

Zur Kenntnis der Spaltungsprodukte des Cystins.

Von

K. A. H. Mörner.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Karolinischen mediz.-chir. Institutes
in Stockholm.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Juli 1904.)

Bekanntlich ist E. Baumann durch eine Reihe von Arbeiten, welche von ihm und seinen Schülern ausgeführt wurden, zu der Ansicht gelangt, daß das Cystin (aus Harn) ein Disulfid der α -Aminothi milchsäure sei. E. Friedmann¹⁾ findet bei der Besprechung dieser Arbeiten, daß Baumann für die α -Stellung des Schwefels keinen bindenden Beweis geliefert hat. Selber konnte Friedmann bei Bearbeitung des Cystins (aus Hornspänen) nach Jochem β -Thiomilchsäure darstellen und in der Form des Disulfids rein gewinnen: die Prüfung der rohen Thiomilchsäure durch die Farbenreaktion mit Kupfersulfat zeigte keine α -Thiomilchsäure an. Durch Oxydation von Cystin (oder Cystein) mit Brom konnte er eine Sulfosäure des Cysteins, Cysteinsäure genannt, darstellen. Durch Erhitzen dieser Säure mit Wasser auf 235° gelang, unter Abspaltung von Kohlensäure, die physiologisch sehr bedeutungsvolle Überführung derselben in Taurin. Die Bindung des Schwefels und der Aminogruppe an verschiedene Kohlenstoffatome wurde dadurch erwiesen.

Zu derselben Auffassung bezüglich der Bindung des Schwefels und der Aminogruppe gelangte C. Neuberg²⁾ durch Oxydation des Cysteins mittels Salpetersäure, wobei Isäthionsäure

¹⁾ Friedmann, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie, 1902, Bd. 3, S. 1—46.

²⁾ C. Neuberg, Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. XXXV, 1902, S. 3161.

gebildet wurde. Später haben C. Neuberg und P. Mayer¹⁾ angegeben, daß man zwischen zwei Cystinformen — der α -Thio- β -Aminopropionsäure, die sich in Cystinsteinen findet, und der α -Amino- β -Thiopropionsäure, die im Körpereweiß enthalten ist — zu unterscheiden habe.

Seitdem hat E. Erlenmeyer jun.²⁾ α -Amino- β -Thiopropionsäure und daraus Cystin synthetisch dargestellt: die näheren Angaben und die Beschreibung dieses Cystins sind noch nicht zugänglich gewesen.

Ehe ich zur Beschreibung meiner Darstellung von α -Thiomilchsäure aus dem Cystin übergehe, will ich einige Reaktionen der α - und der β -Thiomilchsäuren besprechen, da die Angaben der Literatur in einigen Punkten unvollständig sind. Die Säuren wurden nach Lovén³⁾ synthetisch dargestellt, die α -Säure aus Brenztraubensäure und die β -Säure aus β -Iodpropionsäure. Die beiden Säuren sind sirupös, leicht löslich in Wasser, und wandern aus wässriger Lösung sehr leicht in Äther über. Ihr Geruch ist eigenartig und für die beiden Säuren verschieden. Beide Säuren geben bei der Erhitzung mit Natronlauge und Bleiacetat allmählich eine Abscheidung von Schwefelblei. Beide Säuren geben, auch in sehr verdünnter Lösung, mit Nitroprussidalkali und Natronlauge eine sehr schöne purpurrote Farbe, die bald verschwindet.

Bei Zusatz von Eisenchlorid geben sie eine bald vorübergehende blaue Farbe.

Bei Zusatz von einem Tropfen sehr verdünnter Eisenchloridlösung und etwas Ammoniak, welche Reaktion in der Literatur als für die Thioglykolsäure charakteristisch angegeben wird, gibt die α -Thiomilchsäure, ebenso wie die Thioglykolsäure eine sehr beständige, schöne rotviolette Farbe: das Verhalten

¹⁾ C. Neuberg und P. Mayer. Vortrag in d. d. chem. Gesellsch. zu Berlin, 25. Mai 1903. Zitiert nach der Angabe bei J. Wohlgemuth, Diese Zeitschrift, Bd. XL, 1903, S. 82. — Der Bericht über Neubergs und Mayers Untersuchung ist, so viel ich weiß, noch nicht erschienen.

²⁾ E. Erlenmeyer jun., Ber. d. d. chem. Gesellsch., Bd. XXXVI, 1903, S. 2720.

³⁾ J. M. Lovén, Journal f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 29, 1884, S. 366.

war dasselbe, wenn die α -Säure aus dem reinen Disulfid durch Reduktion bereitet worden war. Die β -Thiomilchsäure, aus dem Disulfid bereitet, gab eine ähnliche Erscheinung: die Farbe verschwand aber bald. Diese Reaktion ist also nicht für die Thioglykolsäure charakteristisch, sondern wird ebenso gut von der α -Thiomilchsäure gegeben und gewissermaßen auch von der β -Thiomilchsäure.

Nach Lovén gibt die α -Thiomilchsäure mit einem überschüssigen Kupferoxydsalz (nicht Kupferchlorid) eine tiefviolette Lösung (keinen Niederschlag, wie die isomere β -Thiomilchsäure und wie die Thioglykolsäure), welche bei Überschuß von Thiomilchsäure entfärbt wird; nach Friedmann kann man hinzufügen, daß die Färbung bleibend ist. Die β -Thiomilchsäure gibt nach Lovén mit Kupfersulfat einen «lichtvioletten Niederschlag», welcher bald schmutzig grün wird; ist das Kupfersalz nicht überschüssig, so entsteht ein gelber amorpher Niederschlag, der bei Erwärmen weiß und kristallinisch wird. Diese Beschreibung ist aber etwas unvollständig: auch die reine, durch Reduktion des Disulfids dargestellte α -Säure kann mit Kupfersulfat eine gelbgraue Fällung geben. Dies ist der Fall, wenn die Wasserlösung der Säure nicht zu verdünnt ist und das Kupfersulfat in nur geringer Menge zugesetzt wird; dann tritt eine schnell vorübergehende braunviolette Färbung auf, und es entsteht eine reichliche Ausscheidung eines gelblichen Niederschlags: setzt man dann mehr Kupfersulfat hinzu, tritt die Färbung auf und wird dauerhaft; der Niederschlag scheint sich zum Teil aufzulösen; eine braunviolette Fällung bleibt aber bestehen. Wenn man aber zu einer hinreichend verdünnten, wässerigen Lösung der α -Thiomilchsäure auf einmal einen Überschuß von Kupfersulfat zusetzt, so entsteht eine bleibende, schöne, violette Farbe ohne Trübung der Flüssigkeit. Die aus dem Disulfid dargestellte β -Säure gibt mit Kupfersulfat einen gelblichen Niederschlag, ohne daß eine violette Färbung zu sehen ist; der Niederschlag ist auch in ganz verdünnter Lösung wahrnehmbar.

Nach Suter¹⁾ gibt die α -Thiomilchsäure ein gut kristal-

¹⁾ Suter, Diese Zeitschr., Bd. XX, 1895, S. 578.

lissierendes Benzylderivat, wenn sie mit Benzylchlorid und Alkali geschüttelt wird. Die Benzyl- α -Thiomilchsäure habe ich in folgender Weise gereinigt: die Säure wurde mit Soda gelöst, die Lösung mit Salzsäure zu eben beginnender Trübung versetzt, mit Tierkohle versetzt und filtriert; zum klaren Filtrat wurde noch Salzsäure gesetzt, bis die milchige Trübung nicht weiter zunahm; beim Umrühren bildeten sich Kristalle beinahe augenblicklich und setzten sich ab, wobei die Flüssigkeit klar wurde. Die Kristalle bildeten längere oder kürzere Prismen, deren Enden durch zwei schräge Flächen begrenzt waren. Sehr oft waren die Prismen zu Platten umgestaltet. Der Schmelzpunkt der Kristalle war $76\frac{1}{2}^{\circ}$ (unkorr.): ich fand ihn also ein wenig höher, als von Suter angegeben wird (74°). Die Kristalle sind nur wenig löslich in Wasser und in Erdöläther, leichter in gewöhnlichem Äther und leichter in Alkohol. Beim Erhitzen mit Natronlauge und Bleiacetat geben sie kein Schwefelblei.

Die β -Thiomilchsäure gab mir auch ein ebenso gut kristallisierendes Benzylderivat, das jedoch in Wasser leichter löslich zu sein schien. Die Grundform dieser Kristalle schien die von rhombischen Tafeln zu sein, welche aber oft ganz schmal waren. Der Schmelzpunkt der Kristalle war $81\text{—}81\frac{1}{2}^{\circ}$.

Ein Gemenge gleicher Teile der beiden Benzylmilchsäuren, durch gemeinsames Auflösen in Soda und Ausfällen bereitet, begann schon bei 54° zu schmelzen und war bei 60° vollständig geschmolzen, also bei einer beträchtlich niedrigeren Temperatur, als wie die einzelnen Säuren.

Bei gelinder Oxydation gehen die Thiomilchsäuren in Disulfide über.

Das Disulfid der α -Thiomilchsäure, die α -Dithiodilactylsäure, entsteht leicht bei Zusatz von Eisenchlorid oder Jod zur wässrigen Lösung der Säure; weniger leicht durch die Einwirkung der Luft. Dieses Disulfid löst sich schon bei gewöhnlicher Temperatur reichlich in Wasser, und bei gelindem Erwärmen ist es darin sehr leicht löslich. Erst aus ziemlich konzentrierter Lösung kristallisiert es aus; es hat große Neigung, Efflorescenzen zu bilden; die Reinigung durch Umkristallisation bietet deshalb Schwierigkeiten dar. Das Disulfid ist in Wein-

geist und in Äther leicht löslich: aus wässriger Lösung geht es leichter und vollständig in Äther über. Die Lösung in einer geringen Menge Äther scheidet bei Zusatz von Erdöl-äther Gruppen von nadelförmigen Kristallen ab: auch in dieser Weise bietet doch die Reinigung Schwierigkeiten dar. Der Schmelzpunkt der Kristalle wird von Lovén zu 142° angegeben: zwar ist es mir gelungen, diesen Schmelzpunkt zu erreichen: in einer Darstellung blieb aber trotz mehrmaliger Umkristallisation der Schmelzpunkt bei 135° konstant. Die Thiomilchsäure kann in stereoisomeren Formen vorkommen; dies kann doch nicht in diesem Falle zur Erklärung des Verhaltens herangezogen werden. Wie es zu erwarten war, zeigte sich die Lösung der aus Brenztraubensäure dargestellten α -Dithiodilactylsäure optisch inaktiv. Die Schwierigkeiten, dieses Disulfid rein zu erhalten, machen es zur Identifizierung der α -Thiomilchsäure weniger geeignet. Das Disulfid gibt Schwefelblei beim Erwärmen mit Natronlauge und Bleiacetat. Die Reaktionen mit Eisenchlorid, Kupfersulfat und Nitroprussidnatrium fallen negativ aus.

Die β -Dithiodilactylsäure ist viel schwerer löslich in kaltem Wasser als wie das eben erwähnte Disulfid der α -Säure und scheidet sich leicht in Blättchen aus. Nach dem Auflösen in kochendem Wasser scheidet es sich bei der Abkühlung leicht aus und kann in dieser Weise leicht gereinigt werden. Den Schmelzpunkt fand ich bei 155° : in der Litteratur findet man die Ziffern 153 — 154° . Zur Identifizierung der β -Thiomilchsäure ist die Darstellung des Disulfids gut geeignet. Friedmann hat diesen Weg befolgt.

Ein Gemenge von gleichen Teilen der Disulfide der α - und der β -Thiomilchsäuren, durch Abdampfen der Lösung im Alkoholäther bereitet, begann schon bei 115° zu schmelzen und war bei 133° völlig geschmolzen. Ein durch Zusammenreiben der Disulfide bereitetes Gemenge verhielt sich beinahe in derselben Weise.

Die in der folgenden Untersuchungsserie studierten Zersetzungsprodukte des Cystins wurden durch Erhitzen der wässrigen

Lösung von salzsaurem Cystein gewonnen. Nach verschiedenen Versuchen habe ich das folgende Verfahren am besten gefunden.

Das Cystin wurde durch Zinn und Salzsäure zu Cystein reduziert. Die durch Schwefelwasserstoff von Zinn befreite Lösung wurde bei niedrigem Drucke auf dem Wasserbade bis zum Trocknen abdestilliert. Der Rückstand wurde in einer hinreichenden Menge Wasser gelöst, sodaß die Lösung weniger als 2% Substanz enthielt. Diese Lösung wurde (etwa 1 Stunde) in dem Siedtopfe auf 140—145° erhitzt, bis der herausgelassene Dampf ein mit Bleiacetatlösung getränktes Papier ziemlich stark schwärzte. Die Lösung wurde dann mit Zinn und Salzsäure in der Wärme behandelt, das Zinn mit Schwefelwasserstoff entfernt und die Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung wurde noch einmal bei niedrigem Drucke abdestilliert und weiter, wie beschrieben, erhitzt usw. Dasselbe Verfahren wurde wiederholt, bis eine Probe der mit Äther erschöpften wässrigen Lösung nach Abstumpfen der Säure keine oder nur ganz schwache Blaufärbung mit Eisenchlorid gab und die Zersetzung des Cysteins also eine vollständige war.

Die ätherischen Lösungen wurden durch Schütteln mit ein wenig Wasser gewaschen, zum größeren Teil abdestilliert und nach Zusatz von Wasser ließ ich den Äther freiwillig verdunsten. Die wässrige Lösung wurde, wie unten beschrieben, auf die Gegenwart von Thiomilchsäure geprüft. Diesen Rückstand habe ich auch mehrmals auf Brenztraubensäure untersucht. Wie ich in einer vorigen Mitteilung erwähnt habe,¹⁾ konnte ich nur einmal eine geringe Menge eines Hydrazins daraus erhalten, welches die Gegenwart dieser Säure andeutete.

Zur Begründung des oben beschriebenen Verfahrens will ich folgendes anführen. Die Temperatur 140° scheint die geeignetste zu sein: eine niedrigere Temperatur wirkte nicht kräftig genug; bei einer Temperatur über 150° scheint die Thiomilchsäure allzuleicht zerstört zu werden. — Wenn die Lösung zu konzentriert ist, setzt sich eine harzige, schwefelhaltige Masse ab. — Die Gegenwart von einer größeren Menge

¹⁾ K. A. H. Mörner. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 130, 1904.

freier Salzsäure scheint die Spaltung des Cystins eher zu hemmen als zu befördern. — Erhitzen von Cystin mit Salzsäure und Zinn auf 140° (um einer besonderen Darstellung des Cysteins zu entgehen) gab mir keine Thiomilchsäure. — Beim Erhitzen einer neutralisierten Cysteinlösung auf 140° mit amalgamiertem Aluminium fand zwar Spaltung statt, und es wurde ebenfalls Wasserstoff entwickelt; die Ausbeute an Thiomilchsäure war aber sehr gering.

Die nach Verdunstung der oben erwähnten ätherischen Lösungen erhaltene wässrige Lösung war durch eine nur geringe Menge Substanz von Salbenkonsistenz getrübt. Diese Substanz war schwefelhaltig und gab Schwefelblei beim Erhitzen mit Natronlauge und Bleiacetat. Sie konnte nicht weiter untersucht werden.

Die filtrierte wässrige Lösung des Ätherrückstandes gab übereinstimmend in den ausgeführten Versuchen folgende Reaktionen einer Thiomilchsäure: Geruch wie α -Thiomilchsäure. Fällung mit Quecksilberchlorid. Mit Nitroprussidalkali und Natronlauge eine schöne Purpurfarbe, die binnen kurzem verschwand. Mit Eisenchlorid eine schnell verschwindende blaue Farbe. Mit einer kleinen Spur Eisenchlorid und ein wenig Ammoniak eine schöne, beständige rotviolette Farbe. Mit Kupfersulfat, in geringer Menge zugesetzt, eine vorübergehende braunviolette Farbe und einen reichlichen graugelblichen Niederschlag; mit mehr Kupfersulfat entstand eine beständige, violette, etwas ins Bräunliche gehende Farbe. Die Flüssigkeit war dann meistens mehr oder weniger trübe. Die Lösung gab beim Erhitzen mit Natronlauge und Bleiacetat eine Abscheidung von Schwefelblei.

Daß α -Thiomilchsäure vorlag, wird durch den Geruch, das Verhalten gegen eine Spur Eisenchlorid und Ammoniak und durch die Kupfersulfatreaktion angegeben. Zur näheren Untersuchung wurde in mehreren Versuchen das Benzylderivat nach Suter durch Schütteln mit Benzylchlorid und Natronlauge dargestellt. Die gereinigte Benzylverbindung hatte immer das Aussehen der Benzyl- α -Thiomilchsäure und schmolz (auf demselben Thermometer) immer gleichzeitig mit einem synthe-

tisch dargestellten Präparat derselben bei 76 bis 76¹/₂°. Da die Benzyl- β -Thiomilchsäure und ebenso ein Gemenge der beiden Benzylthiomilchsäuren bei anderer Temperatur schmolzen, bestand die Benzylverbindung aus reiner Benzyl- α -Thiomilchsäure. Einmal wurde das Präparat durch Übergießen mit einer geringen Menge Benzol (worin die Substanz nicht wenig löslich war) und Zusatz von Erdöläther fraktioniert: die beiden, etwa gleich großen Fraktionen hatten denselben Schmelzpunkt (76¹/₂°) und denselben Schwefelgehalt.

Die Analysen von fünf verschiedenen Präparaten der Benzyl- α -Thiomilchsäure aus Cystin gaben folgende Ergebnisse:

Präparat I. Bei der Schwefelbestimmung durch Verbrennen mit Natriumhydroxyd und Salpeter usw. gaben 0.1142 g Substanz 0.1344 g BaSO₄. Der Schwefel = 0.0184 g = 16.13% S.

Präparat II. Bei der Schwefelbestimmung gaben 0.1186 g der Substanz 0.1404 g BaSO₄. Der Schwefel also 0.0193 g = 16.25% S.

Präparat III. Die Schwefelbestimmung in 0.1033 g gab 0.1227 g BaSO₄ = 0.01685 g Schwefel = 16.31% S.

Präparat IV. Bei der Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs durch Verbrennung in Sauerstoff mit vorliegendem Kupferoxyd, Bleichromatasbest und Kupfer gaben 0.2538 g 0.5708 g CO₂ und 0.1446 g H₂O, was 0.1557 g Kohlenstoff = 61.34% C und 0.0162 g Wasserstoff = 6.39 H entspricht.

Bei der Schwefelbestimmung gaben 0.1514 g der Substanz 0.1800 g BaSO₄, was 0.02471 g Schwefel oder 16.32% S entspricht.

Präparat V. Bei der Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs wie in Präparat IV gaben 0.2357 g der Substanz 0.5281 g CO₂ und 0.1312 g H₂O, was 0.1440 g Kohlenstoff = 61.11% C und 0.0147 g Wasserstoff = 6.24% H entspricht.

Berechnet für	Gefunden				
Benzylthiomilchsäure	Präp. I.	Präp. II.	Präp. III.	Präp. IV.	Präp. V.
C ₁₀ H ₁₂ O ₂ S:	Präp. I.	Präp. II.	Präp. III.	Präp. IV.	Präp. V.
C 61.16%	—	—	—	61.34%	61.11%
H 6.18%	—	—	—	6.39%	6.24%
S 16.34%	16.13%	16.25%	16.31%	16.32%	—

In noch einem Versuche habe ich die erhaltene Thiomilchsäure durch Oxydation mit Eisenchlorid in das Disulfid übergeführt, welches durch Äther aufgenommen und nach Eintrocknen der Ätherlösung durch mehrmalige Umkristallisation aus Wasser gereinigt wurde. Das Disulfid verhielt sich wie

das aus Brenztraubensäure bereitete Disulfid der α -Thiomilchsäure. Die oben erwähnten Schwierigkeiten bei der Reinigung machten sich auch hier bemerkbar. Die auf dem Boden des Kristallisationsgefäßes gebildeten Kristalle wurden von den an den Wänden befindlichen Efflorescenzen getrennt und für sich bearbeitet. Das so erhaltene reinste Präparat hatte den Schmelzpunkt 138° , also ein wenig niedriger, als er für die reine α -Dithiodilactylsäure angegeben wird (142°): wie oben erwähnt, kam es aber auch bei der Darstellung dieser Säure aus Brenztraubensäure vor, daß der Schmelzpunkt, trotz aller Versuche, dieselbe zu reinigen, etwas zu niedrig gefunden wurde. Die Kristalle waren wasserfrei. Ihr Aussehen und Löslichkeit stimmten mit der α -Säure überein und waren ganz verschieden von denen der β -Säure.

Der Schwefelgehalt des Präparates stimmte mit demjenigen einer Dithiodilactylsäure gut überein.

0,1567 der Substanz (bei 110° getrocknet) gaben nach der Verbrennung mit Natriumhydroxyd und Salpeter usw. $0,3500 \text{ g BaSO}_4$, was $0,04806 \text{ g S} = 30,62\% \text{ S}$ entspricht.

Berechnet für	Gefunden
Dithiodilactylsäure	
$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4\text{S}_2$	
S 30,51%	30,62%

Eine andere, aus den Efflorescenzen erhaltene Kristallfraktion begann schon bei 107° zu schmelzen und war bei 115° vollständig geschmolzen; sie enthielt offenbar ein Gemenge verschiedener Substanzen. Da die Zergliederung dieses Gemenges durch Kristallisation nicht gelang, wollte ich durch Analyse desselben und Untersuchung der Mutterlauge Aufschluß über seine Bestandteile zu gewinnen suchen.

Bei der Bestimmung des Schwefelgehaltes der Kristalle wurden aus $0,1234 \text{ g}$ der Substanz $0,2771 \text{ g BaSO}_4$ erhalten, was $0,03805 \text{ g}$ Schwefel $= 30,83\% \text{ S}$ entspricht.

Der Schwefelsäuregehalt bot also keine auffallende Abweichung von einer Dithiodilactylsäure dar. Daß der niedrige Schmelzpunkt nicht durch Thiodilactylsäure ($17,98\% \text{ S}$) bedingt war, kann als abgemacht betrachtet werden.

Die Abweichung des Schmelzpunktes von demjenigen der synthetisch dargestellten Säure kann nicht durch die Gegenwart eines optisch aktiven Disulfids erklärt werden. Auch die Lösung des aus Cystin dargestellten Disulfids erwies sich als optisch inaktiv.

Man könnte ferner an die Möglichkeit denken, daß das Präparat neben α -Dithiodilactylsäure auch das Disulfid der β -Thiomilchsäure oder der Thioglykolsäure enthielt.

Zur Prüfung auf die β -Thiomilchsäure wurden die Kristalle in Wasser gelöst, durch Zinn und Salzsäure reduziert, das Zinn durch Schwefelwasserstoff entfernt und die gesuchte Säure mit Äther extrahiert. Die Wasserlösung der Säure verhielt sich wie α -Thiomilchsäure: mit einer Spur von Eisenchlorid und etwas Ammoniak entstand eine beständige, schöne, rotviolette Farbe. Mit Kupfersulfat, in geringer Menge zugesetzt, entstand eine schnell vorübergehende, braunviolette Farbe und bildete sich ein reichlicher, graugelber Niederschlag. Ein Überschuß an Kupfersulfat, auf einmal zugesetzt, gab eine intensive, violette Farbe und nur mäßige Trübung der Flüssigkeit. Auch bei sehr großer Verdünnung trat die violette Farbe stark und schön hervor, während die Flüssigkeit durch eine braune Fällung nur ganz wenig getrübt war. Diese Beobachtungen zeigen, daß das Präparat wenigstens ganz überwiegend α -Thiomilchsäure enthielt. Die Trübung, welche auch in verdünnter Lösung durch Kupfersulfat entstand, kann vielleicht als ein Zeichen der Gegenwart von β -Thiomilchsäure betrachtet werden. Da ich ferner gesehen habe, daß ein Gemenge der Disulfide der α - und der β -Thiomilchsäuren bei einer niedrigeren Temperatur schmilzt, als wie das Disulfid der α -Säure, kann vielleicht auch der niedrige Schmelzpunkt in derselben Richtung gedeutet werden. Es scheint mir also möglich, aber gar nicht sicher gestellt, daß eine geringe Menge β -Thiomilchsäure zugegen war. Obgleich ich die Bildung von β -Thiomilchsäure bei der von mir ausgeführten Spaltung des Cystins nicht nachweisen konnte, will ich, wie ich unten zeigen werde, den Befund von Friedmann über die Abspaltung von β -Thiomilchsäure aus dem Cystin nicht bestreiten. Daß aber bei der von mir ausgeführten Spaltung des

Cystins (aus Hornsubstanz und aus Menschenhaaren) α -Thiomilchsäure ganz überwiegend oder vielleicht allein gebildet wurde, geht aus dem Mitgeteilten hervor.

Da das Disulfid der Thioglykolsäure in Wasser leicht löslich ist, wurde die Mutterlauge der oben erwähnten Kristalle auf diese Säure untersucht. Sie wurde mit Zinn und Salzsäure reduziert, das Zinn durch Schwefelwasserstoff entfernt und die Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Die in Äther gelöste Substanz wurde benzyliert und die Benzylverbindung aus konzentrierter Lösung in Soda durch Zusatz von Salzsäure abgeschieden. Die zuerst milchige Flüssigkeit setzte fast sogleich Kristalle ab und wurde klar. Die Kristalle schmolzen bei $76\frac{1}{2}^{\circ}$. Sie bestanden also aus Benzyl- α -Thiomilchsäure. Aus Thioglykolsäure habe ich mit Benzylchlorid und Natronlauge ein Benzylderivat erhalten, das sich bei Ausfällung aus der Lösung in Soda in der Form von öligen Tropfen abschied: einmal bildeten sich Kristalle, die aber nicht gut ausgebildet waren: sie schmolzen bei 57° ; nach der Auflösung der Kristalle in Soda entstanden bei erneuter Abscheidung mit Salzsäure nur ölige Tropfen, die nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten. Da die Kristalle der Benzylverbindung ganz homogen waren, wie Benzyl- α -Thiomilchsäure aussahen und genau den Schmelzpunkt dieser Säure hatten, betrachte ich die Gegenwart von Thioglykolsäure unter den von mir dargestellten Spaltungsprodukten des Cystins als ausgeschlossen.

Die α -Thiomilchsäure und möglicherweise daneben eine geringe Menge der β -Säure wurde also bei der von mir durchgeführten Spaltung des Cystins erhalten. Daß die α -Thiomilchsäure bei weitem nicht quantitativ erhalten wurde, ist offenbar, da die Menge derselben in den verschiedenen Versuchen sehr verschieden war. Die größte erhaltene Menge war wahrscheinlich viel geringer als die theoretisch mögliche: ein großer Teil der Säure wurde ohne Zweifel bei der Darstellung zersetzt. Die erhaltene Menge war doch bisweilen ganz bedeutend; in dem zuletzt erwähnten Versuche entsprach die Menge des kristallisierten Disulfids mehr als 13% des Cystins.

Ich will jetzt die übrigen gefundenen Spaltungsprodukte bei der Zersetzung des Cysteins besprechen.

Wie oben angegeben, wird Schwefelwasserstoff entwickelt. Die Menge desselben konnte nicht bei dem von mir befolgten Verfahren bei der Zersetzung des Cysteins bestimmt werden. Die Menge desselben war aber reichlich und dürfte mit der gefundenen Thiomilchsäure zusammen der Hauptmenge des Schwefels im Cystein entsprechen. Wenn die Cysteinlösung hinreichend verdünnt war, wurde bei dem Erhitzen keine schwefelhaltige, harzige Substanz ausgeschieden: die Flüssigkeit blieb klar und gab, nach vollständiger Zersetzung des Cysteins und Entfernung der Thiomilchsäure und des Schwefelwasserstoffs, keine bedeutende Bildung von Schwefelblei bei dem Erhitzen mit Natronlauge und Bleiacetat.

Bei der Spaltung des Cysteins wurde eine reichliche Menge von Ammoniak gebildet. In einem Versuche, wo diese bestimmt wurde, entsprach das Ammoniak der Hälfte des Stickstoffs in dem bearbeiteten Cystin.

Ein anderes Produkt, welches nachgewiesen werden konnte, war Alanin.

Nach vollständiger Zersetzung des Cysteins durch Erhitzen und Entfernung der Thiomilchsäure durch Äther wurde die wässrige Lösung auf dem Wasserbad bei niedrigem Drucke eingetrocknet. Der Rückstand wurde mit Weingeist erschöpft, wobei Chlorammonium ungelöst zurückblieb: die Lösung wurde eingedampft, mit Baryumhydroxyd versetzt und das Ammoniak durch Stehen in gelinder Wärme entfernt: der Überschuß an Baryt wurde mit Kohlensäure entfernt. Die Lösung wurde nach Baumann mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt. Die mit Eis abgekühlte, nicht zu konzentrierte Lösung wurde mit Salzsäure versetzt, wobei nur Benzoessäure auskristallisierte. Die Mutterlauge wurde mit Essigäther ausgeschüttelt. Die Essigätherlösung hinterließ bei dem Verdampfen eine reichliche Menge Kristalle, welche durch eine halb feste, schwefelhaltige Substanz verunreinigt waren. Die Reinigung der Kristalle gelang am besten durch Waschen mit ein wenig Äther, Lösen in der möglichst geringen Menge von kochendem Wasser, Behandeln

mit Tierkohle und Abkühlen der Lösung, wobei sich Kristalle abschieden, welche erneuerter Reinigung unterworfen wurden. Die Kristalle bildeten langgestreckte sechseckige Platten: zwei von deren Rändern waren einigemal länger als die übrigen. Sie waren in kaltem Wasser ziemlich schwerlöslich; durch warmes Wasser wurden sie unschwer aufgenommen. Sie lösten sich wenig in Äther und nicht in Erdöläther. Von Weingeist wurden sie leicht und von Essigäther ziemlich leicht gelöst. Sie enthielten kein Kristallwasser. Die Kristalle schmolzen bei $162-163^{\circ}$ (unkorr.). Für racemisches Benzoylalanin wird von E. Fischer¹⁾ der Schmelzpunkt zu $162-163^{\circ}$ (unkorr.) und als mit dem von Baum²⁾ gefundenen Schmelzpunkt, $165-166^{\circ}$ (korr.), korrespondierend angegeben.

Die Analyse gab auch Zahlen, die mit der Zusammensetzung des Benzoylalanins übereinstimmen.

Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl-Wilfarth wurden für 0,3582 g Substanz 18,2 cem Schwefelsäure n_{10} verbraucht, was 0,0261 oder 7,28% N entspricht.

Bei der Verbrennung im Sauerstoff mit vorliegendem Kupferoxyd und Kupfer gaben 0,3163 g der Substanz 0,7151 g CO_2 und 0,1632 g H_2O , was 0,195 g = 61,68% C und 0,0183 g = 5,78% H entspricht.

Berechnet für	Gefunden
Benzoylalanin	
$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$	
C 62,13%	61,68%
H 5,75%	5,78%
N 7,27%	7,28%

Die Menge des gebildeten Alanins war nicht gering: wie viel sie von dem bearbeiteten Cystin ausmachte, ist mir aber nicht möglich, zu sagen.

Das bei den oben beschriebenen Untersuchungen bearbeitete Cystin war aus Menschenhaaren und aus der Substanz des Rinderhorns dargestellt worden. Es bildete Kugeln von nicht besonders gut ausgebildeten Kristallen.

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. d. chem. Gesellsch. 1899, Bd. 32, S. 2455.

²⁾ Baum, Diese Zeitschr. 1885, Bd. IX, S. 467.

Als Zersetzungsprodukte bei dem Erhitzen auf 140° von dem daraus dargestellten salzsauren Cystein wurden nachgewiesen: α -Thiomilchsäure, möglicherweise eine geringe Menge β -Thiomilchsäure, Schwefelwasserstoff, Ammoniak und Alanin.

Die α -Thiomilchsäure muß wohl als unmittelbares Spaltungsprodukt des Cysteins angesehen werden. Das Vorkommen der α -Thiomilchsäure betrachte ich doch nicht als unvereinbar mit dem Befunde Friedmanns, da er nach einer anderen Methode aus dem Cystin β -Thiomilchsäure erhielt. Weder Friedmanns noch meine Versuche sprechen gegen das gleichzeitige Vorkommen der beiden Säuren in dem Cystin. Soweit man aus dem Berichte Friedmanns schließen kann, hat er eine nur geringe Ausbeute an β -Thiomilchsäure bekommen. Die von mir erhaltene α -Thiomilchsäure entspricht bei weitem nicht der Hälfte des Schwefels im bearbeiteten Cystin.

Andere von meinen Beobachtungen deuten gerade auf die Gegenwart der β -Säure hin. Die oben mitgeteilte Untersuchung des Disulfids, obgleich mit dieser Annahme vereinbar, kann in dieser Hinsicht nur wenig aussagen. Von größerer Bedeutung scheint mir die Auffindung von Alanin zu sein. Sowohl Neuberg wie Friedmann haben gefunden, daß der Schwefel und die Aminogruppe des Cystins an verschiedenen Kohlenstoffatomen haften. Die von Friedmann erhaltene Ausbeute an Taurin (etwa 50%) aus dem Cystin ist so groß, daß man in Anbetracht der unumgänglichen Verluste bei der Darstellung theoretisch annehmen muß, daß das Cystin gänzlich in Taurin übergeführt werden kann. Dies ist denkbar bei der Herleitung des Cystins sowohl aus α -Thiomilchsäure, wie aus β -Thiomilchsäure, wenn nur die Aminogruppe und der Schwefel an verschiedene Kohlenstoffatome gebunden sind. Die Annahme Baumanns von einer α -Stellung des Schwefels und der Aminogruppe muß aber, wenigstens bis auf weiteres, aufgegeben werden. Da im Alanin die Aminogruppe sich in α -Stellung befindet, muß man für den Schwefel die β -Stellung annehmen; das Auftreten von Alanin scheint mir also anzugeben, daß in dem untersuchten Cystin neben α -Thio- β -Aminomilchsäure auch β -Thio- α -Aminomilchsäure zugegen war, die

aber unter Abspaltung von Schwefelwasserstoff in Alanin übergeführt wurde.

Durch meine jetzt mitgeteilten Untersuchungen wird die Cystinfrage noch mehr umfassend, als sie früher erschien: nicht nur daß man, wie ich früher gezeigt habe, stereoisomeren Formen des Cystins begegnen kann: jetzt muß man auch mit strukturisomeren Cystinen oder Cysteinen rechnen, welche in dem untersuchten Cystin gleichzeitig vorkommen oder vorkommen können. Hoffentlich wird der von Erlenmeyer angekündigte ausführliche Bericht über die Synthese des Cystins, wie die von Neuberg in Aussicht gestellte Mitteilung über die Natur des Harncystins und des Eiweißcystins wertvolle Aufschlüsse zur Klärung der Fragen liefern.

Wenn ich eine vorläufige Deutung meiner Befunde geben wollte, so schienen sie anzugeben, daß in dem bearbeiteten Cystin sowohl die β -Amino- α -Thiomilchsäure wie die α -Amino- β -Thiomilchsäure gleichzeitig vorkam, vielleicht zu gleicher Menge. Bei der Zersetzung wurden aus der α -Amino- β -Thiomilchsäure Schwefelwasserstoff und Alanin gebildet: aus der β -Amino- α -Thiomilchsäure wurden Ammoniak und α -Thiomilchsäure gebildet: gleichzeitig dürfte eine Oxydation stattfinden und Cystein zu Cystin oder Thiomilchsäure zu Disulfid oxydiert werden.

Interessant wäre es, wenn alle verschiedenen Formen des Cystins aus den Proteinstoffen gleichzeitig Derivate sowohl der α - wie der β -Thiomilchsäure wären. In dieser Hinsicht kann ich nur einen Versuch anführen. Ein aus der Substanz des Rinderhorns dargestelltes Präparat, welches aus schönen sechsseitigen Tafeln bestand und dessen optische Drehung $\alpha_D = -223^\circ$ war, wurde zu Cystein reduziert und weiter, wie oben beschrieben, bearbeitet. Dabei wurde eine Benzylthiomilchsäure von dem Schmelzpunkt $76\frac{1}{2}^\circ$ erhalten; es lag also α -Thiomilchsäure vor. Zu bemerken ist, daß Friedmann die β -Thiomilchsäure aus Cystin darstellte, welches aus sechsseitigen Tafeln bestand und aus Rinderhorn oder Menschenhaaren dargestellt worden war.

Für die Kenntnis der cystingebenden Gruppe der Proteinstoffe ist diese Frage von keiner geringen Bedeutung. Unter

anderem wäre es dann so gut wie selbstverständlich, daß diese Gruppe zwei Cysteine und also zwei Schwefelatome enthalten muß. Die bisherige, auf Tatsachen begründete Erfahrung bezeugt eine solche Auffassung; schon vor einigen Jahren bin ich¹⁾ durch meine Untersuchungen zu dieser Auffassung gekommen, und dieselbe ist durch spätere Untersuchungen von Patten²⁾ bestätigt worden.

Stockholm, im Juni 1904.

¹⁾ K. A. H. Mörner, Diese Zeitschr. 1902, Bd. XXXIV, S. 287.

²⁾ Patten, Diese Zeitschr. 1903, Bd. XXXIX, S. 350.