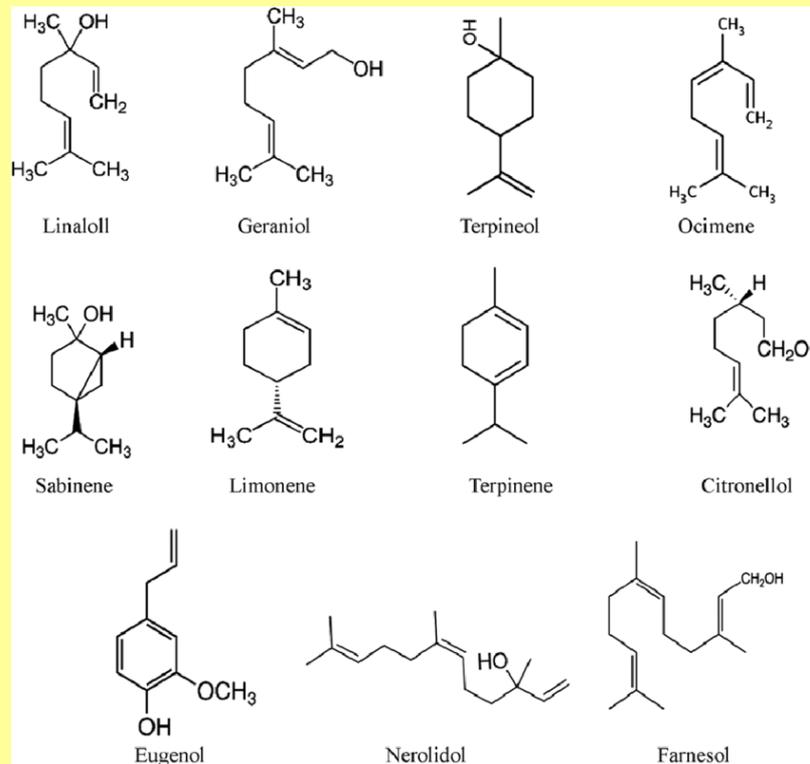
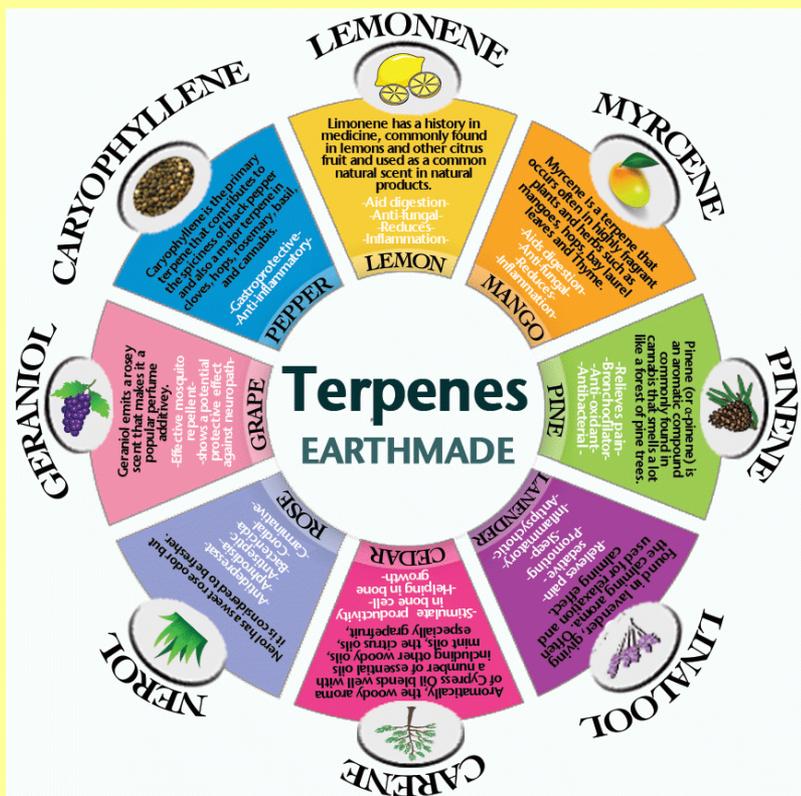


I terpeni

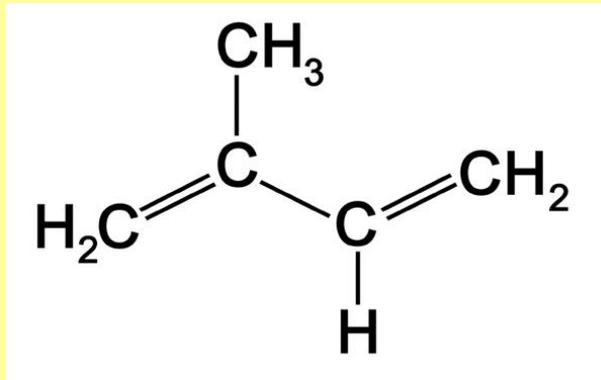
e la via dell'acido mevalonico



I TERPENI COMPREDONO UNA VASTA CLASSE DI PRODOTTI SECONDARI.

Sono sintetizzati attraverso

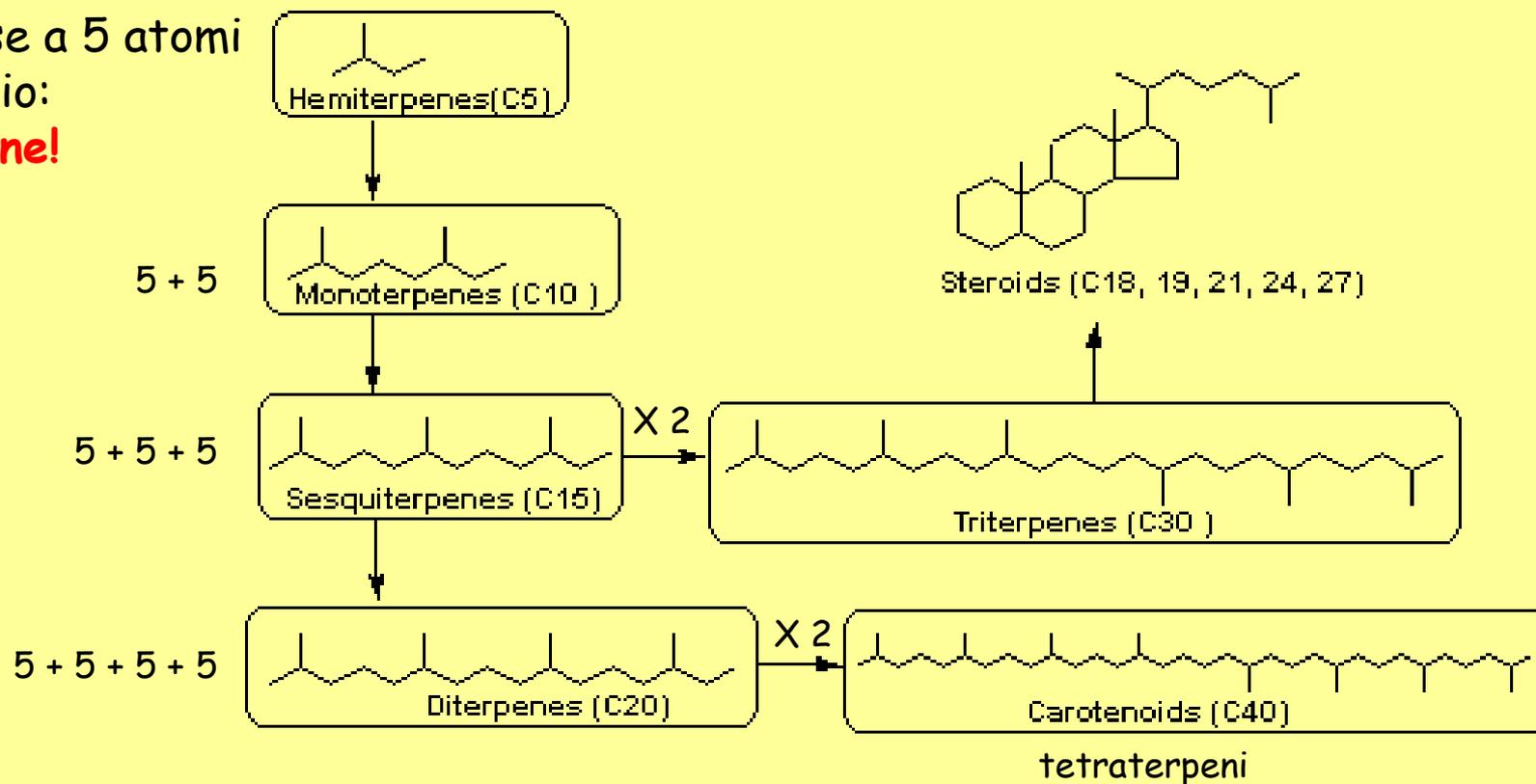
POLIMERIZZAZIONE DI UNITA' ISOPRENICHE A 5 ATOMI DI CARBONIO



Isoprene

E AL VARIARE DEL NUMERO DI QUESTE UNITA', VARIA LA LORO CLASSIFICAZIONE

Unità base a 5 atomi di carbonio:
Emiterpene!

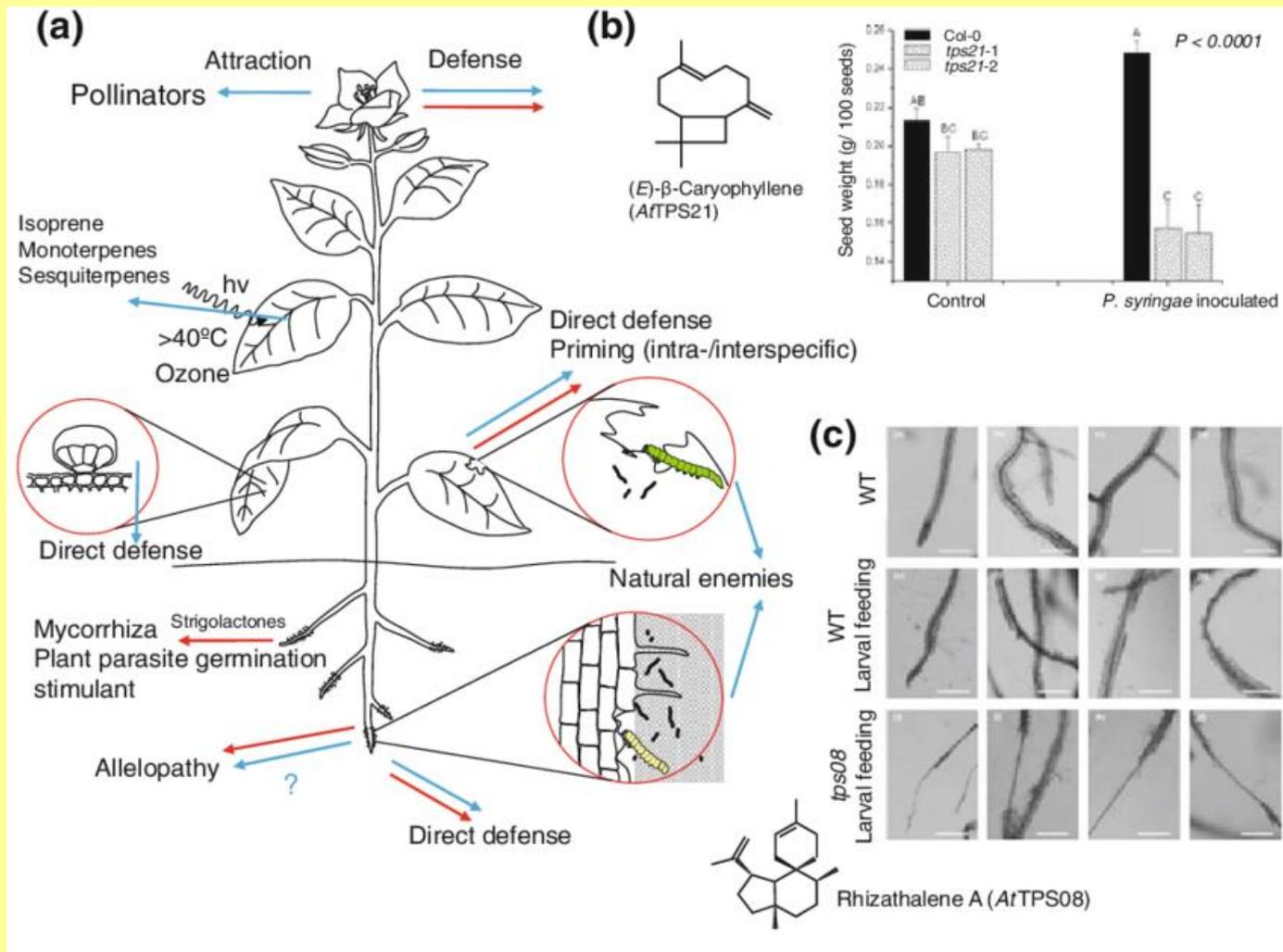


Da qui, la CLASSIFICAZIONE dei TERPENI

2 UNITA'	—————→	MONOTERPENI (C₁₀)
3 UNITA'	—————→	SESQUITERPENI (C₁₅)
4 UNITA'	—————→	DITERPENI (C₂₀)
6 UNITA'	—————→	TRITERPENI (C₃₀)
8 UNITA'	—————→	TETRATERPENI (C₄₀)
> UNITA'	—————→	POLITERPENOIDI (C₅)_n

Con l'aumentare delle dimensioni diminuisce la volatilità...

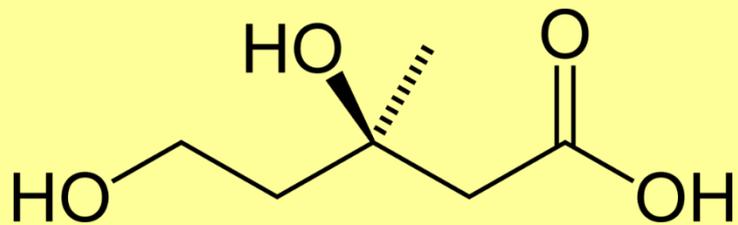
I terpeni possono essere volatili (frecce blu) o non volatili (frecce rosse) e sicuramente sono multipurpose.....



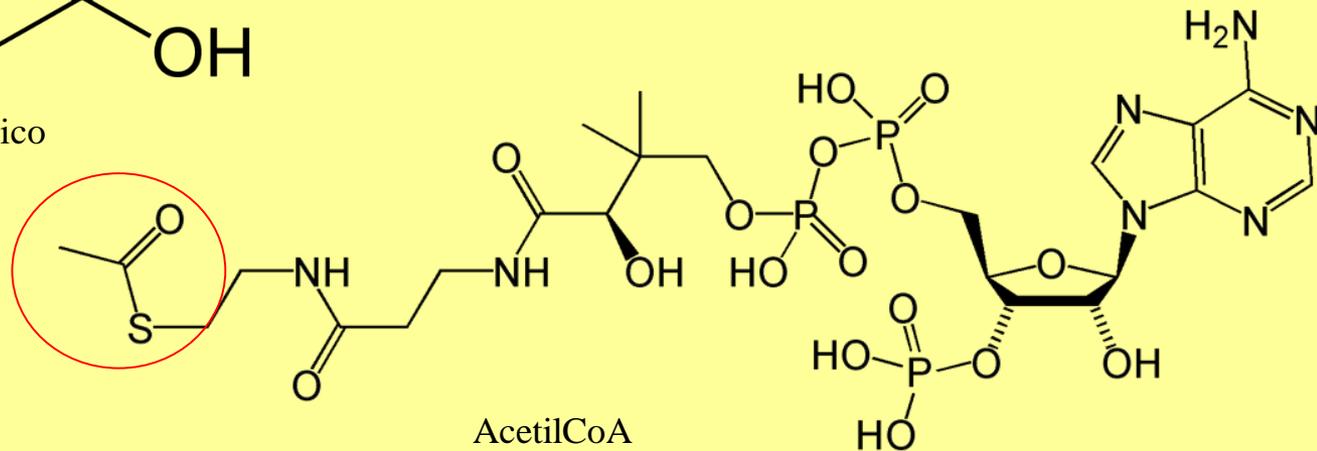
b Defensive activity of the volatile sesquiterpene, (E)- β -caryophyllene, against infection of Arabidopsis flowers by the microbial pathogen *Pseudomonas syringae*. Mutants deficient in (E)- β -caryophyllene biosynthesis in the floral stigmatic tissue (*tps21*) produce lighter seeds post inoculation of flowers with *P. syringae*. c Antifeedant activity of the semivolatile diterpenoid, rhizathalene, in Arabidopsis roots. Light microscopic pictures of roots of wild-type and rhizathalene biosynthetic mutants (*tps08*) with and without feeding by *Bradysia* (fungus gnat) larvae. Increased feeding damage is observed in the absence of the diterpenoid compound (b, from Huang et al. 2012 [245] and Vaughan et al. 2013 [234],

VIA DI BIOSINTESI DEI TERPENI:

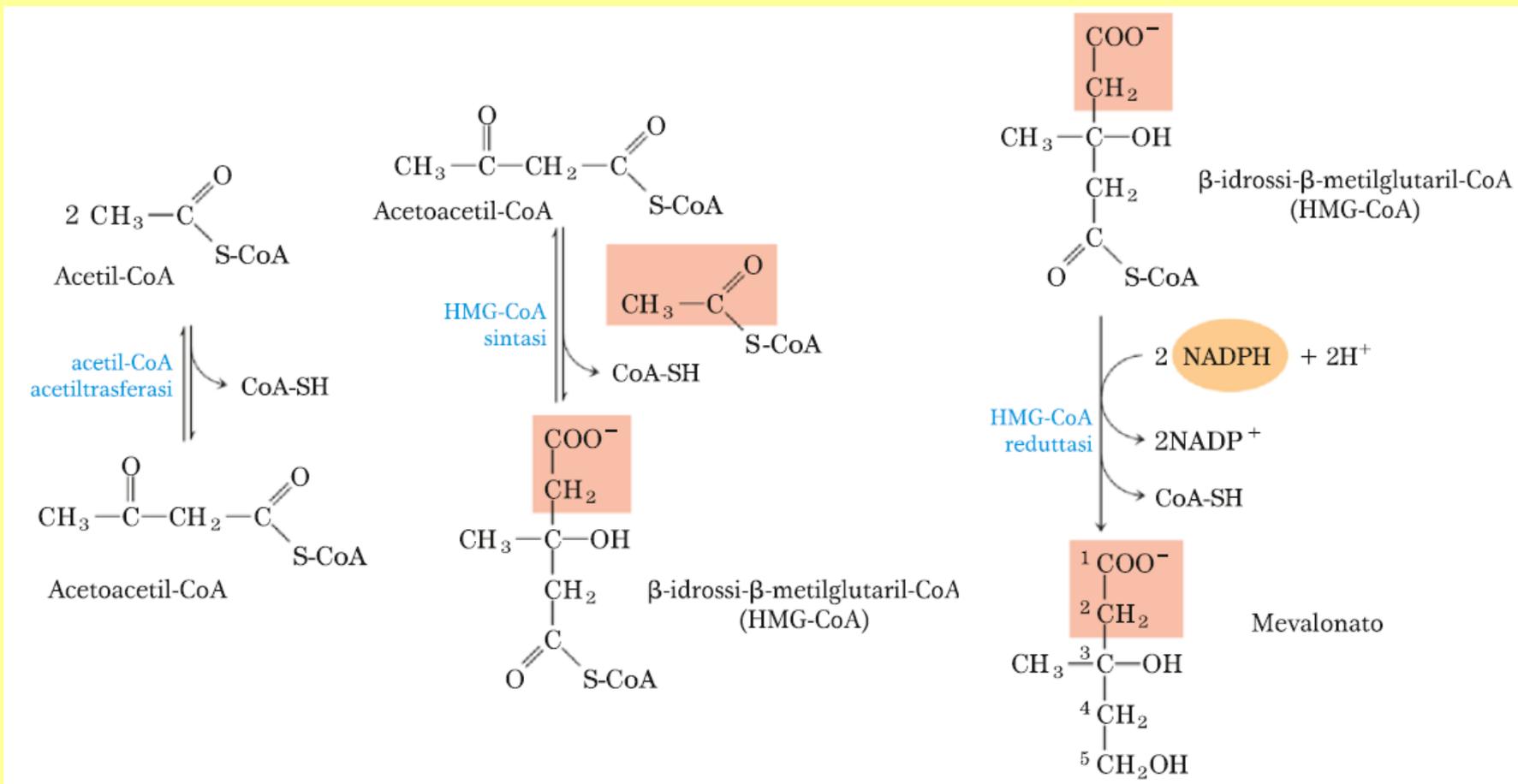
E' la via dell'acido mevalonico (5C) e parte dall'acetilCoA



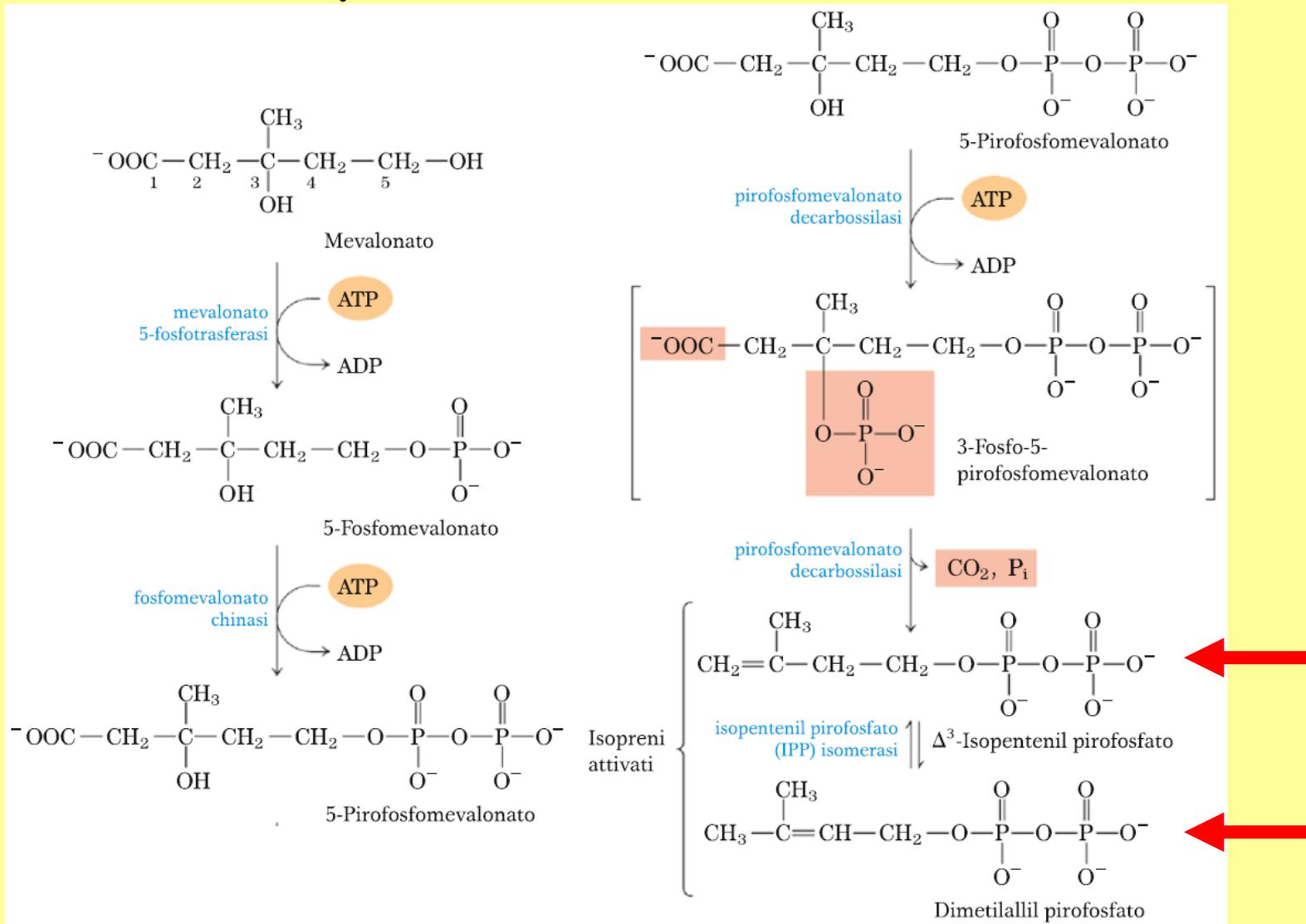
Acido mevalonico



Tre Acetil-CoA sono condensati fra loro e riarrangiati in acido mevalonico.



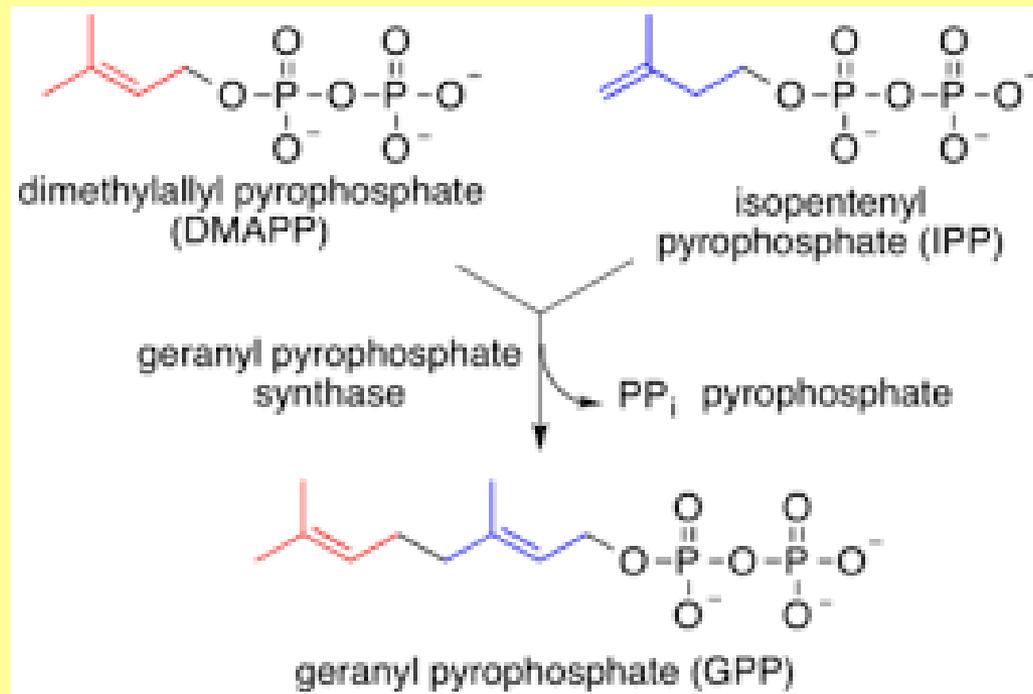
Dall'acido mevalonico si formano le unità a 5 atomi di carbonio: isopentenil PP e dimetilallil PP



IPP E DPP SONO LE PRINCIPALI UNITA' DI BASE A **5 ATOMI DI CARBONIO** DALLA CUI COMPOSIZIONE NASCONO TUTTI I TIPI PIU' IMPORTANTI DI TERPENI.

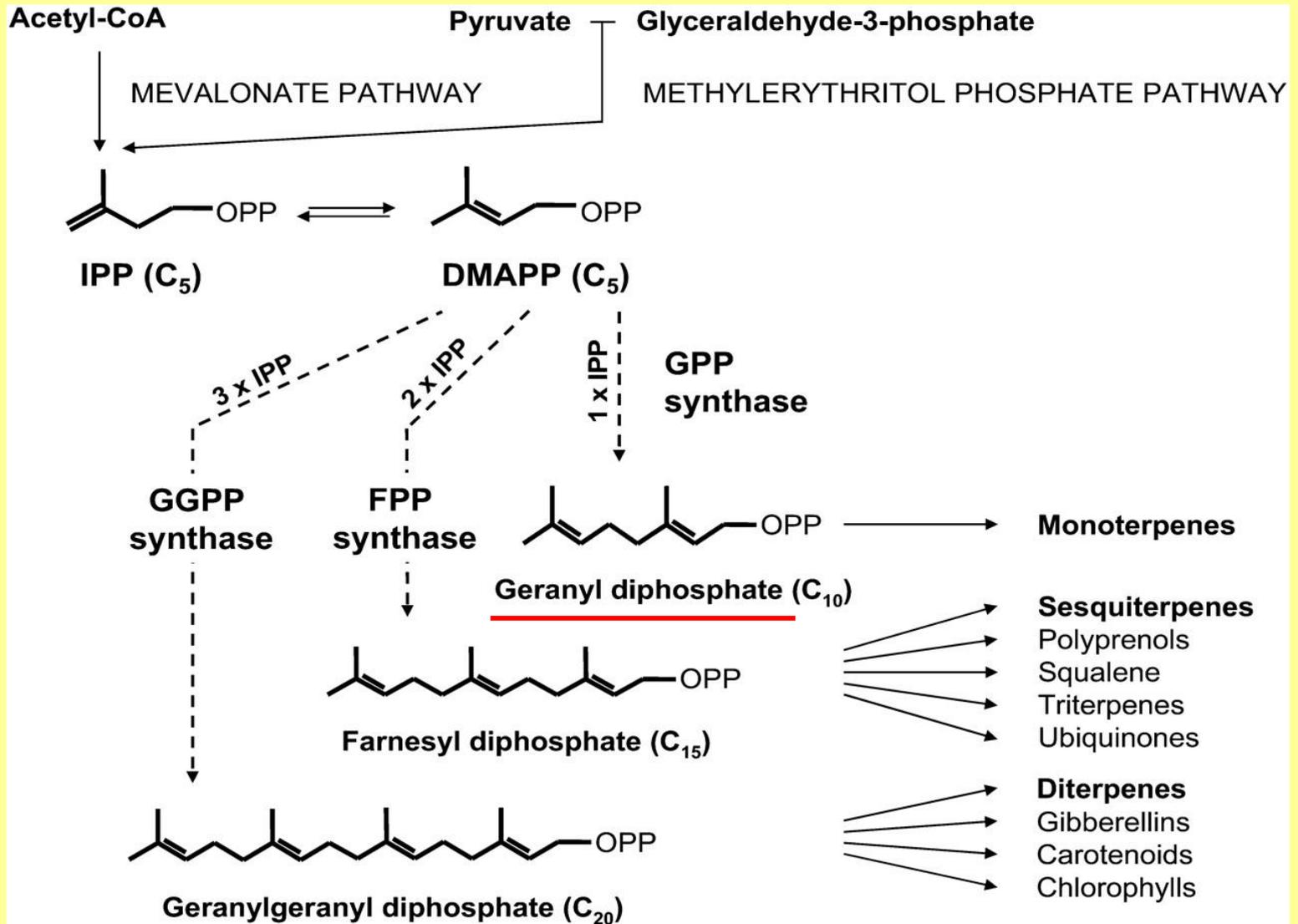
La prima unità che si forma dall'unione dei due è **già un terpene a 10C:**

monoterpene!

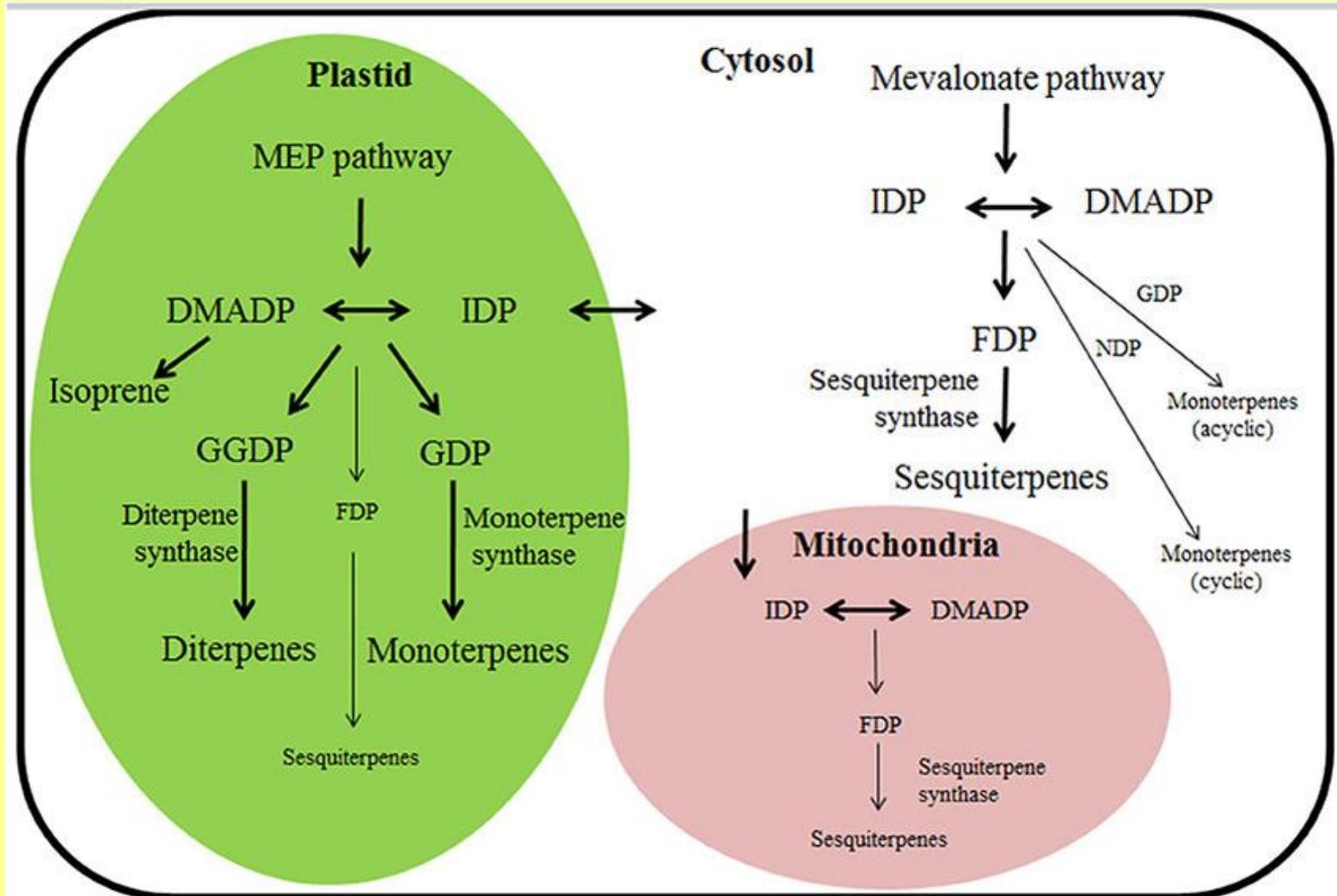


GERANIL PP

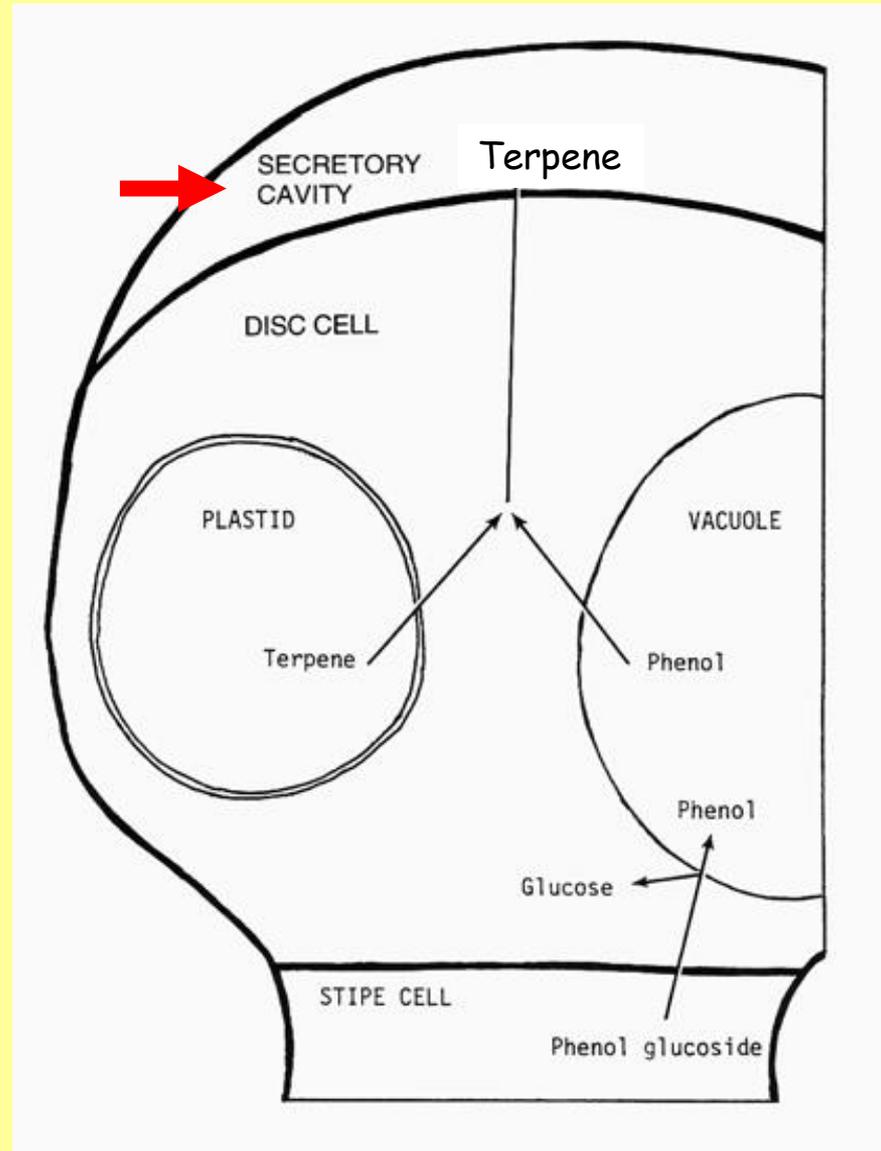
Poi la polimerizzazione continua in vario modo...



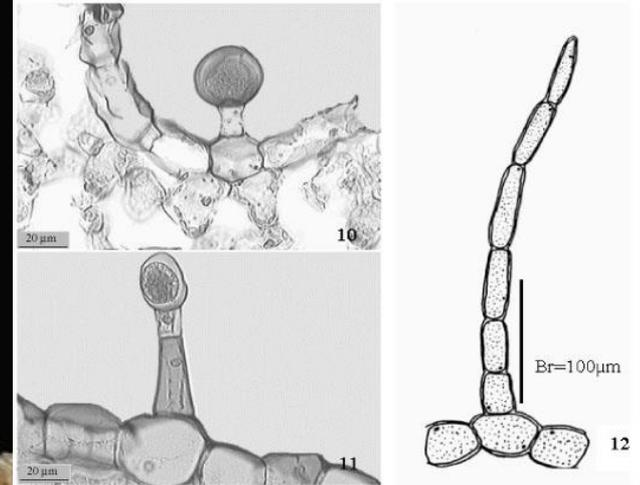
La biosintesi dei terpeni è «ubiquitaria»



In genere non stanno nei vacuoli (non sono idrosolubili!!!!), ma in cavità di vario tipo...



Sono «volatilizzati», oppure accumulati nei peli ghiandolari o in piccole cavità sub-epidermiche...



Figures 10-12 - Micrographs of the middle region of leaves of *Calibrachoa* in cross section. 10) *C. ericifolia*, 11) *C. elegans*, 12) *C. eglandulata*.

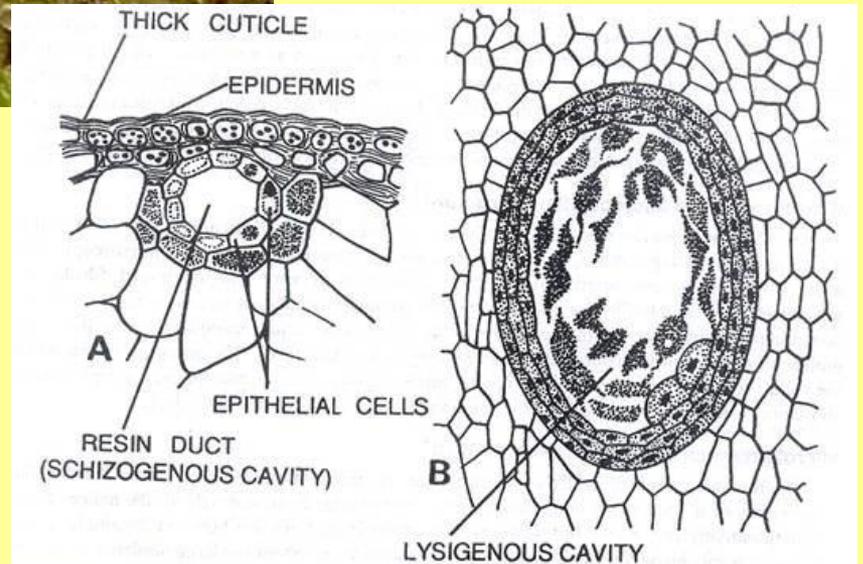
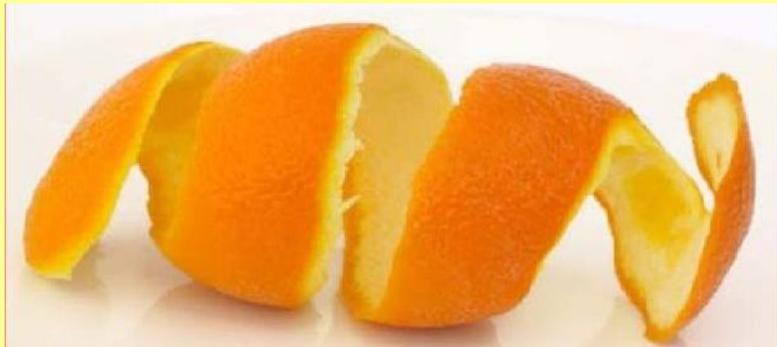
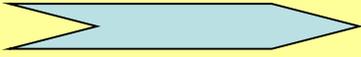


Fig. 34.17. Intercellular spaces. A, a schizogenous intercellular space in *Bryophyllum* stem; B, a lysigenous cavity in a stem.

Cominciamo quindi con le seguenti
CLASSI DI TERPENI:

IPP + DPP  **MONOTERPENI (C10)**

INSETTICIDI NATURALI

(ES: PIRETRINE, CANFORA)

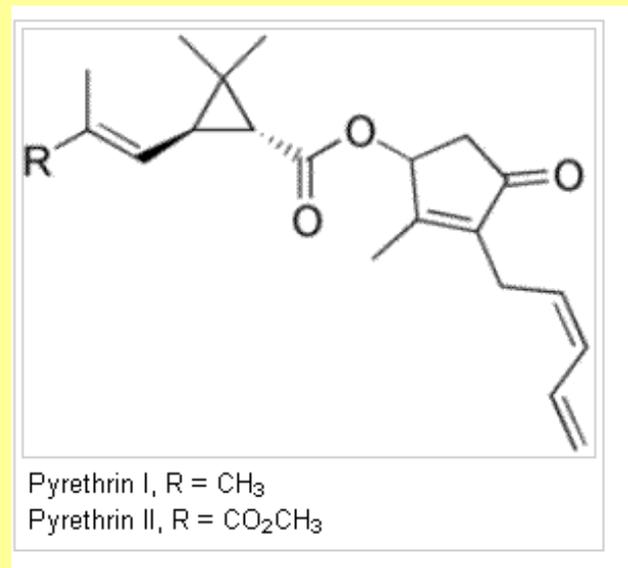
ATTRATTIVI

(ES: LIMONENE, PINENE, MENTOLO)

Alcuni famosi:

IL PIRETRO

Principio attivo estratto dal fiore del genere *Chrysanthemum*



Il piretro è costituito da **due piretrine**, la I e la II, più altri composti simili. Tra le due, la piretrina che ha il maggior effetto insetticida è la **I**.

Il piretro (biodegradabile, insetticida sicuro) non è molto resistente alla luce:

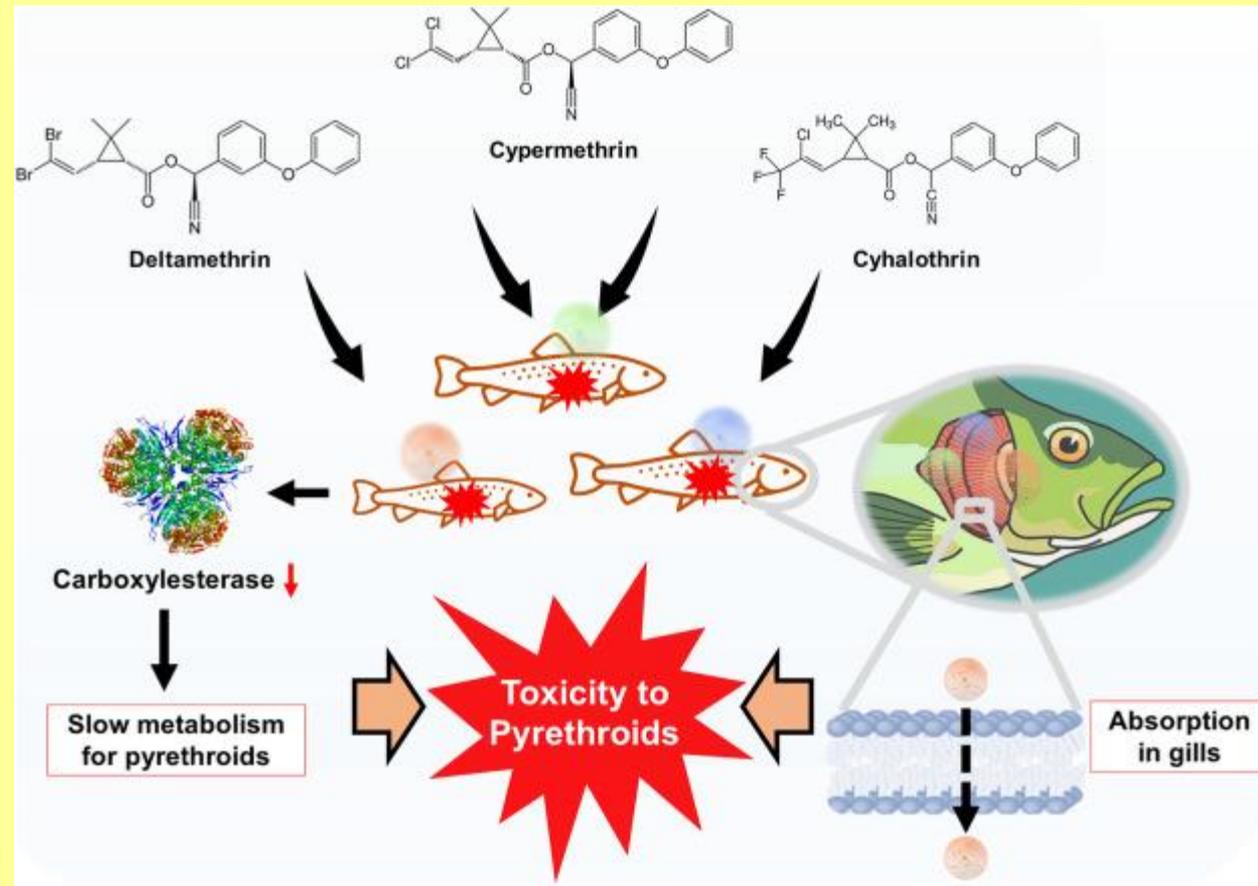
analoghi sintetici denominati **piretroidi....**

....molto stabili...
si accumulano
nell'ambiente,
specie nelle acque
e sono tossici per
gli animali e per
l'uomo!

Pyrethroids



- Derived from pyrethrins; natural compounds produced by chrysanthemum flowers (*C. cinerariaefolium* and *C. cinereum*)
- Pyrethrins will paralyze insect; animal will recover (enzyme detoxification)
- Pyrethroids are synthetic esters derived from pyrethrins; engineered for insect death, "knockdown" effect
- Synthetic modifications (addition of synergists) make these compounds more toxic to organisms, less degradable in environment

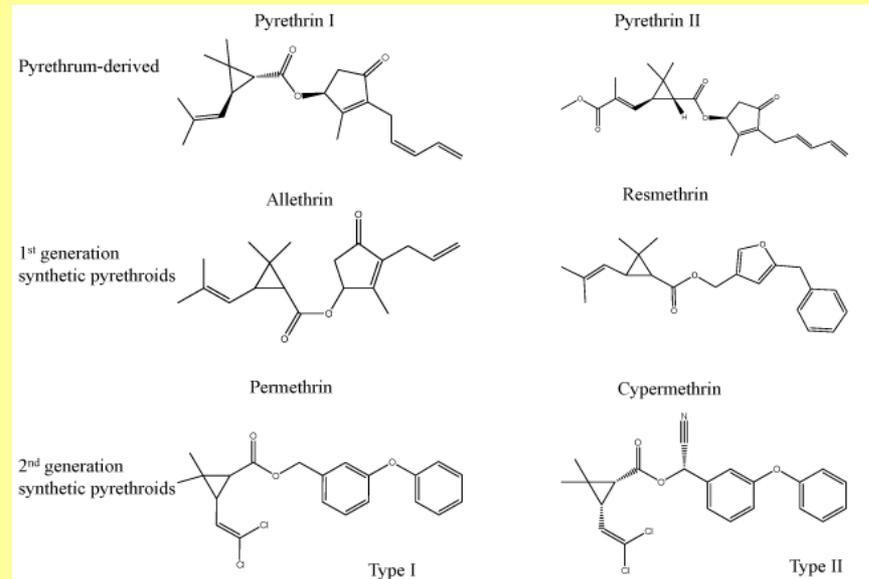


Sono ECCITOTOSSINE ASSONICHE

I piretroidi **ritardano la chiusura dei canali dello ione sodio** (indispensabili per la trasmissione nervosa!), che rimangono aperti.

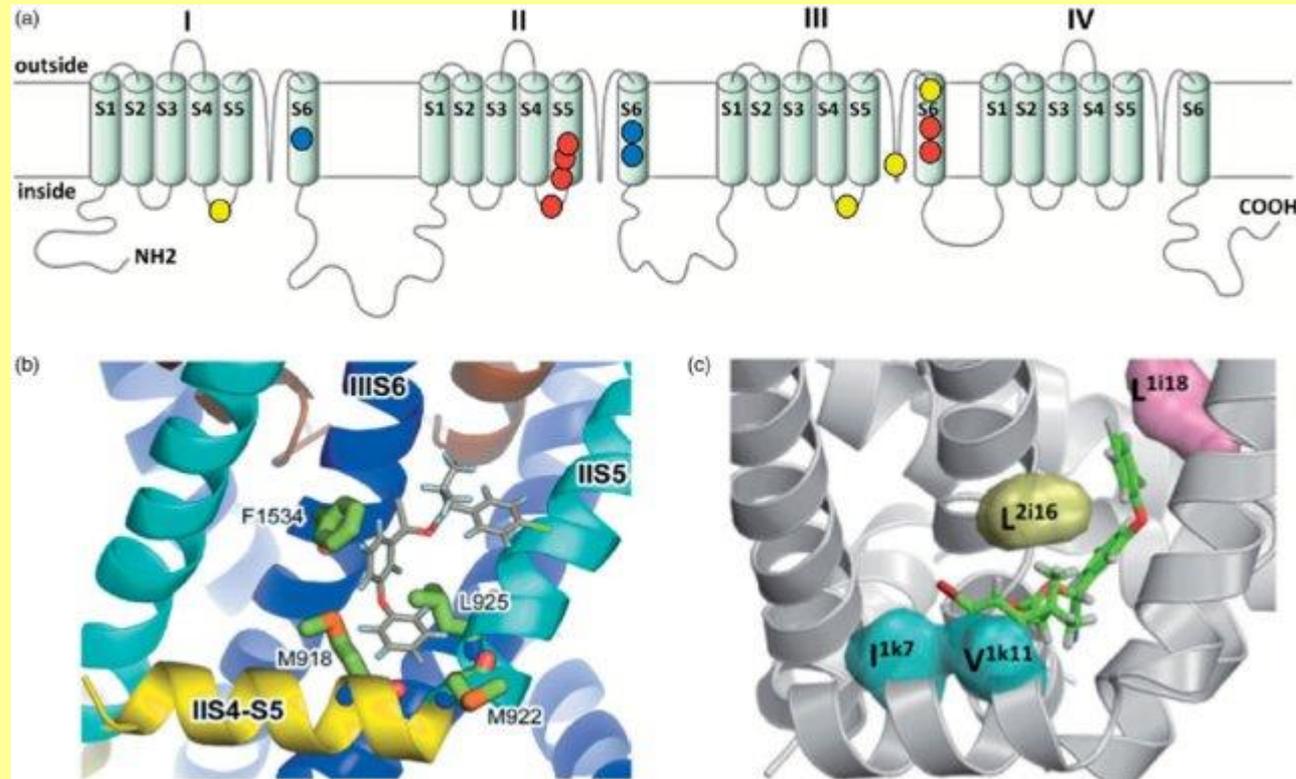
La membrana rimane depolarizzata a causa del prolungamento del flusso di sodio (stato di ipereccitabilità) che poi va a finire nell'impossibilità di ripolarizzare la membrana e ciò porta a paralisi.

Sono molto tossici per gli insetti!



Canale del sodio
con i piretroidi
legati...

Cerchi rossi: type I
Cerchi blu: type II.



The voltage-gated sodium channel as a target for pyrethroids. (a) Diagram of the voltage gated sodium channel showing the four repeat domains (I-IV), each comprising six membrane spanning helices (S1-S6). **The positions of resistance mutations that identify pyrethroid binding sites PyR1 (red circles) and PyR2 (blue circles) are highlighted.** The proposed PyR1 (b) and PyR2 (c) sites are shown in more detail, taken from O'Reilly et al. (2006) and Du et al. (2013). Positions of the mutations originally identified in pyrethroid and DDT-resistant para ts *Drosophila* strains are also shown (yellow circles).

I piretroidi sono particolarmente diffusi nei sistemi di nebulizzazione antizanzare e in generale in tutti i diffusori da esterno studiati per combattere le zanzare e gli insetti.

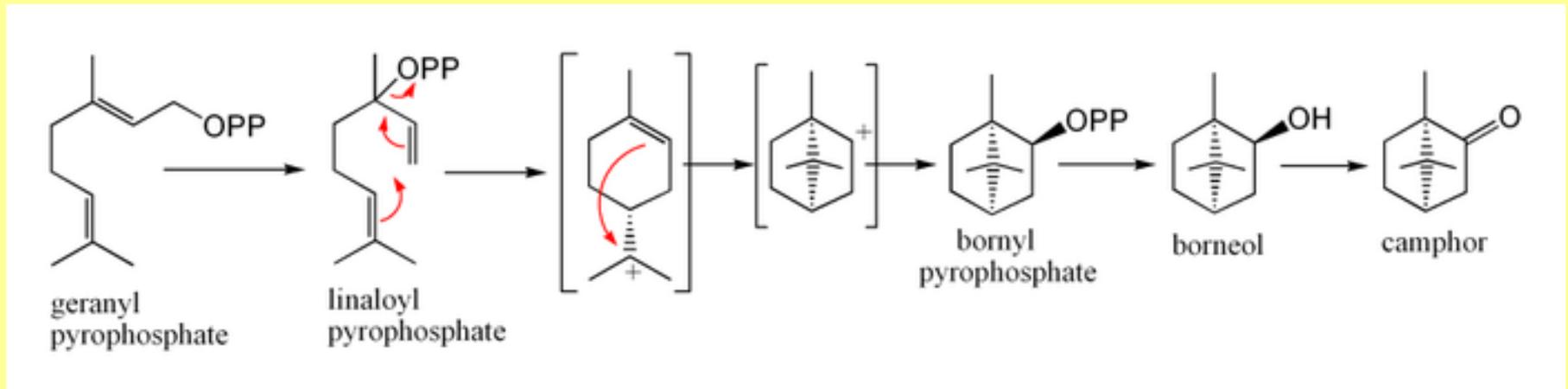
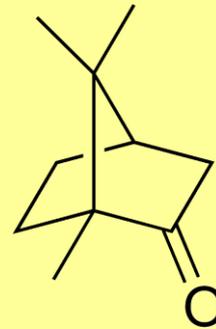
Anche se sono composti "naturali" non sono molto raccomandabili....

Margherite e Crisantemi



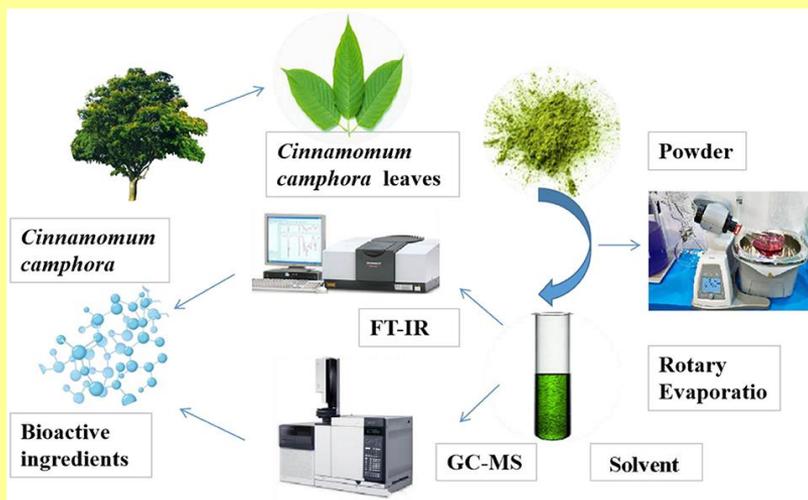
La canfora

La canfora è una sostanza cerosa, bianca o trasparente con un forte e pungente odore: **repellente!!!**



Viene estratta principalmente dal legno della *Cinnamomum camphora* un grande albero sempreverde dell'Asia orientale,

e anche della *Dryobalanops aromatica* (Canfora del Borneo), un gigante delle foreste del Borneo.



Health Benefits Of Camphor Oil

Prevents Skin Infections

Improves Blood Circulation

Relieves Gas

Increases Libido

Reduces Inflammation

Reduces Joint Pain

Relieves Congestion from
the Respiratory System

Prevents Malaria

Relieves Neuralgia

Acts as a Muscle Relaxant



USI:

antitarma, sostanza antimicrobica, imbalsamazione

leggero **anestetico locale** (sedativo della tosse) e sostanza **antimicrobica** (gel anti-prurito e gel rinfrescanti).

Dosi letali negli adulti sono di 50–500 mg/kg (per via orale).



Meccanismo di azione:

Assorbita velocemente attraverso la pelle.

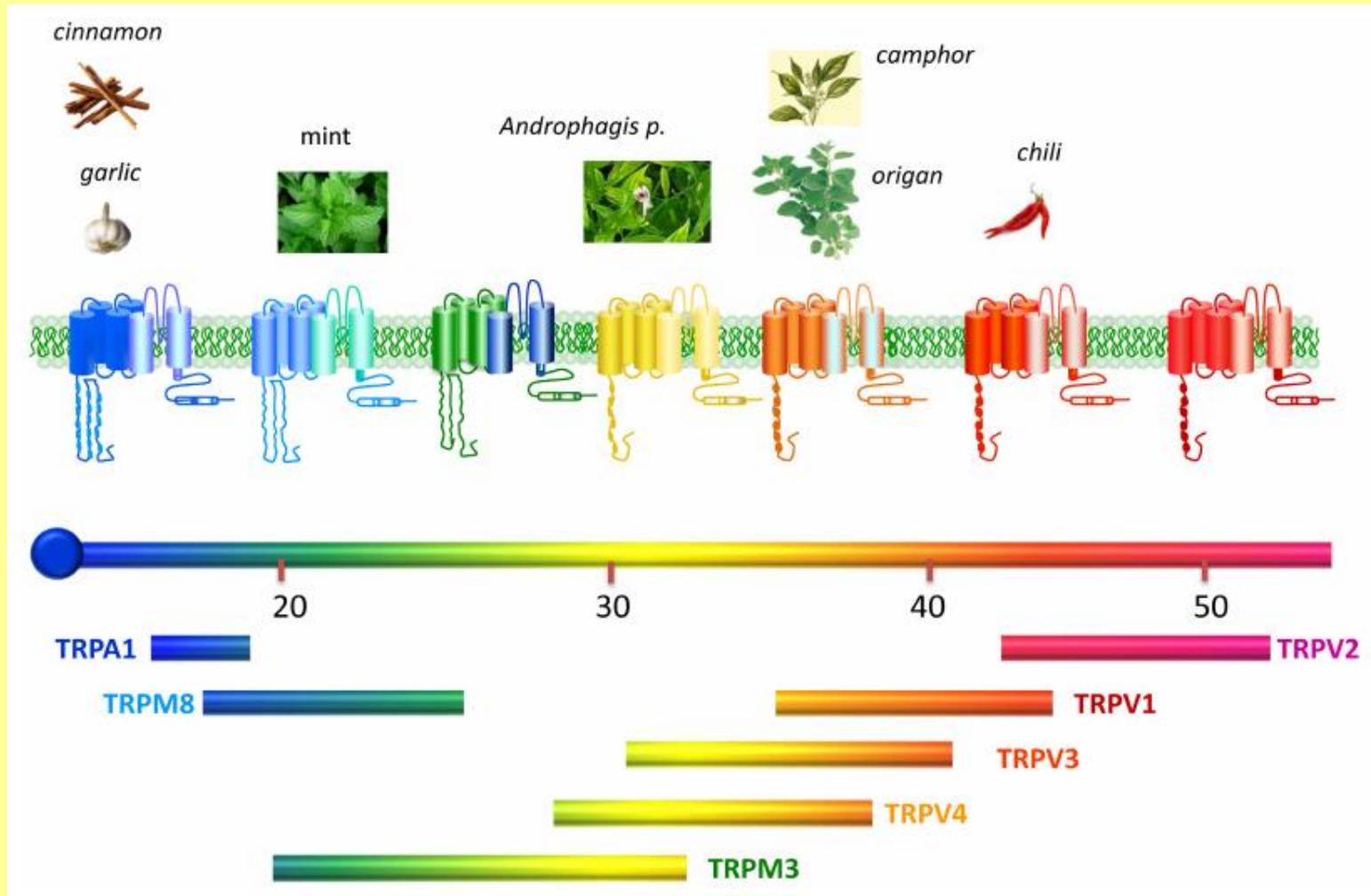
Si lega ed attiva alcuni canali della famiglia dei **Transient receptor potential channels**

TRP channels: **TRPV1 e 3 per il calore**, **TRPM8 per il freddo a piccole dosi**.

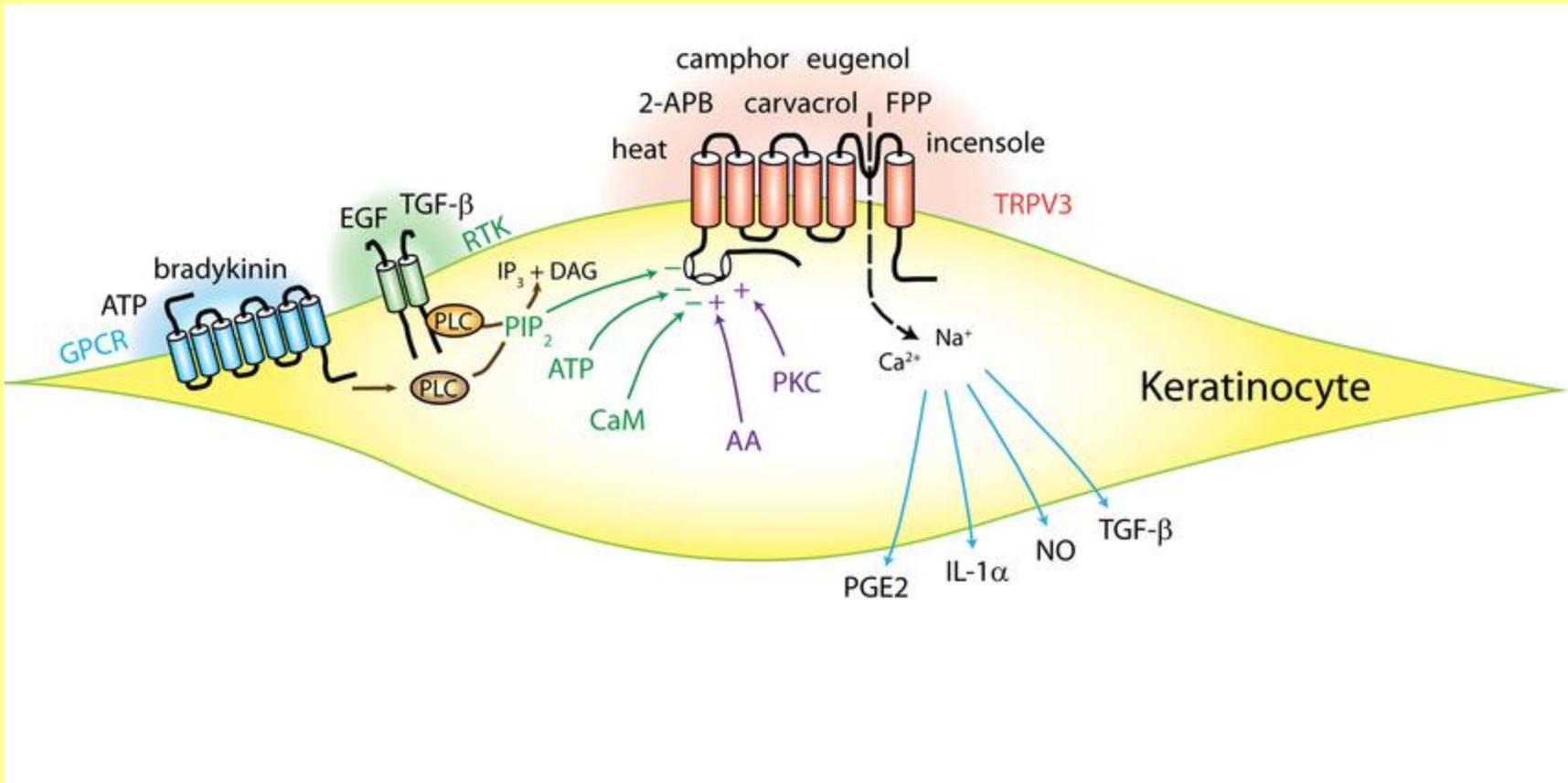
Il legame è sempre funzione di affinità e concentrazione.

Agonista di tali recettori insieme a piperina, capscina e vanillina.

Transient receptor potential channels (TRP channels) e vari agonisti!! Dal freddo (blu) al caldo (rosso).

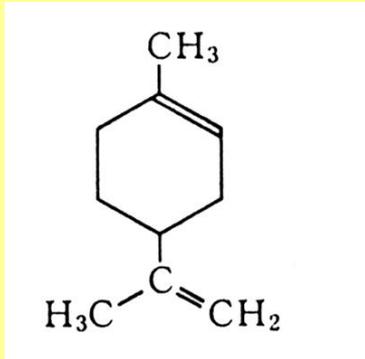


Entrano Calcio e Sodio e parte il segnale!!!!!!

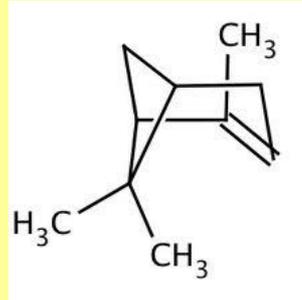


...ed il segnale non ha niente a che fare con la temperatura vera!!!!

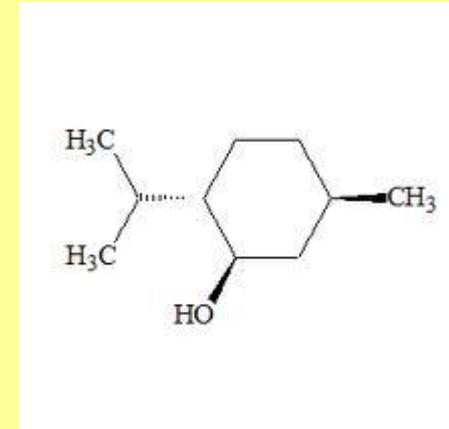
MONOTERPENI VOLATILI e **ATTRAZIONE DEGLI IMPOLLINATORI**



Limonene



Pinene



Mentolo

In medicina:

deboli agonisti dei recettori k-oppioidi

alleviare mal di gola

analgesci per ridurre lievi dolori come crampi, mal di testa e strappi muscolari.

Decongestionanti (curare scottature ed eritemi solari, essendo volatili «rinfrescano»)



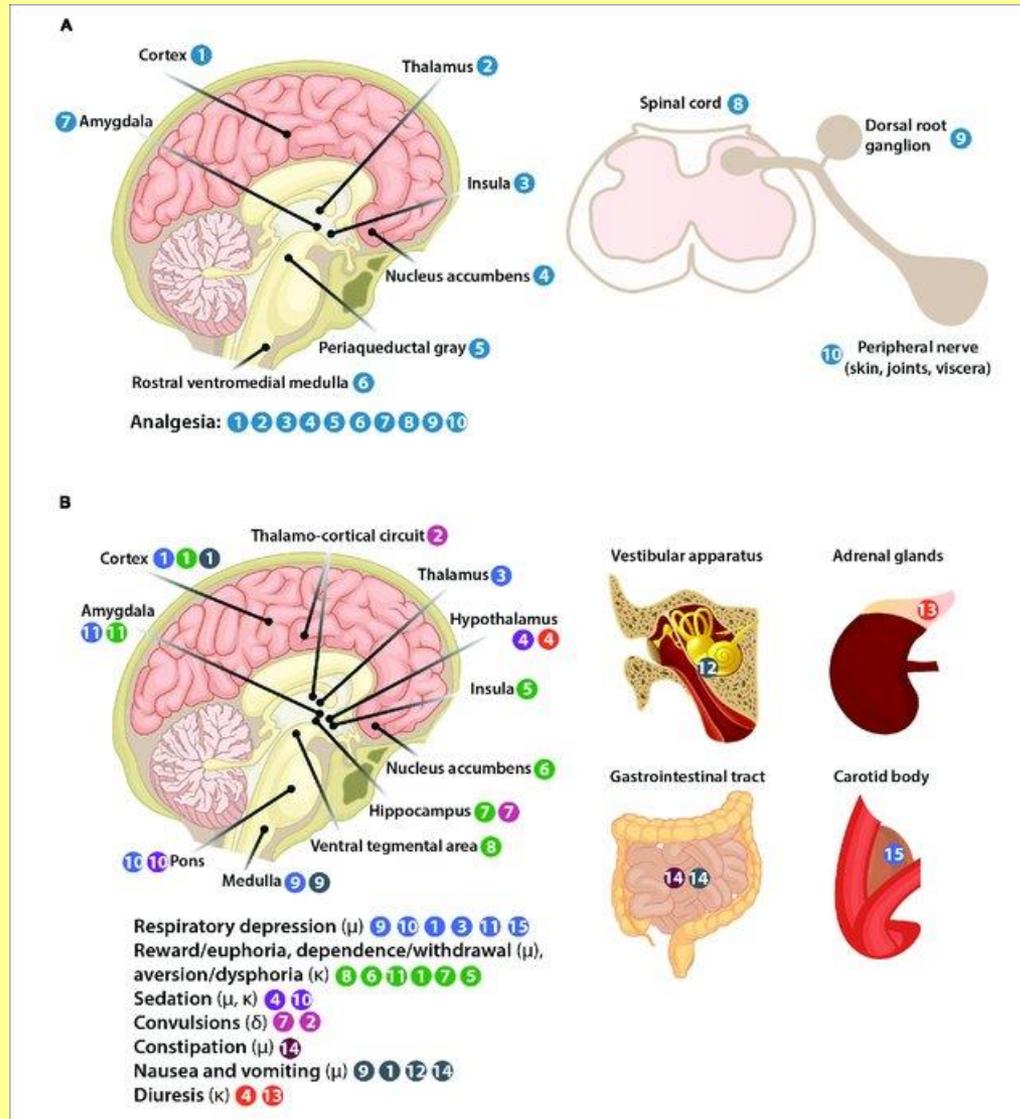
Ad ognuno il suo recettore ed il suo effetto!!!!

Terpenes: Sedative & Anxiolytic Effects



	In Vivo Activities ?= Not tested					Mechanisms					
	Locomotor	Hypnotic	Anxiolytic	Anticonvulsant	Motor coordination	GABA _A receptor	NMDA receptor	Glutamate levels	A _{2A} receptor	CB ₂ receptor	
Myrcene	X	X			X	X					
Pinene	X	X	X		?	X					
Phytol	X	X	X		X	X	X				
Terpinolene	X	?	?		?	X					
α-Terpineol	?	?	?		?	X					
Limonene	X	X	X		X	X	X		X	X	
Linalool	X	X	X		X	X		X			
β-Caryophyllene		X	X		X					X	

In quanto i recettori degli oppioidi sono tanti e con localizzazioni/funzioni diverse....



QUESTI TIPI DI COMPOSTI (ed i loro simili) COSTITUISCONO GLI: **OLI ESSENZIALI!**

4 classi:

oli essenziali **convulsivanti** (Salvia, Tanaceto, Thuja, Assenzio, Anice),

eccito-stupefacenti,

stupefacenti (Noce moscata, Menta)

e **anticonvulsivanti** (Calamo, Salvia sclarea, Lavanda).



Il gruppo degli oli essenziali eccito-stupefacenti è a sua volta suddiviso in essenze prevalentemente:

stimolanti (Basilico, Finocchio, Limone, Menta, Salvia, Timo)

calmanti o sedative (Camomilla, Lavanda, Maggiorana, Melissa, Verbena).

Funzionano per davvero: azione sui recettori degli oppioidi!!!!!!!!!!!!!!

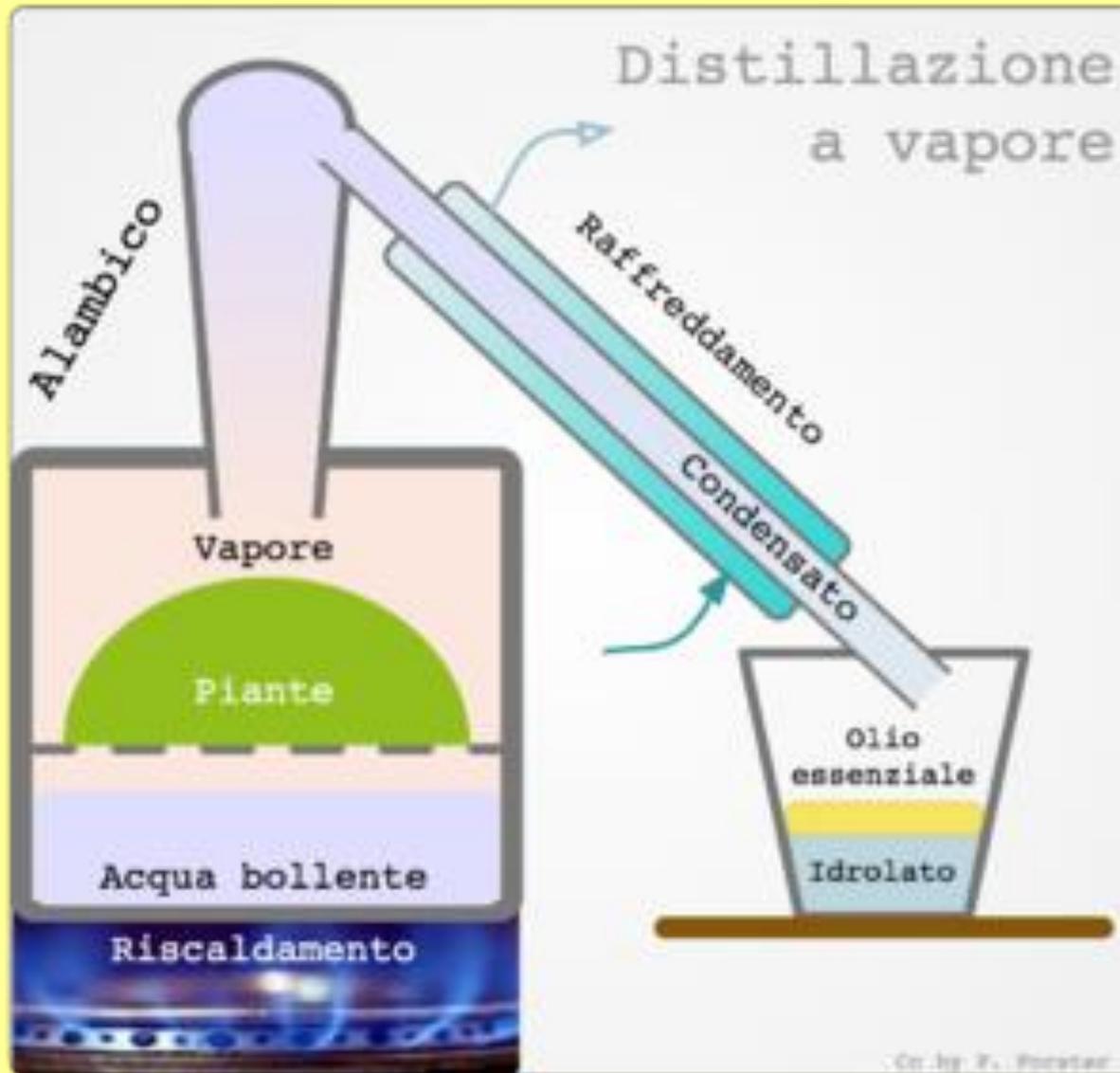
15 Potential Benefits & Uses of ESSENTIAL OILS

1. Alertness	Bergamont	Rosemary	Grapefruit	Peppermint				
2. Relaxation	Bergamont	Chamomile	Geranium	Lavender	Rosewood	Ylang Ylang		
3. Digestion	Ginger	Peppermint						
4. Energy	Cedarwood	Cinnamon	Eucalyptus	Lemon	Orange	Peppermint	Grapefruit	
5. Cleaning	Cinnamon	Eucalyptus	Lemon	Orange	Tea Tree	Grapefruit		
6. Detox	Lemon	Grapefruit	Orange	Peppermint	Rosemary			
7. Memory	Basil	Lemon	Peppermint	Rosemary				
8. Meditation	Cedarwood	Frankincense	Lavender	Orange	Rose	Ylang Ylang		
9. Immunity	Frankincense	Oregano	Eucalyptus	Ginger	Peppermint	Lemon		
10. Sinuses	Frankincense	Eucalyptus	Geranium	Lavender	Peppermint			
11. Hair	Lavender	Rosemary	Rosewood	Sandalwood				
12. Skin	Sandalwood	Lavender						
13. Nails	Frankincense	Myrrh	Lemon					
14. Mood	Bergamont	Clary Sage	Jasmine	Lavender	Lemon	Lemon Verbena	Ruby Grapefruit	Vanilla
15. Sleep	Bergamont	Cedarwood	Chamomile	Marjoram	Rosemary	Sage	Mandarin	Valerian

Ampio uso commerciale...



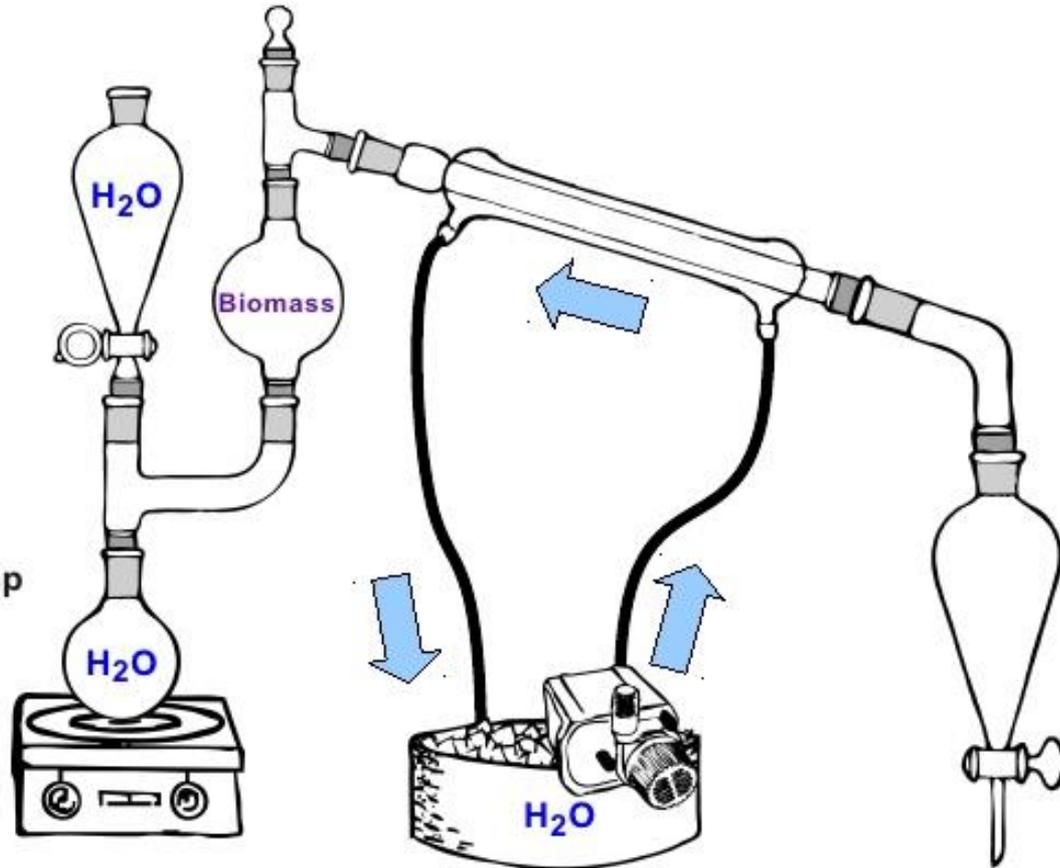
COME SI PREPARANO?



In pratica....

Apparatus Preparation

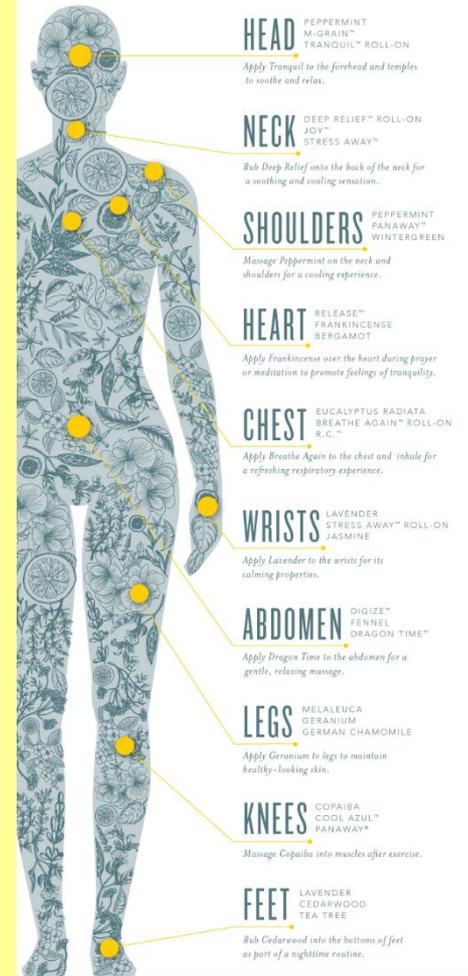
1. Check for loose connections between glassware.
2. Add water to **Round-Bottom Flask**, **Addition Funnel**, and **Water Tub**.
3. Load biomass into **Biomass Flask**.
4. Make sure **Water Pump** is operating and condenser water is flowing.
5. Add ice to **Water Tub**.





YOUNG LIVING
ESSENTIAL OILS

WHERE TO APPLY ESSENTIAL OILS ON YOUR BODY

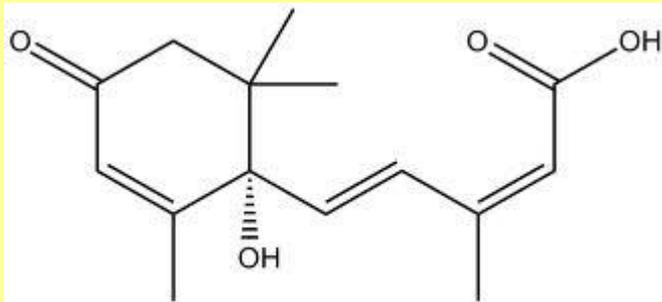


Continuiamo aggiungendo unità a 5 C in step successivi...

MONOTERPENE + IPP \Rightarrow SESQUITERPENE (C₁₅)

Un ormone molto importante:

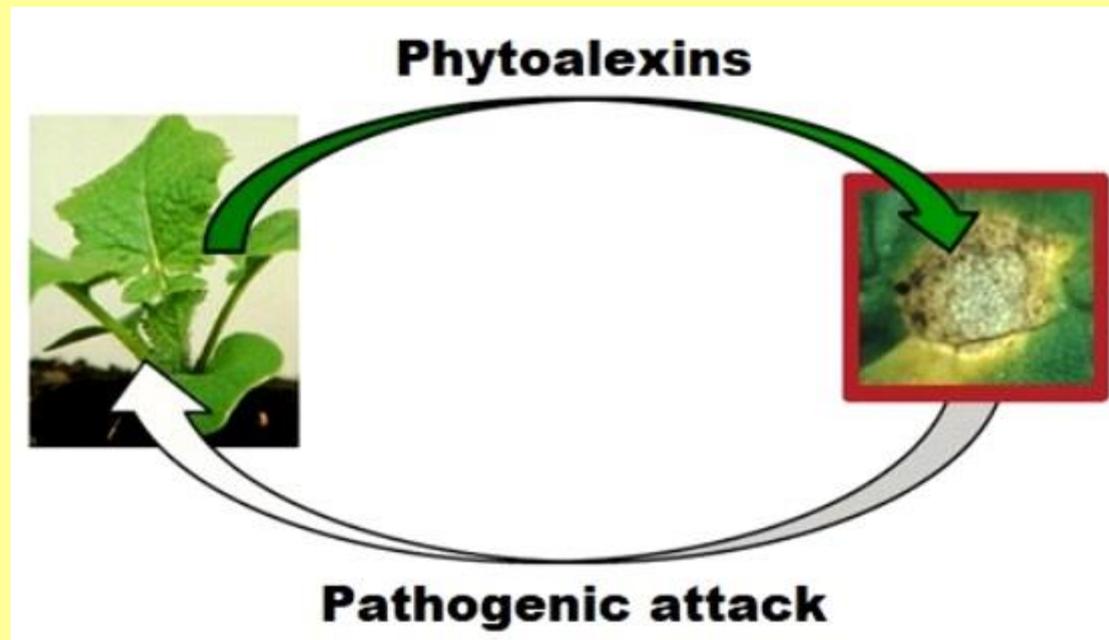
ACIDO ABSCISSICO



Per la chiusura degli stomi e la risposta allo stress (soprattutto idrico)

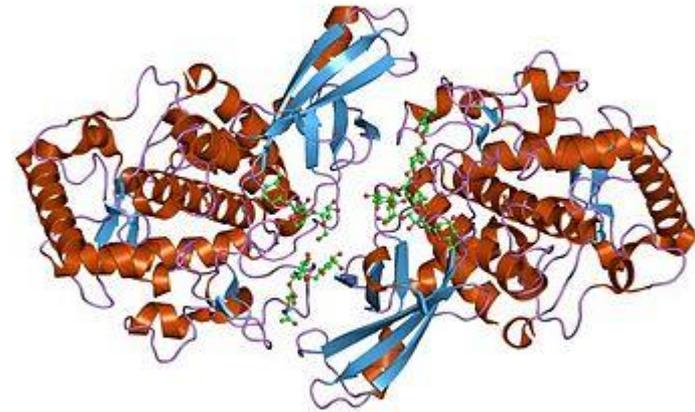
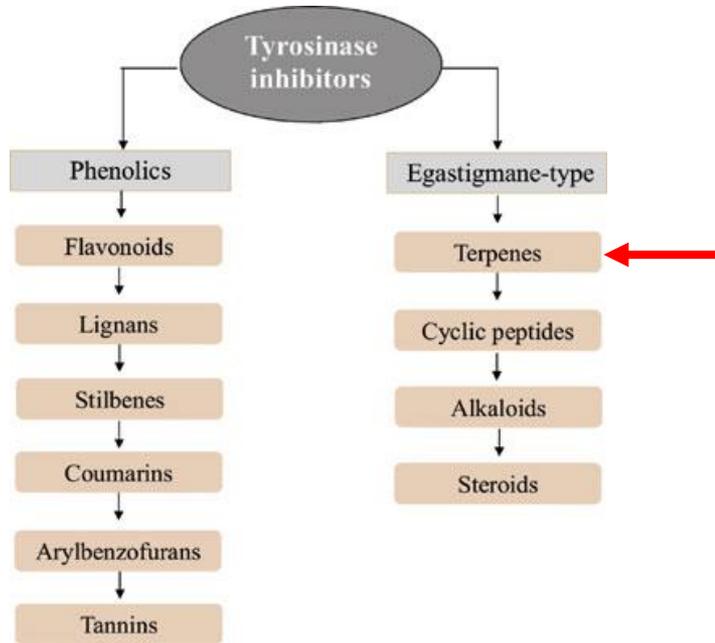


Fra i sesquiterpeni si trovano varie **FITOALESSINE** (ovvero sostanze che aiutano la pianta nella guerra ai patogeni)



Soprattutto, inibiscono germinazione e crescita dei funghi....

Questo tipo di fitoalessine sembra inibire uno specifico enzima fungino: **TIROSINASI** (monofenolo monossigenasi) coinvolta nella sintesi della **MELANINA**...



Reazione catalizzata dalla TIROSINASI, ovvero una monofenolo monossigenasi
 $L\text{-tirosina} + L\text{-dopa} + O_2 \rightleftharpoons L\text{-dopa} + \text{dopa}^{\text{chinone}} + H_2O$

per capire come le fitoalessine funzionino, bisogna parlare un po' dello stress biotico, ovvero...

Cosa succede durante
l'attacco delle piante da
parte dei funghi...

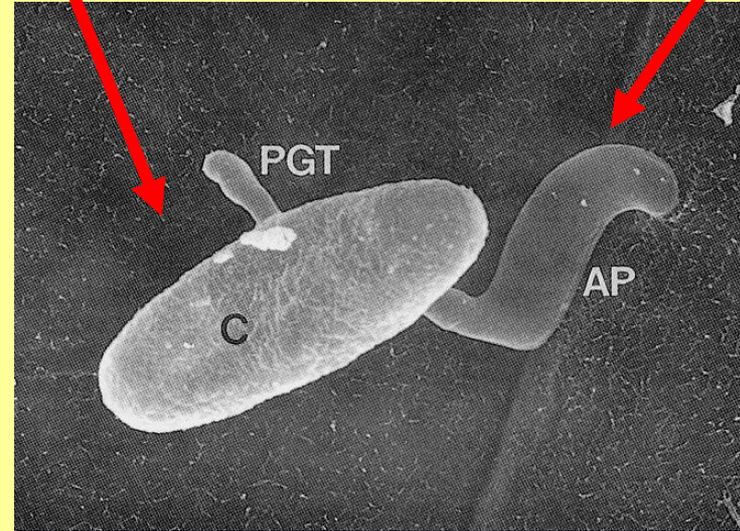


Spora

Appressorio

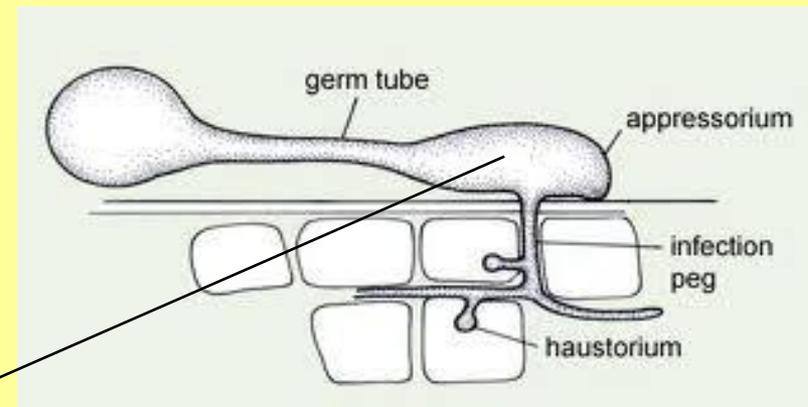
LA SPORA FUNGINA RICONOSCE
LA SUPERFICIE DI ATTACCO:

Recettori per **ALCOLI** presenti
sulla superficie FOGLIARE? Le
cere...



LA SPORA GERMINA SULLA
SUPERFICIE DELLA FOGLIA
FORMANDO APPOSITE
STRUTTURE PER L'INFEZIONE:

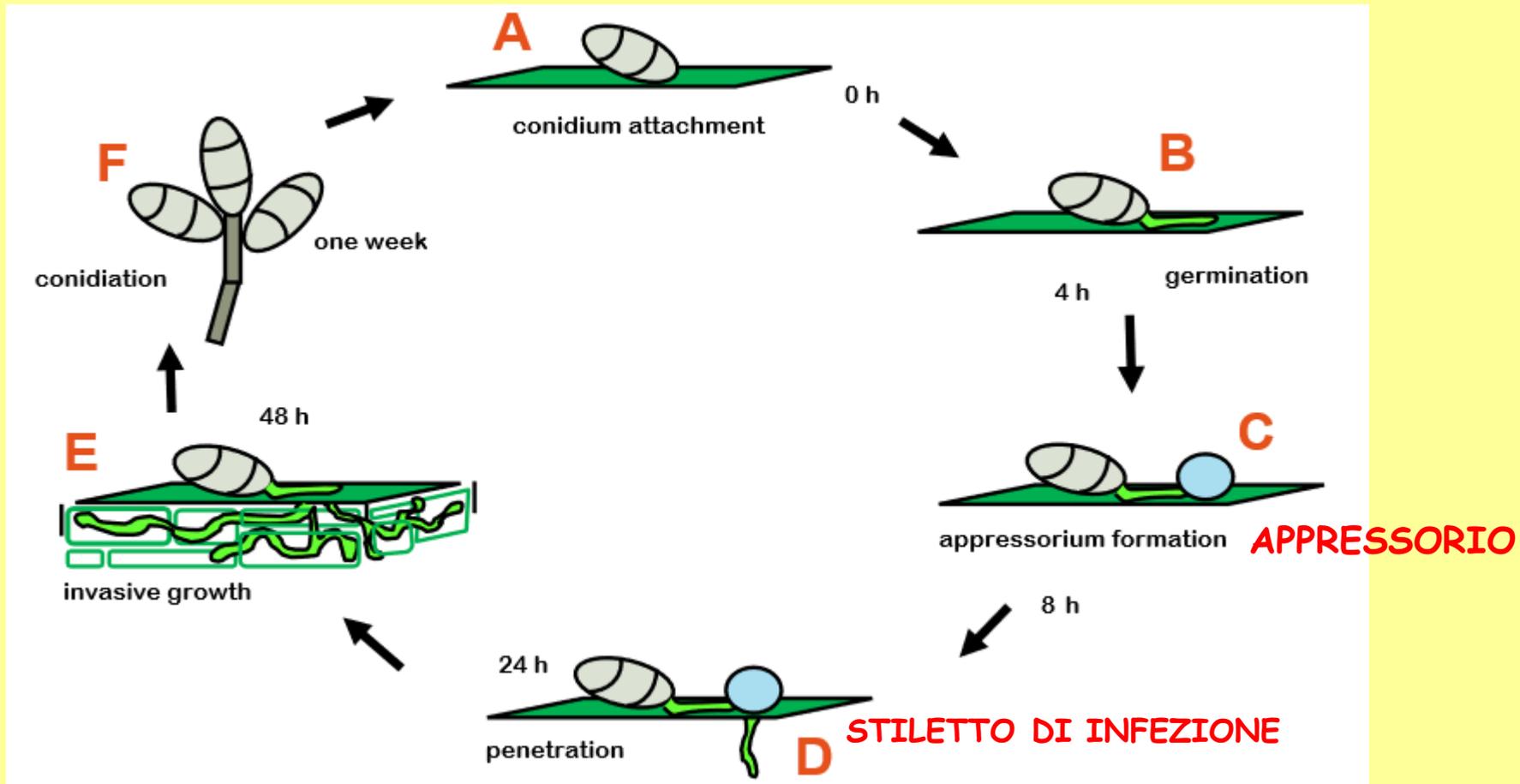
L'**APPRESSORIO**



APPRESSORIO

Comincia quindi l'infezione!!!!!!!!!!!!!!

Ciclo di un fungo patogeno... Una settimana!!!!



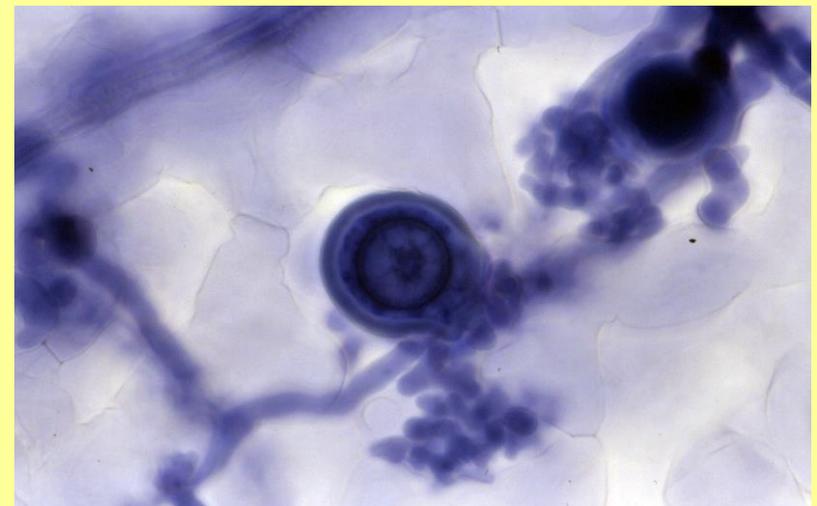
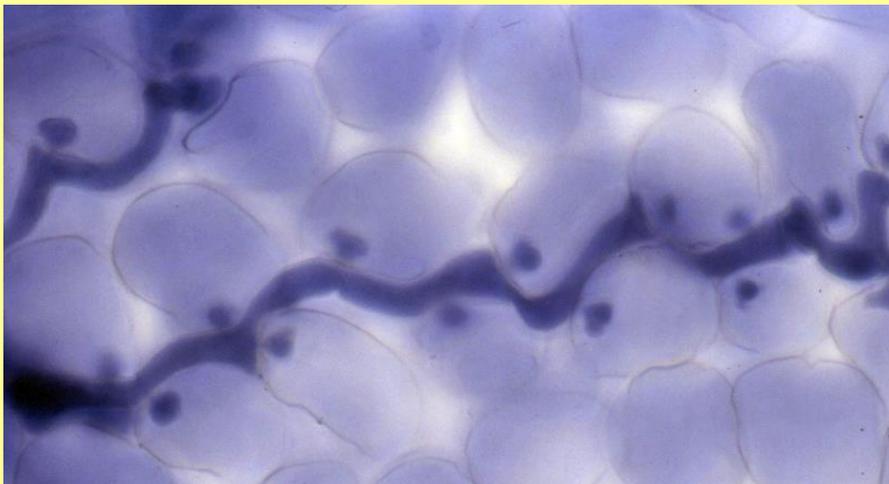
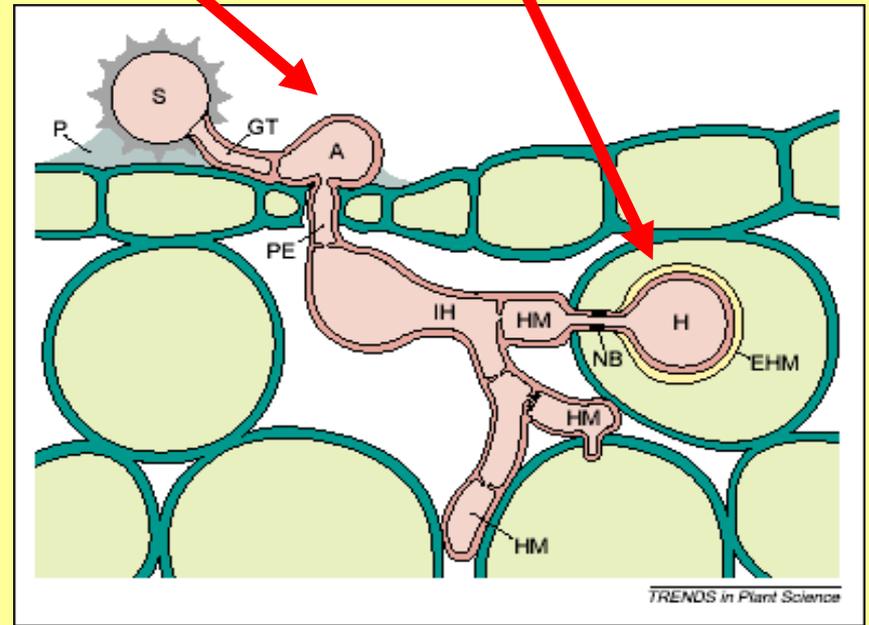
The infection-related morphogenesis of *Magnaporthe oryzae*. [A] Attachment of the conidium to the plant surface. [B] Germination of the conidium by sending out a short germ-tube. The apical end of the germ-tube extends and forms a 'hook', which is probably involved in sensing chemical and physical features of the surface. [C] Formation of a nascent appressorium. A melanin layer forms in the inner appressorial cell wall during the maturation of the infectious structure. [D] Driven by turgor pressure a penetration peg is forced through the plant cuticle to infect the leaf. [E] Formation of intracellular 'bulbous' hyphae. [F] Spread of the infection followed by conidiation.

I funghi più «specializzati» sviluppano l'appressorio vicino agli stomi e sanno passare da questi!!!

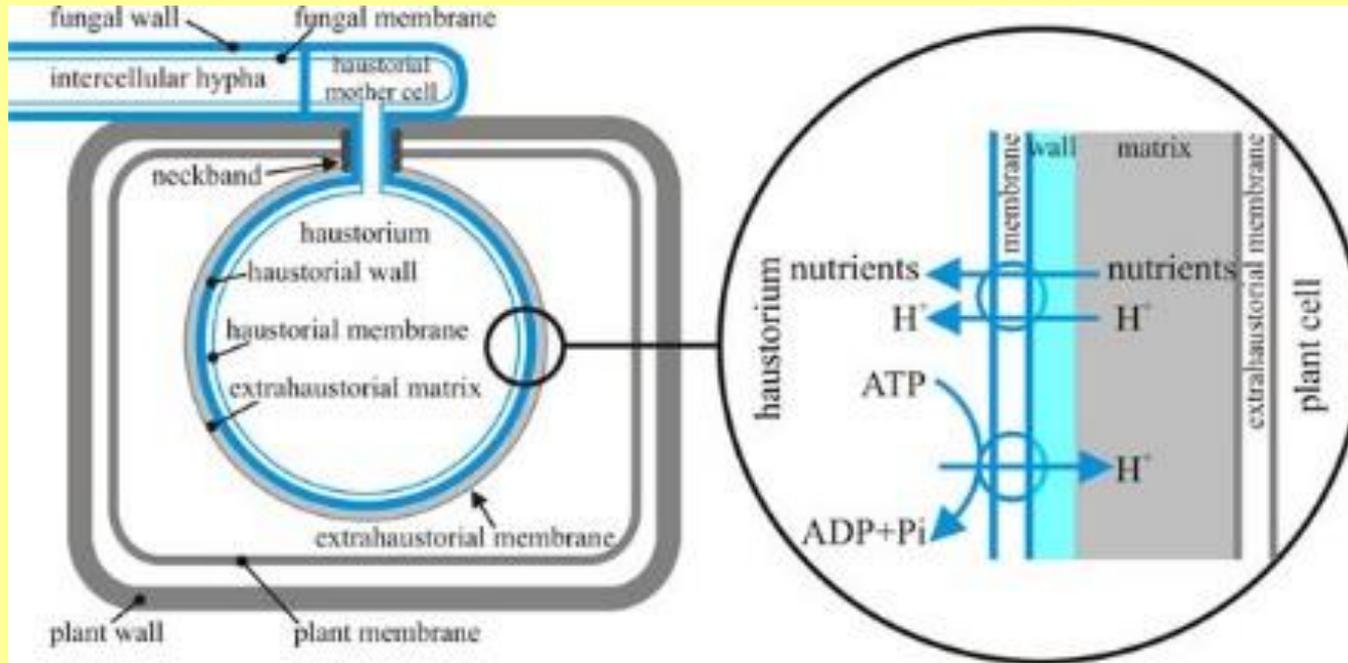
Dopo l'ingresso il fungo sviluppa direttamente dentro le cellule parenchimatiche una struttura specializzata per l'assorbimento: L'**AUSTORIO**.

APPRESSORIO

AUSTORIO



Non proprio uno scambio equo di metaboliti...

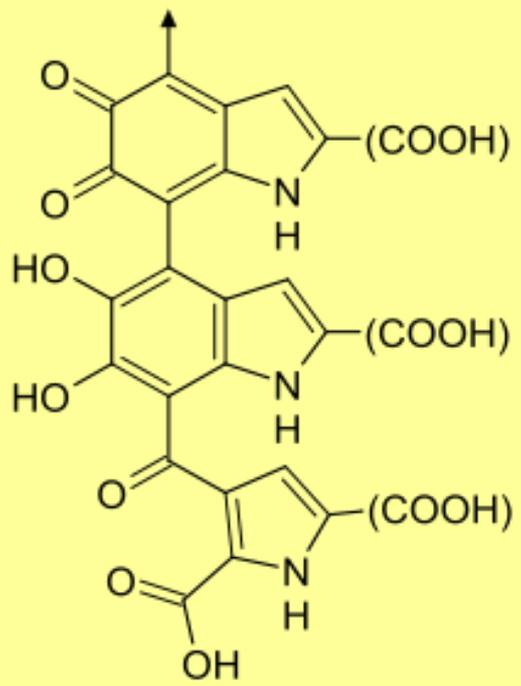
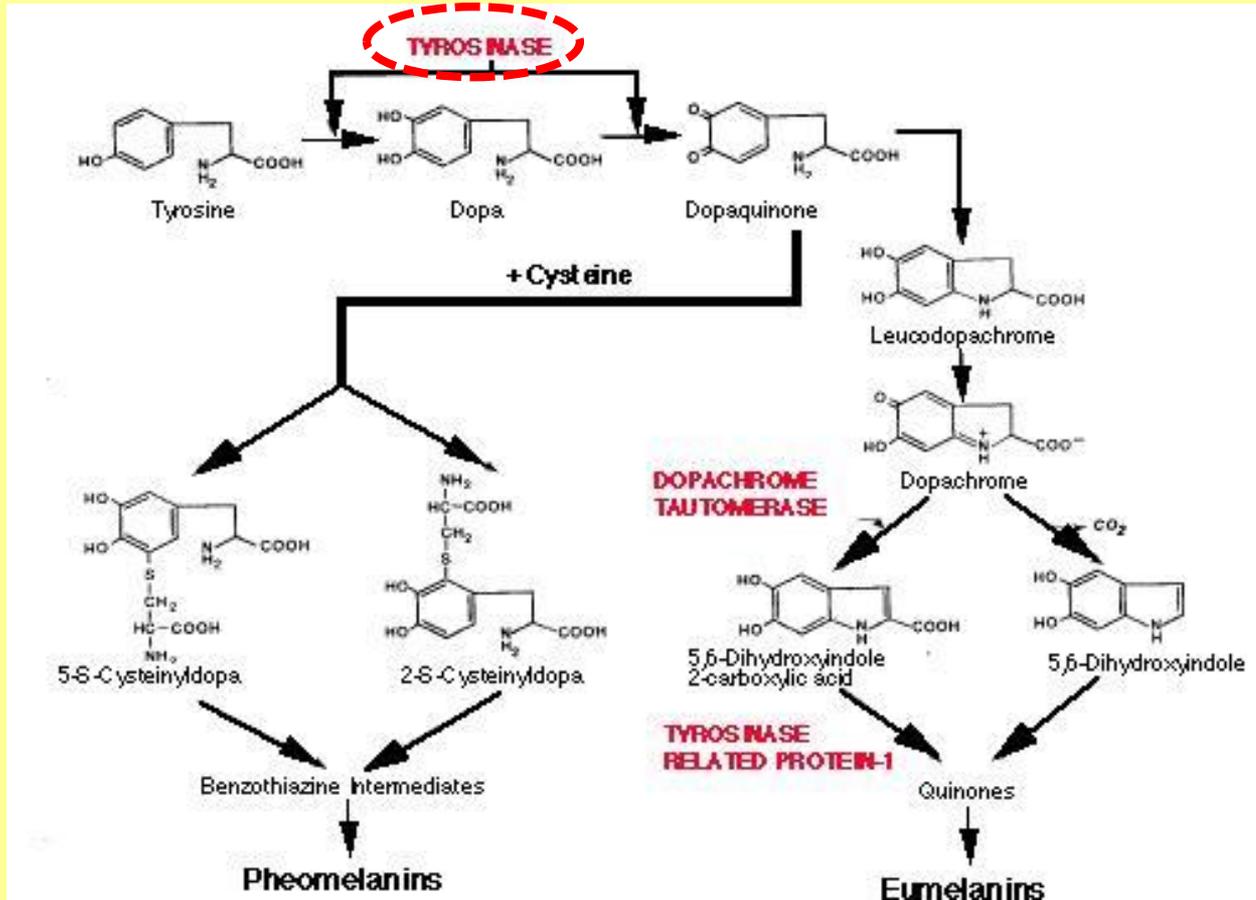


Comunque, durante le prime fasi dell'attacco IL FUNGO CERCA DI **MANTENERE L'ANONIMATO** IL PIÙ A LUNGO POSSIBILE.

QUESTO PERCHÉ I SUOI METABOLITI (**ELICITORI**) SCATENANO NELLA PIANTA I MECCANISMI DI DIFESA!

Appressori e austori permettono al fungo di entrare grazie alla sola forza meccanica

Tale forza viene generata dall'accumulo di MELANINA in appressori e austori: abbassamento del potenziale idrico ed entrata di acqua!!! Per questo i precedenti composti sono antifungini!!!!



Una melanina

L'attacco meccanico e non enzimatico permette un primo mantenimento dell'anonomato....

Poi il fungo comincia a «digerire» la pianta E QUESTE SONO LE CONSEGUENZE...



Altre due considerazioni sui funghi:

Funghi senza strutture specializzate per la penetrazione, oppure tutti i funghi al momento del vero attacco, producono **enzimi litici**:

POLIGALATTURONASI (PG)

Le PG idrolizzano l'OMOGALATTURONANO (uno dei maggior componenti delle PECTINE) in acido galatturonico.

Il fungo comincia a farsi largo (ed a digerire) nei tessuti della pianta....



Le **PG** vengono rilasciate nella parete cellulare e si formano vari

oligogalatturonidi che interagiscono con i recettori della pianta.

Segnale: espressione e secrezione di molecole di difesa quali

PGIP

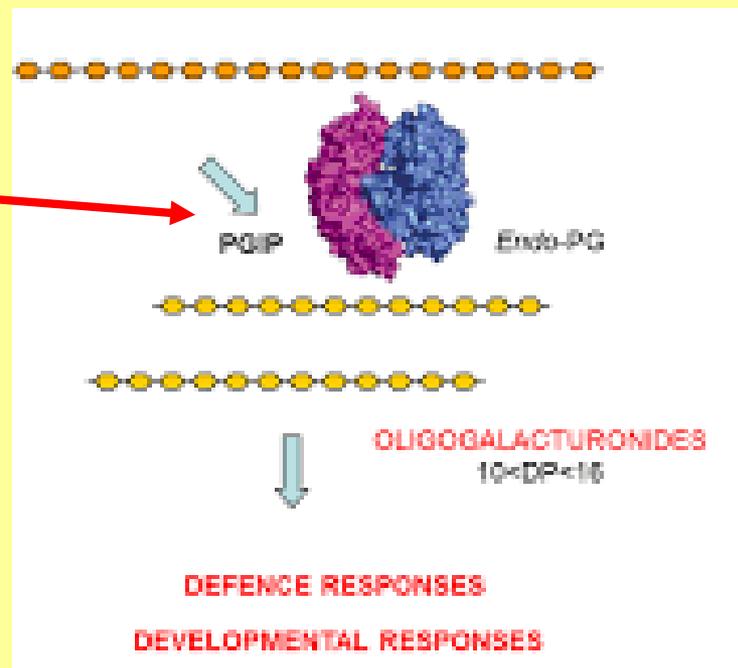
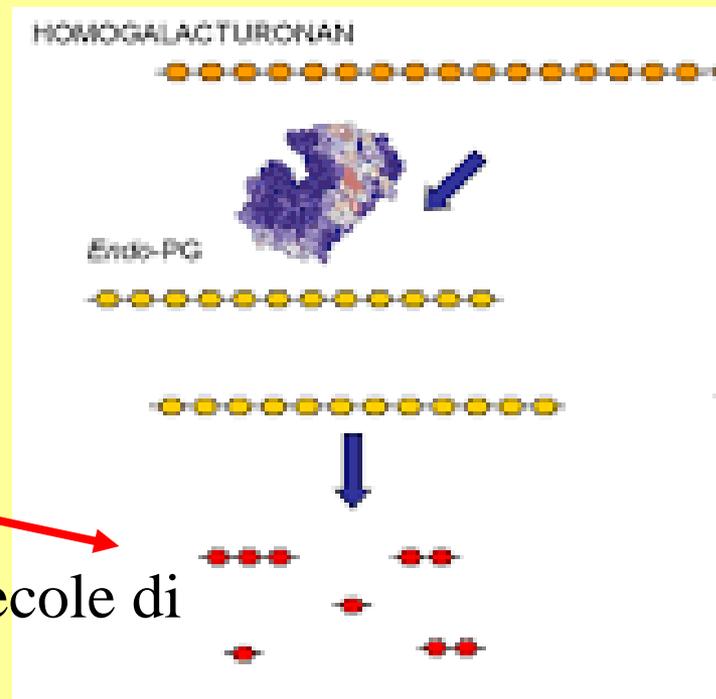
Inibitori delle poligalatturonasi (**PG**)

PRP

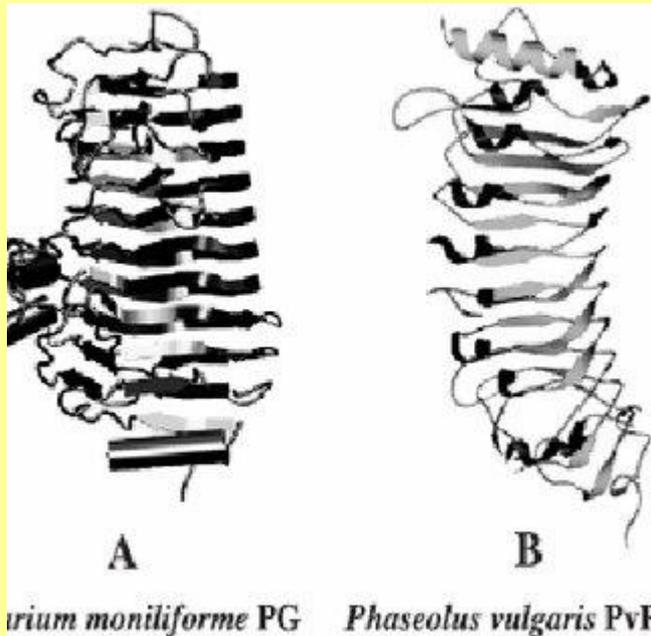
Proteine relative alla patogenesi

Es: chitinasi, glucanasi...

Fitoalessine

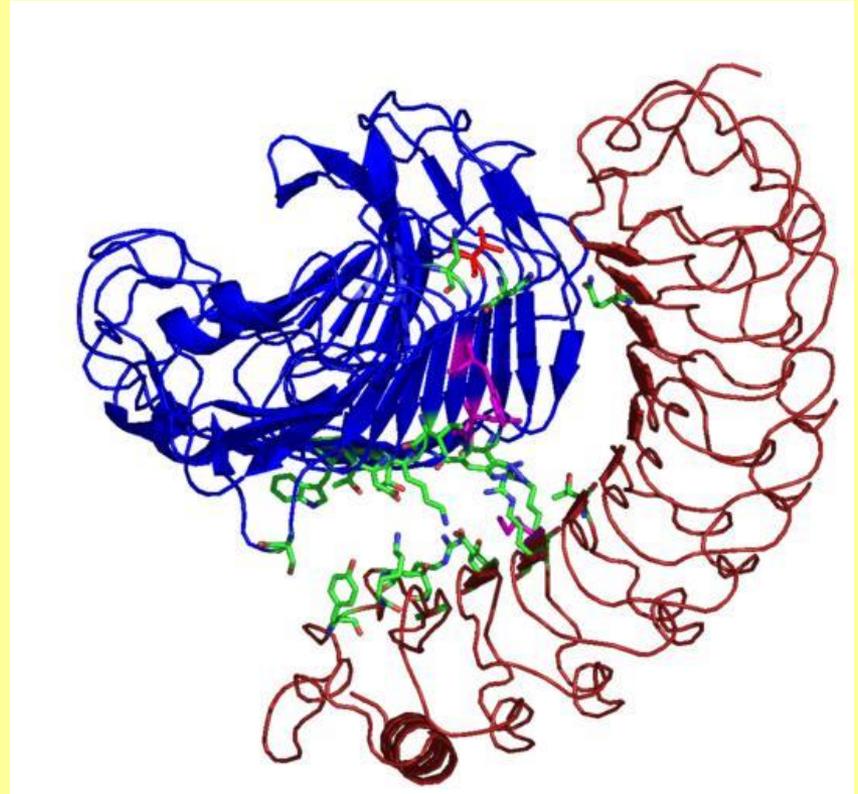


Strutture complementari ed inibizione....
Proteine inibitrici delle poligalatturonidasi (pectinasi)



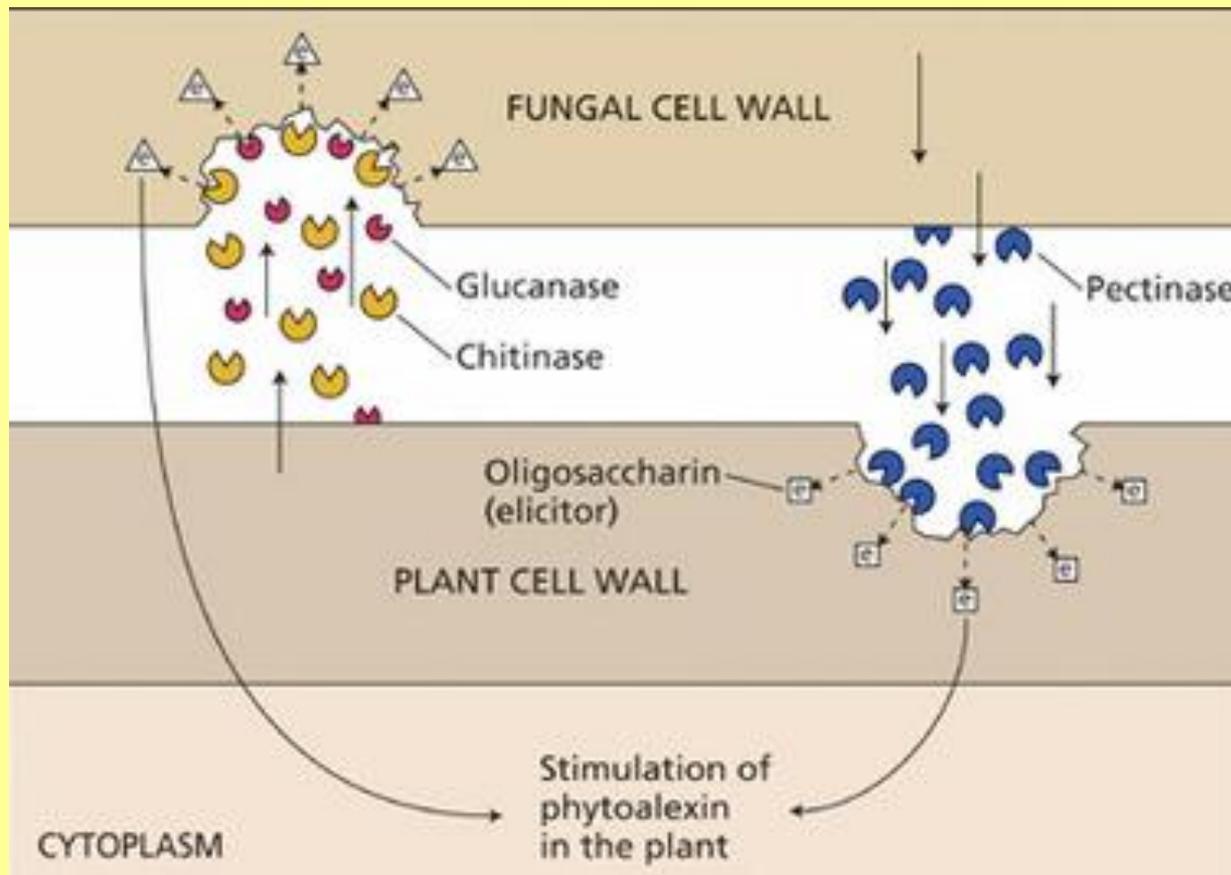
PG

PGIP



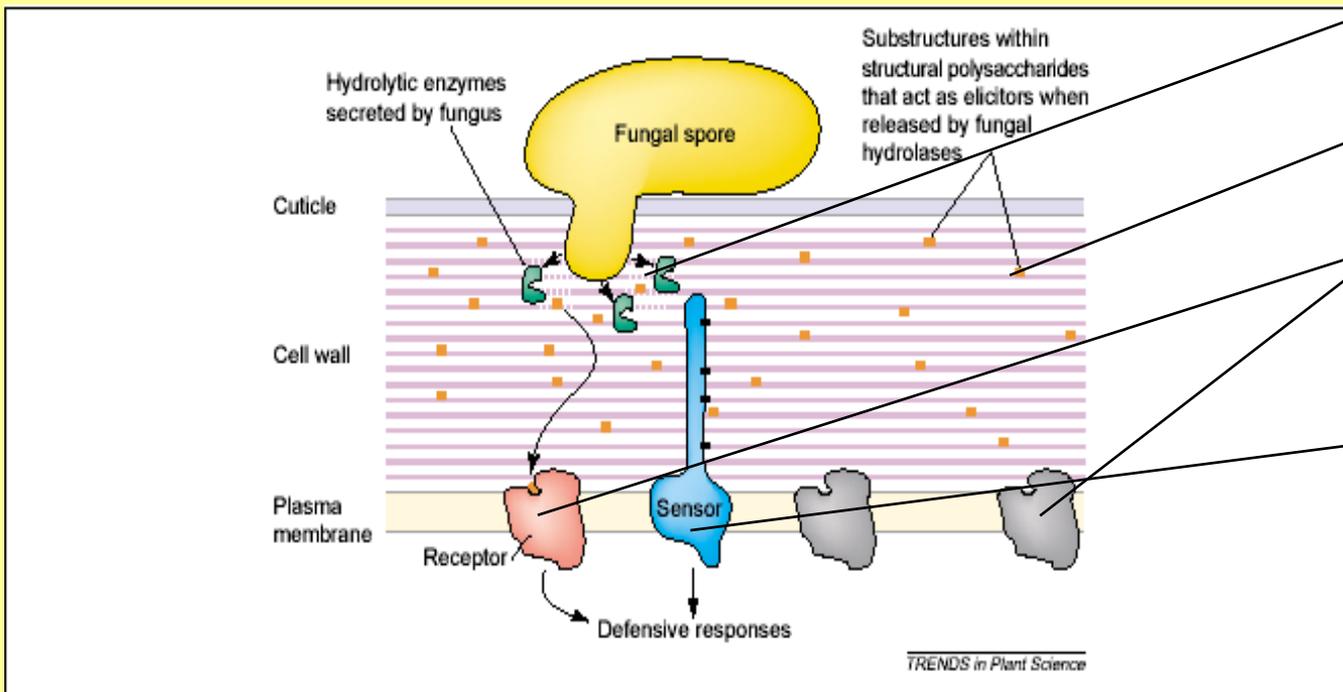
Enzimi che degradano la parete e reciproca produzione di segnali = elicitori!!!!

poligalatturonidasi (pectinasi) da parte del fungo
Glucanasi e chitinasi da parte della pianta



I funghi, che penetrano grazie alla produzione di enzimi litici, vengono individuati molto presto dalle piante.

Questo permette una pronta risposta di difesa.

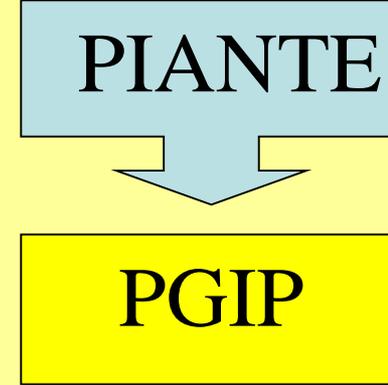
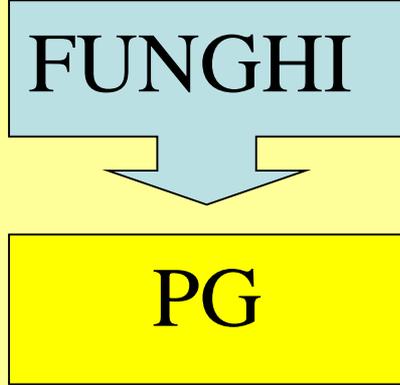


ELICITORI

FRAMMENTI
DI PARETE

RECETTORI DI
MEMBRANA

SENSORE DI
MEMBRANA



Inoltre, l'attività inibitrice delle PGIP riduce direttamente l'attività delle PG.

In questo modo porta le PG a formare catene di **oligogalatturonidi più lunghe (OG)**.

Le OG lunghe sono capaci di indurre altre risposte di difesa...

...come ad esempio la **produzione di H₂O₂** nei pressi delle PG
(ma il processo non e' ancora noto...)

Le PGIP impediscono il processo di invasione e la produzione di nutrienti per la crescita fungina.

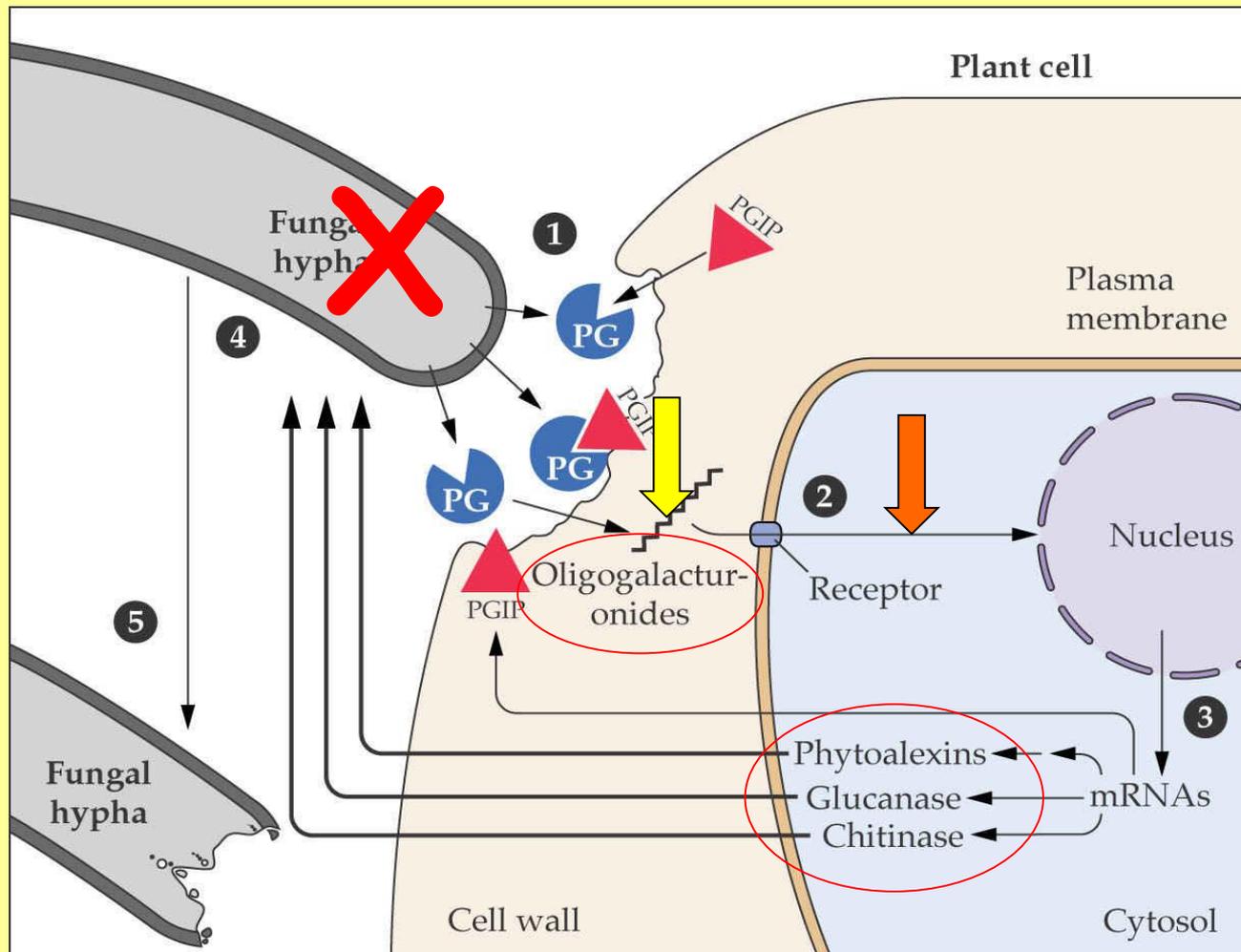
La pianta sente l'attacco e reagisce su più fronti....

Inibitori delle PG

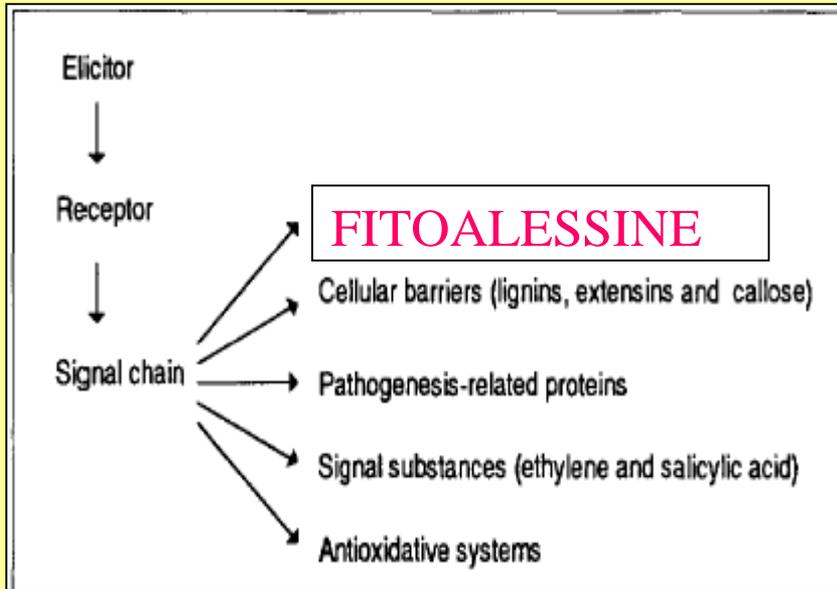
Enzimi litici della parete del fungo

Fitoalessine

Produzione di H_2O_2



UNO DEI PRODOTTI DELLA CASCATA DI SEGNALAZIONE SONO SICURAMENTE LE FITOALESSINE



Scoperte nel 1970:

la produzione di **FITOALESSINE** viene indotta dai frammenti della parete cellulare fungina (**OLIGOSACCARINE**).

Le **FITOALESSINE** sono metaboliti secondari comuni a una vasta gamma di piante. Queste si accumulano intorno al sito di infezione fungina, in concentrazioni tossiche ai patogeni.

Purtroppo la loro attività difensiva non è ancora chiara...

Le strutture delle **fitoalessine** non sono ancora del tutto note, come non lo è nemmeno il loro meccanismo di azione...

Sembra che:

Inibiscano la tirosinasi (parecchio!)

Disorganizzino le membrane

Distruggano la parete fungina

Ritardino la maturazione delle spore fungine

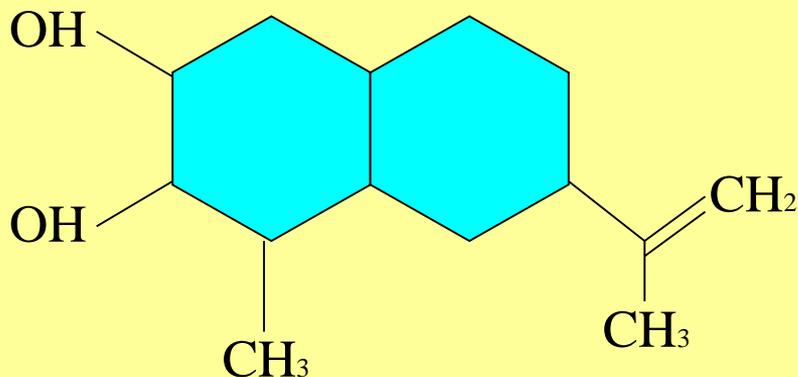
Interferiscano con il metabolismo e la riproduzione del fungo (possono legarsi anche al DNA)

Tossicità alquanto aspecifica: lo sono anche per le cellule che le hanno prodotte... ma non importa! Anzi la necrosi arresta l'avanzata del fungo (HR e PCD)...



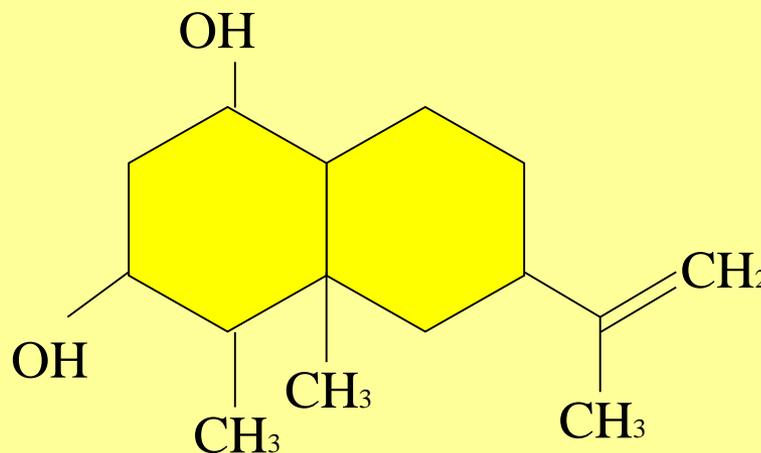
Altre fitoalessine famose, sempre fra i **SESQUITERPENI (C15)**

SOLANACEE

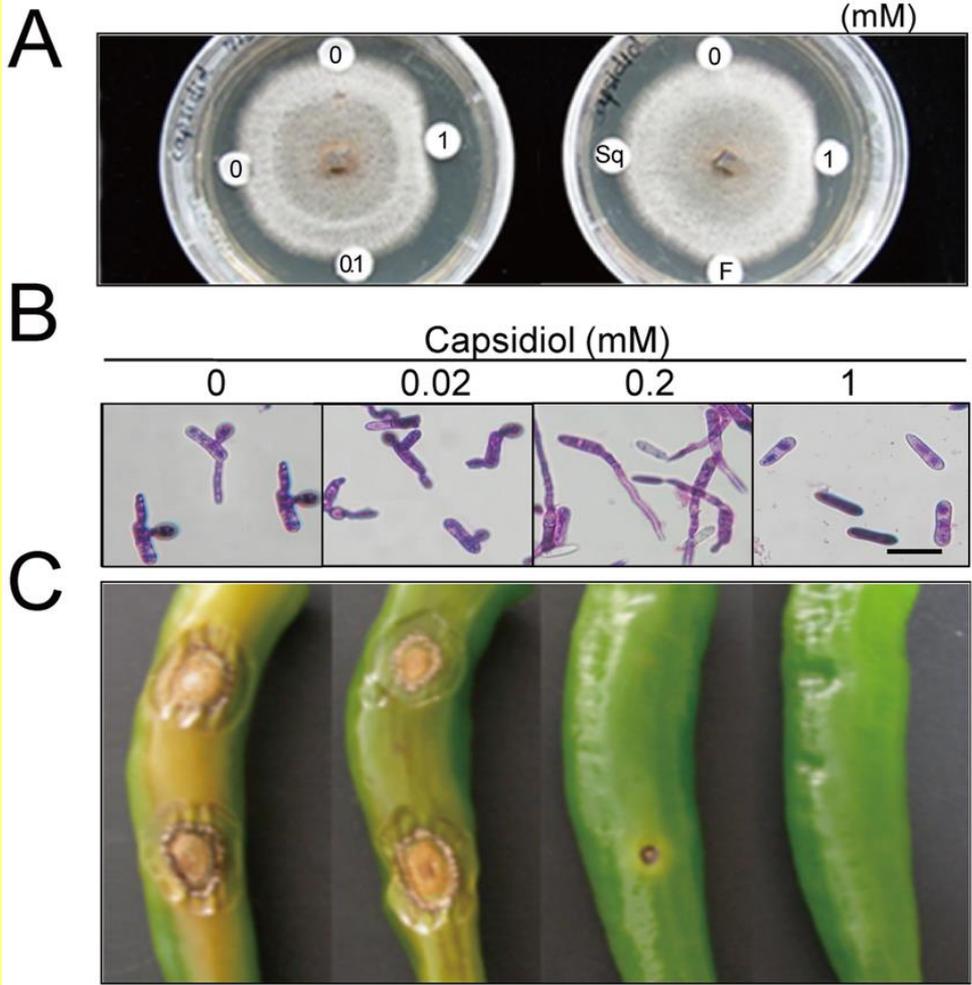


RISCITINA (DALLA PATATA E DAL POMODORO)

CAPSIDILOLO (DAL PEPERONE E DAL TABACCO)



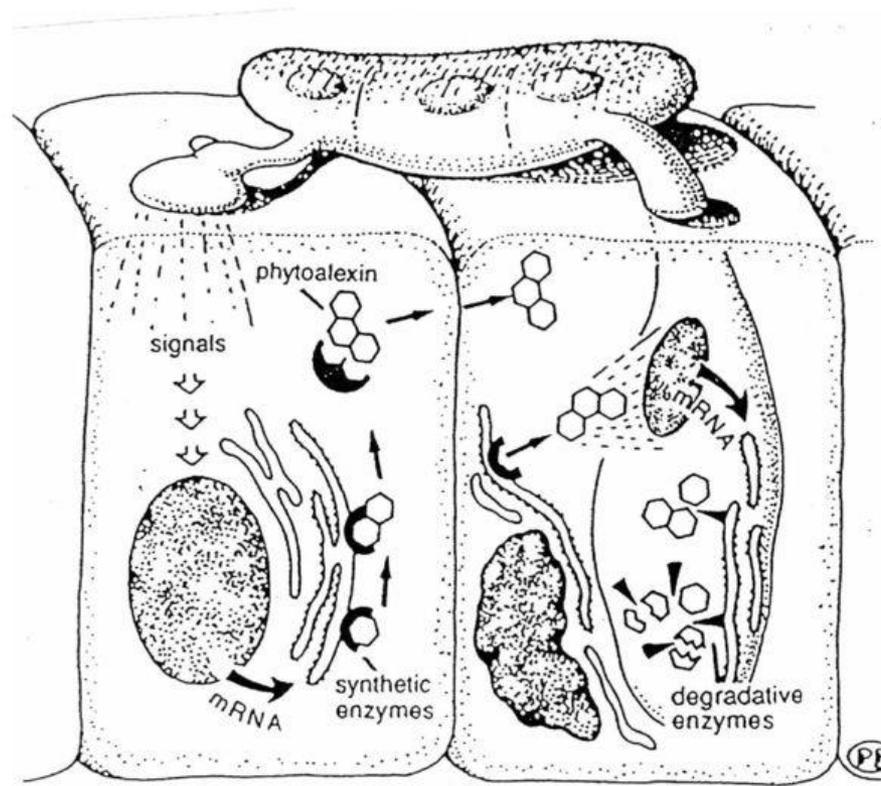
Inhibitory effect of capsidiol on the growth of *C. gleosporioides*.



Comunque qualche fungo ha imparato a detossificare le fitoalessine.

Example of attack and counterattack

- Phytoalexins are synthesized in response to pathogen attack
- Some pathogens counterattack producing enzymes that degrade the phytoalexin



Defense
Phytoalexin synthesis

Counterattack
Phytoalexin degradation

Elicitation and detoxification of phytoalexins during infection.

Per fortuna ci sono le paldossine!!! Per una agricoltura sostenibile....

