

142. Ernst Waldschmidt-Leitz, Arnold K. Balls und Johanna Waldschmidt-Graser: Über Dipeptidase und Poly-peptidase aus Darm-Schleimhaut. (XVI. Mitteilung¹⁾ zur Spezifität tierischer Proteasen.)

[Aus d. Institut für Biochemie d. Deutsch. Techn. Hochschule in Prag.]

(Eingegangen am 11. Februar 1929.)

Für die Entwicklung der modernen Enzym-Forschung, die der chemischen Kennzeichnung der Enzyme dient, sind in den letzten Jahren zwei Ziele besonderer Art richtunggebend geworden: die Reindarstellung der Enzyme oder ihre Gewinnung zumindest in enzymatisch einheitlicher Form, ihre Trennung von enzymatischen Begleitern, und die Untersuchung von Spezifität und Wirkungsweise jedes einzelnen enzymatischen Katalysators. Die vertiefte Erkenntnis von der Zusammensetzung und von den Aufgaben der enzymatischen Systeme erscheint für die Lehre vom Stoffwechsel, wie für die Struktur-Ermittlung wichtiger Naturprodukte gleich bedeutungsvoll: sie ermöglicht den Vergleich der Reaktionswege bei der Umsetzung der Naturstoffe in Pflanze und Tier, die Beschreibung ihrer gemeinsamen und ihrer besonderen Merkmale, und sie vermittelt der Forschung für Abbau und Aufbau von Naturprodukten die spezifischsten und die schonendsten Reagenzien; ihre Bedeutung wird in dem Maße zunehmen, wie es gelingt, die Auflösung der natürlichen enzymatischen Systeme zu verfeinern und zu vervollständigen.

Auf dem Gebiete der proteolytischen Enzyme haben vor kurzem E. Waldschmidt-Leitz, J. J. Bek und J. Kahn²⁾ über eine neuartige Aktivierung tierischer Organ-Protease, aus der Milz, berichtet: ebenso wie pflanzliche Proteasen, Papain³⁾ oder Protease aus Hefe⁴⁾, erweist sich das Enzym der Milz als spezifisch aktivierbar durch einen begleitenden Aktivator natürlicher Herkunft und ferner durch Blausäure und durch Schwefelwasserstoff unter gleichartiger Erweiterung seines Spezifitäts-Bereiches. Für die Ähnlichkeit der Reaktionswege im intermediären Eiweiß-Stoffwechsel pflanzlicher und tierischer Zellen ergibt sich aus dieser Übereinstimmung in der Zusammensetzung der proteolytischen Systeme ein gewichtiges Argument. Allein die Übereinstimmung ist nicht auf die eigentliche eiweiß-spaltende Komponente beschränkt, sie gilt auch für die Zusammensetzung des Systemes peptid-spaltender Enzyme und für deren Aufgaben, in der Hefezelle, im tierischen Verdauungs-Trakt und wohl auch in den tierischen Organen und Geweben.

Nach W. Graßmann⁵⁾ unterscheidet man in der Hefe zwei peptid-spaltende Enzyme von ausgesprochener Spezifität, eine Hefe-Dipeptidase vom Reaktionsoptimum $p_H = 8.0$, spezifisch für die Hydrolyse von Dipeptiden, und daneben eine Polypeptidase vom Wirkungsoptimum $p_H = 6.7$

¹⁾ Die XV. Mitteilung dieser Reihe (B. **61**, 2092 [1928]) ist versehentlich als XIV. Mitteilung bezeichnet worden.

²⁾ Naturwiss. **17**, 85 [1928/29].

³⁾ vergl. R. Willstätter und W. Graßmann, Ztschr. physiol. Chem. **138**, 184 [1924]; O. Ambros und A. Hartneck in R. Willstätter, Untersuchungen über Enzyme, Bd. II, S. 1698, Julius Springer, Berlin 1928.

⁴⁾ vergl. W. Graßmann und H. Dyckerhoff, Ztschr. physiol. Chem. **179**, 41, u. zw. S. 50 [1928].

⁵⁾ Ztschr. physiol. Chem. **167**, 202 [1927]; W. Graßmann und H. Dyckerhoff, ebenda **175**, 18 [1928]; B. **61**, 656 [1928].

bis 7.0, spezifisch für die Hydrolyse höherer Peptide und ohne Wirkung auf Dipeptide. Nun zeigt es sich, daß auch das Darm-Erepsin, das bisher als einheitlich galt und das nach seiner Spezifität von den Hefe-Enzymen unterschieden wurde⁶⁾, aus einem Gemisch von Dipeptidase und Polypeptidase besteht.

Eine einfache Trennung des Peptidasen-Gemisches aus Darm-Schleimhaut, des „Darm-Erepsins“, einerseits vom beigemengten Pankreas-Trypsin, andererseits mittels Tonerde-Adsorption wurde schon von E. Waldschmidt-Leitz und A. Schöffner⁷⁾ beschrieben. Ihr Gelingen ist indessen dem Umstande zuzuschreiben, daß die Adsorptions-Affinitäten der beiden Peptidasen zur Tonerde, wie der Vergleich ergibt, sehr ähnliche sind; eine eindeutige Verschiebung in dem gerade vorliegenden Verhältnis von Dipeptid-Spaltung und Polypeptid-Spaltung, z. B. in den Auszügen aus Darm-Schleimhaut, ist bei der Adsorption mit Tonerde kaum zu bemerken. Die Trennung von Dipeptidase und Polypeptidase gelingt indessen leicht bei der Einwirkung eines stärker basischen Adsorbens, von Ferrihydroxyd, das auswählender wirkt. Man erreicht mit diesem Mittel, daß schon durch eine 1-malige Adsorption der größte Teil der Dipeptidase den Lösungen entzogen wird, und man erhält nach wiederholter Adsorptions-Vornahme, z. B. einer 3-maligen Adsorption, in den Adsorptions-Mutterlaugen die Polypeptidase in guter Ausbeute frei von dipeptid-spaltendem Enzym, während dieses in den alkalischen Elutionen der Eisen-Adsorbate sich angereichert findet.

Die Aufteilung des proteolytischen Systems im tierischen Verdauungstrakt nach den drei Einzelkomponenten Trypsin, Polypeptidase und Dipeptidase, allein durch Auswertung spezifischer Adsorptions-Affinitäten, ist damit durchgeführt. Zwar sind Dipeptidase und Polypeptidase auch hinsichtlich ihrer Beständigkeit, beispielsweise bei saurer Reaktion, deutlich zu unterscheiden. Allein einem Verfahren der auswählenden Zerstörung einer der Komponenten, wie es zur Gewinnung dipeptidase-freier Polypeptidase aus Hefe angewandt werden kann⁸⁾, ist eine Methode auswählender Adsorption, welche eine Trennung der Enzyme in aktiver Form gestattet, in jedem Falle vorzuziehen; denn mit der Abtrennung der einheitlichen enzymatischen Individuen durch Adsorptionsmittel, soweit sie durchführbar ist, läßt sich deren besondere Existenz am eindeutigsten belegen.

Es wird nun zu prüfen sein, ob auch in den Auszügen und Sekreten der Pankreasdrüse und in den Auszügen anderer tierischer Organe, beispielsweise aus Milz, Niere oder Leber, wie wir erwarten, das nämliche Gemisch von Dipeptidase und Polypeptidase zu finden ist, und in welchem Umfange die beiden tierischen Peptidasen nach Spezifität und Eigenschaften mit den pflanzlichen Übereinstimmung zeigen⁹⁾. Wenn wir für die Wirkung der tierischen Enzyme die nämliche Abhängigkeit von der Wasserstoff-Zahl

⁶⁾ vergl. W. Graßmann, a. a. O., u. zw. S. 205.

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. **151**, 31 [1925/26]; vergl. auch die Trennung der Pankreas-Proteasen nach E. Waldschmidt-Leitz und A. Harteneck, Ztschr. physiol. Chem. **147**, 286 [1925].

⁸⁾ vergl. W. Graßmann und H. Dyckerhoff, Ztschr. physiol. Chem. **175**, 18, u. zw. S. 24 [1928].

⁹⁾ siehe dazu die Ausführungen bei W. Graßmann und H. Dyckerhoff, B. **61**, 656, u. zw. S. 662 [1928].

beobachten, wie sie für die pflanzlichen beschrieben wird, entsprechend einem Reaktions-Optimum für die Dipeptidase von $p_H = 8.0$, für die Polypeptidase von $p_H =$ etwa 7.0 , so wird man dieser Übereinstimmung einen ersten Hinweis entnehmen, sei es auf eine Identität der tierischen und der pflanzlichen Enzyme, sei es nur auf eine gleichartige Reaktionsweise. In der Physiologischen Chemie gewinnt auch für die Stoffwechsel-Lehre die Aufgabe an Bedeutung, die scheinbar verwirrende Mannigfaltigkeit enzymatischer Reaktionen in Pflanze und Tier auf die Wirkungen weniger und einander ähnlicher Träger zurückzuführen und ihre übereinstimmenden, wie ihre unterscheidenden Merkmale zu beschreiben.

Beschreibung der Versuche.

1. Zur Bestimmung von Dipeptidase und Polypeptidase.

Die Wirkung des dipeptid-spaltenden Enzyms maß man an der Spaltung von *d, l*-Leucyl-glycin, wie für Pankreas-Erepsin beschrieben¹⁰⁾. Zur Messung der Polypeptidase-Wirkung diente die Hydrolyse von *d, l*-Leucyl-diglycin, nämlich von 0.001 Mol des Peptids und bei der als annähernd optimal erkannten Wasserstoff-Zahl von $p_H = 7.0$. Der Bestimmung der Polypeptidase-Menge liegt die Annahme zugrunde, daß auch die Spaltung des Tripeptids wie die des Dipeptids einer Reaktionsgleichung erster Ordnung folge; sie wird indessen noch zu bestätigen sein. So drücken wir die Polypeptidase-Menge in der vorliegenden Abhandlung durch ein vorläufiges Maß, das dem für die Dipeptidase angewandten (Fr.-E.) nachgebildet ist, die „Polypeptidase-Einheit (Pol.-e.)“¹¹⁾, aus; sie ist gleich dem Tausendfachen derjenigen Enzymmenge gewählt, für welche sich unter den angewandten Bedingungen (0.001 Mol Tripeptid, $p_H = 7.0$, 30^0 , Gesamtvolumen 10.0 ccm) die Konstante der monomolekularen Reaktion zu 0.001 ergibt.

Die Bestimmung der Polypeptidase wird, sofern man sich dafür der Messung des Carboxyl-Zuwachses bei der Hydrolyse von Polypeptiden bedient, durch die Gegenwart von Dipeptidase, z. B. in den Rohauszügen aus Darm-Schleimhaut, beeinträchtigt, ihre Menge zu hoch gefunden werden; denn bei der Polypeptidase-Wirkung gebildete Dipeptide werden durch das dipeptid-spaltende Enzym weiter zerlegt. Für die exakte Erfassung von Polypeptidase-Menge und Polypeptidase -Ausbeute bei präparativen Vornahmen, die wir anstreben werden, wird man daher andere Substrate, etwa Peptid-ester¹²⁾, zu wählen haben, deren Reaktionsprodukte der Einwirkung der Dipeptidase nicht mehr unterliegen.

2. Polypeptid-Spaltung und Wasserstoff-Zahl.

Das Wirkungs-Optimum der Polypeptidase aus Darm für die Hydrolyse des Tripeptides *d, l*-Leucyl-diglycin entspricht, wie sich gezeigt hat, in den Rohauszügen etwa neutraler Reaktion, $p_H = 7.2$; es unterscheidet sich also

¹⁰⁾ E. Waldschmidt-Leitz und A. Harteneck, Ztschr. physiol. Chem. **147**, 286, u. zw. S. 292 [1925].

¹¹⁾ vergl. die abweichende Definition der Einheit der Hefe-Polypeptidase bei W. Graßmann und H. Dyckerhoff, Ztschr. physiol. Chem. **179**, 41, u. zw. S. 65 [1928].

¹²⁾ vergl. die Beobachtungen über die spezifische Spaltbarkeit von Peptid-estern durch Hefe-Polypeptidase zufolge W. Graßmann und H. Dyckerhoff, B. **61**, 656, u. zw. S. 660 [1928].

von dem des dipeptid-spaltenden Enzyms, entsprechend $p_H = 8.0$, in der gleichen Weise, wie für Polypeptidase und Dipeptidase aus Hefe beschrieben¹³⁾. Es ist aber bemerkenswert, daß in den in Tabelle I angeführten Versuchen über die Abhängigkeit der Tripeptid-Spaltung von der Wasserstoff-Zahl, die noch nicht mit dem dipeptidase-freien Enzym ausgeführt sind, dessen Gegenwart in einer erneuten Steigerung des Umsatzes beim Optimum der Dipeptidase-Wirkung, $p_H = 8.0$, zum Ausdruck kommt. Wie die Form der Aktivitäts- p_H -Kurve dürfte auch die Lage des Optimums für die Tripeptid-Spaltung, die wir hier entsprechend $p_H = 7.2$ beobachten, durch die Mitwirkung der Dipeptidase noch beeinflusst sein; für das einheitliche Enzym, mit dem wir den Versuch zu wiederholen beabsichtigen, sollte sie etwa dem Neutralpunkte, $p_H = 7.0$, entsprechen.

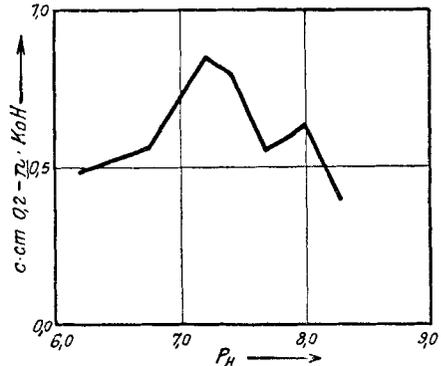


Fig. 1. Tripeptid-Spaltung und Wasserstoff-Zahl.

Tabelle I.

Tripeptid-Spaltung und Wasserstoff-Zahl.

(0.25 ccm einer durch 1-malige Tonerde-Adsorption gereinigten und trypsin-freien, aber noch Dipeptidase (nämlich 0.0060 Er.-E.) enthaltenden Enzym-Lösung; 0.001 Mol *d,L*-Leucyl-diglycin; 0.001 Mol Phosphat-Puffer; Gesamtvolumen 10.0 ccm; 60 Min., 30°.)

p_H	6.2	6.8	7.2	7.4	7.7	7.9	8.0	8.3
Aciditäts-Zuwachs (ccm 0.2-n.) ...	0.49	0.56	0.85	0.80	0.55	0.60	0.63	0.40

3. Adsorptions-Verhalten von Dipeptidase und Polypeptidase im Rohauszug.

Einwirkung von Tonerde C_7 : Die Einwirkung der Tonerde-Sorte C_7 auf die Enzym-Lösungen aus Darm-Schleimhaut bei saurer Reaktion dient zur Abtrennung des „Darm-Erepsins“ von beigemengtem Pankreas-Trypsin, welch letzteres in den Adsorptions-Mutterlaugen verbleibt¹⁴⁾; durch Behandlung der Tonerde-Adsorbate mit alkalischen Eluenzien gewann man das „Erepsin“ in trypsin-freier Form. Die vergleichende Prüfung der Tonerde-Elutionen auf ihren Gehalt an Dipeptidase und an Polypeptidase hat nun ergeben, daß nach dieser Vornahme keine beträchtliche und keine einsinnige Verschiebung der enzymatischen Einzelwirkungen zu beobachten ist, auch nicht nach einer neuerlichen Tonerde-Adsorption und Elution (Tab. 2). Die Adsorptions-Affinitäten der beiden Enzyme zu der angewandten Tonerde-Sorte sind ähnlich genug, um ihre gemeinsame Trennung von dem tryptischen Enzym zu gestatten. Für die Erkenntnis der spezifischen Wirkungen des Pankreas-Trypsins und ihre Unterscheidung von denen des „Erepsins“,

¹³⁾ K. G. Dernby, *Biochem. Ztschr.* **81**, 107 [1917]; R. Willstätter und W. Graßmann, *Ztschr. physiol. Chem.* **153**, 250, u. zw. S. 263 [1926] (Dipeptidase); W. Graßmann, ebenda **167**, 202, u. zw. S. 207 [1927] (Polypeptidase).

¹⁴⁾ E. Waldschmidt-Leitz und A. Schäffner, *Ztschr. physiol. Chem.* **151**, 31, u. zw. S. 51 [1925/26].

so wie sie durchgeführt worden ist¹⁵⁾, war das übereinstimmende Adsorptions-Verhalten der Peptidasen gegenüber der Tonerde von entscheidender Bedeutung; eine Auflösung des Peptidasen-Gemisches hat das eingeschlagene Verfahren indessen nicht erlaubt.

Tabelle 2.

Tonerde-Adsorption und Mengenverhältnis der Peptidasen.

(1. Adsorption: 100 ccm Glycerin-Auszug aus Darm-Schleimhaut, durch Fällung mit Essigsäure gereinigt, adsorbiert mit 7.5 ccm Tonerde-Suspension C_7 (= 174.0 mg Al_2O_3) bei $p_H = 5$, Adsorbat nach 2-maligem Waschen mit je 100 ccm 20-proz. Glycerin eluiert mittels 50 ccm 0.1-mol. Na_2HPO_4 (20 % Glycerin enthaltend), Elution mit Essigsäure neutralisiert; 2. Adsorption: 25 ccm Tonerde-Elution, mit n -HCl angesäuert ($p_H = 5.0$), adsorbiert mit 3.75 ccm Tonerde-Suspension (= 87.0 mg Al_2O_3), Adsorbat nach dem Waschen wie oben eluiert mittels 25 ccm 0.1-mol. Na_2HPO_4 , Elution neutralisiert; Angaben beziehen sich auf aliquote Teile der Lösungen.)

Enzym-Lösung	Gehalt der Analysenprobe an		Mengenverhältnis der Enzyme
	Er.-E.	Pol.-(e.)	
Rohauszug, mit Essigsäure vor- gereinigt	0.00228	0.00394	1:1.7
Elution des 1. Adsorbats	0.00143	0.00205	1:1.4
Elution des 2. Adsorbats	0.00091	0.00200	1:2.2

Einwirkung von Eisenhydroxyd.

Die Trennung des Peptidasen-Gemisches aus Darm-Schleimhaut in die dipeptid-spaltende und in die polypeptid-spaltende Komponente, die mit Tonerde C_7 nicht zu erreichen ist, gelingt verhältnismäßig leicht mit der Anwendung von Ferrihydroxyd¹⁶⁾: die Polypeptidase verbleibt zum größten Teile in den Mutterlaugen der Adsorption, und man erhält sie schon nach einer 3-maligen Einwirkung des Adsorbens frei von dipeptid-spaltendem Enzym (Tab. 3), während dieses in den mittels Alkaliphosphats bereiteten Elutionen der Eisen-Adsorbate, aber noch in schlechter Ausbeute, sich angereichert findet (s. u. Versuch). Wir erwarten, daß es durch Steigerung der Dipeptidase-Ausbeute in den Elutionen und durch Wiederholung der Adsorptions-Vornahme gelingen wird, die Dipeptidase von polypeptid-spaltendem Enzym ganz zu befreien und die Trennung der beiden Peptidasen in diesem Sinne noch zu vervollkommen.

Es verdient besondere Beachtung, daß für die auswählende Wirkung der Adsorbentien, wie das vorliegende Beispiel erweist, nicht so sehr die Oberflächen-Entwicklung, die bei dem Eisen-Gel eine viel schlechtere ist, als vielmehr der chemische Charakter des Adsorbens ausschlaggebend ist. Die Vorstellung, daß die Adsorptions-Affinitäten dieser Enzyme¹⁷⁾, oder in anderen Fällen die ihrer Assoziationsprodukte mit begleitenden Stoffen¹⁸⁾,

¹⁵⁾ siehe dazu E. Waldschmidt-Leitz und Mitarbeiter, Ztschr. physiol. Chem. **149**, 203 [1925], **151**, 31 [1925/26]; B. **60**, 359 [1926/27]; Ztschr. physiol. Chem. **166**, 247 [1927]; B. **60**, 1906 [1927], **61**, 299, 640, 2092 [1928].

¹⁶⁾ Das Adsorbens war nach den Angaben von R. Willstätter, H. Kraut und W. Fremery, B. **57**, 1491, u. zw. S. 1498 [1924], bereitet.

¹⁷⁾ siehe dazu E. Waldschmidt-Leitz, A. Schöffner und W. Graßmann, Ztschr. physiol. Chem. **156**, 68, u. zw. S. 83 [1926].

¹⁸⁾ vergl. R. Willstätter, B. **55**, 3601, u. zw. S. 3614 [1922]; H. Kraut und E. Wenzel, Ztschr. physiol. Chem. **133**, 1 [1923/24], **142**, 71 [1925].

mit in erster Linie durch ihren chemischen Charakter bestimmt werden, wird durch den vorliegenden Vergleich der Adsorptions-Spezifität von Tonerde und von Eisenhydroxyd anschaulich belegt; die Dipeptidase scheint vor der Polypeptidase durch stärker sauren Charakter ausgezeichnet zu sein. Man darf erwarten, daß das Adsorptions-Verhalten der Darm-Peptidasen geeignet ist, auch zur Kennzeichnung verschiedener Adsorbentien, beispielsweise einzelner Tonerde-Sorten¹⁹⁾, beizutragen, soweit sie nach ihren sauren und basischen Eigenschaften unterschieden werden.

Tabelle 3.

Adsorption mit Eisenhydroxyd und Mengenverhältnis der Peptidasen.

(80 ccm Glycerin-Auszug aus Darm-Schleimhaut, durch Fällung mit Essigsäure gereinigt, nach Zusatz von 3.0 ccm *n*-Acetat-Puffer von $p_H = 3.8$ (p_H der Lösung = 4.0) mit 10.0 ccm Eisenhydroxyd-Suspension (= 327.6 mg Fe_2O_3) adsorbiert: 80 ccm 1. Adsorptions-Mutterlauge; 75 ccm von dieser mit 5.0 ccm Eisenhydroxyd (= 163.8 mg Fe_2O_3) adsorbiert: 75 ccm 2. Adsorptions-Mutterlauge; 65 ccm von dieser erneut mit 4.0 ccm Adsorbens (= 131.0 mg Fe_2O_3) behandelt: 65 ccm 3. Adsorptions-Mutterlauge; Operationen ausgeführt unter Eiskühlung; Angaben beziehen sich auf aliquote Teile der Lösungen.)

Enzym-Lösung	Gehalt der Analysenprobe an		Ausbeute (%) an:	
	Er.-E.	Pol.-(e.)	Dipeptidase	Polypeptidase
Rohauszug, mit Essigsäure gereinigt	0.00255	0.00280	—	—
1. Adsorptions-Mutterlauge	0.00046	0.00273	18	97
2. Adsorptions-Mutterlauge	0.00007	0.00150	3	54
3. Adsorptions-Mutterlauge	0	0.00125	0	45

Versuch: Elution des Eisen-Adsorbates: 80 ccm eines mittels Essigsäure-Fällung gereinigten Glycerin-Auszugs aus Darm-Schleimhaut mit 0.1974 Er.-E. (0.25 ccm, 121 Min.: 1.58 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.000617 Er.-E.) neben 0.208 Pol.-(e.) (0.50 ccm, 68 Min.: 1.84 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.00130 Pol.-(e.)) unterwarf man nach Zusatz von 3.0 ccm *n*-Acetat-Puffer von $p_H = 3.8$, nämlich bei $p_H = 4.0$, der Adsorption mit 10.0 ccm Eisenhydroxyd-Aufschlämmung (= 327.6 mg Fe_2O_3) und eluierte das in der Zentrifuge abgetrennte Adsorbat mit 25 ccm 1-proz. Na_2HPO_4 (20% Glycerin enthaltend).

Die neutralisierte Adsorptions-Restlösung enthielt in 75 ccm noch 0.00337 Er.-E. (1.00 ccm, 68 Min.: 0.68 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.00045 Er.-E.) neben 0.2025 Pol.-(e.) (1.00 ccm, 64 Min.: 3.25 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.00270 Pol.-(e.)), d. i. 17, bzw. 97% vom Gehalt der Ausgangslösung, während in der mit *n*-Essigsäure-neutralisierten und filtrierten Elution (25 ccm) 0.0225 Er.-E. (1.00 ccm, 71 Min.: 1.37 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.00090 Er.-E.) und daneben 0.0168 Pol.-(e.) (1.00 ccm, 66 Min.: 0.97 ccm 0.05-*n*. KOH: 0.00060 Pol.-(e.)), d. i. 11.4, bzw. 8.5% enthalten waren.

4. Beständigkeit von Dipeptidase und Polypeptidase.

Nach W. Graßmann und H. Dyckerhoff²⁰⁾ sind Dipeptidase und Polypeptidase aus Hefe durch verschiedene Beständigkeit ausgezeichnet; bei alkalischer Reaktion unterliegt das dipeptid-spaltende Enzym rascher

¹⁹⁾ vergl. die Mitteilungen von R. Willstätter, H. Kraut und Mitarbeitern „Über Hydrate und Hydrogele“, B. 56, 149, 1117 [1923], 57, 58, 1082 [1924], 58, 2448, 2458 [1925], 59, 2541 [1926].

²⁰⁾ Ztschr. physiol. Chem. 175, 18, u. zw. S. 24 [1928].

Zerstörung. Auch die Dipeptidase aus der Darm-Schleimhaut ist von dem polypeptid-spaltenden Enzym durch ihre geringere Beständigkeit zu unterscheiden, insbesondere bei saurer Reaktion (Tab. 4). Es erscheint durchführbar, aber kaum vorteilhaft, auch diesen Beständigkeits-Unterschied zur Gewinnung dipeptidase-freier Lösungen der Polypeptidase zu verwerten.

Tabelle 4.

Beständigkeit von Dipeptidase und Polypeptidase.

(Enzym-Lösung durch Adsorption von Rohauszug aus Darm-Schleimhaut mittels Tonerde C₇ und Elution mit verd. NH₃ bereitet und durch nochmalige Adsorption und Elution weiter gereinigt; p_H eingestellt durch Zusatz von verd. Essigsäure bzw. Ammoniak; aufbewahrt bei 25°; Angaben beziehen sich auf den Gehalt der Analysenprobe von 2.0 ccm.)

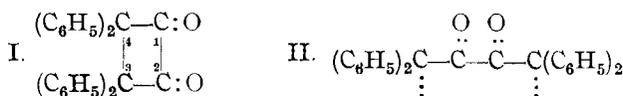
Aufbewahrungs-Zeit Min.	p _H = 3.0		p _H = 7.0		p _H = 9.0	
	Er.-E.	Pol.-(e.)	Er.-E.	Pol.-(e.)	Er.-E.	Pol.-(e.)
0	—	—	0.00160	0.00152	—	—
90	0.00046	0.00126	0.00148	0.00150	0.00084	0.00093

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir ergebenst für die zur Verfügung gestellten Mittel.

143. Wolfgang Langenbeck: Über die Radikal-Natur der tiefgefärbten dimeren Diaryl-ketene. (Vorläufige Mitteilung.)

(Eingegangen am 21. Februar 1929.)

Vor einiger Zeit haben H. Langenbeck und ich¹⁾ bei der pyrogenen Zersetzung der Benzilsäure einen tiefroten Stoff erhalten, dem vorläufig die Formel I zuerteilt wurde. G. Wittig und Frhr. v. Lupin²⁾



haben nun auf Grund von Analogie-Schlüssen die Vermutung ausgesprochen, daß ein solcher Vierring unbeständig ist, und daß infolgedessen unserem Stoff die Formel eines Doppelradikals (II) zukommt. Man erhält also Wittigs Formel aus unserer vorläufigen, indem man sich die Bindung zwischen den C-Atomen 3 und 4 aufgespalten denkt. Der endgültige Beweis für das Strukturbild II ist nicht leicht zu erbringen, da das wichtigste Kriterium der Disso-

¹⁾ B. 61, 938 [1928]. ²⁾ B. 61, 1627 [1928].