

administration of D.N.A. resulted in a significant haematological response and this finding is being further investigated. In this respect this result parallels the sub-maximal haematological response to D.N.A. reported by CARTHWRIGHT, PALMER, TATTING, ASHENBRUCKER AND WINTROBE⁸, in the folic acid deficient pig.

The data presented here would indicate that folic acid functions in essential metabolic reactions during synthesis of nucleic acids necessary for tissue proliferation under oestrogen stimulus. It is suggested that the oviduct of the chick rendered deficient by direct deprivation rather than analogue inhibition might prove a useful tissue in which to study the incorporation of isotopically labelled nucleic acid derivatives during growth processes.

Further results relating to the nucleic acid levels in the blood and oviduct tissue obtained in the experiments described here will be reported in greater detail at a later date.

REFERENCES

- ¹ R. HERTZ, *Endocrinol.*, 37 (1945) 1.
- ² T. H. JUKES, A. L. FRANKLIN AND E. L. R. STOKSTAD, *Ann. New York Acad. Sci.*, 52 (1950) 1336.
- ³ E. E. SNELL AND H. K. MITCHELL, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 27 (1941) 1.
- ⁴ J. L. STOKES, *J. Bact.*, 48 (1944) 201.
- ⁵ E. E. SNELL AND W. W. CRAVENS, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 74 (1950) 87.
- ⁶ E. C. NABER, E. E. SNELL AND W. W. CRAVENS, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 81 (1952) 20.
- ⁷ H. E. SKIPPER, M. BELL AND J. B. CHAPMAN, *Cancer*, 4 (1951) 357.
- ⁸ G. E. CARTHWRIGHT, J. G. PALMER, B. TATTING, H. ASHENBRUCKER AND M. M. WINTROBE, *J. Lab. Clin. Med.*, 36 (1950) 675.

Received March 20th, 1953

SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE D'UN ACIDE MYCOLIQUE INSATURÉ ISOLÉ DU BACILLE DIPHTÉRIQUE (*CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*)*

par

J. PUDLES ET E. LEDERER

Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris (France)

Dans des communications précédentes, nous avons décrit l'isolement¹, l'établissement de la structure chimique² et la synthèse³ de l'acide coryno-mycolique, F. 70°, C₃₂H₆₄O₃, [α]_D = + 7.5°, (I) du Bacille Diphtérique.

En fractionnant les acides insaturés qui accompagnent l'acide coryno-mycolique, nous avons isolé un nouvel acide, que nous proposons d'appeler *acide coryno-mycolénique*.

Nous avons isolé cet acide à partir de son sel de plomb, qui est soluble dans l'éther et dans l'alcool; l'ester méthylique a été chromatographié sur alumine (éluion par benzène-éther, 1:1), puis précipité à l'état solide par congélation dans l'acétone à -15°, et enfin distillé sous 0.1 mm. L'*ester méthylique de l'acide coryno-mycolénique* passe à une température du bain de 230-250° sous forme d'une huile incolore, n_D¹⁹ = 1.4680, d₄²⁰ = 0.894, [α]₅₄₆²⁰ = + 9.0° ± 0.3°. (Trouvé: C 78.18, 77.93 %, H 12.58, 12.31 %, -OCH₃ 6.30, 6.36 %; calculé pour C₃₂H₆₄O₃: C 77.89 %, H 12.68 %, -OCH₃ 6.09 %.)

L'*acide coryno-mycolénique*, obtenu par saponification de son ester méthylique, se présente sous forme d'une huile incolore, n_D¹⁹ = 1.4758 (trouvé: PM, par titrage: 504; calculé: 494.8). On ne peut pas distiller l'acide sans qu'il se déhydrate partiellement. A l'hydrogénéation catalytique il absorbe une molécule d'hydrogène et donne l'*acide coryno-mycolique*, F. 70° (I). Nous avons identifié ce dernier par l'analyse élémentaire (trouvé: C 77.31, 77.13 %, H 12.42, 12.53 %; calculé pour C₃₂H₆₄O₃: C 77.35 %, 12.98 %) et par son oxydation en *palmitone*, F. 80° (III) (trouvé C 82.50, 82.31 %, H 13.78, 13.58 %; calculé pour C₃₁H₆₂O: C 82.59, H 13.86 %). L'identification de la palmitone obtenue à partir de l'*acide coryno-mycolénique* hydrogéné a été en outre confirmée par des mesures de diffraction

* 4ème Communication sur les constituants du Bacille Diphtérique; 3ème comm. voir³.

aux rayons X**. L'acide coryno-mycolénique est donc un *acide coryno-mycolique ayant une double liaison*.

La pyrolyse de l'acide coryno-mycolénique donne de l'*acide palmitique*, F. 59° (pas de dépression de F. avec l'acide palmitique authentique; trouvé C 75.04%, H 12.41%; calculé pour C₁₆H₃₂O₂: C 74.94%, H 12.58%). Ceci prouve que la chaîne latérale en a est saturée (voir⁴).

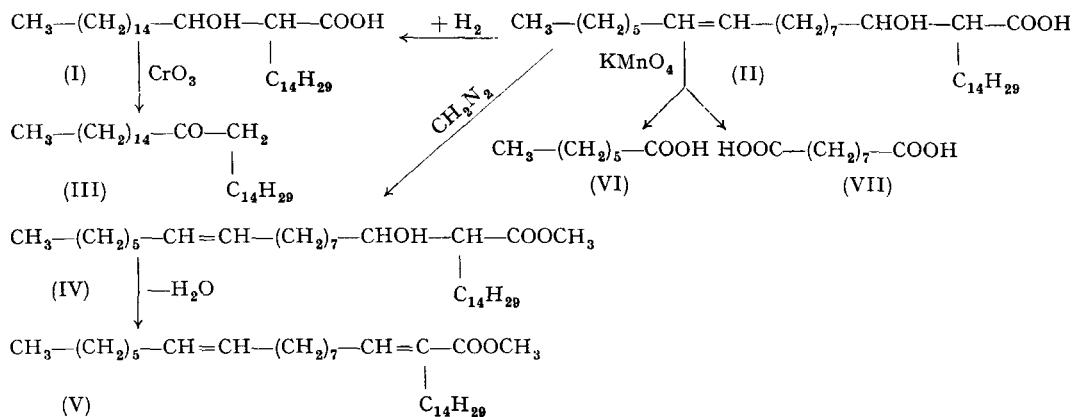
La déshydratation du coryno-mycolénate de méthyle (IV) par l'anhydride acétique en présence de KHSO₄ (d'après⁴) donne l'*anhydro-coryno-mycolénate de méthyle* (V), huile incolore, n_D²¹ = 1.470 (trouvé: C 80.48%, H 12.48%; calculé pour C₃₃H₆₂O₂: C 80.75, H 12.73%). L'absorption ultraviolette (λ_{max} 222 m μ , $\epsilon = 10,150$) indique la conjugaison d'une seule double liaison avec le carboxyle⁴. La double liaison de l'acide coryno-mycolénique ne peut donc pas se trouver en 4,5. A l'hydrogénéation catalytique, l'*anhydro-coryno-mycolénate de méthyle* (V) absorbe deux molécules d'hydrogène.

L'oxydation de l'acide coryno-mycolénique (II) par le permanganate donne un acide gras entraînable à la vapeur d'eau, qui est l'*acide n-heptanoïque* (VI); nous avons identifié cet acide par son p-phényl-phénacylate, F. 54°*** (trouvé: C 78.00%, H 7.66%; calculé pour C₂₁H₂₄O₃: C 77.75%, H 7.46%) et par son comportement à la chromatographie sur silice, d'après RAMSEY ET PATTERSON⁵ et sur papier, d'après REID ET LEDERER⁶.

La partie acide, non entraînable à la vapeur d'eau, contient un mélange d'acides dicarboxyliques duquel nous avons isolé l'*acide azélaïque*, F. 100°*** (VII); nous l'avons identifié par l'analyse élémentaire (trouvé C 57.86%, H 8.81%; calculé pour C₉H₁₆O₄: C 57.43%, H 8.57%) et par son comportement sur colonne de silice, d'après BEGEMANN, KEPPLER ET BOEKENOGEN⁷.

Ces essais prouvent que l'acide coryno-mycolénique a la formule (II) d'un acide (+)-téttradécyl-2-hydroxy-3-octadécène-11-oïque.

Cet acide pourrait se former *in vivo* par la condensation d'une molécule d'acide palmitique avec une molécule d'acide palmitoléique; ces deux acides gras en C₁₆ font ensemble environ 50% des lipides du Bacille diphtérique.



Nous remercions la "Fondation Waksman pour le Développement des Etudes microbiologiques en France" pour des subventions ayant facilité ce travail, M. J. TRÉFOUËL, Directeur de l'Institut Pasteur, pour les Bacilles Diphtériques et la Direction de la CIBA, Bâle, pour les microanalyses de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ E. LEDERER ET J. PUDLES, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 33 (1951) 1003.
- ² E. LEDERER, J. PUDLES, S. BARBEZAT ET J. J. TRILLAT, *Bull. Soc. Chim. France*, 19 (1952) 93.
- ³ E. LEDERER, V. PORTELANCE ET K. SERCK-HANSEN, *Bull. Soc. Chim. France*, 19 (1952) 413.
- ⁴ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 126.
- ⁵ L. L. RAMSEY ET W. I. PATTERSON, *J. Assoc. Official Agr. Chem.*, 28 (1945) 644.
- ⁶ R. L. REID ET M. LEDERER, *Biochem. J.*, 50 (1951) 60.
- ⁷ P. H. BEGEMANN, J. G. KEPPLER ET H. A. BOEKENOGEN, *Rec. Trav. Chim.*, 69 (1950) 439.

Reçu le 2 avril 1953

** Nous remercions M. J. J. TRILLAT et Mme S. BARBEZAT (Laboratoire des rayons X du CNRS) pour ces mesures.

*** Pas de dépression de F. avec la substance authentique.