

SUR DEUX VOIES DE BIOSYNTHESE DU STIGMASTEN-22, OL-3 β
DE DICTYOSTELIUM DISCOIDEUM.

Radhouane ELLOUZ et Maryse LENFANT

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91-Gif-sur-Yvette, France.

(Received in France 17 August 1970; received in UK for publication 2 September 1970)

Les résultats obtenus précédemment, concernant la biosynthèse du stigmasterol 1a et du stigmaster-22 ol-3 β 2a, stérols du myxomycète Dictyostelium discoideum avaient montré :

- 1- que le stérol saturé 1a pouvait être transformé in vivo en stérol insaturé 2a (1); la double liaison C-22, C-23 pouvant être introduite après la double méthylation en C-24.
- 2- que le lanostérol 3 (précurseur des stérols 1a et 2a) pouvait être converti in vivo en stérol saturé 1a sans perte des atomes d'hydrogène portés par le carbone 23. Par contre, la transformation du lanostérol 3 en stérol 2a conduisait à une perte de 25% de ces hydrogènes * (2).

De ces expériences, nous avons conclu que le stérol 2a ne pouvait être le précurseur du stérol 1a. Cependant, il faut remarquer que l'introduction de la double liaison en C-22, C-23 implique l'élimination d'un des deux atomes d'hydrogène portés par le carbone 23 du précurseur 3. La valeur obtenue indiquait soit la manifestation d'un effet isotopique lors de la rupture des liaisons C-H et C-T, soit l'existence d'une deuxième voie de formation de la double liaison C-22, C-23: le carbocation 6 formé par méthylation de l'intermédiaire méthylénique 5 peut se stabiliser par élimination d'un hydrogène en 22, l'hydrogène en 23 migrant en 24 (voir le schéma) (3).

Afin de préciser ce point, nous avons répété les incubations précédemment décrites et localisé les atomes de tritium résiduels dans le stérol 2a. Les cellules de Dictyostelium discoideum ont été incubées avec un mélange de lanostérol 23T et 26, 27 ¹⁴C (T/¹⁴C: 4,36 \pm 0,1, radioactivité du lanostérol en ¹⁴C: 10⁶ dpm). Le mélange des stérols 1a et 2a (T/¹⁴C: 4,06; 2,4% d'incorporation calculé par rapport à la radioactivité en ¹⁴C de lanostérol introduit) a été isolé comme précédemment (3), puis soumis à une dégradation par ozo-

* Ces résultats avaient été obtenus en comparant les rapports d'activité T/¹⁴C entre l'acétate de stigmasterol 1b (T/¹⁴C: 4,12 \pm 0,21) et l'acétate de l'époxy-22, 23 stigmasterol 4b, dérivé de 2a, (T/¹⁴C: 3,32 \pm 0,14). Les stérols avaient été isolés de cultures de Dictyostelium discoideum incubées en présence du mélange de lanostérol 23 T et 26, 27 ¹⁴C (T/¹⁴C: 4,36 \pm 0,1).

nolyse en milieu neutre (4) et séparé en deux fractions.

La première a été oxydée par le réactif de Jones (5) et l'acide éthyl-2 méthyl-3 butyrique 8a a été isolé sous forme de son ester p-phényl phénacylique 9a.

La deuxième fraction a été traitée par une solution contenant 1,4 ml de NaOH aqueux à 10% et 5ml d'éthanol sous azote pendant 15 heures. Après oxydation par le réactif de Jones, l'acide 8b a été isolé sous forme de son ester p-phényl phénacylique 9b.

Les deux esters 9a et 9b ont été recristallisés à radioactivité constante.

La comparaison des rapports de radioactivité du lanostérol incubé ($T/^{14}C$: 4,36) et de l'ester non échangé 9a ($T/^{14}C$: $2,28 \pm 0,31$) montre qu'au cours de la double méthylation un des atomes de tritium a migré sur un des atomes de carbone C-24, C-25, C-26 ou C-27^{*}. L'ester échangé 9b présente un rapport $T/^{14}C$: $0,44 \pm 0,15$ (perte de 80% de la radioactivité en tritium)^{**}. Un atome d'hydrogène a donc migré du carbone 23 au carbone 24 (possibilité que nous avons envisagée mais qui semblait peu probable). La différence des rapports de radioactivité $T/^{14}C$ entre l'acétate de l'époxy-22, 23 stigmastanol 4 dérivé de 2a ($T/^{14}C$: $3,32 \pm 0,14$) et de l'ester non échangé 9a ($T/^{14}C$: 2,28) montre qu'une partie de la radioactivité en tritium portée par ce composé est localisée sur le carbone 23. La valeur apparemment trop faible du rapport $T/^{14}C$: 3,32 obtenue pour le composé 4 s'explique par la conversion du stigmastanol la en stigmastén-22 ol-3 β 2a (1) qui entraîne l'élimination d'un des atomes d'hydrogène C-23.

D'autre part, l'incubation de cultures de Dictyostelium discoideum effectuées en présence de stigmastén-22, ol-3 β 2c (³H-3 α 2c (radioactivité introduite $5,9 \cdot 10^7$ dpm, 4 mg) a montré que la conversion de 2c \rightarrow 1c est possible in vivo sans "randomisation". Le taux de conversion (0,61%) est cependant huit fois plus faible que celui de la transformation inverse de la \rightarrow 2a (4,7%); ceci est en accord avec les résultats précédemment obtenus montrant que 2a ne pouvait être le précurseur de la.

Les résultats obtenus montrent que la double liaison C-22, C-23 présente dans le stigmastén-22 ol-3 β 2a de Dictyostelium discoideum peut-être formée par deux voies de biosynthèse :

- 1- par élimination de deux atomes d'hydrogène l'un en 22 l'autre en 23 du stigmastanol la et indépendamment de l'alkylation en C-24.
- 2- au cours de la biosynthèse de la ramification C-24 éthyle par élimination d'un hydrogène C-22 accompagné de la migration d'un hydrogène C-23 en position C-24.

* Les résultats obtenus précédemment excluent la possibilité d'une migration sur les carbones 28 ou 29 (3).

** L'éthyl-2 tritio-2 méthyl-3 butyraldéhyde 7b traité dans ces conditions perd 75% de la radioactivité présente sur le carbone C-2.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement Monsieur le Professeur E. Lederer pour l'intérêt qu'il a apporté à ce travail, et Melle E. Zissmann qui a effectué les cultures de Dictyostelium discoideum.

Références

1. R. Ellouz et M. Lenfant, Tetrahed. Let., 2655 (1969).
2. R. Ellouz et M. Lenfant, Tetrahed. Let., 609 (1969).
3. M. Lenfant, R. Ellouz, B. C. Das, E. Zissmann et E. Lederer, European J. Biochem., 7, 159 (1969).
4. J. W. Cornforth, F.R.S., R. H. Cornforth, C. Donninger, G. Popjak, G. Ryback et G. J. Schroepfer, Proc. R. Soc. London, Serie B 163, 436 (1965).
5. A. S. Narula et S. Dev, Tetrahed. Let., 1733 (1969).