

La saga du cholestérol

De la substance à la structure

Bernard Bodo

Résumé

Entre le moment où chimistes et médecins ont commencé à s'intéresser à la composition des calculs biliaires et celui où la structure du cholestérol a été établie de façon rigoureuse, deux siècles se sont écoulés. L'apport du chimiste Chevreul a été déterminant, par la clarification qu'il a apportée sur la question des graisses animales et la distinction qu'il a faite entre saponifiables et insaponifiables. Le cholestérol qu'il a isolé pur, comme nous avons pu le vérifier par des analyses modernes, et publié en 1815, il y a tout juste 200 ans, est certainement la molécule qui a impliqué pour sa connaissance le plus grand nombre de chimistes et de lauréats de prix Nobel de chimie et de médecine. Elle est aussi sans doute la plus connue du grand public. C'est cette longue histoire qui est évoquée ici avec ses principaux acteurs.

Mots-clés

Cholestérol, cholestérine, stérol, calculs biliaires, A.F. Fourcroy, M.E. Chevreul, F. Reinitzer, O. Diels, A. Windaus, H. Wieland.

Abstract

The cholesterol saga: from the substance to the structure

From the middle of the XVIIIth century, when chemists and doctors began to take interest in the composition of gallstones and the time when the cholesterol structure was established rigorously, two centuries have passed. The chemist Chevreul had a crucial contribution firstly for the clarification he has made on the nature of animal fat and on the saponification reaction from the distinction he made between saponifiable and unsaponifiable compounds. He isolated and characterized cholesterol from gallstones and published his results in 1815. The Chevreul's sample of cholesterol conserved in the laboratory of chemistry of the Muséum was pure, as we have checked it by modern spectral analysis. Cholesterol is certainly the molecule which has involved for his knowledge as many chemists and Nobel laureates in chemistry and medicine Award, and its right chemical structure including the absolute configuration of its chiral centres was only known in the middle of the XXth century. It is also probably one of the most familiar chemical compounds for the general public. It is this long chemical history that is presented here with its key stakeholders.

Keywords

Cholesterol, cholesterin, sterol, gallstones, A.F. Fourcroy, M.E. Chevreul, F. Reinitzer, O. Diels, A. Windaus, H. Wieland.



Figure 1 - Michel Eugène Chevreul (1786-1889).

Lorsque le 5 juillet 1813 Michel Eugène Chevreul (figure 1) lit à l'Institut les premiers résultats de ses recherches « *Sur plusieurs corps gras et particulièrement sur leurs combinaisons avec les alcalis* », il jette en fait les bases de la chimie des lipides dont il est à juste titre considéré comme le fondateur. Chevreul, alors âgé de 27 ans, travaille au Muséum aux côtés de son maître Nicolas Vauquelin qui lui avait confié l'analyse d'un savon de graisse de porc. Ce travail fait l'objet d'un premier mémoire aux *Annales de chimie* en décembre

1813 [1], suivi de six autres entre 1814 et 1818 dans le même journal. Dans le cinquième mémoire paru en 1815, Chevreul traite des calculs biliaires [2]. L'ensemble de ces travaux aboutit à l'ouvrage *Recherches sur les corps gras d'origine*

animale, publié en 1823, qui fait le point de dix années de recherche sur le sujet [3].

La question des calculs biliaires

Les calculs biliaires, et de façon générale les graisses animales, ont suscité depuis le milieu du XVIII^e siècle un intérêt grandissant des chimistes et des médecins. Vers 1730, Antonio Vallisnieri, professeur de médecine de l'Université de Padoue, s'intéressant à ce sujet, met en évidence une « *substance cristalline* » soluble dans un mélange d'esprit de vin et de térébenthine. À Berne, Albrecht von Haller publie en 1749 des *Observations sur les calculs du foie* ; puis en 1757, Thomas Coe, médecin de Londres, fait paraître un *Traité sur les concrétions biliaires*, toutefois sans apport notable aux connaissances de l'époque. À Paris vers 1758, François Poulletier de la Salle, sur les conseils de Jean-Baptiste Sénac, chimiste et premier médecin du roi Louis XIV, qui lui avait transmis les observations de Vallisnieri, en reprend les expériences. Poulletier observe que « *L'esprit de vin est le dissolvant propre de cette matière qu'on nomme pierres biliaires, mais au bout de quelque temps, il était tout rempli de particules minces très brillantes et qui nageaient de tous côtés dans la liqueur.* » Ainsi Poulletier recristallise la substance,



Figure 2 - Échantillon de cholestérol isolé par M.E. Chevreul en 1814 et conservé au Laboratoire de chimie du Muséum.

mais il ne publie pas ses travaux qui sont seulement signalés en 1778 à la rubrique « *Fiel des animaux* » de la deuxième édition du *Dictionnaire de Macquer* [4]. L'intérêt pour le sujet se maintient avec de nombreux travaux tels (parmi d'autres) ceux de Benjamin G.F. Conradi à Iéna en 1775 (*Calculis vesiculae fellea humanae*) et de Giovanni Antonio Scopoli à Pavie sur les *Principes constituants des calculs de la bile* en 1778.

Vers 1785, Poulletier reprend son étude avec Antoine de Fourcroy au Muséum, mais sa mort en 1788 laisse Fourcroy continuer seul. Depuis 1780, Fourcroy analysait toutes sortes de matières grasses animales : calculs biliaires,

graisses de cadavres à l'occasion des fouilles du cimetière des Innocents à Paris, sang de bœuf et blanc de baleine. Dans une publication de 1789 aux *Annales de Chimie*, il rassemble tous ces corps gras sous le nom d'« *adipocire* », terme qui désignait des composés entre cires et graisses et qui recouvrait en fait un concept vague [5].

Ainsi, malgré les efforts de très nombreux chimistes et médecins au cours du XVIII^e siècle, y compris les travaux de Fourcroy, les saponifiables tels les esters d'acides gras et les triglycérides et les insaponifiables tel le cholestérol ne sont pas clairement distingués, et au début du XIX^e siècle, la connaissance des graisses animales reste encore floue.

La substance

C'est Chevreul qui, dès 1813, commence à mettre de la clarté dans cet amas de connaissances confuses sur les corps gras d'origine animale. En les traitant par des bases, puis par des recristallisations successives, il en isole les différents constituants purs, qu'il nomme « *principes immédiats* », les caractérise physiquement et chimiquement, et leur donne les noms sous lesquels nous les connaissons aujourd'hui. Ce sont nos acides stéarique, oléique, caproïque, caprique, butyrique... Enfin, il explique la réaction de saponification. Fin 1814, en recristallisant des calculs biliaires dans l'alcool, il obtient un nouveau composé formant des cristaux brillants auquel il donne le nom de « *cholestérine* », s'appuyant sur une étymologie grecque qui signifie partie « *solide de la bile* ». Il montre que cette substance n'est pas saponifiable et établit sa composition centésimale (C % : 85,9 ; H % : 11,9 ; O % : 4,2), très proche de celle donnée aujourd'hui dans le *Merck Index* (C % : 83,87 ; H % : 11,99 ; O % : 4,14). Cet échantillon de « *cholestérine* » a été conservé dans les collections du Muséum (figure 2). Chevreul communique ses résultats dans un mémoire lu à l'Institut le 19 septembre 1814 et publié dans les *Annales de chimie* en 1815 (figure 3) [1-3].

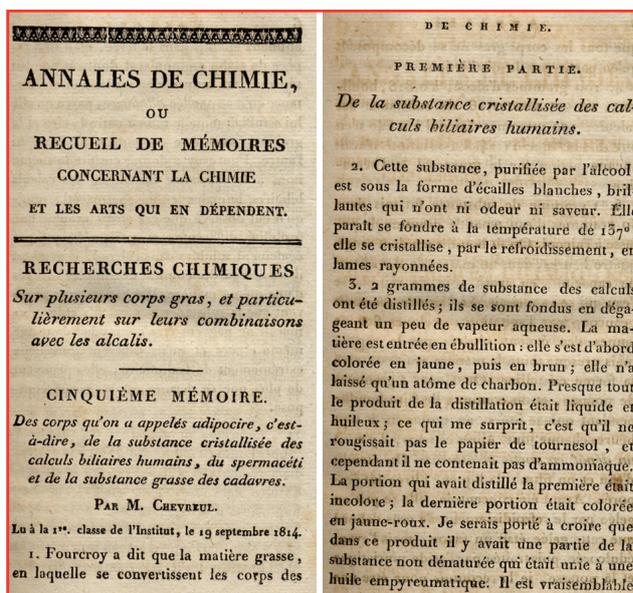


Figure 3 - Début du cinquième mémoire des recherches chimiques sur les corps gras portant sur la substance cristallisée des calculs biliaires humains et publié dans les *Annales de Chimie* en 1815 [2].

Dans les années qui suivent, de très nombreux chimistes et médecins continuent d'étudier la cholestérine de Chevreul, sa réactivité chimique et sa répartition. Ainsi en 1817, Joseph Pelletier et Joseph Caventou examinent l'action de l'acide nitrique, et en 1820, Théodore de Saussure étudie l'effet de sa combustion. Puis il est montré que cette substance est un constituant du jaune d'œuf (L.R. Lecanu en 1829 et T. Gobley en 1846), du cerveau (J.-P. Couerbe en 1834 et E. Fremy en 1841) et du sang (F. Boudet en 1833 et L.R. Lecanu en 1838)... Finalement, on s'aperçoit que la « *cholestérine* » est présente dans tous les tissus animaux, dont elle est un élément fondamental.

Vers la formule brute

Pendant la majeure partie du XIX^e siècle, la « *cholestérine* » de Chevreul fait l'objet de nombreuses analyses chimiques en vue de déterminer sa formule brute. Des formules très variées sont proposées. Charles Gerhardt, qui a travaillé quelque temps dans le laboratoire de Chevreul comme assistant de Cahours, propose en 1854 la formule $C_{52}H_{44}O_2$ comme la plus probable et suppose la présence d'une fonction alcool [6]. En 1859, Marcellin Berthelot confirme la présence de cette fonction alcool et pour en tenir compte modifie le nom « *cholestérine* » en « *cholestérol* ». Dans le même article, il suggère différentes formules brutes, avec de 48 à 60 atomes de carbone, telles parmi d'autres : $C_{48}H_{40}O_2$, $C_{54}H_{46}O_2$, et même $C_{60}H_{52}O_2$ [7]. Il faut attendre Friedrich Reinitzer, chimiste de l'Université de Prague, pour voir publiée en 1888 la formule brute correcte du cholestérol : $C_{27}H_{46}O$. Chevreul a alors 102 ans. Par ailleurs, c'est en étudiant les propriétés du benzoate de cholestérol que Reinitzer découvre les cristaux liquides qu'il mentionne dans le même article [8].

Dans une notice historique de 1902, Marcellin Berthelot rend hommage à l'apport de Chevreul et conclut : « *Aux notions imparfaites et flottantes régnantes à son époque et qui tendaient à confondre sous des appellations vagues tout un ensemble de composés analogues, il a substitué des idées claires, précises, fondées sur une logique rigoureuse. Il a*

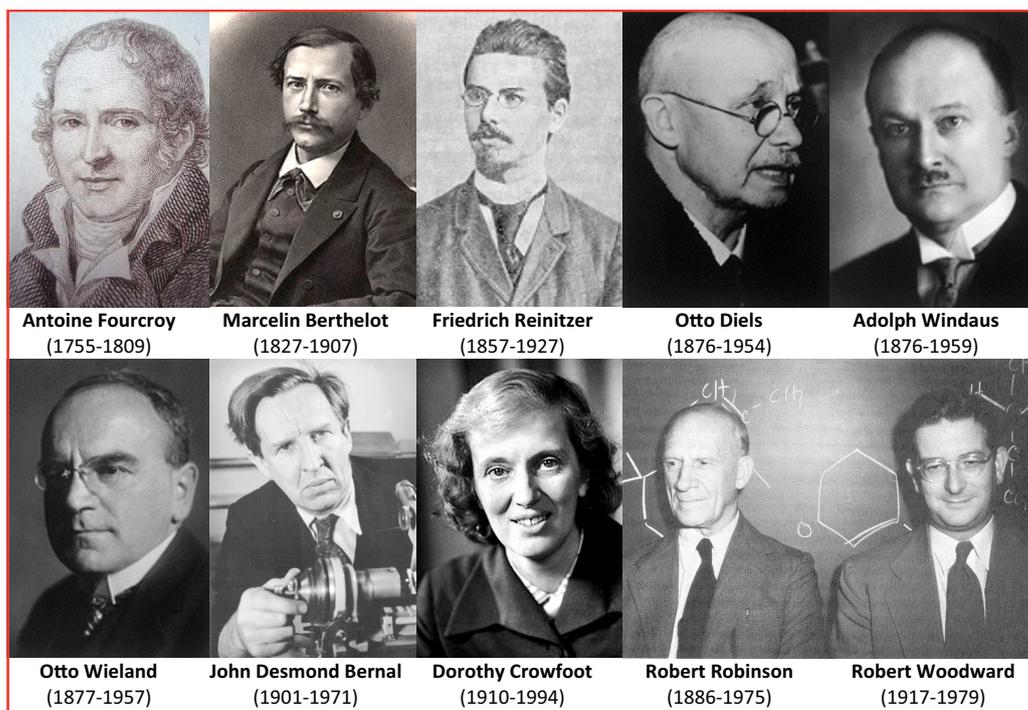


Figure 4 - Quelques-uns des chimistes ayant contribué à l'étude et à la détermination de la structure du cholestérol.

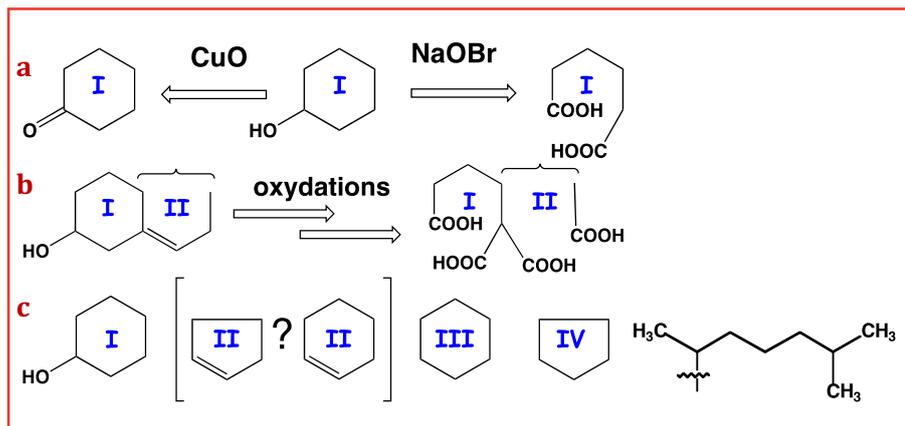


Figure 5 - Fragments du puzzle qui ont abouti à la structure du cholestérol : a) oxydation de la fonction alcool montrant sa localisation dans un cycle ; b) oxydation de la fonction alcool et de la double liaison montrant qu'elles sont dans deux cycles différents ; c) les pièces du puzzle : quatre cycles (I-IV) à 5 ou 6 carbones et une chaîne latérale. On ne sait pas alors si le cycle portant la double liaison est à 5 ou 6 carbones.

imposé aux chimistes et aux physiologistes une discipline inflexible, inconnue jusque là dans les études de chimie végétale et animale. »

Ainsi, dans les dernières années du XIX^e siècle, la formule brute du cholestérol est enfin rigoureusement établie. Mais il reste à déterminer sa constitution ou formule développée. C'est ce que les chimistes vont s'efforcer de faire en analysant pas à pas les motifs structuraux constitutifs et leur assemblage, avec les méthodes dont ils disposent alors, c'est-à-dire en cassant par des réactions chimiques la molécule en fragments plus simples qu'ils peuvent identifier par comparaison avec des substances connues et ensuite reconstituer la structure comme dans un puzzle. Aussi ces recherches longues et difficiles occupent un grand nombre de scientifiques et non des moindres jusqu'au milieu du XX^e siècle (figure 4).

L'identification de la chaîne latérale et des fonctions

Vers 1872, il avait été observé que l'oxydation du cholestérol formait un composé dont l'odeur agréable était proche de celle de la méthylhexylcétone. Une vingtaine d'années plus tard, en 1896, Mauthner remarque que la décomposition thermique du cholestérol forme deux hydrocarbures, l'un à 19 carbones, l'autre à 8 et dont la somme correspond à l'intégralité des 27 atomes de carbone du cholestérol. Finalement, la structure de la chaîne latérale en C-8 est établie par Windaus en 1913 sur la base de l'oxydation chromique du cholestérol dans l'acide acétique qui produit la méthylisohexylcétone [9] (figure 5).

Otto Diels montre dès 1903 que la fonction alcool est située dans un cycle, car son oxydation par NaOBr forme un seul composé qui est un diacide et non

deux acides organiques [10]. L'année suivante, il établit que l'alcool est secondaire puisqu'il est oxydé en cétone par CuO [11]. Ce point sera confirmé par Adolph Windaus deux ans plus tard au moyen d'une oxydation par KMnO_4 [12]. La présence d'une double liaison dans la molécule est avancée par plusieurs chimistes allemands, d'abord J. Wislicenus qui observe dès 1868 que le cholestérol fixe une molécule de brome [13]. Puis J. Mauthner et A. Windaus décrivent sa capacité à additionner une molécule d'hydrogène [12, 14]. En 1904, Windaus démontre que cette double liaison est dans un cycle et que la fonction alcool et la double liaison sont situées dans des cycles différents. Il s'appuie pour cela sur une suite complexe de réactions d'oxydation unique renfermant quatre fonctions acide carboxylique et non à plusieurs composés (figure 5) [15].

Une molécule tétracyclique

Dans une publication de 1908 dans *Chemische Berichte*, Diels montre la présence de quatre cycles dans la molécule sur la base de la réduction du cholestérol en cholestane $\text{C}_{27}\text{H}_{48}$, formule qui implique quatre degrés d'insaturation, donc quatre cycles [16]. La nature de ces cycles pose de nombreuses questions. Il y a bien un accord général pour penser que la fonction alcool est fixée dans un cycle à 6 carbones et pour la présence de deux autres cycles saturés, l'un à 5 et l'autre à 6 carbones. Mais on ne sait pas clairement si le cycle comportant la double liaison est à 5 ou à 6 carbones. Il y a aussi un problème avec deux carbones ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) fixés sur le cycle IV. Et la question majeure est l'agencement de ces

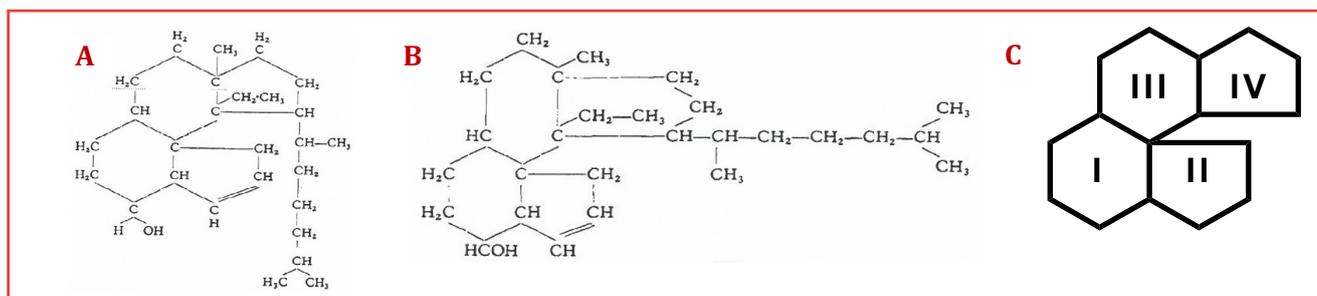


Figure 6 - Formules proposées pour le cholestérol par Wieland en 1927 (A) et par Windaus en 1928 (B) dans leurs conférences Nobel. C) Schéma montrant l'agencement des quatre cycles.

quatre cycles entre eux et avec la chaîne. Adolf Otto Windaus, qui avait préparé sa thèse sur les digitaliques sous la direction de Heinrich Kiliani à l'Université de Fribourg, s'intéresse depuis 1901 à la constitution des stérols, en particulier à celle du cholestérol ainsi qu'à leur relation avec la vitamine D et les acides biliaires. En 1919, il transforme, *via* le coprostanol, le cholestérol en acide cholanique que Heinrich Wieland avait isolé en 1912 [17-18]. Windaus conclut que tous ces composés ont le même squelette carboné. Ainsi l'intérêt pour la structure du cholestérol vient non seulement de son intérêt propre, mais aussi du fait qu'il est le chef de file, le précurseur ou l'analogue d'un grand nombre de substances d'intérêt biologique majeur – acides biliaires, vitamines, hormones, toxines de plantes et de batraciens... – qui ont donc toutes un motif d'architecture moléculaire en commun. C'est pourquoi l'histoire chimique du cholestérol se développe alors de façon parallèle à celle des acides biliaires entre autres, mais souvent de façon indépendante.

L'assemblage des éléments de structure, questionnements et controverses

Windaus, professeur à l'Université de Göttingen de 1915 à 1944, publie en 1919 dans le *Chemische Berichte* une proposition de formule développée pour le cholestérol [18]. Son ami Heinrich Otto Wieland, d'un an son cadet et qui a préparé sa thèse à l'Université de Munich avec Thiele, s'intéresse depuis 1912 à la constitution des acides biliaires et des substances apparentées, en particulier à celle des bufadiénolides, toxines de crapauds. En 1926, Wieland publie à son tour une structure de l'acide cholique, avec un squelette tétracyclique identique à celui proposé par Windaus pour le cholestérol (figure 6) [19].

Très rapidement, les travaux de ces deux chimistes sont couronnés par des prix Nobel de chimie. Wieland l'obtient en 1927 pour « ses recherches sur les acides biliaires et les structures apparentées » et Windaus en 1928 pour « la constitution des stérols et leur relation avec d'autres substances présentes dans la nature » [18-19]. Mais les structures que ces chimistes allemands ont proposées pour le cholestérol et l'acide cholique et qu'ils ont présentées dans leurs conférences Nobel sont rapidement contestées.

D'abord, Otto Diels, qui s'était désintéressé du cholestérol pour travailler sur la synthèse diénique avec son élève Kurt Alder (ce qui leur vaudra le prix Nobel de chimie en 1950), revient sur le sujet à partir de 1927 et fait deux observations déterminantes. La déshydrogénation du cholestérol sur Pd/C à 400 °C forme du chrysène, un hydrocarbure aroma-

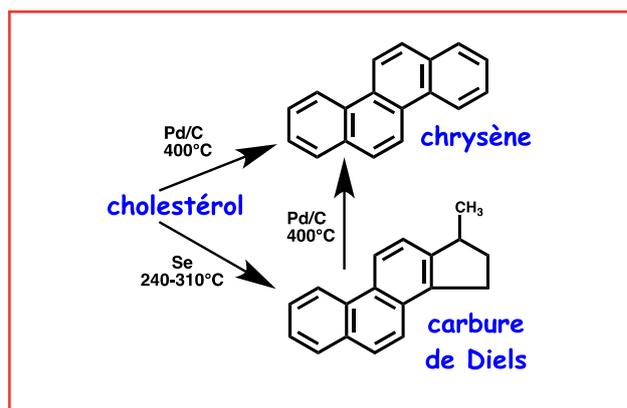


Figure 7 - Aromatisation du cholestérol par Diels en 1927.

tique de structure bien connue [20]. De plus, en présence de sélénium vers 240-310 °C, est formé un hydrocarbure dit « hydrocarbure de Diels » [21], dont une synthèse non ambiguë est réalisée indépendamment par Ernst Bergmann et par Léopold Ruzicka (figure 7) [22-23]. Diels montre que l'ergostérol et l'acide cholique ont aussi le même comportement.

En 1932, John Desmond Bernal, cristallographe de l'Université de Cambridge, pionnier dans l'application de la cristallographie aux rayons X appliquée à la biologie structurale, observe et publie que les mesures déduites de l'analyse cristallographique de l'ergostérol, de la vitamine D et du cholestérol ne sont pas en accord avec les formules proposées pour cette classe de composés par les deux chimistes allemands nobélisés [24]. En effet, la maille cristalline que les structures proposées suggèrent est beaucoup plus épaisse que celle déduite des mesures par diffraction des rayons X des substances réelles cristallisées.

Ainsi, toutes ces données ne sont pas compatibles avec les structures proposées par Windaus et Wieland et de l'avis des chimistes et des cristallographes, elles sont erronées. Adolf Butenandt, assistant de Windaus de 1927 à 1931 à l'Université de Göttingen, qui travaille sur les hormones sexuelles dérivées du cholestérol, en particulier sur l'estrone, aboutit en 1932 à des structures en accord avec les données de Diels [25]. L'ensemble de ces observations issues de la cristallographie et de la chimie conduit, toujours en 1932, Otto Rosenheim et Harold King de l'Université de Londres à proposer pour le cholestérol un nouvel agencement des quatre cycles et de la chaîne qui est aussitôt accepté par la communauté des chimistes, y compris par Windaus et Wieland (figure 8) [26].

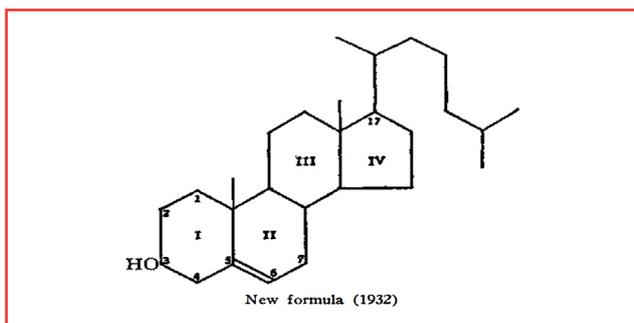


Figure 8 - Formule proposée en 1932 par Rosenheim et King pour le cholestérol.

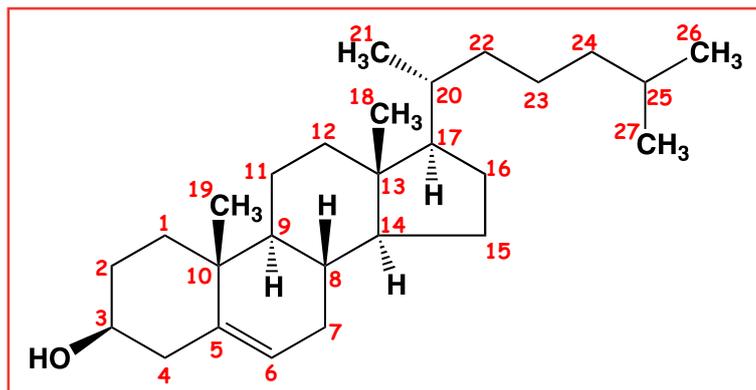


Figure 9 - Structure finale du cholestérol.

Vers la structure définitive du cholestérol

De la fin du XIX^e au milieu de XX^e siècle, une pléiade de chimistes a contribué à faire avancer nos connaissances sur la structure, en particulier sur la structure tridimensionnelle du cholestérol et des composés apparentés ou dérivés, en utilisant des méthodes et des approches variées : isolement et analyse structurale d'analogues naturels, modifications chimiques, analyse cristallographique et synthèse organique. De nombreux autres stérols sont isolés de différentes sources. Par des suites de réactions d'oxydation, réduction, déshydrogénation, déshydratation, les chimistes les transforment les uns dans les autres. En 1887, Charles Joseph Tanret isole l'ergostérol de l'ergot de seigle [27] et I.M. Heilbron et Windaus en étudient la constitution. En 1906, Windaus et ses collaborateurs isolent le stigmastérol et le sitostérol de la fève de Calabar [28], et en 1934, Heilbron isole le fucostérol d'algues [29]. Les recherches intenses menées par L. Ruzicka en 1933 et ses collaborateurs sur l'articulation *trans* des cycles II et III, sur la structure du lanostérol et la synthèse des hormones stéroïdes, androstérone et testostérone, font progresser les connaissances sur les structures et les relations entre ces composés [30-31]. À titre d'exemple, des corrélations avec les acides biliaires sont réalisées par une succession de modifications chimiques : l'acide déoxycholique est transformé en acide céto-12-cholanique qui, chauffé à 330 °C, forme du déhydronorcholène, puis déshydrogéné par Wieland et E. Dane en 1933 pour donner le méthylcholantrène, dont Louis Fieser réalise la synthèse en 1935 [32-33]. De nombreux autres chimistes, dont J. Mauthner, R. Schönheimer et R. Tschesche, apportent une contribution

importante à ces travaux par des approches complémentaires. Le positionnement des deux méthyles directement liés au système polycyclique a été résolu facilement grâce au nombre restreint de possibilités.

Dorothy Crowfoot Hodgkin de l'Université d'Oxford, élève de Bernal et spécialisée en cristallographie de molécules complexes, publie en 1945 la structure cristalline de l'iodure de cholestérol [34]. Sir Derek Barton montre dès 1950 que les stéroïdes adoptent des conformations préférentielles avec les formes « chaise » ou « bateau » des cycles à six carbones et au cours de ces études, il jette les bases de l'analyse conformationnelle en chimie organique [35]. La synthèse totale du cholestérol publiée en 1951 par R.B. Woodward, simultanément à celle de John W. Cornforth et Sir Robert Robinson, établit sa structure de façon définitive et en précise la stéréochimie [36-37]. Enfin, par corrélation entre la semicarbazone du (+)citronellal et le produit d'ozonolyse et de pyrolyse du cholestérol, où seul le carbone en position 20 chiral est conservé, J.W. Cornforth détermine en 1954 la configuration absolue du cholestérol (figure 9) [38].

La structure définitive du cholestérol étant un objectif atteint au milieu du XX^e siècle, un nouvel intérêt s'est alors développé pour la connaissance de sa biosynthèse.

La synthèse biologique ou biosynthèse du cholestérol

La structure du cholestérol le classe dans la famille des terpénoïdes. Dès 1909, Otto Wallach avait proposé la règle isoprénique pour les terpénoïdes, c'est-à-dire leur construction à partir d'une unité en C₅, l'isoprène. Puis en 1926, Heilbron suggère que l'apport en squalène dans l'alimentation animale augmente la teneur en cholestérol des tissus [39]. Mais les travaux sur la biosynthèse du cholestérol ne commencent réellement qu'en 1937 avec d'une part les travaux de Rittenberg et Schoenheimer utilisant des isotopes stables pour montrer que sa formation implique l'assemblage de petites molécules, et ceux de Sonderhoff et Thomas d'autre part qui montrent que l'acide acétique est incorporé dans l'ergostérol [40-41]. Cinq années plus tard, en 1942, K. Bloch et Rittenberg établissent l'origine des 27 atomes de carbone du cholestérol à partir de l'acide acétique (CH₃-COOH) radiomarké [42]. Puis les années 1953-1956 vont voir paraître de nombreuses publications des équipes de K. Bloch et de J.W. Cornforth établissant la biosynthèse du squalène et son rôle comme précurseur ultérieurement transformé par de multiples cyclisations en lanostérol intermédiaire puis en cholestérol [43-44]. En 1957, K. Folkers de la société Merck découvre que l'acide mévalonique est l'élément de base de cette construction : celui-ci formé à partir de trois molécules d'acide acétique, puis après la perte d'un atome de carbone, est transformé en diphosphate d'isopentényle (IPP), unité isoprénique en C₅ [45].

Par la suite, grâce à des marquages radioactifs, Cornforth et Popjack établissent les étapes de la biosynthèse du cholestérol à partir de l'acide mévalonique *via* le squalène cyclisé en lanostérol et les processus stéréochimiques des réactions au cours de cette biosynthèse [46]. Bloch et ses collaborateurs transforment *in vivo* et *in vitro* le lanostérol en cholestérol [47]. Deux articles de synthèse, l'un de Bloch publié en 1965 [48] et l'autre de Cornforth en 1966 [49], décrivent précisément les étapes de la synthèse biologique du cholestérol. Depuis, l'acide mévalonique, précurseur des étapes précoces de la biosynthèse du cholestérol, est devenu une cible

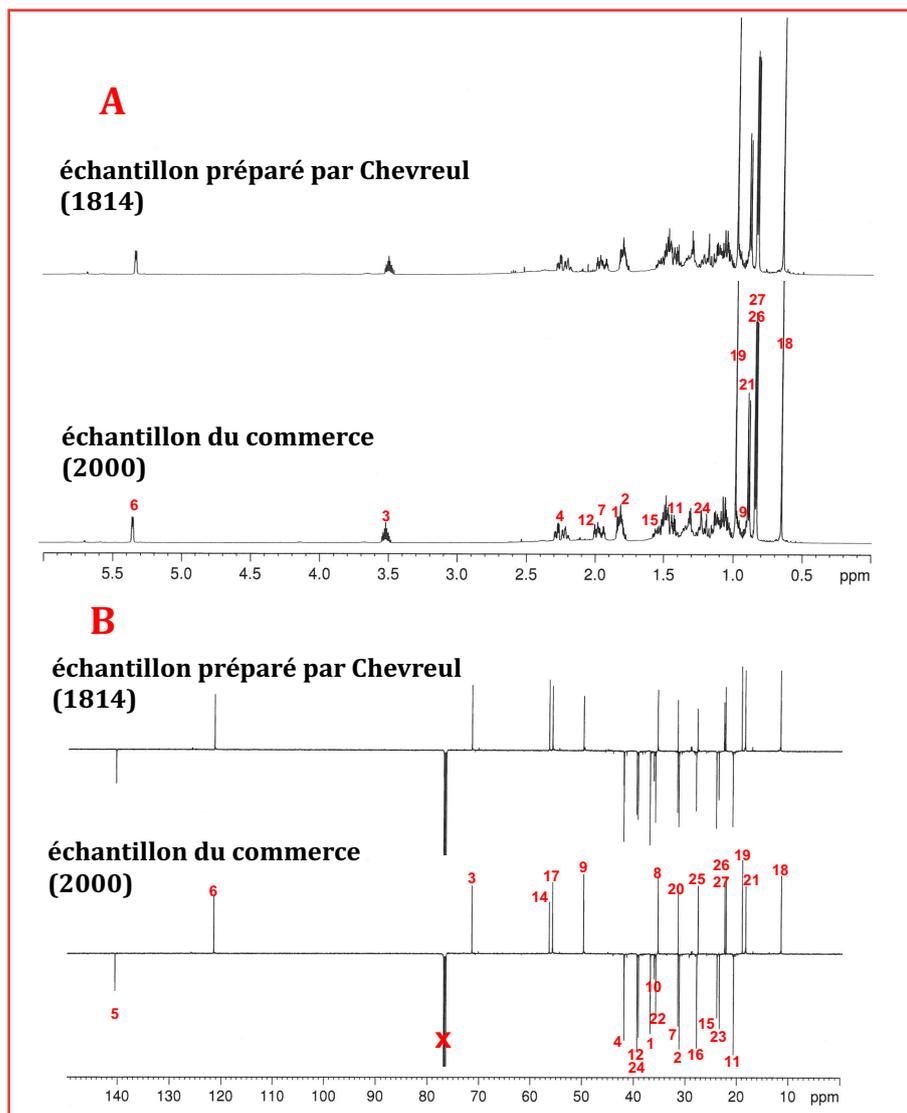


Figure 10 - Analyse par RMN de l'échantillon de Chevreul comparé à un échantillon moderne : **A)** spectres de RMN ^1H du cholestérol (CDCl_3 , 298 K, 600 MHz) ; **B)** spectres de RMN ^{13}C du cholestérol (CDCl_3 , 298 K, 150 MHz).

pharmacologique conduisant à l'utilisation des statines, inhibiteurs de sa biosynthèse et médicaments pour traiter les pathologies liées à l'excès de cholestérol.

Retour sur le passé

Nous connaissons maintenant la nature et la structure du cholestérol. Mais qu'en est-il de la qualité de la substance, la « *cholestérine* », que Chevreul a isolée fin 1814 par recristallisation dans l'éthanol de calculs biliaires et dont un échantillon a été conservé dans un flacon rodé au Laboratoire de chimie du Muséum, comme ceux des acides gras qu'il a isolés à cette époque ? Nous avons analysé cette substance par les méthodes de détermination structurale d'aujourd'hui, spectrométrie de masse et RMN. L'étape la plus délicate a été d'ouvrir le flacon, sans le briser. Les spectres obtenus sont identiques à ceux d'un échantillon pur du commerce contemporain (figure 10).

Ainsi, depuis les premiers essais de cristallisation du cholestérol vers 1750, mettant en évidence une substance particulière, jusqu'à la détermination de sa structure moléculaire, impliquant celle de sa configuration absolue dans les

années 1950, deux siècles se sont écoulés. Les recherches ont été menées par un nombre impressionnant de chimistes et elles ont été récompensées par plus de quinze prix Nobel, généralement de chimie, mais aussi de médecine, ce qui en fait la molécule la plus médaillée. Cette longue saga, qui va de l'isolement de la substance à son identification chimique, avec les controverses scientifiques qui l'ont accompagnée, est emblématique du long et patient cheminement suivi par les chimistes au cours des XIX^e et XX^e siècles pour l'obtention de substances naturelles pures, la détermination de leur structure moléculaire, leur synthèse totale et l'élucidation de leur biosynthèse. Comme le rappelle Javilliers dans le *Traité de chimie* de V. Grignard, cette détermination de structure a été hérissée de difficultés liées non seulement à sa complexité, mais aussi à l'inexistence jusqu'alors de composés de référence obtenus par la synthèse, à la multiplicité des stéréoisomères possibles et aux particularités de cristallisation de ces corps, ce qui a compliqué la résolution du problème de la position relative des quatre cycles.

Une autre saga, qui n'est ni moins riche en épisodes variés, ni moins impressionnante, est celle des propriétés biologiques et du rôle physiologique du cholestérol.

Pour en savoir plus

De façon générale, des informations très détaillées sont données dans les ouvrages suivants :

- Javillier M., Stérols et acides biliaires, in *Traité de Chimie organique*, V. Grignard, Tome XVI, Masson et Cie, Paris, **1949**.
- Fieser L.F., Fieser M., *Steroids*, Chapman & Hall, Londres, **1959**.
- Feltgen K., *Histoire du cholestérol*, Thèse d'exercice, Faculté de Médecine de l'Université de Rouen, **1993**.
- Barton D., Nakanishi K., *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Vol. 2, D.E. Cane (ed.), Elsevier, New York, **1999**.

Références

- [1] Chevreul M.-E., Recherches chimiques sur plusieurs corps gras, et plus particulièrement sur leurs combinaisons avec les alcalis. Chevreul. Premier mémoire (lu à l'Institut le 5 juillet 1813). Sur une substance nouvelle obtenue du savon de graisse de porc et de potasse, *Ann. Chim.*, **1813**, 88, p. 225.
- [2] Chevreul M.-E., Recherches chimiques sur plusieurs corps gras, et plus particulièrement sur leurs combinaisons avec les alcalis. Chevreul. Cinquième mémoire (lu à l'Institut le 19 septembre 1814). Des corps que l'on a appelés adipocire, c'est-à-dire de la substance cristallisée des calculs biliaires humains, du sperma-ceti et de la substance grasse des cadavres, *Ann. Chim.*, **1815**, 95, p. 5.
- [3] Chevreul M.-E., *Recherches sur les corps gras d'origine animale*, F.G. Levrault Ed., Paris, **1823**.
- [4] Macquer P.-J., *Dictionnaire de chimie*, P. Fr. Didot jeune, 2^e éd., Paris, **1778**, Vol. 2, p. 192.
- [5] Fourcroy A.-F., De la substance feuilletée et cristalline contenue dans les calculs biliaires et de la nature des concrétions cystiques cristallisées, *Ann. Chim.*, **1789**, 3, p. 242.
- [6] Gerhardt C., *Traité de Chimie organique*, Firmin Didot frères, Paris, **1854**, Tome 3, p. 735.
- [7] Berthelot M., Sur plusieurs alcools nouveaux, *Ann. Chim. et Phys.*, **1859**, 56, p. 51.

- [8] Reinitzer F., Beiträger zur Kenntniss des Cholesterins, *Monatsh.*, **1888**, 9, p. 421.
- [9] Windaus A., Resau C., Methyl-isohehexyl-ke-ton, ein Abbau Produkt des Cholesterins (Zur Kenntniss des Cholesterins XVI), *Chem. Ber.*, **1913**, 46, p. 1246.
- [10] Diels O., Abderhalden E., Verber den Abbau des Cholesterins, *Chem. Ber.*, **1903**, 36, p. 3177.
- [11] Diels O., Abderhalden E., Zur Kenntniss des Cholesterins, *Chem. Ber.*, **1904**, 37, p. 3092.
- [12] Windaus A., Nolitzen über Cholesterin, *Chem. Ber.*, **1906**, 39, p. 518.
- [13] Wislicenus J., Moldenhauer W., Über das Cholesterindibromür, *Justus Liebigs Ann.*, **1868**, 146, p. 175.
- [14] Mauthner J., Neue Beiträge zur Kenntniss der Cholesterins, *Monatsh.*, **1906**, 27, p. 305.
- [15] Windaus A., Stein G., Über Cholesterin, *Chem. Ber.*, **1904**, 37, p. 3699.
- [16] Diels O., Linn K., Zur Kenntniss des Cholesterins, *Chem. Ber.*, **1908**, 41, p. 260 et p. 544.
- [17] Wieland H., Weil F.J., Untersuchungen über die Cholsäure. I. Mitteilung, *Z. Physiol. Chem.*, **1912**, 80, p. 287.
- [18] a) Windaus A., Neukirchen K., Die Umwandlung des Cholesterins in Cholensäure. Mitteilung über Cholesterin, *Chem. Ber.*, **1919**, 52, p. 1915; b) Windaus A., Nobel Lecture **1928**, www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1928/windaus-lecture.pdf.
- [19] a) Wieland H., Jacobi R., Die Synthese des Pseudo-cholestans aus Cholensäure, *Chem. Ber.*, **1926**, 59, p. 2064; b) Wieland H.O., Nobel Lecture **1927**, www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1927/wieland-lecture.pdf.
- [20] Diels O., Gädke W., Über die Bildung von Chrysen bei der Dehydrierung des Cholesterins, *Chem. Ber.*, **1927**, 60, p. 140.
- [21] Diels O., Gädke W., Körding P., Über die Dehydrierung des Cholesterins, *Liebigs Ann.*, **1927**, 459, p. 1.
- [22] Bergmann E., Hillmann H., γ -Methyl-1.2-cyclopenteno-phenanthren, *Chem. Ber.*, **1933**, 66, p. 1302.
- [23] Haper S.H., Kon G.A.R., Ruzicka F.C.J., Syntheses of polycyclic compounds related to the sterols. Part 11. Diels's hydrocarbon C₁₈H₁₆, *J. Chem. Soc.*, **1934**, p. 124.
- [24] a) Bernal J.D., Crystal structures of vitamin D and related compounds, *Nature*, **1932**, 129, p. 277; b) Bernal J.D., Carbon skeleton of the sterols, *Chem. Ind.*, **1932**, 51, p. 466.
- [25] Butenandt A., Chemical constitution of the follicular and testicular hormones, *Nature*, **1932**, 130, p. 238.
- [26] Rosenheim O., King H., The ring-system of sterols and bile acids, *Chem. Ind.*, **1932**, 51, p. 464; b) Rosenheim O., King H., The ring-system of sterols and bile acids, *Nature*, **1932**, 130, p. 315.
- [27] Tanret C., Sur un nouveau principe immédiat de l'ergot de seigle, l'ergosterine, *C.R. Acad. Sci.*, **1889**, 108, p. 98.
- [28] Windaus A., Hauth A., Über Stigmasterin, ein neues Phytosterin aus Calabar-Bohnen, *Chem. Ber.*, **1906**, 39, p. 4378.
- [29] Heilbron I.M., Phipers R.F., Wright H.R., The chemistry of the algæ. Part I. The algal sterol fucosterol, *J. Chem. Soc.*, **1934**, p. 1572.
- [30] Ruzicka L., Thomann G., Polyterpene und polyterpenoide LXXIX. Zur Konstitution des Cholesterins und der Gallensäuren, *Helv. Chim. Acta*, **1933**, 16, p. 216.
- [31] Ruzicka L., Furter M., Thomann G., Polyterpene und Polyterpenoide LXXXII. Zur Stereochemie der Ringsysteme des Cholesterins und des Pseudocholestans, *Helv. Chim. Acta*, **1933**, 16, p. 327.
- [32] Wieland H., Dane E., Methylcholentrene, a degradation product of deoxycholic acid, *Z. Physiol. Chem.*, **1933**, 219, p. 240.
- [33] Fieser L.F., Seligman A.M., The synthesis of methylcholanthrene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 57, p. 228 et 942.
- [34] Carlisle C.H., Crowfoot N.D., The crystal structure of cholesteryl iodide, *Proc. R. Soc. London A*, **1945**, 184, p. 64.
- [35] a) Barton D.H.R., Miller E., Stereochemistry of the cholesterol dichlorides, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1950**, 72, p. 370; b) Barton D.H.R., Miller E., Stereochemistry of the cholesterol dibromides, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1950**, 72, p. 1066; c) Barton D.H.R., Rosenfelder W.J.E., The stereochemistry of the steroids. IV. The concept of equatorial and polar bonds, *J. Chem. Soc.*, **1951**, p. 1048.
- [36] Woodward R.B., Sondheimer F., Taub D., The total synthesis of cholesterol, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1951**, 73, p. 3548.
- [37] Cardwell M.E., Cornforth J.W., Duff S.R., Holtermann H., Robinson R., Total synthesis of androgenic hormones, *Chem. Ind.*, **1951**, p. 389.
- [38] Cornforth J.W., Youhotsky I., Popják G., Absolute configuration of cholesterol, *Nature*, **1954**, 173, p. 536.
- [39] Heilbron I.M., Kamm E.D., Owens W.M., The unsaponifiable matter from the oils of Elasmobranch family. I. A contribution to the study of squalene, *J. Chem. Soc.*, **1926**, p. 1630.
- [40] Schoenheimer R., Rittenberg D., Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism. XI. Further studies on the biological uptake of deuterium into organic substances, with special reference to fat and cholesterol formation, *J. Biol. Chem.*, **1937**, 121, p. 235.
- [41] Sonderhoff R., Thomas H., Die Enzymatische Dehydrierung der Trideutero-essigsäure, *Liebigs Ann. Chem.*, **1937**, 530, p. 195.
- [42] Bloch K., Rittenberg D., On the utilization of acetic acid for cholesterol formation, *J. Biol. Chem.*, **1942**, 145, p. 625.
- [43] a) Langdon R.G., Bloch K., The biosynthesis of squalene, *J. Biol. Chem.*, **1953**, 200, p. 129; b) Langdon R.G., Bloch K., The utilization of squalene in the biosynthesis of cholesterol, *J. Biol. Chem.*, **1953**, 200, p. 135; c) Woodward R.B., Bloch K., The cyclisation of squalene in cholesterol biosynthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75, p. 2023.
- [44] a) Cornforth J.W., Hunter G.D., Popják G., Studies of cholesterol biosynthesis. 2. Distribution of acetate carbon in the ring structure, *Biochem J.*, **1953**, 54, p. 597; b) Cornforth J.W., Popják G., Studies on the biosynthesis of cholesterol. 3. Distribution of ¹⁴C in squalene biosynthesized from [Me-¹⁴C] acetate, *Biochem J.*, **1954**, 58, p. 403.
- [45] Wolf D.E., Hoffman C.H., Aldrich P.E., Skegg H.R., Wright L.D., Folkers K., β -hydroxy- β -methyl δ -valerolactone (divalonic acid), a new biological factor, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, p. 4499.
- [46] Cornforth J.W., Cornforth R.H., Popják G., Youhotsky Gore I., Studies on the biosynthesis of cholesterol. 5. Biosynthesis of squalene from DL-3-hydroxy-3-methyl-[2-¹⁴C]pentano-5-lactone, *Biochem J.*, **1958**, 69, p. 146.
- [47] a) Schneider P.B., Clayton R.B., Bloch K., Synthesis of lanosterol in vivo, *J. Biol. Chem.*, **1957**, 224, p. 175; b) Tchen T.T., Bloch K., On the conversion of squalene to lanosterol in vitro, *J. Biol. Chem.*, **1957**, 226, p. 921; c) Tchen T.T., Bloch K., On the mechanism of enzymatic cyclization of squalene, *J. Biol. Chem.*, **1957**, 226, p. 931; d) Rilling H., Tchen T.T., Bloch K., On the mechanism of squalene biogenesis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **1958**, 44, p. 167; e) Bloch K., Chaykin S., Phillips A.H., de Waard A., Mevalonic acid pyrophosphate and isopentenylpyrophosphate, *J. Biol. Chem.*, **1959**, 234, p. 2595.
- [48] Bloch K., The biological synthesis of cholesterol, *Science*, **1965**, 150, p. 19.
- [49] Popják G., Cornforth J.W., Substrate stereochemistry in squalene biosynthesis, *Biochem J.*, **1966**, 101, p. 553.



Bernard Bodo

est professeur émérite au Muséum national d'histoire naturelle, Paris*.

* Laboratoire de chimie, Muséum national d'histoire naturelle, UMR CNRS 7245, 63 rue Buffon, F-75005 Paris.
Courriel : bodo@mnhn.fr



La SCF et L'Actualité Chimique sur Facebook, vous aimez ?

Parlez-en autour de vous,
et invitez vos amis et collègues à nous rejoindre !

https://www.facebook.com/SocieteChimiquedeFrance