

174. H. v. Euler und K. Josephson: Saccharase (IV.).

[Aus d. Biochem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 7. April 1924.)

Die Methoden, deren wir uns bei der Reinigung der Hefen-Saccharase bedienen, haben, wie schon in der vorigen Mitteilung über die Saccharase¹⁾ erwähnt wurde, in mehreren Fällen zu sehr nahe übereinstimmenden Reinheitsgraden geführt. Die Reinigungsgrade waren von derselben Größenordnung, insofern als die enzymatische Aktivität, gemessen durch den Ausdruck If, bei den vorliegenden Präparaten sehr nahe dieselbe war. Wie unten gezeigt wird, hat sich auch die Elementarzusammensetzung einiger solcher Präparate als sehr gleichartig erwiesen. Unsere in verschiedener Hinsicht untersuchten Präparate von den If-Werten 220—250 scheinen also von übereinstimmender Natur zu sein.

Der If-Wert 250 kann jedenfalls keine absolute Grenze der Reinigung darstellen²⁾. Dieser Wert entspricht vielmehr etwa der Grenze, zu welcher die angewandten Methoden geführt haben. Wenn wir es auch für wahrscheinlich halten, daß andere Methoden bezüglich des Totalgehalts der Präparate an Enzym (aktiv + inaktiv) nicht viel weiter führen, so wäre es doch nicht unmöglich, durch andere Methodik zu höheren If-Werten zu gelangen, nämlich bei Anwendung solcher Methoden bei welchen die Inaktivierung des Enzyms nicht so stark ins Gewicht fällt. Bei den neuesten Untersuchungen von Willstätter und Schneider³⁾ scheint es den genannten Forschern tatsächlich gelungen zu sein, den Inaktivierungsgrad ihrer Präparate herabzudrücken. Die If-Werte ihrer Präparate zeigen somit in einigen Fällen höhere Zahlen als die unsrigen. Von verunreinigenden Bestandteilen scheinen aber diese Präparate von Willstätter und Schneider jedenfalls nicht weitgehender als die unsrigen befreit worden zu sein.

Es wurde auch früher erwähnt, daß es nach unserer gegenwärtigen Auffassung über die Wirkungsweise der Saccharase die von uns als Protein-Teil bezeichnete Komponente der Saccharase-Präparate ist, welche den schließlichen Zerfall des Substrates — Saccharose bzw. Raffinose — bewirkt, nachdem das Substrat durch Vermittlung einer spez. substratbindenden Gruppe (sp) an das Enzym angelagert ist⁴⁾. Wegen dieser, zwar rein hypothetischen Auffassung des Protein-Teils schien uns die nähere Charakterisierung des Enzym-Proteins bezüglich der kleineren Bausteine desselben von großem Interesse zu sein. Wegen der nur kleinen Mengen der hochaktiven Saccharase, welche zur Untersuchung gebracht werden konnten, haben wir uns bis jetzt auf die Ermittlung der Elementarzusammensetzung, sowie der Bestimmung einiger mikrochemisch, und zwar colorimetrisch, leicht nachweisbaren Aminosäuren beschränken müssen.

Außer den vorher erwähnten Präparaten XVa AKA, XVa AKKA und 10a AKA mit den If-Werten 242, 245 und 241 beziehen sich die folgenden Untersuchungen auch auf das Präparat XVII AKA mit If = 225. Vermutlich wegen einer ungewöhnlich starken Inaktivierung schon im Anfang des Reinigungsprozesses, nämlich bei der Alkohol-Fällung, war die Aktivität

¹⁾ Euler und Josephson, B. 57, 299 [1924].

²⁾ s. hierzu Josephson, H. (im Druck). ³⁾ H. 133, 193 [1924].

⁴⁾ Euler und Josephson, H. 133, 279, und zwar 292 ff. [1924].

dieses Präparates etwas kleiner als in den anderen Fällen. Die Elementarzusammensetzung dieses Präparates war aber nahe übereinstimmend mit den übrigen.

Analysen.

Die folgenden Elementaranalysen sind nach den Preglischen Mikromethoden ausgeführt. Die N-Bestimmungen wurden diesmal nach der Mikro-Dumas-Methode anstatt der von uns früher bei N-Analysen benutzten Mikro-Kjeldahl-Methode ausgeführt.

- If = 225. 3.073 mg Subst.: 0.087 mg Asche, 1,758 mg H₂O, 5,496 mg CO₂. — Gef. 2.83%
Asche, 6.40% H, 48.78% C. Aschen-freie Subst.: 6.59% H, 50.20% C.
- If = 241. 2.930 mg Subst.: 0.155 mg Asche, 1,645 mg H₂O, 5,057 mg CO₂. — Gef. 5.29%
Asche, 6.28% H, 47.07% C. Aschen-freie Subst.: 6.63% H, 49.70% C.
- If = 245. 3.392 mg Subst.: 0.173 mg Asche, 1,972 mg H₂O, 5,939 mg CO₂. — Gef. 5.10%
Asche, 6.51% H, 47.75% C. Aschen-freie Subst.: 6.86% H, 50.32% C.
- If = 225. 2.276 mg Subst.: 0.214 ccm N (21°, 765 mm). — Gef. 10.99% N. Aschen-freie
Subst.: 11.3%.
- If = 245. 1.602 mg Subst.: 0.163 ccm N (21°, 765 mm). — Gef. 11.89% N. Aschen-freie
Subst.: 12.5%.

Die Elementarzusammensetzungen dieser Präparate sind somit sehr ähnlich. Die Abweichungen der Zusammensetzung unser Saccharase von der Zusammensetzung der eigentlichen Eiweißkörper kann durch den Gehalt an Kohlenhydraten (nachgewiesen durch die Molischsche Reaktion), welche vielleicht als Verunreinigungen betrachtet werden müssen, erklärt werden.

Bestimmung des Tryptophan-Gehaltes der Saccharase.

Da der Nachweis des Tryptophans in Eiweißstoffen verhältnismäßig einfach ist und auch quantitativ auf colorimetrischem Wege bestimmt werden kann, haben wir die Untersuchung über die Bausteine unser Saccharase mit der Tryptophan-Bestimmung begonnen. Von den vielen hierfür anwendbaren Methoden haben wir uns der von Fürth und Nobel⁵⁾, sowie Fürth und Lieben⁶⁾ in quantitativer Hinsicht näher ausgearbeiteten Reaktion von Voisenet⁷⁾ zugewendet.

Zu den colorimetrischen Bestimmungen für diese Reaktion, sowie den unten beschriebenen colorimetrischen Untersuchungen haben wir uns des neuen Colorimeters nach Bürker, das von der Firma E. Leitz in Wetzlar hergestellt wird, bedient.

Die Versuchsmethodik bei der Tryptophan-Bestimmung haben wir in einiger Hinsicht etwas geändert, um Material zu sparen. Von der zu prüfenden Lösung wurde nämlich nur 1 ccm anstatt 2 ccm, wie Fürth angibt, angewandt. Im übrigen wurde nach den Angaben Fürths gearbeitet, also Zusatz der Nitrit-Lösung erst 10–15 Min. nach der Mischung mit der konz. Salzsäure. Das Maximum der Färbung trat dann in kurzer Zeit ein. Als Standard-Lösung diente uns eine Lösung von reinem Tryptophan (Pfanstiehl) von der Special Chemicals Company, Highland Park, Ill., dessen Gehalt an Amino-N 6.94% (theoret. 6.88%) betrug. Bei einigen Versuchen wurde allerdings nicht die Tryptophan-Lösung als Vergleichsflüssigkeit benutzt, sondern hierzu wurde eine 1-proz. Pepton-Lösung verwendet, deren Tryptophan-Gehalt genau ermittelt war. Der Tryptophan-Gehalt in Witte-Pepton wurde in sehr guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Fürth und Lieben zu 5.34% gefunden. Fürth und Lieben geben den Wert 5.27% an. E. Komm und E. Böhringer⁸⁾ fanden mit ihrer Modifikation der Methode übereinstimmend 5.3 bzw. 5.27%.

Bei sämtlichen Versuchen war die Schichtdicke der Vergleichslösung 10.0 mm. Die Schichtendecke (Mittel von 5–10 Einstellungen) der zu untersuchenden Lösung ist

⁵⁾ Bio. Z. 109, 103 [1920].

⁶⁾ Bio. Z. 109, 124 [1920].

⁷⁾ Bl. [3] 33, 1198 [1905].

⁸⁾ H. 124, 287 [1923].

im Folgenden mit a bezeichnet. Die Analysenergebnisse der verschiedenen Saccharase-Präparate sind im Folgenden mitgeteilt.

If = 225.	1.38-proz. Lösung.	Vergleichsflüssigkeit	0.1 %	Tryptophan.	a = 11.7 mm.
		Tryptophan-Gehalt:	4.93 %		
If = 225.	0.69-proz. Lösung.	Vergleichsflüssigkeit	0.05 %	Tryptophan.	a = 13.0 mm.
		Tryptophan-Gehalt:	5.58 %		
If = 241.	1.0-proz. Lösung.	Vergleichsflüssigkeit	0.05 %	Tryptophan.	a = 9.0 mm.
		Tryptophan-Gehalt:	5.56 %		
If = 241.	1.0-proz. Lösung.	Vergleichsflüssigkeit	1.00 %	Pepton.	a = 9.6 mm.
		Tryptophan-Gehalt:	5.56 %		
If = 245.	1.12-proz. Lösung.	Vergleichsflüssigkeit	0.05 %	Tryptophan.	a = 8.1 mm.
		Tryptophan-Gehalt:	5.51 %		

Zum Vergleich wurden auch mehrere Analysen von einigen gewöhnlichen Eiweißstoffen ausgeführt. Die Resultate wurden in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Substanz	% Tryptophan gef.
Casein nach Hammarsten (Merck)	1.4—1.5
Casein nach Hammarsten (Kahlbaum)	1.3—1.6
Eier-Albumin (Kahlbaum)	1.5—1.9
Serum-Albumin (Grübler)	1.5
Vitellin aus Pflanzen (Grübler)	1.9
Pepton (Witte)	5.3
Saccharase (If = 225—245)	5.5

Der Tryptophan-Gehalt des Caseins wurde niedriger als von Fürth und Nobel gefunden. Diese Forscher geben Werte zwischen 1.64 und 2.25 % an. Komm und Böhringer fanden 2.2 bzw. 2.3 % bei Anwendung ihrer Modifikation der Voisenet-Fürthschen Methode. Ältere Forscher sind im allgemeinen mit anderen Methoden zu niedrigeren Werten gekommen. Auch im Falle des Eier-Albumins fanden wir kleinere Werte als Fürth und Lieben (2.2—2.8 %). Dagegen ist, wie erwähnt, im Falle des Witte-Peptons die Übereinstimmung besonders gut.

Was die Saccharase-Präparate betrifft, so ist der hohe Tryptophan-Gehalt auffallend. Wir müssen dazu noch bemerken, daß der N-Gehalt dieser Präparate nur etwa 12 % ausmacht. Bezogen auf den N-Gehalt der eigentlichen Proteine ist somit der Gehalt an Tryptophan noch höher, nämlich etwa 7 %. Was die Eiweißkörper der Hefe im allgemeinen betrifft, so zeigen diese keinen so hohen Tryptophan-Gehalt. Fürth und Lieben haben in verschiedenen Proben von Trockenhefe 1.1—1.4 % Tryptophan gefunden. Für die Roh-Proteine der Hefe dürfte der Tryptophan-Gehalt nach Fürth und Lieben 1.9—2.7 % betragen.

Wir finden somit in unseren Saccharase-Präparaten eine große Anreicherung des Tryptophans. Inwieweit auch der Tryptophan-Gehalt in den aktiven Enzym-Kern eingeht, läßt sich natürlich zurzeit nicht sagen. Wir dürfen aber auf eine Tatsache aufmerksam machen: Im allgemeinen ist ja Tryptophan besonders leicht enzymatisch abzuspalten; nach unseren Befunden ist aber der Saccharase-Komplex von Pepsin und Trypsin nur schwer angreifbar⁹⁾; wenn aber die Spaltung eintritt, scheint die enzymatische Aktivität schon frühzeitig verloren zu gehen. Auch auf die große Bedeutung des Tryptophans für die Stoffwechsel- und Wachstumsvorgänge (Osborne und Mendel; Mc Collum) sei in diesem Zusammenhang hingewiesen.

⁹⁾ Euler und Josephson, H. [im Druck].

Über den Tyrosin-Gehalt der Saccharase
und über die Farbreaktionen der Eiweißstoffe mit *Millons*
Reagens und Salpetersäure.

Es wurde schon vorher von uns mitgeteilt, daß unsere Saccharase-Präparate mit dem Millonschen Reagens eine gelbbraune bis braune Färbung geben. Auch Willstätter und Schneider teilen mit, daß sie in einigen Fällen diese von uns beschriebene Reaktion wiedergefunden haben. Wir haben jetzt diese Färbung näher untersucht und dabei gefunden, daß Tryptophan mit großer Wahrscheinlichkeit die Ursache dieser Braunfärbung mit Saccharase ist. Auch reine Tryptophan-Lösungen geben diese Reaktion oder eine braune Fällung. Da es möglich wäre, daß im Saccharase-Komplex durch die wahrscheinlich vom Tryptophan verursachte Färbung die gewöhnliche Millonsche Reaktion, welche ja von Tyrosin hervorgerufen wird, verdeckt wird (auch das tryptophan-reiche Pepton gab allerdings die Tyrosin-Reaktion sehr deutlich), wurde die Xantoprotein-Reaktion unserer Saccharase in quantitativer Hinsicht etwas näher studiert.

Die bei der Xantoprotein-Reaktion coloristisch wirksamen Proteinstoff-Komponenten sind teils Tyrosin, teils Tryptophan. Die übrigen bekannten Bausteine der Proteine und besonders das Phenylalanin sind ohne Einfluß auf die Färbung mit Salpetersäure. Nach C. Mörner¹⁰⁾ wirkt Tryptophan coloristisch 3-mal stärker als Tyrosin in der ersten Phase der Xantoprotein-Reaktion, während nach dem Alkalizusatz das Tyrosin 5-mal stärker als das Tryptophan wirkt.

Bei unseren Versuchen über die Xantoprotein-Reaktion der Saccharase wurde die Färbung der Saccharase-Lösung mit derjenigen einer Tryptophan-Lösung verglichen. Um die Brauchbarkeit der Methode zu quantitativen Bestimmungen zu prüfen, wurden auch einige Versuche mit Pepton-Lösungen verschiedener Konzentration ausgeführt. In der Tat erwies sich die Intensität der Färbung sehr nahe proportional der Konzentration. Die Versuche wurden unter Anwendung von 0.5 ccm der zu prüfenden Lösung und 2 ccm Salpetersäure angestellt. Die Färbungen wurden im Leitzschen Colorimeter verglichen:

Konzentration der Pepton-Lösung	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0 %
Relative Färbung	1	1.98	3.02	3.89	4.95.

Versuche mit Saccharase.

1. Erste Phase der Reaktion.

If = 225. 1.38-proz. Lösung. Vergleichslösung 0.05 % Tryptophan. a = 4.7 mm. Relative Färbung = 1.4 (Tryptophan = 1).

If = 241. 1.0-proz. Lösung. Vergleichslösung 0.05 % Tryptophan. a = 6.1 mm. Relative Färbung = 1.5 (Tryptophan = 1).

Bei Berechnung der angegebenen Werte der relativen Färbungen ist die Färbung gleich 1 gesetzt worden für den Fall, daß dieselbe vom Tryptophan allein herrührt. In beiden Fällen erwies sich aber die Färbung noch stärker, als hieraus berechnet wird. Dazu müssen wir aber bemerken, daß die Färbung des gebundenen Tryptophans nicht dieselbe sein muß wie die des freien Tryptophans. Falls die stärkere Färbung auf der Anwesenheit von Tyrosin beruhte, würde sich dies bei der Anwesenheit des Tyrosins bei der zweiten Phase der Reaktion zeigen. Das war aber nicht der Fall.

¹⁰⁾ H. 107, 203 [1919].

2. Zweite Phase der Xantoprotein-Reaktion.

Nach dem Abschluß der ersten Phase wurden 2ccm starke Natronlauge hinzugesetzt, und die Färbungen wurden im Colorimeter verglichen.

If = 225. 1.38-proz. Lösung. Vergleichslösung 0.05% Tryptophan. $a = 6.7$ mm. Relative Färbung 1.0 (Tryptophan = 1).

In diesem Falle erwies sich somit die Färbung sehr nahe übereinstimmend mit der aus dem Tryptophan-Gehalt berechneten. Wäre Tyrosin vorhanden, so müßte nach dem Befunde Mörners die Färbung von der aus dem Tryptophan-Gehalt berechneten noch stärker als in der ersten Phase abweichen. Gerade das Gegenteil tritt hervor. Wir müssen somit schließen: Tyrosin ist nicht oder nur in sehr kleiner Menge im Saccharase-Komplex vorhanden. Dadurch erklärt es sich, daß die Millon-Reaktion bezüglich des Tyrosins negativ ausfällt.

Über den Gehalt der Saccharase an Histidin (Imidazol-Derivaten).

An einem früheren Präparat (XIIa AKA : If = 140) wurde konstatiert, daß das Präparat mit Benzoldiazoniumchlorid und 2.4-Dichlor-benzoldiazoniumchlorid rote Färbungen in soda-alkalischen Lösungen hervorrief. Es wurde damals nichts über die Ursache dieser Färbung ausgesprochen. Da allerdings die Eiweiß-Komponenten Histidin und Tyrosin mit Diazoniumsalzen ähnliche Färbungen hervorrufen, war es von Bedeutung zu untersuchen, ob auch die reineren Präparate zur Farbstoffbildung fähig sind. Nach H. Pauly¹¹⁾ geben von sämtlichen bekannten Bausteinen des Eiweißes nur das Tyrosin und das Histidin (wohl auch andere Imidazol-Derivate) die Ehrlichsche Reaktion (Diazobenzol-sulfonsäure als Reagens). Nun wurde oben gezeigt, daß unsere Präparate frei von Tyrosin sind. Wir können also eine eventuelle Reaktion mit Diazobenzol-sulfonsäure ziemlich eindeutig auf Histidin zurückführen.

Die Ehrlichsche Diazoreaktion haben Koessler und Hanke¹²⁾ zu einer quantitativen mikrochemischen (colorimetrischen) Methode der Histidin-Bestimmung benutzt. Zur quantitativen Bestimmung nach dieser Methode müssen aber die Imidazole in freier Form vorhanden sein. Wenn eine Protein-Lösung vorliegt, ist nämlich die Farbenintensität nicht proportional der Konzentration des Eiweißstoffes. Wir können diese Befunde von Koessler und Hanke bestätigen.

Die folgenden Versuchsreihen mit Casein, Serum-Albumin und Witte-Pepton zeigen diese Verhältnisse deutlich:

Casein %	a	Relative Färbung	Serum- albumin %	a	Relative Färbung	Witte- pepton %	a	Relative Färbung
0.1	13.6	1	0.1	17.0	1	0.1	13.5	1
0.2	8.0	1.7	0.2	11.1	1.5	0.2	9.9	1.4
0.3	5.8	2.35	0.3	8.6	2.0	0.3	7.9	1.7
						0.5	5.8	2.3

Wir sehen, daß die Steigerung der Färbung bei Erhöhung der Konzentration in den verschiedenen Fällen ungleichmäßig ist. Im Falle des Caseins war die Steigerung der Farbenintensität größer als im Falle des Serum-

¹¹⁾ H. 42, 508 [1904].

¹²⁾ J. of Biol. Chem. 39, 497 [1919].

Albumins und besonders des Peptons. Im letzten Falle entsprach ja Verfünffachung der Konzentration einer Intensitätssteigerung der Färbung nur im Verhältnis 1 : 2.3.

Bei der Untersuchung der Saccharase wurden folgende Resultate erhalten:

If = 242, 0.39-proz. Lösung. $a = 8.2$.

If = 241, 0.10-proz. Lösung. $a = 27.9$.

If = 241, 0.23-proz. Lösung. $a = 12.6$.

Für eine 0.2-proz. Lösung von Saccharase dieses Reinheitsgrades berechnet sich aus diesen Zahlen $a =$ etwa 14.

Die folgende Tabelle ermöglicht den Vergleich der Saccharase mit den übrigen untersuchten Eiweißstoffen:

Substanz (0.2 %)	Saccharase	Serum-Albumin	Pepton	Casein
a	14	11.1	9.9	8.2
Relative Färbung .	1	1.26	1.41	1.71

Die Färbung der Saccharase war also etwas kleiner als die Färbungen der anderen oben erwähnten Eiweißkörper. Dagegen war die Färbung mit Saccharase viel stärker als mit Eier-Albumin, bei welcher eine 1-proz. Lösung $a = 16.6$ und eine 2-proz. $a = 7.66$ ergab.

Eine quantitative Berechnung des Histidin-Gehalts unserer Saccharase-Präparate läßt sich auf diese Zahlen nicht gründen. Wenn wir aber die ziemlich starke Färbung mit dem Diazoreagens hinsichtlich der Abwesenheit von Tyrosin zu verwerten versuchen, müssen wir einen ziemlich hohen Gehalt an Histidin oder an anderen mit dem Diazoreagens reagierenden Imidazol-Derivaten annehmen.

Zusammenstellung der bisher nachgewiesenen Bausteine der Saccharase vom Reinheitsgrad If = 225—245.

Außer den oben näher untersuchten Bausteinen des Saccharase-Komplexes haben wir vorher Schwefel in einigen Präparaten nachgewiesen. Im Präparat von vorliegenden Reinheitsgraden dürfte der S-Gehalt etwa 0.5% betragen. Wenn wir diesen S-Gehalt dem Cystin oder Cystein zuschreiben, so können wir den ungefähren Gehalt an demselben berechnen. Wir würden 1.8—2.0% Cystin finden. Bei dieser Berechnung ist der ganze S-Gehalt dem Cystin zugeschrieben worden; die Sicherheit einer solchen Berechnung ist noch nicht bewiesen.

Wir stellen hier unsere bis jetzt erhaltenen Analysenergebnisse tabellarisch zusammen:

Tyrosin	0%
Cystin	2%
Histidin	< 6% > 2%
Tryptophan	5.5%

Zu diesen Zahlen müssen wir noch ausdrücklich betonen, daß sie sich nur auf unsere bis jetzt erhaltenen besten Saccharase-Präparate beziehen. Die Frage, in welchem Grade diese Komponenten in den eigentlichen Enzym-Kern eingehen, läßt sich zurzeit nicht beantworten. Die Analysen anderer Saccharasen von anderer Herkunft sind unbedingt erforderlich, um eine Entscheidung über die konstante Zusammensetzung des vorliegenden Enzyms zu ermöglichen.

Die obigen und ähnliche Untersuchungen können Aufschluß geben über die Natur des »Protein-Teils« der Saccharase, welcher Teil für die amphoteren und kolloiden Eigenschaften des Enzyms verantwortlich ist. Dagegen sagen sie nichts über die Natur des von uns als spez. substratbindende Gruppe besonders bezeichneten Teiles des Enzyms. Über die Natur desselben wissen wir zurzeit nichts. Hier müssen besondere, eingehende Studien über die Konstitution und Konfiguration der Substrate und anderer Zuckerarten, welche eine Affinität zum Enzym zeigen, vorgenommen werden. Die Auffindung diesbezüglicher Regelmäßigkeiten ist von um so größerer Bedeutung, als solche Regelmäßigkeiten geeignet sind, zur Lösung der Frage nach der Spezifität der Enzyme beizutragen¹³⁾.

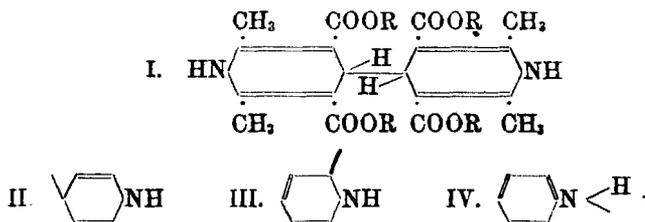
175. Otto Mumm, Oskar Roder und Hans Ludwig: Zur Kenntnis der *N,N'*-Dialkyl-[tetrahydro-dipyridyle].

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Kiel.]

(Eingegangen am 9. April 1924.)

In Gemeinschaft mit W. Beth¹⁾ hat der eine von uns (Mumm) gezeigt, daß bei der Reduktion von Lutidin-dicarbon säure-ester in alkohol. Lösung durch aktiviertes Aluminium zwei Moleküle unter Aufnahme von 2 H-Atomen zu einem Tetrahydro- γ, γ' -dipyridyl-Derivat (I) miteinander verknüpft werden. Dieses Tetrahydro-dipyridyl ist besonders dadurch interessant, daß die C-C-Bindung zwischen den beiden Kernen außerordentlich leicht wieder gesprengt wird. So zerfällt es schon beim Stehen an der Luft unter Dehydrierung in 2 Mol. Lutidin-dicarbon säure-ester, $C_{26}H_{36}O_8N_2 + O = 2C_{13}H_{17}O_4N + H_2O$, und beim Erhitzen unter Luftabschluß wandelt es sich in gleiche Teile Lutidin-dicarbon säure-ester und dessen Dihydro-Verbindung um: $C_{26}H_{36}O_8N_2 = C_{13}H_{17}O_4N + C_{13}H_{19}O_4N$.

Ähnliches ist von anderer Seite²⁾ auch an anderen Tetrahydro-dipyridylen beobachtet worden, und vielfach hat man die Ursache für die große Reaktionsfähigkeit in einer Radikal-Dissoziation gesucht. Dabei kann es dahingestellt bleiben, ob die freie Valenz am γ - (II) oder α -Kohlenstoff (III) oder am Stickstoff (IV) sitzt.



¹³⁾ Willstätter und Kuhn, H. 127, 234 [1923], 129, 57 [1923]; Euler und Josephson, H. 132, 301 [1924]; Josephson, H. 134, 50 [1924], 136 [im Druck]; Kuhn, H. 135, 1 [1924].

¹⁾ Mumm und Beth, B. 54, 1591 [1921].

²⁾ Emmert und Mitarbeiter, z. B. B. 55, 2322 [1922]; Weitz und Mitarbeiter, z. B. B. 57, 153 [1924]; Dimroth und Heene, B. 54, 2934 [1921].