

Sur la pigmentogenèse chez *Penicillium phoeniceum* v. Beyma et sur la biosynthèse de la phoenicine

Autor(en): **Charollais, E. / Fliszár, S. / Posternak, Th.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **16 (1963)**

Heft 3

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-739362>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

E. CHAROLLAIS, S. FLISZÁR et Th. POSTERNAK. — Sur la pigmentogénèse chez *Penicillium phoeniceum* v. Beyma et sur la biosynthèse de la phoenicine.

La phoenicine, pigment isolé des cultures de *Penicillium phoeniceum* v. Beyma¹ et de *Penicillium rubrum* Grasberger-Stoll², représente, ainsi qu'on l'a établi par dégradation et par synthèse³, la 2,2'-dihydroxy-4,4'-ditoluquinone (I). Le présent travail a été entrepris dans le but d'établir le mécanisme de la biosynthèse de ce pigment dont la structure diquinonique n'a été retrouvée jusqu'à présent que chez un autre composé naturel, l'oosporéine⁴.

Pour cette étude nous avons utilisé essentiellement *Penicillium phoeniceum*. Les dosages de phoenicine ont été effectués soit par pesée directe après extraction du pigment, soit par colorimétrie en solution bicarbonato-sodique.

Conditions de la pigmentogénèse.

Le milieu de base utilisé était celui de *Czapek-Dox*, contenant par litre d'eau bidistillée: NaNO₃ 2,0 g; KH₂PO₄ 1,0 g; KCl 0,5 g; MgSO₄ · 7H₂O 0,5 g; FeSO₄ · 7H₂O 20 mg; glucose 50 g.

Au cours de nombreux essais, nous n'avons obtenu que des rendements très irréguliers en pigment. L'addition d'extrait de levure provoquait par contre une forte augmentation de la pigmentogénèse (près de dix fois). On pouvait alors se demander quels sont les composants qui exercent cette action favorable. Des essais effectués en présence d'un mélange de vitamines B (B₁, B₂, B₆, pantothénate, biotine, acide p-aminobenzoïque, acide folique, inositol) dans des proportions et en quantités analogues à celles de l'extrait de levure, ont donné des résultats négatifs. Nous avons examiné alors les composants minéraux; d'après des dosages polarographiques, les cendres d'une décoction de 100 g de levure de boulanger dans un litre d'eau ordinaire contiennent: Zn 0,05 mg; Co 0,006 mg; Mn 0,13 mg et Cu 0,19 mg. Le milieu de *Czapek-Dox* a été alors additionné de divers ions métalliques. Nous avons constaté que Zn⁺⁺ a une action favorable sur le poids du mycélium, mais que cet ion agissant seul entrave la pigmentogénèse. Cette dernière est par contre légèrement augmentée par Cu⁺⁺ employé seul; elle est considérablement exaltée par une association des deux ions. D'autres métaux se sont montrés sans action.

¹ E. A. H. FRIEDHEIM, *Helv. Chim. Acta*, 21, 1464 (1938).

² Th. POSTERNAK, *C. r. Soc. Phys. Hist. nat. Genève*, 56, 28 (1939).

³ Th. POSTERNAK, *Helv. Chim. Acta*, 21, 1326 (1938); Th. POSTERNAK, H. W. RUELIUS et J. TCHERNIAK, *ibid.*, 26, 2031 (1943).

⁴ F. KÖGL et G. C. VAN WESSEM, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 63, 5 (1944).

TABLEAU 1.

| Concentrations de sels métalliques ajoutés au milieu de Czapek-Dox | Obtenu en g par litre de culture de 25 jours | |
|--|---|--------------|
| | Phoenicine | Mycelium sec |
| 0 | 0,120 | 4,9 |
| ZnCl ₂ 0,8.10 ⁻⁶ M | 0 | 12,9 |
| CuCl ₂ 3.10 ⁻⁶ M | 0,141 | 6,8 |
| ZnCl ₂ 0,8.10 ⁻⁶ M } + CuCl ₂ 3.10 ⁻⁶ M } | 2,648 | 13,1 |

Des cultures effectuées sur milieu de Czapek-Dox + ZnCl₂ 0,8.10⁻⁶M en présence de quantités variables de Cu⁺⁺ ont montré que la concentration minimum en cet ion nécessaire pour l'optimum de pigmentogenèse est 1.10⁻⁷M.

TABLEAU 2.

| Concentration en CuCl ₂ ajouté au milieu de Czapek-Dox + ZnCl ₂ 0,8.10 ⁻⁶ M | Obtenu en g par litre de culture de 25 jours | |
|---|---|--------------|
| | Phoenicine | Mycelium sec |
| 0,0 | 0,0 | 12,9 |
| 1,2.10 ⁻⁸ M | 0,342 | 13,0 |
| 3.10 ⁻⁸ M | 1,180 | 13,1 |
| 6.10 ⁻⁸ M | 1,240 | 12,8 |
| 1,2.10 ⁻⁷ M | 1,520 | 12,9 |
| 3.10 ⁻⁷ M | 1,462 | 12,3 |
| 3.10 ⁻⁶ M | 1,644 | 12,6 |
| 3.10 ⁻⁵ M | 1,788 | 12,9 |

Biosynthèse de la phoenicine.

Des cultures sur milieu de Czapek-Dox + ZnCl₂ 0,8.10⁻⁸ + CuSO₄ 3.10⁻⁶M ont été additionnées au bout de 7 à 13 jours, lorsque la pigmentogenèse commence à se manifester, d'une solution, dans de l'eau bidistillée stérile, de la substance marquée au ¹⁴C (précurseur supposé). La phoenicine formée a été dûment purifiée et recristallisée dans certains cas en présence du précurseur non radioactif. Elle a été dégradée par oxydation chromique; les carbones 4 et 7, 4' et 7' fournissent de l'acide acétique qui, lui-même, a été dégradé d'après Schmidt, ce qui permet de localiser la radioactivité dans le groupe méthyle ou dans le groupe carboxyle. Les autres carbones ont été recueillis sous forme de CO₂.

On sait que la biosynthèse du squelette de l'orcinol peut s'effectuer par union tête-queue de quatre molécules d'acide acétique, suivie de la perte d'un carboxyle⁵; d'autre part, la soudure de deux noyaux aromatiques peut avoir lieu par le processus de l'« oxydation phénolique »⁶. Si nous marquons le carbone du méthyle de l'acide acétique par ● et celui du carboxyle par ×, la formule VII indiquerait l'origine probable des quatorze carbones de la phoenicine: huit carbones proviendraient du groupe méthyle et six du groupe carboxyle.

Nous avons constaté que l'incorporation radioactive dans la phoenicine s'effectue avec de bons rendements à partir de $H_3^{14}C-COONa$ (3,87%) et de $CH_3-^{14}COONa$ (3,18%). Les résultats indiqués dans le tableau 3 sont en accord avec la répartition supposée.

TABLEAU 3.

| Précurseur radio-actif | Radio-activité administrée dés/min/litre | Incorporation dans la phoenicine % | Répartition de la radio-activité * | | | | | |
|------------------------|--|------------------------------------|---|--------|--|-------|-------------------------------------|-------|
| | | | Nombre de carbones marqués | | | | | |
| | | | 1, 2, 3, 5, 6 1', 2', 3', 5', 6' (CO ₂) | | 7, 7' (CH ₃ de l'acide acétique) | | 4, 4' (COOH de l'acide acétique) | |
| théor. | obs. | théor. | obs. | théor. | obs. | | | |
| 1) $CH_3^{14}COONa$ | 2,22.10 ⁹ | 3,18 | 4 | 4,16 | 0 | 0,008 | 2 | 1,80 |
| 2) $^{14}CH_3 COONa$ | 2,22.10 ⁹ | 3,87 | 6 | 5,76 | 2 | 1,95 | 0 | 0,125 |

* Radio-activité théorique par atome de carbone marqué: 1) 2,30.10⁶ dés/min.
2) 2,016.10⁶ dés/min.

Des essais avec la méthionine $S-^{14}CH_3$ ont donné des incorporations près de dix fois plus faibles que l'acétate ^{14}C .

La question qui se pose ensuite est celle des substances intermédiaires de la biosynthèse. Pour la résoudre, nous avons traité les cultures par des intermédiaires possibles marqués au ^{14}C ; les valeurs absolues des incorporations observées ne sont pas significatives, car l'utilisation des substances apportées est limitée évidemment par des facteurs de perméabilité cellulaire.

Nous avons constaté une incorporation radioactive de 1,5% à partir d'acide 2,4-dihydroxy-6-méthyl-benzoïque (III) (ac. orsellinique) marqué en 1; l'incorpora-

⁵ A. J. BIRCH et F. W. DONOVAN, *Austr. J. Chem.*, 6, 360 (1953).

⁶ D. H. R. BARTON et T. COHEN, *Festschrift A. Stoll*, 117 (1957); H. ERDTMAN et C. A. WACHTMEISTER, *ibid.*, 144 (1957).

tion à partir du 1,3-dihydroxy-5-méthyl-benzène (IV) (orcinol) marqué en 6 était de 0,7%.

TABLEAU 4.

| Précurseur radio-actif | Radio-activité administrée dés/min/litre | Incorporation dans la phoénicine % | Répartition de la radio-activité * | | | |
|---|--|------------------------------------|-------------------------------------|------|--|-------|
| | | | Nombre de carbones marqués | | | |
| | | | 3 ou 5, 3' ou 5' (CO ₂) | | 4 et 7 ou 4' et 7' (C de l'acide acétique) | |
| théor. | obs. | théor. | obs. | | | |
| 1) Ester orsellinique 1 ¹⁴ C | 1,12. 10 ⁸ | 1,47 | 2 | 1,83 | 0 | 0,024 |
| 2) Orcine 6 ¹⁴ C | 1,72. 10 ⁸ | 0,70 | 2 | 1,52 | 0 | 0,15 |

* Radio-activité théorique par atome de carbone marqué: 1) 5,46. 10⁵ dés/min.
2) 8,00. 10⁵ dés/min.

TABLEAU 5.

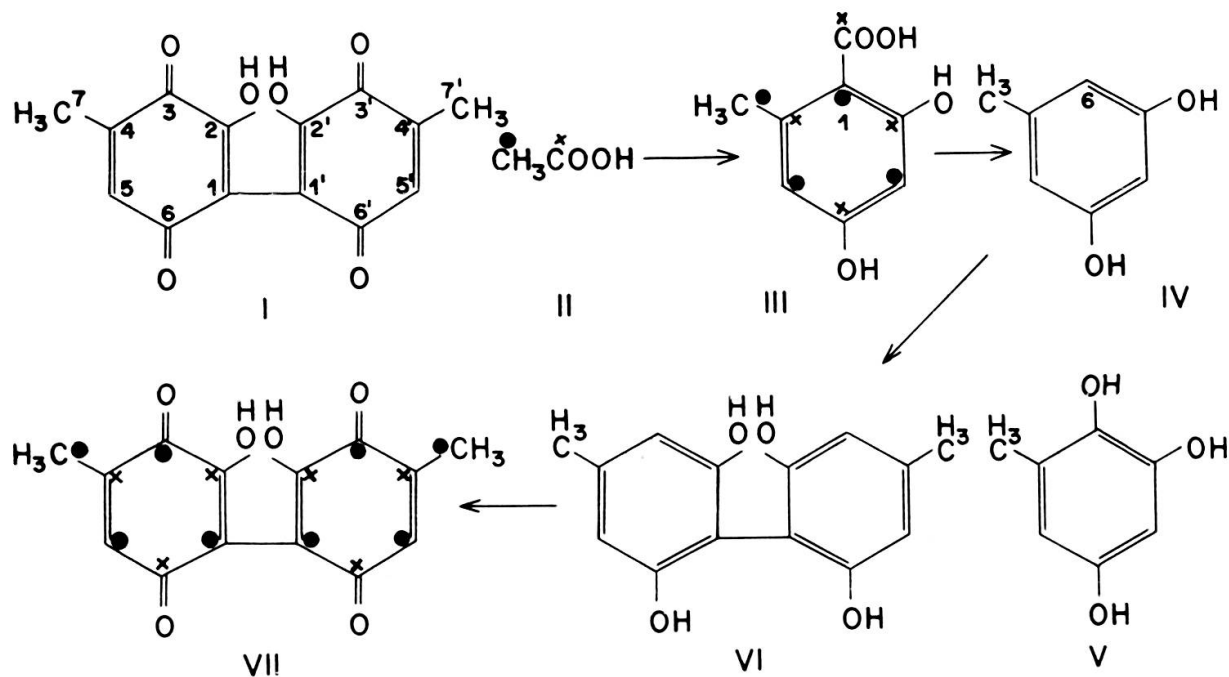
| Par litre de culture de quatorze jours: | | Augmentation de la pigmentation en pour-cent des molécules de substance VI introduite |
|---|--------------------------|---|
| Quantité de substance VI introduite au bout de six jours mg | Phoénicine produite mg * | |
| 0,0 | 359 ± 159,6 | — |
| 2,0 | 489 ± 38,8 | 5830 |
| 6,0 | 628 ± 138,9 | 4027 |
| 10,0 | 644 ± 135,6 | 2558 |
| 14,0 | 827 ± 186,1 | 3000 |
| 18,0 | 970 ± 173,2 | 3047 |
| 20,0 | 1027 ± 121,4 | 2998 |
| 40,0 | 1800 ± 155,3 | 3234 |
| 60,0 | 1739 ± 234,0 | 2064 |

* Moyenne ± écart type: $\sigma' = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}}$; n = 4.

Il devient ainsi probable que l'acide orsellinique et l'orcinol sont des intermédiaires de la biosynthèse.

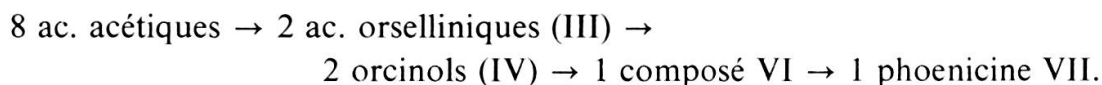
La soudure des deux noyaux aromatiques avec formation du squelette du diphenyle pourrait ensuite se faire, soit à partir de l'orcinol avec oxydation subséquente du tétra-hydroxy-ditolyle VI formé, soit à partir du 1,2,4-trihydroxy-6-méthyl-

benzène (V), ce qui conduirait à la tétrahydro-phoenicine (leuco-phoenicine). Ne disposant pas des substances marquées correspondantes, nous avons introduit dans les cultures les composés V et VI non radioactifs. En partant de V, l'augmentation des rendements en phoenicine était douteuse; elle était, par contre, importante en



présence de la substance VI. Il est, d'autre part, remarquable que cette augmentation est près de 20-50 fois supérieure à celle qui correspondrait à la transformation quantitative en phoenicine de la substance introduite (tableau 5). Ceci pourrait s'expliquer de la manière suivante: en présence du composé VI il se produirait, par induction, la formation d'une quantité supérieure du système enzymatique qui convertit VI en phoenicine, ce qui augmenterait considérablement le rendement en cette dernière.

En résumé, d'après les faits observés, une des marches possibles de la biosynthèse s'exprimerait de la manière suivante:



Nous ne pouvons toutefois exclure l'hypothèse d'une carboxylation de l'orscinol (IV) et de la substance VI introduits comme précurseurs, avec formation respective d'acide orsellinique (III) et d'un acide VI-dicarboxylique qui seraient les véritables intermédiaires.

Nous remercions vivement le Fonds national suisse de la Recherche scientifique (Commission pour la Science atomique) de l'aide qu'il nous a apportée.

*Genève, Laboratoires de Chimie biologique
et organique spéciale de l'Université.*