

290. Fritz Micheel und Hans Emde: Über die Bildung von Thiolgruppen bei der Hydrolyse von Schlangengiften und Eiweißstoffen*).

[Aus dem Organ.-chem. Laborat. d. Universität Münster i. W.]

(Eingegangen am 19. August 1939.)

Wie in den beiden vorigen Mitteilungen¹⁾ gezeigt wurde, treten bei der Säurehydrolyse von Schlangengiften und verschiedenen Eiweißstoffen bei Ausschluß von Sauerstoff Stoffe auf, die Phosphorwolframsäure reduzieren. Ein Teil von ihnen ist thiolhaltig, wie die Reaktion mit Nitroprussidnatrium zeigt.

Zur Untersuchung gelangten Präparate von Cobra-Neurotoxin verschiedener Reinheit²⁾ und native Gifte von folgenden Viperiden: *Crotalus terrificus*, *Bothrops alternata* und *Ancistrodon piscivorus*. Von Eiweißstoffen wurden unter gleichartigen Bedingungen untersucht: das durch seinen hohen Schwefelgehalt ausgezeichnete krystallisierte *Antiaris*-Eiweiß³⁾ (aus dem Saft von *Antiaris toxicaria*), kryst. Insulin, kryst. Albumin aus Hühnereiern und Gelatine. Zum Vergleich wurden ferner *l*-Cystin und S.S-Glutathion herangezogen. Die Hydrolysen wurden nach verschiedenen Zeiten aufgearbeitet und das Reduktionsvermögen mit und ohne Sulfitzusatz (nach Folin photometrisch⁴⁾) ermittelt. Um zu beurteilen, ob das Reduktionsvermögen allein auf das Vorhandensein von Thiol (Cystein) zurückzuführen ist, wurden die Messungen ferner bei Gegenwart von Quecksilber-II-chlorid ausgeführt⁵⁾, und zwar auch hier mit und ohne Gegenwart von Sulfid. Zunächst wurde festgestellt, daß Cystein, Cystin und Glutathion (SH) bei Anwesenheit von Quecksilber-II-chlorid mit oder ohne Sulfitzusatz keinerlei Reduktionsvermögen auf Phosphorwolframsäure ausüben. Thiole werden also restlos als Mercaptide gebunden und so der Reaktion mit Phosphorwolframsäure entzogen. Wurden nun Hydrolysate der oben angeführten Eiweißstoffe und Schlangengifte unter gleichen Bedingungen bei Gegenwart von HgCl_2 untersucht, so zeigten sie ein teils vermindertes, teils aber sogar erhöhtes Reduktionsvermögen. (Siehe die Tafel 1.) Offenbar müssen also aus den Hydrolysaten mit Quecksilberchlorid nicht thiolartige Stoffe gebildet werden, die nicht von Quecksilber gebunden werden, aber auf Phosphorwolframsäure reduzierend wirken. Diese Stoffe müssen ganz oder zum Teil erst durch die Einwirkung des HgCl_2 entstanden sein, da das Reduktionsvermögen nach Zugabe von HgCl_2 auch höher sein kann als ohne dieses. Ob sie im ursprünglichen Hydrolysat vorliegen, läßt sich aus den bisherigen Messungen nicht ableiten. Eine gewisse Klärung brachte die Unter-

*) Schlangengifte XI. Mittel.

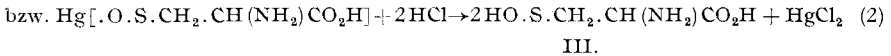
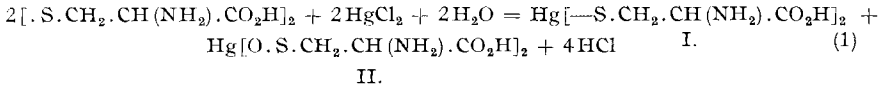
1) Micheel, B. **72**, 68, 397 [1939].

2) Das uns zur Verfügung stehende Gift von *Naja tripudians* (indische Cobra) hat zum Teil eine wesentlich höhere Wirksamkeit als das früher verarbeitete: $0.3\text{---}0.35 \gamma = 1 \text{ M.E.}$ gegenüber früher $0.5 \gamma = 1 \text{ M.E.}$ (Über die Definition der Mäuseeinheit [M.E.] siehe Micheel u. Jung, Ztschr. physiol. Chem. **239**, 219 [1936].) Die Gewinnung von reinem Neurotoxin mit einer Wirksamkeit von $0.12 \gamma = 1 \text{ M.E.}$ wurde nach einem neuen, später zu beschreibenden Verfahren durchgeführt.

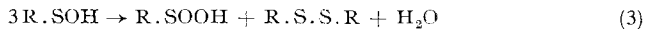
3) Wir verdanken dies Präparat Hrn. Geheimrat Kiliani, Freiburg i. Br.

4) Alle Messungen dieser Arbeit wurden beim gleichen pH (5.2) ausgeführt.5) Lugg, Biochem. Journ. **26**, 2160 [1932]; Shinohara, Journ. biol. Chem. **111**, 435; **112**, 671 [1935].

suchung des Cystins und S.S-Glutathions gegenüber den genannten Reagenzien. Cystin wird bei Zimmertemperatur durch Quecksilberchlorid auch bei längerer Einwirkungsdauer nicht aufgespalten. Erst bei 60° tritt ziemlich schnelle Reaktion ein (Abpufferung mit Natriumacetat). Wir möchten die Aufspaltung zunächst folgendermaßen formulieren (1):



Es entstehen also die Quecksilberverbindungen des Cysteins (I) und der zugehörigen Sulfensäure⁶⁾ (II) (*l*-Alanin- β -sulfensäure) bzw. die freie Sulfensäure III. Sulfensäuren sind nur in seltenen Fällen isoliert worden⁷⁾, da sie wenig beständig sind und durch intermolekulare Reduktion-Oxydation in Sulfinsäure und Disulfid übergehen⁸⁾, primäre auch unter Abspaltung von Schwefelwasserstoff zerfallen. Es ist uns daher bisher nicht gelungen, die Sulfensäure rein zu erhalten. Wir sind jedoch weiter mit diesem Stoffe beschäftigt. Zusammensetzung und chemisches Verhalten unserer bisherigen Präparate zeigen jedoch einwandfrei, daß in ihnen neben Cystein-hydrochlorid beträchtliche Mengen an *l*-Alanin- β -sulfensäure enthalten sind. Die Präparate spalten beim Aufbewahren langsam Schwefelwasserstoff ab, ferner bildet sich beim Stehenlassen ihrer wäßrigen Lösungen unter anaeroben Bedingungen Cystin (3) (vergl. die Beobachtungen von Fries⁷⁾), gleichzeitig



tritt Mutarotation ein. Bemerkenswert und von dem des Cysteins abweichend ist das Verhalten gegenüber Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Hg^{++} -Ionen. Phosphorwolframsäure wird nicht nur direkt, sondern auch bei Gegenwart von HgCl_2 reduziert. Die Bindung des Quecksilbers durch die SOH-Gruppe ist also, wie es auch zu verstehen ist, weniger fest, als die durch die SH-Gruppe. Für die Oxydation der Sulfensäure durch Phosphorwolframsäure sind zwei Formulierungen zu diskutieren. Sowohl das nach (4) zu er-



wartende Disulfoxyd IV des Cystins⁸⁾ als auch die Sulfinsäure V (Gleichung 5) reduzieren Phosphorwolframsäure nicht. Im Falle der Gleichung (4) würden 1 Äquivalent, im Falle der Gleichung (5) 2 Äquivalente Sauerstoff auf 1 Molekül der Sulfensäure verbraucht werden. Wir möchten Gleichung (5) für wahrscheinlicher halten, da das Reduktionsvermögen unserer Präparate gegenüber dem Folin-Reagens beträchtlich höher als das des Cysteins ist.

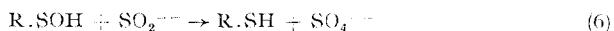
⁶⁾ Ob das Quecksilber in der Sulfensäure am ---SOH oder am Carboxyl gebunden ist, ist zunächst ohne Bedeutung.

⁷⁾ Fries, B. **45**, 2965 [1912]; Fries u. Schürmann, B. **52**, 2182 [1919].

⁸⁾ Das Disulfoxyd reduziert bei Zimmertemperatur nur sehr langsam (Lavigne, Journ. biol. Chem. **113**, 583 [1935]).

Diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß der Stoff in den Hydrolysaten von Schlangengiften und Eiweißstoffen, der auch bei Gegenwart von Quecksilber-II-chlorid auf Folins Reagens reduzierend wirkt, eine Sulfensäure ist.

Von weiterem Interesse war das Verhalten der Sulfensäure III gegenüber Phosphorwolframsäure bei gleichzeitiger Gegenwart von Quecksilber-II-chlorid und Sulfit. Wie schon erwähnt, reagieren SH- und S.S-Verbindungen bei Gegenwart von HgCl_2 nicht mit Folins Reagens. Überraschenderweise verhält sich die Sulfensäure III analog. Dies ist am besten so zu verstehen, daß III durch Sulfit zunächst zum Thiol reduziert wird (6); letzteres wird dann durch das Hg^{++} gebunden.

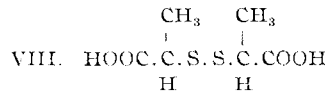


Gerade dies letztere Verhalten der Sulfensäure bei Gegenwart von Quecksilberchlorid und Sulfit zeigt nun, daß bei der Einwirkung von Quecksilberchlorid und Sulfit auf Eiweiß- und Schlangengifthydrolysate in den meisten Fällen noch ein weiterer reduzierender Stoff auftritt, vielleicht z. Tl. auch schon in den Hydrolysaten vorliegt (darüber ließ sich noch keine Entscheidung treffen); denn, wie die Tafel zeigt, vermögen fast alle untersuchten Hydrolysate nach Zugabe von Sulfit und Quecksilber-II-chlorid beträchtlich reduzierend auf Phosphorwolframsäure zu wirken. Eine Ausnahme machen bisher das Hydrolysat von Antiaris-Eiweiß, ferner das Cystin und das S.S-Glutathion. Das bedeutet, daß das Reduktionsvermögen der Hydrolysate bei Gegenwart von HgCl_2 und SO_3^{--} nicht auf Cystin zurückgeführt werden kann⁹⁾. Zum Vergleich und zur weiteren Klärung haben wir Cystin (VI) und S.S-Glutathion (VII) unter gleichen Bedingungen hydrolysiert. Die größere Reaktionsfreudigkeit von S.S-Bindungen in substituierten Cystinen ist bekannt. Es zeigte sich nun, daß Hydrolysate von VII sich sehr ähnlich den Eiweißhydrolysaten verhalten (vergl. die Tafel). Vor und nach der Hydrolyse ist ein beträchtliches Reduktionsvermögen gegenüber Phosphorwolframsäure festzustellen, auch bei Zugabe von HgCl_2 und Sulfit zur Messungslösung. Die Werte nehmen mit wachsender Dauer der Säurehydrolyse ab. Im Gegensatz dazu wird das Verhalten von Cystin unter den Bedingungen der Hydrolyse kaum geändert. Man muß daraus folgern, daß in den zur Verwendung gelangten Eiweißhydrolysaten außer Thiol und Sulfensäure noch andere reduzierende Stoffe vorliegen, und daß diese auch aus S.S-Glutathion entstehen. Über die Natur dieser Stoffe, die bei Gegenwart von HgCl_2 und SO_3^{--} reduzierend wirken, läßt sich jedoch noch nichts Sicheres sagen.

Bemerkenswert ist, daß im Gegensatz zum Cystin das S.S-Glutathion schon bei Zimmertemperatur durch Quecksilber-II-chlorid unter Bildung von Sulfid und Sulfensäure gespalten wird. Dies überrascht jedoch nicht bei Berücksichtigung der schon erwähnten erhöhten Reaktionsfähigkeit der S.S-Bindung in substituierten Cystinen. Aber im Gegensatz zu den Hydrolysenprodukten entsteht dabei nicht der zweite Stoff, der bei Gegenwart von Hg^{++} und SO_3^{--} auf Phosphorwolframsäure reduzierend wirkt. Zu dessen

⁹⁾ Die Dithio-dilactylsäure, die als Zersetzungsprodukt des Cystins gefunden wurde (Mörner, Ztschr. physiol. Chem. 52, 474 [1907]) reagiert unter den Versuchsbedingungen ebensowenig wie das Cystin.

Bildung ist vorherige Säurehydrolyse erforderlich. Wir haben die Möglichkeit in Erwägung gezogen, daß für das Verhalten der Hydrolysate gegenüber Quecksilberchlorid und Sulfit, die als Umwandlungsprodukt des Cystins bekannte Dithio-dilactylsäure in Betracht kommt. Dagegen spricht zunächst, daß Dithio-dilactylsäure (VIII) durch Sulfit bei pH 5.2 nicht aufgespalten



wird¹⁰⁾. Andererseits entsteht aber, wie die Tafel zeigt, aus dieser Säure durch Hydrolyse Stoffe, die bei Gegenwart von Quecksilberchlorid (in sehr geringem Maße auch bei Gegenwart von Sulfit) auf Folin's Reagens reduzierend wirken.

Tafel.

Substanz	Gesamt-schwefel %	Reduktionsvermögen berech- net als Cysteinschwefel (%)			Dauer der Hydrolyse in Stdn.
		ohne HgCl ₂	mit HgCl ₂	mit HgCl ₂ u. NaHSO ₃	
<i>l</i> -Cystein-hydrochlorid	20.3	20.3	0.00	0.00	24
<i>l</i> -Cystin	26.7	0.00	0.15	0.00	ohne Hydrolyse
„		0.47	0.16	0.00	78
SH-Glutathion	10.4	—	0.05	—	ohne Hydrolyse
SS-Glutathion	10.5	0.02	1.22	0.00	„ „
„		0.21	1.14	2.24	24
„		1.00	3.25	0.43	29
„		0.90	2.26	0.31	72
Dithio-dilactylsäure	30.2	0.06	0.60	0.09	24
Insulin	3.3	0.34	0.76	0.15	24
Antiaris-Eiweiß	8.0	1.88	2.05	0.00	27
Eieralbumin	1.6	0.56	0.43	0.14	24
Gelatine	0.6	0.06	0.05	0.03	24
„		0.05	0.05	0.03	72
Neurotoxin (Naja tri- pudians)	5.6	0.61	1.53	0.34	27
Neurotoxin (Naja tri- pudians)		0.90	1.77	0.32	72
<i>Crotalus terrificus</i> (natives Gift)	4.0	0.87	1.75	0.30	24
<i>Crotalus terrificus</i> (natives Gift)		0.91	2.63	0.32	72
<i>Bothrops alternata</i> (natives Gift)	3.9	1.05	1.42	1.27	24
<i>Ancistrodon piscivorus</i> (natives Gift)	3.9	0.31	1.27	1.00	24

Für die Untersuchung von Eiweißstoffen und Schlangengiften bzw. deren Hydrolysaten ergibt sich aus dem bisher Gesagten:

Bei der Hydrolyse unter Ausschluß von Sauerstoff treten, z. Tl. in erheblichem Maße, Gruppen auf, die Phosphorwolframsäure reduzieren. Soweit

¹⁰⁾ Vergl. auch Schöberl und Ludwig, B. **70**, 1422 [1937].

dies Thiolgruppen sind, lassen sie sich bei der colorimetrischen Messung durch Bindung an Hg^{++} ausschalten. Andererseits lassen sich in den Hydrolysaten nach Einwirkung von HgCl_2 mindestens 2 Stoffe nachweisen, die durch Hg^{++} nicht gebunden werden und auf Phosphorsäure reduzierend wirken. Ob diese Stoffe im Hydrolysat schon vorhanden sind oder erst mit HgCl_2 entstehen ist noch nicht zu klären. Der eine der Stoffe ist wahrscheinlich eine Sulfensäure. Er verhält sich wie die aus Cystin gewonnene *l*-Alanin- β -sulfensäure gegenüber Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Hg^{++} . *l*-Alanin- β -sulfensäure wird durch Sulfit zu Cystein reduziert und letzteres durch Hg^{++} gebunden (keine Reduktion von Folin's Reagens bei Anwesenheit von $\text{Hg}^{++} + \text{SO}_3''$). Der zweite Stoff reduziert Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von $\text{Hg}^{++} + \text{SO}_3''$. Seine Natur ist noch unbekannt.

Die Befunde zeigen erneut, daß man aus der Bestimmung des Cysteins und Cystins nach Folin in Eiweißhydrolysaten nicht ohne weiteres auf das Vorliegen des so ermittelten Schwefels im Eiweiß als Disulfid schließen darf. Auch die Ausschaltung von Cystein in Eiweißhydrolysaten mit Quecksilberchlorid zur Ermittlung anderer reduzierender Substanzen ist nicht möglich. Dies ist angesichts der zahlreichen Untersuchungen auf diesem Gebiete¹¹⁾ zu beachten.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsergebnisse erlauben es noch nicht, für die Schlangengifte besondere Rückschlüsse auf die Bindung des Schwefels zu ziehen.

Zur Isolierung und Identifizierung von Cystein aus Hydrolysaten haben wir in einigen Fällen seine Fähigkeit benützt, beim Behandeln mit Aceton

bei Gegenwart von Chlorwasserstoff schnell in ein Thiazolidinderivat (2,2-Dimethyl-thiazolidin-carbonsäure-(5)) (IX) überzugehen. Das in Hydrolysaten enthaltene Cystein wird zunächst mit Cuprooxyd abgetrennt, die Cupro-Verbindung mit H_2S zerlegt und das erhaltene Produkt mit schwach HCl-haltigem Aceton verrieben. Ganz analog

kann man aus Cystein-hydrochlorid durch Verreiben mit salzsäurehaltigem Aceton das Thiazolidinderivat IX unmittelbar gewinnen. Aus den Acetonlösungen kristallisiert IX beim Einengen in reiner Form aus. In wäßriger Lösung gibt es Thiolreaktion, weil es allmählich in die Komponenten hydrolysiert wird. Die Hydrolyse läßt sich am besten an Hand der Mutarotation verfolgen.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Firma C. F. Boehringer & Soehne für die Unterstützung unserer Arbeiten.

Beschreibung der Versuche.

Meßmethodik.

Die Hydrolysen wurden, wie in der X. Mitteil. S. 399 beschrieben, vorgenommen. Alle Operationen wurden unter luftfreier CO_2 ausgeführt. Die Lösungen wurden im Vak. zur Trockne verdampft, die Rückstände durch wiederholtes Aufnehmen mit Wasser möglichst weitgehend von HCl befreit

¹¹⁾ Lugg, Biochem. Journ. **26**, 2160 [1932]; Shinohara, Journ. biol. Chem. **111**, 435, **112**, 671 [1935]; Kassell, Brand u. Mitarbb., Journ. biol. Chem. **125**, 115, 131, 145, 435 [1938].

und sodann in Wasser gelöst. Diese Lösungen wurden zunächst mit verd. Natronlauge auf p_H 5—6 gebracht und ein aliquoter Teil (dessen Größe sich nach dem zu erwartenden Reduktionsvermögen richtete) mit Wasser auf 3 ccm ergänzt. Hierzu wurden 13 ccm Acetatpuffer (2-mol.; p_H 5.2) und 4 ccm Phosphorwolframsäure nach Folin¹²⁾ gegeben. Nach 30 Min. langem Stehenlassen unter CO_2 wurde mit CO_2 -gesättigtem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und im Zeiss-Pulfrich-Stufenphotometer gemessen (Filter S 72). Der Einfachheit halber wurden alle Werte auf mit reinem Cystin-hydrochlorid ohne und mit Sulfid gewonnene Eichkurven bezogen, also als „Cysteinschwefel“ berechnet (s. die Tafel).

Messungen bei Gegenwart von Quecksilber-II-chlorid.

Die Meßlösungen mit $HgCl_2$ wurden vor dem Pufferzusatz mit 0.5 ccm einer 0.1-mol. wäßrigen Sublimatlösung, diejenigen mit SO_3'' mit 2 ccm einer 10-proz. $Na_2S_2O_5$ -Lösung in Acetatpuffer (p_H 5.2) versetzt. Die Ansätze mit $HgCl_2 + SO_3''$ enthielten 0.5 ccm $HgCl_2$ -Lösung und 2.0 ccm Sulfidlösung. Alle Versuche mit Sulfidzusatz (allein oder mit $HgCl_2$) wurden nach 10-min. Stehenlassen mit Folin'scher Lösung versetzt.

Die Meßlösungen von Hydrolysaten mit $HgCl_2$ und mit $HgCl_2 + SO_3''$ zeigten nach Zugabe des Folin-Reagens eine mehr oder weniger starke Trübung¹³⁾, die durch Zentrifugieren beseitigt wurde. Die Ergebnisse wurden dadurch möglicherweise beeinflußt. Als Vergleichslösung diente bei den Messungen ohne Zusatz sowie bei den Messungen mit $HgCl_2$ eine Lösung in der die Folin-Lösung durch 4 ccm H_2O , bei den Messungen mit SO_3'' bzw. $HgCl_2 + SO_3''$ eine solche in der die zu untersuchende Hydrolysatlösung durch das gleiche Volumen H_2O ersetzt waren.

2.2-Dimethyl-thiazolidin-carbonsäure-(5) (IX).

300 mg Cystein-hydrochlorid wurden in 50 ccm trockenem Aceton suspendiert und 2 Min. trockner Chlorwasserstoff eingeleitet. Beim Schütteln auf der Maschine trat in einigen Stunden Lösung ein. Nach 6 Stdn. Schütteln schieden sich seidig glänzende Plättchen ab: 150 mg. Schmp. 165—168°. Aus den Mutterlaugen konnte eine weitere Menge gewonnen werden.

4.606 mg Sbst.: 6.170 mg CO_2 , 2.590 mg H_2O . — 2.781 mg Sbst.: 0.176 ccm N_2 (21.5°, 750 mm). — 7.990 mg Sbst.: 9.540 mg $BaSO_4$. — 6.368 mg Sbst.: 4.580 mg $AgCl$.

$C_6H_{12}O_2NSCl$ (197.5). Ber. C 36.46, H 6.07, N 7.08, S 16.23, Cl 17.95

Gef. „ 36.55, „ 6.29, „ 7.25, „ 16.40, „ 17.80.

Drehwertsänderung (1-proz. Lösg. in H_2O):

Zeit	$[\alpha]_D$
0	— 75.2°
10 $\frac{1}{2}$ Stdn.	— 25.0°
21 $\frac{1}{2}$ „	— 8.0°
35 $\frac{1}{2}$ „	0.0°

¹²⁾ Journ. biol. Chem. **106**, 311 [1934]; Fujita u. Ebihara, Biochem. Ztschr. **290**, 182 [1937].

¹³⁾ Diese tritt auch bei Zugabe von $LiSO_4$ auf.

Darstellung eines Sulfensäure(III)-Präparates.

1.0 g *l*-Cystin (Hoffmann-La Roche) wurde in 10 ccm konz. HCl gelöst und 40 ccm Wasser, 75 ccm Acetatpuffer (p_{H} 5.2) und 6 g HgCl_2 hinzugegeben. Die Lösung wurde 40 Stdn. auf 60° erwärmt. Ein Teil der Quecksilbersalze fiel in farblosen Nadelchen aus, die Hauptmenge nach dem Abstumpfen mit Lauge auf p_{H} 6.5. Das Krystallisat wurde abzentrifugiert, mit Puffer und sodann mit Wasser gewaschen und schließlich in salzsaurer Lösung mit H_2S zerlegt. Nach dem Absaugen des Quecksilbersulfids und Abdampfen im Vak. wurde das Gemisch von Cystein-hydrochlorid und Sulfensäurehydrochlorid als farbloses Krystallisat erhalten.

Das Präparat zeigte Mutarotationen infolge Disproportionierung. Etwas Cystin schied sich ab. Beispiel eines Präparates:

Zeit (Stdn.)	$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$
0.....	— 52.0 ⁰
2.....	— 36.4 ⁰
14.....	— 25.0 ⁰
20.....	— 25.0 ⁰

Zur Reinigung wurde in Wasser gelöst, sofort mit Mercuriacetatlösung die schwerlöslichen Quecksilbersalze ausgefällt, letztere zentrifugiert, gewaschen, sodann in konz. Salzsäure gelöst und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach dem Abdampfen im Vak. hinterblieben die Hydrochloride als farbloses Krystallisat.

Die Bruttozusammensetzung der Präparate wich von der des Cysteinhydrochlorides entspr. dem höheren Sauerstoffgehalt des Sulfensäurehydrochlorides ab. Die folgende Übersicht zeigt als Beispiel das Reduktionsvermögen eines Präparates gegenüber Phosphorwolframsäure unter den verschiedenen Bedingungen:

Schwefelgehalt ber. in % aus der Eichkurve des Cystein-hydrochlorids

ohne Zusatz	mit HgCl_2	mit HgCl_2 und SO_3^{--}
26.1	9.7	0.0

Zum Vergleich Cystein-hydrochlorid

20.3	0.0	0.0
------	-----	-----

Die Präparate geben mit Basen (Alkali, NH_4OH) eine Blauviolett-Färbung. Es muß zunächst offen bleiben, auf welchen Stoff diese zurückzuführen ist, da auch gewöhnliches käufliches Cystein-hydrochlorid (Hoffmann-La Roche) eine Färbung gibt, während *l*-Cystein, nach Warburg gereinigt, kaum eine Farbreaktion zeigt. SH-Glutathion gibt ebenfalls keine Farbreaktion mit Alkali.