

# Sur la présence d'un polyène cétonique voisin de l'Astacine chez *Mycobacterium phlei*

Autor(en): **Turian, Gilbert**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **3 (1950)**

Heft 1

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-739436>

## **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.

2. *Dissemblance entre la matière première et le produit final.* — La dissemblance croissante constatée pour la technique se retrouve dans d'autres domaines: habitation: de la caverne naturelle du Paléolithique moyen et supérieur au village palafittique néolithique, création autonome de l'homme, dont la forme finale dépasse de loin la forme de la matière première utilisée. Nous croyons avoir trouvé pour l'art un développement analogue: prédominance du style perceptivo-imitatif au Paléolithique, prédominance du style idéativo-schématique au Néolithique. La dissemblance croissante est donc aussi un caractère général qui se dégage de l'étude du comportement psychologique des hommes préhistoriques.

En résumé: notre méthode d'analyse psychologique des documents préhistoriques nous a permis de constater:

1. Il y a, au cours des époques lithiques préhistoriques, une modification du comportement technique, étudié pour la matière première minérale, dont nous avons indiqué cinq caractéristiques;
2. Il y a, pour une même époque de la préhistoire, des types de comportement commun à plusieurs domaines de la vie (comportement général): nous en avons établi deux: le chemin fonctionnel et la dissemblance entre la matière première et le produit final.

**Gilbert Turian.** — *Sur la présence d'un polyène cétonique voisin de l'Astacine chez Mycobacterium phlei.*

Dans leur travail sur les pigments caroténoïdes du bacille de la fléole, M. Ingraham et H. Steenbock<sup>1</sup> distinguent deux composantes de la migmentation jaune, à savoir les caroténoïdes et un corps de nature quinonique dont les propriétés rappelleraient celles du Phtiocol isolé du bacille tuberculeux (Anderson et Newman, 1933): jaune et soluble dans l'éther de pétrole en milieu acide, il vire au rouge intense et devient hydrosoluble en milieu alcalin. Sa biosynthèse, davantage encore que celle des caroténoïdes, est fortement stimulée en

<sup>1</sup> *Biochem. J.*, 29, 2553, 1935.

milieu glucosé enrichi en glycérol ou en glycols. Ingraham et Steenbock pensent qu'il s'agit d'un produit de déchet du métabolisme bactérien car sa production se poursuit encore longtemps après le début de l'autolyse; du point de vue physiologique, cela distinguerait ce pigment des caroténoïdes dont la genèse accompagne la phase de croissance du germe.

Nous avons retrouvé ce pigment salifiable dans nos cultures et avons montré dans une récente publication (*Helv. Chim. Acta*, 33, 1, 1950) que sa biosynthèse est en relation avec la présence du fer dans le milieu, métal qui, selon nos récentes expériences, exerce une influence déterminante sur la biogenèse des caroténoïdes.

D'autre part, un récent travail des Américains Haas et Bushnell (*J. Bact.*, 48, 219, 1944) signale la présence d'Astacine, pigment caroténoïde acide, tétracétonique, chez *Mycobacterium lacticola*, un saprophyte acido-résistant voisin du bacille de la fléole.

La correspondance des modes d'obtention employés par Haas et Bushnell d'une part, et par Ingraham et Steenbock d'autre part, doit impliquer aussi une communauté de nature. Cela nous a incité à reprendre l'étude chimique du pigment salifiable produit par *Mycobacterium phlei*.

Haas et Bushnell signalent que le type de milieu utilisé influe de manière notable sur la nature des caroténoïdes formés par le *Mycobacterium lacticola*. Ce germe ne produirait de l'Astacine que lorsqu'il est cultivé sur un milieu synthétique à base d'huile minérale.

Nous avons cultivé *Mycobacterium phlei* à 37°, en milieu d'Ingraham et Steenbock additionné de 1% de glycérine. Par la présence simultanée de glycérine et de fer dans ce milieu, nous réalisons les conditions optimales de production du pigment salifiable.

Les bacilles âgés de 12 jours sont séparés du milieu par filtration; les filtres sont desséchés 72 heures à 37°, sur plaques de porcelaine poreuse. Après la pesée, les préparations sont pulvérisées dans de l'acétone pure en présence de poudre de quartz. L'extraction des bacilles par l'acétone à froid, bien que répétée, n'est pas complète; nous avons procédé ensuite à une extraction

complémentaire par de l'acétone pure chauffé à reflux au bain-marie. Malgré cette précaution, le résidu est encore coloré; nous verrons à la fin de ce travail ce qu'il faut en penser.

Les extraits acétoniques réunis sont dilués avec un volume égal d'eau alcalinisée par KOH à 2,5% et agités avec de l'éther de pétrole. Deux phases se séparent: l'épiphase jaune vif et l'hypophase hydroacétonique alcaline rouge intense. L'extraction à l'éther de pétrole est poursuivie jusqu'à l'absence de coloration de ce solvant. L'hypophase peut être ainsi débarrassée de tous les caroténoïdes neutres libres (carotènes, léprotène, xanthophylles éventuelles) ou estérifiés (xanthoesters, esters de l'azafrine); elle est alors traitée en vue de l'identification du pigment salifiable de caractère acide.

#### *Isolement et identification du pigment acide.*

Les essais de partage entre solvants indiquent que le pigment salifié est insoluble dans l'éther de pétrole mais par contre soluble dans l'éther diéthylique qu'il colore en orange rougeâtre. En acidulant légèrement l'hypophase hydroacétonique alcaline avec de l'acide acétique dilué un tiers, nous provoquons l'hydrolyse du sel de potassium du pigment, accompagnée d'un net virage de coloration du rougeâtre au jaune vif. Le pigment libéré est alors facilement soluble dans l'éther de pétrole auquel il confère une teinte jaune. En évaporant un échantillon de cette solution éthéro-pétroléique du pigment libre, nous obtenons un résidu jaune orangé se colorant en bleu vif avec l' $H_2SO_4$  concentré et en bleu verdâtre avec le  $SbCl_3$  en solution chloroformique. Ces réactions colorées caractéristiques des polyènes, la solubilité du pigment libre dans l'éther de pétrole, l'absence de coloration rouge avec le  $FeCl_3$  en milieu alcoolique, distinguent nettement notre pigment des corps quinoniques tel que le Phticol.

Le lavage de la solution éthéropétroléique du pigment libre avec une solution de KOH 5% dans de l'Ethanol à 95% provoque le retour intégral du pigment dans la phase alcaline colorée alors en rouge orangé. D'autre part, l'agitation de la solution éthéro-pétroléique avec du Méthanol 90% provoque le passage presque complet du pigment dans l'alcool; ce compor-

tement, affinité pour l'hypophase, contribue à la définition de notre pigment acide.

Les caractères de solubilité et les réactions chromatiques du pigment salifiable de *Mycobacterium phlei* montrent que nous avons affaire à un caroténoïde acide. L'étude spectrophotométrique de ce pigment va nous permettre de préciser sa nature chimique.

Avant d'établir nos courbes d'absorption (au spectrophotomètre de Beckmann), nous purifions le pigment en solution éthéropétroléique par passage dans l'alcool alcalin, libération subséquente par acidulation et nouveau transfert dans de l'éther de pétrole pur. Le pigment acide en solution dans ce solvant présente une unique et large bande d'absorption comprise entre 400 et 500  $m\mu$  avec un maximum très net à 450  $m\mu$ . Une partie de la solution éthéropétroléique du pigment est évaporée sous vide; elle abandonne un résidu huileux rouge orangé qui, dissous dans le sulfure de carbone, donne une solution présentant aussi une courbe d'absorption en cloche régulière avec un maximum intense à 487  $m\mu$ .

D'après ses caractères de solubilité et de coloration, la forme générale de sa courbe d'absorption avec un seul maximum, le pigment acide du bacille de la fléole peut être considéré comme un caroténoïde cétonique auquel une transposition du type céto-énolique confère les propriétés d'un acide faible. Il est voisin de l'Astacine, mais nous ne pouvons l'identifier, pour le moment, à ce tétracéto- $\beta$ -carotène. En effet, l'Astacine en solution sulfocarbonique présente selon Karrer un unique maximum d'absorption à 510  $m\mu$ ; dans les mêmes conditions, Haas et Bushnell fixent à 500  $m\mu$  le maximum d'absorption du pigment acide de *Mycobacterium lacticola*. Le pigment du bacille de la fléole présente une courbe d'absorption dans le  $CS_2$  nettement décalée vers les longueurs d'onde plus courtes; il est vraisemblable que la différence observée, soit 23  $m\mu$  par rapport à l'Astacine (selon Karrer), est significative et correspond à une différence structurale entre les deux molécules.

Les caroténoïdes du bacille de la fléole subissent des changements qualitatifs et quantitatifs en corrélation avec le vieillissement des cultures. Ces variations se traduisent visuellement par

le virage de la coloration du voile bactérien; du jaune soufre (cult. 6 jours), il passe au jaune d'or (9-12 jours) tirant ensuite à l'orangé (15 jours et plus).

Nos déterminations quantitatives montrent que la teneur des germes en caroténoïdes neutres décroît peu après le début de l'autolyse alors que le taux en pigment acide s'élève progressivement (intensité accrue de la coloration rouge de l'hypophase alcaline). Le problème de l'évolution du pigment acide se complique par le fait de son estérification au sein de la cellule bactérienne.

Nous avons pu mettre en évidence un ester du pigment acide chez une culture de bacille de la fléole âgée de 20 jours: après alcalinisation de la solution acétonique, la première extraction à l'éther de pétrole fournit une solution rouge vif; par contre les extraits suivants manifestent la teinte jaune or habituelle. La solubilité de ce pigment rouge dans l'éther de pétrole dépasse donc celle des autres caroténoïdes. Nous avons ensuite saponifié le pigment rouge épiphase par un volume égal de KOH 5% dans de l'Ethanol 95%. Après un léger chauffage à reflux puis un repos de deux heures, la solution homogène est additionnée d'eau jusqu'à séparation de deux couches: épiphase éthéro-pétroléique pratiquement incolore, hypophase hydroalcoolique alcaline rouge. Le pigment épiphase rouge est donc bien un ester du pigment acide. Cet état estérifié du pigment a échappé aux auteurs Américains à cause de la saponification initiale qu'ils utilisent. La simple alcalinisation de l'extrait acétonique initial que nous pratiquons respecte les liaisons éthers-sold des caroténoïdes. A l'état d'esters, ces pigments sont pour la plupart épiphases.

L'estérification des caroténoïdes acides, comme d'ailleurs celle des xanthophylles, est un phénomène fort important du métabolisme cellulaire car elle implique nécessairement des relations d'équilibre avec les lipides; or l'on sait quel est le rôle capital joué par ces derniers dans l'économie des bacilles acido-résistants.

Signalons enfin que l'estérification du pigment acide rend plus difficile l'extraction acétonique simple (coloration jaune du résidu bactérien). On peut se demander si l'état estérifié n'est

pas le signe d'une moindre liberté des molécules de caroténoïdes à l'intérieur de la cellule (liaisons aux lipides complexes des gaines cireuses).

L'identification d'un pigment caroténoïde acide de nature cétonique chez *Mycobacterium phlei* précise le mécanisme de la biosynthèse des caroténoïdes. Nous avons montré qu'il y a un parallélisme étroit entre la présence de fer dans le milieu de culture et la production de caroténoïde cétonique par le bacille; en présence des autres métaux oxydo-réductibles stimulant la biosynthèse des caroténoïdes neutres, à savoir Mn, Co, Ni, (Cu), nous ne décelons que des traces de pigment acide. D'autre part, Hopkins et Chibnall (*Biochem. J.*, 26, 133, 1932) ont montré que les cétones représentent le premier produit d'oxydation (décelable, G. T.) des hydrocarbures (oxydation par l'*Aspergillus versicolor* de la paraffine synthétique). Haas et Bushnell ont appliqué ces conclusions au cas des hydrocarbures polyéniques. On peut alors envisager la biosynthèse des caroténoïdes par le bacille de la fléole comme une série d'oxydations (par déshydrigénéation et oxygénation) catalysées par le fer: précurseurs polyéniques incolores — carotènes en  $C_{40}H_{56}$  et léprotène en  $C_{41}H_{54}$  si abondant chez ce germe (Takeda et Ohta) — dérivés polycétoniques tel que l'Astacine en  $C_{30}H_{47}O_4$ .

**Edmond Pongratz.** — *Système cuivre-cyanure comme « modèle d'oxydase ».*

Nous avons dernièrement montré le rôle capital que joue le cuivre comme catalyseur de processus d'oxydation et avons attiré l'attention sur l'influence qu'exerce l'anion cyanhydrique sur l'activité de ce métal<sup>1</sup>.

Les substances qui exercent une influence sur l'activité d'un ferment ou d'un catalyseur sont appelées (d'après Th. Bersin) des *effecteurs*; l'influence exercée peut être de deux sortes: ou bien la substance exerce une action paralysante sur l'enzyme (ou le catalyseur), c'est alors un *inhibiteur* ou *poison*; ou bien la substance stimule l'activité enzymatique (ou catalytique): on aura dans ce cas affaire à un *activateur*.

<sup>1</sup> *Helv. chim. Acta*, 33, 1950 (à paraître).