

## Über die Chemie des Enniatins<sup>1</sup>

Vor kurzem haben wir gemeinsam mit E. GÄUMANN, S. ROTH und L. ETTLINGER<sup>2</sup> über ein neues gegen Mykobakterien wirksames Antibiotikum aus Fusarien berichtet, das Enniatin genannt wurde.

Nun ist neuerdings eine Veröffentlichung von A. H. COOK, S. F. COX, T. H. FARMER und M. S. LACEY<sup>3</sup> über die Isolierung einiger Antibiotika aus Fusarien erschienen, in welcher fünf verschiedene aktive Verbindungen beschrieben werden, die ihrem ganzen Verhalten nach offenbar zu der gleichen Stoffgruppe gehören wie Enniatin. Die von den genannten Forschern als Lateritin-I bezeichnete Verbindung besitzt nicht nur den gleichen Schmelzpunkt, wie wir ihn für Enniatin angaben, sondern zeigt auch ein weitgehend ähnliches «Bakterienspektrum». Auf Grund unserer im folgenden wiedergegebenen Befunde über die Chemie des Enniatins ist zu vermuten, daß die beiden Substanzen identisch sind.

Enniatin ist in organischen Lösungsmitteln sehr gut, in Wasser hingegen praktisch nicht löslich. Aus wässrigem Alkohol oder Aceton kristallisiert es in Form langer, farbloser Nadeln, die bei 122–122,5°<sup>4</sup> schmelzen und einer Zusammensetzung von  $C_{24}H_{42}O_6N_2$  entsprechen (Ber. C 63,41; H 9,31; N 6,16%; Gef. C 63,37; 63,28; H 9,20; 9,25; N 6,12; 6,17%). Zur weiteren Charakterisierung wurde ein Pulverdiagramm mit  $CuK\alpha$ -Strahlung aufgenommen<sup>5</sup>. Die daraus folgenden wichtigsten Netzebenenabstände und die dazu gehörenden relativen Intensitäten sind schematisch im nebenstehenden Diagramm angegeben.

Die Methylimidbestimmung ergibt für Enniatin zwei N-Methylgruppen (Ber.  $CH_3$  6,62%; Gef. 6,53%). Es zeigt im ultravioletten Bereich keine Absorptionsbanden. In Eisessig oder Aceton gelöst läßt sich kein Brom- oder Kaliumpermanganatverbrauch feststellen. Quantitative katalytische Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig ergibt keine Wasserstoffaufnahme. Aktiver Wasserstoff, Hydroxyl-, Carbonyl- und Alkoxygruppen, sowie saure oder basische funktionelle Gruppen konnten nach den üblichen Methoden nicht festgestellt werden. Das Antibiotikum läßt sich im Hochvakuum sehr langsam ohne Einbuße an Aktivität und ohne Änderung der chemischen und physikalischen Eigenschaften sublimieren. Es ist bei Zimmertemperatur, wie schon früher erwähnt<sup>6</sup>, in schwach saurem Medium beständig, wird hingegen unter gleichen Bedingungen alkalisch sehr rasch deaktiviert, wobei genau zwei Mol Alkali verbraucht werden. Bei der alkalischen Hydrolyse entstehen keine leichtflüchtigen Säuren oder Basen.

Durch mehrstündiges Kochen mit 20prozentiger Salzsäure wird Enniatin hydrolysiert, wobei die Aktivi-

tät verschwindet. Es können dabei weder neutrale noch saure oder basische leichtflüchtige Bestandteile isoliert werden. Aus dem sauren Hydrolysat erhielten wir durch Extraktion mit Äther in einer zwei Mol fast erreichenden Ausbeute (86%) eine kristallisierte Säure  $C_8H_{10}O_3$  (Ber. C 50,83; H 8,53%; Äquivalentgewicht 118,0; Gef. C 50,79; H 8,49%; Äquivalentgewicht 115,6). Die Oxysäure schmilzt bei 69–70° und zeigt die Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -1,81^\circ$  ( $c = 11,8$  in  $H_2O$ ). Der Schmelzpunkt des *p*-Phenylphenacylesters liegt bei 110°. In Eisessig gelöst verbrauchte die Säure genau zwei Äquivalente Bleitetraacetat unter Bildung von Kohlendioxyd und einem Mol Isobutyraldehyd, der sich als 2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 186–187° identifizieren ließ (Ber. C 47,62; H 4,80; N 22,21%; Gef. C 47,60; H 4,74; N 22,13%).

Durch diese Befunde ist die Abbausäure eindeutig als *d*(–)- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure charakterisiert<sup>1</sup>. Ein Vergleichspräparat konnte nach E. FISCHER und H. SCHEIBLER<sup>2</sup> aus *d*(–)-Valin synthetisch hergestellt werden und zeigte folgende Daten: Smp. 69–70°;  $[\alpha]_D^{24} = -1,61^\circ$  ( $c = 12,05$  in  $H_2O$ ).

Aus der verbleibenden Hydrolysenlösung, welche den gesamten Stickstoff enthält und optische Aktivität zeigt, konnten durch Extraktion mit Äther weder bei alkalischer noch bei neutraler Reaktion weitere Spaltstücke erhalten werden. Durch Fällung mit Pikrolonsäure ließ sich daraus ungefähr ein Mol einer Aminosäure isolieren, deren Hydrochlorid den Smp. 182 bis 185° aufweist und einer Zusammensetzung  $C_7H_{16}O_2NCl$  entspricht (Ber. C 46,28; H 8,88; N 7,71; Cl 19,51%; Gef. C 46,09; H 8,92; N 7,61; Cl 19,52%),  $[\alpha]_D^{25} = +27,9^\circ$  ( $c = 2,82$  in  $H_2O$ ). Die freie Aminosäure, die sich im Hochvakuum ohne merkliche Zersetzung sublimieren läßt, besitzt die Zusammensetzung  $C_7H_{15}O_2N$  (Ber. C 57,90; H 10,41; N 9,65%; Gef. C 57,67; H 10,49; N 9,84%) und die Drehung  $[\alpha]_D^{20} = +45,7^\circ$  ( $c = 1,20$  in 5-n. HCl). Sie weist keine nach VAN SLYKE bestimmbare Aminogruppe auf und gibt keine Ninhydrinreaktion. Mit *p*-Nitrobenzoylchlorid in Pyridin nach S. EDLBACHER<sup>3</sup> wird jedoch eine intensive Rotfärbung beobachtet. Ferner ist die Anwesenheit einer Methylimidgruppe festgestellt worden (Ber.  $CH_3$  10,35%; Gef.  $CH_3$  10,38%). Das nach SANGER<sup>4</sup> hergestellte 2,4-Dinitrophenylderivat schmilzt bei 153 bis 154° und hat die Bruttoformel  $C_{13}H_{17}O_6N_3$  (Ber. C 50,15; H 5,50; N 13,49%; Gef. C 49,95; H 5,34; N 13,54%). Auf Grund der bisher erhaltenen Resultate scheint ein Methylleucin vorzuliegen.

Aus anderen Fusarien haben wir Antibiotika erhalten, die dem Enniatin offenbar nahe verwandt sind. Wir bezeichnen sie vorläufig als Enniatin B und C.

Enniatin B<sup>5</sup> ist ebenfalls in organischen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Petroläther (Kp. 25–30°) sehr gut löslich, in Wasser praktisch unlöslich. Es ist im Hochvakuum sublimierbar, schmilzt bei 174–176°,  $[\alpha]_D^{21} = -108^\circ$  ( $c = 0,63$  in  $CHCl_3$ ) und besitzt die Bruttoformel  $C_{22}H_{38}O_6N_2$  (Ber. C 61,94; H 8,98; N 6,57%; Gef. C 61,94; 61,83; H 8,94; 8,92; N 6,66; 6,74%). Im Bakterientest gegen *Mycobacterium paratuberculosis* ETH. 2001 besitzt es etwa ein Viertel der Aktivität von Enniatin.

<sup>1</sup> Ausgeführt mit einem Beitrag aus den eidg. Arbeitsbeschäftigungskrediten.

<sup>2</sup> E. GÄUMANN, S. ROTH und L. ETTLINGER, Pl. A. PLATTNER und U. NAGER, Exper. 3, 202–3 (1947), Fasc. 5 vom 15. Mai.

<sup>3</sup> A. H. COOK, S. F. COX, T. H. FARMER und M. S. LACEY, Nature 160, 31–2 (1947), Nr. 4053 vom 5. Juli.

<sup>4</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>5</sup> Bearbeitet von Hrn. H. GÜNTARD.

<sup>6</sup> Exper. 3, 202–3 (1947).

<sup>1</sup> Vgl. dazu COOK und Mitarbeiter, l. c.

<sup>2</sup> E. FISCHER und H. SCHEIBLER, B. 41, 2894, 2897 (1908).

<sup>3</sup> S. EDLBACHER und FR. LITVAN, Z. physiol. Chem. 265, 241 (1940).

<sup>4</sup> F. SANGER, Biochem. J. 39, 507 (1945); 40, 261 (1946).

<sup>5</sup> Mitbearbeitet von Hrn. A. BOLLER.

Enniatin C schmilzt bei 152–153°, besitzt die gleiche Bruttoformel und ist ähnlich aktiv wie Enniatin B.  
PL. A. PLATTNER und U. NAGER

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, den 16. Juli 1947.

### Summary

Judging by the physical and chemical properties and "bacterial spectra", the antibiotic substance, Enniatin, previously isolated from a strain of *Fusarium* by the authors, appears to be identical with that which was recently reported by Cook et al. derived from another strain and designated by them as Lateritiin-I, although the reported empirical formulæ differ. Numerous physical and chemical characteristics of Enniatin and its degradation products are given, and, further, two related *Fusarium* antibiotics, here designated as Enniatin B and C, are briefly described.

### Ein neu entdeckter Wirkstoff (Vitamin-T-Komplex)

Im vergangenen Jahre glückte es mir, die Entdeckung eines Wirkstoffes sicherzustellen. Dieser «Vitamin-T-Komplex»<sup>1</sup> wurde zunächst aus verschiedenen Insekten, besonders Termiten, gewonnen. Später zeigte es sich, daß nicht die Insekten selbst den Wirkstoff erzeugen, sondern nur aus gefressenen Hefen und Pilzen speichern. Infolgedessen ist es jetzt möglich, dieses Vitamin T unmittelbar aus Wuchshefen (*Torula*) und verschiedenen Askomyzeten zu erhalten. Bei der Herstellung müssen aber die Umbildungen berücksichtigt werden, die sonst innerhalb des Insektenkörpers vor sich gehen.

Das neue Vitamin T scheint nicht unbedingt zum Leben notwendig zu sein. Wohl aber kurbelt es die Lebensvorgänge stärker an, etwa dem Kompressor eines auch sonst normal laufenden Autos vergleichbar. Durch solche «Entwicklungsstöße» kann sich bei genügender Eiweißnahrung bei manchen Insekten die Gestalt so verändern, daß Formen entstehen, die es in der Natur nicht gibt, wie z. B. bei der südamerikanischen Termitengattung *Anoplotermes*. Auch bei unseren Küchenschaben (*Periplaneta*, *Blattella*) kam es zu Veränderungen der Größe und der Kopfverhältnisse, die an die von Termitensoldaten erinnern; die Taufliege *Drosophila melanogaster* wird unter dem Einfluß von Vitamin T ebenfalls besonders groß (siehe Tab. II, S. 327). Der Wirkstoffkomplex erweist sich damit zu gewissen sensiblen Perioden als «Großmodifikator», d. h. er kann durch äußere Einflüsse sprunghaft die Form verändern.

Bei Wirbeltieren vermag Vitamin T einen besseren Stoffwechsel einzuleiten (Eiweißassimilation) und damit eine raschere Entwicklung gerade wachsender Organe hervorzurufen. Das Endergebnis ist regelmäßig eine Körpervergößerung oder eine Gewichtszunahme von etwa 10–20% (Tabelle I). Eigenartig bleibt dabei, daß trotzdem der Nahrungsbedarf geringer ist. Bei Versuchen mit Mäusen wurde z. B. bei wenig oder geringwertigem Futter mit Zugabe eines Vitamin-T-Präparats mindestens der gleiche Erfolg erzielt wie bei normalem Futter ohne Zugabe (Tabelle I). Noch besser als die Zufütterung an Jungtiere war die Darreichung an die Mut-

Tabelle I

Wirkung von Vitamin T auf weiße Mäuse (60 Tiere). Gewichtszunahme bis zum 40. Lebenstag (= Pubertätsbeginn). Fütterung optimal. Bei Mastfutter (Eiweißzugabe) von 0,1 g pro Tag Vitaminpräparatzugabe 0,02 g jeden zweiten Tag.  
(In der Tabelle sind Durchschnittswerte von 8–10 Tieren wiedergegeben.)

| Zugaben   | Durchschnittsgewicht |        |        |
|---|----------------------|--------|--------|
|   | 20.                  | 35.    | 40.    |
| Lebenstag   |                      |        |        |
| Nr. 1. Keine Vitamine, keine Eiweißzugabe. . . .                      | 6,6 g                | 12,1 g | 13,6 g |
| Nr. 2. Vitamin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C, P-Faktor. . . . . | 6,8 g                | 11,8 g | 13,9 g |
| Nr. 3. Kein Vitamin T, mit Eiweißzugabe. . . .                        | 6,7 g                | 13,5 g | 14,4 g |
| Nr. 4. Vitamin T, ohne Eiweißzugabe. . . . .                          | 7,1 g                | 14,0 g | 15,1 g |
| Nr. 5. Vitamin T, mit Eiweißzugabe. . . . .                           | 5,9 g                | 14,1 g | 15,4 g |
| Nr. 6. Vitamin T schon während Embryonalzeit .                        | 8,8 g                | 16,0 g | 17,6 g |

Ergebnisse: Vitamin-T-Tiere stehen stets an der Spitze, gleichgültig, ob mit oder ohne Mastfutter (Eiweißzugabe). Das beste Ergebnis hat Vitamin-T-Zugabe schon während der Embryonalzeit.

ter während der Schwangerschaft (Tabelle I, Nr. 6). Solche Junge sind stets besonders kräftig und erreichen das Gewicht von etwa 14 g nicht am 40. Lebenstag, sondern 5 oder sogar 10 Tage früher. Für die Tierzucht würde die Übertragung dieser Ergebnisse die Möglichkeit einer Ersparung an Futterzeit bedeuten; d. h. man könnte bei derselben Futtermenge mit Vitamin-T-Zusatz mehr Tiere aufziehen als sonst. Da Vitamin T besonders die in Entwicklung befindlichen Organe anregt, ist die Zeit der Keimdrüsenbildung eine besonders sensible Phase. Bei Erstwürfen von Mäusen stieg z. B. der Normaldurchschnitt zweier Jahre von 3,5 auf 5,3 (1945) und 5,9 (1946) Junge, bei Insekten die Eizahl auf das Drei- bis Achtfache (Käfer, Ameisen, *Drosophila*). Auch die menschliche Haut wird als ständig wachsendes Gewebe sehr günstig beeinflusst. Verschiedene Wundarten, auch solche, die trotz Behandlung viele Wochen nicht heilten, epithelisierten sofort. Diese medizinische Seite des Problems wird jetzt von verschiedenen Kliniken und Ärzten weiter ausgebaut. Es zeigte sich schon, daß auch innerliche Anwendung möglich ist. Bei Schwächezuständen infolge Krankheit oder Unterernährung kam es in 2–3 Wochen trotz gleichbleibender Rationen zu Gewichtszunahmen von 1,5–3,5 kg. Wie bei allen Tierversuchen (Mäuse, Hühner, Amphibien, Fische) zeigte sich weiterhin ein besseres Allgemeinbefinden und eine größere Lebhaftigkeit. Damit liegt die Bedeutung des Vitamins T auch für die Medizin klar vor Augen.

WILHELM GOETSCH

Forschungsstelle Prof. Dr. W. Goetsch, Krumpendorf (Kärnten, Österreich), den 22. Januar 1947.

### Summary

The recently discovered vitamin T complex can be extracted from different kinds of yeast and ascomycetes, but also from insects that feed on such microorganisms. In case of a sufficient amount of protein in the food, vitamin T causes an "acceleration of devel-

<sup>1</sup> W. GOETSCH, Vitamin T, ein neuartiger Wirkstoff, Österr. Zool. Z. 1, Heft 1 (1946); Der Einfluß von Vitamin T auf Körperform und Entwicklung, Naturwissenschaften 5, 33 (1946).