

SUR LA CONSTITUTION DU "CORD FACTOR"
ISOLÉ D'UNE SOUCHE HUMAINE DE BACILLE TUBERCULEUX*

par

J. ASSELINEAU ET E. LEDERER**

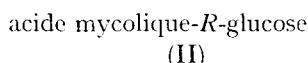
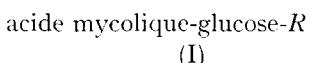
Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris (France)

Le "cord factor" est un lipide toxique découvert par BLOCH² dans les souches de *Mycobacterium tuberculosis* qui forment des "cordes"***; cet auteur en a décrit l'extraCTION et les propriétés biologiques^{2,3}.

Dans un mémoire en cours d'impression, NOLL ET BLOCH⁴ décrivent l'isolement de "cord factor" à l'état pur, et en étudient la constitution chimique. Le "cord factor", purifié par des chromatographies sur silicate de magnésium et sur gel de silice, se présente sous forme d'une cire presqu'incolore, F 37-38°, $[\alpha]_D = +31^\circ$, contenant 76.3% de carbone, 12.5% d'hydrogène et 0.8% d'azote⁴.

La saponification alcaline du "cord factor" libère une molécule d'*acide mycolique*, $C_{87}H_{174}O_4 \pm 5 CH_2$, et une partie hydrosoluble non réductrice; l'hydrolyse acide de cette dernière libère une molécule de *D-glucose*, (que NOLL ET BLOCH ont identifié sous forme de gluconate de potassium, et par un test enzymatique spécifique du *D-glucose*) ainsi qu'un constituant azoté non encore identifié qui contiendrait un azote tertiaire portant un méthyle.

NOLL ET BLOCH⁴ ont été amenés à envisager pour le "cord factor" les deux formules (I) et (II), où *R* représente le constituant azoté non encore identifié:



Le présent mémoire expose le résultat de recherches effectuées simultanément avec celles de NOLL ET BLOCH, et au cours desquelles les deux laboratoires ont constamment échangé des informations et des discussions sur la marche du travail[§].

Nous apportons, d'une part, une confirmation des résultats de NOLL ET BLOCH (par des essais généralement différents des leurs) et, d'autre part, quelques précisions supplémentaires sur la structure du "cord factor", puisque nos essais rendent probable qu'au moins deux hydroxyles voisins du glucose sont libres dans le "cord factor".

* 31ème Communication sur les Constituants du Bacille tuberculeux; 30ème comm., voir¹.

** Avec l'aide technique de Mme Z. GOUSSÉF et M. F. AUGUSTE.

*** C'est-à-dire des souches humaines et bovines virulentes, et des souches atténuées telles que le B.C.G.

§ Nous remercions MM. H. BLOCH ET H. NOLL pour la communication de leur manuscrit avant son impression, pour de très nombreuses discussions, ainsi que pour les essais biologiques de nos préparations et des spectres infrarouges.

Bibliographie p. 168.

Isolement du "cord factor"

Nous avons obtenu des préparations de "cord factor" par chromatographie des cires C* (provenant de bactéries d'une souche H-37 Ry streptomycino-résistante**) sur silicate de magnésium selon NOLL ET BLOCH⁷. Pourachever la purification, nous avons chromatographié les fractions actives, sur acide silicique; cet adsorbant retient fortement le "cord factor" (élué seulement par de l'éther renfermant du méthanol), tandis que l'acide mycolique, qui constitue une des impuretés prépondérantes, est élué avec un mélange de benzène et d'éther. Les rendements observés sont de 0,5 à 1,0% de "cord factor" par rapport au poids de cires C mises en jeu.

Le "cord factor" ainsi purifié présente les caractéristiques suivantes: cire presqu'incolore, F 42-44°, $[\alpha]_D^{25} \approx +30^\circ$ (CHCl₃)***, acidité très faible (correspondant à 0,5 mm³ KOH N/10 par mg); l'activité biologique est tout à fait comparable à celle des préparations de NOLL ET BLOCH⁴. Les analyses élémentaires sont en accord avec la formule brute C₂₅H₄₉O₉N ± 5 CH₂ ± O. Ces propriétés, ainsi que les spectres infrarouges de nos préparations, sont identiques à celles des préparations obtenues par NOLL ET BLOCH⁴.

Structure du "cord factor"

L'acétylation du "cord factor" par l'anhydride acétique dans la pyridine donne une substance F 38-39° qui, d'après le spectre infrarouge, ne contient plus de OH libre. L'analyse élémentaire de cet acétate serait compatible avec un diacétate, C₉₉H₁₉₃O₁₁N ± 5 CH₂. Or, le "cord factor" doit contenir au moins cinq hydroxyles (trois sur le glucose et deux sur l'acide mycolique). Un essai d'acétylation de l'acide dihydroxy-3, x mycolanoïque [2, H-37 Ry S.r.]⁸ dans les mêmes conditions a donné un monoacétate d'un monoanhydro-acide C₈₉H₁₇₄O₄ ± 5 CH₂ (acétoxy-3 mycolène-x oïque), ce qui montre que l'hydroxyle en x est facilement éliminé au cours de l'acétylation. Nous pensons qu'une déshydratation analogue s'est produite au cours de l'acétylation du "cord factor" et que l'acétate obtenu serait un tétracétate du "cord factor" déshydraté, C₁₆₃H₁₉₅O₁₂N ± 5 CH₂, ce qui concorderait à peu près avec les analyses élémentaires et expliquerait l'absence des bandes -OH dans le spectre infrarouge⁸⁸.

La saponification du "cord factor" par la potasse alcoolique fournit 80-83% d'éthérösoluble et environ 20% de partie hydrosoluble.

Sur la nature de la partie liposoluble

La substance liposoluble, obtenue sous forme d'une cire jaune clair, présente un poids équivalent (déterminé par titrage) de 1310 ± 50. Après précipitation de la solution éthérée de ce produit par le méthanol, une poudre blanche est obtenue, F 56-57°, dont la composition centésimale est en bon accord avec la formule C₈₇H₁₇₄O₄ ± 5 CH₂.

Pour identifier cet acide, nous l'avons soumis à la pyrolyse, réaction caractéristique

* Pour la nomenclature des fractions lipidiques, voir*.

** Abréviation: H-37 Ry S.r.

*** De légères variations du point de fusion et du pouvoir rotatoire sont observées suivant les préparations; voir la partie expérimentale.

⁸ Cet acide a été décrit sous le nom d'acide α_2 -mycolique⁶. La nouvelle nomenclature utilisée ici a été proposée à Londres, au Symposium de la Ciba Foundation sur le Bacille tuberculeux¹⁶; elle repose essentiellement sur l'attribution du nom "acide mycolanoïque" à un acide mycolique dépourvu de fonction oxygénée en dehors du carboxyle. L'acide α -mycolique *Test* devient ainsi l'acide hydroxy-3 méthoxy-x mycolanoïque [*1*-Test], *etc.*

⁸⁸ NOLL ET BLOCH⁴ pensent avoir isolé un penta- ou hexa-acétate.

des acides mycoliques⁸ qui, dans le cas des souches humaines et bovines, conduit à la libération d'une molécule d'acide *n*-hexacosanoïque (F 88°, P.M. 399). Cette réaction, effectuée sur l'acide F 56-57° provenant du "cord factor", a fourni l'*acide n-hexacosanoïque*, F 83-85°, P.M. (titrage) 380.

Le constituant liposoluble du "cord factor" est donc un *acide mycolique*, et dans le cas présent, l'acide dihydroxy-3,x mycolanoïque [2,H-37 Rv S.r.]⁶, en raison du point de fusion, de l'absence de méthoxyle et de l'identité des spectres infrarouges. Une note préliminaire de NOLL⁹ avait déjà annoncé l'obtention d'acide mycolique à partir du "cord factor".

Aucun autre constituant n'a été décelé dans les solutions-mères de précipitation de l'acide mycolique.

Sur la nature de la partie hydrosoluble

En admettant pour le "cord factor" la formule $C_{95}H_{189}O_9N \pm 5 CH_2$ et pour l'acide mycolique la formule $C_{87}H_{174}O_4 \pm 5 CH_2$, on peut conclure que le reste de la molécule du "cord factor" doit avoir une formule approximative telle que $C_8H_{17}O_6N$, qui suggère la présence d'un constituant osidique. La présence d'un ose a été effectivement démontrée par les réactions suivantes:

La réaction à l'*anthrone*¹⁰, effectuée sur l'hydrosoluble de saponification du "cord factor", est nettement positive.

La réaction de IKAWA ET NIEMANN¹¹ à l'acide sulfurique à 84%, effectuée sur le "cord factor" même, comparativement avec divers mycolates d'oses synthétiques, dérivés du glucose, du galactose et de la glucosamine^{5*}, est nettement en faveur de la présence d'un ose du type glucose^{**}, résultat qui est en accord avec les travaux de NOLL ET BLOCH⁴. Des essais biologiques sur des substances synthétiques ont d'ailleurs montré que des mycolates de l'hydroxyle 6 de D-glucose ou D-glucosamine, présentent l'activité toxique caractéristique du "cord factor"⁵.

Nous avons essayé d'obtenir quelques précisions sur la forme sous laquelle le glucose est présent dans le "cord factor".

Un essai d'*oxydation par l'hypoiodite*¹² du "cord factor" ne montre aucune consommation d'oxydant, alors que l'(hydroxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-6 N-acétyl D-glucosamine (IIIa)⁵ consomme 40% de la quantité théorique. Le "cord factor" ne semble donc pas renfermer d'hydroxyle semiacétalique libre, ce qui est en accord avec les résultats de NOLL ET BLOCH⁴.

Des essais d'*oxydation périodique* effectués parallèlement sur le "cord factor" et sur des modèles synthétiques semblent indiquer que le "cord factor" consomme plus d'une molécule d'oxydant. En effet l'(acétoxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-6 N-acétyl D-glucosamine (IIIb) consomme 40-45%, et la (diacétoxy-3',x mycolanoyl)-6 N-carbobenzoxy D-glucosamine⁵ 54%, de la quantité théorique pour une molécule d'acide périodique; le palmitoyl-6 glucoside de méthyle¹³ consomme 67% de la quantité théorique pour 2 molécules. Or, dans les mêmes conditions, le "cord factor" (aussi bien celui isolé de la souche *Brévannes*^{***} que celui isolé de la souche H-37 R.v S.r.) consomme 60% de 2

* La synthèse de ces substances sera décrite prochainement.

** Cord factor: maxima d'absorption à 300 et 230 m μ ; (acétoxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-1 tétraacétyl-2,3,4,6 β -D-glucose, 299 et 231 m μ ; substance (IV) dérivée du D-galactose, 290 et 242 m μ ; substance (IIIb), 296 et 235 m μ .

*** Mis à notre disposition par le Dr. H. NOLL.

molécules d'acide périodique. Ce résultat ne pourrait s'expliquer que par la présence à l'état libre d'au moins deux hydroxyles voisins dans le "cord factor".

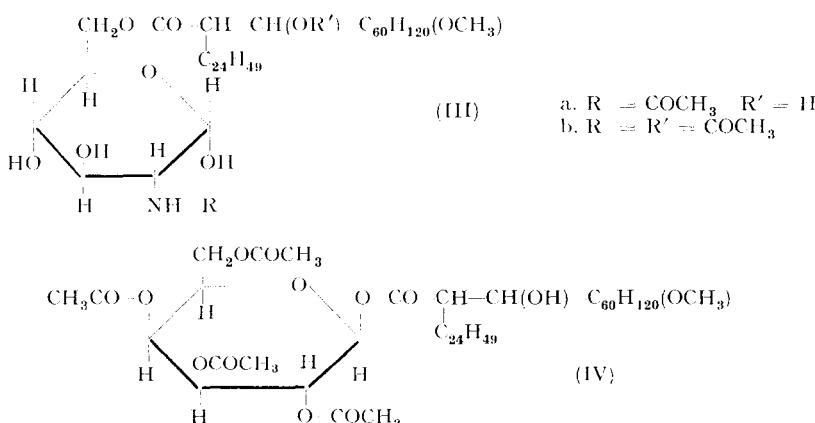
La présence dans la molécule du "cord factor" d'acide mycolique et de glucose, conduit à envisager l'existence d'un *troisième constituant* qui serait porteur de l'atome d'azote. Etant donné qu'un mycolate de glucose possède la formule $C_{93}H_{184}O_9 \pm 5 CH_2$, il ne peut s'agir que d'une très petite molécule, comportant environ 4 à 6 atomes de carbone. D'après les résultats de NOLL ET BLOCH⁴ ce constituant azoté forme un glucoside avec le D-glucose.

Ce glucoside doit contenir un atome d'azote *tertiaire*, car après acétylation totale du "cord factor", on n'observe dans le spectre infrarouge du produit d'acétylation aucune bande correspondant à la présence de groupements $-\text{NH}-\text{COCH}_3$ ou $\text{N}-\text{COCH}_3^*$.

Sur la nature de la liaison entre l'acide mycolique et la partie hydrosoluble

Nous avons effectué quelques essais d'hydrolyse du "cord factor" comparativement avec le 6-mycolate de N-acétyl D-glucosamine (IIIa) et l'(hydroxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-1 tétraacétyl-2,3,4,6-β-D-galactose (IV). Ces trois substances présentent des caractères de solubilité comparables, et toutes les trois sont facilement saponifiées, dans les mêmes conditions, *en milieu alcalin*.

Une importante différence de comportement vis-à-vis de l'*hydrolyse acide* est observée: le mycolate de 1-galactose tétraacétylé (IV), chauffé avec HCl 1.5 N pendant quatre heures, libère 82% d'acide mycolique, tandis que dans les mêmes conditions, le "cord factor" reste inchangé (même point de fusion, même spectre I.R. et même toxicité). Ceci indique que dans le "cord factor" l'acide mycolique n'est pas estérifié avec l'hydroxyle semiacétalique du D-glucose, ce qui est en accord avec les résultats de NOLL ET BLOCH⁴.



Nous remercions la "Fondation Waksman pour le Développement des Etudes microbiologiques en France" pour des subventions, la Direction de la CIBA (Bâle) pour les micro-analyses de ce travail, ainsi que MM. J. TRÉFOUËL et J. BRETEY, Institut Pasteur, pour les cultures de bacilles.

* Par contre, l'(hydroxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-6 N-acétyl D-glucosamine synthétique⁵ montre dans son spectre I.R. des bandes à 6.48 et 6.05 μ , attribuables au groupement $-\text{NH}-\text{COCH}_3$.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Isolement du cord factor

Les cires C ont été isolées à partir de bacilles H-37 Rv streptomycino-résistants* (cultivés 4 semaines sur milieu de Sauton), selon la technique déjà décrite¹⁴. Ces cires ont ensuite été soumises à une chromatographie sur un mélange de trisilicate de magnésium (Siegfried, Zofingen) et de célite (2:1), préalablement légèrement désactivé par addition de 1 ml d'eau à 100 g d'adsorbant.

La chromatographie de 19 g de cires C sur 300 g d'adsorbant a fourni les résultats suivants (éluations par 1000 ml de solvant):

No.	Solvant	Poids (mg)	F	Acidité (mm ³ KOH N/10 par mg)	Toxicité [§]
1	tétrachlorure de carbone-benzène (1:1)	318			
2	benzène	5515		0	
3	benzène-éther (1:1)	3492			
4	benzène-éther (1:1)	2522	46-50°		
5	éther	1276	48-52°		
6	éther	1360	48-54°		
7	éther	899	50-54°		
8	éther	254	52-54°	8	—
9	éther	169	45-52°	6	—
10	éther-méthanol (8:2)	254	45-48°	3.5	++
11	éther-méthanol (8:2)	84	47-53°	3	+
12	éther-méthanol (8:2)	40			
13	éther-acide acétique (100:1)	849	55-60°	8	—
14	éther-acide acétique (100:2)	220			
15	éther-acide acétique (100:5)	84			

§ Essais du Dr. H. BLOCH (Public Health Research Institute, New York) sur des souris noires C 57.

Les deux premiers éluats à l'éther renfermant 20% de méthanol (éluations no 10 et 11) ont été rechromatographiés sur acide silicique (Mallinckrodt):

333 mg de substance, 100 g d'acide silicique, éluations de 200 ml.

No.	Solvant	Poids (mg)	F	Acidité (mm ³ KOH N/10 par mg)
1	éther de pétrole	0		
2	éther de pétrole-benzène (1:1)	0		
3	benzène	3		
4	benzène-éther (9:1)	2		
5	benzène-éther (1:1)	71	57-61°	9
6	éther	37		
7	éther	15		
8	éther-méthanol (8:2)	10		
9	éther-méthanol (8:2)	76	40-42°	0.5
10	éther-méthanol (8:2)	120	42-44°	0.5
11	éther-méthanol (8:2)	2		

Les éluats à l'éther renfermant 20% de méthanol sont constitués par le "cord factor". Après précipitation de sa solution éthérrée par le méthanol, il se présente sous forme d'une poudre presque incolore, dont le point de fusion varie, suivant les préparations, entre 41-42° et 42-47°. Trois préparations de cord factor ont présenté les propriétés suivantes:

1. F 44-47°, $[\alpha]_D + 35^\circ$ (CHCl_3 ; $c = 0.662$ l = 1), acidité: consommation de 0.5 mm³ KOH analyse: trouvé C 76.61% H 12.48% N 1%.

N/10 par mg.

* Souche de l'Institut Pasteur.

2. F 42-44°, $[\alpha]_D + 28$ (CHCl₃; c = 0.510 l = 1), acidité: < 0.5 mm³ KOH N/10 par mg.
analyse: trouvé C 76.93% H 12.52% N 1% P.M. (Rast) 1291, 1282.
3. F 41-42°, $[\alpha]_D + 39$ (CHCl₃; c = 0.705 l = 1), acidité: < 0.5 mm³ KOH N/10 par mg.
analyse: trouvé C 76.37% H 12.39% N 0.6%.
dosage d'acétyle: trouvé 0.
- C₉₃H₁₈₃O₈N calc. C 77.27% H 12.90% N 0.97% P.M. 1445
C₉₅H₁₈₉O₉N calc. C 76.59 H 12.79 N 0.94 P.M. 1480

Acétylation du "cord factor"

29 mg de "cord factor", dissous dans 1 ml de benzène, sont additionnés de 3 ml de pyridine et 1.5 ml d'anhydride acétique. Le mélange homogène est laissé 72 heures à la température ordinaire, puis porté 30 minutes à 100°. Le produit de la réaction est amené à sec sous vide, puis repris par l'éther et précipité par addition de méthanol. On obtient ainsi le dérivé acétylé sous forme d'une poudre blanche, F 38-39°.

Analyse: trouvé C 75.91% H 12.03% N 0.6%
C₉₆H₁₉₃O₁₁N (diacétate) calc. C 75.55% H 12.36% N 0.9%
C_{11.3}H₁₉₅O₁₂N (tétracétate de "cord factor" déshydraté)
calc. C 75.44% H 11.98% N 0.8%

Le dérivé acétylé ne présente plus de bande dans la région 2.8-3 μ du spectre infrarouge, ce qui montre l'absence d'hydroxyle libre; cet acétate n'est pas toxique à la dose de 0.1 mg.

Acétylation d'acide mycolique

55 mg d'acide dihydroxy-3,x mycolanoïque [2,11-37 Rv S.r.] (F 56-57°)⁶ ont été dissous dans 2 ml de benzène, additionnés de 6 ml de pyridine anhydre et 3 ml d'anhydride acétique, et traités dans les mêmes conditions que le "cord factor".

Le produit obtenu, après précipitation de sa solution éthérée par le méthanol, fond à 39-41°.

Analyse: trouvé C 81.22% H 12.98%
C₈₉H₁₇₆O₃ calc. C 80.59% H 13.37%
(monoacétate)
C₈₈H₁₇₄O₄ calc. C 81.70% H 13.49%
(mono-acétate d'un mono-anhydro-acide)

Le produit acétylé a été saponifié et l'acide obtenu, F 56-59°, présente la composition centésimale d'un acide mycolique déshydraté:

Analyse: trouvé C 82.31% H 13.72%
C₈₇H₁₇₂O₃ calc. C 82.52% H 13.69%

Saponification du "cord factor" et identification du constituant éthérösoluble

55 mg de "cord factor", dissous dans 3 ml de benzène, sont additionnés de 200 mg de potasse dissous dans 3 ml de méthanol; le mélange est chauffé à reflux pendant 2 h 30, et la partie éthérösoluble est ensuite isolée de la manière habituelle. 46 mg d'une cire jaune sont ainsi obtenus qui, après précipitation de leur solution éthérée par le méthanol, se présentent sous forme d'une poudre blanche, F 56-57°.

Analyse: trouvé C 81.85% H 13.31% OCH₃O P.M. (titrage) 1310
C₈₇H₁₇₄O₄ calc. C 81.36 H 13.65 P.M. 1284.

22 mg de cet acide ont été *pyrolyses* à 280 sous 0.1 mm, dans les conditions déjà décrites¹⁵. Le distillat est constitué par 5.5 mg de produit cristallisé qui, après une recristallisation dans le benzène, se présente sous forme de feuillets, F 83-85°, P.M. (titrage) 380 (C₂₈H₅₂O₂; P.M. 399). Ces résultats montrent que l'acide libéré par pyrolyse est l'*acide n-hexacosanoïque*, et établissent que l'acide F 56° est un acide mycolique.

Les solutions-mères de précipitation de l'acide mycolique amenées à sec, laissent un faible résidu cireux, dont le titrage correspond à un poids moléculaire de 1260.

Oxydation par l'hypoiodite de sodium

17 mg de "cord factor" sont dissous dans 2 ml de dioxane et additionnés de 3 ml d'iode N/10 et de 1 ml de solution de Na₂CO₃ à 5%. Parallèlement, deux autres essais sont effectués, l'un avec 25.45 mg d'(acétoxy-3' méthoxy-x mycolanoyl)-6 N-acétyl glucosamine (IIIb), l'autre avec les réactifs seuls. Chaque essai est abandonné 1 h, en réchauffant de temps à autres les ballons (y compris le témoin) dans un bain à 40° afin d'augmenter la solubilité des substances. Chaque essai est ensuite additionné de 2.5 ml d'acide sulfurique N, et titré avec de l'hyposulfite N/100 (facteur de correction 1.204):

L'essai témoin (dioxane seul) consomme 24.25 ml d'hyposulfite, et l'essai avec le "cord factor", 24.20 ml, ce qui correspond à une différence négligeable. L'essai avec le mycolate de glucosamine montre une consommation de 22.90 ml, ce qui correspond à une différence de 1.35 ml d'hyposulfite N/10 par rapport au témoin; cette consommation représente 48% de la consommation théorique.

Oxydation périodique du "cord factor"

Les premiers essais, effectués en milieu dioxanique aqueux pendant 16 h à la température ordinaire, n'ont montré aucune consommation d'acide périodique, par rapport aux témoins.

Cependant, l'emploi de conditions plus énergiques a permis de réaliser l'oxydation du "cord factor" par l'acide périodique: 29.30 mg de "cord factor", dissous dans 10 ml de dioxane, sont additionnés de 2 ml de solution aqueuse d'acide périodique *M/10*; le mélange (en partie précipité) est laissé 26 h à l'étuve à 45°, en flacon bouché à l'émeri. On ajoute ensuite, après refroidissement, 8 ml de solution saturée de NaHCO_3 , 2 ml de solution d'arsénite de sodium 0.2 N et 1 ml de solution d'iodure de potassium à 20%; après 20 minutes de contact, la solution est titrée par l'iode *N/10*. La consommation d'iode mesurée est 6.45 ml, et celle obtenue dans le cas de l'essai à blanc, 6.01 ml; la différence de 0.44 ml d'iode *N/10* correspond à une consommation de 122% pour 1 molécule d'acide périodique (en admettant un poids moléculaire de 1600 pour le "cord factor").

Dans les mêmes conditions, un mono-palmitate de glucoside de méthyle¹³ consomme 6.83 ml d'iode *N/10*, ce qui correspond à une différence de 0.82 ml, soit 67% de la quantité théorique calculée pour 2 molécules d'acide périodique. Une oxydation parallèle effectuée sur 31.20 mg d'(acétoxy-3'-méthoxy-x mycolanoyl)-6-N-acétyl glucosamine (IIIb) montre une consommation de 6.22 ml, soit une différence de 0.21 ml d'iode *N/10*, ce qui correspond à 52% de la quantité théorique calculée pour 1 molécule d'acide périodique.

Réaction avec l'acide sulfurique à 84%

Cette réaction a été effectuée selon¹¹, en opérant sur le "cord factor" lui-même. Environ 2 mg de substance sont pesés dans chaque tube et additionnés de 4.5 ml d'acide sulfurique à 84% et 0.5 ml d'eau, afin d'utiliser la concentration préconisée par IKAWA ET NIEMANN¹¹. Les substances sont soigneusement triturées avec l'acide pendant toute l'opération, au moyen d'un agitateur. Après 20 minutes dans un bain-marie bouillant, les tubes sont refroidis, et les mesures spectrophotométriques sont effectuées directement sur les solutions acides.

Essais d'hydrolyse

Les essais de *saponification* ont été effectués en chauffant 20 à 50 mg de substance dissous dans 2 ml de benzène, avec 50 mg de potasse dissous dans 2 ml de méthanol; le mélange est chauffé à reflux pendant 3 h. La partie éthérosoluble est isolée en versant le mélange dans 10 ml d'eau, et acidifiée par l'acide sulfurique dilué et extraction par l'éther.

Les essais d'*hydrolyse acide*, effectués sur 20 à 50 mg de substance, ont été réalisés en chauffant à reflux pendant 4 h le produit avec le mélange benzène-dioxane-HCl 5 N (2:2:2).

RÉSUMÉ

Le "cord factor" d'une souche H-37 Rv streptomycino-résistante, purifié par chromatographie est une cire presqu'incolore, $\text{f}^{\circ} 42\text{--}44^{\circ}$, $[\alpha]_D = \pm 30^{\circ}$ et présente une composition centésimale en accord avec la formule brute $\text{C}_{95}\text{H}_{186}\text{O}_9\text{N} \pm 5\text{CH}_2 \pm \text{O}$.

La saponification alcaline du "cord factor" libère une molécule d'acide mycolique, $\text{C}_{87}\text{H}_{174}\text{O}_4 \pm 5\text{CH}_2$. La présence d'un constituant osidique est en outre indiquée par des réactions colorées. Ces résultats sont en accord avec ceux de NOLL ET BLOCH⁴ qui ont identifié une molécule d'acide mycolique et une molécule de D-glucose dans le "cord factor" d'une autre souche humaine. Un troisième constituant de faible taille moléculaire et contenant un azote tertiaire n'a pas encore été identifié.

SUMMARY

The "cord factor" of a streptomycin-resistant mutant of H37-Rv has been purified by chromatography; the nearly colourless wax, m.p. 42°-44°, $[\alpha]_D = \pm 30^{\circ}$, thus obtained has an elementary composition corresponding to the formula $\text{C}_{95}\text{H}_{186}\text{O}_9\text{N} \pm 5\text{CH}_2 \pm \text{O}$.

Alkaline saponification of this "cord factor" liberates one molecule of mycolic acid $\text{C}_{87}\text{H}_{174}\text{O}_4 \pm 5\text{CH}_2$. The presence of a carbohydrate constituent is indicated by colour reactions. These results are in agreement with those of NOLL AND BLOCH⁴ who have identified one molecule of mycolic acid and one molecule of D-glucose in the "cord factor" of another human strain. A third, low molecular weight constituent containing a tertiary nitrogen, has not yet been identified.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach chromatographischer Reinigung wurde der "Cord faktor" eines streptomycinresistenten H₃₇-Rv Stammes als fast farbloses, bei 42-44° schmelzendes Wachs, $[\alpha]_D = +30^\circ$, erhalten. Die Elementaranalysen stimmen auf die Bruttoformel C₉₅H₁₈₉O₉N₁ - 5CH₂ + O.

Nach alkalischer Verseifung des "Cord Faktors" erhält man ein Molekül Mycolsäure, C₈₇H₁₇₄O₄ - 5CH₂. Die Anwesenheit einer Zucker-komponente wurde durch Farbreaktionen bewiesen. Diese Resultate sind eine Bestätigung der Angaben von NOLL UND BLOCH⁴, welche ein Molekül Mycolsäure und ein Molekül D-Glucose im "Cord faktor" eines anderen menschlichen Stammes nachgewiesen haben. Ein dritter, niedrigmolekularer Bestandteil, der ein tertiäres Stickstoffatom enthält, konnte noch nicht identifiziert werden.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ J. ASSELINEAU, *Compt. rend.*, 239 (1954) 1561.
- ² H. BLOCH, *J. Exp. Med.*, 91 (1950) 197.
- ³ H. BLOCH, *J. Exp. Med.*, 92 (1950) 597.
- ⁴ H. NOLL ET H. BLOCH, *J. Biol. Chem.*, 1955, sous presse.
- ⁵ J. ASSELINEAU, H. BLOCH ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 15 (1954) 130.
- ⁶ J. ASSELINEAU ET T. GENDRE, *Bull. soc. chim. (France)*, (1954) 1226.
- ⁷ H. NOLL ET H. BLOCH, *Am. Rev. Tuberc.*, 67 (1953) 828.
- ⁸ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Prog. chim. subst. organ. natur.*, 10 (1953) 170.
- ⁹ H. NOLL, *VIème Congr. Intern. Microbiol.*, Rome, 1953; résumé comm., p. 96.
- ¹⁰ R. JOHANSON, *Anal. Chem.*, 26 (1954) 1331.
- ¹¹ M. IKAWA ET C. NIEMANN, *J. Biol. Chem.*, 180 (1949) 923.
- ¹² M. MCLEOD ET R. ROBISON, *Biochem. J.*, 23 (1929) 517.
- ¹³ J. ASSELINEAU, *Bull. Soc. chim. France*, 1955, sous presse.
- ¹⁴ A. AEBI, J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Bull. soc. chim. biol.*, 35 (1953) 661.
- ¹⁵ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 7 (1951) 126.
- ¹⁶ J. ASSELINEAU ET E. LEDERER, *Colloquium of the Ciba Foundation on the tubercle bacillus and the reactions of the host tissues*, 1955, sous presse.

Reçu le 7 janvier 1955