

164. Recherches sur la biochimie des champignons inférieurs. I¹⁾.
Isolement du pigment rouge de *Penicillium phoeniceum* (Phoenicine)

par Ernst A. H. Friedheim.

(17. IX. 33.)

Le *Penicillium phoeniceum* V. *Beyma* (Souche du „Centralbureau voor Schimmelcultures”, Baarn), cultivé sur moût de bière, forme un pigment rouge diffusant dans le milieu. La formation de ce pigment n'a lieu en général que dans des cultures âgées et à la suite de la formation des conidies. Dans une communication antérieure²⁾, nous avons décrit une méthode permettant d'isoler ce pigment à l'état cristallin en utilisant ses propriétés suivantes:

En solution fortement acide la couleur du pigment vire du rouge au jaune. La forme jaune est soluble dans le chloroforme et dans l'éther sulfurique. La forme rouge est insoluble dans ces solvants, mais soluble dans l'eau. Des cultures bien pigmentées sur moût de bière sont acidifiées par l'acide chlorhydrique et extraites par le chloroforme. De sa solution chloroformique jaune le pigment est repris, dans sa forme rouge, par une solution de bicarbonate de sodium. Celle-ci, après acidification, est extraite une deuxième fois par le chloroforme. On répète cette manipulation trois à six fois. De la dernière solution chloroformique, le pigment cristallise alors, dans le vide, sous forme de prismes jaunes arrangés en croix ou en rosace.

On peut donc affirmer que le pigment est un acide, jaune dans sa forme non dissociée, virant après dissociation ou tautomérie.

Les agents réducteurs tels que l'hyposulfite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) et l'hydrogène en présence de palladium colloïdal, transforment le pigment en un leucodérivé qui s'oxyde rapidement par l'oxygène moléculaire. L'étude potentiométrique montre que la réduction et la réoxydation du pigment sont réversibles, ceci aussi au sens thermodynamique, puisque des électrodes indifférentes en platine blanc, plongées dans un mélange du pigment avec son leucodérivé, prennent des potentiels stables, concordant pour différentes électrodes à $1/10^{\circ}$ de millivolt près, parfaitement reproductibles, pouvant être exprimés par:

$$E_h = E_0 + \frac{RT}{n} \ln \frac{(OX)}{(RED)}$$

A p_H 7,95, et à une température de 20°, $E_0 = 0,037$ (par rapport à l'électrode normale à hydrogène) et $n = 2$. A certains autres p_H la valeur de n est différente de 2 et les courbes de titration revêtent une allure atypique qui sera discutée ailleurs dans une étude potentiométrique détaillée.

Il est à noter que ces valeurs sont du même ordre de grandeur³⁾ que les constantes correspondantes de la pyocyanine et du hallachrome⁴⁾, autres pigments naturels à oxydation et à réduction réversibles. Puisque ces derniers pigments ont la fonction de catalyser la respiration de cellules vivantes, la question se posait, si la phoenicine avait la même signification biologique.

¹⁾ Cet article étant le premier de la série, était fait pour précéder celui de M. *Posternak*, portant le n° II, *Helv.* **21**, 1326 (1938).

²⁾ *E. A. H. Friedheim*, C. r. Soc. Biol., Paris, **112**, 1030 (1933).

³⁾ *E. A. H. Friedheim* and *L. Michaelis*, J. biol. Chem. **91**, 355 (1931).

⁴⁾ *E. A. H. Friedheim*, *Biochem. Z.* **259**, 257 (1933).

Les expériences utilisant la méthode micromanométrique de *Barcroft-Warburg* ont montré que la respiration de microorganismes, à fermentation aérobie, tels que le *B. pyocyanique* lavé, est augmentée de 200 à 300% par des traces de phoenicine.

Dans ce qui suit, nous décrivons une autre méthode d'isolement de la phoenicine qui évite l'inconvénient que présente l'extraction de grandes quantités de liquide par des solvants organiques.

Le *Penicillium phoeniceum* est cultivé sur moût de bière à la température du laboratoire. Le milieu de culture, ayant pris après deux mois une coloration rouge foncé, est débarrassé du mycélium par filtration sur coton et additionné de 6% de son volume de sous-acétate de plomb liquide Ph. Helv. V. Il se forme un précipité entraînant 10/11e du colorant. (Une précipitation quantitative de la phoenicine peut être obtenue en augmentant la quantité de sous-acétate de plomb, mais la manipulation ultérieure d'une très grande quantité du précipité plombique ainsi obtenu présente des inconvénients.)

Le précipité plombique est filtré, essoré et lavé à fond à l'eau distillée. La phoenicine s'altérant sous cette forme au bout de 1 à 2 jours, il est indiqué de ne pas différer la suite des opérations. Le précipité plombique est malaxé avec de l'acide sulfurique à 15% en petit excès. Le sulfate de plomb formé est filtré, essoré et lavé sur une couche de norite qui ne retient pas le colorant. Le filtrat, dans lequel le pigment est 10 fois plus concentré que dans le milieu de culture, est épuisé au chloroforme. La solution chloroformique laisse à l'évaporation un résidu entièrement cristallisé de phoenicine.

De 100 cm³ de milieu de culture, contenant 3,5 gr. de mycélium (séché à 100°), on obtient ainsi 44 mgr. de phoenicine cristallisée.

La phoenicine se prête à la chromatographie: d'une solution chloroformique diluée, le colorant est quantitativement retenu, sous forme d'une mince couche violette, au sommet d'une colonne d'oxyde d'aluminium (*Brockmann*) ou de carbonate de calcium (l'adsorption par le carbonate de calcium est moins énergique). On lave à l'alcool; au cours de cette opération la couche colorée s'élargit, mais sans se dissocier en zones différentes.

L'élution s'effectue très facilement par l'eau ou l'alcool à 50%.

Institut pathologique de l'Université, Genève.
