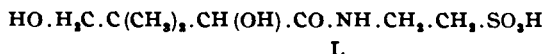


**214. Richard Kuhn, Theodor Wieland und Ernst Friedrich Möller: Synthese des  $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl-buteryl]-taurins, eines spezifischen Hemmstoffes für Milchsäurebakterien.**

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie u. Institut für Biologie.]

(Eingegangen am 29. Juli 1941.)

Während die Aminoäthancarbonsäure  $H_2N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO_2H$ , das  $\beta$ -Alanin, erst 1908 von R. Engeland<sup>1)</sup> in der Natur aufgefunden und 1938 von R. J. Williams<sup>2)</sup> als Spaltstück des Vitamins Pantothen säure erkannt wurde, ist die Aminoäthansulfonsäure  $H_2N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot SO_3H$ , das Taurin, schon 1827 von F. Tiedemann und L. Gmelin<sup>3)</sup> in Heidelberg, anlässlich ihrer Untersuchungen über die Verdauung, aus Galle isoliert und in der Folgezeit als im Tierreich weit verbreiteter Naturstoff erkannt worden. Es war daher von Interesse, eine Verbindung künstlich aufzubauen, die sich von der Pantothen säure durch Ersatz des  $\beta$ -Alanin-Restes gegen denjenigen des Taurins ableitet, und deren biologische Eigenschaften kennenzulernen. Nachdem sichergestellt ist, daß  $\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacton und  $\beta$ -Alanin unter biologischen Bedingungen, nämlich unter dem Einfluß eines Präparates aus verarmten Hefezellen, sich zu Pantothen säure vereinigen<sup>4)</sup>, wird man es nicht für ausgeschlossen halten, daß in taurinhaltigen Zellen auch das S-Analogon der Pantothen säure (I) auftreten kann.



Durch Kondensation des linksdrehenden  $\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolactons mit Taurinnatrium<sup>5)</sup> erhielten wir ein rechtsdrehendes  $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl-buteryl-*taurin* (I), dessen Chininsalz<sup>6)</sup> farblose Nadeln vom Schmp. 160—162° und  $[\alpha]_D^{25}$ : -76,2° darstellt. Aus dem rechtsdrehenden Lacton gewannen wir auf dieselbe Art die linksdrehende Sulfonsäure (II), deren Chininsalz in farblosen Nadeln vom Schmp. 179—179,5° und  $[\alpha]_D^{25}$ : -99,4° kristallisiert.

Bei der Prüfung der Natriumsalze an *Streptobacterium plantarum* Orla-Jensen hat sich ergeben, daß die der Pantothen säure entsprechende Sulfonsäure (I) eine dem natürlichen Vitamin entgegengesetzte Wirkung ausübt. Verfolgt man das Wachstum der Bakterien bei konstanter Konzentration an Pantothen säure (0,05  $\gamma$ (+)-Säure/ccm Nährlösung) und steigenden Mengen von rechts- und linksdrehendem  $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl-buteryl-*taurin* (Abbild. 1), so findet man, daß von der (+)-Sulfonsäure ~100  $\gamma$ /ccm genügen, um 48 Stdn. bei 28° das Wachstum der eingepflichten Bakterienmenge vollständig zu unterdrücken. Von der (-)-Sulfonsäure sind mehr als 3500  $\gamma$ /ccm erforderlich, um denselben Effekt zu erreichen. Betrachtet man

<sup>1)</sup> Ztschr. Unters. Nahr.- u. Genußmittel **16**, 658 [1908].

<sup>2)</sup> H. H. Mitchell u. R. J. Williams, Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2723 [1938].

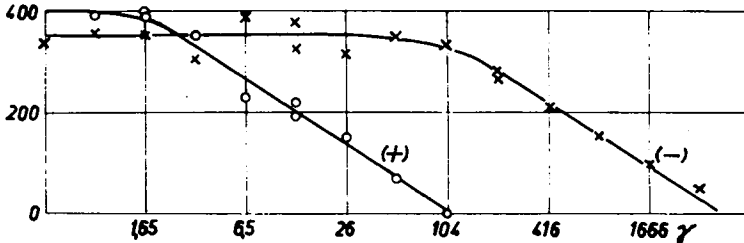
<sup>3)</sup> Ann. Physik u. Chem. **9**, 326 [1827]; erstmals erwähnt in: „Die Verdauung nach Versuchen von F. Tiedemann u. L. Gmelin, I.“ (1826).

<sup>4)</sup> Th. Wieland u. E. F. Möller, Ztschr. physiol. Chem. **269**, 227 [1941].

<sup>5)</sup> Vergl. die entsprechende Kondensation mit  $\beta$ -Alaninnatrium, S. H. Babcock jr. u. T. H. Jukes, Journ. Amer. chem. Soc. **62**, 1628 [1940].

<sup>6)</sup> Vergl. das Chininsalz der Pantothen säure, R. Kuhn u. Th. Wieland, B. **78**, 971, 1134 [1940].

die Gebiete des linearen Abfalls in Abbild. 1, so erkennt man, daß die (+)-Sulfonsäure um 5 Zweierpotenzen, d. h. 32-mal stärker hemmt als die (—)-Säure.



Abbild. 1. Hemmung des Wachstums von *Streptobacterium plantarum* durch die rechts- und links-drehende Sulfonsäure I.

Ordinaten: Ablesung an der Extinktions-Skala des Lange-Photometers (Skalenteile  $\times$  1000).

Abszissen:  $\gamma$  Sulfonsäure I je ccm Nährlösung.

—O—O— Rechtsdrehende Sulfonsäure. —X—X— Linksdrehende Sulfonsäure.

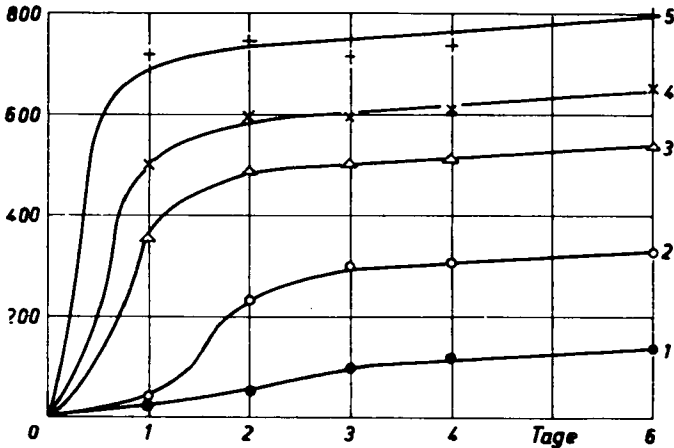
Da das (+)-Lacton, von dem wir bei der Synthese ausgingen, nicht ganz optisch rein war und etwa 1.5% (—)-Lacton enthielt ( $[\alpha]_D$ : +49.3<sup>0</sup> statt +50.7<sup>0</sup>), ist damit zu rechnen, daß die (—)-Sulfonsäure etwas vom Antipoden enthielt, und daß sie in reiner Form ohne hemmende Wirkung sein wird. Damit ergibt sich das folgende Bild:

(+)-Carbonsäure . . . . .	Wuchsstoff	(+)-Sulfonsäure . . . . .	Hemmstoff
(—)-Carbonsäure . . . . .	unwirksam	(—)-Sulfonsäure . . . . .	unwirksam

Mit steigender Versuchsdauer nimmt die hemmende Wirkung der rechts-drehenden Sulfonsäure allmählich ab (Abbild. 2). Es ist naheliegend, daran zu denken, daß dabei entweder das Antivitamin gespalten oder zu einer vitaminwirksamen Verbindung umacyliert wird. Auch ist es unter den herrschenden Bedingungen nicht ausgeschlossen, daß die Bakterien zur Synthese von Pantothenensäure angeregt werden, zu der sie sonst nicht befähigt sind. Unter normalen Bedingungen läßt sich die Pantothenensäure im Streptobakterien-Test nicht ersetzen durch ein Gemisch von  $\beta$ -Alanin und *d,l*- $\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacton, auch wenn man sehr hohe Konzentrationen anwendet. Die durch das rechtsdrehende Acyltaurin gehemmten Bakterien können aber durch  $\beta$ -Alanin (0.25%), besser noch durch ein Gemisch mit  $\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacton, wieder zum Wachstum, wenn auch nicht zu optimalem, gebracht werden.

Durch Taurin  $H_3N^+.CH_2.CH_2.SO_3^-$  und durch Taurobetain  $(H_3C)_3N^+.CH_2.CH_2.SO_3^-$  läßt sich auch in Konzentrationen bis zu 0.1% das Wachstum der Milchsäurebakterien nicht hemmen. (+)-Pantothenensäure hebt die durch (+)-Sulfonsäure bewirkte Hemmung auf. Aus Abbild. 3

ist ersichtlich, daß selbst bei Anwendung verhältnismäßig großer Mengen des Antivitamins optimales Wachstum erzielt werden kann, wenn man nur die Mengen an Vitamin ebenfalls genügend steigert.



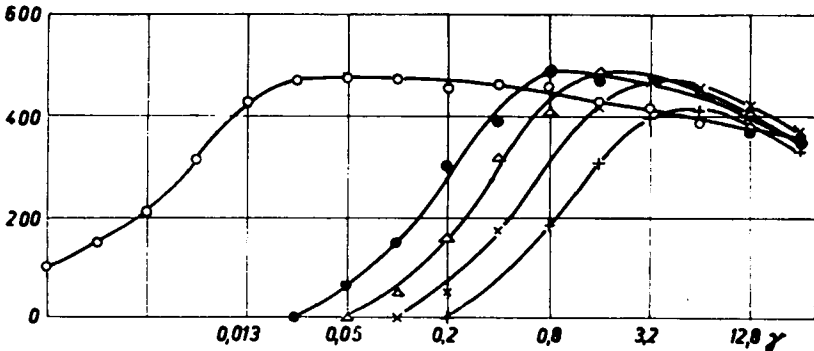
Abbild. 2. Abnahme der Hemmung mit steigender Versuchsdauer.

Ordinaten: Ablesung an der Extinktions-Skala des Lange-Photometers (Skalenteile  $\times$  1000).

Abzissen: Zeit nach der Beimpfung.

In jedem Röhrchen 167  $\gamma$  Natriumsalz der *d,l*-Sulfonsäure I je ccm; Nährlösung nach B. 73, 965 [1940].

Kurve 1: 0.025  $\gamma$ , Kurve 2: 0.05  $\gamma$ , Kurve 3: 0.10  $\gamma$ , Kurve 4: 0.20  $\gamma$ , Kurve 5: 0.40  $\gamma$  (+)-Pantothensäure als Bariumsals je ccm Nährlösung.



-○-○- Ohne Zusatz

-●-●- 52  $\gamma$  (+)-Sulfonsäure I je ccm Nährlösung

-△-△- 104  $\gamma$  „ „ „ „

-×-×- 208  $\gamma$  „ „ „ „

-+-+- 416  $\gamma$  „ „ „ „

Abbild. 3. Aufhebung der Hemmung durch (+)-Pantothensäure.

Ordinaten: Ablesung an der Extinktions-Skala des Lange-Photometers (Skalenteile  $\times$  1000).

Abzissen:  $\gamma$  (+)-Pantothensäure als Bariumsals je ccm Nährlösung.

Eingehend haben wir geprüft, ob nicht an Stelle der Pantothensäure auch andere Vitamine und Wuchsstoffe die durch die (+)-Sulfonsäure bewirkte Hemmung aufzuheben vermögen. Alle diesbezüglichen Versuche sind, wenn man von der bereits erwähnten Wirksamkeit des  $\beta$ -Alanins absieht, völlig ergebnislos geblieben. Es zeigt sich, daß nicht nur die Hemmung durch die Sulfonsäure, sondern auch die Enthemmung durch die Carbonsäure höchst spezifisch ist. In der folgenden Tafel ist angegeben, bis zu welchen Konzentrationen die einzelnen Wirkstoffe im Enthemmungs-Test geprüft und als unwirksam befunden wurden, wobei zum Vergleich auch diejenigen Konzentrationen angegeben werden, die das *Streptobacterium plantarum* für optimales Wachstum benötigt.

Substanz	Für optimales Wachstum nötig	Im Enthemmungs-Test unwirksam bis
Aneurinchloridhydrochlorid ..	$0.5 \times 10^{-8}$ g/ccm	$2.5 \times 10^{-4}$ g/ccm
Lactoflavin .....	nicht nötig	$3 \times 10^{-6}$ „
Adermin-hydrochlorid .....	$2 \times 10^{-6}$ g/ccm	$6 \times 10^{-4}$ „
Nicotinsäure .....	$\sim 10^{-7}$ g/ccm	$2.5 \times 10^{-3}$ „
p-Aminobenzoessäure .....	$10^{-9}$ bis $10^{-11}$	$1.5 \times 10^{-5}$ „
Biotin .....	$1 \times 10^{-9}$ g/ccm	$4 \times 10^{-5}$ „
Inosit .....	nicht nötig	$2.5 \times 10^{-3}$ „
Ascorbinsäure .....	nicht nötig	$2.5 \times 10^{-3}$ „
Uracil .....	nicht nötig	$5 \times 10^{-4}$ „
Adeninsulfat .....	$6 \times 10^{-5}$ g/ccm	$1.5 \times 10^{-4}$ „

Ohne jede enthemmende Wirkung waren ferner bis zu der maximal geprüften Konzentration von  $2.5 \times 10^{-3}$  g/ccm: Glykokoll, Alanin, Asparaginsäure, Asparagin, Glutamin; bis zu  $10^{-3}$  g/ccm: Cholin, Leucin, Isoleucin, Valin, Lysin, Phenylalanin, Prolin, Oxyprolin; bis zu  $5 \times 10^{-4}$  g/ccm: Pimelinsäure, Sebacinsäure,  $\beta$ -Indolyl-essigsäure, Methionin, Threonin, Arginin, Histidin, Tyrosin, Tryptophan; bis zu  $0.5 \times 10^{-6}$  g/ccm: Xanthin, Hypoxanthin, Guanin, Allantoin, Thyminsäure, Cytidin-phosphorsäure; Ergosterin, Östron; Quercetin, Maclurin, Morin und Thiochrom ( $10^{-6}$  g/ccm).

Vitamin und Antivitamin konkurrieren offenbar um ein und denselben Träger in der Zelle. Erst durch Vereinigung mit diesem Träger wird das Vitamin wirksam. Die Sulfonsäure, deren chemischer Bau dem der Carbonsäure ähnlich ist, vermag den Platz der letztgenannten einzunehmen und das Vitamin bei genügend hoher Konzentration vom Träger zu verdrängen. Die Sulfonsäure kann aber, auch nach Bindung an den Träger, die Funktion der Carbonsäure in der Zelle nicht erfüllen. Deshalb wirkt sie als Hemmstoff.

Die Übernahme des Platzes ohne Übernahme der physiologischen Funktion ist das Entscheidende. Bei den zahlreichen, synthetisch dargestellten Verwandten des Aneurins, Lactoflavins, Adermins, der Nicotinsäure usw. ist, soweit diese Stoffe noch Vitamin-Wirksamkeit zeigen, ersichtlich, daß sie durch Reaktion mit den jeweiligen spezifischen Trägern nicht nur den Platz der betreffenden natürlichen Vitamine in der Zelle, sondern auch bis zu einem gewissen Grade deren Funktion als Bausteine von Fermenten übernehmen. Die synthetisch erhaltenen Verbindungen, die trotz Ähnlichkeit der chemischen Konstitution im üblichen Vitamin-Test unwirksam waren, blieben meist unbeachtet liegen. Die jetzt vorliegenden Erfahrungen machen es

nötig, solche Verbindungen nicht nur als „Ersatzstoffe“, sondern auch als „Gegenstoffe“ der Vitamine zu prüfen. Die spezifische Ausschaltung einzelner Vitamine auf dem beschriebenen Wege verspricht nicht nur bei Mikroorganismen, sondern auch bei höheren Tieren Einblicke in die Wirkungsweise der Vitamine. Bei denjenigen Vitaminen der B-Gruppe, die sich bereits bestimmten Fermenten zuordnen lassen, besteht überdies die Möglichkeit, im zellfreien System Hemmungs- und Enthemmungs-Versuche anzustellen. Besonders wertvoll erscheint die Möglichkeit durch spezifische Hemmung ausfindig zu machen, ob Vitamine, von denen man noch nichts über den Wirkungsmechanismus weiß, an dieser oder jener Fermentreaktion beteiligt sind.

Für die Verdrängungsreaktion



läßt sich aus den Kurven der Abbild. 3 die Gleichgewichtskonstante

$$K_v = \frac{[C.Tr] \times [S]}{[S.Tr] \times [C]} \dots\dots\dots (2)$$

unter vereinfachenden Annahmen berechnen. Hierbei bedeutet [C.Tr] die Konzentration der aktiven Verbindung Carbonsäure-Träger, [S.Tr] diejenige der inaktiven Sulfonsäure-Träger-Verbindung, [S] die Konzentration an freier Sulfonsäure, [C] diejenige an freier Carbonsäure. Es sei angenommen, daß die Trübungswerte (Ausschläge am Lange-Photometer) ein Maß für die an den Träger gebundene Carbonsäure, also in erster Näherung [C.Tr] proportional sind. Unter dieser Voraussetzung ist für diejenigen Kurvenpunkte, deren Ordinaten  $\frac{1}{2}$  der maximalen Ordinaten betragen, der Träger zu 50% mit Carbonsäure und zu 50% mit Sulfonsäure belegt. Für diese Punkte gilt also [C.Tr] = [S.Tr], so daß  $K_v = [S]/[C]$  wird. Da in dem fraglichen Gebiet C bereits in großem Überschuß über Tr vorliegt und der Überschuß an S noch größer ist, darf man  $[S]_{frei} = [S]_{gesamt}$  und  $[C]_{frei} = [C]_{gesamt}$  setzen. Die Gleichgewichtskonstante der Verdrängungsreaktion wird damit  $K_v = [S]/[C]$ . Durch Einsetzen der aus Abbild. 3 ablesbaren Werte findet man

$$K_v = [S]/[C] = 380 \text{ (Mittelwert)} \dots\dots\dots (3)$$

Kurve	bei 50% der max. Wirkung		$K_v$
—●—●—	[S] = 52 $\gamma$ /ccm	[C] = 0.163 $\gamma$ /ccm	320
— $\Delta$ — $\Delta$ —	[S] = 104 $\gamma$ /ccm	[C] = 0.282 $\gamma$ /ccm	370
—x—x—x—	[S] = 208 $\gamma$ /ccm	[C] = 0.528 $\gamma$ /ccm	394
—+—+—+—	[S] = 416 $\gamma$ /ccm	[C] = 1.06 $\gamma$ /ccm	392

Die angenommene Verdrängungsreaktion gehorcht danach recht gut dem Massenwirkungsgesetz.

Aus derjenigen Kurve von Abbild. 3, die ohne S-Zusatz erhalten wurde, läßt sich unter den oben gemachten Voraussetzungen auch die Dissoziationskonstante  $K_C$  der Träger-Carbonsäure-Verbindung ermitteln. Durch Ablesen bei 50% der max. Wirkung und Umrechnung von  $\gamma$ /ccm auf Mol/l ergibt sich:

$$K_C = \frac{[C] \times [Tr]}{[C.Tr]} = 2 \times 10^{-8} \dots\dots\dots (4)$$

Für die Dissoziationskonstante  $K_S$  der Sulfonsäure-Träger-Verbindung folgt in entsprechender Weise:

$$K_S = \frac{[S] \times [Tr]}{[S.Tr]} = 7.6 \times 10^{-8} \dots\dots\dots (5)$$

Die so ermittelten Dissoziationskonstanten liegen denjenigen nahe, die sich an zellfreien Fermentsystemen, z. B. für das aus freiem Lactoflavin und dem Träger des alten gelben Ferments erhältliche Enzym<sup>7)</sup> oder für die  $\alpha$ -Aminosäure-oxydase<sup>8)</sup> ergeben haben:

$$K_L = \frac{[\text{Lactoflavin}] \times [\text{Protein}]}{[\text{Lactoflavin} \dots \text{Protein}]} = 3.3 \times 10^{-6}$$

$$K_A = \frac{[\text{Dinucl.}] \times [\text{Protein O}_2\text{-}\alpha\text{-Alanin}]}{[\text{Dinucl.} \dots \text{Protein O}_2\text{-}\alpha\text{-Alanin}]} = 2.5 \times 10^{-7}$$

Die enthemmende Wirkung der Pantothensäure auf die mit der Sulfonsäure I versetzten Milchsäure-Bakterien ist ein Gegenstück zur Aufhebung der Wirkung zahlreicher Sulfonamide durch *p*-Amino-benzoessäure<sup>9)</sup>. An dem von uns verwendeten *Streptobacterium plantarum* läßt sich nach E. F. Möller und K. Schwarz<sup>10)</sup> auch die *p*-Amino-benzoessäure gegen Sulfanilsäure quantitativ biologisch bestimmen. Hier wie dort handelt es sich um die Konkurrenz zwischen einer Sulfonsäure und einer Carbonsäure.

### Beschreibung der Versuche.

#### 1) Rechtsdrehendes [ $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl-butryl]-taurin.

2.6 g linksdrehendes  $\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacton ( $[\alpha]_D^{25}$ : -49.1° in Methanol) wurden in eine Lösung von Taurinnatrium, die aus 0.46 g Natrium in 20 ccm Methanol und 2.2 g Taurin dargestellt war, eingetragen. Das Reaktionsgemisch blieb 60 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Hierauf wurde das Lösungsmittel im Vak. verdampft, der Rückstand in 50 ccm Wasser aufgenommen und mit einigen Tropfen verd. Salzsäure genau gegen Lackmus neutralisiert. Diese Lösung ließen wir durch eine Säule von 200 g Aluminiumoxyd (3 cm Durchmesser), das mit Salzsäure vorbehandelt war<sup>11)</sup>, laufen. Dann wurde mit 500 ccm Wasser nicht in Reaktion getretenes Taurin ausgewaschen. Um das farblose Chromatogramm in die gewünschten Zonen zu zerlegen, wurde die Säule möglichst zusammenhängend aus dem Rohr gestoßen. In verschiedener Höhe entnommene Proben wurden in Reagensgläsern in Wasser aufgeschlämmt und mit 1 Tropfen Reagens nach Berg<sup>12)</sup> versetzt (Darstellung: 5 ccm EisenIII-chloridlösung DAB 6 (10% Fe) + 0.5 ccm 70-proz. Perchlorsäure + 5 ccm 2-n. Salzsäure + Wasser ad 200 ccm). Die Proben aus dem oberen Teil, der etwa  $\frac{1}{5}$  der Säule ausmachte, gaben intensiv goldgelbe Färbung wie  $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethylbuttersäure. In diesem Teil des Chromatogramms hatte sich offenbar die

<sup>7)</sup> R. Kuhn, Réunion internat. Physique-Chimie-Biologie, Paris 1937, Hermann & Co, S. 339.

<sup>8)</sup> E. Negelein u. H. Brömel, Biochem. Ztschr. **300**, 225 [1939]; dort weitere Werte.

<sup>9)</sup> D. D. Woods u. P. Fildes, 207th Meet. Biochem. Soc. Univ. Sheffield, Febr. 17 [1940]; Chem. Ind. **59**, 133 [1940]; D. D. Woods, Brit. Journ. exp. Pathol. **21**, 74 [1940]; S. D. Rubbo u. J. M. Gillespie, Nature [London] **146**, 838 [1940]; P. Fildes, Lancet **238**, 955 [1940].

<sup>10)</sup> B. **74**, 1612 [1941].

<sup>11)</sup> R. Kuhn u. Th. Wieland, B. **73**, 962 [1940].

<sup>12)</sup> Bull. Soc. chim. France [3] **11**, 883 [1894].

aus dem Lacton entstandene, nicht in Reaktion getretene Oxysäure angesammelt. Im unteren Teil der Säule, der keine Reaktion nach Berg gibt, findet sich das gesuchte Acyltaurin. Zur Elution rührt man mit Wasser an, füllt den Brei in ein neues Chromatogramm-Rohr und eluiert mit gesättigtem Barytwasser, bis ein am Ablaufrohr mit Gummiring befestigter Streifen von rotem Lackmuspapier eben anfängt rein blau zu werden.

Zunächst wird nun im Vak. auf 50 ccm eingeeengt und das aus der sauren Säule stammende Chlor-Ion mit der eben erforderlichen Menge einer wäbr. Lösung von Silber-pyridin-sulfat ausgefällt (Darstellung: 10 g Silbersulfat + 10 ccm Pyridin gut verreiben und in 50 ccm Wasser lösen). Nach Abzentrifugieren des Chlorsilbers liegt eine pyridinhaltige Lösung des Bariumsalzes vor, die man bei etwa 50° mit der eben erforderlichen Menge von Chininsulfat (2 Chinin, 1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) versetzt.

Um das Alkaloidsalz in krystallisierter Form zu gewinnen, verdampft man im Vak. zum dicken Sirup und löst diesen in etwas siedendem Aceton. Dann gibt man noch mehr heißes Aceton zu (insgesamt etwa 50 ccm), wobei noch kein flockiger Niederschlag auftreten darf. Über Nacht scheidet sich das Chininsalz in feinen farblosen Nadeln ab (3,0 g), die zur Analyse über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bei 100° (15-mm) getrocknet wurden. Schmp. 160—162°.

3.850 mg Sbst.: 8.125 mg CO<sub>2</sub>, 2.615 mg H<sub>2</sub>O. — 5.025 mg Sbst.: 0.311 ccm N<sub>2</sub> (25°, 755 mm). — 5.172 mg Sbst.: 2.235 mg BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>S (579.2). Ber. C 58.01, H 7.13, N 7.25, S 5.54.  
Gef. „ 57.56, „ 7.60, „ 7.60, „ 5.94.

Versuche, das Chininsalz aus Aceton, Methyläthylketon, Essigester und Amylacetat umzukrystallisieren, verliefen nicht sehr befriedigend.

$[\alpha]_D^{25}$ : (—3.81° × 100) : (5.00 × 1) = —76.2° (Wasser).

0.50 g Chininsalz wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit 2-n. Natronlauge versetzt bis Phenolphthaleinpapier gerötet wurde. Nach dem Ausschütteln der Base mit Chloroform und mit Äther kam die Lösung des Natriumsalzes zum Test. Diese Lösung enthielt 0.685 mg N/1 ccm und drehte im 1-dm-Rohr + 0.29°. Daraus berechnet sich für das Drehungsvermögen des Anions des  $\alpha,\gamma$ -Dioxy- $\beta,\beta$ -dimethyl-butryl-taurins

$[\alpha]_D^{25}$ : (+0.29° × 100) : (1.248 × 1) = +23.2° (Wasser).

## 2) Linksdrehendes [ $\alpha,\gamma$ -Dioxy- $\beta,\beta$ -dimethyl-butryl]-taurin.

2.6 g rechtsdrehendes  $\alpha$ -Oxy- $\beta,\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacton ( $[\alpha]_D^{25}$ : +49.3° in Methanol) lieferten auf dem für den optischen Antipoden angegebenen Wege 3.0 g Chininsalz in Form farbloser feiner Nadeln vom Schmp. 179°—179.5°.

3.875 mg Sbst.: 8.160 mg CO<sub>2</sub>, 2.565 mg H<sub>2</sub>O. — 3.100 mg Sbst.: 0.206 ccm N<sub>2</sub> (25°, 756 mm).

C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>S (579.2). Ber. C 58.01, H 7.13, N 7.25.  
Gef. „ 57.72, „ 7.41, N 7.57.

$[\alpha]_D^{25}$ : (—4.95° × 100) : (4.97 × 1) = —99.4° (Wasser).

Für das Anion des daraus gewonnenen Natriumsalzes fanden wir:

$$[\alpha]_D^{20}: (-0.32^\circ \times 100) : (1.237 \times 1) = -25.3^\circ \text{ (Wasser).}$$

### 3) Biologische Wirksamkeit.

a) Hemmungsversuche: Die Nährlösung, in der das *Streptobacterium plantarum* Orla-Jensen (Stamm 10 S) wuchs, hatte die von R. Kuhn und Th. Wieland<sup>13)</sup> angegebene Zusammensetzung. An Stelle der Vitamin-Fraktion aus Thunfischleber enthielt jedoch 1 ccm der Nährlösung 0.033 ccm eines Biotin-Konzentrats aus Hefe, für dessen Überlassung wir Hrn. Dr. K. Schwarz danken, + 0.017 ccm einer Lösung von *p*-Amino-benzoessäure 1 : 1 000 000. Überdies wurde die sicher optimale Menge von (+)-Pantothensäure (0.025  $\gamma$ /ccm Nährlösung) als Bariumsalz zugesetzt. Diesem Medium wurden steigende Mengen der Acyltaurine als Natriumsalz zugefügt. Beimpft wurde mit Platinösen aus einer Reinkultur in dem eben angegebenen Grundmedium. Das Wachstum wurde nach 2 Tagen lichtelektrisch gemessen<sup>14)</sup>.

b) Enthemmungsversuche: Die Pantothensäure wurde aus der Nährlösung weggelassen. Bei jeder geprüften Konzentration des rechtsdrehenden Acyltaurins gaben wir in einem großen Bereich nach 2er-Potenzen gestaffelte Mengen von rechtsdrehendem, pantothensaurem Barium zu.

## 215. Ernst Friedrich Möller und Klaus Schwarz: Der Wuchsstoff H', ein Antagonist der Sulfanilamide, bei *Streptobacterium plantarum* (Orla-Jensen); Wachstum von *Streptobacterium plantarum* in Nährlösungen aus chemisch genau definierten Verbindungen.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Biologie u. Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 7. August 1941.)

Die Milchsäurebakterien gehören hinsichtlich ihrer Ernährung zu den anspruchsvollsten Bakterien, sie sind in mancher Beziehung sogar anspruchsvoller als der Mensch und die höheren Tiere<sup>1)</sup>. Neben Salzen und einem vergärbaren Kohlenhydrat sind nicht nur eine große Anzahl von Aminosäuren, sondern auch viele Wuchsstoffe zum Wachstum unerlässlich. Bis jetzt sind folgende Wuchsstoffe mit Sicherheit als unbedingt notwendig erkannt: Lactoflavin<sup>1)</sup>, Adermin<sup>2)</sup>, Nicotinsäure<sup>3)</sup>, Panthothensäure<sup>3)</sup>, Adenin<sup>4)</sup> und Biotin<sup>4)</sup>.

<sup>13)</sup> B. 78, 965 [1940].

<sup>14)</sup> Vergl. E. F. Möller, Ztschr. physiol. Chem. 254, 285 [1938]; 260, 246 [1939].

<sup>1)</sup> S. Orla-Jensen, The Lactic Acid Bacteria, Kgl. danske Vidensk. Selsk. Skr., naturvidensk. math. Afdel. 8, V, 2 [1919].

<sup>2)</sup> E. F. Möller, Ztschr. physiol. Chem. 254, 285 [1938].

<sup>3)</sup> E. E. Snell, F. M. Strong u. W. H. Peterson, Journ. Amer. chem. Soc. 60, 2825 [1938].

<sup>4)</sup> E. F. Möller, Ztschr. physiol. Chem. 260, 246 [1939].