

Application de la mini-voie des terpènes (MVT): accès enzymatique à des fragrances terpéniques naturelles et non-naturelles

Laboratoire : UMR7313 iSm2

Equipe : BiosCiencias

Directeur de thèse HDR (%100) : Pr. Iacazio Gilles

Co-encadrant HDR ou non HDR (0%) : Dr. Rousselot-Pailley Pierre

email : gilles.iacazio@univ-amu.fr; pierre.rousselot-pailley@univ-amu.fr;

Descriptif du projet

Les terpènes constituent la classe de composés naturels la plus abondante sur terre (> 100 000 structures différentes décrites à l'heure actuelle) et une source d'intérêt pour l'humanité. En effet certains terpènes présentent des propriétés remarquables tant du point de vue biologique (artémisinine, taxol, ...), qu'organoleptique (pinène, camphre, santalène, ...) et que physico-chimique (isoprène, caroténoïdes, caoutchouc, ...).

En lien avec cette importance des terpènes, nous avons récemment mis au point au laboratoire une cascade enzymatique (la mini-voie des terpènes, MVT) à deux composants, permettant de synthétiser les deux précurseurs universels des terpènes le diméthyle allyle diphosphate (DMAPP) et l'isopentényle diphosphate (IPP) (schéma 1). Contrairement aux deux voies naturelles de biosynthèse de ces deux composés qui utilisent le glucose comme substrat de départ et 18 enzymes, la MVT n'utilise que deux enzymes (deux kinases). Ceci est rendu possible grâce à l'emploi comme précurseurs des deux alcools correspondants et disponibles industriellement, à savoir le diméthyle allyle alcool (DMAOH) et l'isopenténol (IOH) (schéma 1).

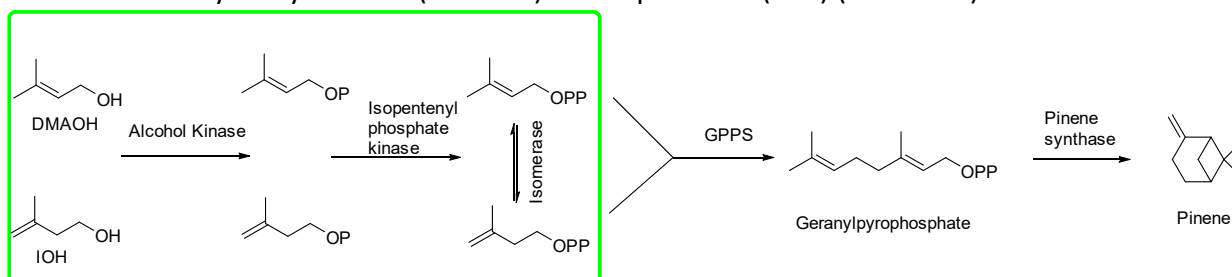


Schéma 1. voie de biosynthèse du pinène (monoterpène C10) à partir du DMAOH et de l'IOH (encadré MVT ; GPPS : geranyldiphosphate synthase).

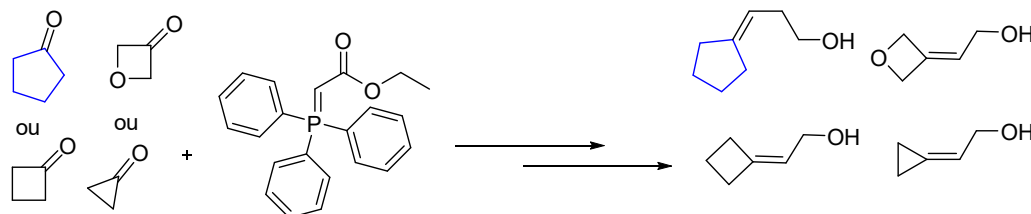
Lors de 2 travaux de thèse antérieurs, nous avons démontré l'intérêt de la MVT à la fois *in vitro* (enzymes isolées)¹ et *in vivo* (enzymes produites au sein de la bactérie *E. coli*)² pour la synthèse enzymatique de terpènes, grâce à la réduction drastique du nombre d'enzyme nécessaire. Dans le cadre de ce projet de thèse nous allons développer un nouvel aspect de l'intérêt de la MVT, l'obtention de nouvelles molécules terpéniques à haute valeur ajoutée potentielle ou avérée.

Le travail de thèse consistera à :

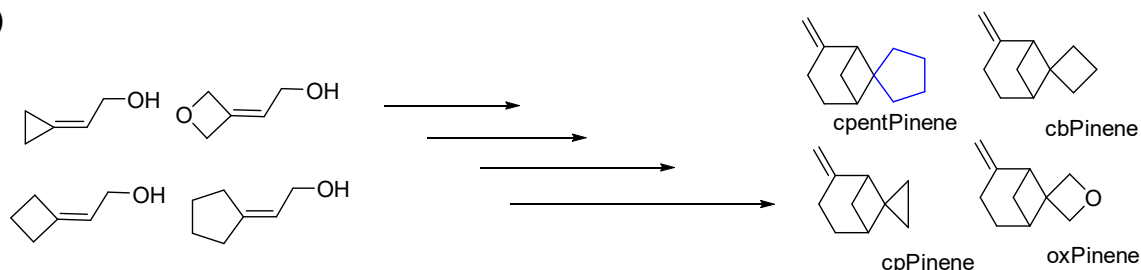
- 1) Synthétiser des analogues structuraux du DMAOH (dérivé cyclopropyle, cyclobutyle et oxétane) et de l'IOH (homol'OH) (Schéma 2A, 2B et 3).
- 2) Utiliser les deux kinases de la MVT pour accéder aux diphosphates correspondants (validé pour le dérivé cyclobutyle du DMAOH)³.
- 3) Générer grâce à ces dérivés de nouvelles fragrances terpéniques *in vitro*, possédant à la place du motif isopropyle caractéristique des terpènes naturels, un motif cyclopropyle,

cyclobutyle, cyclopentyle ou oxétane. Pour cela, en plus des enzymes de la mini-voie, seront utilisées des terpène synthases naturelles telles que la pinène synthase ou la santalène synthase (schéma 2B).

A)



B)



Schema 2 : A) synthèse d'analogues du DMAOH pouvant conduire à la formation de terpènes non naturels. B) exemples d'analogues du DMAOH pouvant conduire à des dérivés du pinène (C10) grâce à la mini voie des terpènes.

3') Mettre au point la synthèse enzymatique de l'homofarnésol à partir de l'homolOH afin d'accéder à l'Ambrox[®], une des fragrances les plus recherchées, en combinant la MVT et une squalène hopène cyclase (schéma 3).⁴

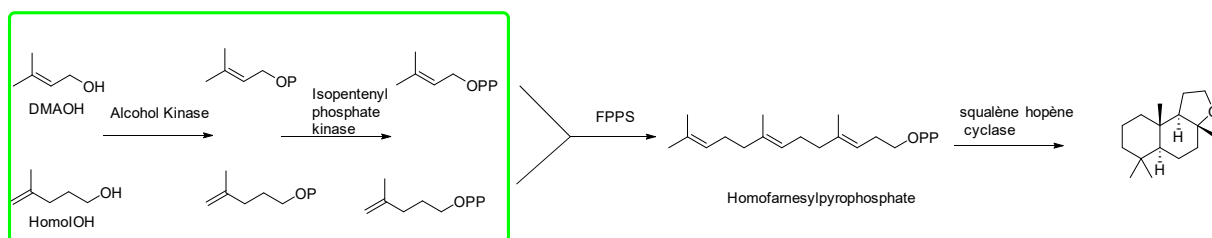


Schéma 3 : Synthèse de l'ambrox à partir de l'homofarnesyldiphosphate, obtenu grace à la MVT (encadré vert) et une farnesyldiphosphate synthase (FPPS).

4) Valoriser ces nouvelles molécules ou cette nouvelle voie d'accès à l'Ambrox[®] sous forme de propriété intellectuelle.

Ce projet de thèse s'adresse à un candidat chimiste ayant une forte appétence pour l'étude de systèmes biologiques et le travail interdisciplinaire, souhaitant mettre son enthousiasme dans le développement de cascades enzymatiques originales intéressant à la fois le monde académique mais aussi le monde industriel.

Références Bibliographiques

(1) Couillaud, J. **2021** « The terpene mini-path » nouvel accès aux terpènes et exploration de l'espace chimique par une cascade enzymatique originale. (*Thèse de doctorat*, Aix Marseille Université)

- (2) Leydet, L. **2024** La mini-voie des terpènes, une plateforme innovante : de la caractérisation *in vitro* à la production *in vivo* (*Thèse de doctorat*, Aix Marseille Université)
- (3) Couillaud, J.; Amouric, A.; Courvoisier-Dezord, E.; Leydet, L.; Schweitzer, N.; Rosso, M.; Hage, H.; Loussouarn-Yvon, M.; Vincentelli, R.; Petit, J.; De Berardinis, V.; Attolini, M.; Maresca, M.; Duquesne, K.; Iacazio, G. In Vitro Applications of the Terpene Mini-Path 2.0. *ChemBioChem* **2022**, 23 (24), e202200595. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200595>.
- (4) Eichorn, E. ; Locher, E. ; Guillemer, S. ; Wahler, D. ; Fourage, L.; Schilling, B. Biocatalytic Process for (-)-Ambrox Production Using Squalene Hopen, Cyclase. *Adv. Synth. Catal.*, **2018**, 360, 2339-2351.