

PN 1226

Sur l'isolement et la structure de la fortuitine, peptidolipide de *Mycobacterium fortuitum**

Un extrait éthéro-alcoolique de *Mycobacterium fortuitum* cultivé 2 semaines sur milieu de Sauton contient une fraction insoluble dans l'éther et l'eau, soluble dans le chloroforme et l'acide acétique glacial.

Après chromatographie sur silicate de magnésium et sur acide silicique, cette fraction donne un peptidolipide apparemment homogène, F. 199-202°, $[\alpha]_D = -72^\circ$ (CHCl_3), que nous proposons d'appeler *fortuitine*.

La fortuitine est dépourvue de phosphore, soufre, halogène et de sucres (test à l'anthrone négatif); les analyses élémentaires donnent les résultats suivants: C, 63.17, 63.53, 63.52, 63.56 %; H, 9.44, 9.53, 9.65, 9.71 %; N, 8.84, 9.01 %; O, 17.22 %; OCH_3 , 2.64 %.

Le spectre ultraviolet ne montre aucune absorption notable au-dessus de 210 m μ . Le spectre infrarouge, mesuré dans CCl_4 , montre des bandes à 3300 cm $^{-1}$ (NH), 1720 cm $^{-1}$ (ester), 1600 et 1625 cm $^{-1}$ (amide).

La détermination du poids moléculaire d'après la méthode de RAST-BARGER a donné la valeur de 975.

La fortuitine est neutre; elle est scindée par hydrolyse acide (HCl 6 N, à 110°, 48 h) en un mélange d'acides gras (30 % de son poids) et une partie hydrosoluble contenant les acides aminés suivants: valine, thréonine, alanine et proline. Les dosages par la méthode de MOORE ET STEIN, modifiée par PIEZ ET MORRIS¹, montrent que ces acides aminés se trouvent dans les proportions moléculaires suivantes: Val₃, Thr₂, Ala₁ et Pro₁. Des dosages microbiologiques effectués par le Dr. M. IKAWA (Berkeley) ont confirmé ces proportions et ont montré que tous les acides aminés de la fortuitine ont la configuration L.

Les acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse et par spectrométrie de masse; il s'agit apparemment d'un mélange d'acides normaux en C₁₆, C₁₈, C₂₀ et C₂₂, avec forte prédominance des acides en C₂₀ et C₂₂; le titrage indique un poids moléculaire moyen d'environ 326, correspondant à $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$.

L'hydrolyse partielle de la fortuitine par un mélange d'acide acétique-HCl conc. (1:1) pendant 3 h à 37° permet d'obtenir une fraction soluble dans l'éther que nous avons purifiée par chromatographie sur trisilicate de Mg; nous avons ainsi obtenu une substance F. 118-120°, $[\alpha]_D = -24^\circ$ (CHCl_3), dont le spectre infrarouge montre des bandes amides à 1600 et 1625 cm $^{-1}$. L'hydrolyse acide totale de cette substance donne le mélange d'acides gras déjà mentionné et la valine comme seule substance réagissant à la ninhydrine. Ceci indique que la fortuitine a la structure:



Selon ces résultats, la fortuitine apparaît comme un peptidolipide dans lequel une molécule d'acide gras (C₁₆, C₁₈, C₂₀ ou C₂₂) amidifie une molécule de valine d'un heptapeptide (Val₃, Thr₂, Ala₁ et Pro₁).

La présence d'-OCH₃ et la réaction neutre de la fortuitine suggèrent l'estérification du groupement C-terminal de l'heptapeptide par le méthanol.

Le spectre de résonance magnétique nucléaire de la fortuitine montre effective-

* 64ème communication sur les constituants des mycobactéries. 63ème communication voir réf. 7.

ment un signal à 3,64 ppm, qui pourrait être attribué au méthyle du groupement -COOCH₃.

La fortuitine aurait ainsi la formule brute C₅₃H₉₅O₁₁N₇ (poids moléculaire 1005) et la composition élémentaire C, 63,26; H, 9,45; N, 9,75; OCH₃, 3,08, en assez bon accord avec les valeurs trouvées.

Rappelons que le premier peptidolipide de ce genre, extrait de *Nocardia asteroides*, a été décrit par GUINAND, MICHEL ET LEDERER^{2,3} et que LANÉELLE ET ASSELINEAU⁴ viennent d'en rapporter un autre, isolé de *M. paratuberculosis* (*M. Johnei*).

Ces peptidolipides, ainsi que les peptido-glycolipides des Mycobactéries (mycoside C₁⁵, mycoside C_m⁶), cires D de *M. tuberculosis var. hominis*⁷, contiennent des D-amino-acides^{8,9}. La fortuitine semble être le premier peptidolipide bactérien qui ne contient que des L-aminoacides.

Ce travail a bénéficié d'une subvention du National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Grant E 28-38). Nous remercions M. P. JOLLÈS (Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences, Paris) pour les analyses quantitatives d'acides aminés sur colonne, Monsieur le Professeur M. IKAWA (Berkeley, U.S.A.) pour l'analyse microbiologique des acides aminés, et M. A. GAUDEMÉR pour le spectre de résonance magnétique nucléaire.

*Institut de Chimie des Substances Naturelles,
Gif-sur-Yvette, Seine-et-Oise (France)*

ERNA VILKAS
ANNE-MARIE MIQUEL
EDGAR LEDERER

¹ K. A. PIEZ ET L. MORRIS, *Anal. Biochem.*, 1 (1960) 187.

² M. GUINAND, G. MICHEL ET E. LEDERER, *Compt. Rend.*, 246 (1958) 848.

³ M. GUINAND ET G. MICHEL, *Compt. Rend.*, 256 (1963) 1621.

⁴ G. LANÉELLE ET J. ASSELINEAU, *Biochim. Biophys. Acta*, 59 (1962) 731.

⁵ P. JOLLÈS, F. BIGLER, T. GENDRE ET E. LEDERER, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 43 (1961) 177.

⁶ M. CHAPUT, G. MICHEL ET E. LEDERER, *Biochim. Biophys. Acta*, 63 (1962) 310.

⁷ P. JOLLÈS, D. SAMOUR ET E. LEDERER, *Arch. Biochem. Biophys. Suppl.*, 1 (1962) 283.

⁸ M. IKAWA, E. E. SNELL ET E. LEDERER, *Nature*, 188 (1960) 558.

⁹ M. IKAWA ET E. E. SNELL, *Biochim. Biophys. Acta*, 60 (1962) 186.

Reçu le 20 décembre, 1962

Biochim. Biophys. Acta, 70 (1963) 217-228

PN 1230

Structure of sulfatides

While studying the action of various acidic and alkaline reagents on sulfatides, we found them to be very resistant to alkali¹. After refluxing a solution of sulfatides in 1 N sodium methoxide in methanol for 90 min, the sulfatides were recovered in high yield, and moved like the original material when chromatographed on thin layers of silica gel G. The peaks at 1240 and 820 cm⁻¹, characteristic of the sulfate group, were present in the infrared spectrum of the recrystallized product. Moreover, no 3,6-anhydro-D-galactose dimethylacetal could be detected with Seliwanoff's reagent in a methanolyzate of the alkali-treated sulfatide nor on paper chromatograms of the carbohydrate fraction of the methanolyzate, previously separated from the fatty