

### 165. Theodor Bersin und Juliane Steudel\*): Polarimetrische Untersuchungen über das Thiol-Disulfid-System.

[Aus d. Chem. Abteilung d. Physiolog. Instituts d. Universität Marburg a. L.]  
(Eingegangen am 1. April 1938.)

Das Thiol-Disulfid-System 2RSH/RSSR ist in letzter Zeit im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Aktivitätsbeeinflussung von Enzymen<sup>1)</sup> und biochemischen Wirkstoffen<sup>2)</sup>, über die Bindungsart des Schwefels in Proteinen<sup>3)</sup> und Schlangengiften<sup>4)</sup> Gegenstand stärkster Aufmerksamkeit geworden. Vor allem interessierte die Umsetzung hochmolekularer Disulfide (Thiole) mit niedrigmolekularen Thiolen (Disulfiden), da man auf diese Art quantitative Angaben über das Vorliegen von HS- und -S.S-Gruppen in Eiweißstoffen erlangen konnte<sup>5)</sup>.

Bisher lagen jedoch kaum exakte Untersuchungen über das physikochemische Verhalten heterogener Thiol-Disulfid-Systeme vor. Daher konnten im Schrifttum Zweifel an der Berechtigung der Auffassung über die Abhängigkeit der Aktivität biochemischer Wirkstoffe von der Gegenwart von HS- und -S.S-Gruppen auftauchen. Speziell die von Max Bergmann<sup>6)</sup> vortragene Deutung der Aktivitätsverhältnisse beim Papain trug viel zu einer Verwirrung der Begriffe bei. Dadurch, daß die sogenannte 2-Enzym-Theorie von Bergmann selbst nunmehr als „überflüssig“ bezeichnet wurde<sup>7)</sup>, erhält die von dem einen von uns schon frühzeitig verteidigte Annahme, daß die Proteine Papain, Urease, Insulin u. a. selbst reversible Thiol-Disulfid-Systeme darstellen, erneut eine Stütze<sup>8)</sup>.

Im Zusammenhang hiermit wurde in der vorliegenden Arbeit an einigen einfachen Beispielen untersucht, welcher Art die Umsetzung zwischen einem optisch aktiven und einem optisch inaktiven, chemisch davon verschiedenem Thiol-Disulfid-System ist.

Reduktionen von Disulfiden durch  $K_2S$  sind von R. Otto und A. Rössing<sup>9)</sup>, solche mit anorganischen Redoxsystemen von P. W. Preisler<sup>10)</sup> untersucht worden; der letztere schloß auf eine Reaktion zweiter Ordnung. Ähnliche Versuche wurden von Mäuthner<sup>11)</sup> und H. Lecher<sup>12)</sup> durchgeführt. Fredga<sup>13)</sup> fand auf polarimetrischem Wege bei der Umsetzung zwischen (+) Dithiodilactylsäure und *racem.* Thiomilchsäure einen monomolekularen Verlauf.

\*) Gedruckt als Dissertation J. Steudel, Marburg [D 4].

1) Bersin, *Ergebn. Enzymforsch.* **4**, 68 [1935]; „Kurzes Lehrbuch der Enzymologie“, Leipzig, 1938.

2) Bersin, *Sitz.-Ber. Ges. Beförd. ges. Naturwiss. Marburg* **71**, 57 [1936].

3) vergl. z. B. Todrick u. Walker, *Biochem. Journ.* **31**, 292 [1937]; A. E. Mirsky u. M. L. Anson, *Journ. gen. Physiol.* **19**, 427, 439 [1936]; D. R. Goddard u. L. Michaelis, *Journ. biol. Chem.* **106**, 605 [1934]; J. B. Speakman u. M. C. Hirst, *Trans. Faraday Soc.* **29**, 148 [1933]; Schöberl, *Collegium* **1936**, 412; P. Wels, *Arch. exper. Pathol. Pharmakol.* **188**, 265 [1938]; K. G. Stern u. A. White, *Journ. biol. Chem.* **117**, 95 [1937].

4) Slotta u. Mitarb., *B.* **71**, 258, 264 [1938].

5) Mirsky u. Anson, *Proceed. Soc. exper. Biol. Med.* **28**, 170 [1930].

6) Bergmann u. Fruton, *Science* **84**, 2169 [1936].

7) *Science* **86**, 496 [1937].

8) vergl. auch Reiss, *Compt. rend. Soc. biol.* **120**, 908 [1935].

9) *B.* **19**, 3129 [1886].

10) *Journ. biol. Chem.* **87**, 767 [1930].

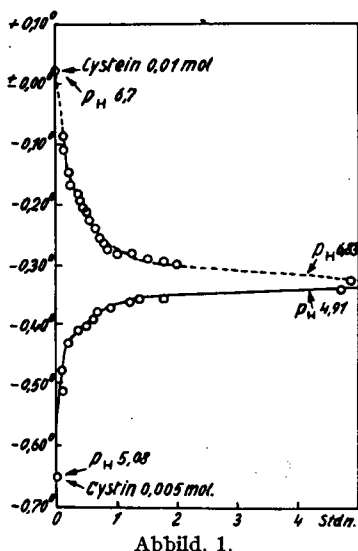
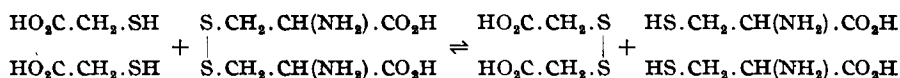
11) *Ztschr. Biol.* **42**, 176 [1901].

12) *B.* **53**, 591 [1920].

13) *Ark. Kem. Mineral. Geol., Ser. A.* **12**, 13 [1937].

Nachdem O. Dimroth<sup>14)</sup> die Reduktion eines optisch aktiven Chinons durch das Hydrochinon seines Antipoden und die Erreichung des Gleichgewichts zwischen beiden auf optischem Wege zeitlich verfolgt hatte, schlug W. Hückel<sup>15)</sup> vor, dieselbe Methode zur Untersuchung des Gleichgewichts zwischen zwei verschiedenen Chinon-Hydrochinon-Systemen zu verwenden. Dieses Verfahren wurde nun angewandt, um den Verlauf der Reduktion eines optisch aktiven Disulfids, des *l*-Cystins, durch Thioglykolsäure, und umgekehrt die Oxydation des optisch aktiven *l*-Cysteins mit Dithiodiglykolsäure und die Lage des Gleichgewichts dieser Reaktion zu untersuchen.

Es würde sich hier wahrscheinlich um folgende Umsetzung handeln:



Abbild. 1.

— Umsetzung von 0.005-mol. *l*-Cystin mit 0.01-mol. Thioglykolsäure;

--- Umsetzung von 0.01-mol. *l*-Cystein mit 0.005-mol. Dithiodiglykolsäure bei  $30 \pm 0.2^\circ$ . Auf beiden Seiten 0.01-mol. LiCl und 0.01-mol. LiOH.

Wegen der geringen Löslichkeit des *l*-Cystins selbst mußte dessen Lithiumsalz benutzt werden, welches leicht übersättigte Lösungen bildet<sup>16)</sup>. Untersucht man nun die Hin- und Rückreaktion unter gleichen Verhältnissen, d. h. unter Beachtung gleicher Molarität an  $\text{Li}^+$  und  $\text{Cl}^-$ , so ergibt sich, daß die Reaktion einem Gleichgewicht zustrebt, das dann erreicht wird, wenn die Drehung gerade um die Hälfte gesunken ist (Abbild. 1).

Es erhebt sich nun die Frage nach den im Gleichgewicht vorhandenen Produkten. Ist man berechtigt, anzunehmen, daß nun im Gleichgewicht nur noch 50% Cystin und umgekehrt 50% der angewandten Dithiodiglykolsäure vorhanden sind? Ebenso müßte die Menge der Thiole auf Kosten der neu entstandenen Disulfide auf die Hälfte gesunken sein. Das war in der Tat der Fall, denn die ermittelte Drehung der hypothetischen Gleichgewichtsmischung stimmte mit der oben gefundenen Drehung überein und blieb im Verlauf von 5 Stdn. konstant.

Wenn eine primäre Reaktion unter Zwischenbildung eines unsymmetrischen Disulfids nach der Gleichung  $\text{RSSR} + \text{R}'\text{SH} \rightleftharpoons \text{R}'\text{SSR} + \text{RSH}$  stattfinden sollte, so ist jedenfalls das gemischte Disulfid im Gleichgewicht nicht mehr vorhanden, denn nach Fredga<sup>17)</sup> ist die Drehung eines gemischten

<sup>14)</sup> Angew. Chem. **46**, 571 [1933].

<sup>15)</sup> „Theoret. Grundlagen d. organ. Chemie“, II, 274.

<sup>16)</sup> G. Toennies u. T. F. Lavine, Journ. biol. Chem. **90**, 211 [1931].

<sup>17)</sup> Journ. prakt. Chem. **123**, 129 [1929]; **121**, 56 [1929].

Disulfids mit einer optisch aktiven Komponente kleiner als die halbe Drehung des symmetrischen aktiven Disulfids. Im Gleichgewicht hätte sich andernfalls eine geringere als die erwartete Drehung ergeben müssen. Demnach liegen im Gleichgewicht äquimolare Mengen von Cystin, Cystein, Thioglykolsäure und Dithiodiglykolsäure vor.

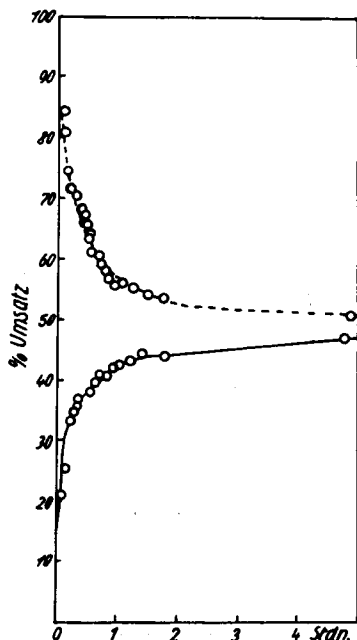
Es wurde nun angenommen, daß die optische Drehung ein Maß für das in der Lösung vorhandene Cystin ist, und so konnten an Stelle der Drehwerte als Ordinate die Prozente des umgesetzten Cystins gesetzt werden.

Das System Thioglykolsäure/Dithiodiglykolsäure hatte auf Grund besonderer experimenteller Feststellungen im Gleichgewichtsverhältnis keinen Einfluß auf die Drehung von Cystin/Cystein.

Weiter wurde durch polarimetrische Messungen ermittelt, daß im Puffergemisch bei  $p_H$  6 eine Reaktion  $RSSR + R'SS R' \rightleftharpoons 2 RSSR'$  (im Gegensatz zu den Diseleniden<sup>18)</sup>) für die Disulfide Cystin und Dithiodiglykolsäure, auch unter Zusatz von Spuren Cystein, Thioglykolsäure oder Kupfersulfat nicht stattfindet. Hierbei mußte die Konzentration der Disulfide 0.0025-mol. gewählt werden, da sonst das Cystin auskristallisiert und eine Umsetzung dadurch vorgetäuscht wird.

Die spezifische Drehung des *l*-Cystins ist  $p_H$ -abhängig<sup>19)</sup>, aber im isoelektrischen Bereich von  $p_H$  3—7 konstant. Da das Cystin wie alle Disulfide in alkalischer Lösung einer Hydrolyse (Schöberl) unterliegt, wurde fortan nur in schwach saurer Lösung gearbeitet.

Es muß hier noch bemerkt werden, daß die Bestimmung der optischen Drehungsänderung mit verhältnismäßig großen Fehlern behaftet ist, denn die Reaktion bewegt sich auf einem Drehungsabfall von 0.33°. Es ist in allen Fällen im Anfang der Reaktion mit einem Fehler von  $\pm 3\%$  zu rechnen. Beim Erreichen des Gleichgewichts kann die Genauigkeit durch mehrere Ablesungen auf  $\pm 1.5\%$  erhöht werden. Es war wahrscheinlich, daß die Reaktion  $p_H$ -abhängig ist. Deshalb wurde die Wasserstoffionenkonzentration mittels einer Glaselektrode (Ultra-Ionograph von Lautenschläger) am Anfang und am Ende der Reaktion



Abbild. 2.

— Umsetzung von 0.005-mol. *l*-Cystin mit 0.01-mol. Thioglykolsäure.

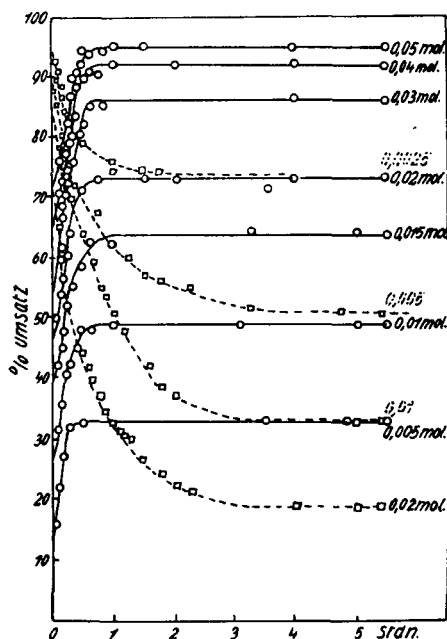
--- Umsetzung von 0.01-mol. *l*-Cystein mit 0.005-mol. Dithiodiglykolsäure.

Auf beiden Seiten 0.01-mol. LiCl und 0.01-mol. LiOH bei  $30 \pm 0.2^\circ$ .

<sup>18)</sup> Fredga, Svensk kem. Tidskr. 49, 139 [1937].

<sup>19)</sup> Toennies u. Bennet, Journ. biol. Chem. 112, 493 [1936].

gemessen, wobei sich ergab, daß wir es mit einem geringen  $p_H$ -Abfall bzw. mit einer geringen  $p_H$ -Zunahme zu tun haben, wobei ungeklärt blieb, warum beide Reaktionen nicht dem gleichen  $p_H$ -Wert zustreben (Abbild. 1).



Abbild. 3.

- Umsetzung von 0,005-mol. l-Cystin mit wechselnden Mengen Thioglykolsäure.  
 - - - Umsetzung von 0,01-mol. l-Cystein mit wechselnden Mengen Dithiodi-glykolsäure.  
 $p_H$  6. Puffer: Phosphat/Citronensäure. Temp.  $30 \pm 0,2^\circ$ .

$$K = \frac{c_c \cdot (cd)^2}{c_a \cdot (cb)^2}; \quad c_a = \frac{a-d}{2}; \quad c_b = \frac{b-2c}{v}; \quad c_c = \frac{c}{v}; \quad c_d = \frac{d}{v}; \quad c = d/2$$

$$K = \frac{d^3}{(2a-d)(b-d)^2}$$

Tafel 1.

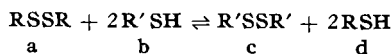
a	b	d	K
0.02	0.01	$2a \times \left(\frac{19}{100}\right)$	(2.35)
0.005	0.005	$2a \times \left(\frac{33}{100}\right)$	(1.85)
0.005	0.01	$2a \times \left(\frac{50}{100}\right)$	1.000
0.005	0.015	$2a \times \left(\frac{64}{100}\right)$	0.985
0.005	0.02	$2a \times \left(\frac{74}{100}\right)$	0.962
0.005	0.03	$2a \times \left(\frac{86}{100}\right)$	0.970
0.005	0.04	$2a \times \left(\frac{92}{100}\right)$	1.026
0.005	0.05	$2a \times \left(\frac{95}{100}\right)$	1.045

Mittelwert für  $K = 0.998 \approx 1.0$ .

Aus diesem Grunde wurden die weiteren Untersuchungen bei konstantem  $p_H$  in Puffergemischen nach Mc. Ilvaine durchgeführt.

Zuerst wurde die Menge der Thioglykolsäure variiert, und bei  $p_H$  6 der Verlauf der Reaktion und die Einstellung des Gleichgewichts geprüft. Hierbei mußte die zugesetzte, überschüssige Thioglykolsäure vorher mit Lauge neutralisiert werden, da sich sonst das  $p_H$  der gepufferten Lösung verschob. So wurde eine Überschreitung der Pufferkapazität vermieden, und der am Anfang und am Ende der Reaktion bestimmte  $p_H$ -Wert zeigte keine Änderung. Genauso wurde bei der Untersuchung der Gegenreaktion verfahren. Die Ergebnisse zeigt Abbild. 3.

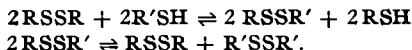
Die Berechnung der Gleichgewichtskonstanten  $K$  für die Reaktion:



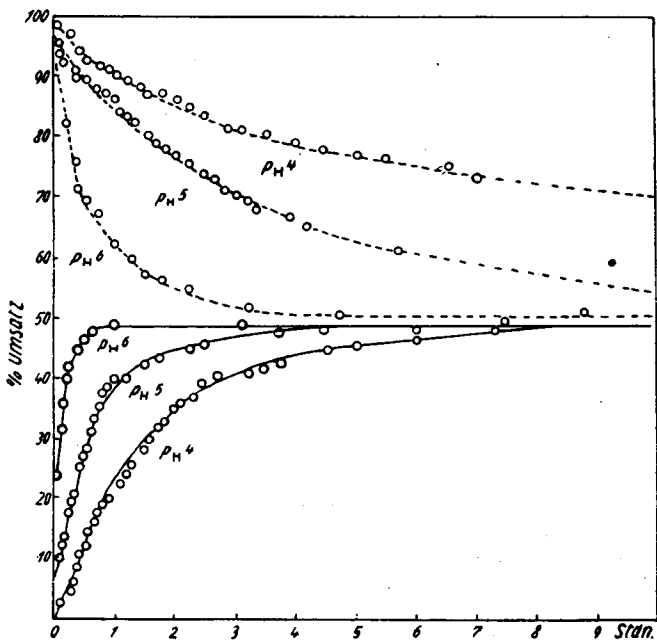
ergab verhältnismäßig konstante Werte (vergl. Tafel 1). Die Konstante wurde folgendermaßen berechnet:

Aus der Konstanz der K-Werte ergibt sich, daß diese reversible Oxyd-  
 reaktion zwischen den beiden Thiol-Disulfid-Systemen dem Massenwirkungs-  
 gesetz gehorcht. Die Gleichgewichtskonstante mit dem Wert 1.0 stellt in  
 verschiedener Hinsicht einen Sonderfall dar. Zuerst einmal sollten Hin- und  
 Rückreaktion mit gleicher Geschwindigkeit verlaufen, da ja  $K =$  dem  
 Quotienten der beiden Geschwindigkeitskonstanten der Hin- und Rück-  
 reaktion sein soll. Dies ist aber hier nun bei gleichem  $p_H$  nicht der Fall,  
 wie sich aus Abbild. 3 und dem folgenden ergibt. Nimmt man trotzdem  
 $K = 1$  an, so ergibt sich, daß der Abfall der freien Energie der Reaktion  
 gleich Null ist. Es müßten also die Systeme Thioglykolsäure/Dithio-  
 glykolsäure und Cystein/Cystin energetisch nahezu gleichwertig sein.  
 Höchstwahrscheinlich ist  $K$  nur sehr wenig von 1 verschieden, und auch  
 das Verhältnis der Redoxpotentiale der beiden Systeme würde sich nicht  
 größer als etwa 9:10 oder 10:9 ergeben.

Für die Ordnung der Reaktion gibt es nun mehrere Möglichkeiten.  
 Zunächst könnte es sich um eine trimolekulare Reaktion gemäß der Summen-  
 gleichung  $RSSR + 2 R'SH \rightleftharpoons R'SSR' + 2 RSH$  handeln. Da nun tri-  
 molekulare Reaktionen sehr selten sind, wäre eine Reaktionsfolge unter  
 Zwischenbildung eines unsymmetrischen Disulfids etwa so möglich:



Der Vorgang bestände dann aus zwei aufeinanderfolgenden dimolekularen  
 Reaktionen.



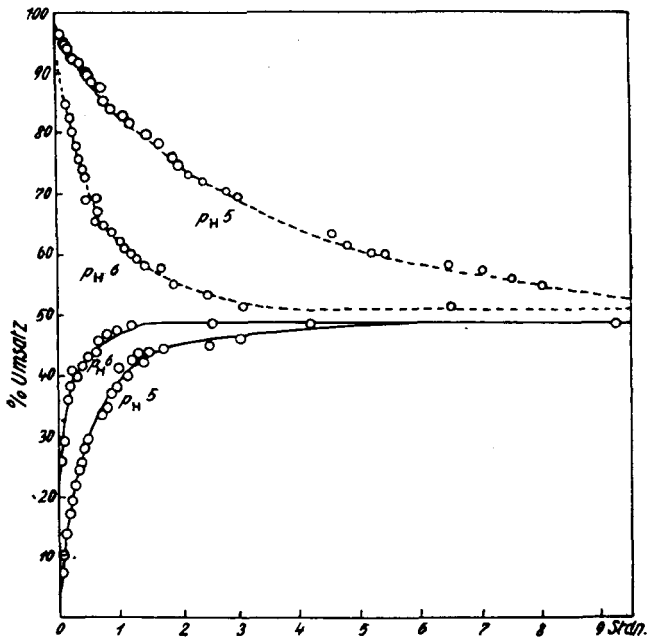
Abbild. 4.

- Umsetzung von 0.005-mol. *l*-Cystin mit 0.01-mol. Thioglykolsäure.
  - - - Umsetzung von 0.01-mol. *l*-Cystein mit 0.005-mol. Dithiodiglykolsäure.
- Puffer: Phosphat/Citronensäure. Temp.  $30 \pm 0.2^\circ$ .

Für die Lösung dieses Problems wurden die Isobathmen für beide Reaktionen von  $p_H$  4—6 aufgenommen (Abbild. 4). Die Werte für die Konstante  $k_a + k_b$ , d. h. die Summe der Konstanten für die Hin- und Rückreaktion einer umkehrbaren monomolekularen Reaktion<sup>20)</sup> ergibt für niedriges  $p_H$  ziemlich gute Werte.

Es folgte die Untersuchung bei anderer Anfangskonzentration, und zwar konnte diese wegen der Schwerlöslichkeit des Cystins nicht sehr erhöht werden. Niedrigere Konzentrationen wurden bei dem kleinen Drehungsabfall zu ungenau, auch ist die Gefahr der Oxydation durch den in Lösung vorhandenen Sauerstoff zu groß. Die Versuche führten zu keinem Gleichgewicht.

Es wurde die Konzentration beider Stoffe um 50% erhöht. Hierbei konnte die Anfangsdrehung der Cystin-Lösung nicht bestimmt werden. Das Cystin krystallisiert sofort aus. Nur dadurch, daß es durch die Thio-glykolsäure reduziert wird und so die Konzentration vermindert wird, war die Messung des Verlaufs möglich. Als Anfangsdrehung wurde die  $1\frac{1}{2}$ -fache der vorigen Lösung angenommen. Abbild. 5 veranschaulicht das Ergebnis.



Abbild. 5.

- Umsetzung von 0.0075-mol. *l*-Cystin mit 0.015-mol. Thioglykolsäure.  
 - - - Umsetzung von 0.015-mol. *l*-Cystein mit 0.0075-mol. Dithiodiglykolsäure.  
 Puffer: Phosphat/Citronensäure. Temp.  $30 \pm 0.2^\circ$ .

Abbild. 5 deckt sich mit Abbild. 4. Der Reaktionsverlauf erscheint also monomolekular. Außerdem zeigen die Kurven, daß die Oxydation von Cystein zu Cystin bei gleichem  $p_H$  viel langsamer verläuft als die umge-

<sup>20)</sup> Küster-Thiel, I [1925], S. 530.

kehrte Reaktion. Auch ergibt sich beim Errechnen der Summe der Geschwindigkeitskonstanten  $k_a + k_b$  eine Diskrepanz zwischen den Werten (Mittelwerte aus 30 Einzel-Ablesungen) der Hin- und Rückreaktion (Tafeln 2 und 3).

Tafel 2.

PH	c Disulfid- konzentrat.	$k_1$ $k_1 = k_a + k_b$ (Cystin-Redukt.)	$k_2$ $k_2 = k_a + k_b$ (Cystein-Oxydat.)	$k_1:k_2$ Mittelwert der beiden Konzentrationen
6	0.005	0.114	0.0252	3.8
	0.0075	0.085	0.0262	
5	0.005	0.0254	0.00491	5.0
	0.0075	0.0265	0.00556	
4	0.005	0.0110	0.00263	3.8
	0.0075	—	—	

Mittelwert: 4.2

Tafel 3.

PH = n	$k_{1, n} : k_{1, n-1}$	$k_{2, n} : k_{2, n-1}$
6	3.8	4.9
5	2.4	2.0

Aus diesen Werten ist zu schließen, daß wir es hier bei gleichem  $p_H$  nicht mit zwei vergleichbaren Reaktionen zu tun haben. Durch den verschiedenen Dissoziationsgrad der Thiol-Verbindungen Cystein und Thioglykolsäure in  $RS^-$  und  $H^+$  (s. unten), werden schon am Anfang der Reaktion unterschiedliche Verhältnisse geschaffen.

Es ist folgender Reaktionsmechanismus anzunehmen:



Die Reaktionen 1) und 4) verlaufen momentan. Die Reaktion 3) wird bei der bekannten Unbeständigkeit der gemischten Disulfide entweder momentan, oder jedenfalls sehr viel schneller als die Reaktion 2) ablaufen. Als geschwindigkeitsbestimmend kommt daher wohl nur die Reaktion 2) in Frage. Die Konzentration des Thiol-Ions  $RS^-$  bei der Reaktion 2) ist im Falle des Cysteins sowohl als auch der Thioglykolsäure<sup>21)</sup> um  $10^6$ -mal kleiner als die des entsprechenden Disulfids. Die Reaktion 2) erscheint also monomolekular in Bezug auf das Ion  $RS^-$ .

Die Dissoziationskonstanten der untersuchten Thiole ergeben sich aus dem Schrifttum<sup>21)</sup> zu:

Thioglykolsäure in 0.1-mol. Lösung	= $10^{-10.0}$	(Cannan),
Cystein in 0.1-mol. Lösung	= $10^{-10.84}$	(Cannan),
Cystein in 0.02-mol. Lösung	= $10^{-10.78}$	(Borsook).

Die Konzentration an Thiol-Ion  $RS^-$  ist also bei der Thioglykolsäure um  $10^{0.84}$  bzw.  $10^{0.78}$  größer als bei der Cystein-Lösung. Die Geschwindigkeit der Umsetzung zwischen Cystin und Thioglykolsäure müßte hiernach

<sup>21)</sup> Cannan u. Knight, Biochem. Journ. **21**, 1384 [1927]; Borsook, Ellis u. Huffmann, Journ. biol. Chem. **117**, 281 [1937].

um  $10^{0.34}$  bzw.  $10^{0.78}$  größer sein als die der Gegenreaktion zwischen Cystein und Dithiodiglykolsäure; das ergäbe ein Verhältnis  $k_1:k_2 = 2.2$  oder  $6.0$ . In der Tat ergibt sich für das Verhältnis von  $k_1$  zu  $k_2$  der Wert  $\approx 6$  (vergl. Tafel 2 und Tafel 4).

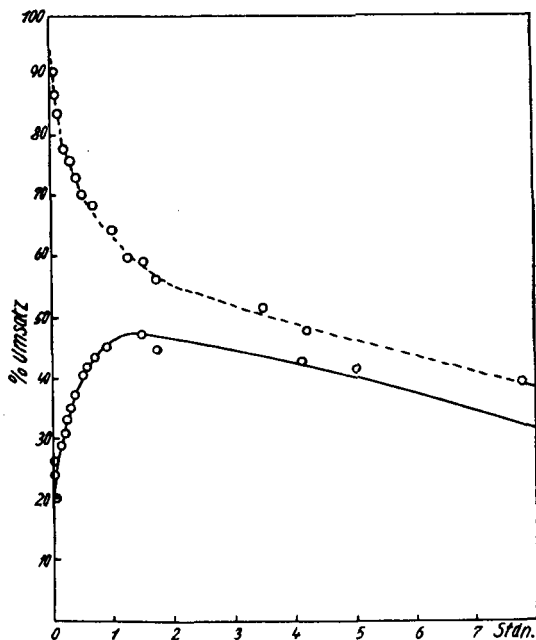
Die Reaktionsbeschleunigung mit wachsendem  $p_H$  kann dadurch erklärt werden, daß OH-Ionen die Dissoziation  $RSH \rightleftharpoons RS^- + H^+$  begünstigen.

Außerdem wurde nun noch die Reaktion von beiden Seiten in der Annahme verfolgt, daß schon 25-proz. Umsetzung stattgefunden hat, und hier-

aus die Ausgangsmengen der Substanzen errechnet. Auch hier wurde von beiden Seiten gemäß den früheren Kurven bei  $p_H 6$  dasselbe Gleichgewicht erreicht.

Nun wurde noch der Einfluß von Kupfer-Ionen auf die Reaktion untersucht, da bekanntlich die Oxydoreduktion zwischen Thiol-Verbindung und molekularem Sauerstoff durch diese Ionen spezifisch katalysiert wird. Die Auswahl der Kupferkonzentration erfolgte auf Grund der Angaben von Toennies und Bennet<sup>22)</sup>. Wie Abbild. 6 zeigt, beschleunigen die Kupfer-Ionen die Einstellung des Gleichgewichts nicht; jedoch ist das Gleichgewicht nicht haltbar, da anscheinend die Thiole sich autoxydieren.

Zwecks Bestimmung der Aktivierungsenergie wurde noch der Ein-



Abbild. 6.

- Umsetzung von 0.005-mol. l-Cystin mit 0.01-mol. Thioglykolsäure.  
 - - - Umsetzung von 0.01-mol. l-Cystein mit 0.005-mol. Dithiodiglykolsäure. Puffer: Phosphat/Citronensäure,  $p_H 6$ ; 0.00002-mol.  $CuSO_4$ . Temp.  $30 \pm 0.2^\circ$ .

fluß der Temperatur auf die Reaktion untersucht. Als Puffergemisch wurde in diesem Falle *sek./prim.* Phosphat verwandt, weil in diesem Gemisch der Temperaturkoeffizient untersucht und so klein ist, daß man ihn vernachlässigen kann. Alle Messungen wurden bei  $p_H 6$  ausgeführt. Die Ergebnisse zeigen Abbild. 7 und Tafel 4.

Die aus den Temperaturkoeffizienten nach der bekannten Arrheniuschen Gleichung errechneten Aktivierungsenergien  $q$  zeigen, wie aus Tafel 5 ersichtlich, eine vernünftige Größenordnung.

<sup>22)</sup> Journ. biol. Chem. 112, 497 [1936].



Tafel 4.

Temp.	c Disulfid- konzentrat.	k <sub>1</sub> k <sub>1</sub> = k <sub>a</sub> + k <sub>b</sub> Cystin-Redukt.	k <sub>2</sub> k <sub>2</sub> = k <sub>a</sub> + k <sub>b</sub> Cystein-Oxydat.	k <sub>1</sub> :k <sub>2</sub> Mittelwert der beiden Konzentrationen
20°	0.005	0.0414	0.00365	9.8
	0.0075	0.0369	0.00438	
30°	0.005	—	0.0124	6.3
	0.0075	0.0760	0.0230	
40°	0.005	0.166	0.0267	5.9
	0.0075	—	0.0299	
Mittelwert hieraus:				7.1
Mittelwert aus Taf. 2:				4.2
Mittelwert ≈				5.7

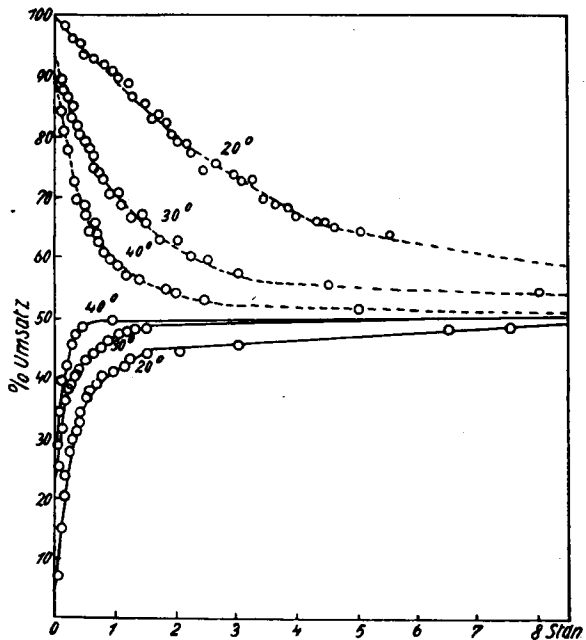
Tafel 5.

	Cystin-Redukt.	Cystein-Oxydat.
k <sub>t</sub> :k <sub>t-10°</sub>		
k <sub>30°</sub> :k <sub>20°</sub>	1.9	3.2
k <sub>40°</sub> :k <sub>30°</sub>	2.2	2.2
Q <sub>30°, 20°</sub>	11 300 cal.	20 500 cal.
Q <sub>40°, 30°</sub>	14 800 cal.	14 800 cal.

Aus den angeführten Zahlenwerten ergibt sich, daß die Reaktion:  $RSSR + 2 R'SH \rightleftharpoons R'SSR' + 2 RSH$  ungefähr von beiden Seiten durch Änderung sowohl der Temperatur als auch des p<sub>H</sub> gleichmäßig beeinflußt wird. Während der Temperaturkoeffizient für die Temperaturen 20—40° ungefähr konstant bleibt (Tafel 5), steigt der p<sub>H</sub>-Koeffizient mit wachsendem p<sub>H</sub> von p<sub>H</sub> 4—6 auf das Doppelte (Tafel 3).

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Die Oxydoreduktion zwischen 1 Mol. l-Cystin und 2 Mol. Thioglykolsäure unter Bildung von 2 Mol. l-Cystein und 1 Mol. Di-



Abbild. 7.

— Umsetzung von 0.0075-mol. l-Cystin mit 0.015-mol. Thioglykolsäure.  
 - - - Umsetzung von 0.015-mol. l-Cystein mit 0.0075-mol. Dithiodiglykolsäure. p<sub>H</sub> 6.  
 Puffer: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

thioglykolsäure ist eine zeitbedingte Gleichgewichtsreaktion, welche dem Massenwirkungsgesetz gehorcht. Die Massenwirkungskonstante ist nahezu 1 und somit der Abfall der freien Energie nahezu 0. Die beiden Thiol-Disulfid-Systeme Cystein-Cystin und Thioglykolsäure-Dithiodiglykolsäure erscheinen energetisch fast gleichwertig. Die Geschwindigkeit steigt auf beiden Seiten gleichmäßig mit dem  $p_H$  und der Temperatur. Aus dem monomolekularen Verlauf und dem Unterschied der Geschwindigkeitskonstanten von Hin- und Rückreaktion ist zu schließen, daß die Umsetzung durch den Grad der Dissoziation der Thiol-Verbindungen in  $RS^-$  und  $H^+$  bestimmt wird.

Der eine von uns dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die gewährte Unterstützung.

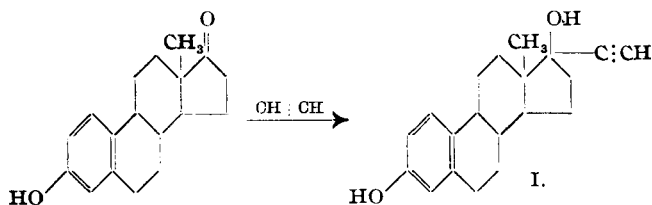
### 166. Hans Herloff Inhoffen, Willy Logemann, Walter Hohlweg und Arthur Serini: Untersuchungen in der Sexualhormon-Reihe<sup>1)</sup>.

[Aus d. Hauptlaborat. der Schering A.-G., Berlin.]

(Eingegangen am 14. April 1938.)

Vor einiger Zeit haben L. Ruzicka u. K. Hofmann<sup>2)</sup> sowie gleichzeitig J. Kathol, W. Logemann u. A. Serini<sup>3)</sup> mitgeteilt, daß man an die 17-Keto-Gruppe des Dehydro-androsterons und des Androsterons Acetylen anzulagern vermag. Die Kondensation verläuft besonders glatt in flüssigem Ammoniak unter Verwendung des Kaliumsalzes des Acetylens.

Inhoffen u. Hohlweg<sup>4)</sup> haben diese Reaktion auf das Östron übertragen und hierbei das erwartete 17-Äthynyl-östradiol der Formel I vom Schmp. 145—146° und der optischen Drehung  $[\alpha]_D: + 1^\circ$  erhalten.



Die Anlagerung von Acetylen könnte zu zwei *cis-trans*-Isomeren führen; augenscheinlich ist jedoch die Bildung des einen Isomeren stark begünstigt, denn das in 90% Ausbeute erhaltene Produkt ist ohne Zweifel einheitlich. Zur Charakterisierung haben wir unter anderem das gut kristallisierende Monobenzoat dargestellt, das nach der alkalischen Verseifung den Ausgangsstoff mit unveränderten Eigenschaften wieder zurückliefert. Dieser Befund unterstreicht die Einheitlichkeit der Äthynyl-Verbindung.

<sup>1)</sup> Von dem einen von uns (H. H. I.) am 26. 2. 38 auf der Tagung der Nordwest-deutschen Chemiedozenten in Göttingen vorgetragen; s. Angew. Chem., Nr. 12, S. 173 [1938].

<sup>2)</sup> Helv. chim. Acta **20**, 1280 [1937].

<sup>3)</sup> Naturwiss. **25**, 682 [1937].

<sup>4)</sup> Naturwiss. **26**, 96 [1938].