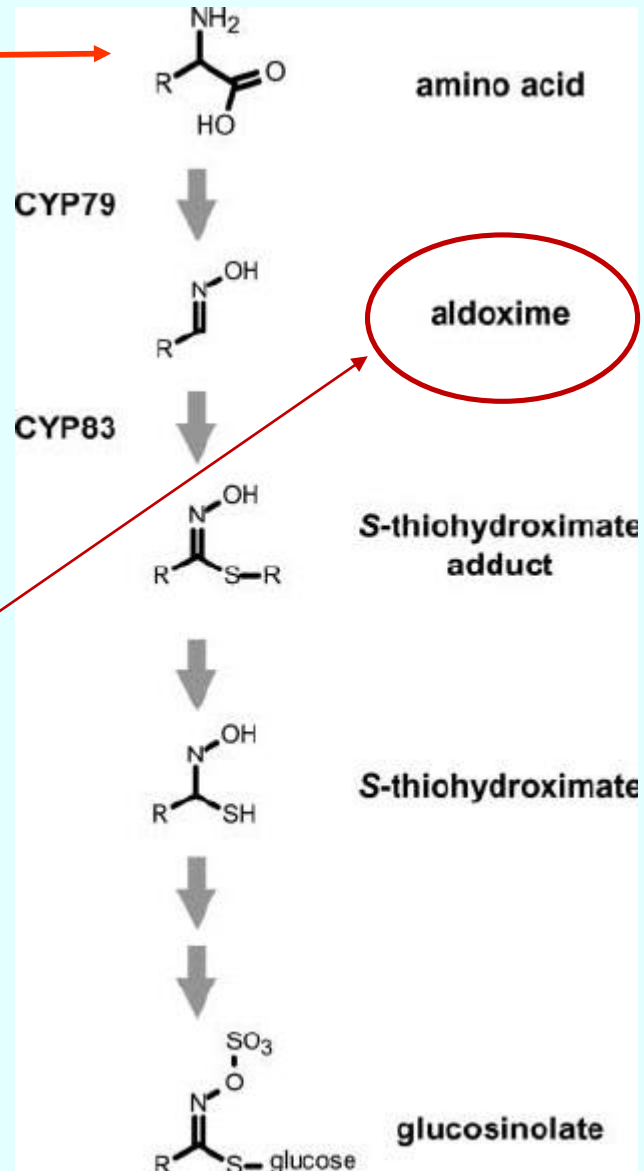
**Fig. 1.:** Sulfur assimilation pathway. The initial step of sulfur assimilation pathway is catalyzed by ATP-sulfurylase. Role of ATP-sulfurylase in plant abiotic and biotic stress tolerance through different rich thiol-reactive peptides including (Cys, GSH, and MTs) and S-containing secondary metabolites is listed. Positive and negative regulation of ATP-sulfurylase is indicated by arrows and blunt ends, respectively (Redrawn from SAITO 2004; HIRAI and SAITO 2008).

# BIOSINTESI DEI GLUCOSINOLATI

Inizia dagli aminoacidi!!!

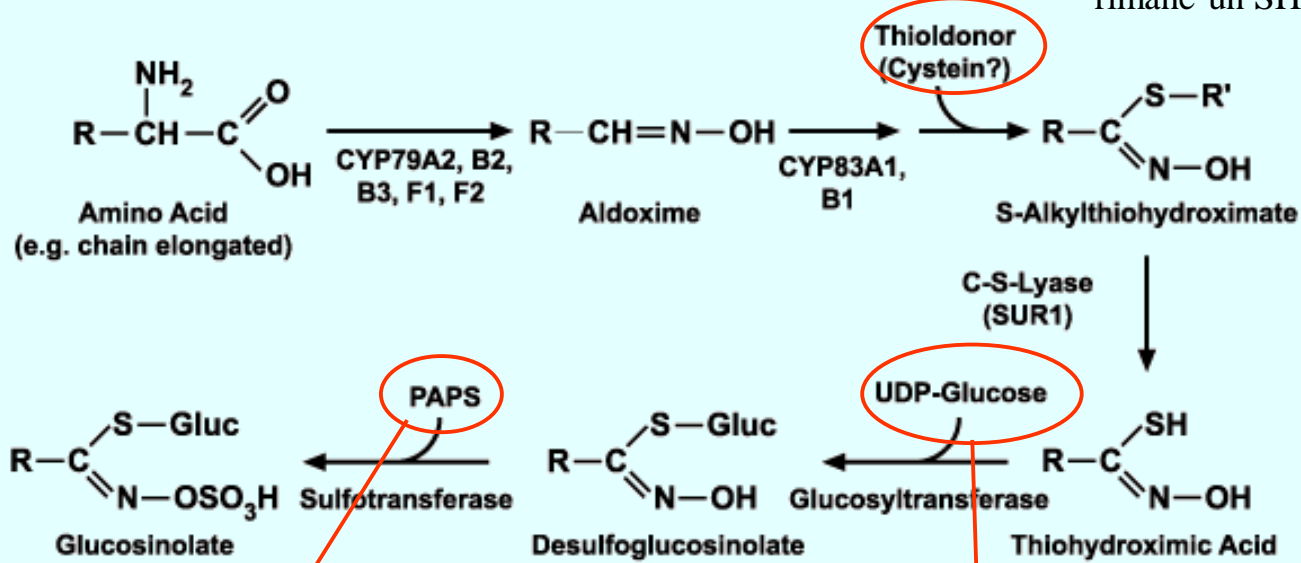
Dopo l'allungamento della catena, primo vero step della biosintesi:

ossidazione del gruppo amminico tramite una **monoossigenasi Cyt P450 dipendente**, si forma la cosiddetta aldossima, poi reazioni varie di trasferimento di gruppi, ossidazioni, sostituzioni ecc....



La Cys cede l'SH!

Prima si lega al posto dell'H dell'aldossima, formando un intermedio instabile, poi idrolisi e rimane un SH.



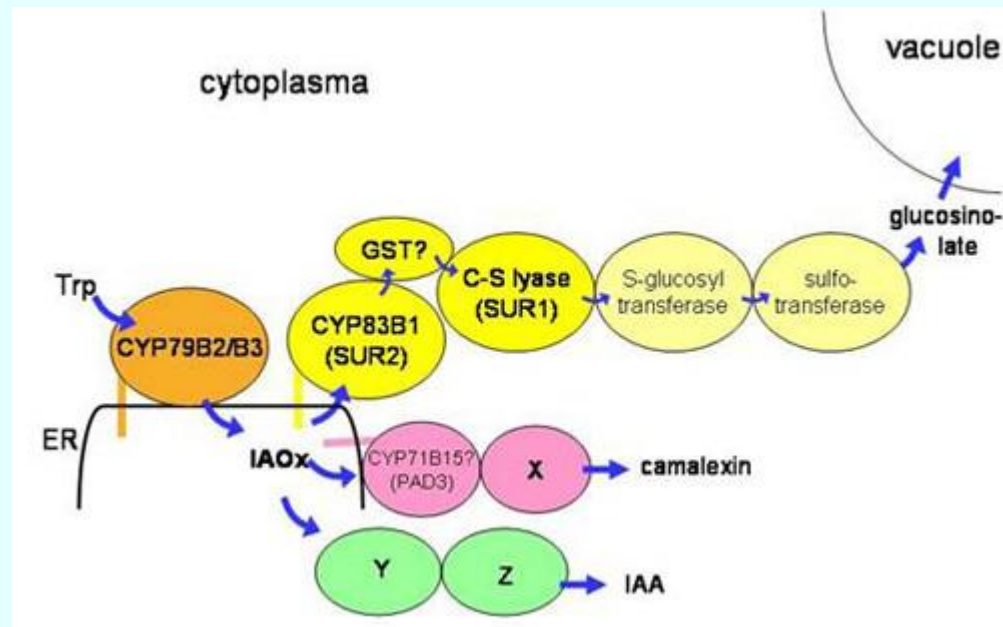
Download in: 72 dpi | 300 dpi

Il PAPS cede il solfato  $\text{SO}_4^{2-}$ !

L'UDP-glucosio cede il Glucosio

## A livello cellulare dove vengono sintetizzati i glucosinolati?

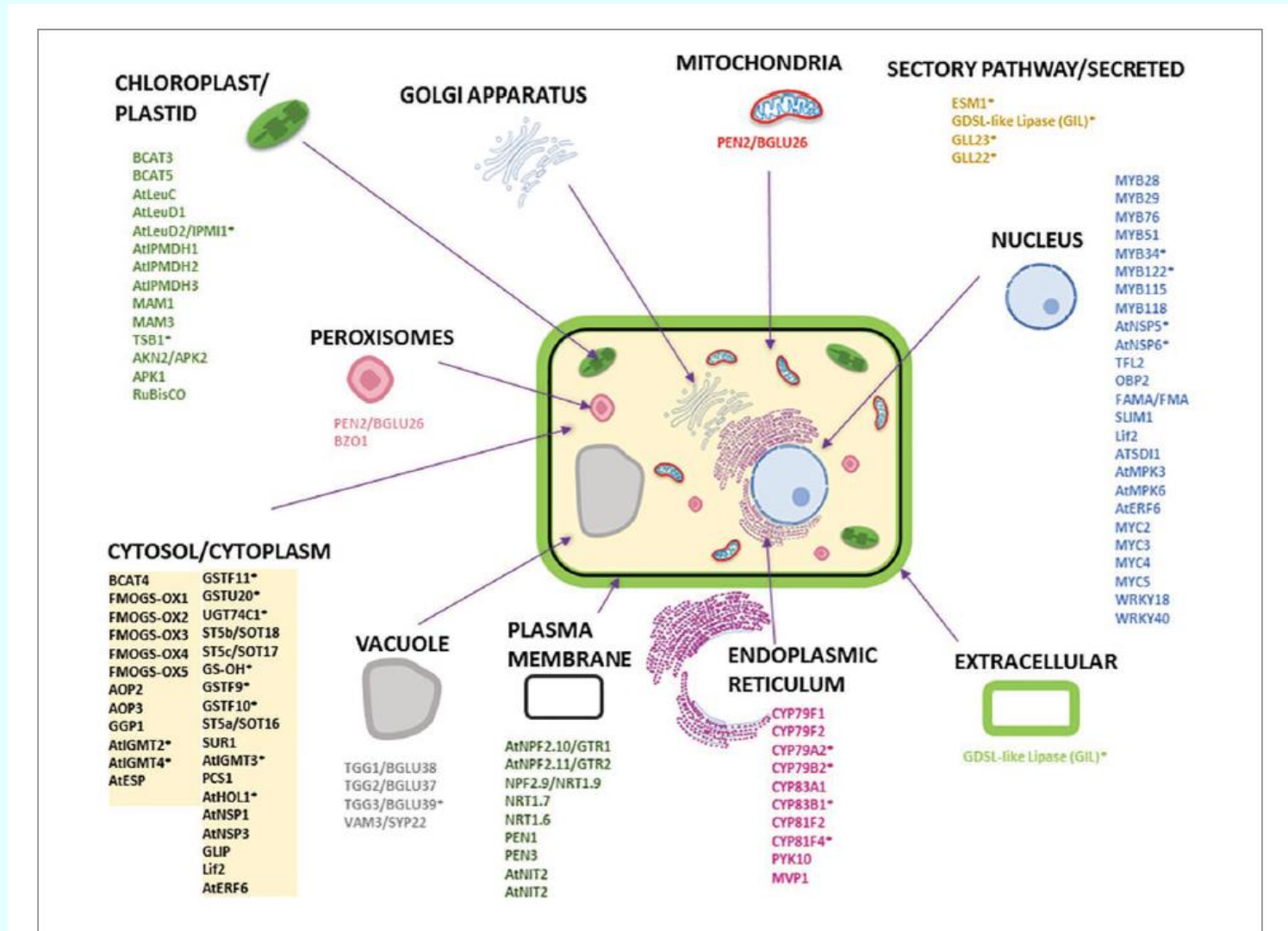
Gli enzimi chiave per la biosintesi dei glucosinolati si trovano sotto forma di complessi multienzimatici sul lato citosolico del reticolo endoplasmatico.





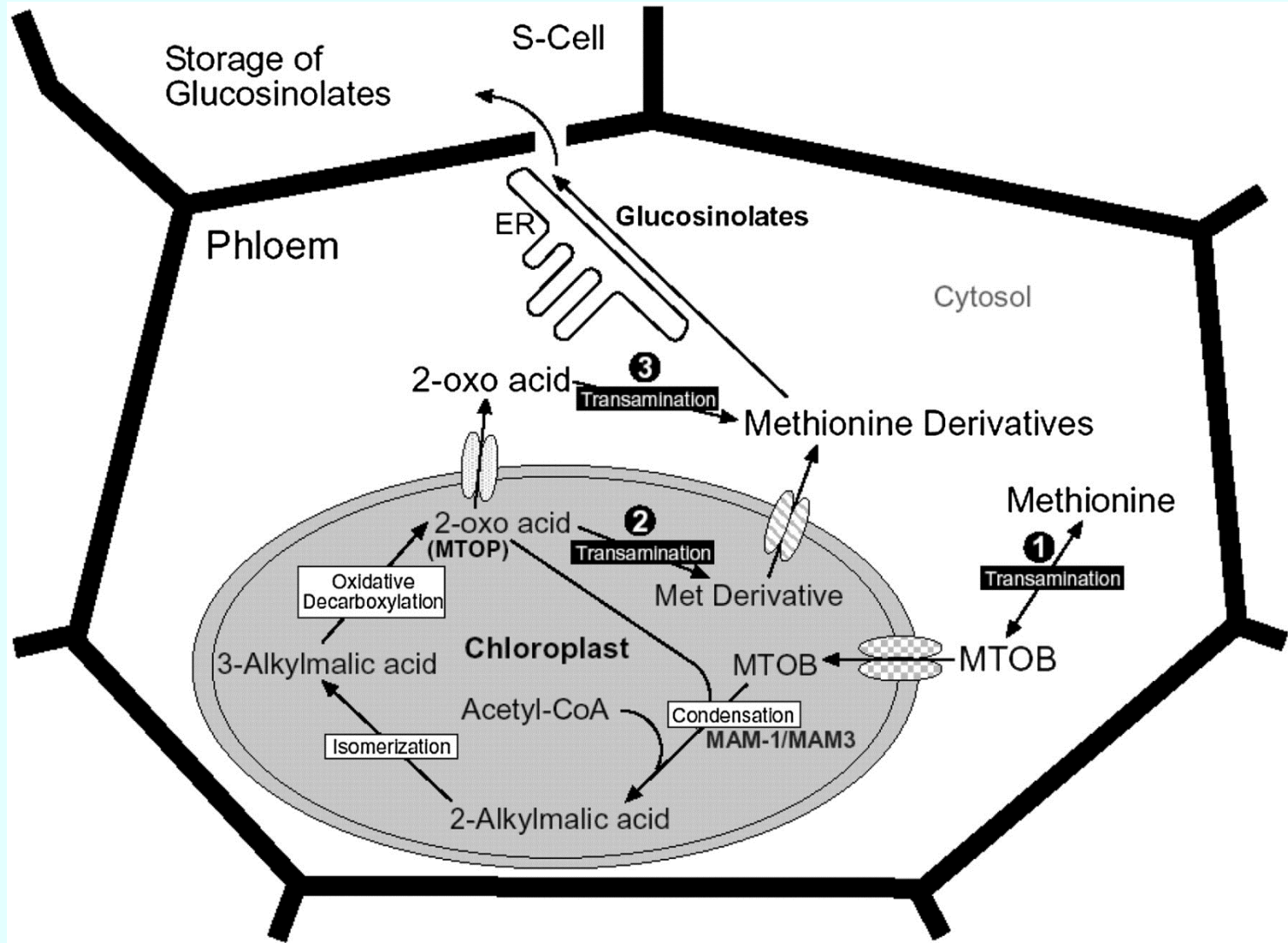
Comunque, al metabolismo dei glucosinolati concorrono quasi tutti i compartimenti cellulari...

Subcellular localization of proteins involved in GLS biosynthesis, degradation, and transport

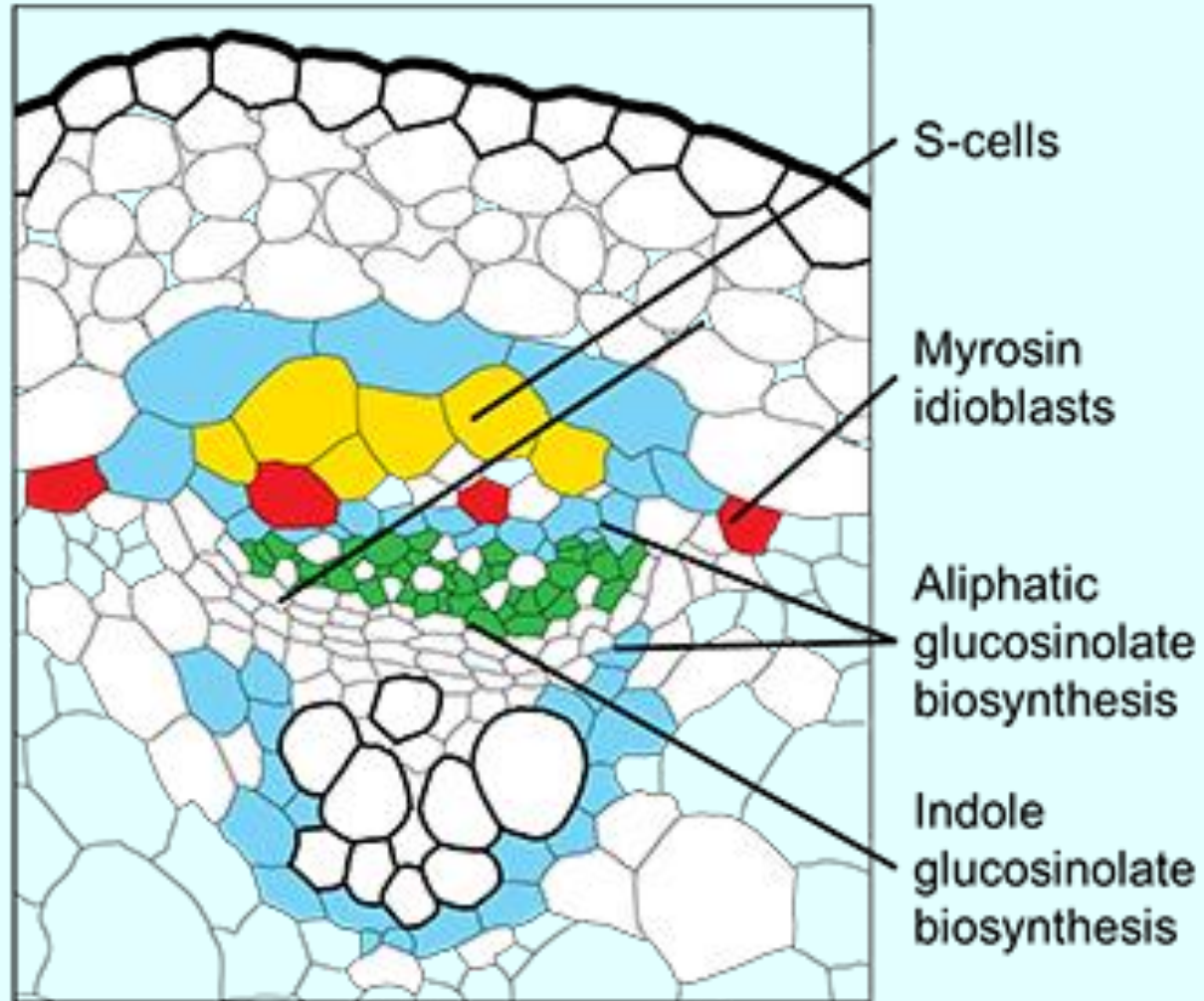


# Biosintesi e storage.... Nelle S Cell!!

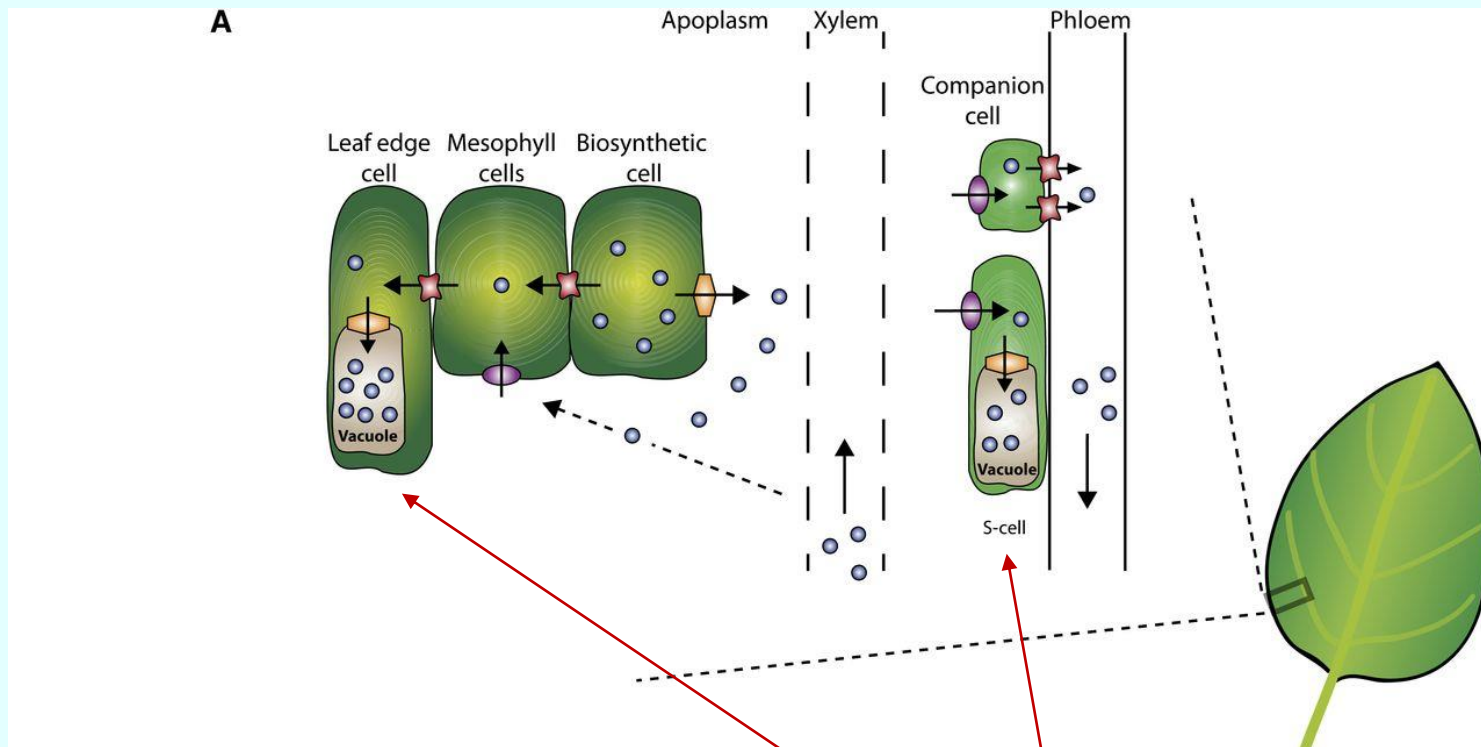
Cellule deputate alla biosintesi e cellule deputate all'accumulo...



**Biosintesi in cellule parenchimatiche diverse a seconda della natura di R.  
Specializzazione!**

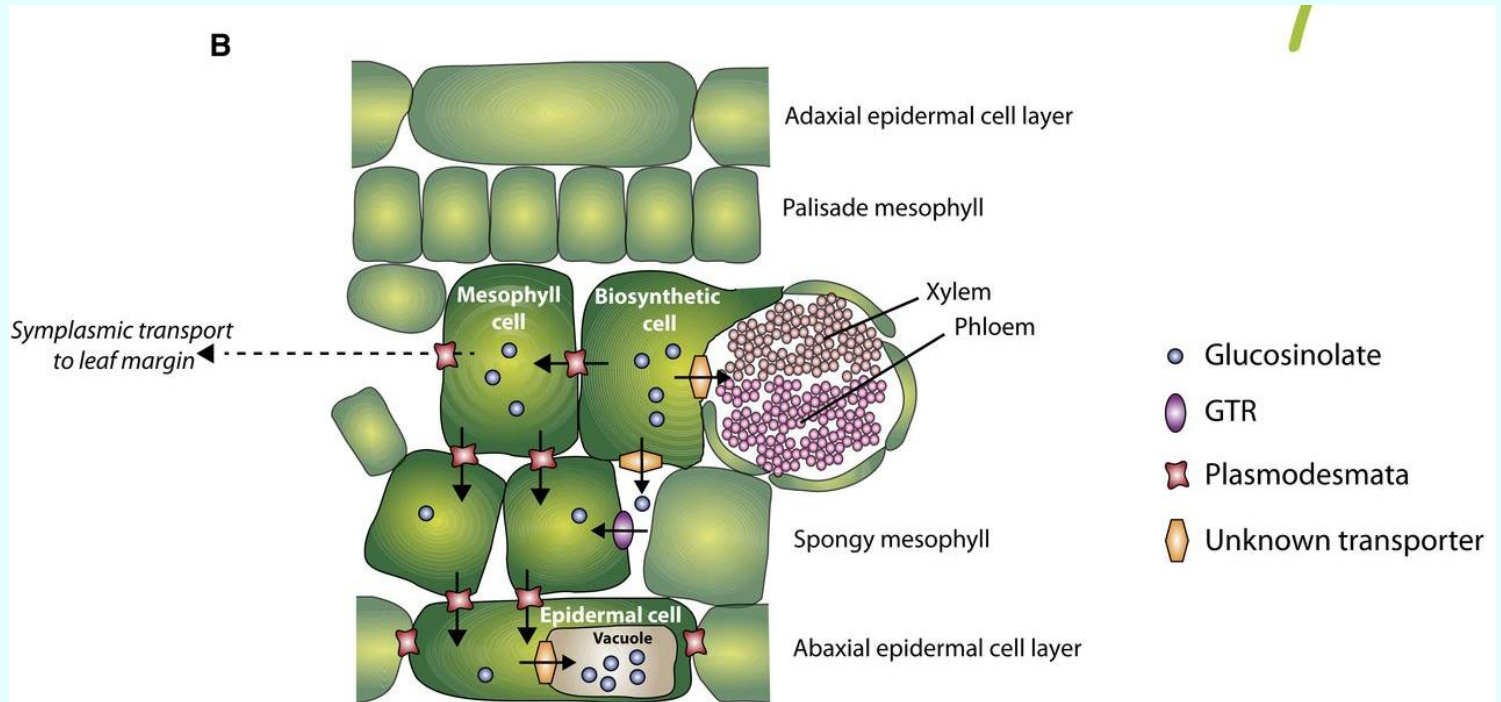


## In particolare: distribuzione tissutale nella foglia.



Dalle cellule biosintetiche, i GLS sono trasportati attraverso opportuni carriers (ed in parte anche per via simplastica) verso le **cellule del margine della foglia** dove si accumulano nel vacuolo.

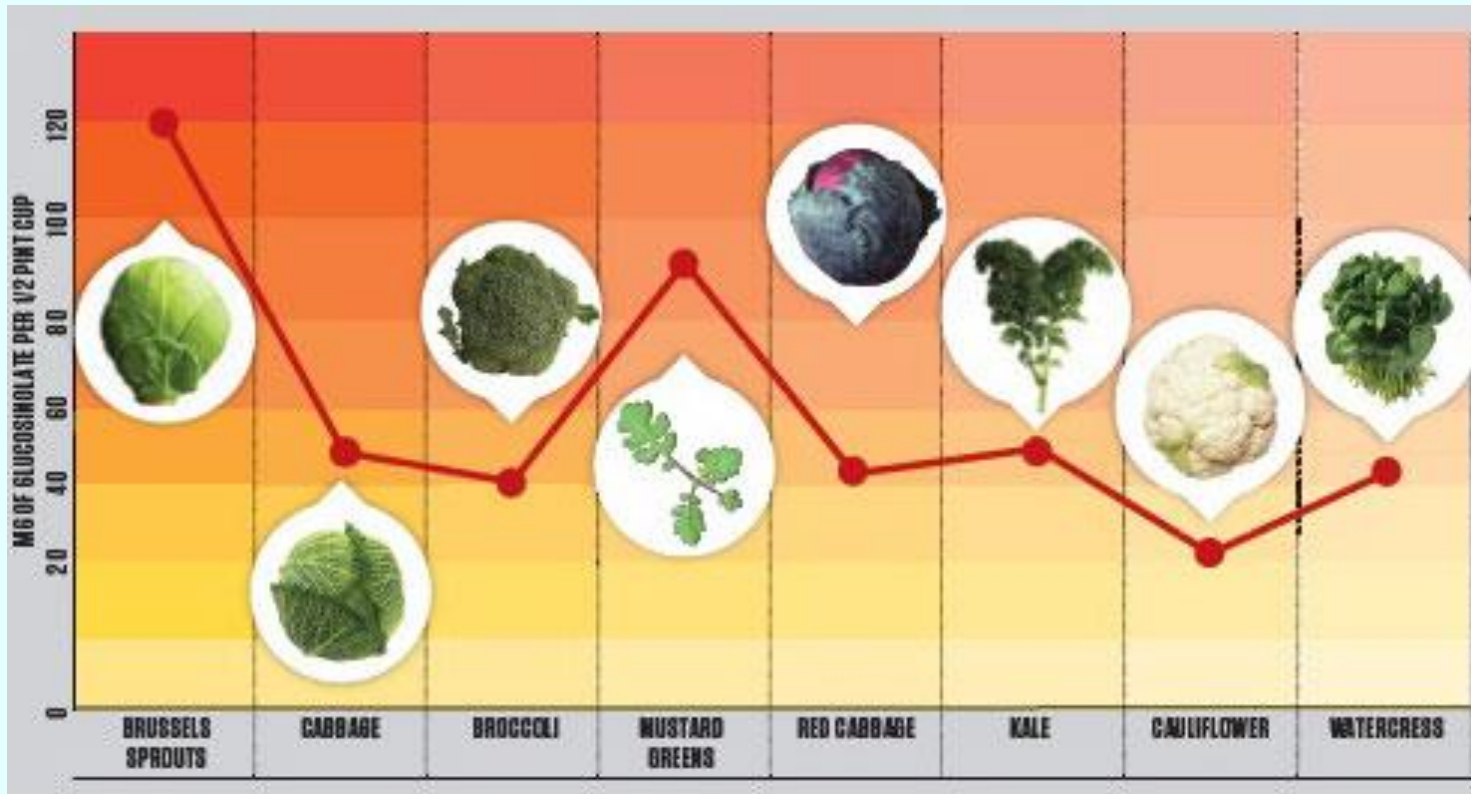
Oppure vengono redistribuiti per via xilematica e floematica al resto della foglia. Possono anche accumularsi in **cellule parenchimatiche del floema** (S-Cells).



Generalmente, molti finiscono **nell'epidermide abassiale**

**DIVERSITA' dei Glucosinolati: Tramite varianti enzimatiche e regolazione della via biosintetica, le Brassicacee vengono ad avere **differenze** qualitative quantitative in glucosinolati.**

Concentrazione di GLS

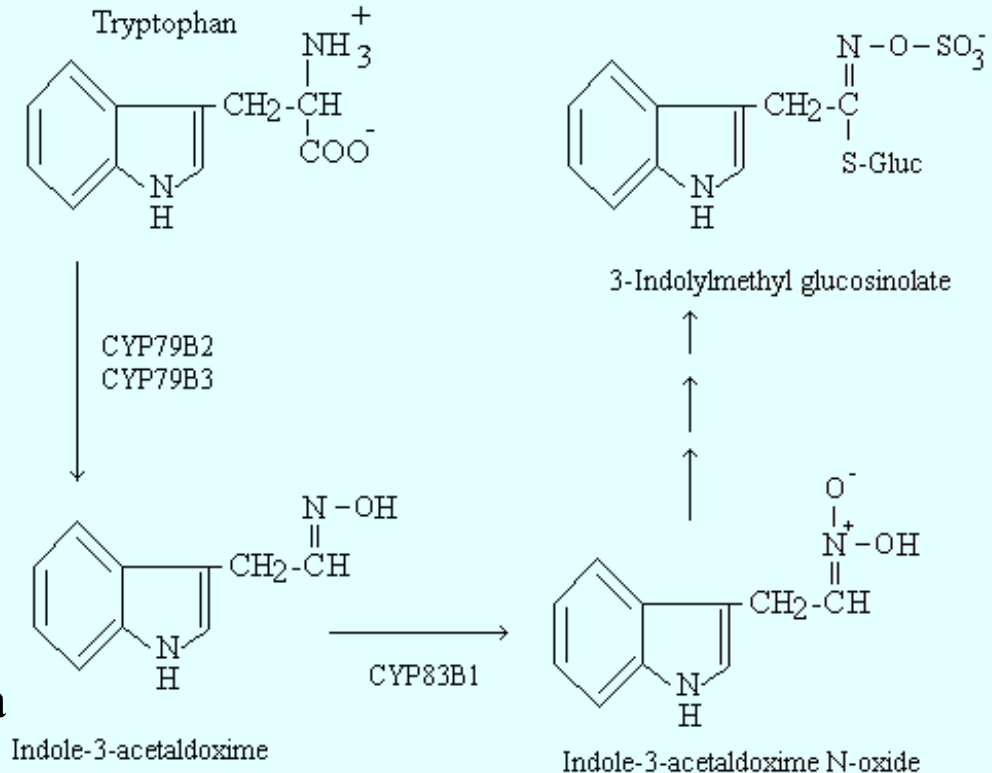


Tutti i numerosissimi **enzimi** (ossidazione di AA diversi, modificazioni secondarie diverse, ecc...) che concorrono alla biosintesi di questi altrettanto numerosissimi composti, sembrano essersi **evoluti indipendentemente** l'uno dall'altro.

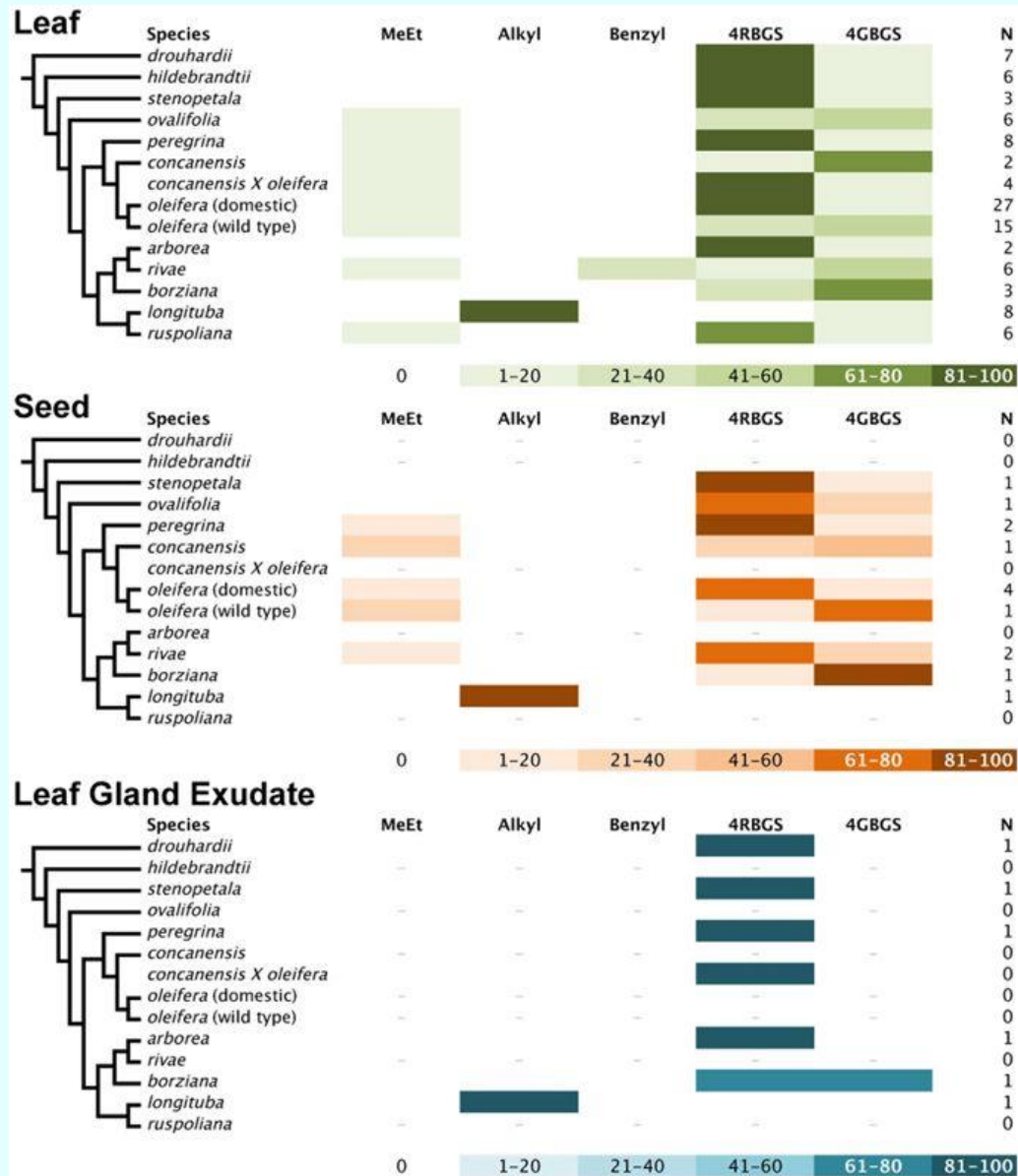
**Variabilità degli enzimi e variabilità nell'arsenale di glucosinolati a seconda delle diverse pressioni ambientali.**

**Specie-specificità della distribuzione dei glucosinolati all'interno della famiglia!!!!**

Piante diverse di ambienti diversi avranno GLS diversi



# DISTRIBUZIONE SPECIE-SPECIFICA E... ORGANO-SPECIFICA!!!!

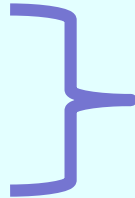




# La biosintesi dei glucosinolati è regolata da:

**Stadio di sviluppo** sono particolarmente abbondanti nelle parti più giovani ed in attiva crescita della pianta, per calare progressivamente durante l'accrescimento

**Patogeni**  
**Erbivori**



**Via di segnalazione attraverso  
la produzione di:**  
**Acido jasmonico**  
**Acido salicilico**  
**Etilene**

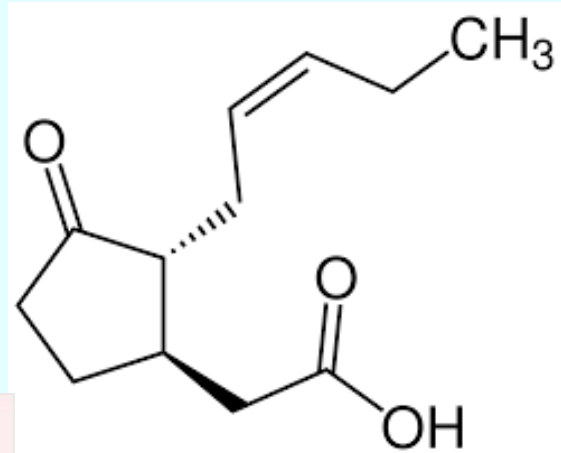


**Risposta a  
livello sia  
locale che  
sistemico**

**Danno meccanico**

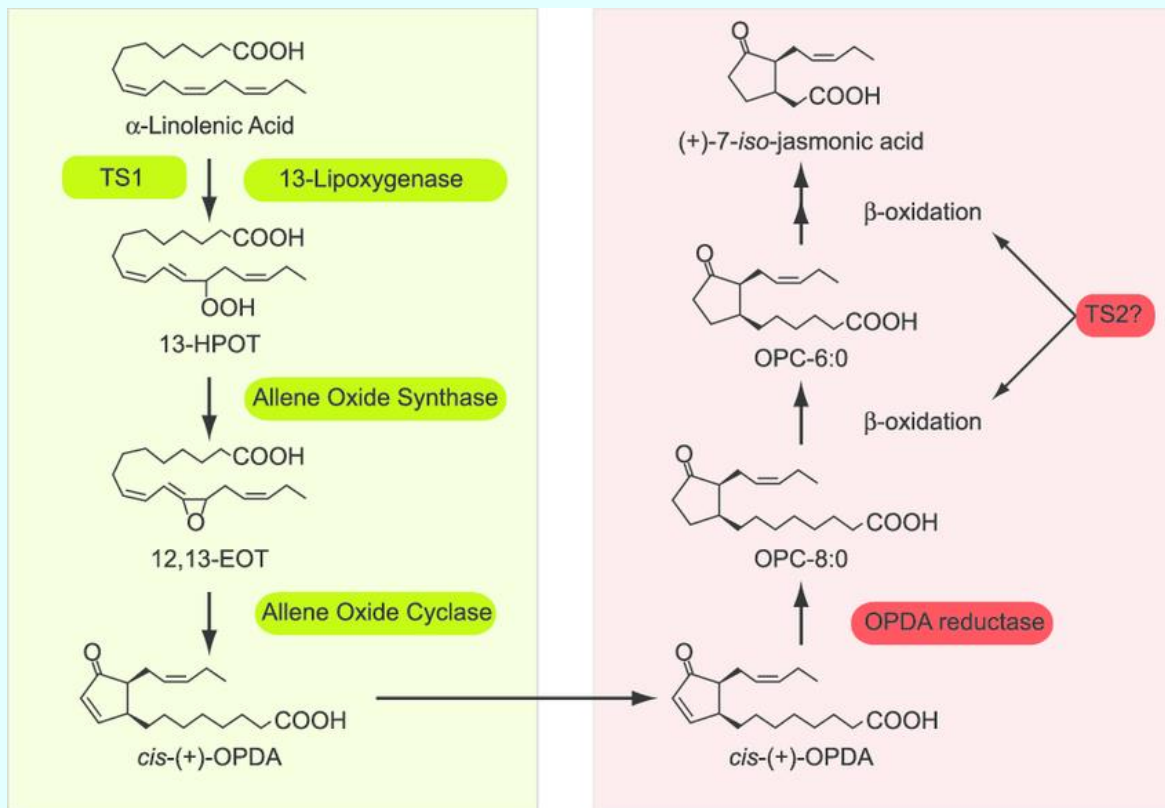
**Squilibri nutrizionali** (esempio: se manca il solfato non vengono sintetizzati!)

Per il segnale che fa scattare la biosintesi...  
soprattutto ACIDO JASMONICO

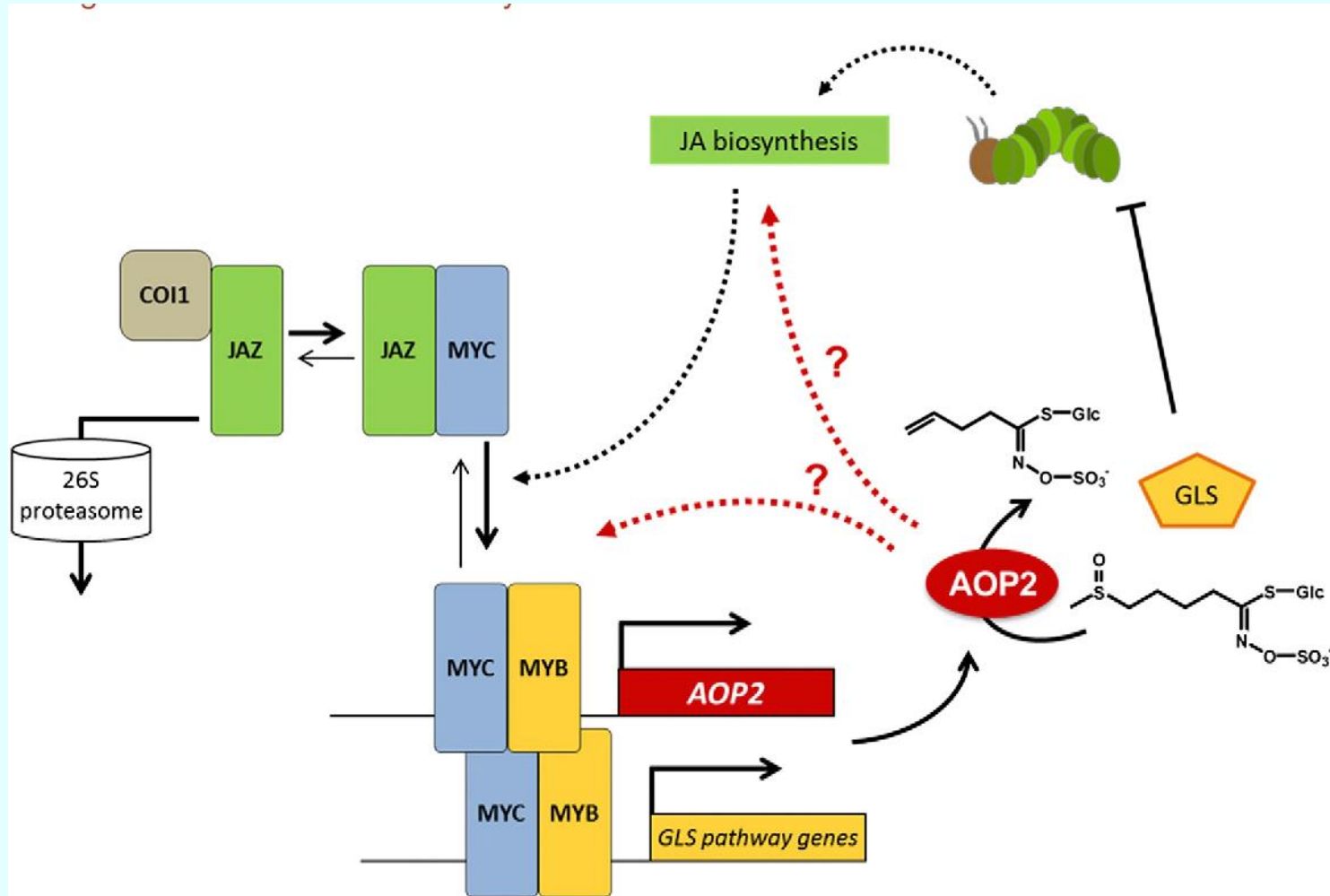


Deriva dall'acido linolenico per ossidazioni successive.

Vari tipi di stress fanno partire la sua biosintesi, soprattutto quello biotico (anche attraverso la produzione di ROS).

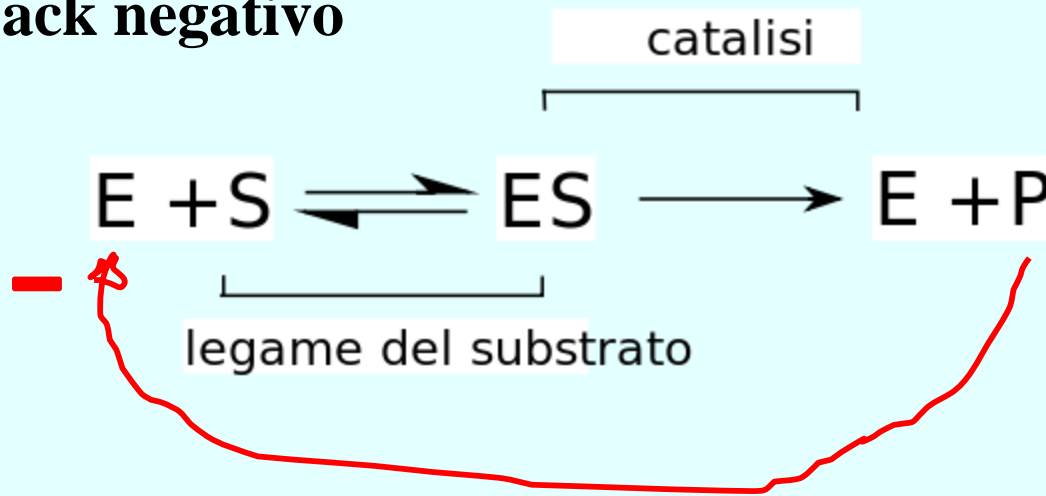


## Esempio: erbivoria, jasmonato e glucosinolati



Herbivory results in increased **JA** biosynthesis, which triggers **increased degradation of JAZ proteins** by the 26S proteasome and increased formation of protein complexes comprising MYC (MYC2, MYC3, MYC4) and MYB (MYB28, MYB29, MYB76, MYB34, MYB51, MYB122) transcription factors. Increased expression of glucosinolate pathway genes leads to higher glucosinolate levels. The glucosinolate biosynthetic gene AOP2 mediates feedback regulation by an unknown mechanism. GLS, glucosinolate; JA, jasmonic acid.

La via biosintetica subisce anche la classica regolazione a **feedback negativo**



**I glucosinolati si autoregolano:  
farne troppi non serve, viene consumata troppa energia...**

**L'attività biologica dei glucosinolati si esplica quando vengono idrolizzati!**

**Glucosinolato = aglicone (parte che deriva dall'AA) + zucchero**

**Inattivo**

**(la pianta si auto-protegge)**

**Questo legame deve essere scisso!**

**Come si può fare?**

**Parte biologicamente attiva!**

**Idrolisi!**

**Chi la fa?**

**MIROSINASI**

# MIROSINASI



# MIROSINASI

**In pratica è una tio-glucosidasi**  
**(thioglucoside glucohydrolase, TGG, EC 3.2.1.147)**

**Inserisce una molecola di acqua su un substrato per  
scindere un legame estere fatto da:**

**un -SH dell'aglicone (che fa la parte dell'acido) ed**

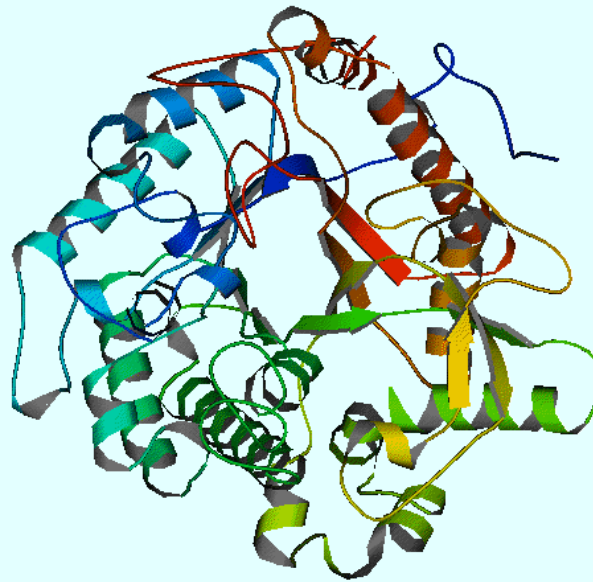
**un -OH dello zucchero (che fa la parte dell'alcol).**



# MIROSINASI

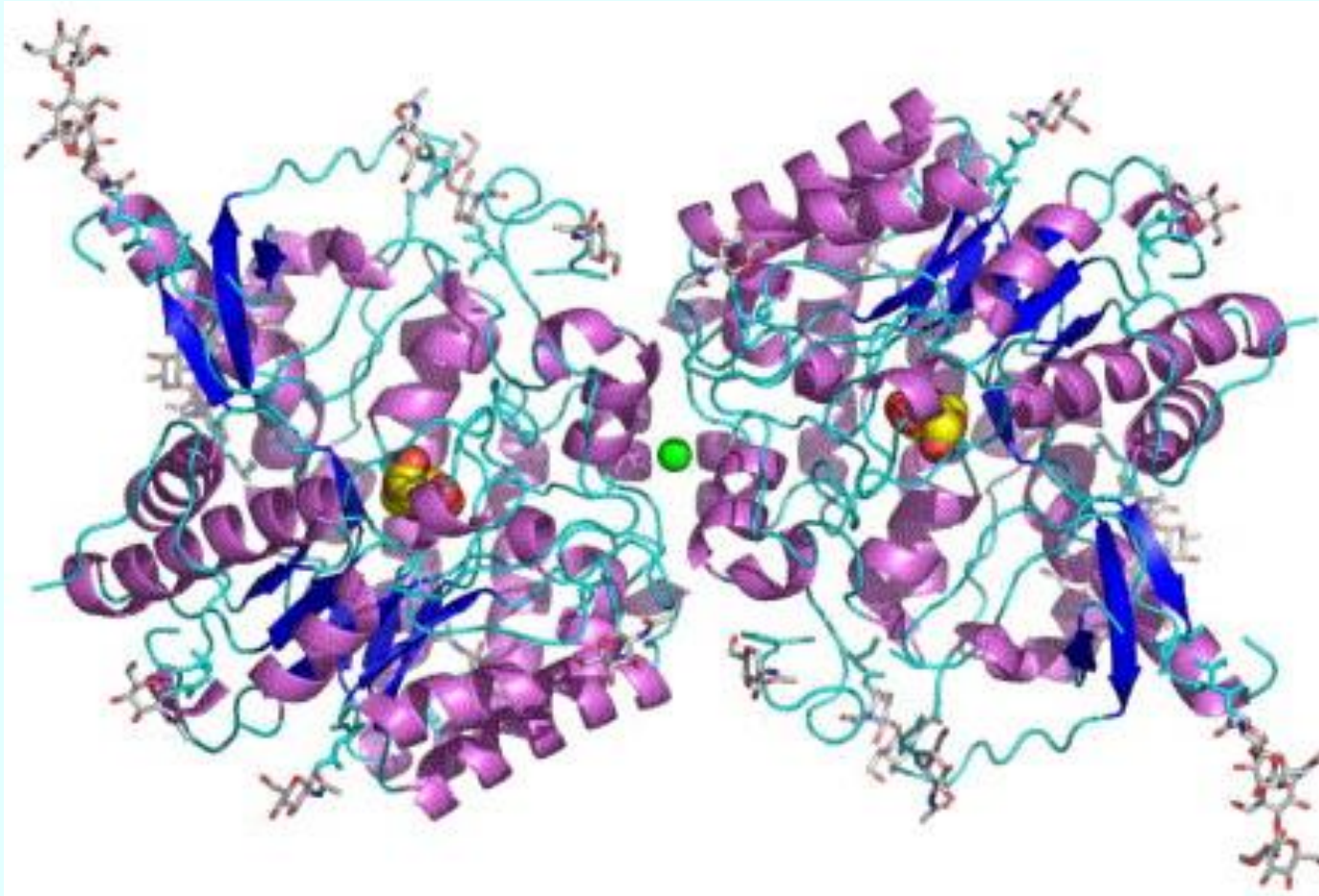
(enzima dimerico)

**Idrolizza i glucosinolati liberando  
l'aglicone dallo zucchero e formando tioidrossimato-O-sulfonati instabili**



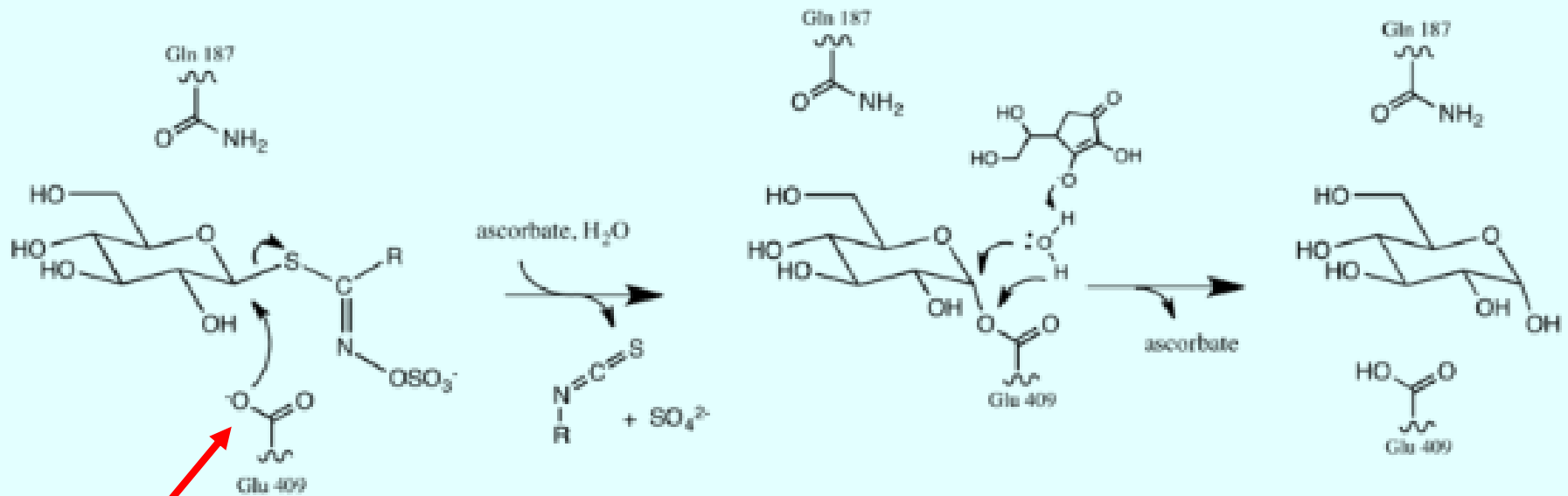


I due dimeri sono tenuti insieme da un atomo di **Zinco**!!!!!!!



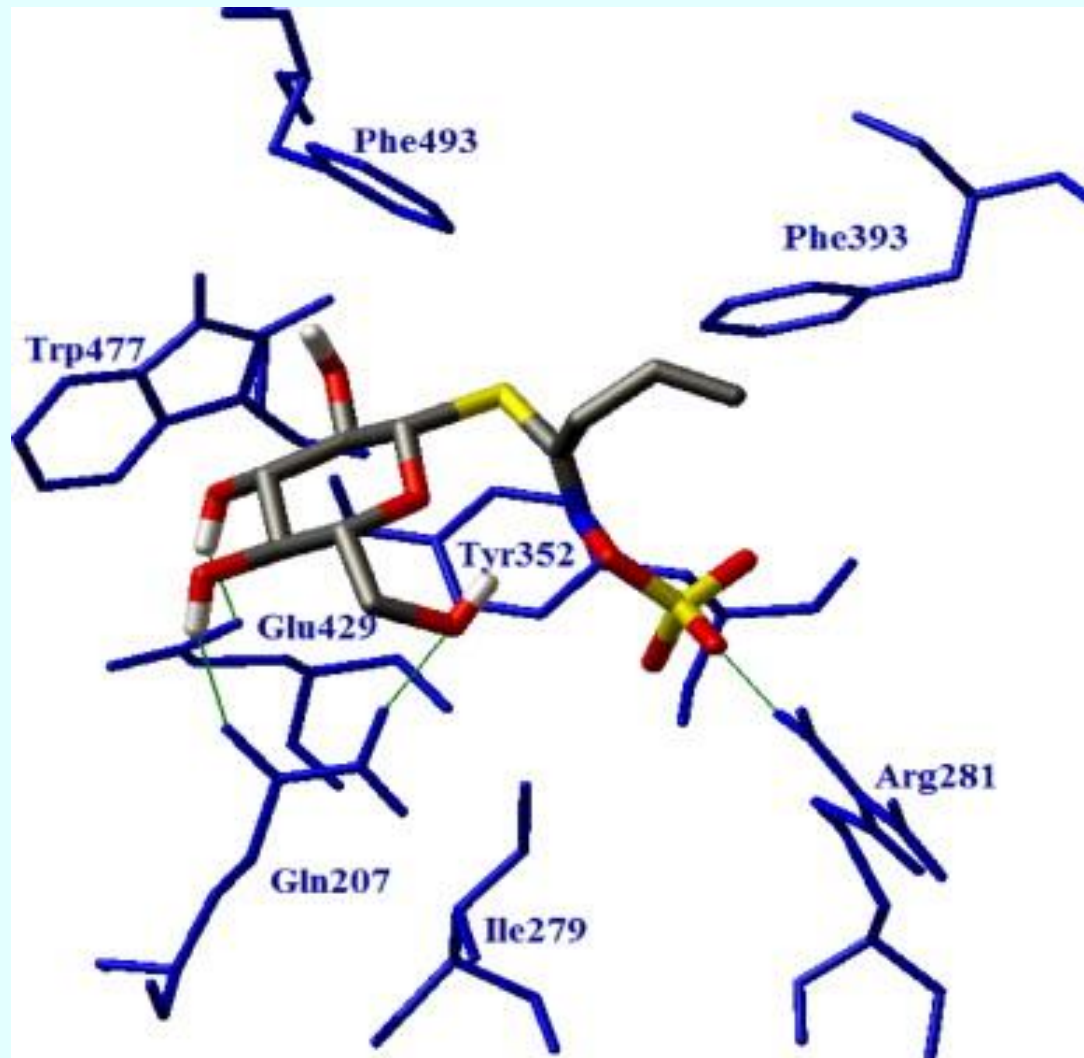
The overall structure of plant myrosinase showing the dimer held together by a zinc (green) atom, fluoroglucose (yellow) and carbohydrate (sticks)

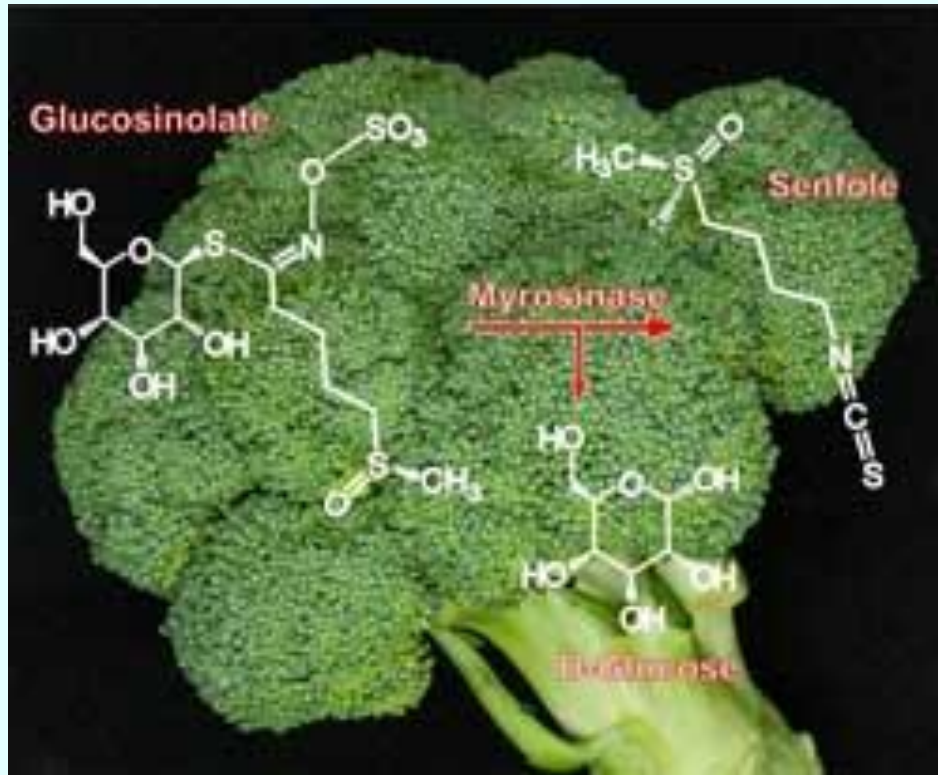
## Meccanismo catalitico...



Il Glu attacca il legame tioestere e si prende lo zucchero, poi idrolisi.  
Nel frattempo si sono liberati R-N=C=S e SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>

Ecco il sito catalitico!





Grazie alla  
Mirosinasi.....

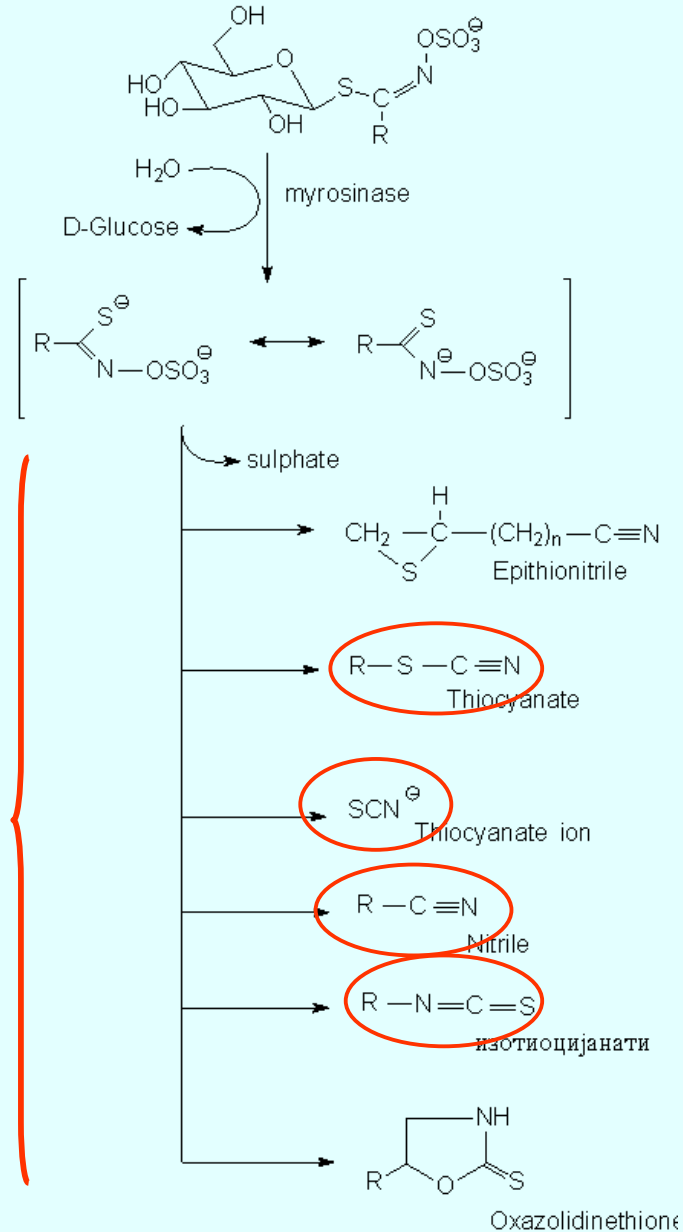


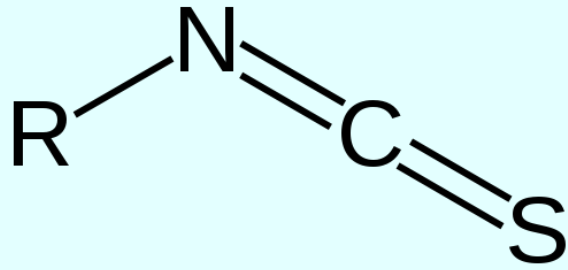
Cosa succede dopo l'IDROLISI?

**Tiodrossimato-O-sulfonati**  
**ELIMINAZIONE NON ENZIMATICA**  
**DEL SOLFATO**

**RIARRANGIAMENTO SPONTANEO**

**Spontaneo = variabile!**  
**Si formano numerosi e diversi composti**  
**di degradazione (instabilità e**  
**riarrangiamenti) che sono **tossici** per**  
**erbivori, insetti, nematodi, funghi,**  
**batteri!!!!!!!!!!!!!!**

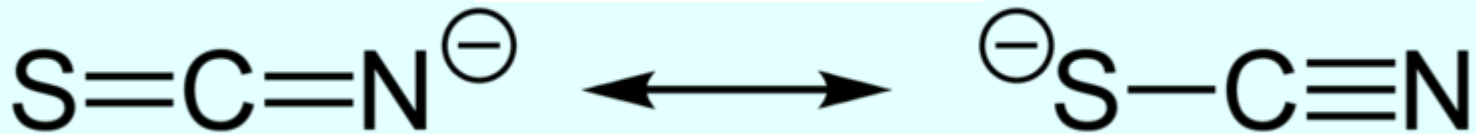
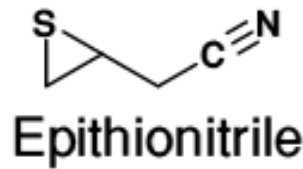




Isotiocianati organici



Nitrile



Tiocianato

**Sono molto reattivi: tendono a legarsi a tutto ciò che trovano denaturandolo!**

**Proprietà biocida contro patogeni ed erbivori in generale... ma attraenti per gli «amici naturali».**

Condizioni chimiche come:

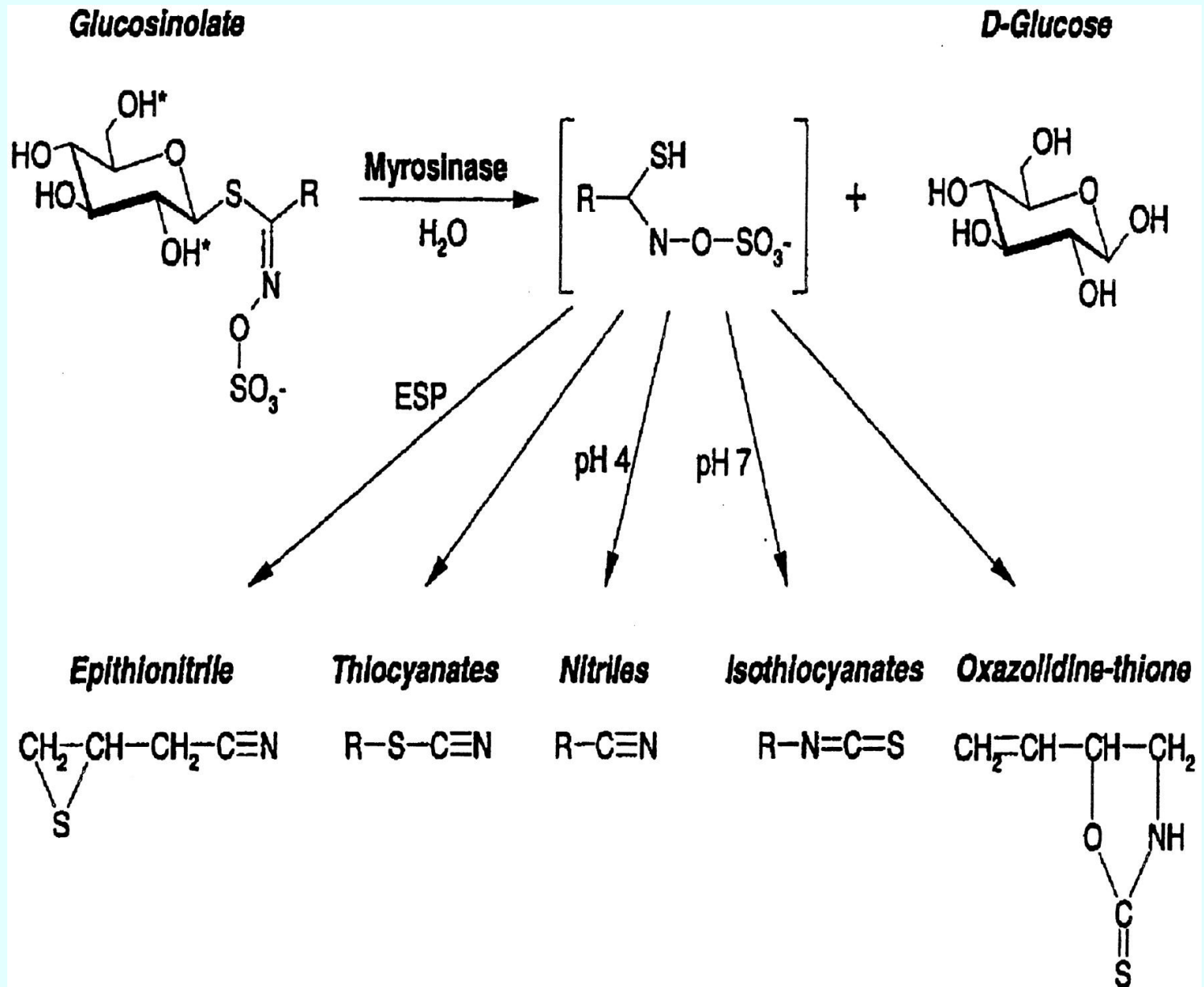
**Presenza di pH diversi (dimensione ed acidità dei vacuoli?)**  
**presenza di altre proteine**  
**presenza di specifici metalli pesanti (ioni ferro? Contenuto vacuolare?)**

determinano la **composizione finale** dei prodotti che si formano.

Tutti reattivi:

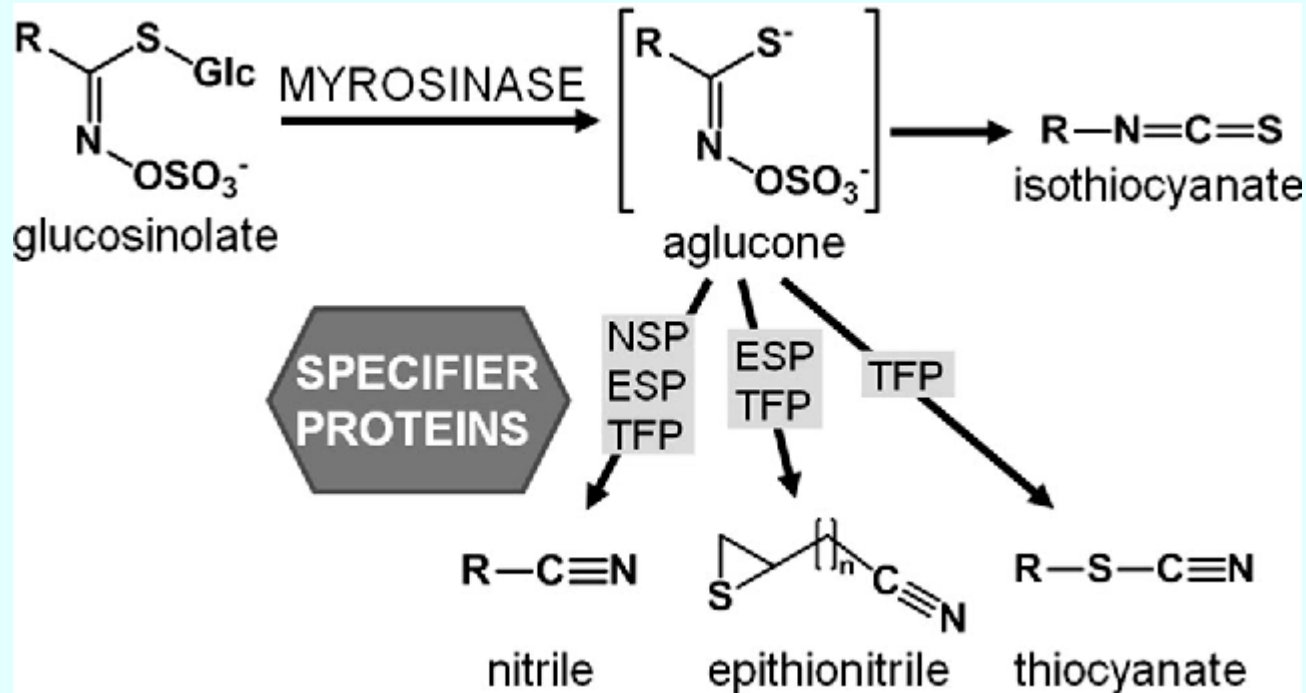
**Soprattutto si legano ai gruppi amminici e sulfidrilici delle proteine denaturandole.**

# Composizione finale...





Le **proteine SP (specifier proteins)** sono presenti in molte isoforme ognuna delle quali indirizza verso un prodotto diverso, nitrili, epitionitrili e tiocianati. Sono accumulate soprattutto nelle S-cells



Le specifier proteins erano ritenute essere cofattori allosterici della mirosinasi.... **Sono invece enzimi veri e propri!!!!**

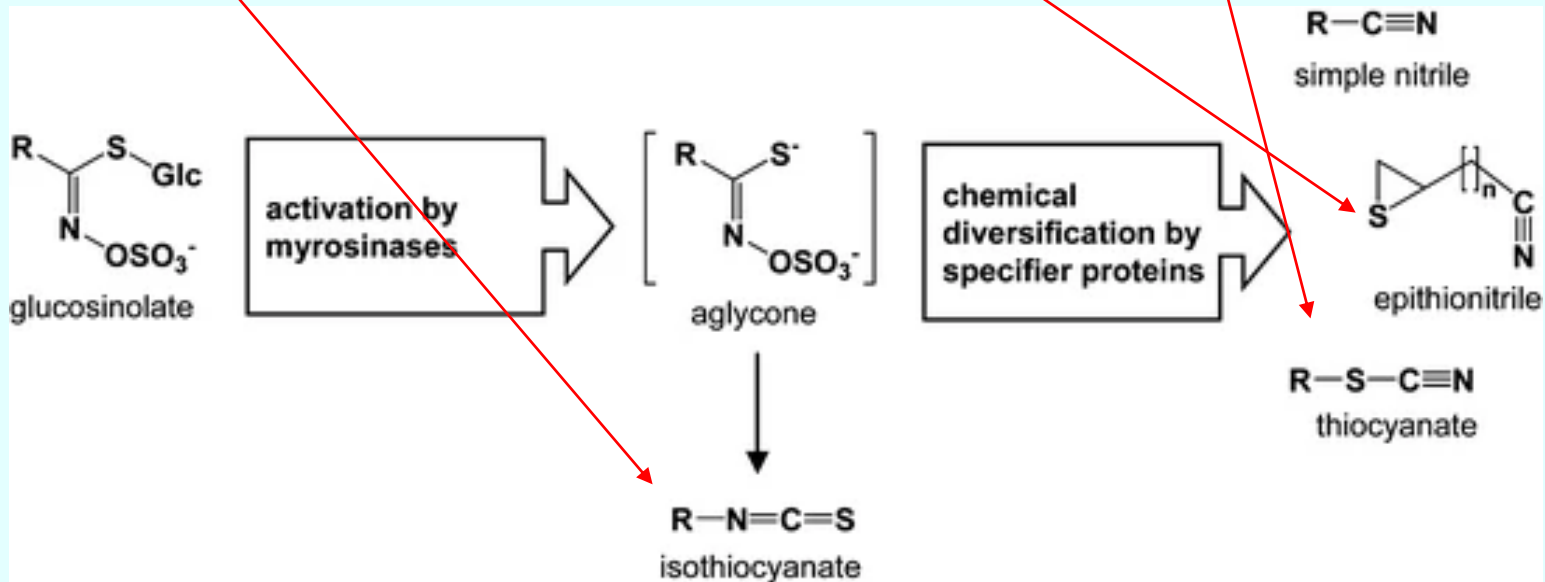
SPECIFIER PROTEINS meglio conosciute:

**ESP** (epithiospecifier protein) porta alla formazione di epitionitrili

**TFP** (thiocyanate-forming protein) di tiocianati, mentre

ESP e TFP promuovono anche la formazione dei **nitrili**, i meno tossici fra tutti

**la mirosinasi da sola è sufficiente per la produzione di isotiocianati (i più tossici!).**



Il ruolo ecologico delle specifier proteins non è ancora chiarissimo.

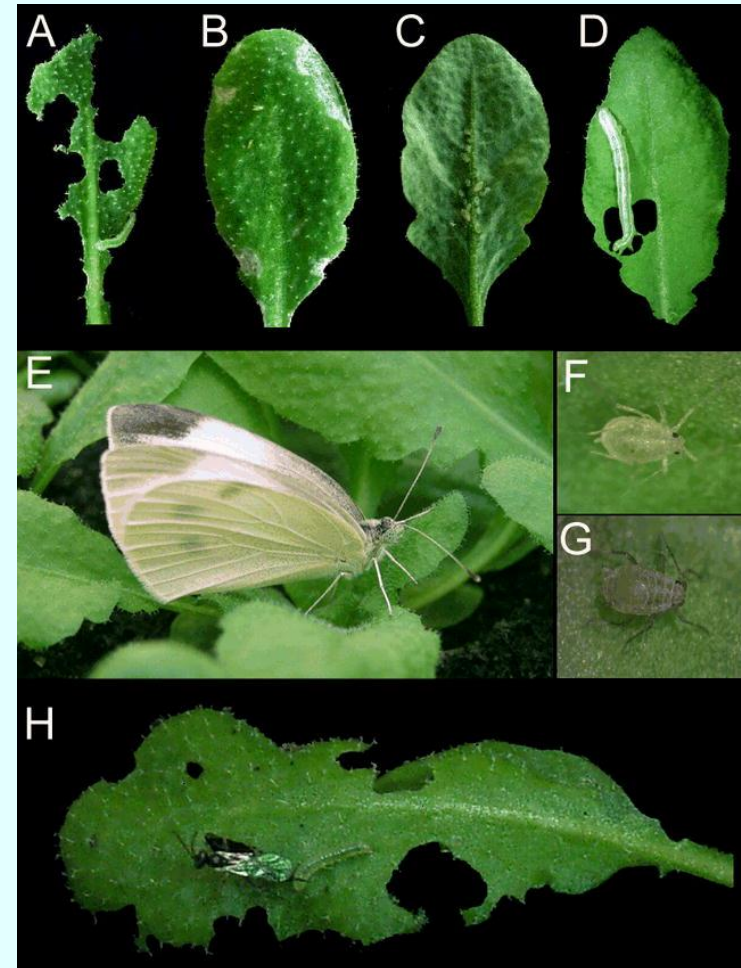
Trattando con **jasmonato** aumenta l'espressione delle **ESP**: ruolo dei **nitrili** nella protezione da insetti erbivori più che in quella da patogeni....

Però...

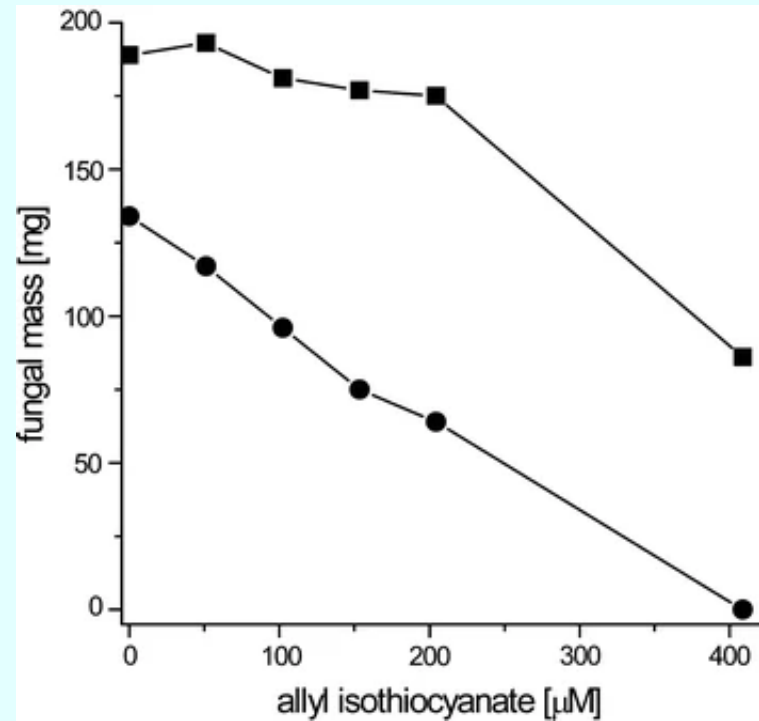
dato che sono i meno tossici (sia epitionitrili che nitrili semplici), sono quelli che **attraggono i nemici naturali degli insetti nemici!** (esempio: afidi e coccinelle)

Agiscono anche da deterrenti per l'ovoposizione

**Vi sono anche proteine che inibiscono SP specifiche:** esempio: epithiospecifier modifier 1 (ESM1).... Un complicato equilibrio...



L'attacco fungino invece non induce le SP... per fare fuori i funghi patogeni ci vogliono gli isotiocianati!



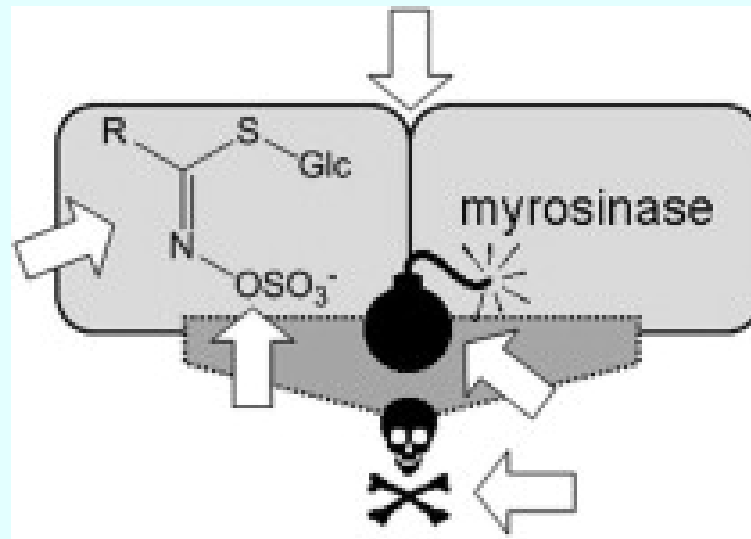
Comunque sia:

GLSs + myrosinases + specifier proteins + and GLS degradation products

=

GLS-myrosinase (GM) system (“**mustard oil bomb**”).

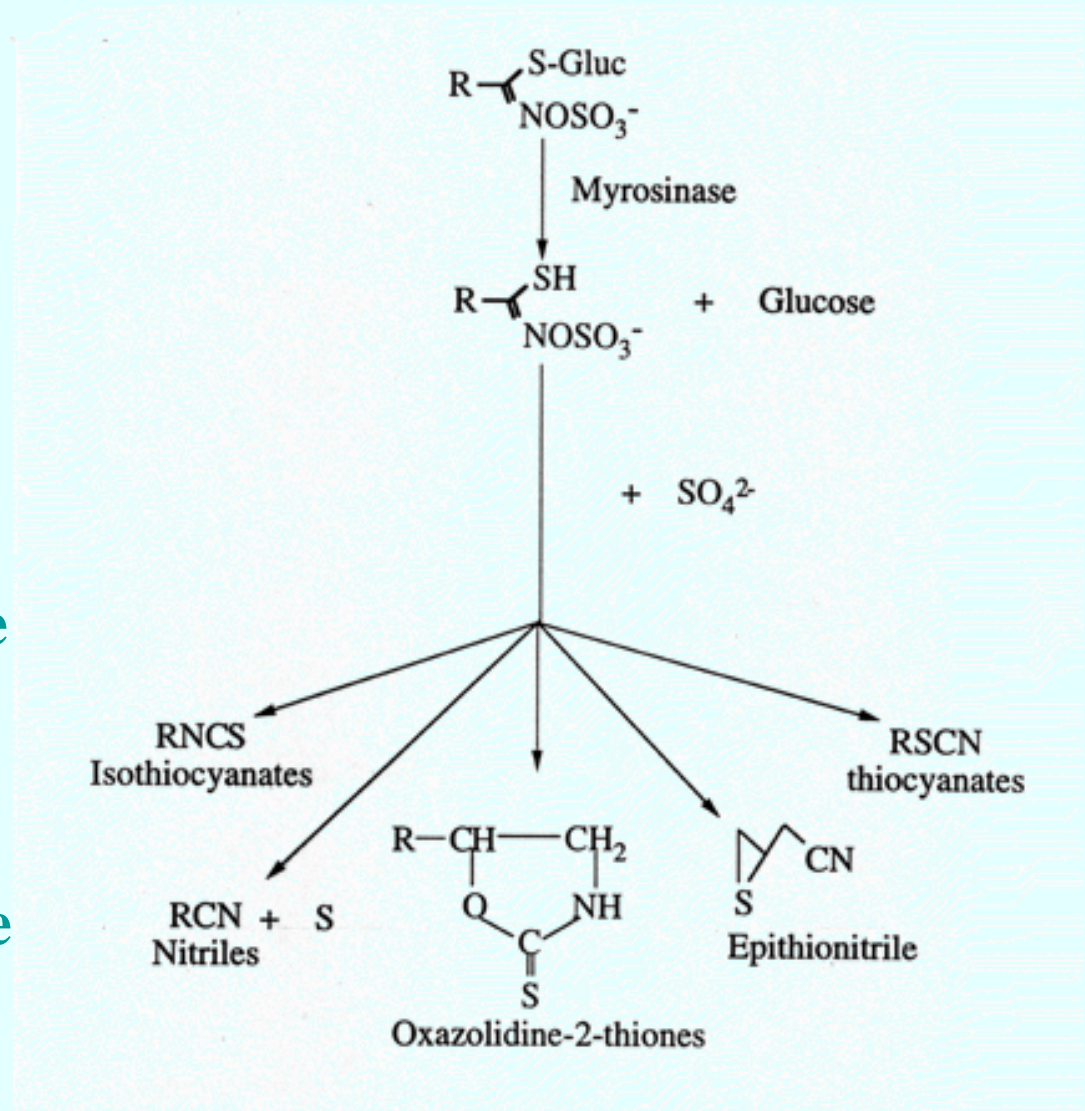
La bomba ad olio di senape...



# MIROSINASI

Una domanda....

Ma allora, come fa  
l'enzima a sapere  
quando deve scindere  
il glucosinolato in  
modo che l'aglicone  
svolga la sua funzione  
biologica????

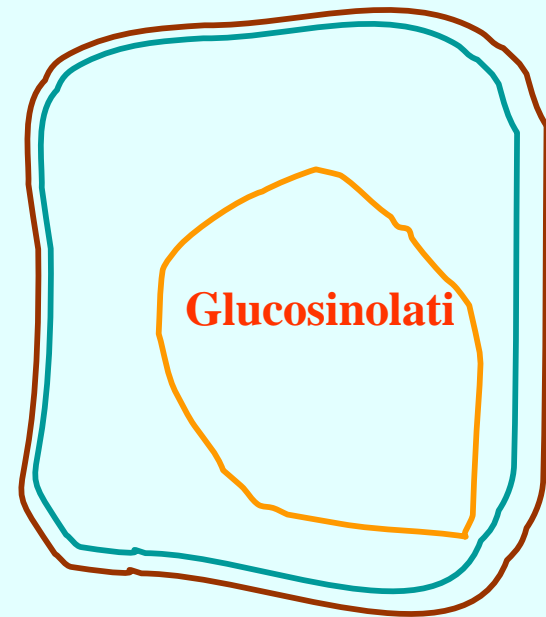
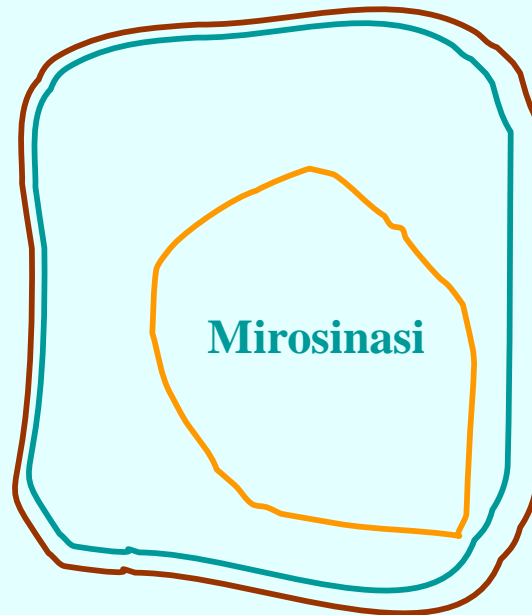


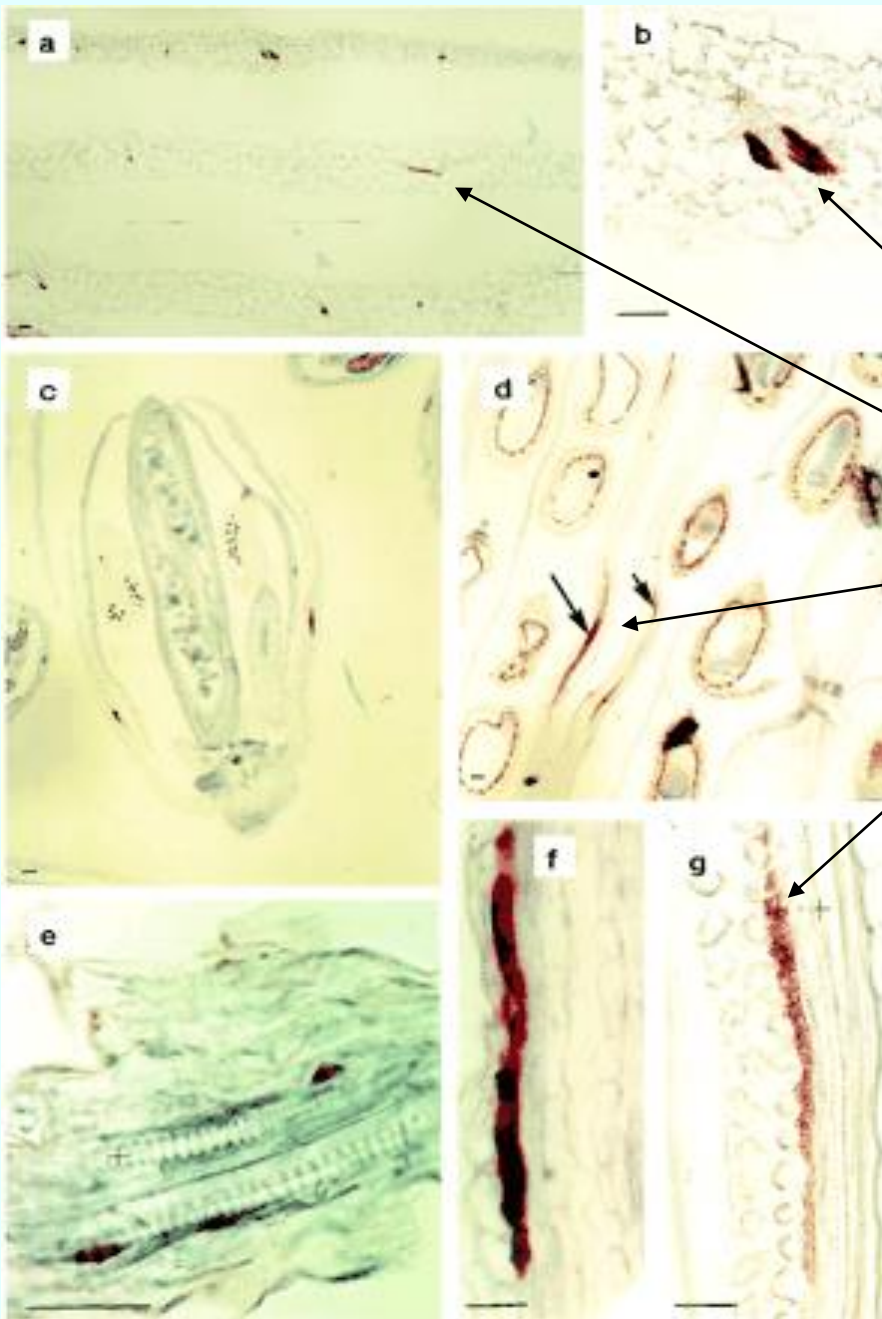
Il sistema è semplicissimo e dipende dalla funzione biologica stessa!

**Glucosinolati** e **mirosinasi** si trovano in cellule diverse!

**S-Cells** e **M-Cells**

Comunque, entrambi sono  
generalmente accumulati nei vacuoli





**Analisi  
istochimica della  
mirosinasi  
usando anticorpi  
monoclonali 3D7**

Le cellule ricche di glucosinolati  
sono dette **S-cell** (Sulphur rich  
cells)

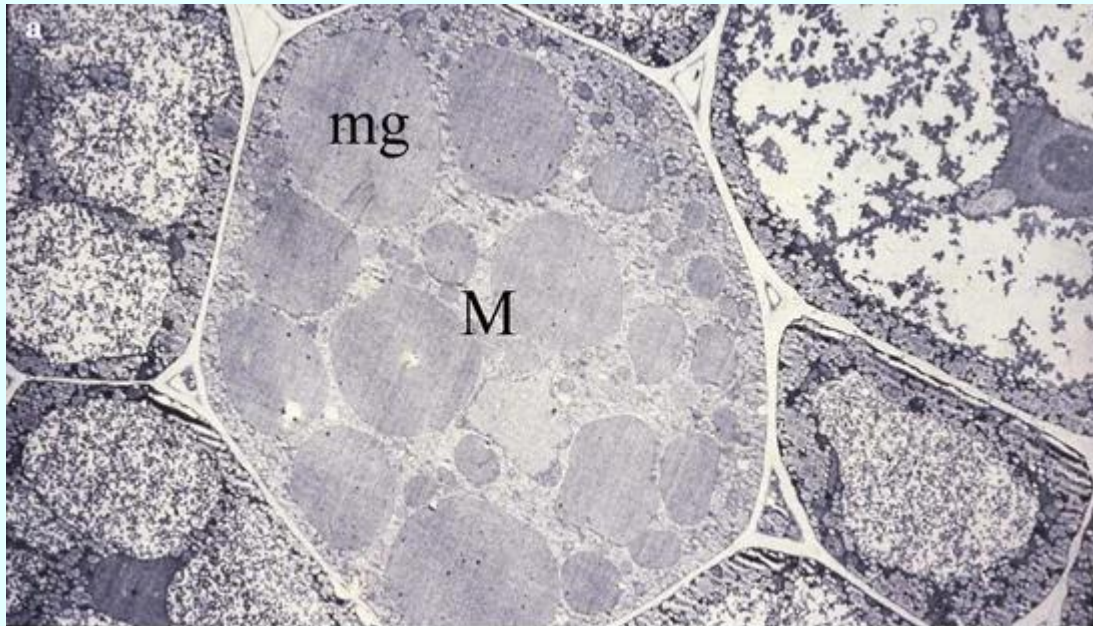
quelle contenenti mirosinasi si  
trovano tutte attorno a queste e  
sono dette **idioblasti** (o **M-cell**).



Un idioblasto (M) contenete mirosinasi:

Mg = granulo di mirosinasi!

Ce ne è talmente tanta che precipita in granuli...





**Un'altra domanda.....**

**Come fanno allora ad entrare in contatto???**

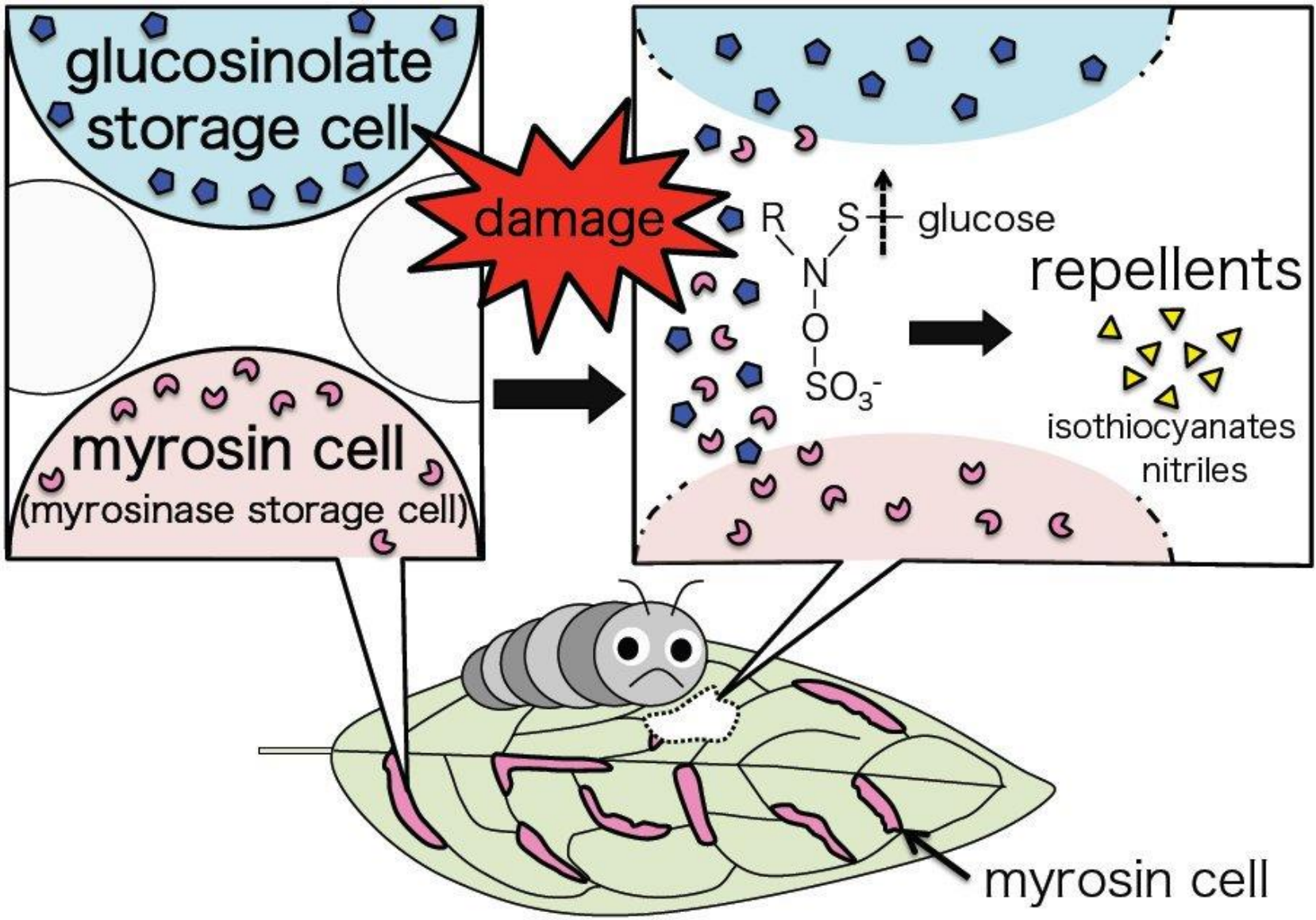
**?**

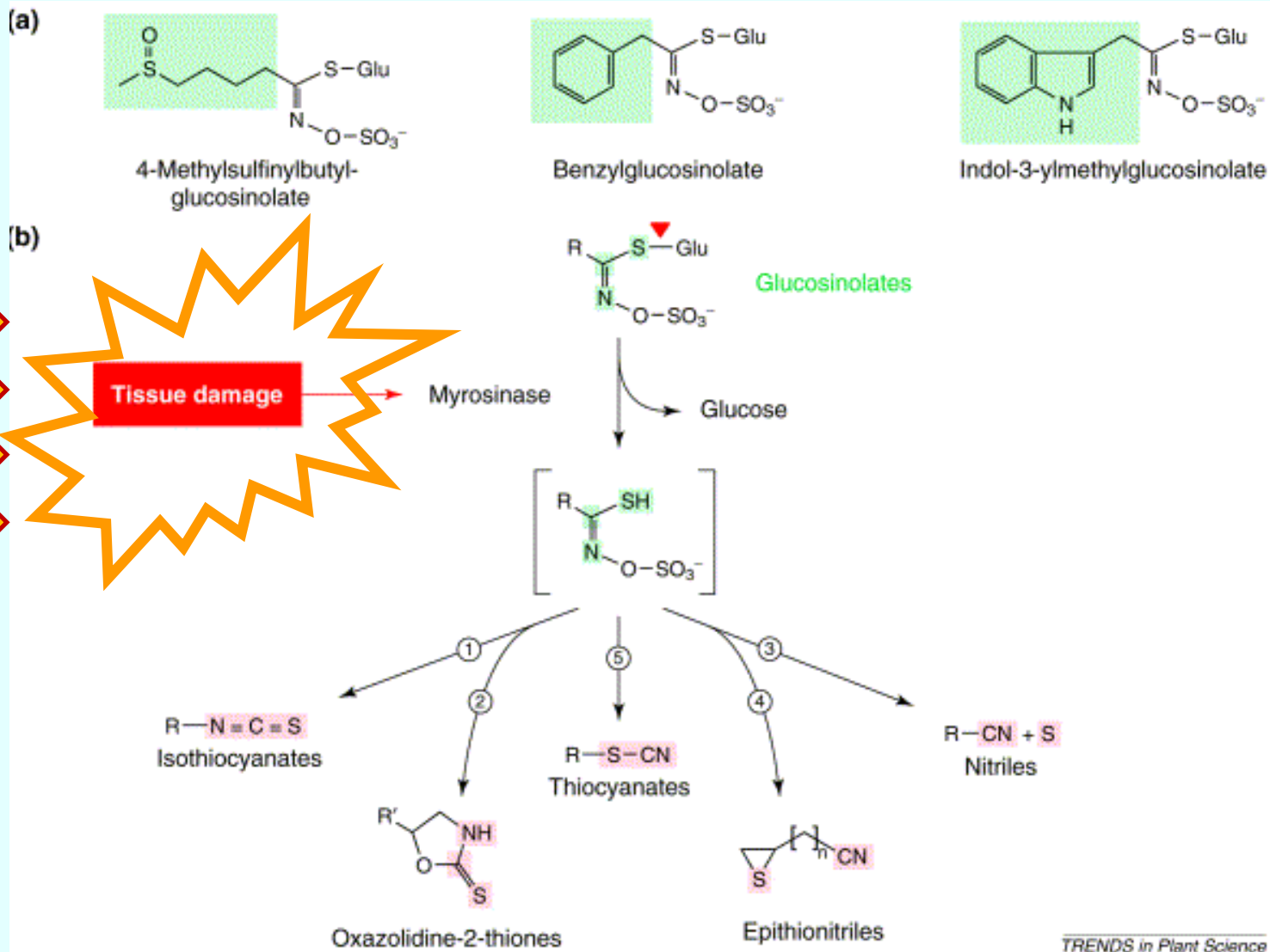
**Entrano in contatto fra loro solo in seguito ad un danno  
stesso del tessuto vegetale.**

*Erbivori, insetti, nematodi, funghi, batteri!*

**Basta pensare a come tali “nemici naturali” delle piante agiscono.....**

**Solo i parassiti **biotrofici** (e non quelli **necrotrofici**) non incorrono  
nel pericolo perché non provocano danno tissutale diretto...**

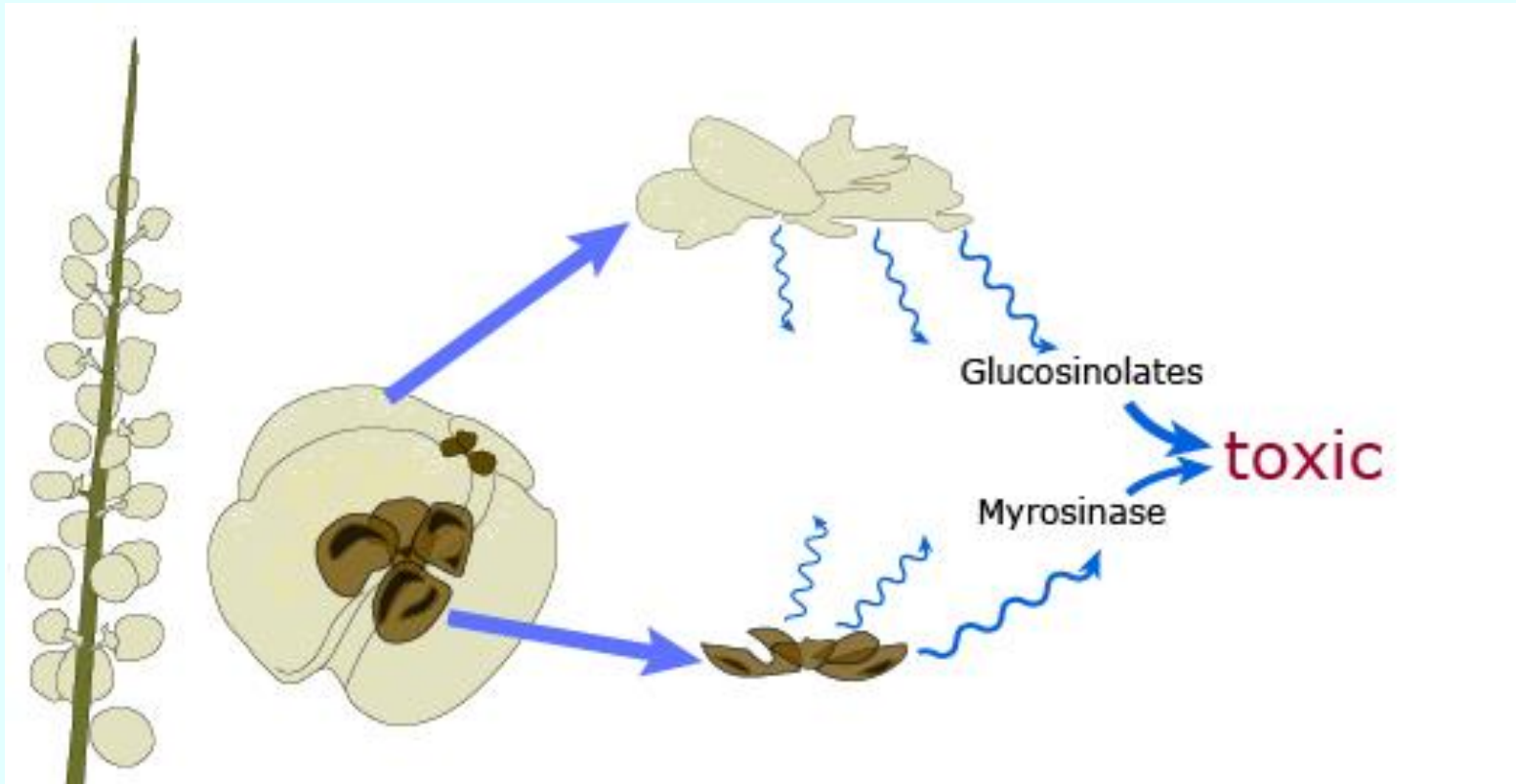




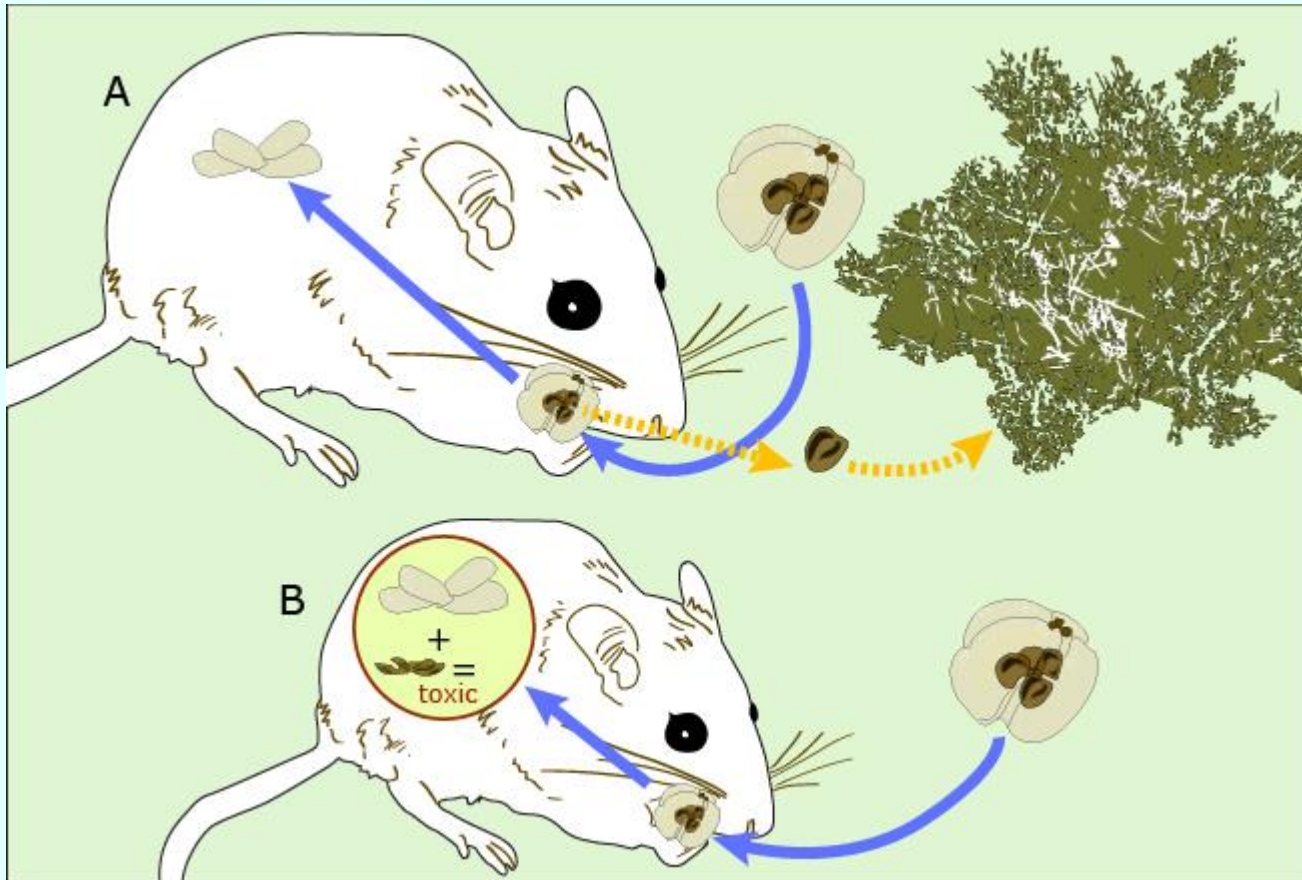
**Genericamente isotiocianati e nitrili  
Tipici odori e sapori delle brassicacee!**

Particolare localizzazione dei GLS e della Myr nei frutti:

generalmente i **glucosinolati** sono contenuti nella **polpa** e la **mirosinasi** nei **semi**:



Alcune specie si sono adattate a scartare i semi.... O saranno i semi che vogliono essere scartati???

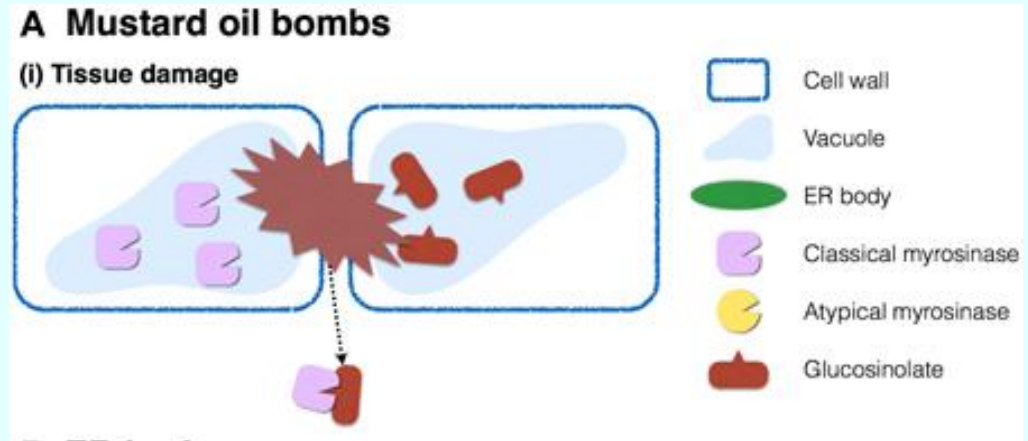


A shows the adapted behavior of spitting the seed out, and B illustrates what happens if the seed is ingested and broken

I glucosinolati possono comunque essere idrolizzati anche dalla microflora intestinale sebbene in minor misura!



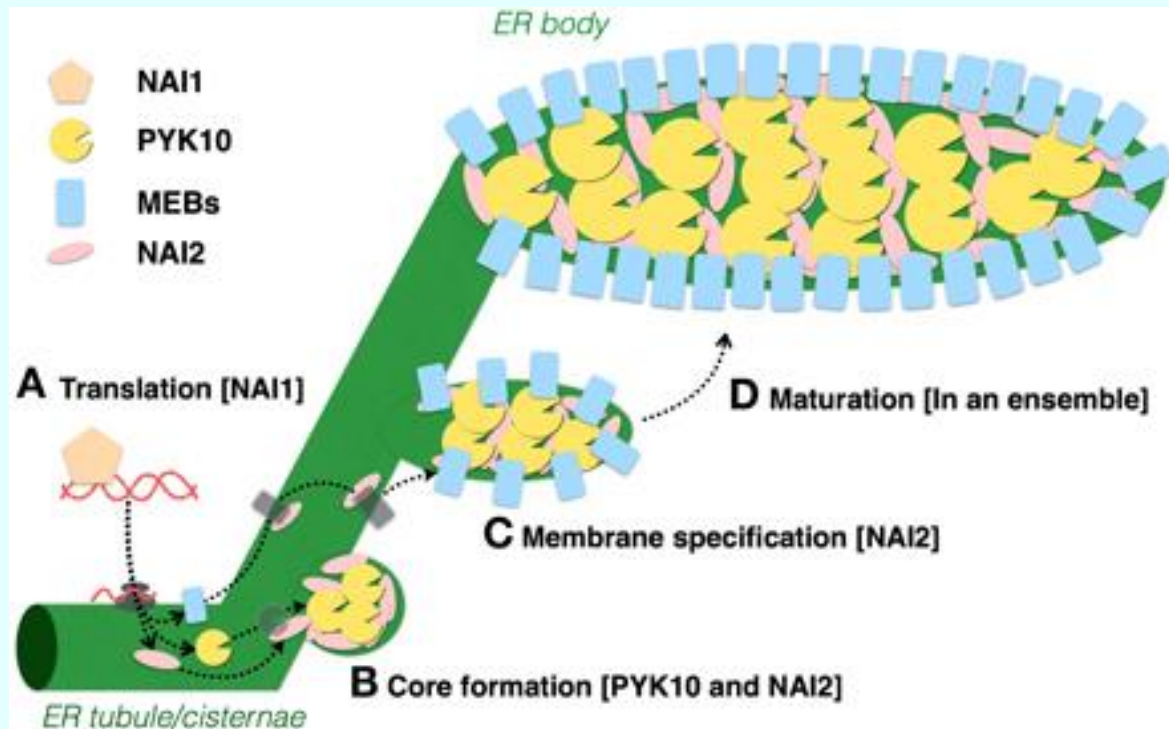
Tutto questo  
generalmente  
nelle parti aeree



E nelle radici?????

nelle radici la faccenda è un po' diversa.

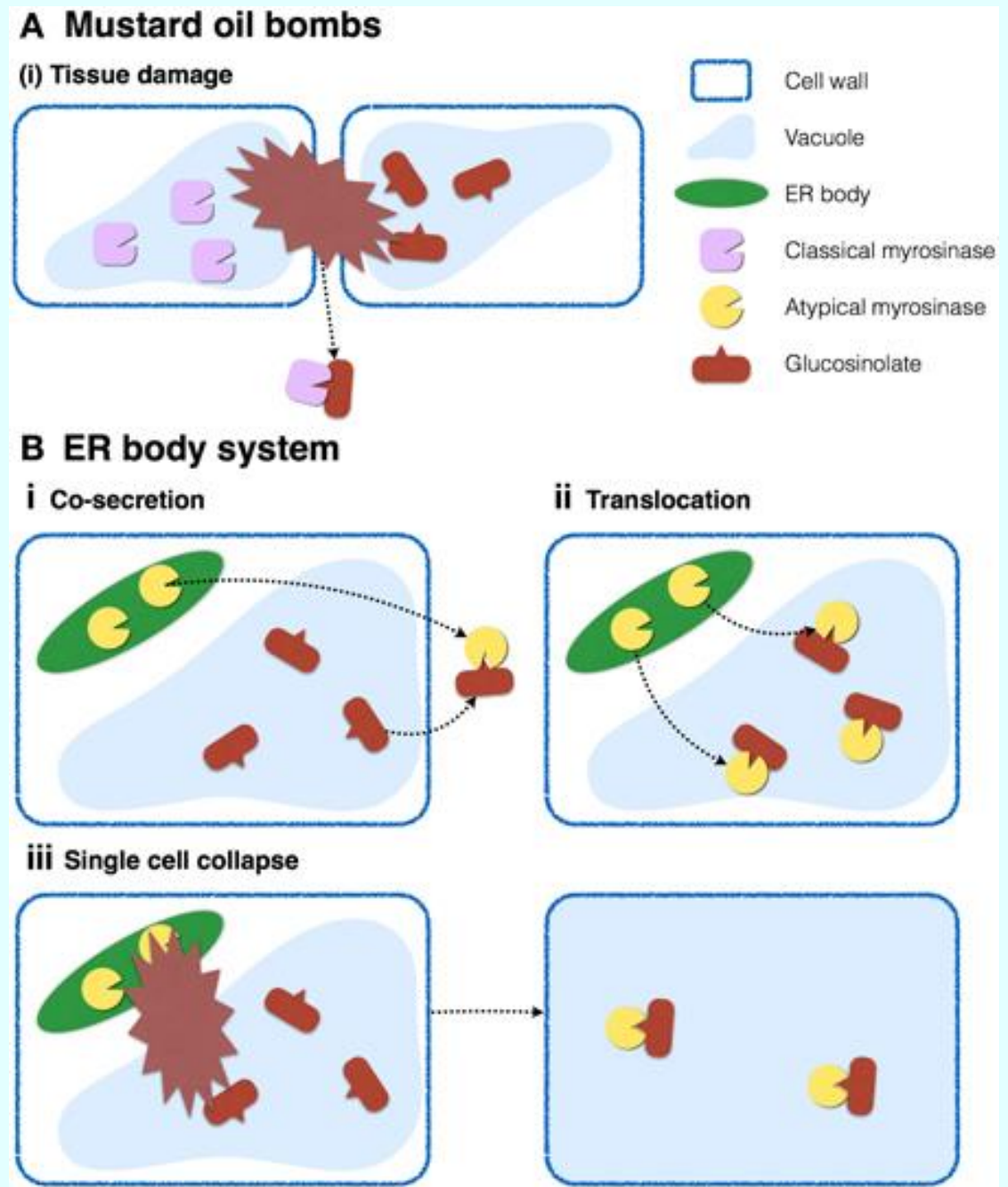
La mirosinasi (isoforma atipica, ovvero tipica della radice) si accumula nelle cisterne del reticolo endoplasmatico, dette ER BODIES



Nelle radici, mirosinasi e glucosinolati si accumulano nei ER bodies e nei vacuoli, rispettivamente, nelle stesse cellule.

Le reazioni enzimatiche possono essere attivate da:

- 1) Cosecrezione di enzimi e substrati
- 2) Traslocazione di enzimi nei vacuoli
- 3) distruzione di una singola cellula, danno meccanico.



Ma allora i cavoli sono velenosi anche per l'uomo????



Per l'essere umano:

I prodotti dell'azione della mirosinasi possono avere azione **tossica ad alte dosi**, in generale l'azione è **protettiva (vedi dopo)**.

Infatti è consigliato mangiare i cavoli....

**Azione tossica**



**Sono instabili e  
quindi reattivi!**

Si legano a tutte le macromolecole biologiche che incontrano e le **denaturano** compromettendone il giusto funzionamento in qualunque animale, anche nell'essere umano ovviamente!!!!

**SE INGERITI AD ALTE DOSI POSSONO PROVOCARE irritazione, depressione della crescita ed effetto goitrogenico.**

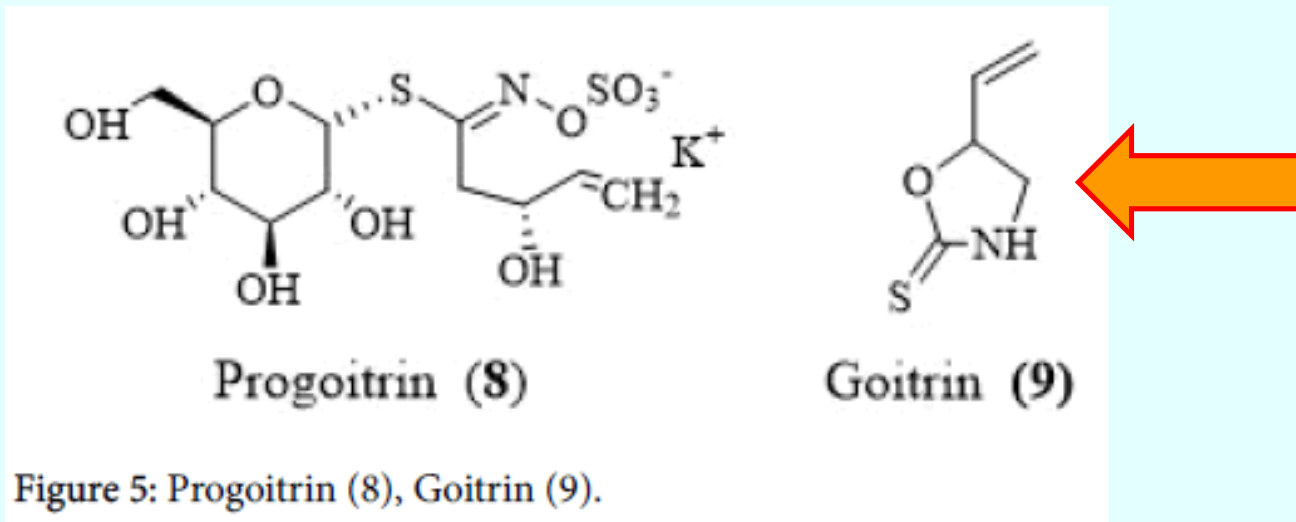
**Isotiocianati:** irritanti per le mucose. Se ingeriti come glucosinolati ed idrolizzati nel “gozzo” (la masticazione!!) **interferiscono con la sintesi degli ormoni tiroidei. Goitrogenici!**

**Fra tutti, sono quelli capaci di legare più saldamente lo iodio.**

Il peggiore è la **pro-goitrina**: 2-hydroxy-3-butenyl glucosinolate

Presente in cavolo, cavoletti di Bruxelles e soprattutto colza!

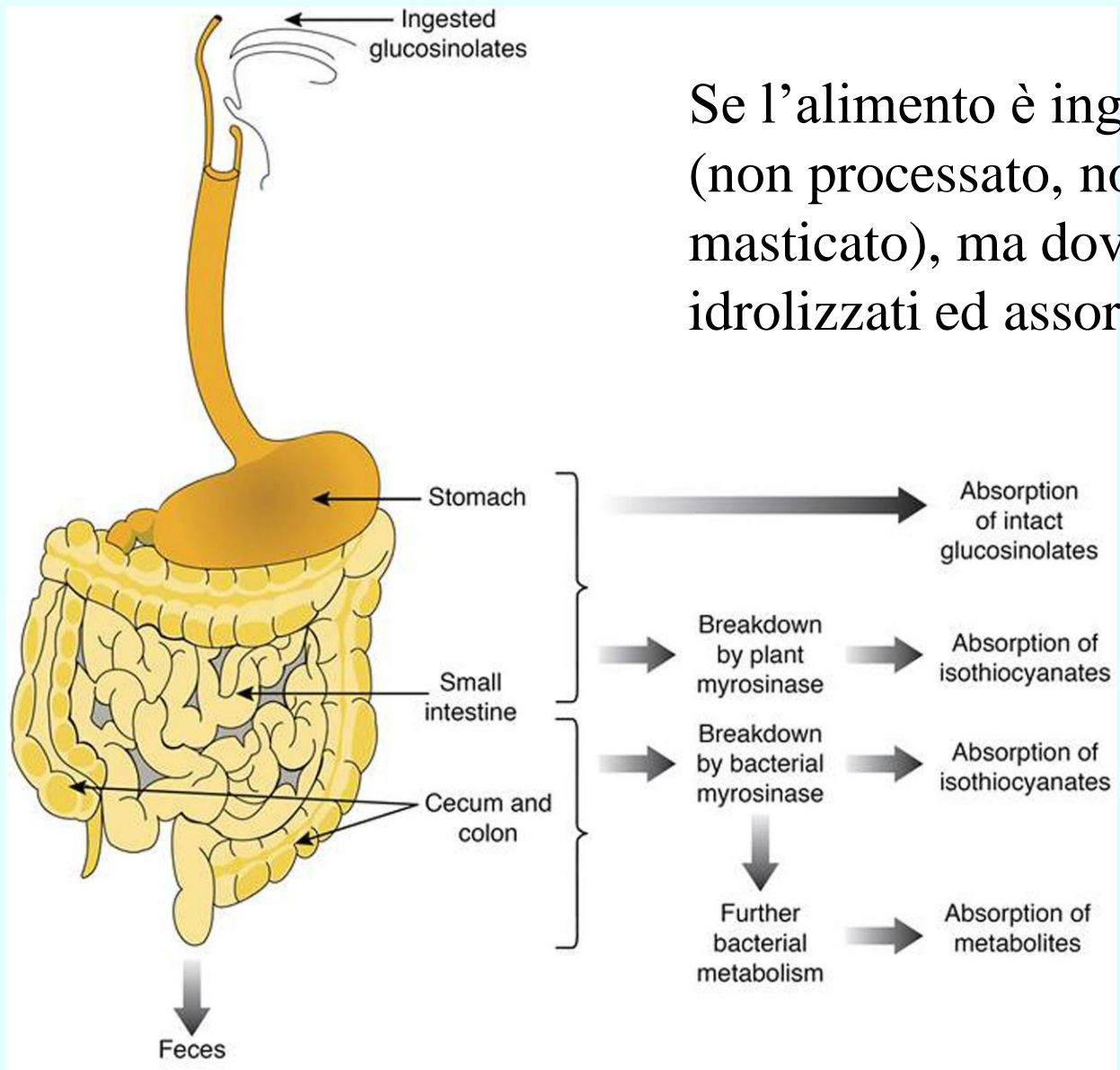
Per idrolisi forma la **goitrina**, un tiocarbammato ciclico, che inibisce la iodinazione della tirosina



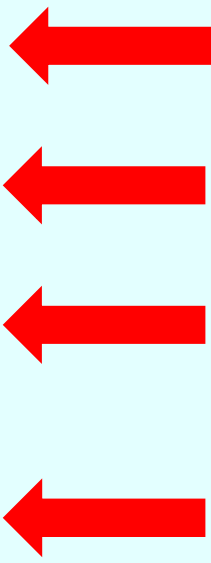
Prodotti simili, ma meno attivi sono dati da glucobrassicina e sinalbina, difficili da assumere a dosi tossiche

**Nitrili** - depressione della crescita per effetto negativo sugli ormoni tiroidei, **irritanti generici** con lesioni a fegato e reni, iperplasia dei dotti biliari.

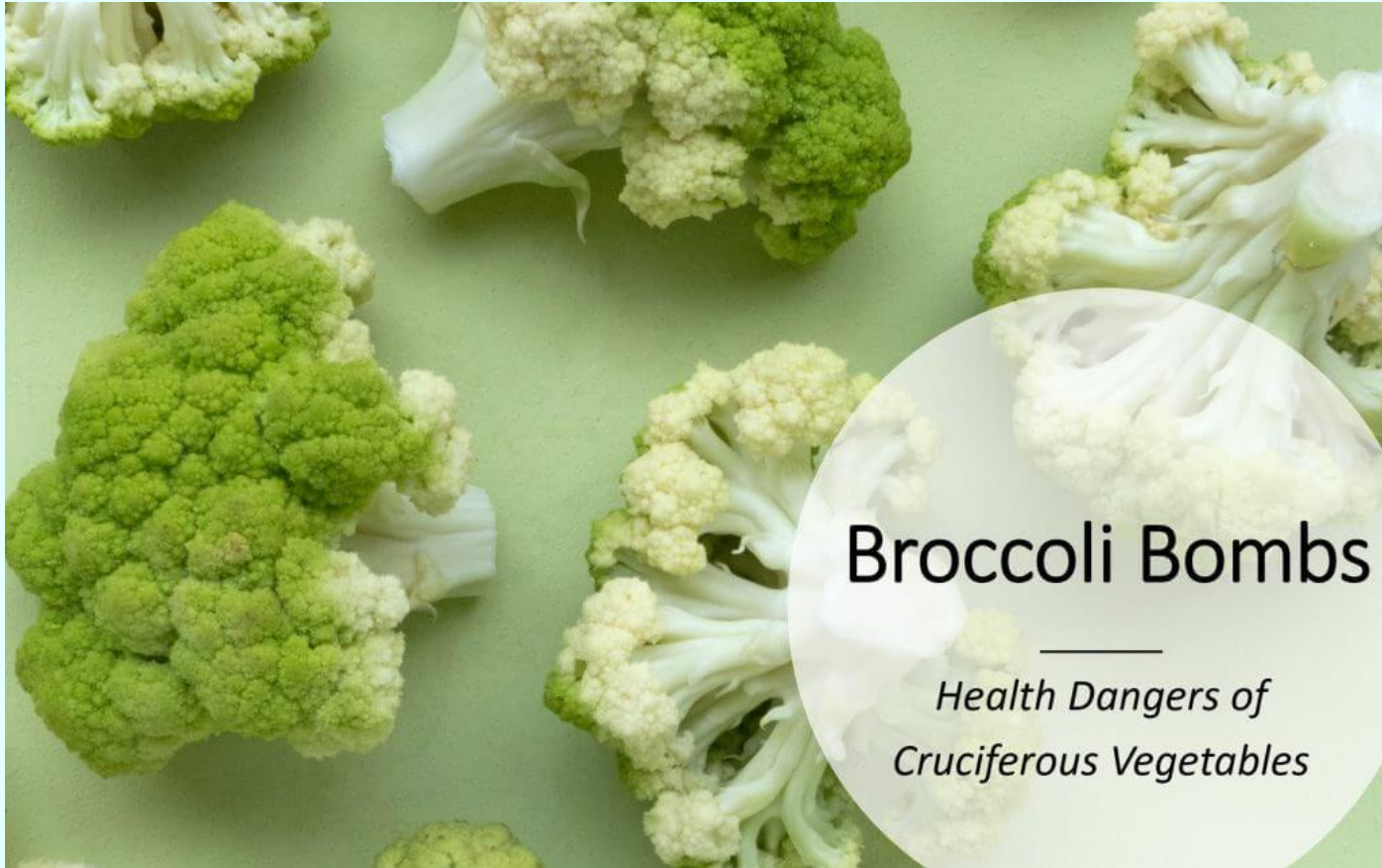
**Tiocianati** – inibiscono l'uptake dello **iodio** da parte della tiroide diminuendo di conseguenza la sintesi della tiroxina, meno «forti» degli isotiocianati.



Se l'alimento è ingerito tal quale (non processato, non cotto, non masticato), ma dove vengono idrolizzati ed assorbiti i GLS????







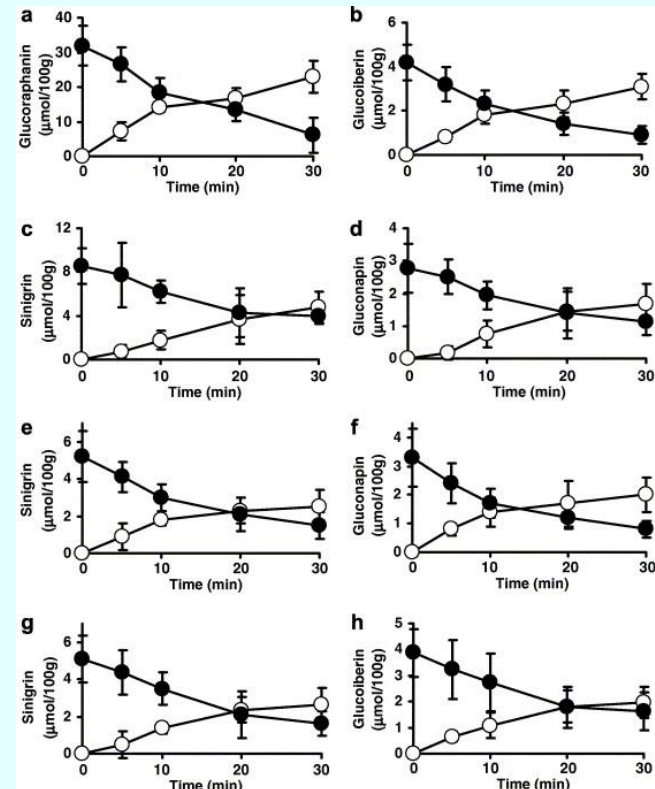
**Come e quando difendersi.....**

# SOLO persone con deficit di iodio e/o ipotiroidismo:

La **cottura** (almeno 8-10 minuti) diminuisce l'assunzione di tali sostanze in quanto il calore stesso provoca idrolisi dei glucosinolati, i prodotti sono generalmente volatili e se ne vanno...

Consumare le brassiche sempre dopo cottura (il cavolo bianco, sottoposto a bollitura, ha una perdita del contenuto di **isotiocianati** del **56%** nei primi 2 minuti e del **70%** dopo 8-10 minuti)... sono comunque una fonte di zolfo ridotto (e glucosinolati benefici, vedi dopo), vitamine e sali minerali fra le più preziose.

Major glucosinolate contents of *Brassica* vegetables during boiling in vegetable tissue and cooking water. Key: Hollow and solid circles are contents of glucosinolate in the cooking water and vegetable tissue, respectively. Data are  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  fresh weight (mean  $\pm$  SD).



Anche i processi di **congelamento** diminuiscono la biodisponibilità di queste sostanze.

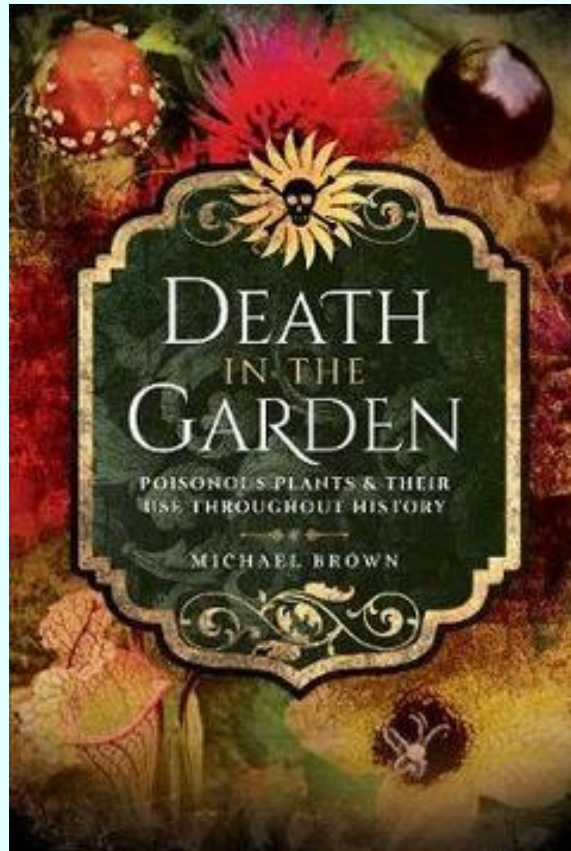
Dopo essere stata surgelata, la mirosinasi non funziona più molto bene...

Quindi, consumare brassiche cotte o surgelate, mai fresche...

SOSTANZE GOZZIGENE  
O  
ANTI TIROIDEE



Ma fra tutte queste molecole, ce ne sono alcune veramente mortali?



**Sì....**

## Il massimo della tossicità:

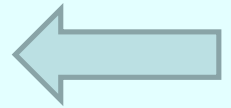
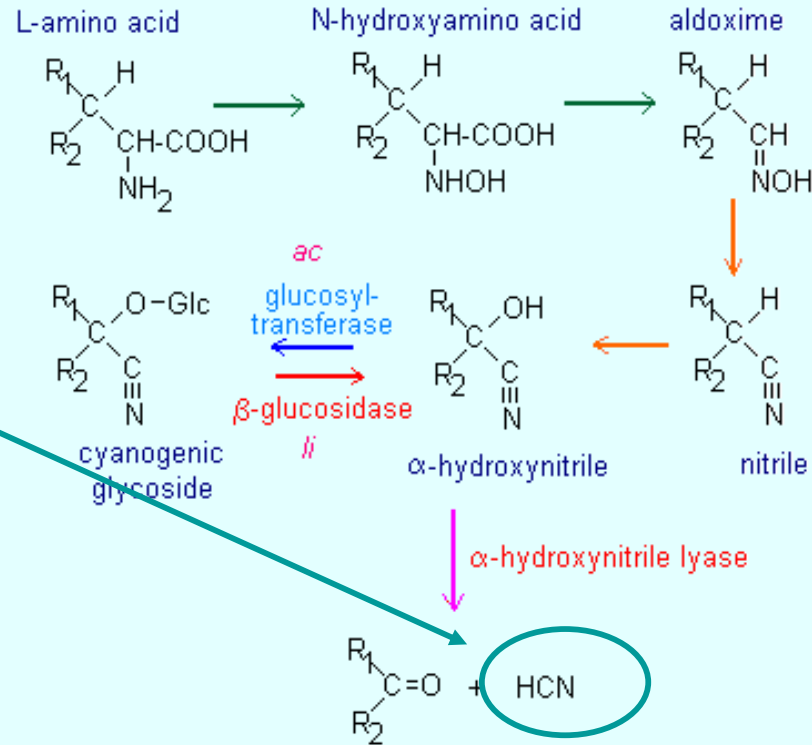
Alcune molecole hanno addirittura il cianuro come prodotto di idrolisi!



**I glucosidi  
Cianogenetici**  
derivati da

Val, Ile, Leu, Phe e Tyr  
Non sono veri e propri  
glucosinolati, anche se  
abbastanza simili

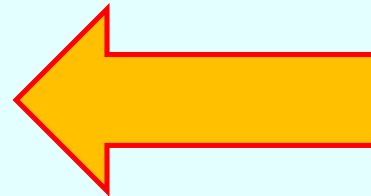
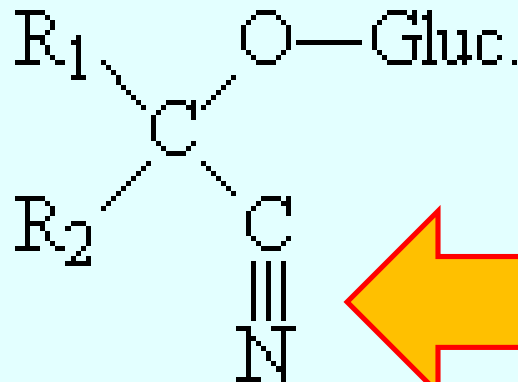
Proposed pathway of synthesis and catabolism of cyanogenic monosaccharides



**L'aldossima  
viene  
ridotta a  
nitrile...**

*Li* encodes the  $\beta$ -glucosidase linamarase in *Trifolium repens* which normally accumulates the cyanogenic glycoside linamarin derived from valine.

In realtà, ci mancherebbe lo zolfo, ma tradizionalmente sono accumulati ai glucosinolati

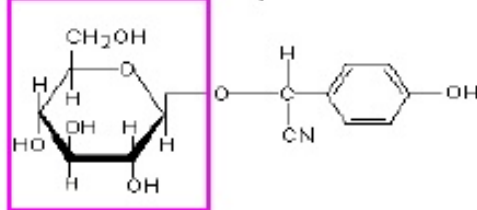


cyanogenetic glycoside

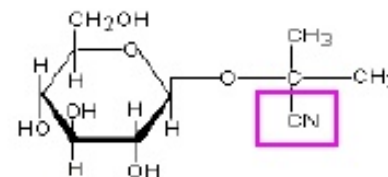
La loro idrolisi è a carico della flora batterica intestinale

# Common Cyanogenic Glycoside Structures

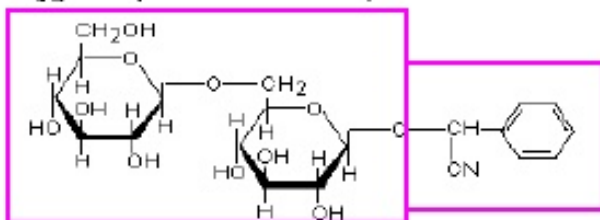
**Dhurrin (CAS No. 499-20-7)**



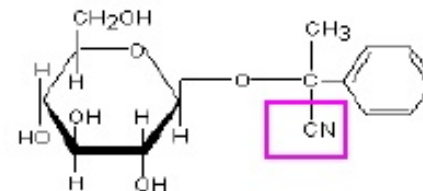
**Linamarin (CAS No. 554-35-8)**



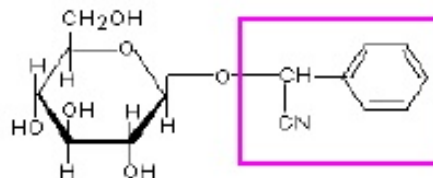
**Amygdalin (CAS No. 29883-15-6)**



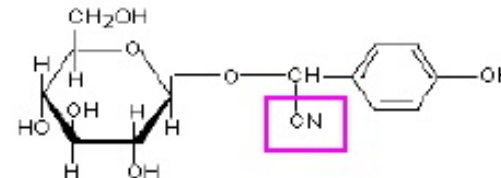
**Lotaustralin (CAS No. 534-67-8)**



**Prunasin (CAS No. 99-18-3)**



**Taxiphyllin (CAS No. 21401-21-8)**



Sebbene derivino da vari tipi di AA, i glucosidi cianogenetici sono una piccola classe di molecole con solo circa **50** strutture note.

Se sono così **pochi**, significa che devono funzionare parecchio bene!

Sono però molto **diffusi**: circa **2500** differenti specie vegetali  
Idem

Sono **antichi**, sono stati infatti differenziati circa **430** milioni di anni fa... idem... perché sono estremamente efficaci!



# Cyanogenic Glycosides



- **3,000 species worldwide**
- **Defense compounds**

<b>Scientific Name</b>	<b>Common Name</b>	<b>Taxonomic Group</b>	<b>Cyanogenic Compound Location</b>	<b>Commercially Produced for Consumption?</b>
<i>Sorghum bicolor</i>	Sorghum	Monocot	young shoots	Y
<i>Manihot esculenta</i>	Cassava	Dicot	entire plant	Y
<i>Davallia trichomanoides</i>	Squirrel's Foot Fern	Pteridophyte	fronds, fiddleheads	N

# AVVELENAMENTO DA CIANURI

Glucosidi cianogenetici (soprattutto l'**amigdalina**) per idrolisi liberano acido cianidrico.

In questo caso la famiglia più rappresentativa è quella delle **Rosaceae**

Nomi comuni:

AMARENA

CILIEGIO

ALBICOCCO

MANDORLO

MELO

ecc...



# Alcuni esempi:

**ALBICOCCA** - Le parti velenose della *Prunus armeniaca* sono **i semi all'interno del nocciolo.**

Può dare vomito, dolori addominali, convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza, coma.

**CILIEGIA** - La parte velenosa del *Prunus* spp. sono **i semi contenuti nel nocciolo.**

Può dare vomito, dolori addominali, letargia, cianosi, convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza, coma.

**PESCA** - Le parti velenose del *Prunus* spp. sono **i semi all'interno del nocciolo.**

Determina vomito, dolori addominali, letargia, cianosi ( colorazione bluastra delle mucose ) convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza, coma.

**PRUGNOLO** - Le parti velenose del *Prunus* spp. sono **i semi all'interno del nocciolo.**

Determina vomito, dolori addominali , letargia, cianosi, convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza e coma.

**MELA** - Principio tossico: Glucosidi cianogenetici (amigdalina) per idrolisi liberano ac. cianidrico.

Le parti velenose del *Malus* spp. sono **i semi all'interno del nocciolo.**

Determina vomito, dolori addominali, letargia, cianosi, convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza, coma.

**MANDORLA** - Principio tossico:

Glicosidi cianogenetici (**amigdalina**) per idrolisi liberano ac. cianidrico.

Le parti velenose del *Prunus amygdalus* spp. sono **i semi all'interno del nocciolo.**

Determina vomito, dolori addominali, letargia, cianosi, convulsioni, flaccidità muscolare, incontinenza e coma.



**SAMBUCO** - Principio tossico: Glucosidi cianogenetici e purgante non identificato.

La parte velenosa del *Sambucus* spp. è **l'intera pianta.**

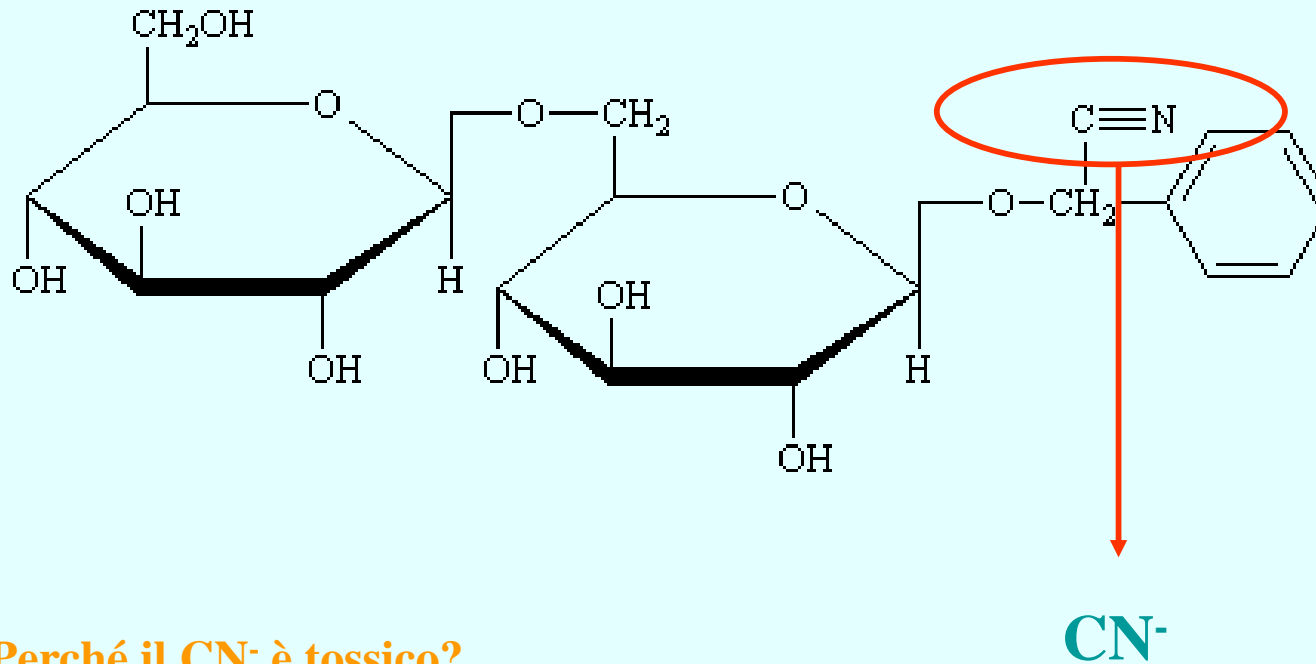
Determina vomito, dolori addominali e diarrea.

# Alcuni alimenti e relative concentrazioni

**DOSE LETALE: 0.54mg/kg body weight**

Food	Major cyanogenic glycosides	mg HCN per kg	µg HCN per 1000ug (mg)
Cassava ( <i>Manihot esculenta</i> ) - root	Linamarin	15-1000	0.015-1
Sorghum ( <i>Sorghum vulgare</i> ) – leaves	Dhurrin	750-790	0.75-0.79
Flax ( <i>Linum usitatissimum</i> ) – seed meal	Linamarin, linustatin, neolinustatin	360-390	0.36-0.39
Lima bean ( <i>Phaseolus lunatus</i> )		2000-3000	2-3
Giant taro ( <i>Alocasia macrorrhizos</i> ) – leaves	Triglochinin	29-32	0.029-0.032
Bamboo ( <i>Bambusa arundinacea</i> ) – young shoot	Taxiphyllin	100-8000	0.1-8
Apple ( <i>Malus spp.</i> ) – Seed	Amygdalin	690-790	0.69-0.79
Peach ( <i>Prunus persica</i> ) – Kernel	Amygdalin	785-813	0.785-0.813
Plum ( <i>Prunus armeniace</i> ) – Kernel	Amygdalin	696-764	0.696-0.764
Nectarine ( <i>P. persica var nucipersica</i> ) – kernel	Amygdalin	196-209	0.196-0.209
Cherry ( <i>Prunus spp</i> )	Amygdalin	4.6 (juice)	0.0046
Bitter almond ( <i>Prunus dulcis</i> )	Amygdalin	4700	4.7

# L'AMIGDALINA



Perché il CN<sup>-</sup> è tossico?

**Blocco degli enzimi ossidativi della respirazione cellulare!**

**Citocromo C ossidasi e legame con Fe<sup>3+</sup>.**

Se:

**DOSE LETALE: 0.54mg/kg body weight**

1 kg di mandorle amare: 4700 mg di amigdalina (dalla tabella precedente)

Quanti gr di mandorle amare per uccidere una persona?

Peso medio: 70 kg

$$0.54 * 70 = 37.8 \text{ mg}$$

1 gr di mandorle amare = 4.7 mg di amigdalina

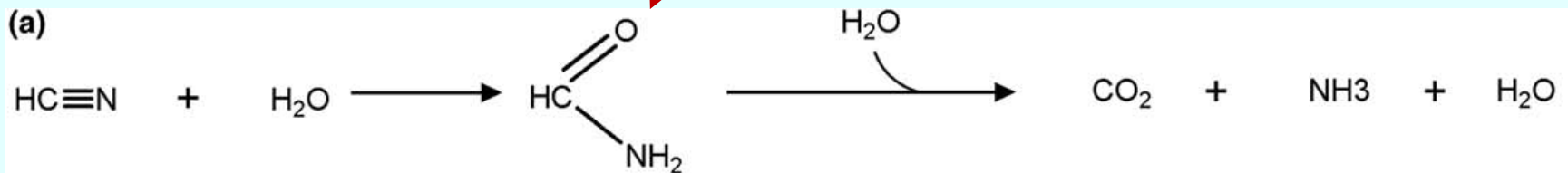
$$37.8 \text{ mg} : 4.7 \text{ mg/gr} = 8.04 \text{ gr di mandorle amare!!!!}$$

## Coevoluzione

Alcuni funghi sono capaci di tollerare l'HCN:

Hanno evoluto l'enzima: **Formammide idrolasi**

Converte l'HCN in **formammide** la cui idrolisi spontanea può fornire ammoniaca al fungo come ottima fonte di azoto ridotto!



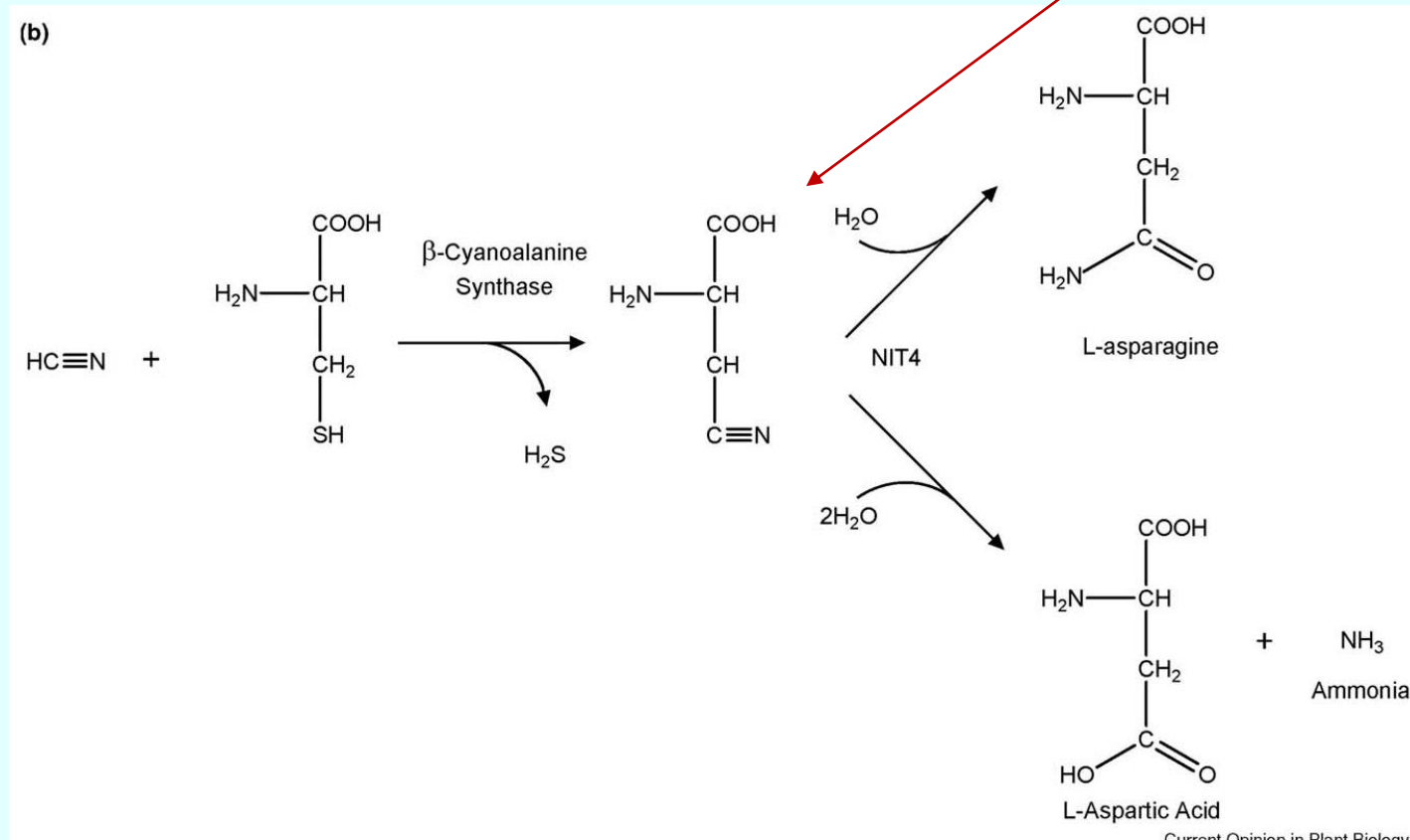
**Durante l'attacco si libera talmente tanto HCN (inefficace!) che alla fine ne soffre la pianta stessa!**



Anche alcuni batteri hanno coevoluto strategie di difesa....

Es. **Cianoalanina sintasi:**

Catalizza la reazione fra **HCN** e **cisteina** per formare **cianoalanina**, poi idrolizzata a asparagina o acido aspartico e **ammonio**



Anche alcuni **insetti** hanno imparato a difendersi:

**Metabolizzazione del glucoside (degradazione senza liberazione di HCN) o detossificazione dell'HCN**

Oppure

**Accumulo del glucoside stesso!**

Esistono alcuni insetti specializzati che riescono a nutrirsi di crucifere...

Hanno evoluto:

### **Nitrile specifier protein:**

Indirizza l'idrolisi del glucosinolato verso i nitrili, meno tossici rispetto agli isotiocianati (però strategia pericolosa in caso di presenza di nemici naturali dei nemici...).

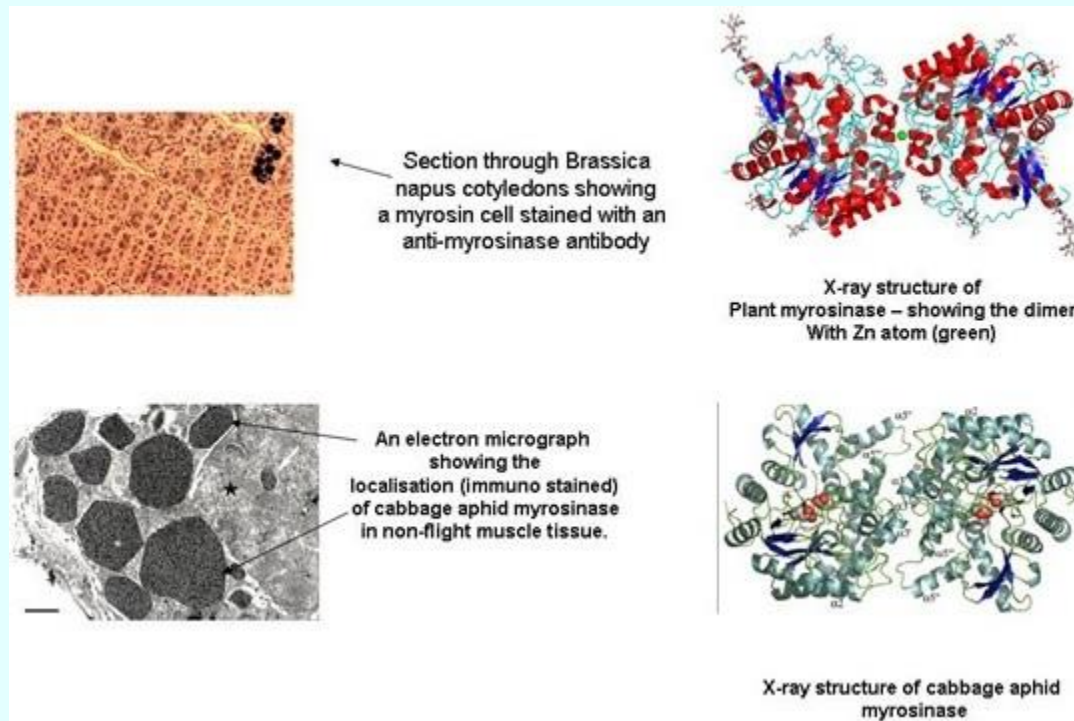
### **Glucosinolato solfatasi:**

Desolfata il glucosinolato rendendolo non riconoscibile dalla mirosinasi.

**Altri insetti sono capaci di sequestrare i glucosinolati**

## **Limitazione della predazione**

**In alcuni afidi è stata trovata una mirosinasi animale localizzata nei tessuti muscolari!**



Alcune femmine addirittura emettono HCN per attrarre i maschi...

e sono attratte dai glucosinolati della pianta per l'ovoposizione:

meglio deporre su una pianta cattiva che su una buona...



**Comunque, il profilo dei glucosinolati è molto variabile nelle piante.**

**Anche all'interno di una singola specie c'è grande variabilità.**

**Questa dipende da:**

**Tipo di glucosinolati sintetizzati**

**Tipo di idrolisi**

**Quando un insetto acquista resistenza ad un determinato profilo di glucosinolati, basta una mutazione singola in un enzima per la loro biosintesi o idrolisi o un evento di impollinazione crociata per far acquisire alla nuova generazione un nuovo profilo: le piante la spuntano sempre.....**

**Da ricordare che i differenti glucosinolati hanno attività biologiche diverse, altrimenti una volta acquisito il meccanismo di resistenza per la loro attività, questo sarebbe sempre valido al di là della loro struttura.**

In ambienti controllati in assenza di erbivori e patogeni, le piante che accumulano le maggiori quantità di glucosinolati hanno minor fitness.

**Costo per la biosintesi dei glucosinolati**

**Vantaggio solo in ambienti competitivi**

**Per questo le piante coltivate hanno sempre una scarsissima quantità di deterrenti tossici.**

**Inoltre incroci *ad-hoc*....**

## Per concludere sugli effetti tossici dei glucosinolati:

Dato che colture per foraggio con elevato contenuto in glucosinolati sono state dimostrate avere **effetti nocivi sugli allevamenti**, sono state selezionate **colture con basso contenuto di tali metaboliti secondari**.

Es. Canola (colza)

Cultivar di *Brassica napus L.*, *Brassica campestris L.* or *Brassica rapa*

Usata per la produzione di oli alimentari (e biodiesel!), quello che rimane dopo l'estrazione dell'olio è utilizzato come mangime.

