

### Zusammenfassung.

Die Konstitution von Enniatin A ( $C_{24}H_{42}O_6N_2$ ), eines aus *Fusarium* Stamm ETH 1523 und Stamm ETH 1536 isolierten Antibiotikums, wurde aufgeklärt. Die saure Hydrolyse liefert 2 Mol N-Methyl-L-isoleucin (IV) und 2 Mol D- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure (III), während bei der alkalischen Hydrolyse das D- $\alpha$ -Oxy-isovaleryl-N-methyl-L-isoleucin (V) neben dem entsprechenden Lacton, 4-Methyl-6-isopropyl-3-sec. butyl-2,5-dioxo-morpholin (VI) entsteht. Enniatin A besitzt demnach die Konstitution II einer cyclischen Verbindung mit 12 Ringgliedern und gehört zur gleichen Gruppe neuartiger Stoffe, wie das früher aufgeklärte homologe Enniatin B (I).

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

---

## 289. Welkstoffe und Antibiotika.

11. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Analyse und Charakterisierung der Enniatine. Über das Verhalten von N-Methyl-aminosäuren im Papierchromatogramm

von Pl. A. Plattner und U. Nager.

(20. X. 48.)

Beim Abbau der von uns als Enniatin A und B bezeichneten Antibiotika aus Fusarien haben wir N-Methyl-L-isoleucin bzw. N-Methyl-L-valin als Spaltstücke erhalten<sup>2)</sup>. Diese N-Methyl-aminosäuren sind bis jetzt in der Natur nicht beobachtet worden, und ihr Verhalten im Papierchromatogramm nach *Consden*<sup>3)</sup>, der heute erfolgreichsten Trennungs- und Analysenmethode für  $\alpha$ -Aminosäuren und niedere Peptide, war nicht bekannt.

Dies veranlasste uns, einige systematische Versuche in dieser Richtung mit Sarkosin und den N-Monomethyl-Verbindungen von DL-Valin, L-Valin, L-Isoleucin und L-Leucin durchzuführen.

In dem für  $\alpha$ -Aminosäuren sonst gebräuchlichsten Lösungsmittel, Phenol, liegen die  $R_F$ -Werte<sup>4)</sup> von Sarkosin (0,80) und N-Methyl-L-leucin (0,95) sehr nahe beisammen, so dass in dieser Weise keine glatte Trennung zu erzielen war. In Collidin gelingt es dagegen,

<sup>1)</sup> 10. Mitt. Helv. **31**, 2192 (1948).

<sup>2)</sup> Pl. A. Plattner und U. Nager, Helv. **31**, 665 (1948); Helv. **31**, 2192 (1948).

<sup>3)</sup> R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, Biochem. J. **38**, 224 (1944).  
R. Consden, Nature, **162**, 359 (1948).

<sup>4)</sup> Wanderungsgeschwindigkeit relativ zur Lösungsmittelfront.

bereits Sarkosin, N-Methyl-valin und die N-Methyl-leucin-Gruppe voneinander zu trennen. Noch besser eignen sich als Lösungsmittel sec.-Butanol, Benzylalkohol und tert.-Amylalkohol, wobei besonders der letzte auch die Trennung von N-Methyl-leucin und N-Methyl-isoleucin erlaubt.

Die  $R_F$ -Werte der untersuchten N-Methyl-aminosäuren in den erwähnten Lösungsmitteln sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es geht daraus auch hervor, dass in Collidin, s-Collidin und sec. Butanol die  $R_F$ -Werte für *Whatman* Nr. 4 etwas grösser sind als für *Whatman* Nr. 1, worauf schon *Consden* und Mitarbeiter<sup>1)</sup> hingewiesen haben, während im Falle von tert. Amylalkohol und Benzylalkohol keine Unterschiede festzustellen sind. Bezüglich des Trennungsvermögens haben sich beide Papiere als gleich gut erwiesen.

Tabelle 1.

$R_F$ -Werte von N-Methyl-aminosäuren in verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Collidin		s-Collidin		tert.-Amylalkohol		sec.-Butanol		Benzylalkohol	
<i>Whatman</i> Nr.	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4
Sarkosin . . . . .	0,21	0,25	0,25	0,26	0,06	0,07	0,20	0,22	0,10	0,11
N-Methyl-DL-valin . . .	0,40	—	0,36	0,41	0,17	0,17	0,37	0,41	0,39	0,39
N-Methyl-L-valin . . .	0,39	0,45	0,37	0,42	0,17	0,17	0,37	0,42	0,38	0,39
N-Methyl-isoleucin . . .	0,49	0,53	0,47	0,50	0,29	0,29	0,50	0,54	0,53	0,53
N-Methyl-L-leucin . . .	0,51	0,57	0,48	0,50	0,35	0,36	0,54	0,59	0,59	0,59

Der Nachweis der N-Methyl-aminosäuren auf dem Filtrierpapier lässt sich auf zwei Arten durchführen:

1. Die untersuchten N-Methyl-aminosäuren geben bei der auf dem Papier durchgeführten Ninhydrin-Reaktion purpurfarbene Flecke, deren Intensität allerdings, verglichen mit derjenigen der nicht methylierten  $\alpha$ -Aminosäuren, etwas geringer ist. Bei der in üblicher Weise im Reagensglas durchgeführten Ninhydrin-Reaktion geben dagegen, wie schon früher kurz erwähnt<sup>2)</sup>, diese N-Methyl-aminosäuren keine Färbung.

2. Mit p-Nitrobenzoylchlorid und Pyridin<sup>3)</sup> treten die „höheren“ N-Methyl-aminosäuren auf dem Filtrierpapier als deutliche, leuchtend rote Flecke in Erscheinung, während Sarkosin nur einen schwachen orange-gelben Fleck gibt. Von etwa 30 geprüften natürlichen Aminosäuren der aliphatischen, aromatischen und heterocyclischen Reihe, sowie einigen einfachen Peptiden reagiert in dieser Weise einzig noch Glycin mit orange-brauner Farbe. Der grösste Teil der übrigen unter-

<sup>1)</sup> R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, *Biochem. J.* **40**, 580 (1946).

<sup>2)</sup> Pl. A. Plattner und U. Nager, *Exper.* **3**, 325 (1947).

<sup>3)</sup> Reaktion nach Waser-Edlbacher, vgl. dazu *Exper.* **3**, 325 (1947).

suchten Aminosäuren erscheint erst durch nachträgliches Bespritzen mit verdünnter Natronlauge, wobei purpurfarbene oder violette Flecke entstehen.

Die N-Methyl-aminosäuren unterscheiden sich auf dem Filtrierpapier von den entsprechenden nicht methylierten Verbindungen ferner auch dadurch, dass sie im U.V.-Licht<sup>1)</sup> keine oder nur sehr schwache Fluoreszenz (Collidin) aufweisen.

Es ist somit möglich, selbst bei gleichen  $R_F$ -Werten die in Frage kommenden N-Methyl-aminosäuren von  $\alpha$ -Aminosäuren eindeutig zu unterscheiden bzw. deren Vorliegen in Hydrolysaten auf einfachste Weise festzustellen.

Auf Grund der beschriebenen Versuche über das Verhalten der N-Methyl-aminosäuren im Papierchromatogramm gelang es, ein einfaches Verfahren zur Analyse und Charakterisierung verschiedener Enniatin-Präparate auszuarbeiten, das noch mit sehr geringen Mengen (ca. 20 mg) zu klaren Ergebnissen führt.

Die Enniatin-Präparate werden zu diesem Zwecke mit Salzsäure hydrolysiert. Dann wird die N-Methyl-aminosäure-Fraktion einer Analyse im Papierchromatogramm unterworfen. Aus der Anzahl und den  $R_F$ -Werten der auf dem Papier mit Ninhydrin erhaltenen Flecke kann die Einheitlichkeit, bzw. die Zusammensetzung der von den einzelnen Fusarienstämmen produzierten Enniatine leicht beurteilt werden.

Wir haben nach dieser Methode Enniatin-Präparate aus den in Tabelle 2 zusammengestellten 7 Fusarienstämmen<sup>2)</sup>, sowie eine Probe von Lateritiin-I<sup>3)</sup> analysiert.

**Tabelle 2.**  
Chemisch bearbeitete aktive Fusarienstämmе.

Stamm ETH. Nr.	
1523/8	<i>F. oxysporum</i> Schlecht <sup>4)</sup> .
1524	<i>F. oxysporum</i> Schlecht.
1536	<i>F. scirpi</i> Lamb. et Fautr.
1574	<i>F. oxysporum</i> Schlecht, v. <i>aurantiacum</i> (Lk.) Wr.
4363	<i>F. avenaceum</i> (Fr.) Sacc. forma I n. c. Wr.
4057	<i>F. sp.</i> (nicht bestimmbar).
4620	<i>F. sambucinum</i> Fuck.

<sup>1)</sup> D. M. P. Phillips, Nature **161**, 53 (1948).

<sup>2)</sup> Die Bestimmung der einzelnen Spezies, sowie die Kulturbedingungen werden demnächst von Gäumann, Roth und Ettliger an anderer Stelle eingehender beschrieben werden. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **1948**.

<sup>3)</sup> Das Präparat wurde uns in verdankenswerter Weise von Hrn. Prof. Cook überlassen. <sup>4)</sup> S. Fussnote 1, Seite 2206.

Die dabei beobachteten  $R_F$ -Werte sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3.

$R_F$ -Werte von N-Methyl-aminosäuren aus verschiedenen Enniatin-Präparaten.  
(s = schwach, ss = sehr schwach.)

Stamm ETH. Nr.		$R_F$ -Werte in tert.-Amylalkohol
1) 1523/8	N-Methyl-L-isoleucin aus Hydrolyse von Enniatin A . . . . .	0,29
2) 1524	rohes Hydrolysat . . . . .	0,17 0,29s 0,37ss
3) 1536	rohe Aminosäurehydro-chloride . . .	0,17s 0,30 0,37ss
4) 1574	N-Methyl-L-valin aus Hydrolyse von Enniatin B . . . . .	0,17
5) 1574	rohes Hydrolysat aus Mutterlaugen .	0,17 0,30ss
6) 4057	rohe Aminosäurehydro-chloride . . .	0,17 0,29s
7) 4620	rohes Hydrolysat . . . . .	0,18s 0,30 0,37
8) —	rohes Hydrolysat von Lateritiin-I . .	0,02 0,16 0,28 0,37
9) —	N-Methyl-L-leucin (synth.) . . . . .	0,36

*F. oxysporum* Schlecht. (Stamm ETH. 1523/8.)<sup>1)</sup> Aus diesem Pilz gewannen wir die reinsten Präparate von Enniatin A, die zur Konstitutionsaufklärung dienten. Bei dem als Nr. 1 (Tab. 3) untersuchten N-Methyl-L-isoleucin handelt es sich um ein durch Umkrystallisieren aus 50-proz. Alkohol weitgehend gereinigtes Präparat<sup>2)</sup>. In den Mutterlaugen liess sich auch hier etwas N-Methyl-valin nachweisen. Stamm ETH. 1523/8 produziert demnach neben Enniatin A auch etwas Enniatin B, und wir erhielten wohl deshalb daraus gelegentlich Präparate, die sich durch geringfügige Abweichungen im Schmelzpunkt und der spez. Drehung von Enniatin A unterschieden, ohne dass eine weitere Reinigung zu besseren Präparaten führte.

*F. oxysporum* Schlecht. (Stamm ETH. 1524.) Aus diesem Pilz hatten wir ursprünglich ein Enniatin-Präparat erhalten, dessen Schmelzpunkt (ca. 150°) zwischen denjenigen von Enniatin A (122°) und Enniatin B (175°) lag. Wir hatten für dieses Präparat den Namen Enniatin C verwendet. Die vorstehende Analyse (Nr. 2, Tab. 3) zeigt deutlich, dass dieser Stamm vor allem Enniatin B bildet (N-Methyl-valin;  $R_F = 0,17$ ). Daneben lässt sich Enniatin A (N-Methyl-isoleucin;  $R_F = 0,29$ ) nachweisen. Der Fleck mit  $R_F = 0,37$  ist auf die Anwesenheit von N-Methyl-leucin (vgl. Nr. 9, Tab. 3) zurückzuführen. Wahrscheinlich wird demnach noch ein drittes Enniatin produziert, das N-Methyl-L-leucin als Aminosäure-Komponente enthält. Wir

<sup>1)</sup> In einer vorläufigen Mitteilung (*E. Gäumann, S. Roth, L. Ettlinger, Pl. A. Plattner und U. Nager*, Exper. **3**, 202 (1947)) wurde der Stamm ETH. 1523/8 als *F. orthoceras* v. *enniatinum* beschrieben. Inzwischen konnte er aber als *F. oxysporum* schlecht identifiziert werden.

<sup>2)</sup> *Pl. A. Plattner und U. Nager*, Helv. **31**, 2192 (1948).

benutzen für dieses bis jetzt nicht in reiner Form isolierte Produkt im folgenden den Namen Enniatin C.

*F. scirpi* Lamb. et Fautr. (Stamm ETH. 1536) liefert neben ansehnlichen Mengen Enniatin B zur Hauptsache Enniatin A (Nr. 3, Tab. 3). Der Fleck mit  $R_F = 0,37$  deutet wiederum auf das Vorhandensein des N-Methyl-leucin enthaltenden Enniatins C hin. Aus der Hydrolysenlösung konnte ferner D- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure isoliert werden, die durch Analyse, Schmelzpunkt und Mischprobe identifiziert wurde.

*F. oxysporum* Schlecht. v. *aurantiacum* (Lk.) Wr. (Stamm ETH. 1574), sowie *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. forma I n. c. Wr. (Stamm ETH. 4363) gaben in der Hauptsache Enniatin B (Smp. 175°), das sich leicht reinigen liess und stets konstante physikalische Eigenschaften aufwies. Die Analyse eines solchen Präparates (Nr. 4, Tab. 3) zeigt nur N-Methyl-L-valin an. Trotzdem konnten auch hier in den Mutterlaugen (Nr. 5, Tab. 3) geringe Mengen von Enniatin A nachgewiesen werden.

Eine aus *Fusarium* Stamm ETH. 4057 isolierte aktive Verbindung, deren Analyse am besten auf  $C_{24}H_{42}O_6N_2$  stimmte, war bezüglich Schmelzpunkt und optischer Drehung nur recht wenig verschieden von Enniatin A. Die salzsaure Hydrolyse ergab wiederum D- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure. Als weiteres Hydrolysenprodukt konnte im Papierchromatogramm (Nr. 6, Tab. 3) hauptsächlich N-Methyl-valin festgestellt werden, während der auf Grund der Bruttoformel zu erwartende Fleck für ein N-Methyl-leucin, bzw. -isoleucin nur schwach ausfiel. Dieser Versuch stellt ein typisches Beispiel für die Leistungsfähigkeit der Methode dar.

Im salzsauren Hydrolysat von Enniatin aus *F. sambucinum* Fuck. (Stamm ETH. 4620) liessen sich neben wenig N-Methyl-valin ungefähr gleiche Mengen N-Methyl-leucin und N-Methyl-isoleucin nachweisen (Nr. 8, Tab. 3). Dieser Stamm produzierte demnach prozentual am meisten von dem hypothetischen Enniatin C.

Die Hydrolysenlösung von Lateritiin-I ergab im Papierchromatogramm (Nr. 8, Tab. 3) 4 Flecke von ungefähr gleicher Grösse und Intensität. Drei davon konnten sicher identifiziert werden:  $R_F = 0,16$  entspricht N-Methyl-valin,  $R_F = 0,28$  N-Methyl-isoleucin und  $R_F = 0,37$  N-Methyl-leucin. Der Fleck mit  $R_F = 0,02$  scheint auf Grund seiner Position und Farbe von einer  $\alpha$ -Aminosäure hervorgerufen zu sein, die jedoch nicht identifiziert werden konnte. Dieser Befund bestätigt eindeutig unsere frühere Vermutung<sup>1)</sup>, dass das uns von Prof. Cook überlassene Präparat von Lateritiin-I ein Gemisch darstellt.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass die bearbeiteten Fusarien Enniatin A, Enniatin B und vermutlich ein mit Enniatin A isomeres

<sup>1)</sup> Pl. A. Plattner und U. Nager, Helv. **31**, 665 (1948). Vgl. dazu: Note added in proof der Mitteilung in Nature, **162**, 61 (1948) von Cook und Mitarbeitern.

Enniatin C produzieren können. Daneben ist allerdings auch die Möglichkeit der Existenz von Enniatinen, die zwei verschiedene N-Methyl-aminosäuren im Molekül enthalten, nicht auszuschliessen.

Für die Durchführung dieser Arbeit konnten Mittel aus den Eidg. Arbeitsbeschäftigungskrediten verwendet werden. Wir danken ferner der CIBA Aktiengesellschaft in Basel für ihre Unterstützung.

### Experimenteller Teil<sup>1)</sup>.

Herstellung der Lösungsmittel. Tert.-Amylalkohol (Sdp. 99—100°) und sec.-Butanol (Sdp. 95,3—95,5°) wurden mit einer 30 cm langen Widmer-Kolonnen destilliert. Das verwendete Collidin (*Schweiz. Teerfabrik*, Pratteln) war ein Gemisch basischer Destillate des Steinkohlenteers. Es wurde nach *Consden*<sup>2)</sup> durch Behandlung mit Brom gereinigt und im Vakuum fraktioniert destilliert. Verwendet wurden bei 62—67° und 17 mm übergelassene Anteile. Das s-Collidin (*Light and Co. Ltd.*) war ebenfalls nach *Consden* behandelt und anschliessend im Vakuum destilliert. Sdp.<sub>14 mm</sub> 62°.

Ausführung der Papierchromatogramme. Die zur optimalen Trennung der N-Methyl-aminosäuren angestellten Parallelversuche mit verschiedenen Lösungsmitteln wurden in Akkumulatorenzellen (21 × 8 × 27 cm) ausgeführt. Die Tröge, die die Lösungen für die mobile Phase enthielten, waren aus Pyrex-Rohr nach *Longenecker*<sup>3)</sup> hergestellt und ruhten im Gefäss auf einem Gestell aus Pyrex-Glasstäben. Die Chromatogramme dauerten bei 16—18° Raumtemperatur je nach Lösungsmittel und Filtrierpapier 4—7 Stunden, wobei die Front der mobilen Phase 15—20 cm zurücklegte. Bei den Versuchen mit Collidin und Benzylalkohol wurden den Lösungen im unteren Teil des Gefässes 0,2% Diäthylamin zugesetzt. Das Filtrierpapier trocknete man im Vakuumtrockenschrank bei 80°, während 10 Minuten (Amylenhydrat, sec. Butanol) bzw. 30 Minuten (Collidin, Benzylalkohol).

Die Färbungen mit Ninhydrin wurden durch Bespritzen mit einer 0,2-proz. Lösung in mit Wasser gesättigtem n-Butanol und anschliessende Behandlung bei 80—90° (10 Minuten) hergestellt. Zur Erzeugung der Farbreaktion nach *Waser-Edlbacher* verwendete man eine 0,2-proz. Lösung von p-Nitrobenzoylchlorid in absolutem Benzol.

Untersuchungen an Enniatinen aus verschiedenen Fusarienstämmen.

*Fusarium* Stamm ETH. 1524. 20 mg eines analysierten Präparates<sup>4)</sup> hydrolysierte man mit 0,8 cm<sup>3</sup> konstant siedender Salzsäure in einer beidseitig ausgezogenen und abgeschmolzenen Pipette während 24 Stunden bei 110—120°. Anschliessend wurde das Hydrolysat quantitativ auf einen Alkathen-Streifen<sup>5)</sup> gebracht und die überschüssige Salzsäure über Kaliumhydroxyd im Vakuum entfernt. Den auf dem Kunstharz-Streifen zurückgebliebenen Rückstand nahm man in 1 cm<sup>3</sup> Wasser auf und verwendete davon 3 mm<sup>3</sup> für ein Papierchromatogramm.

Ganz analog behandelte man ferner eine Probe aus *Fusarium* Stamm ETH. 1574<sup>4)</sup>, die aus Mutterlaugen der Umkrystallisation von Enniatin B erhalten wurde.

*Fusarium* Stamm ETH. 1536. 200 mg eines Analysenpräparates<sup>4)</sup> wurden mit 10 cm<sup>3</sup> konstant siedender Salzsäure 24 Stunden am Rückfluss gekocht, der Rückstand nach dem Entfernen der Salzsäure in wenig Wasser aufgenommen und während 3 Stunden im *Kutscher-Steudel*-Apparat mit Äther extrahiert. Aus dem Extrakt erhielt man durch Sublimation 85 mg D- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure vom Smp. 69—69,5°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21,5} = -21,2^{\circ} \quad (c = 2,034 \text{ in Chloroform})$$

3,922 mg Subst. gaben 7,300 mg CO<sub>2</sub> und 3,044 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 50,83 H 8,53% Gef. C 50,79 H 8,68%

<sup>1)</sup> Sämtliche Schmelzpunkte sind korrigiert und die spez. Drehungen in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

<sup>2)</sup> R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, *Biochem. J.* **41**, 595 (1947).

<sup>3)</sup> W. H. Longenecker, *Science* **107**, 23 (1948).

<sup>4)</sup> Vgl. *Helv.* **31**, 594 (1948).

<sup>5)</sup> Vgl. R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, *Biochem. J.* **41**, 590 (1947).

*Fusarium* Stamm ETH. 4057. Die aktive Verbindung konnte nach den üblichen Methoden für Enniatin A<sup>1)</sup> aus dem Mycel dieses Stammes isoliert werden. Durch Chromatographie an Aluminiumoxyd und wiederholtes Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser wurde sie weiter gereinigt. Ein bei 55° während 14 Stunden im Hochvakuum getrocknetes Präparat<sup>2)</sup> schmolz bei 122° und gab folgende Analyse.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -94,1^{\circ} \quad (c = 1,095 \text{ in Chloroform})$$

3,944 mg Subst. gaben 9,158 mg CO<sub>2</sub> und 3,246 mg H<sub>2</sub>O

3,122 mg Subst. gaben 0,173 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (18°, 726 mm)

C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 63,41 H 9,31 N 6,16% Gef. C 63,37 H 9,21 N 6,21%

Aus dem salzsauren Hydrolysat von 100 mg des obigen Präparates erhielt man durch Extraktion mit Äther und Sublimation im Hochvakuum 35 mg D- $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure vom Smp. 68—68,5°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{21,5} = -18,1^{\circ} \quad (c = 2,095 \text{ in Chloroform})$$

3,756 mg Subst. gaben 7,032 mg CO<sub>2</sub> und 2,846 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 50,83 H 8,53% Gef. C 51,09 H 8,48%

*Fusarium* Stamm ETH. 4620. Auf modifizierter Nährlösung nach *Czapek-Dox* mit Wattezusatz bei 27° gezüchtet (30 Tage), lieferte dieser Stamm eine aktive Verbindung, die sich nach den gleichen Methoden wie Enniatin A isolieren und reinigen liess. Ein dreimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiertes Präparat wurde vor der Analyse 18 Stunden bei 75° und 0,001 mm getrocknet. Smp. 123,5°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -83,4^{\circ} \quad (c = 1,162 \text{ in Chloroform})$$

3,728 mg Subst. gaben 8,620 mg CO<sub>2</sub> und 2,920 mg H<sub>2</sub>O

4,288 mg Subst. gaben 0,244 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 728 mm)

C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 63,41 H 9,31 N 6,16%

C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> „ „ 61,94 „ 8,98 „ 6,57%

Gef. „ 63,10 „ 8,76 „ 6,30%

Nach den unter *Fusarium* Stamm ETH. 1524 gemachten Angaben verwendete man 20 mg dieses Präparates zur Herstellung eines salzsauren Hydrolysates.

Die Hydrolyse von ca. 100  $\gamma$  Lateritiin-I war gleichzeitig und unter analogen Bedingungen wie die Hydrolysate der Enniatine aus den oben erwähnten Fusarienstämmen ausgeführt worden.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

### Zusammenfassung

Es wurde das Verhalten von Sarkosin und den N-Monomethyl-Verbindungen von Valin, Leucin und Isoleucin im Papierchromatogramm nach *Consden* untersucht. Diese N-Methyl- $\alpha$ -aminosäuren lassen sich bei geeigneter Versuchsanordnung leicht trennen und neben  $\alpha$ -Aminosäuren selektiv nachweisen. In Anwendung dieser Ergebnisse wurde eine rasche Methode zur Untersuchung von Enniatin-Präparaten entwickelt. Die Analyse der aktiven Fraktionen von 7 verschiedenen Fusarienstämmen zeigte, dass einige derselben neben Enniatin A und B wahrscheinlich ein mit Enniatin A isomeres Enniatin C produzieren.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

<sup>1)</sup> Vgl. Helv. 31, 594 (1948).

<sup>2)</sup> Hergestellt von Dr. Bruno C. Engel.