

SHORT COMMUNICATION

PRESENCE DE L'ESTER METHYLIQUE DE LA NEUROSPORAXANTHINE CHEZ L'ASCOMYCETE *NECTRIA CINNABARINA**

J. L. FIASSON et M. P. BOUCHEZ

Service de Phytochimie et Phytobiologie, Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S.,
Faculté des Sciences de Lyon, 43 Bd. du 11-Nov.-1918, 69-Villeurbanne, France

(Received 18 March 1969)

Résumé—L'ester méthylique de la neurosporaxanthine (acide apo-4'- β -caroténique), nouveau caroténoïde naturel, est identifié chez la Sphaeriale *Nectria cinnabarina* à l'aide de méthodes physiques et chimiques et par comparaison directe avec le produit synthétique. Ce composé est accumulé par le champignon aussi bien dans ses formes sexuée que conidienne, et dans les deux cas est accompagné de l'acide libre correspondant.

Abstract— β -Apo-4'-carotenoic acid (neurosporaxanthin) methyl ester, a new naturally occurring carotenoid, has been identified in the Sphaeriale *Nectria cinnabarina* by physical and chemical methods, including direct comparison with the synthetic product. This compound is accumulated by the fungus in both its sexual and conidia stages, together with the free acid.

INTRODUCTION—RESULTATS PRELIMINAIRES

LA MISE en évidence, à la fin du siècle dernier, de pigments caroténoïdes chez *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.¹ n'a été suivie que d'études spectroscopiques grossières, une dizaine d'années plus tard.² Au cours d'une analyse préliminaire portant sur de petits échantillons de ce champignon, tant sous sa forme sexuée que conidienne, nous avons isolé selon le protocole habituel,³ à côté du β -carotène mineur, deux composés dont les propriétés originales ont retenu notre attention. Si ces deux pigments "P 473 I et II" présentent des polarités bien différentes (l'un élué de la colonne d'alumine II par 20 % d'éther éthylique dans l'éther de pétrole, l'autre n'étant déplacé que partiellement par l'acide acétique après extrusion de l'adsorbant), leurs caractéristiques spectrales sont extrêmement proches, sinon identiques. En solution éthéro-pétrolique on observe trois pics d'absorption situés à ca. (448), 473, 501 nm, avec un profil spectral évoquant^{4,5} un caroténoïde carbonyle à squelette hydrocarboné monocyclique. Cette hypothèse est confirmée par l'obtention, dans l'un et l'autre cas, après traitement par l'hydrure de lithium et d'aluminium,⁶ d'un spectre d'absorption très semblable

* XIII^{ème} communication dans la série "Recherches chimiotaxinomiques sur les Champignons"; XII—J. L. FIASSON, *Compt. Rend.*, **268**, 786 (1969).

¹ W. ZOPF, *Die Pilze*, Trewendt, Breslau (1890).

² F. G. KOHL, *Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze*, Bornträger, Leipzig (1902).

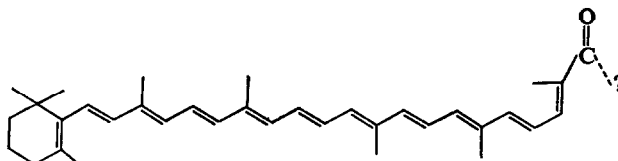
³ J. L. FIASSON, Ph. LEBRETON, N. ARPIN et M. P. BOUCHEZ, *Chim. Anal. Fr.*, **51**, 227 (1969).

⁴ S. LIAAEN JENSEN, Thèse, Trondheim (1962).

⁵ J. L. FIASSON, Thèse, Lyon (1968).

⁶ S. LIAAEN JENSEN, *Acta Chem. Scand.* **17**, 500 (1963).

à celui du γ -carotène. Le profil spectral des deux xanthophylles naturelles, aussi bien que l'importance de l'effet hypsochrome accompagnant la réduction montrent⁷ que le groupement carbonyle se trouve à l'extrémité aliphatique du chromophore, pour lequel la structure suivante est donc à envisager :



La coexistence de deux pigments de même chromophore et de polarités aussi différentes, ainsi que des considérations d'ordre chimiotaxinomique que nous développerons plus loin, militent en faveur de la présence d'un caroténoïde acide, partie sous forme libre (et donc fortement retenu par la légère basicité de l'alumine "neutre"), partie sous forme estérifiée. Il s'agirait en l'occurrence de l'acide apo-4'- β -caroténique (C_{35}) ou neurosporaxanthine (II); une remarquable concordance est, de fait, observée entre les propriétés spectrales, chromatographiques et de partage des pigments de *N. cinnabarina* et les données correspondantes de la littérature [ester méthylique synthétique et acide naturel⁸].

C'est dans cette hypothèse que nous avons repris, sur des quantités plus importantes de matériel, l'étude de ces pigments; un fractionnement préliminaire de l'extrait brut par partage avec le méthanol alcalin, qui sépare les pigments acides,⁸ permet effectivement d'isoler le composé P 473 II (de forte polarité): celui-ci est alors recueilli dans l'éther éthylique par acidification du milieu, et purifié par chromatographie sur colonne de saccharose.

Les fructifications sexuées et conidiennes de *N. cinnabarina* ont fait l'objet d'analyses parallèles. Notons que, si la forme parfaite de ce champignon est bien plus vivement colorée que la forme imparfaite, elle se révèle quelque trois fois moins riche en caroténoïdes totaux. Les mêmes pigments, par contre, se retrouvent dans les deux types de fructifications, à des teneurs relatives d'ailleurs différentes (Tableau 1).

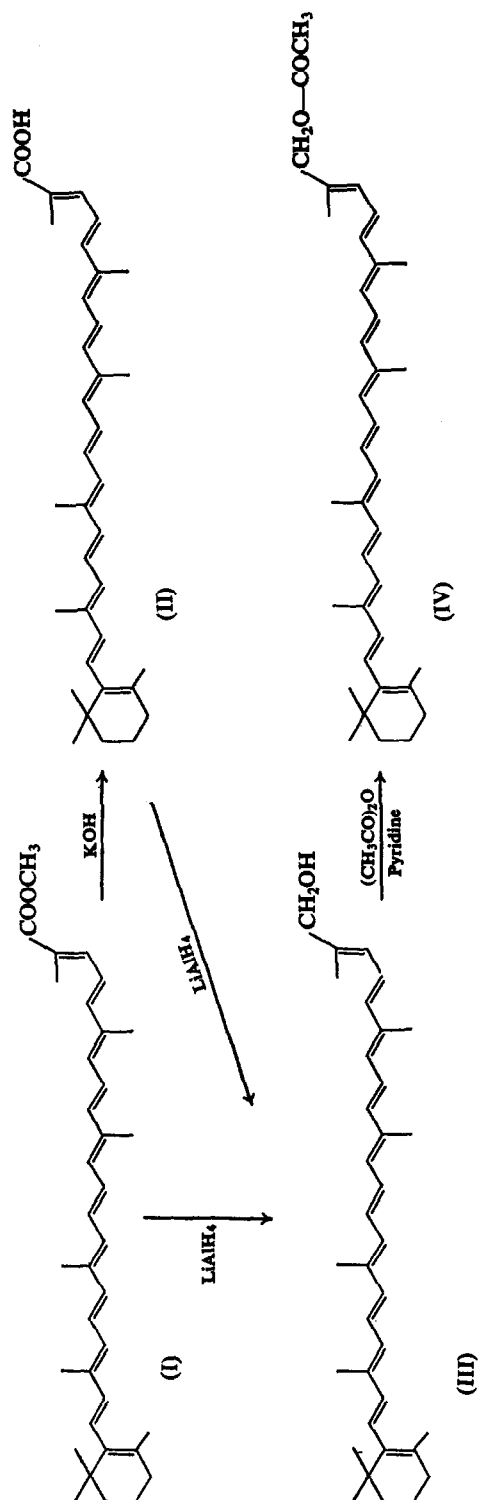
TABLEAU 1. COMPOSITION (EN % RELATIFS) DES CONTENUS CAROTÉNOÏDIQUES DES DEUX TYPES DE FRUCTIFICATION DE *N. cinnabarina*

	Forme parfaite	Forme imparfaite
β -Carotène	18,2	5,2
γ -Carotène	1,2	0,8
(Ester) I	43,6	29
(Acide) II	37	65

Que les fructifications les plus colorées soient les moins riches en caroténoïdes (comme la teinte chocolat que garde le résidu d'extraction), illustre le fait, déjà noté par Zopf,¹ que d'autres pigments que les caroténoïdes interviennent dans la coloration de cette espèce.

⁷ S. LIAAEN JENSEN, *Pure Appl. Chem.* **14**, 227 (1967).

⁸ A. J. AASEN et S. LIAAEN JENSEN, *Acta Chem. Scand.* **19**, 1843 (1965).



IDENTIFICATION DES PIGMENTS P 473 I ET II

Par saponification énergique [20 h dans le méthanol contenant 10 % de potasse, conditions nécessaires à l'hydrolyse des esters de caroténoïdes carboxyliques⁸], le pigment P 473 I libère quantitativement un composé II dont la nature acide est évidente au vu de ses propriétés de partage entre l'éther de pétrole et le méthanol aqueux: hypophasique en milieu alcalin, épiphasique en milieu acide. Ce composé se révèle identique au pigment acide isolé lors du fractionnement initial (P 473 II) et aucune séparation n'est observée en cochromatographie (sur papier Schleicher and Schüll n° 287) avec la neurosporaxanthine (II) synthétique. De même se révèlent identiques les produits de réduction (III) des pigments I et II et du composé II témoin, et les acétates (IV) auxquels ils donnent naissance;⁸ ces différentes réactions sont résumées ci-contre.

Nectria cinnabarina accumule donc bien de la neurosporaxanthine (0,016 % de son poids sec dans le cas de la forme imparfaite), en partie à l'état d'ester. Plus précisément, aucune séparation n'étant observée en cochromatographie de l'ester naturel et du produit I synthétique, aussi bien sur papier enrichi de kieselguhr⁸ que sur couche mince de cellulose imprégnée de paraffine (système particulièrement apte à la séparation des esters de xanthophylles⁹), le pigment P 473 I de *N. cinnabarina* n'est autre que l'ester méthylique de la neurosporaxanthine.

DISCUSSION

C'est la première fois, à notre connaissance qu'un ester de la neurosporaxanthine est signalé comme produit naturel; on peut d'autre part relever que tous les esters naturels de caroténoïdes acides actuellement connus sont de nature méthylique.^{8, 10, 11} Du point de vue taxinomique, il est à souligner que, si des caroténoïdes rappelant la neurosporaxanthine ont été signalés dans divers champignons,^{8, 12} c'est à partir d'un autre genre de Sphaeria, *Neurospora* (*N. crassa* et *N. sitophila*), qu'elle a été isolée pour la première fois, et qu'elle a vu sa structure élucidée;⁸ par ailleurs, Lederer¹³ avait dès 1938 caractérisé dans un autre représentant de cet ordre, *Polystigma rubrum*, un caroténoïde acide dont celui de *Neurospora* a été ultérieurement rapproché, la comparaison directe de ces deux pigments restant toutefois à faire.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthodes

Nectria cinnabarina a été récolté sur des branches mortes de Robinier (*Robinia pseudacacia* L.) dans la proche région lyonnaise; les fructifications sexuées et conidiennes ont été séparées aussi soigneusement que possible. Le protocole expérimental a été précédemment décrit en détail.³ Les propriétés spectrales, chromatographiques et de partage de l'ester méthylique I et de l'acide libre II, comme celles de l'alcool III et de l'acétate IV, sont en parfait accord avec les données de la littérature.⁸

Remerciements—Les Docteurs S. Liaaen Jensen, Trondheim, et O. Isler, Hoffmann—La Roche, Bâle, nous ont aimablement fourni des échantillons synthétiques d'ester méthylique de la neurosporaxanthine.

⁹ K. EGGER, *Phytochem.* 4, 609 (1968).

¹⁰ N. ARPIN et S. LIAAEN JENSEN, *Compt. Rend.* 265, 1083 (1967).

¹¹ H. KJØSEN et S. LIAAEN JENSEN, *Phytochem.* 8, 483 (1969).

¹² N. ARPIN, Thèse, Lyon (1968).

¹³ E. LEDERER, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 20, 611 (1938).