

Studien über die Synthese von Polypeptiden, an deren Aufbau Cystin beteiligt ist.

Von

E. Abderhalden und Hans Spinner.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)
(Der Redaktion zugegangen am 4. Juni 1919.)

Zum Studium der Eigenschaften von Polypeptiden, an deren Aufbau Cystin beteiligt ist, haben wir die frühere Arbeit von dem einen von uns (Abderhalden) und Wybert¹⁾ wieder aufgenommen. Es bestand die Absicht, möglichst hochmolekulare Polypeptide darzustellen. Leider erreichten wir das gesteckte Ziel nur unvollkommen. Die Reinigung der dargestellten Polypeptide wurde, je höher das Molekulargewicht anstieg, immer schwieriger. Die Neigung zu kristallisieren nahm ab. Mit nicht ganz sicher einheitlichen Produkten konnte schon deshalb nicht gearbeitet werden, weil bei der Synthese mit cystinhaltigen Polypeptiden immer mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß bei der Kuppelung mit Halogenazylen nicht zwei, sondern auch nur ein Molekül davon in das Polypeptidmolekül eintritt. Verschiedene Beobachtungen deuten darauf hin, daß der letztere Fall bei schon höher molekularen Produkten in der Tat eintritt. Wir hatten das Cystin als Baustein gewählt, um ein schwefelhaltiges, höher molekulares Polypeptid zu erhalten, vor allem aber auch deshalb, weil ziemlich rasch hochmolekulare Produkte zu erwarten waren,

¹⁾ Emil Abderhalden und Ernst Wybert, Ber. d. D. chem. Ges. Bd. 49, S. 2449 (1916).

weil vorausgesetzt werden durfte, daß immer zwei Aminosäuremoleküle auf einmal eingeführt werden konnten. Wenn wir die wichtigsten Befunde, obwohl unser Plan nicht voll zur Ausführung kam, schon mitteilen, dann geschieht dies, weil der eine von uns (Spinner) Halle verläßt. Die gemachten Beobachtungen werden bei erneuten Bemühungen auf diesem Gebiete doch von Wert sein. Die Versuche sollen später wieder aufgenommen und ergänzt werden. Von den gewonnenen Resultaten sei hervorgehoben die Beobachtung, daß Dichloracetyl-cystin schwache Mutarotation zeigt. Ferner haben wir beobachtet, daß bei der Einwirkung von Alkohol und wässerig-alkoholischem Ammoniak auf Dichloracetyl-cystin das sich abscheidende Diammoniumsalz sich allmählich in eine amorphe Masse verwandelt. Sie quillt im Wasser zu einer voluminösen Masse auf. Die Substanz ist chlorfrei. Über ihre Zusammensetzung sind wir uns noch nicht im klaren, da die Substanz keine stimmenden Analysenzahlen ergab. Sie läßt sich infolge ihrer Schwerlöslichkeit schwer reinigen.

Darstellung von Dichloracetyl-l-cystin.

44,5¹⁾ g Cystin werden in einer Glasflasche mit eingeschliffenem Stopfen von mindestens 1¹/₄ Liter Inhalt in 375 ccm ⁿ/₁-Natronlauge gelöst und durch Einstellen in Eiswasser auf 5° abgekühlt. Nun gibt man abwechselungsweise in etwa 10 Portionen 50 g Chloracetylchlorid und ca. 550 ccm Normalnatronlauge zu, indem man nach jeder Zugabe von Chloracetylchlorid heftig schüttelt. Das Öl verschwindet fast augenblicklich unter leichter Temperaturerhöhung; vor jeder neuen Zugabe wird wieder auf 5—6° abgekühlt. Dauer des Eintragens ca. 1¹/₂ Stunden; die Reaktion der Flüssigkeit soll zum Schluß ganz schwach alkalisch sein. Man läßt eine Stunde stehen und säuert hierauf mit 125 ccm 5 n-Salzsäure an, wobei die gelbe Färbung fast völlig verschwindet und gelblich-weiße Flocken ausgefällt werden, welche sich beim Schütteln zu

¹⁾ Die angegebenen Mengenverhältnisse wurden gewählt; um das lästige Abwiegen des Chloracetylchlorids zu vermeiden, welches in Einschmelzflaschen zu 50 g bezogen wurde (von Kahlbaum).

einem braungelben Harz zusammenballen. Man filtriert zweckmäßig davon ab und extrahiert dann die saure Lösung 5 mal mit im ganzen 1—1½ Liter Essigäther. Die vereinigten Auszüge werden mit Natriumsulfat getrocknet und der Essigäther auf dem Wasserbad abdestilliert, bis das Volumen der konzentrierten Lösung etwa 140 ccm beträgt; man gießt in eine Kristallisierschale und spült mit etwas Essigester nach. Bald beginnt sich das Dichloracetylcystin in flimmernden Blättchen abzuschneiden; man läßt über Nacht unbedeckt stehen und nutschts dann die kristallisierte Masse ab. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator über H_2SO_4 erhält man eine Ausbeute von 55 g oder 75% der Theorie.

Das Dichloracetyl-cystin bildet nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigäther schöne fächerförmige Prismenbüschel vom F. P. 137—139°. Aus Wasser kristallisiert es in seidenähnlichen Kugeln von langen Nadeln, die ein Molekül Kristallwasser enthalten und bei 96—98° schmelzen.

Dichloracetyl-cystin zeigt schwache Mutarotation in der Weise, daß der Drehungswinkel nach erfolgter Auflösung der Substanz in Alkohol allmählich ansteigt, beim Schütteln der Polarisationsröhre aber wieder zurückgeht, um von neuem wieder anzusteigen, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist.

1. 0,4001 g Dichloracetyl-cystin (F. P. 137—139°) wurden im Meßkolben von 10 ccm in Alkohol gelöst. α_D^{20} sofort nach Lösung: $-4,92^\circ$, nach 1¼ Stunden: $-5,15^\circ$, nach 2½ Stunden: $-5,22^\circ$ im 1 dm-Rohr; also

$$[\alpha]_D^{20} = (-122,97^\circ \text{ bis}) -130,47^\circ.$$

2. 0,4000 g Dichloracetyl-cystin (F. P. 137—139°) zu 10 ccm in Alkohol gelöst. α_D^{21} im 2 dm-Rohr: $-9,77^\circ$, nach 20 Minuten: $-10,22^\circ$; beim Schütteln sinkt α_D wieder auf $-9,86^\circ$ und steigt dann wieder über Nacht auf $-10,49^\circ$; also

$$[\alpha]_D^{21} = (-122,1^\circ \text{ bis}) -131,1^\circ.$$

Auch das aus dem Wasser kristallisierte, 1 Molekül Kristallwasser haltige Dichloracetyl-cystin zeigt diese Erscheinung der Mutarotation.

0,4003 g Dichloracetyl-cystin · H₂O (F. P. 96—98°) zu 10 ccm in Alkohol gelöst. α_D^{21} im 2 dm-Rohr: sofort nach Lösung: — 9,58°, nach 10 Minuten: — 9,85°, nach 20 Minuten: — 9,93°; beim Schütteln sinkt α_D wieder auf — 9,64° und steigt dann über Nacht wieder auf — 10,07°; also

$$[\alpha]_D^{21} = (-119,7^\circ \text{ bis}) -125,8^\circ.$$

Darstellung von Diglycyl-l-cystin.

20 g mehrfach aus Essigester umkristallisiertes Dichloracetylcystin werden mit 100 ccm bei 0° gesättigtem, wässrigem Ammoniak übergossen. Unter schwacher Erwärmung entsteht eine kaum gefärbte Lösung. Nach 4—5 tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur in einer verschlossenen Flasche ist die Amidierung beendet. Man verdampft nun die inzwischen hellgelb gewordene Lösung im Vakuum bei 35° Wasserbadtemperatur zur Sirupkonsistenz, löst den Rückstand in 100 ccm Wasser und schüttelt zur Beseitigung des Ammoniumchlorids mit etwas mehr als der berechneten Menge fein gepulvertem Silbersulfat. Man nutsch ab und sättigt das Filtrat mit Schwefelwasserstoff. Vom Silbersulfid wird abfiltriert und der Schwefelwasserstoff durch Luftdurchleiten entfernt. Die Schwefelsäure wird durch Bariumhydroxyd und der Überschuß an Baryt durch quantitatives Ausfällen mit verdünnter Schwefelsäure entfernt. Das farblose Filtrat wird bei 35° Wasserbadtemperatur im Vakuum zum Sirup verdunstet. Bei dessen Versetzen mit ca. 400 ccm absolutem Alkohol wird das Diglycylcystin zunächst als zähes Öl abgeschieden, das beim Durchkneten bald fest wird und in ein weißes Pulver zerfällt. Man dekantiert den Alkohol und verreibt nochmals mit 150 ccm frischem absolutem Alkohol. Nach einigen Stunden wird abgenutscht und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute beträgt 17,5 g oder 97,2% der Theorie.

Optisches Verhalten in Wasser:

0,3999 g werden im Meßkolben von 10 ccm in Wasser gelöst und zur Marke aufgefüllt.

$$\alpha_D^{17^\circ} = -4,66^\circ \text{ im 1 dm-Rohr.}$$

$$[\alpha]_D^{17^\circ} = -116,54^\circ.$$

Andere Präparate drehten $[\alpha]_D - 112,4^\circ$, $- 111,4^\circ$, $- 114,3^\circ$.

Das Diglycylcystin hat keinen Schmelzpunkt; von ca. 150° an findet Gasentwicklung statt, gegen 200° tritt Bräunung und Zersetzung ein.

Darstellung von

Di- α -Brom-d-isocapronyl-diglycyl-l-cystin.

17,7 g Diglycylcystin (= $\frac{1}{20}$ Mol.) werden in 100 ccm n-Natronlauge (= $\frac{2}{20}$ Mol.) gelöst, auf 5° gekühlt und abwechselnd mit 27 g α -Brom-d-isocapronyl-chlorid (= $\frac{2,5}{20}$ Mol.) und 155 ccm n-Natronlauge (= ca. $\frac{3}{20}$ Mol.) versetzt, indem nach jeder Zugabe heftig geschüttelt und wieder durch Einstellen in Eiswasser gekühlt wird, so daß die Temperatur immer zwischen $7-12^\circ$ bleibt. Nach etwa $\frac{5}{4}$ Stunden ist das Eintragen beendet; die Reaktion soll sehr schwach alkalisch sein. Man läßt 3 Stunden bei 0° stehen und filtriert die etwas trübe Flüssigkeit, indem man erst mit etwas Kieselguhr schüttelt, um sie leichter filtrierbar zu machen. Das Filtrat wird mit 25 ccm 5 n-HCl angesäuert, worauf eine hellgelbe zähe Masse ausfällt, von der nach kurzem Durchkneten die wässrige Flüssigkeit abgegossen wird. Man knetet hierauf mit Wasser durch, gießt dieses möglichst vollständig ab, knetet hierauf zweimal mit trockenem Äther durch, wobei die Masse dünnflüssig wird, und dekantiert wieder möglichst vollständig. Hierauf wird die Masse noch dreimal mit Petroläther durchgearbeitet, wobei sie wieder zähe wird. Man stellt in einem Exsikkator über Schwefelsäure und evakuiert. Nach völligem Verdunsten des Lösungsmittels wird die Masse fest, porös und spröde, so daß sie leicht in ein gelblichweißes Pulver zerfällt.

Die Ausbeute beträgt 28 g = $79,1\%$ der Theorie.

Optisches Verhalten in Alkohol.

0,2508 g Di- α -Brom-d-isocapronyl-diglycyl-cystin werden

im Meßkolben von 10 ccm in absolutem Alkohol gelöst und zur Marke aufgefüllt.

$$\alpha_D^{19'} = -0,29^\circ \text{ im 1 dm-Rohr.}$$

$$[\alpha]_D^{19'} = -11,56^\circ.$$

Andere Präparate drehten $[\alpha]_D = -15,3^\circ, -18,2^\circ, -8,37^\circ$.

(Abderhalden und Wybert, Berichte 49, 2459: $[\alpha]_D^{20'} = -21,76^\circ$.)

Da das α -Brom-d-isocapronyl-chlorid entgegengesetzt dreht, wie Diglycyl-l-cystin, ist die Drehung von Dibromisocapronyl-diglycyl-cystin um so geringer, je optisch reiner das verwendete Bromisocapronyl-chlorid und je vollständiger die Umsetzung ist; bei der Amidierung muß dann infolge der Waldenschen Umkehrung die Drehung des entstandenen Di-l-leucyl-diglycyl-cystins um so höher werden.

Darstellung von Di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin.

25 g Di- α -Brom-d-isocapronyl-diglycyl-cystin werden in 125 ccm bei 0° gesättigtem wässrigem Ammoniak gelöst und die Lösung 6 Tage bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Da die Flüssigkeit beim Eindampfen im Vakuum sehr stark schäumt, läßt man sie in einen geräumigen Destillierkolben tropfen, der in einem Wasserbad von 30° steht. Von Zeit zu Zeit wird die bereits stark konzentrierte Lösung in eine flache Kristallisierschale von 500 ccm Inhalt ausgegossen; nachdem alles aus dem Tropftrichter zugeflossen ist, wird die letzte Portion in die Schale gegossen, der Kolben mit möglichst wenig Wasser ausgespült und die Lösung durch Überstreichen von warmer Luft im Faust-Heimschen Apparat bis zur Zähflüssigkeit konzentriert. Man versetzt nun mit 400 ccm absolutem Alkohol; dabei wird die anfangs zähe Masse bald fest. Man nutsch nach einigem Stehen ab, löst nochmals in möglichst wenig Wasser und gießt die klare Lösung unter Rühren in dünnem Strahl in ca. 600 ccm absolutem Alkohol. Das Di-l-leucyl-diglycyl-cystin fällt sofort in fester Form aus. Nach Stehenlassen über Nacht wird abgenutscht,

mit Alkohol nachgespült und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute beträgt 15,7 g oder 76,6 % der Theorie.

Optisches Verhalten in Wasser:

0,2494 g werden im Meßkolben von 10 ccm in Wasser gelöst und zur Marke aufgefüllt.

$$\alpha_D^{18^\circ} = -2,02^\circ \text{ im 1 dm-Rohr.}$$

$$[\alpha]_D^{18^\circ} = -80,99^\circ.$$

Andere Präparate drehten $[\alpha]_D = -79,5^\circ$ und $-78,6^\circ$.

(Abderhalden und Wybert, Berichte 49, 2460: $[\alpha]_D = -65,33^\circ$ bis $-73,89^\circ$.)

Das Dileucyl-diglycyl-l-cystin hat keinen Schmelzpunkt. Bei ca. 185° zeigt es beginnende Gasentwicklung, gegen 195° färbt es sich gelb, gegen 220° braun.

Darstellung von

Dichloracetyl-di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin.

4,5 g Di-l-leucyl-diglycyl-cystin werden in 16 ccm n-Natronlauge gelöst und mit Eiswasser gekühlt. Dann fügt man in 5 Portionen abwechselnd 2,2 g (= 1,5 ccm) Chloracetylchlorid und 44 ccm n-Natronlauge zu, indem man jedesmal schüttelt, bis der entstandene Niederschlag verschwunden ist. Die Reaktion ist am Schluß schwach alkalisch. Man fügt nun etwas Tierkohle hinzu und schüttelt auf der Schüttelmaschine während 3 Stunden, filtriert von der Tierkohle ab und spült mit etwas Wasser nach. Das Filtrat wird mit 7 ccm 5 n-Salzsäure angesäuert, wobei eine hellgelbe zähe Masse ausfällt. Man knetet zweimal mit Wasser, dreimal mit Äther und dreimal mit Petroläther durch, indem man jedesmal die Flüssigkeit möglichst vollständig abgießt; bringt schließlich die Masse in die Form einer dünnen Scheibe, stellt in einen Exsikkator über Schwefelsäure und evakuiert. Nach Verdunsten des Petroläthers erhält man das Dichloracetyl-di-l-leucyl-diglycyl-cystin in Form einer festen, spröden, schaumigen Masse, die leicht in ein hellgelbes Pulver zerfällt.

Die Substanz wurde direkt zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet:

0,04743 g Substanz brauchten 37,86 ccm $\frac{1}{100}$ n-H₂SO₄
 C₂₀H₃₅O₁₀N₆S₂Cl₂ (M. G. = 733,46): ber.: 11,46% N.
 gef.: 11,18% N.

Optisches Verhalten in Alkohol.

0,2007 g Substanz, im 10 ccm-Meßkolben in Alkohol gelöst und zur Marke aufgefüllt, ergeben:

α_D — — 0,86° im 1 dm-Rohr,
 $[\alpha]_D$ — — 42,85°.

Zwei andere Präparate zeigten $[\alpha]_D = -32,8^\circ$ und $-33,5^\circ$.

Darstellung von

Diglycyl-di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin.

2,25 g Dichloracetyl-di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin werden in 12 ccm konzentriertem wässerigem Ammoniak gelöst und 9 Tage stehen gelassen. Man fügt etwas Tierkohle zu, schüttelt einige Zeit und filtriert. Das Filtrat wird im Vakuum bei 30—35° Wasserbadtemperatur zum Sirup verdunstet. Der Rückstand wird in 3 ccm Wasser gelöst und mit 170 ccm absolutem Alkohol gefällt. Am nächsten Tage wird abgenußt, noch einmal in 3 ccm Wasser gelöst und wieder mit 170 ccm Alkohol gefällt. Man erhält 1,2 g schwachgelb gefärbtes Pulver.

Optisches Verhalten in Wasser.

0,2519 g werden im 10 ccm-Meßkolben in Wasser gelöst und zur Marke aufgefüllt. Die Ablesung ist infolge der gelben Färbung der Lösung nur bei Auerlicht möglich.

$\alpha^{20^\circ} = -2,06^\circ$ im 1 dm-Rohr,
 $[\alpha]^{20^\circ} = -81,78^\circ$.

Darstellung von

Dibrom-d-isocapronyl-diglycyl-di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin.

1,2 g Diglycyl-di-l-leucyl-diglycyl-l-cystin werden 3 ccm n-Natronlauge gelöst, mit Eis gekühlt und abwechselnd mit

0,73 g α -Brom-d-isocapronylchlorid und ca. 5 ccm n-Natronlauge versetzt und geschüttelt; zum Schluß ist die Reaktion schwach alkalisch. Man filtriert von etwas Verunreinigung ab und fügt zum Filtrat vorsichtig 5 n-Salzsäure bis zur sauren Reaktion auf Kongopapier. Es fällt eine zähe Masse aus, von der die Flüssigkeit abgegossen wird und die noch zweimal mit Wasser, zweimal mit Äther und schließlich mit Petroläther durchgeknetet wird. Der Petroläther wird im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure verjagt, wobei ein gelber, spröder Schaum zurückbleibt, der beim Reiben zu einem gelblichen Pulver zerfällt.

Die Bestimmung der Drehung war nicht möglich, da das Gesichtsfeld im Polarisationsapparat zu dunkel war.

Einwirkung von alkoholischem und wässerig-alkoholischem Ammoniak auf Dichloracetylcystin.

Läßt man alkoholisches Ammoniak auf Dichloracetylcystin einwirken, dann scheidet sich sofort das in Alkohol unlösliche Diammoniumsalz von Dichloracetylcystin aus, welches trotz Überschuß von Ammoniak wochenlang unverändert bleibt, also sein Halogen nicht gegen eine Aminogruppe austauscht.

Wird aber Dichloracetylcystin mit alkoholisch-wässrigem Ammoniak behandelt, dann wandelt sich bei bestimmten Konzentrationsverhältnissen das zuerst sich abscheidende Diammoniumsalz von Dichloracetylcystin ganz allmählich in eine amorphe Masse um, welche mit Wasser zu einer voluminösen Gelatine aufquillt, welche in mehr Wasser, verdünnter Natronlauge und verdünnter Salzsäure nicht oder nur sehr schwer löslich ist. Die Substanz ist chlorfrei; ihre Analyse ergab keine übereinstimmenden Zahlen. Eine Reinigung durch Umkristallisieren oder Umfällen ist infolge ihrer Unlöslichkeit in allen Solventien unmöglich.

Unter anderen Konzentrationsverhältnissen bei der Einwirkung von alkoholisch-wässrigem Ammoniak auf Dichloracetylcystin (mehr Wasser) wandelt sich das erst sich ab-

scheidende Diammoniumsalz im Laufe einiger Tage in ein zähes Öl um, welches beim Durchkneten mit absolutem Alkohol ein Pulver liefert von den Eigenschaften des Diglycylcystins. Zum Unterschied von nach dem üblichen Verfahren dargestellten Diglycylcystin zeigt es aber eine viel höhere Drehung: $[\alpha]_D = -178,5^\circ$ statt $-116,5^\circ$.

Einwirkung von alkoholischem Ammoniak auf Dichloracetyl-l-cystin.

20 g Dichloracetylcystin werden mit 25 ccm absolutem Alkohol angerührt und mit 100 ccm bei 0° gesättigtem alkoholischem Ammoniak versetzt. Sofort entsteht eine dicke kristallinische weiße Fällung; man nutsch nach einigem Stehen ab, wäscht mit absolutem Alkohol nach und trocknet bei 40° . Das Gewicht des erhaltenen Produktes beträgt 37,7 g. Man kristallisiert dasselbe zweimal durch Lösen in $\frac{2}{3}$ seines Gewichtes warmem Wasser, Versetzen mit der 10fachen Menge absolutem Alkohol und 24stündigem Stehenlassen bei 0° um. Man erhält so harte kristallinische Krusten, die von 110° an sintern und bei $120-123^\circ$ Gas entwickeln.

1. 0,3571 g werden mit verdünnter Natronlauge im Kjeldahl-Kölbchen erwärmt und das entweichende Ammoniak in 26 ccm $\frac{1}{10}$ n- H_2SO_4 absorbiert. Zurücktitiert mit 9,35 ccm $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge. Gefunden 0,02331 g N.

2. 0,4762 g werden in gleicher Weise wie oben behandelt. Vorgelegt 29,95 ccm $\frac{1}{10}$ n- H_2SO_4 , zurücktitiert mit 7,05 ccm $\frac{1}{10}$ n-NaOH. Gefunden 0,03206 g N.

gef: I. 6,52% Ammoniakstickstoff.

II. 6,73%

ber. für das Diammoniumsalz von Dichloracetyl-l-cystin
 $C_{10}H_{20}O_2S_2N_4Cl_2$ (M. G. = 427): 6,56% Ammoniakstickstoff.

Die wässrige Lösung der Substanz gibt mit Silbernitrat eine weiße Fällung, die sich aber in einigen Tropfen verdünnter Salpetersäure klar löst. Beim Kochen dieser Lösung tritt nach einiger Zeit Opaleszenz, später ein Niederschlag von Chlorsilber auf.

Einwirkung von alkoholisch-wässrigem Ammoniak auf Dichloracetyl-l-cystin.

1. Versuch: 1 g Dichloracetylcystin wird mit 1 ccm wässrigem Ammoniak angerührt und mit 5 ccm alkoholischem Ammoniak versetzt. Nach ca. 3 Minuten beginnt langsam Kristallisation von Nadelchen in Form von Rosetten, die aus dem Diammoniumsalz von Dichloracetylcystin bestehen. Nach einmonatigem Stehen unter Verschluss fühlen sich die Rosetten elastisch an. Man versetzt mit Wasser und digeriert; dabei quellen die Nadeln auf unter Bildung eines gelatinösen Breies. Auch auf Zusatz von viel Wasser tritt keine Lösung ein. Man nutsch ab und wäscht mit destilliertem Wasser aus, bis das Filtrat mit Silberlösung keine Opaleszenz mehr gibt. Man saugt noch etwa $\frac{1}{2}$ Stunde Luft durch die Nutsche und trocknet hierauf die voluminöse Gallerte im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz. Dabei vermindert sich das Gewicht von 6,2082 g auf 0,7780 g; die Substanz vermag also etwa 700% Wasser zu binden. Das so getrocknete Pulver quillt auf Zusatz von Wasser wieder stark auf. Bei tagelangem Stehen mit Wasser scheint es sich allmählich zu lösen.

Die Analyse der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz ergab keine brauchbaren Zahlen:

I. 0,1575 g	Substanz	ergaben	0,1812 g CO ₂	und	0,0821 g H ₂ O (Wetzel)
II. 0,1802 g	„	„	24,9 ccm N bei 18°	und	763 mm
III. 0,1642 g	„	„	0,1939 g CO ₂	und	0,3851 g H ₂ O

Ein anderes Präparat:

IV. 0,1455 g	„	„	0,1629 g CO ₂	„	0,0729 g H ₂ O
--------------	---	---	--------------------------	---	---------------------------

Berechnet für:

Diglycylcystin	(C ₁₀ H ₁₃ O ₃ N ₁ S ₂ : M. G. = 354):	Ber.: C = 33,90%	
		H = 5,08%	N = 15,82%
„ + H ₂ O	(M. G. = 372):	Ber.: C = 32,26%	
		H = 5,38%	N = 15,05%
„ - H ₂ O	(M. G. = 336):	Ber.: C = 35,71%	
		H = 4,76%	N = 16,67%
Gef.:	I.: C = 31,38%	H = 5,83%	N = —
	II.: —	—	16,23
	III.: 32,21	5,80	—
	IV.: 30,55	5,60	—

2. Versuch: 5 g Dichloracetyl-l-cystin werden in einem zylindrischen Präparatenglas mit 5 ccm bei 0° gesättigtem wässerigem Ammoniak versetzt, wobei das Pulver sich in eine harte Masse verwandelt; hierauf fügt man noch 25 ccm alkoholisches Ammoniak zu. Bevor sich alles gelöst hat, beginnt die Kristallisation des Diammoniumsalzes von Dichloracetyl-l-cystin in Form eines weißen Mehles. Nach 10 Tagen erscheint das Ganze noch unverändert; eine Probe ist noch vollkommen wasserlöslich. Man fügt noch 2 ccm bei 0° gesättigtes wässeriges Ammoniak zu und mischt gut durch. Nach 6 weiteren Tagen ist die ausgeschiedene Substanz in eine sich weich anfühlende Masse verwandelt; eine Probe gibt mit wenig Wasser eine Gallerte, mit mehr Wasser Lösung. Nach 3 weiteren Tagen wird die weiße käsige Masse mit 25 ccm H₂O versetzt; sie quillt auf und bildet einen gleichmäßigen, körnigen Kleister, der dieselben Eigenschaften zeigt, wie das nach dem 1. Versuch erhaltene Präparat. — Läßt man das Ganze noch 2 Tage stehen, dann geht der größte Teil wieder in Lösung.

3. Versuch. 5 g Dichloracetyl-l-cystin werden in einem zylindrischen Präparatenglas in 10 ccm bei 0° gesättigtem wässerigem Ammoniak gelöst und 25 ccm bei 0° gesättigtes alkoholisches Ammoniak zugefügt. Beim Kratzen mit einem Glasstab entsteht nach kurzer Zeit eine dicke Abscheidung vom Diammoniumsalz von Dichloracetylcystin. Nach 2 Tagen sieht das Ganze noch unverändert aus, nach 4 Tagen hat sich ein zähes Öl abzuscheiden begonnen. Eine Probe ist in Wasser vollkommen löslich. Nach 6 Tagen sind keine Kristalle mehr vorhanden, alles hat sich in ein schwach gelblich gefärbtes Öl verwandelt, das sich am Boden angesammelt hat. Nach einem Monat ist keine weitere Veränderung eingetreten; eine Probe ist vollkommen wasserlöslich. Man gießt die klare ammoniumchloridhaltige Flüssigkeit ab und knetet den Rückstand dreimal mit absolutem Alkohol durch, indem man jedesmal abgießt. Das zähe Öl verwandelt sich dabei in ein weißes Pulver, das abgenutscht und mit Alkohol nachgespült wird. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator

über Schwefelsäure erhält man 4,2 g noch etwas chlorammonhaltiges Produkt. Man löst deshalb nochmals in 7 ccm Wasser und fällt mit 100 ccm absolutem Alkohol. Nach 24 Stunden wird abgenutscht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Optisches Verhalten in Wasser.

0,4004 g werden im Meßkolben von 10 ccm in Wasser gelöst und zur Marke aufgefüllt.

$$\alpha_D = -13,94^\circ \text{ im 2 dm-Rohr,}$$

$$[\alpha]_D = -174,0^\circ \text{ (Diglycyl-l-cystin: } -116,54^\circ \text{).}$$

Das Produkt wird nochmals in ca. 5 ccm Wasser gelöst und die Lösung in 200 ccm Alkohol einlaufen gelassen. Die Fällung wird beim Durchkneten bald fest und wird nach 24 Stunden abgenutscht.

0,4015 g werden im Meßkolben von 10 ccm in Wasser gelöst und zur Marke aufgefüllt.

$$\alpha_D = -14,330 \text{ im 2 dm-Rohr.}$$

$$[\alpha]_D = -178,46^\circ.$$

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab:

0,0948 g Substanz. Vorgelegt 20,19 ccm $\frac{1}{10}$ n-H₂SO₄, zurücktitriert 9,73 ccm $\frac{1}{10}$ n-NaOH; gebraucht 10,46 ccm $\frac{1}{10}$ n-H₂SO₄.

$$\text{Diglycylcystin (M. G. = 354); ber.: 15,82\% N,} \\ \text{gef.: 15,46\% N.}$$

Es muß noch durch neue Versuche geprüft werden, in welcher Weise dieses Präparat sich vom gewöhnlichen Diglycylcystin unterscheidet. Während dieses eine spezifische Drehung von $-116,54^\circ$ zeigte, drehte das eben erwähnte Präparat $-178,46^\circ$.