

SUR L'ISOLEMENT ET LA CONSTITUTION CHIMIQUE DE DEUX ACIDES PHLEIMYCOLIQUES DE *MYCOBACTERIUM PHLEI**

par

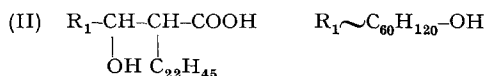
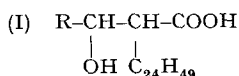
M. BARBIER ET E. LEDERER

Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris (France)

PANGBORN ET ANDERSON¹ ET PECK ET ANDERSON² ont décrit un "acide phleimycolique" isolé des cires de *Mycobacterium phlei*. D'après ces auteurs, cet acide, p.f. 56-57° [α]_D = +6.1° a la formule brute C₇₀H₁₃₈O₆ et contient un hydroxyle. A la pyrolyse, l'acide phleimycolique donne un acide C₂₄H₄₈O₂, p.f. 75-76° auquel PECK ET ANDERSON² attribuent une structure ramifiée. Ces auteurs constatent: "Phleimycolic acid is undoubtedly a mixture of two or more acids which possess very similar solubilities and which cannot be separated by the ordinary methods of purification. The complete separation of such mixtures into pure compounds must await the development of new methods of purification".

Des travaux récents de notre laboratoire³⁻⁹ ont montré que la chromatographie sur alumine permet une purification satisfaisante des acides mycoliques. Toutes les souches humaines ou bovines de *M. tuberculosis* étudiées dans notre laboratoire contiennent des acides mycoliques ayant la formule approximative C₈₈H₁₇₆O₄ (I), où R est un reste ramifié d'environ 60 atomes de carbone et porte un hydroxyle ou un méthoxyle³ ou un groupe cétonique^{7,8}. Quelques acides mycoliques n'ont que trois oxygènes⁹. Tous ces acides donnent à la pyrolyse l'acide *n*-hexacosanoïque, C₂₆H₅₂O₂, p.f. 88°, ce qui prouve la présence d'une chaîne latérale non ramifiée de 24 carbones en ³.

Dans la présente communication nous rapportons l'isolement de deux acides α - et β -phleimycoliques apparemment isomères**, auxquels nous attribuons la formule brute approximative C₈₅H₁₇₀O₄ et la structure II.



Nous avons effectué l'extraction des cires, leur saponification et la chromatographie sur alumine de l'acide mycolique brut d'après les méthodes décrites précédemment^{3***}.

L'acide α -phleimycolique se présente, après reprécipitations à partir de l'éther-acétone, sous forme d'amas microcristallins incolores, p.f. 53-55°, [α]_D = +5.4° (CHCl₃). C₈₅H₁₇₀O₄. Calculé %: C 81.33; H 13.55; P.M. 1256. Trouvé %: C 81.30; H 13.47; OCH₃ 0; P.M. 1192 (moyenne de quatre titrages).

L'ester méthylrique, obtenu par action du diazométhane, et purifié par chromatographie sur alumine fond à 43°. C₈₆H₁₇₂O₄. Calculé %: C 81.30; H 13.56. Trouvé %: C 81.20, 81.75; H 13.36, 13.47.

L'alcool α -phleimycolique obtenu par réduction de l'acide par LiAlH₄ et purifié par chromatographie sur alumine fond à 53°. C₈₅H₁₇₂O₃ calculé % C 82.18; H 13.96. Trouvé % C 82.28; H 14.20.

La deshydratation de l'acide α -phleimycolique par l'anhydride acétique en présence de KHSO₄ fondu, conduit à l'acide anhydro α -phleimycolique. Après chromatographie sur alumine, il fond à 50-53° et présente la bande d'absorption caractéristique des acides α, β -insaturés à 218 m μ (ϵ = 11,340, dans l'hexane)³. C₈₅H₁₆₈O₃. Calculé %: C 82.45; H 13.68. Trouvé %: C 82.15, 82.28, 82.22; H 13.49, 13.78, 13.49.

Une deshydratation plus poussée de l'acide α -phleimycolique conduit à un acide bis-anhydro α -phleimycolique C₈₅H₁₆₆O₂ que nous avons purifié par la chromatographie sur alumine de son ester méthylrique, p.f. 50°. C₈₆H₁₆₈O₂. Calculé %: C 83.69; H 13.72. Trouvé %: C 83.56; H 13.76. Cette substance possède le même spectre d'absorption que l'acide anhydro α -phleimycolique; sa formation prouve que l'acide α -phleimycolique possède deux hydroxyles.

La pyrolyse de l'acide α -phleimycolique à 300° sous 0.01 mm nous a donné l'acide *n*-tétracosanoïque, p.f. 78-80°. Mme S. BARBEZAT§ a identifié cet acide par son diagramme aux rayons X. C₂₄H₄₈O₂. Calculé %: C 78.19; H 13.13. Trouvé %: C 78.23; H 12.93.

* 18ème communication sur les constituants des Mycobactéries; 17ème communication voir⁸.

** Voir cependant¹⁰.

*** Les bactéries (*M. phlei* de l'Institut Pasteur) ont été cultivées sur milieu de Sauton pendant quatre semaines.

§ Laboratoire des rayons X du C.N.R.S. à Bellevue.

Les résultats de la déshydratation et de la pyrolyse de l'acide α -phleimycolique conduisent à la formule II. La formule brute $C_{85}H_{170}O_4$ doit être considérée comme une approximation à $\pm 5 CH_2$ près*.

L'acide β -phleimycolique, p.f. 55-57°, [$\alpha_D = +5.4^\circ$ ($CHCl_3$)] ne diffère que très peu de l'acide α -phleimycolique. L'acide β est élué après l'acide α . Le mélange des deux acides donne deux maxima d'élution. $C_{85}H_{170}O_4$ Calculé % : C 81.33; H 13.55; P.M. 1256. Trouvé % : C 80.97; H 13.52; P.M. 1227.

Ester méthylrique, p.f. 45°. $C_{86}H_{172}O_4$ Calculé % : C 81.38; H 13.56. Trouvé % : C 81.22; H 13.45.

Alcool β -phleimycolique, p.f. 53°. $C_{85}H_{172}O_3$ Calculé % : C 82.18; H 13.96. Trouvé % : C 82.39; H 13.93.

Acide anhydro β -phleimycolique, p.f. 53°; λ_{max} : 220 m μ , $\epsilon = 11,520$ (dans l'hexane). $C_{85}H_{168}O_3$ Calculé % : C 82.45; H 13.68. Trouvé % : C 82.68; H 13.73.

Acide de pyrolyse de l'acide β -phleimycolique: p.f. 78-80°. $C_{24}H_{48}O_2$ Calculé % : C 78.19; H 13.13. Trouvé % : C 78.52; H 13.38.

Nous remercions la "Fondation Waksman pour le Développement des Etudes Microbiologiques en France" pour des subventions ayant facilité ce travail, la Ciba A.G., Bâle pour les microanalyses, Mr. J. TRÉFOUËL et le Dr J. BRETEY (Institut Pasteur) pour les cultures microbiennes.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ M. C. PANGBORN ET R. J. ANDERSON, *J. Am. Chem. Soc.*, 58 (1936) 10.
- ² R. L. PECK ET R. J. ANDERSON, *J. Biol. Chem.*, 140 (1941) 89.
- ³ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 126.
- ⁴ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Experientia*, 7 (1951) 281.
- ⁵ E. LEDERER, *Chemistry and Biochemistry of the Mycobacteria*, 46 pp. in Colloquium on the Chemotherapy of Tuberculosis; Trinity College Dublin (1951).
- ⁶ E. LEDERER, *Chimie et Biochimie des lipides des Mycobactéries*; rapport au 2ème Congrès International de Biochimie, Paris (1952).
- ⁷ H. DEMARTEAU ET E. LEDERER, *Compt. rend.*, 235, Séance du 16 Juillet (1952).
- ⁸ A. GINSBURG ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 328.
- ⁹ J. ASSELINEAU, Comm. au 2ème Congrès International de Biochimie, Paris (1952).
- ¹⁰ J. ASSELINEAU, E. GANZ ET E. LEDERER, *Compt. rend.*, 232 (1951) 2050.

Reçu le 17 juillet 1952

* Nous adoptons une formule en C_{85} pour indiquer que la pyrolyse donne un acide en C_{24} au lieu de l'acide en C_{26} qui est le produit de la pyrolyse des acides mycoliques de souches humaines et bovines pour lesquels nous proposons des formules en $C_{87}^{4,5,6}$.

ON THE RATIO OF THIAMINE PYROPHOSPHATE CONTENT AND RATE OF ACETON PRODUCTION IN HOMOGENATES OF VARIOUS MUSCLES OF NORMAL AND THIAMINE DEFICIENT PIGEONS

by

C. H. MONFOORT

Laboratory for Physiological Chemistry, The University, Utrecht (Netherlands)

Various enzymes bearing thiamine pyrophosphate (TPP) as a prosthetic group are known to exist in animal tissues, viz. pyruvic oxidase, α -ketoglutaric oxidase, pyruvic decarboxylase or carboligase (giving rise to the formation of acetoin from pyruvate), α -ketoglutaric decarboxylase. The "malic enzyme" probably also belongs to this group¹. Large differences in TPP content exist between various tissues². As a part of investigations regarding the question how the total TPP in the tissues is distributed over the enzymes mentioned above and at which relative rates the latter disappear on a thiamine free diet we have determined the ratio of total TPP content and rate of acetoin formation in homogenates of the large breast muscle (pectoralis major), the muscle of the left heart