

Einige Bemerkungen über das Cystin.

Von

A. J. Patten.

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. August 1903.)

I. Über die Umwandlung von Cystin in Cystein.

Nach den Untersuchungen Baumanns, welche die Konstitution des Cystins bis auf einen nebensächlichen Punkt feststellen, bezeichnen die Arbeiten von K. A. H. Mörner¹⁾ den wichtigsten Fortschritt auf diesem Gebiete. Bekanntlich hatten gelegentliche Funde schon früher zu der Vermutung geführt, daß der Schwefel der Eiweißkörper im wesentlichen in einer Atomgruppe enthalten ist, welche dem Cystin entspricht, doch waren die Bemühungen zur sicheren Gewinnung von Cystin aus Eiweiß vergebliche gewesen. Erst K. A. H. Mörner ebnete durch Lösung dieser wichtigen Frage den Weg für weitere Untersuchungen. Nachdem Mörner gezeigt hatte, in welcher Weise größere Mengen von Cystin aus Eiweiß gewonnen werden können, gelang diese Darstellung auch anderen Forschern. Bei den weiteren Arbeiten erhob sich nun eine Diskussion über die Frage, ob das Cystin oder das Cystein das primäre Spaltungsprodukt sei. Im ersteren Falle mußte man ja mindestens zwei Atome Schwefel im Eiweißmolekül annehmen.

Embden²⁾ glaubt nun erwiesen zu haben, daß die schwefelärmeren Eiweißkörper auch bei kurzdauernder Spaltung nur Cystein liefern. Er begründete diese Ansicht durch Versuche an Eialbumin, Serumalbumin und Edestin, indem er

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 595; Bd. XXXIV, S. 207.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 94.

die durch Hydrolyse dieser Eiweißkörper erhaltene Flüssigkeit mit Quecksilberchlorid bei schwach alkalischer Reaktion fällte und den Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegte. Diese Flüssigkeit gab die für Cystein charakteristischen Farbenreaktionen, welche dann später verschwanden, als Luft durch die mit Ammoniak versetzte Flüssigkeit hindurchgeleitet wurde — offenbar infolge der Umwandlung des Cysteins in Cystin. In der Tat konnte dann auch durch Eindampfen dieser Lösung Cystin in Krystallen erhalten werden.

Mörner machte gegen diesen Befund schwerwiegende Bedenken geltend. Er wies darauf hin, daß von vorneherein Cystin dagewesen sein könne, daß nach seinen eigenen Erfahrungen die Farbenreaktionen des Cysteins «nach dem Zersetzen von Quecksilberniederschlägen mit Schwefelwasserstoff auch da mit großer Stärke (wie für Cystein) auftreten», wo sie vor dem Fällten mit Quecksilber und dem Behandeln mit Schwefelwasserstoff nicht vorhanden waren. Über die Ursache dieser letzteren Erscheinung gibt Mörner keine Aufklärung. Er kommt zu dem Schluß, daß auch bei diesen schwefelarmen Eiweißkörpern nicht Cystein, sondern Cystin das primäre Produkt sei.

Ich habe einige Versuche angestellt, welche diese Schlußfolgerung von Mörner völlig bestätigen und zugleich das Zustandekommen dieser Reaktionen erklären.

Ich löste völlig reines Cystin, welches keine Cysteinreaktionen gab, in wässriger Salzsäure und fällte die Lösung genau nach dem von Embden benutzten Verfahren mit Quecksilberchlorid. Der in Wasser suspendierte Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die vom Quecksilbersulfid abfiltrierte Lösung nach dem Verjagen überschüssigen Schwefelwasserstoffs auf Cystein geprüft. Sie gab die Farbenreaktionen, die diesem Produkt eigentümlich sind. Die Lösung wurde nun auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, in Alkohol gelöst und mit Ammoniak neutralisiert. Es fiel ein weißer Niederschlag aus, welcher abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet wurde. Die polarimetrische Untersuchung ergab nur sehr schwache

Linksdrehung und bestätigte die aus den Reaktionen gezogene Schlußfolgerung, daß es sich um Cystein handle.

Ähnliche Resultate erhielt ich auch bei der Fällung des Cystins durch Silbernitrat bei Gegenwart von etwas Baryt und nach der Zersetzung dieses Niederschlages mit Schwefelwasserstoff, und es zeigte sich sogar, daß in Wasser aufgeschwemmtes Cystin langsam und teilweise durch Schwefelwasserstoff in Cystein verwandelt wird. Man wird also hieraus den Schluß ziehen müssen, daß das Cystin bei dieser Darstellungsweise zum Teil in Cystein übergeht.

II. Darstellung des Cystins aus Eiweiß.

Hopkins und Cole¹⁾ haben vor einiger Zeit zur Darstellung des Tryptophans ein Reagens eingeführt, welches sich auch zur Gewinnung anderer Bestandteile und Zersetzungsprodukte tierischer Gewebe eignet, nämlich das Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung. Mit Hilfe desselben Fällungsmittels wird, wie A. Kossel und ich²⁾ nachgewiesen haben, auch das Histidin gefällt. Ferner haben A. Kossel und H. Steudel³⁾ festgestellt, daß in gleicher Weise die Nucleinbasen und das Cytosin niedergeschlagen werden und daß das Quecksilbersulfat zur Gewinnung dieser letzteren Base mit besonderem Vorteil benutzt wird. Hopkins und Cole⁴⁾ haben die Angabe gemacht, daß auch das Cystin zu den durch dies Reagens fällbaren Stoffen gehört. Da ich für einige in Aussicht genommene Untersuchungen einer größeren Menge Cystin bedurfte, habe ich versuchsweise dies Fällungsmittel benutzt und eine gute Ausbeute an Cystin erhalten.

Das Ausgangsmaterial war 250 g fein zerschnittenes Pferdehaar, welches mit 3 l 25%iger Schwefelsäure 5—6 Tage ununterbrochen im Wasserbade erhitzt wurde. Im Hals des Kolbens fand sich stets eine geringe Menge krystallisierten Schwefels vor. Die Reaktionsflüssigkeit wurde mit soviel Barytwasser ver-

¹⁾ Journal of Physiology, Vol. 26, p. 418; Vol. 29, p. 451.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVIII, S. 39.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVIII, S. 49.

⁴⁾ l. c.

setzt, daß der Gehalt an Schwefelsäure in der auf 5 l verdünnten Lösung 5⁰/₀ betrug. Nach Entfernung des Baryumsulfats wurde die Flüssigkeit mit einer Lösung von Quecksilbersulfat ¹⁾ unter kräftigem Umrühren ausgefällt, der Niederschlag nach einigen Stunden abfiltriert und mit 5⁰/₀iger Lösung von Schwefelsäure tyrosinfrei gewaschen. Statt dieser letzteren langwierigen Operation kann man das Quecksilber auch vor völligem Auswaschen entfernen und die Fällung in der vom Quecksilbersulfid abfiltrierten Flüssigkeit wiederholen. Bei dieser zweiten Fällung ist eine viel geringere Menge des Fällungsmittels notwendig, auch kann dieser zweite Quecksilberniederschlag schon nach halbstündigem Stehen abfiltriert und durch Waschen mit 5⁰/₀iger Schwefelsäure leicht rein erhalten werden. Nach Zerlegung des Quecksilberniederschlags mit Schwefelwasserstoff und Vertreibung des Schwefelwasserstoffs wird die Schwefelsäure aus der Flüssigkeit durch vorsichtigen Zusatz von Barytwasser genau entfernt und die vom Baryumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit auf dem Wasserbade bis zur Ausscheidung der Cystinkristalle eingedampft. Nach der Filtration setzt man das Eindampfen fort und gewinnt neue Mengen Cystin, welche nötigenfalls durch Lösung in Ammoniak, Entfärbung mit Tierkohle und Wiederausfällung mit Essigsäure gereinigt werden können. Auf diese Weise erhielt ich aus Pferdehaar 4—5⁰/₀ Cystin.

Dies Verfahren eignet sich auch zur Verarbeitung von solchen Eiweißkörpern, welche schwefelärmer sind als die Keratinsubstanzen; z. B. gewann ich aus 50 g Edestin durch 14stündiges Kochen auf dem Sandbade mit einer Mischung von 150 g konz. Schwefelsäure und 300 ccm Wasser ungefähr 0,5 g reines Cystin in den charakteristischen sechseitigen Tafeln.

Nach den obigen Erörterungen, ob Cystin oder Cystein das primäre Spaltungsprodukt sei, könnte man die Frage aufwerfen, ob nicht durch dies Verfahren etwa zunächst entstehendes Cystein in Cystin umgewandelt werde. Ich konnte leicht nachweisen, daß dies nicht der Fall ist. Ich löste eine

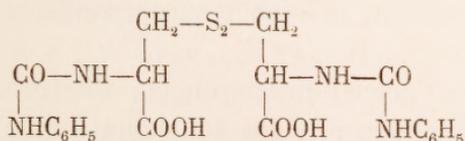
¹⁾ Bereitung siehe diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 39 ff.

kleine Quantität frisch bereitetes Cystein in 5%iger Schwefelsäure auf und fällte die Lösung mit Quecksilbersulfat. Der weiße Niederschlag wurde abfiltriert, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die Lösung gab alle Cysteinreaktionen, auch konnte ich das Cystein in krystallisiertem Zustande daraus wiedergewinnen und an seinen charakteristischen Eigenschaften erkennen.

III. Cystinphenylhydantoin.

Zur Charakterisierung des Cystins kann unter Umständen die schwer lösliche und gut krystallisierende Verbindung benutzt werden, welche durch Einwirkung von Phenylisocyanat auf Cystin entsteht.

Cystinphenylhydantoinensäure. Man schüttelt 1 g Cystin, welches in 12 ccm Wasser unter Zusatz von 9 ccm Normalkalilauge gelöst ist, anhaltend unter Kühlung mit 1 g Phenylisocyanat, bis der stechende Geruch verschwunden ist. Die Flüssigkeit wird jetzt filtriert und mit Salzsäure neutralisiert. Es scheidet sich ein gelatinöser Niederschlag ab, der nach einigen von Herrn cand. med. Erwin Rohde im hiesigen Institut ausgeführten Untersuchungen durch vorsichtigen Zusatz von Wasser zu der heißen, konzentrierten alkoholischen Lösung krystallisiert erhalten wird. Die von Herrn Rohde ausgeführte Stickstoffbestimmung ergab einen Gehalt von 11,37% N. Diese Verbindung ist offenbar entsprechend der folgenden Formel aufzufassen, wenn auch der Stickstoffwert bei dieser, ebenso wie bei den folgenden Analysen etwas zu niedrig ist. (Berechnet 11,74% N.)



Cystinphenylhydantoin. Wenn man diese Säure mit Salzsäure von ungefähr 10% 3 Minuten kocht, so wandelt sie sich um und es scheiden sich beim Abkühlen Krystallnadeln aus. Aus 1 g Cystin erhielt ich 1,76 g des Hydantoin entsprechend einer Ausbeute von 95,7% der berechneten. Die

Verbindung kann aus Alkohol umkrystallisiert werden. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 117° unkorrr.

Die Analysen führten zu folgenden Ergebnissen.

1. 0,1210 g Substanz gaben 0,1288 g BaSO_4 .
2. 0,1163 g Substanz gaben 0,2338 g CO_2 und 0,0496 g H_2O .
3. 0,1535 g Substanz gaben 16,6 ccm N_2 bei 20° und 758 mm Bar.

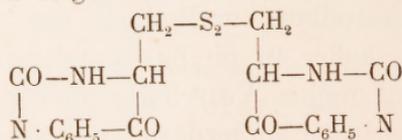
	Gefunden	Berechnet
C	54,82	54,26
H	4,74	4,07
N	12,34	12,70
S	14,62	14,50

Die Übereinstimmung ist nur beim Schwefel eine scharfe und es ist mir nicht möglich, die Abweichungen meiner Analysenzahlen zu erklären, um so weniger, da Herr Rohde, welcher ein von ihm dargestelltes Präparat derselben Substanz analysierte, die gleichen Werte für Stickstoff und Schwefel fand:

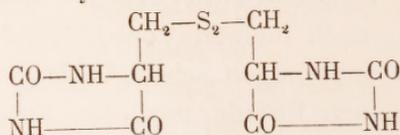
12,23 und 12,30 % N

14,46 % S.

Trotzdem kann es nicht zweifelhaft sein, daß es sich um ein Hydantoin von folgender Zusammensetzung handelt:



Dieser Körper ist ein Phenylderivat eines zuerst von Baumann durch Einwirkung von Cyansäure auf Cystin dargestellten¹⁾ und von Brenzinger²⁾ in Baumanns Laboratorium näher untersuchten Hydantoins von folgender Konstitution:



Herrn Professor Dr. A. Kossel, in dessen Laboratorium ich diese Arbeit ausgeführt habe, spreche ich meinen aufrichtigen Dank aus.

¹⁾ Baumann, Diese Zeitschr., Bd. VIII, S. 196.

²⁾ Brenzinger, Diese Zeitschr., Bd. XVI, S. 576.