

N-METHYLATION DE PEPTIDES PAR LA METHODE DE HAKOMORI.

STRUCTURE DU MYCOSIDE C<sub>bl</sub><sup>\*</sup>.

Erna VILKAS et Edgar LEDERER

avec la collaboration technique de J. Cl. MASSOT

Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., 91-Gif-sur-Yvette, France.

(Received in France 29 March 1968; received in UK for publication 3 April 1968)

La N-méthylation de N-acylpeptides et leur analyse par spectrométrie de masse ont été récemment décrites par Das et coll. (1,2). Cette méthylation présente surtout l'avantage d'augmenter la volatilité des dérivés de peptides, ce qui rend plus aisée l'étude de leurs séquences par spectrométrie de masse. De plus, dans le cas où le produit a pu être soumis à la spectrométrie de masse sans traitement préalable, l'obtention d'un dérivé N-méthylé et la comparaison des deux spectres permettent la confirmation de la structure.

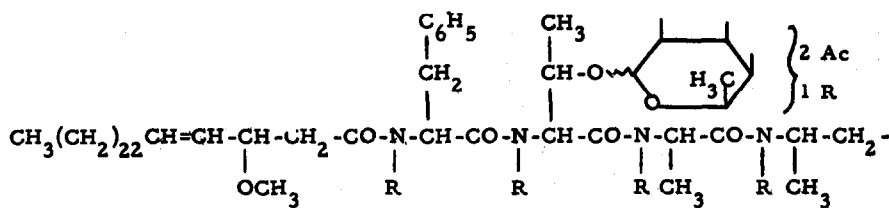
La méthode de méthylation utilisée par Das et coll. (1,2) est celle mise au point par Kuhn et coll. (3) pour les polysaccharides. Les réactifs employés sont l'oxyde d'argent et l'iodure de méthyle dans le diméthylformamide. Kuhn et Baer (4) signalent d'ailleurs qu'en remplaçant l'Ag<sub>2</sub>O par BaO une N-méthylation des groupes N-acétyles d'aminosucres peut avoir lieu.

Nous rapportons ici l'application aux peptides d'une autre méthode de N-méthylation, à savoir celle décrite par Hakomori (5) pour des glycolipides. Cet auteur emploie comme base le méthyl sulfinyl carbanion de Corey (6); cette technique, simple et rapide, que nous avons utilisée dans le cas d'un peptidoglycolipide, fournit en 15 heures une substance entièrement méthylée.

On procède comme suit : 15 mg de peptidoglycolipide sont dissous dans 1 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) et additionnés d'une solution de méthylsulfinylcarbanion (préparé en faisant réagir 1,5 mg de NaH et 6 ml de DMSO). Le mélange réactionnel, sous un courant d'azote, est maintenu avec agitation magnétique à la température ambiante environ 1 h, puis, on ajoute un excès de ICH<sub>3</sub> et on continue l'agitation pendant 12 h. La solution est ensuite diluée d'eau et extraite au chloroforme. La phase chloroformique contient la totalité du produit perméthylé. Son spectre IR montre la disparition des bandes à 3300 cm<sup>-1</sup> et à 1550 cm<sup>-1</sup> (dues aux -OH et -CONH-); la chromatographie sur papier de son hydrolysate indique que tous les acides aminés présents ont été N-méthylés.

\* 110ème communication sur les constituants des Mycobactéries; 109e communication, voir E. Vilkas, Cl. Gros et J. C. Massot, C.R. Acad. Sci., 266, ser. C, 837 (1968).

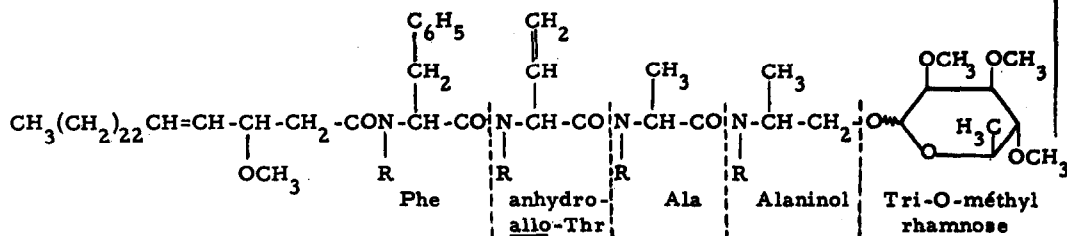




R = H m/e 1041

R = CH<sub>3</sub> m/e 1111

(2)



R = H

m/e 582

m/e 665

m/e 736

m/e 793

m/e 998

R = CH<sub>3</sub>

m/e 596

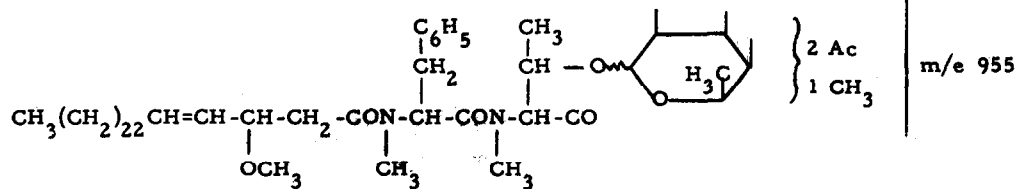
m/e 693

m/e 778

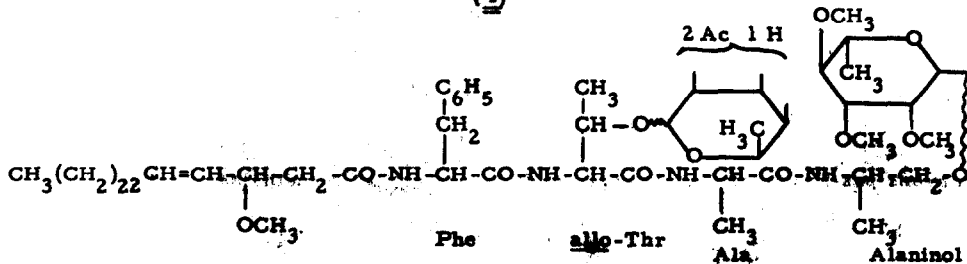
m/e 849

m/e 1055  
(après transfert d'un H)

(3)



(4)



(5)

La comparaison des deux spectres montre que l'acide gras était méthoxylé à l'origine (pas d'augmentation de masse dans cette partie de molécule), tandis que tous les constituants aminés, ainsi que le désoxy-6 talose diacétylé ont été méthylés (+ 14 u. m.). Il n'y a pas d'amides aminés N-méthylés dans cette fraction avant la méthylation.

Ces résultats permettent d'attribuer au mycoside  $C_{b1}$  la structure (5), qui comporte la structure partielle (1) proposée pour le mycoside  $C_b$  (7). Elle est identique, en ce qui concerne sa partie hydrosoluble, à celle du mycoside 1217 décrite par Lanéelle (12). La structure (5) diffère de celle du mycoside  $C_s$  de *M. scrofulaceum* (11) par la nature du radical acyle et par le sucre terminal, qui est le di-O-méthyl-3,4 rhamnose, dans le cas du mycoside  $C_s$ .

Nous remercions M. B. C. Das pour les spectres de masse mesurés avec un appareil MS9 (A. E. I) comportant un système d'introduction directe.

#### Bibliographie

1. B. C. Das, S. D. Géro et E. Lederer, Biochem. Biophys. Res. Comm., **29**, 211 (1967).
2. B. C. Das, S. D. Géro et E. Lederer, Nature, **217**, 547 (1968).
3. R. Kuhn, H. Trischmann et I. Löw, Angew. Chem., **67**, 32 (1955).
4. R. Kuhn et H. H. Baer, Liebigs Ann. Chem., **611**, 236 (1958).
5. S. I. Hakomori, J. Biochemistry, **55**, 205 (1964).
6. E. J. Corey et M. Chaykovsky, J. Amer. Chem. Soc., **84**, 866 (1962).
7. E. Vilkas, A. Rojas, B. C. Das, W. A. Wolstenholme et E. Lederer, Tetrahedron, **22**, 2809 (1966).
8. E. Vilkas, A. Rojas et E. Lederer, C. R. Acad. Sci., **261**, 4258 (1965).
9. C. Ressler et D. V. Kashelkar, J. Amer. Chem. Soc., **88**, 2025 (1966).
10. G. Lanéelle, C. R. Acad. Sci., **263**, 502 (1966).
11. E. Vilkas, C. Gros, J. C. Massot, C. R. Acad. Sci., **266**, 837 (1968).
12. G. Lanéelle, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Toulouse, 1967.

---

\*\* Nous n'avons pas pu déterminer la position de la N-méthyl, O-méthylsérine dans le mycoside  $C_b$ .