

SUR LES CONSTITUANTS DE LA GRAISSE DE LAINE

IV. LA PEAU DE MOUTON COMME ORGANE DE LA BIOSYNTHÈSE DES
ALCOOLS TRITERPÉNIQUES*

par

EDGAR LEDERER ET DANIEL MERCIER

Institut de Biologie Physicochimique, Paris (France)

RUZICKA, DENSS et JEGER² ont montré que la graisse de laine contient quatre alcools triterpéniques caractéristiques: le lanostérol $C_{30}H_{50}O$, le dihydrolanostérol $C_{30}H_{52}O$, l'agnostérol $C_{30}H_{48}O$ et le dihydroagnostérol $C_{30}H_{50}O$. L'ensemble de ces alcools tétracycliques représente l'„ischolestérol" de SCHULZE^{3**}.

RUZICKA, DENSS et JEGER⁶ ont prouvé ensuite l'identité, déjà soupçonnée par WIELAND, PASEDACH et BALLAUF⁷ du lanostérol de la suintine avec le cryptostérol de la levure. A part ce cas d'identité, on peut considérer les quatre alcools triterpéniques mentionnés comme produits caractéristiques de la graisse de laine; ils méritent un intérêt particulier comme triterpènes d'origine animale^{***}.

Dans la troisième communication¹, nous avons décrit une méthode de dosage basée sur la réaction de LIEBERMANN-BURCHARD, pouvant déterminer assez exactement la teneur d'une suintine en „ischolestérol", c'est-à-dire la somme des quatre alcools triterpéniques. Pour différentes suintines industrielles, nous avons trouvé une teneur moyenne en alcools triterpéniques de 11.5 %. A l'aide de cette méthode, nous avons constaté la présence de faibles quantités d'alcools triterpéniques dans la graisse extraite des poils de Chèvre (*Capra capra*, 2.5 %) de Lama (*Lama glama*, 1.2 %) et de Chameau (*Camelus dromedarius*, 2.2 %). Il n'y avait pas d'„ischolestérol" (moins de 0.1 %) dans la graisse extraite de poils de Boeuf, de Lapin et dans celle des cheveux. Nous avons conclu que les alcools triterpéniques de la graisse de laine sont des substances spécifiques du métabolisme de certains Ruminants, surtout du Mouton.

Dans le présent mémoire, nous essayons de répondre à la question de savoir dans quel organe du Mouton se forment les alcools triterpéniques caractéristiques. La méthode colorimétrique décrite dans le précédent mémoire¹ permet de déceler de petites quantités de ces alcools à côté de grandes quantités de cholestérol; (1 partie de lanostérol est encore décelée avec certitude dans 100 parties de cholestérol). C'est pourquoi cette méthode semblait particulièrement indiquée pour résoudre la question posée.

En dosant ainsi les insaponifiables d'un certain nombre d'organes de Mouton, nous avons trouvé que les suivants: foie, rein, surrénale, pancréas, cerveau, hypophyse, estomac (cailllette et feuillet), intestin, graisse de dépôt et sang, ne contiennent pas d'alcools

* 3ème communication: E. LEDERER et P. K. TCHEN¹.

** Pour des revues bibliographiques récentes sur les constituants de la suintine, voir: L. VELLUZ et E. LEDERER⁴ et E. LEDERER et L. VELLUZ⁵.

*** On n'en connaît que deux autres: le squalène $C_{30}H_{50}$, aliphatique, et l'ambréine $C_{30}H_{52}O$, tricyclique (L. RUZICKA *et coll.*^{8, 9} et E. LEDERER *et coll.*^{10, 11, 12}).

triterpéniques (moins de 0.3 % de l'insaponifiable). Leurs insaponifiables sont constitués essentiellement par du cholestérol, comme ceux des autres Vertébrés.

Le seul organe de Mouton contenant des alcools triterpéniques est la *peau*. La graisse extraite de la peau de Mouton présente à peu près la même teneur en alcools triterpéniques et en cholestérol que la suintine de la laine enlevée de cette même peau (voir Tableau I).

TABLEAU I
TENEUR EN ALCOOLS TRITERPÉNIQUES DE LA GRAISSE DE PEAU ET DE LAINE

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7
PEAU							
Graisse %	5.4	11.2	10.3	8.3	—	7.1	—
Insaponifiable % de la graisse	39.4	33.8	38.7	36.2	42	30.9	—
Cholestérol % de l'insaponifiable	54	55	63	59.4	55	58	51.5
Alcools triterpéniques % de l'insaponifiable . .	14.8	19.5	20.6	18.3	22.5	17.6	14.8
LAINE							
Graisse %	5.7	8.3	—	4.9	—	3.4	—
Insaponifiable % de la graisse	36	42	—	57	—	—	—
Cholestérol % de l'insaponifiable	53.3	46	—	51.1	—	59	—
Alcools triterpéniques % de l'insaponifiable . .	16	11.7	—	18.7	—	16	—

Pour compléter nos mesures colorimétriques, nous avons réuni les insaponifiables de plusieurs échantillons de peau et les avons chromatographiés sur alumine, d'après DANIEL, LEDERER et VELLUZ¹³. La partie dextrogyre éluee par le benzène et un mélange benzène-éther 4 : 1 (1.06 g = 25 % de l'insaponifiable) nous a donné, après trois recristallisations dans l'acétate d'éthyle, 203 mg d'aiguilles incolores fondant à 136–140°, $[\alpha]_D = +59^\circ,4$ (dans le chloroforme); acétate p.f. = 112–114°, $[\alpha]_D = +56^\circ$ (dans le chloroforme). Le mélange de la substance même et de son acétate avec le lanostérol de suintine et son acétate de même p.f. n'a pas subi de dépression de point de fusion. Il s'agit donc bien du même mélange de lanostérol + dihydrolanostérol (acétate p.f. 112°, $[\alpha]_D = +59^\circ$) qui enduit la graisse de laine (voir RUZICKA, DENSS et JEGER²).

KOPPENHOFER¹⁴, dans une étude détaillée des lipides de la peau de Mouton, a isolé de l'épiderme une graisse ayant 32 % d'insaponifiable, dont 70 % de cholestérol. La faible rotation lévogyre ($[\alpha]_D = -6^\circ$) lui a fait supposer la présence d'un „stérol” dextrogyre. Les insaponifiables de graisse de peau que nous avons étudiés avaient un $[\alpha]_D = -8^\circ$.

Etant donné que seuls les insaponifiables de peau contiennent des alcools triterpéniques, nous devons conclure que ces substances sont synthétisées dans la peau même (probablement par les glandes sébacées) et excrétées directement sur la laine. Elles ne prennent aucune part dans le métabolisme stérolique des autres organes.

BLOCH, BOREK et RITTENBERG¹⁵ ont montré que le cholestérol est synthétisé dans le foie, à partir d'acide acétique; il serait intéressant de faire des essais analogues avec des isotopes, sur des coupes de peau de Mouton. Ceci d'autant plus que RITTENBERG *et coll.* n'ont pas essayé le pouvoir synthétisant de la peau. Il n'est pas exclu que cet organe ait également la capacité de synthétiser le cholestérol.

Il n'est peut-être pas inutile de citer ici quelques travaux récents qui montrent le

rôle important que joue la peau dans le métabolisme lipidique des Mammifères. WYNN et HALDI¹⁹ ont observé que la teneur en graisses de la peau de Rats soumis à un régime riche en graisses avait presque doublé en 1 à 3 semaines. EHRLICH et WAELSCH¹⁷, en étudiant la part que jouent les aldéhydes supérieurs dans le métabolisme des acides gras, ont été frappés par la très forte activité métabolique de l'insaponifiable de la peau. Ce fait ressort aussi des chiffres de MITCHELL *et coll.*¹⁸ sur la teneur en lipides de différents organes humains: rate 1.25 %, poumon 1.5 %, muscle 3.3 %, rein 4.0 %, tract alimentaire 6.2 %, foie 10.3 %, cerveau, moelle épinière, nerfs, 12.7 %, *peau* 13.0 %, pancréas 13.1 %, squelette 18 %, tissu adipeux 42.4 %.

Il est évidemment difficile d'isoler les glandes sébacées de la peau pour en étudier le métabolisme; on peut cependant obtenir quelques renseignements en s'adressant à des cas où ces glandes atteignent une taille assez considérable. Nous pensons en particulier aux „glandes à parfum” de certains Mammifères, qui sont physiologiquement des glandes sébacées transformées. On connaît l'extraordinaire richesse en graisses et le métabolisme particulier des glandes à parfum du Chevrotain porte-musc (*Moschus moschiferus*), de la Civette (*Viverra civetta*) et du Rat musqué (*Ondatra Zibethicus*^{19, 20}, et nous avons montré pour le Castor (*Castor fiber*) que les glandes à parfum ont une teneur en cholestérol très élevée (de 8 à 17 % du poids sec) et des capacités biochimiques remarquables^{20, 21}.

Il est très probable que les *acides* de la graisse de laine qui diffèrent sensiblement des autres acides gras par la présence de chaînes ramifiées (WEITKAMP²²), sont aussi synthétisés par les glandes sébacées. La composition particulière de la graisse de laine refléterait ainsi les capacités synthétiques des glandes sébacées, différentes de celles du foie.

Il convient enfin de signaler à ce point de vue un travail très récent de WEITKAMP, SMILJANIC et ROTHMAN²³ décrivant l'isolement à partir de la graisse de cheveux, de toute une série de nouveaux acides (saturés et insaturés et notamment d'acides à nombre impair d'atomes de carbone). Nous avons ici une nouvelle illustration des capacités synthétiques des glandes sébacées.

DESCRIPTION DES EXPÉRIENCES

Préparation des insaponifiables

Nous avons préparé les insaponifiables d'organes de Mouton par ébullition des organes finement hâchés avec un excès de potasse alcoolique à 5%. Après évaporation, sous vide, de la plus grande partie de l'alcool, les insaponifiables ont été extraits à l'éther. Les organes suivants: foie, rein, surrénale, pancréas, cerveau, hypophyse, graisse de dépôt et sang ont donné des insaponifiables incolores. Le foie, l'intestin, l'estomac (aussi bien la caillette que le feuillet) et les excréments, ont donné des insaponifiables colorés en jaune, sur lesquels le dosage direct des alcools triterpéniques par notre méthode¹ n'était pas possible. La couleur jaune de ces insaponifiables est, en partie au moins, due à la présence de caroténoïdes qui absorbent fortement aux longueurs d'ondes de 620 et 470 mμ, après addition du réactif de LIEBERMANN-BURCHARD. On peut éliminer la plus grande partie de ces pigments par une chromatographie sur MgO; il reste cependant toujours une petite quantité de pigments jaunes qui rend la colorimétrie difficile. Les chiffres obtenus sous ces conditions sont à considérer comme chiffres maxima: pour les insaponifiables de foie, intestin, caillette, feuillet et excréments, la teneur maxima en alcools triterpéniques a été de 0.3%.

Dosages. Nous avons effectué les dosages des alcools triterpéniques par la méthode décrite précédemment. En présence du réactif de LIEBERMANN-BURCHARD et sous les conditions précisées dans la troisième communication¹, nous trouvons $\frac{\epsilon_{S61}}{\epsilon_{S47}} = 1.9 \pm 0.1$ pour le cholestérol pur. Un mélange de 99% de cholestérol et de 1% de lanostérol a $\frac{\epsilon_{S61}}{\epsilon_{S47}} = 1.65$, ce qui est nettement en dehors des limites d'erreur de l'essai. On peut donc facilement déceler une partie d'alcools triterpéniques dans

Bibliographie p. 94.

100 parties de cholestérol. Pour les organes cités ci-dessus, dont l'insaponifiable était incolore, nous avons trouvé des valeurs de $\frac{\epsilon_{S61}}{\epsilon_{S47}}$ variant de 1.79 à 2.12, ce qui montre bien l'absence d',isocholestérol". Les chiffres trouvés pour les insaponifiables de graisses de peau et de laine sont contenus dans le tableau I.

Nos premiers dosages et ceux de LEDERER et TCHEN¹ ont été faits avec le photomètre de PULFRICH-ZEISS. Nous avons ensuite employé l'électrophotomètre de MEUNIER. Nous utilisons dans le dernier cas la cuvette de 5 mm d'épaisseur et les écrans 58 et 47. Sous les conditions décrites précédemment¹, 50 γ de lanostérol pur donnent, dans 2 ml de CHCl_3 additionnés de 1 ml de réactif, une lecture de 106 au filtre 47 et de 20 au filtre 58 (20 étant l'absorption de la cuvette remplie de chloroforme). La même quantité de cholestérol donne une lecture de 30 au filtre 47 et de 34 au filtre 58.

Nous remercions Monsieur R. Loos (École Française de Tannerie, Lyon), de son intérêt pour ce travail et de plusieurs échantillons de peau de Mouton.

RÉSUMÉ

De tous les organes de Mouton examinés, seule la peau contient les alcools triterpéniques caractéristiques de la graisse de laine (lanostérol, agnostérol, etc.). La graisse de peau en est aussi riche que la graisse de laine. On peut conclure que c'est uniquement dans la peau, et vraisemblablement, dans les glandes sébacées, que se fait la biosynthèse de ces alcools triterpéniques. Ce résultat, joint à une série d'autres observations, montre le rôle important que joue la peau dans le métabolisme lipidique des Vertébrés.

SUMMARY

Of all the sheep organs examined, only the skin contains triterpene alcohols characteristic of wool grease (lanosterol, agnosterol, etc.). The grease from skin is as rich in them as the grease from wool. It may be concluded that it is only in the skin, and probably in the sebaceous glands, that the biosynthesis of these triterpene alcohols takes place. This result, together with a series of other observations, shows the important part played by the skin in the lipid metabolism of the Vertebrates.

ZUSAMMENFASSUNG

Von allen Organen des Schafes, die wir untersucht haben, fanden wir nur in der Haut die für Wollfett charakteristischen Triterpenalkohole (Lanosterin, Agnosterin, etc.). Das Hautfett enthält ungefähr ebensoviel Triterpenalkohole wie das Wollfett. Wir schliessen daraus, dass die Biosynthese dieser Triterpenalkohole sich in der Haut, wahrscheinlich in den Talgdrüsen, vollzieht. Unsere Beobachtungen, sowie solche von anderen Autoren, zeigen die wichtige Rolle, welche die Haut im Fettstoffwechsel der Wirbeltiere spielt.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ E. LEDERER ET P. K. TCHEN, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 27 (1945) 419.
- ² L. RUZICKA, R. DENSS ET O. JEGER, *Helv. Chim. Acta*, 28 (1945) 759.
- ³ E. SCHULZE, *Z. f. Chemie* (1870) 453; *Z. physiol. Chem.*, 14 (1890) 522.
- ⁴ L. VELLUZ ET E. LEDERER, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 27 (1945) 211.
- ⁵ E. LEDERER ET L. VELLUZ, *Ind. Parf.*, 2 (1947) 282.
- ⁶ L. RUZICKA, R. DENSS ET O. JEGER, *Helv. Chim. Acta*, 29 (1946) 204.
- ⁷ H. WIELAND, H. PASSEDACH ET A. BALLAUF, *Liebigs Ann.*, 529 (1937) 68.
- ⁸ L. RUZICKA ET F. LARDON, *Helv. Chim. Acta*, 29 (1946) 912.
- ⁹ L. RUZICKA, D. O. DÜRST ET O. JEGER, *Helv. Chim. Acta*, 30 (1947) 353.
- ¹⁰ E. LEDERER, F. MARX, D. MERCIER ET G. PÉROT, *Helv. Chim. Acta*, 29 (1946) 1354.
- ¹¹ E. LEDERER, D. MERCIER ET G. PÉROT, *Bull. Soc. Chim. France*, (1947) 345.
- ¹² E. LEDERER ET D. MERCIER, *Experientia*, 3 (1947) 188.
- ¹³ D. DANIEL, E. LEDERER ET L. VELLUZ, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 27 (1945) 218.
- ¹⁴ R. M. KOPPENHOEFER, *J. Am. Leather Chemists Assoc.*, 33 (1938) 203.
- ¹⁵ K. BLOCK, E. BOREK ET D. RITTENBERG, *J. biol. Chem.*, 162 (1946) 441.
- ¹⁶ W. WYNN ET J. HALDI, *Amer. J. Physiol.*, 142 (1944) 508.
- ¹⁷ G. EHRLICH ET H. WAELSCH, *J. biol. Chem.*, 163 (1946) 195.
- ¹⁸ H. H. MITCHELL, T. S. HAMILTON, F. R. STEGGERDA ET H. W. BEAU, *J. biol. Chem.*, 158 (1945) 625.
- ¹⁹ P. G. STEVENS, *J. Am. Chem. Soc.*, 67 (1945) 907.
- ²⁰ E. LEDERER, *Ind. Parfumerie*, 2 (1946) 110, 148.
- ²¹ E. LEDERER, *Nature*, 157 (1946) 231.
- ²² A. W. WEITKAMP, *J. Am. Chem. Soc.*, 67 (1945) 447.
- ²³ A. W. WEITKAMP, A. M. SMILJANIC ET S. ROTHMAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 69 (1947) 1936.

Reçu le 6 Octobre 1947