

SUR LES STÉROLS DU POLLEN

Marie-France HÜGEL

Institut de Chimie des Substances naturelles, Gif-sur-Yvette (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

Nous résumons dans le présent article les recherches effectuées sur les fractions isolées de différents pollens et contenant une série biosynthétique de stérols en C₂₇, C₂₈, et C₂₉ ; à partir de ces résultats, nous formulons une hypothèse biogénétique. Nous mentionnons aussi la présence d'un nouveau stanol, le pollinastanol.

Depuis quelques années, nous avons entrepris l'étude des fractions stéroliques de pollens de différentes origines (HÜGEL, 1962). Ceci nous a conduit à d'intéressantes conclusions concernant ces stérols.

Dans la présente revue, nous signalerons les principaux résultats obtenus au cours de ces recherches et discuterons leur signification biologique.

Le pollen, en tant que source de substances naturelles, a fait l'objet d'assez peu de travaux et, parmi ces travaux, bien peu ont mené à l'isolement ou à l'identification de produits définis.

ANDERSON (1922), MARIELLA (1952) et SOSA-BOURDOUIL (1954) avaient isolé des fractions stéroliques, mais n'avaient pas identifié les stérols les composant.

Il y a quelques années, nous avons décrit l'isolement et l'identification, à partir d'extraits alcooliques de différents pollens, du 24-méthylène cholestérol (III) (BARBIER, HÜGEL et LEDERER, 1960). BARBIER (1959) avait déjà trouvé ce stérol chez les abeilles et IDLER (1955) chez les huîtres.

En fait, le 24-méthylène cholestérol (III) n'est pas le seul stérol présent dans le pollen, mais il fait partie d'un mélange complexe, comme nous l'a montré une séparation par chromatographie en phase gazeuse.

Récemment, l'utilisation de la spectrométrie de masse nous a permis d'effectuer l'analyse précise de mélanges de stérols extraits de pollens purs et de pollens mixtes

(1) Ce travail a fait l'objet d'une thèse de Docteur-Ingénieur (Paris, 1964).

(pollens ramassés par les abeilles ou recueillis à la main) (HÜGEL, 1964).

La mise en évidence de cette série de stérols nous a conduit à une hypothèse biogénétique des stérols végétaux ; nous envisagerons plus loin les conséquences d'une telle hypothèse.

A partir des eaux-mères de cristallisation des fractions stéroliques, nous avons isolé et identifié un nouveau stérol : le pollinastanol, intéressant par sa structure et par les possibilités qu'il peut offrir au point de vue d'une hypothèse biogénétique (HÜGEL, BARBIER et LEDERER, 1964).

I. — ANALYSE DES STÉROLS DE DIFFÉRENTS POLLENS ⁽²⁾

Une chromatographie d'insaponifiable de pollen sur colonne d'acide silicique nous permet d'isoler une fraction stérolique brute ; après des cristallisations répétées, on obtient des cristaux dont les constantes physiques (point de fusion, pouvoir rotatoire, spectre infra rouge, analyse élémentaire) sont celles du 24-méthylène cholestérol (III). Pourtant, en chromatographie en phase gazeuse, ce stérol se comporte comme un mélange. L'utilisation de la spectrométrie de masse nous a montré que s'il est bien le constituant essentiel, on trouve à côté de lui cinq autres stérols.

Nous reportons dans le schéma ci-dessous les formules et les noms de ces stérols, (fig. 1).

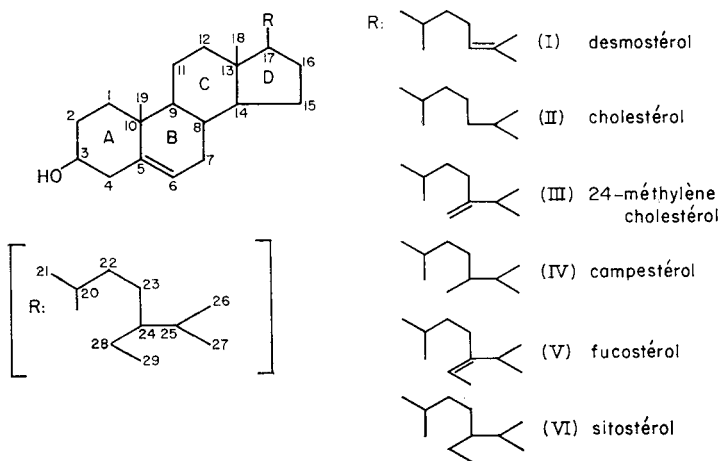


FIG. 1.

Nous nous trouvons en face de trois séries de stérols en C_{29} , C_{28} et C_{27} . Le stérol mono-insaturé en C_{27} est sans doute le cholestérol (II) ; le cholestérol a été trouvé par TSUDA (1957 et 1958) dans les algues rouges et, tout récemment, par JONHSON, BENNET et HEFTMANN (1963) dans les plantes supérieures (*Solanum tuberosum* et *Dioscorea spiculiflora*). Le stérol mono-insaturé en C_{28} pourrait être le cam-

⁽²⁾ Ces pollens nous ont été fournis par la Station de Bures-sur-Yvette. Nous tenons à en remercier M. LOUVEAUX.

pestérol (IV). Le stérol mono-insaturé en C_{29} est probablement le sitostérol (VI).

D'après ce que l'on sait de la biosynthèse des stérols en général, le stérol doublement insaturé en C_{27} serait le desmostérol (I) (STOKES, 1958) ; le principal dérivé doublement insaturé en C_{28} est certainement le 24-méthylène cholestérol (III) ; quant à l'homologue en C_{29} , il pourrait être le fucostérol (V).

Les proportions p.100 relatives des différents stérols varient avec leurs origines :

	C_{27}	C_{28}	C_{29}
Pollen mixte	15	50	35
<i>Castanea vulgaris</i>	3	23	74
<i>Corylus avellana</i> (3)	0	25	75

Ces pourcentages proviennent de l'analyse par spectrométrie de masse des acétates de stérols totalement hydrogénés ; ils ont été confirmés par la chromatographie en phase gazeuse des éthers méthyliques des stérols hydrogénés.

II. — HYPOTHÈSE BIOGÉNÉTIQUE

Malgré les proportions très variables des divers stérols trouvés dans les échantillons de pollens examinés, nous pensons pouvoir proposer une filiation biogénétique de ces substances.

Il est connu que, dans la levure, l'ergostérol (VII) est synthétisé à partir d'un précurseur (lanostérol (VIII) ou desmostérol (I) ?) par une C-méthylation en C_{24} , grâce à l'intervention de la méthionine (ALEXANDER et SCHWENK, 1957).

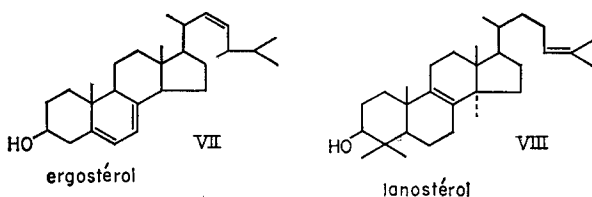


FIG. 2.

On peut envisager la biosynthèse des phytostérols en C_{29} par une nouvelle C-méthylation d'un stérol en C_{28} (du 24-méthylène cholestérol (III) en particulier).

On aurait ainsi la série biosynthétique suivante :

lanostérol (VIII) ———→ desmostérol (I) ———→ 24-méthylène cholestérol (III)
 ———→ fucostérol (V) ———→ sitostérol (VI)

C_{30} lanostérol (VIII)

C_{27} desmostérol (I) ———→ cholestérol (II)

C_{28} 24-méthylène cholestérol (III) ———→ campestérol (IV).

C_{29} fucostérol (V) ———→ sitostérol (VI)

(3) Nous remercions ici M. et M^{me} SOCA qui ont mis à notre disposition le stérol I de leur préparation.

été encore entièrement établie (HÜGEL, 1964). Ce stérol est caractérisé par la présence d'un méthyle supplémentaire vraisemblablement en position 14 et celle d'un noyau cyclopropane entre les carbones 19-10 ; ce stérol peut donc se rattacher à la série des triterpènes possédant un noyau cyclopropanique tels que (fig. 5).

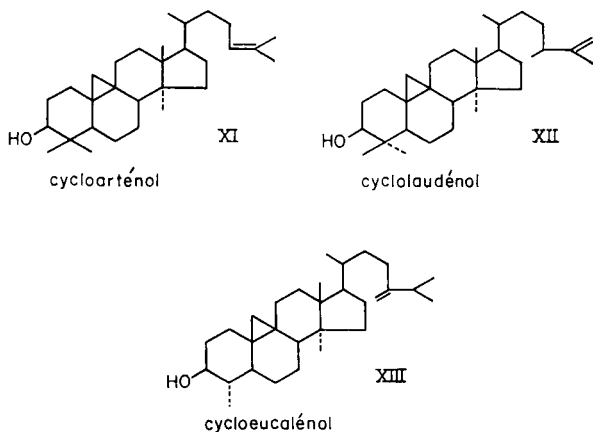


FIG. 5.

On extrait le cycloarténol (XI) principalement de *Strychnos nux-vomica* (BENTLEY, 1953 ; IRVINE, 1955), le cyclolaudénol (XII) de l'insaponifiable de l'opium (BENTLEY, 1955) et le cycloeucaalénol (XIII) du bois d'*Erythrophlæum guineense* (COX et KING, 1956, 1959).

On peut observer, à côté du pollinastanol (X), la présence d'une série d'autres stérols (environ 25 p. 100) différents entre eux par le degré d'insaturation et de substitution de la chaîne latérale. On peut songer qu'ici aussi, nous avons une série biosynthétique parallèle à la série que nous avons décrite plus haut. Cette observation laisse supposer que les méthylations successives de la chaîne latérale (conduisant aux stérols végétaux du type sitostérol (VI) pourraient avoir lieu à un stade antérieur à celui ordinairement admis du lanostérol (BENVENISTE, 1964).

On peut trouver une confirmation de cette hypothèse dans la série des méthylstérols isolés par SCHREIBER et OSSKE (1964).

CONCLUSION

A l'heure actuelle, il existe un certain nombre de travaux effectués sur les stérols animaux et végétaux. On commence, nous l'avons vu, à s'apercevoir que ces stérols se trouvent groupés par famille biogénétique et ne sont pas isolés dans l'organisme. Il semble difficile alors de maintenir la classification qui consiste à parler de stérols animaux (type cholestérol) et stérols végétaux (type β -sitostérol).

Mais, si l'on connaît le schéma de biosynthèse du squelette des stéroïdes (RICHARDS et HENDRICKSON, 1964), on connaît peu de choses sur leurs transformations

ultérieures. On ignore aussi quel est le rôle biologique de ces substances.

On sait que les chrysalides de *Bombyx mori* contiennent environ 85 p. 100 de cholestérol et 15 p. 100 de β -sitostérol (BERGMAN, 1934). Selon LEVINSON (1960), le cholestérol serait présent dans les insectes appartenant aux ordres des Coléoptères, Diptères, Hyménoptères, Lépidoptères et Orthoptères.

Les insectes ne pouvant effectuer la biosynthèse des stérols (CLARK et BLOCH, 1963), on doit admettre que chez les insectes phytophages, le cholestérol est obtenu par dégradation de la chaîne latérale des phytostérols. BERGMAN (1958) a montré que dans les larves de *Musca domestica vicina*, le β -sitostérol était transformé, soit en cholestérol, soit en 7-déhydrocholestérol. KODICEK et LEVINSON (1960) ont prouvé que *Galliphora erythrocephala* dégradait le β -sitostérol en cholestérol. Selon LEVINSON (1960), cette dégradation serait le phénomène général chez les insectes phytophages. CLARK et BLOCH (1959) ont pu montrer que *Blatella germanica* transformait l'ergostérol en 22-déhydrocholestérol.

La signification biologique de cette transformation des phytostérols en cholestérol n'est pas connue. On sait que les insectes ne peuvent vivre sans stérols.

Selon CLAYTON et BLOCH (1963), le cholestérol pourrait être un constituant indispensable de la structure cellulaire de l'insecte. D'après les résultats récents de KARLSON et HOFFMEISTER (1963), le cholestérol serait le précurseur biologique de l'ecdysone.

Il semblerait, comme CLARK et BLOCH (1959) l'avaient supposé, que le 24-méthylène cholestérol serait directement utilisé par l'insecte au même titre que le cholestérol.

Cependant, l'étude approfondie des fractions stéroliques ne fait que commencer. Jusqu'à l'apparition de techniques modernes telles que la spectrométrie de masse et la spectrographie de résonance magnétique nucléaire, on cataloguait comme produits purs ce qui, en fait, était un mélange. Le perfectionnement de la chromatographie en phase gazeuse permet maintenant d'isoler les différents constituants : ces techniques exigent peu de produit, les recherches, en particulier sur les insectes (DUPERON et al., 1964) ou sur les spores (DUPERON, 1964) s'annoncent beaucoup plus faciles ; ceci cependant ne doit être qu'une première étape.

L'étape suivante devrait être l'étude au moyen d'éléments marqués, de la dégradation des phytostérols, étude qui viendrait compléter le cycle de recherches : analyse des constituants, biogenèse des stérols et, enfin, métabolisme.

Il existe, on le voit, un problème très intéressant de la transformation et de l'utilisation des stéroïdes par les insectes et, par suite, par tous les êtres vivants.

Reçu pour publication en septembre 1965.

SUMMARY

POLLEN STEROLS

This article summarizes the research carried out on the isolated fractions of different pollens containing a biosynthetic series of C₂₇, C₂₈, and C₂₉ sterols. A biogenetic hypothesis is formulated on the basis of the results. The presence of a new sterol, pollinastanol, is also mentioned.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALEXANDER G. J., 1957. Transfer of the methyl group of methionine to carbon-24 of ergosterol. *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 4554-4555.
- ANDERSON R. J., 1923. Composition of corn pollen. *J. Biol. Chem.*, **55**, 611-628.
- CLARK A. J., BLOCH K., 1959. Conversion of ergosterol to 22-dehydrocholesterol in *Blatella germanica*. *J. Biol. Chem.*, **234**, 2589-2594.
- CLARK A. J., BLOCH K., 1959. The absence of sterol synthesis in insecte. *J. Biol. Chem.*, **234**, 2578-2582.
- CLARK A. J., BLOCH K., 1959. Function of sterols in *Dermestes vulpinus*. *J. Biol. Chem.*, **234**, 2583-2588.
- CLAYTON R. B., BLOCH K., 1963. Sterol utilization in Hide beetle, *Dermestes vulpinus*. *J. Biol. Chem.*, **238**, 586-591.
- BASER S., GUGLIEMETTI L., ARIGONI D., 1964. The origin of the ethyl side chain in spinasterol. *Proc. Chem. Soc.*, **16**.
- BARBIER M., HÜGEL M.-F., LEDERER E., 1950. Isolement du 24-méthylène cholestérol à partir du pollen de différentes plantes. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **42**, 91-97.
- BARBIER M., SCHINDEL R., 1959. Isolierung von 24-Methylencholesterin aus Koniginnen und Arbeiterinnen der Honigbiene (*Apis mellifica* L.). *Helv. Chem. Acta*, **42**, 1999-2005.
- BENTLEY H. R., HENRY J. A., IRVINE D. S., MUKERJI D., SPRING F. S., 1953. Triterpene resinols and related acids, part XXVIII; the structure of cycloartenol. *J. Chem. Soc.*, 3673.
- BENTLEY H. R., HENRY J. A., IRVINE D. S., MUKERJI D., SPRING F. S., 1955. Triterpenoids, XXXII: cycloclaudenol a triterpenoid alcohol from opium. *J. Chem. Soc.*, 599-602.
- BENVENISTE P., 1964. *Biosynthèse de stérols dans les tissus de tabac cultivés in vitro*. Thèse (Strasbourg).
- BERGMANN E. D., LEVINSON Z. H., 1958. Fate of β -sitosterol in housefly larvae. *Nature*, **182**, 723-724.
- CASTLE M., BLONDIN G., NESS W. R., 1963. Evidence of the origin of the ethyl group of β -sitosterol. *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 3306-3308.
- COX J. S., KING F. E., KING T. J., 1956. The chemistry of extractives from hard-woods, part XXVI. *J. Chem. Soc.*, 1384-1392.
- COX J. S., KING F. E., KING T. J., 1959. The structure of the cycloolecalenol. *Proc. Chem. Soc.*, 514-518.
- DUPERON P., HÜGEL M.-F., SIPAL Z., BARBIER M., 1964. Analyse des stérols d'insectes phytophages par spectrométrie de masse. *Compar. Biochem. Physiol.*, **11**, 257-262.
- DUPERON P., VETTER W., BARBIER M., 1964. Sur la fraction insaponifiable des spores de fougères *Polystichum filix-MAX*. *Phytochemistry*, **3**, 89-91.
- HÜGEL M.-F., 1962. Étude de quelques constituants du pollen. *Ann. Abeille*, **4**, 97-133.
- HÜGEL M.-F., VETTER W., AUDIER H., BARBIER M., LEDERER E., 1964. Analyse des stérols du pollen par spectromètre de masse. *Phytochemistry*, **3**, 7-16.
- HÜGEL M.-F., BARBIER M., LEDERER E., 1964. Sur le pollinastanol, nouveau stérol du pollen. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2012-2013.
- IDLER D. R., FAGERLUND H. M., 1965. Marine sterols, II. *J. Chem. Soc.*, **21**, 372.
- IRVINE D. S., HENRY J. A., SPRING F. S., 1955. Triterpenoids, part XXXIII. *J. Chem. Soc.*, 1316-1320.
- JAUREGIBERRY G., LAW J. H., MCCLOSKEY J. A., LEDERER E., 1964. Sur le mécanisme biochimique de la C-méthylation. *C. R. Acad. Sci.*, **248**, 3587-3589.
- JONHSON D. H., BENNETT D. R., HEFTMANN E., 1963. Cholesterol in higher plant. *Science*, **140**, 198-199.
- KARLSTON P., HOFFMEISTER H., 1963. Unwandlung von cholesterin in Edcyson. *Z. Physiol. Chem.*, **331**, 298-300.
- KODICEK E., LEVINSON Z. H., 1960. Metabolism of β -sitosterol and other lipids in the presence of 2-C¹⁴ by blowfly larvae. *Nature*, **188**, 1023-1024.
- MARIELLA R. P., BERNSTEIN T. B., MOSHER A. L., 1952. Purification of ragweed pollen. *Bol. Quim. Porto-Rico*, **9**, 15-24.
- RICHARDS J. H., HENDRICKSON J. B., 1964. *Biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins*. W. A. Benjamin, Inc. (N. Y.).
- SCHREIBER K., OSSKE G., 1964. Sterine und Triterpenoide, V. Über die 4d-methyl-Sterin der Kartoffelpflanz *Solanum tuberosum* L., *Tetrahedron*, **20**, 2575-2584.
- SOSA-BOURDOUIL C., SOSA A., 1954. Recherches sur la composition du pollen de *Corylus avellana*. *Bull. Soc. Chem. Biol.*, **36**, 393-404.
- STOKES W. M., HICKEY F. C., FISH W. A., 1958. Sterol metabolism. I. Occurrence of desmosterol in rat skin and its conversion *in vivo* to cholesterol. *J. Biol. Chem.*, **232**, 347-359.
- TSUDA K., ARAGI S., KHISHIDA Y., 1958. Cholesterol in some red algae. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **6**, 101-104.
- VILLANUEVA V., BARBIER M., LEDERER E., 1964. Sur la biosynthèse de la chaîne latérale éthyliène du fucostérol par double méthylation par la méthionine. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1423-1424.