

Zur Kinetik der Umsetzung von Cystin mit o-Hydroxymereuribenzoessäure und Natronlauge

Von
Mieczysław Wroński

Aus dem Institut für Chemische Technologie der Universität Lodz (Polen)

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 2. Oktober 1962)

Es wird der zeitliche Verlauf der Zersetzung von Cystin und der Bildung von Cystein in Gegenwart von NaOH und o-Hydroxymereuribenzoessäure bei 50° und 60° untersucht und, soweit dies zulässig erscheint, eine reaktionskinetische Deutung der Zeit—Umsatzkurven vorgenommen. In den Reaktionsprodukten (bei 90°) wurde Thiocystein nachgewiesen.

Überblickt man die zahlreichen Experimentalarbeiten über Verhalten von Disulfiden im alkalischen Medium, die vor allem durch *A. Schöberl*^{1, 2} und seine Mitarbeiter ausgeführt wurden, so zeigt sich auch heute noch kein geschlossenes Bild. Unter den Reaktionsprodukten nach der Umsetzung von Cystin mit Alkalien befinden sich Cystein, Cysteinsulfinsäure, Sulfide, Lanthionin, Alanin und anderen. Als erste Reaktionsstufe wird eine Spaltung von Cystin nach Schema $RSSR \rightleftharpoons RS^+ + RS^-$ angesehen, wobei RS^+ mit Hydroxylionen zur Sulfensäure $RSOH$ reagiert, die sich unter Disproportionierung zur Sulfinsäure und Cystein umsetzt oder durch H_2S -Abspaltung weiter verändern kann. Das Lanthionin bildet sich nach *Schöberl* aus Dehydroalanin und Cystein².

Experimenteller Teil

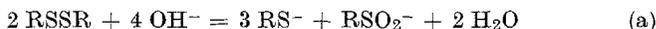
Es haben in vorliegender Arbeit die neulich ausgearbeiteten Analysemethoden Anwendung gefunden³. Es wurden im Rahmen von Vorversuchen die Lösungen von etwa 0,01 M Cystin in 1 n NaOH bei 60° und 90° gehalten

¹ Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl). Bd. IX, S. 75 (1955) und Bd. XI, S. 436 (1958). G. Thieme-Verlag, Stuttgart.

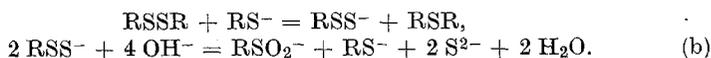
² *A. Schöberl* und *A. Wagner*, Proc. Internat. Wool Textile Res. Conference, Australia 1955, Vol. C., S. 11.

³ *M. Wroński*, Z. anal. Chem. **169**, 351 (1959), und im Drucke; Chem. analit. [Warschau] **6**, 859 (1961), und im Drucke.

und von Zeit zu Zeit Proben entnommen. In allen Proben konnte leicht die Gegenwart von Cystein nachgewiesen werden durch Titration mit *o*-Hydroxymercuribenzoessäure in Anwesenheit von Thiofluorescein als Indicator und durch die schnelle Reaktion mit Acrylnitril. In allen Proben konnte auch die Bildung von Cysteinsulfinsäure gemäß der Reaktion



festgestellt werden, welche sich nach Maskierung von Cystein mit Acrylnitril und Zugabe von 1 n Schwefelsäure (in Überschuß) mit Jodlösung titrieren ließ. Dagegen konnte die Bildung von Sulfiden selbst nach 5 Stdn. bei 60° nicht nachgewiesen werden; bei 90° konnte man mittels Plumbitlösung die Bildung von PbS nach etwa 1 Stde. nachweisen. Wenn jedoch die Lösung zuerst mit Sulfiten, Cyaniden oder Acrylnitril versetzt wird, bleibt die Reaktion auf Sulfide aus. Erwärmt man die Probe einige Stdn. auf 90°, so bleibt die vorherige Zugabe von Na₂SO₃, KCN oder Acrylnitril ohne Einfluß auf die Reaktion mit Plumbitlösung. Solches Verhalten kann durch die Annahme erklärt werden, daß infolge einer Reaktion zwischen Cystin und Cystein Lanthionin und Thiocystein gebildet wird, welches letzteres sich weiter unter Bildung von Sulfiden zersetzt,



Um die Gl. (b) zu bestätigen, wurde ein Gemisch von Cystin und Cystein in 0,2 n NaOH 3 Stdn. bei 90° gehalten. Die Lösung zeigte folgende Eigenschaften, die auf Bildung von Thiocystein zurückzuführen sind: Zugabe von Plumbitlösung führt zur Ausscheidung von PbS, aber — im Gegensatz zu Sulfid — die Reaktion tritt bei Zimmertemp. nicht sofort ein. Nach Einführung von Sulfiten, Cyaniden oder Acrylnitril bildet sich selbst nach Erwärkung kein PbS. Nach Zugabe von Säuren wird Schwefel und Schwefelwasserstoff ausgeschieden.

Versuchsführung und Ergebnisse

In 200 ml-Meßkolben wurden bestimmte Mengen von NaOH oder *o*-Hydroxymercuribenzoessäure (HMB) eingeführt, mit Wasser auf etwa 150 ml verdünnt und im Ultrathermostat auf eine bestimmte Temperatur gebracht; dann wurde eine bestimmte Menge D,L-Cystin (als Natriumsalzlösung) zugeführt und mit Wasser von derselben Temperatur bis zur Marke gefüllt. Nach bestimmten Zeitintervallen wurden aus dem Meßkolben Proben entnommen und in der beschriebenen Weise analysiert. Um der Oxydation von Cystein mit Luft vorzubeugen, wurde nach jeder Probeentnahme die Luft aus dem Meßkolben mit N₂ durch einen zweimal gebohrten Stöpsel verdrängt. (Bei Luftzutritt werden bei 50–60° pro Stunde in alkalischer Lösung etwa 2% des Cysteins zu Cystin oxydiert.)

Die wichtigsten Ergebnisse sind in den Abb. 1–4 dargestellt.

Es ist aus Abb. 1 und 2 ersichtlich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Konzentration der NaOH und mit der Anfangskonzentration des Cysteins zunimmt. Man ersieht aus den Kurven 3, 4 und 5 (Abb. 2), daß die Einführung von Cystein eine stark hemmende Wirkung auf den Ablauf der Reaktion zwischen Cystin und NaOH hat.

Die Abb. 3 und 4 zeigen, daß die Zersetzungsgeschwindigkeit von Cystin in Gegenwart von HMB mit den Anfangskonzentrationen von Cystin, HMB

und Natronlauge zunimmt, wie aber in anderen Proben festgestellt wurde, hat Hinzufügen äquimolekularer Mengen von Cystein und HMB keinen Einfluß auf den Reaktionsverlauf.

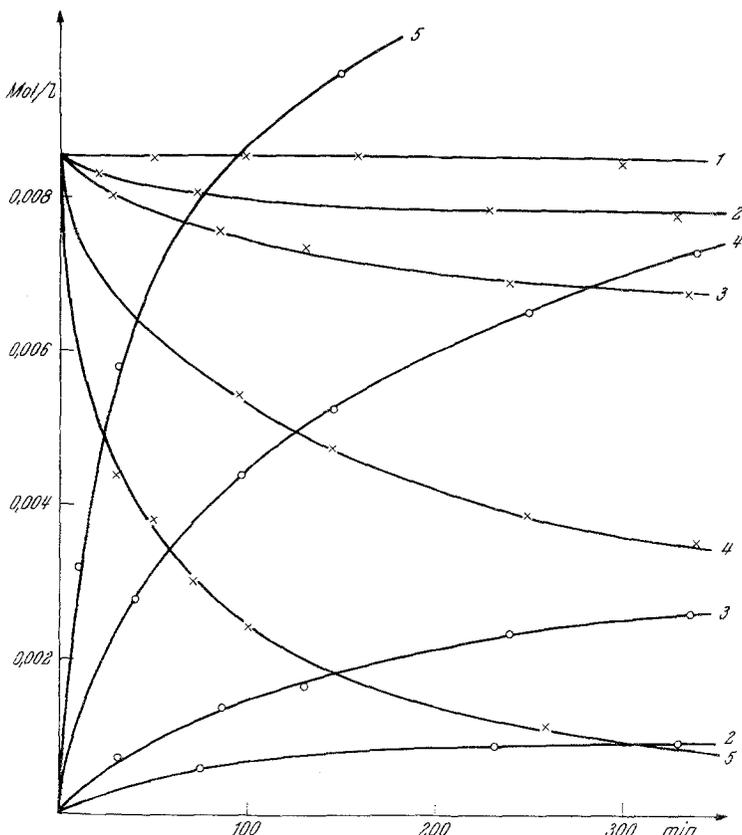


Abb. 1. Abhängigkeit der Konzentration von Cystin (—x—x—x) und Cystein (—o—o—o) von der Zeit der Reaktion mit Natronlauge bei 60°. 1: 0,01 n, 2: 0,2 n, 3: 0,4 n, 4: 1,0 n, 5: 2,0 n NaOH

Auswertung der Ergebnisse

Bezeichnet man die Konzentration von Cystin und Cystein (in Mol/l) als x bzw. y , so ist aus Gl. (a) ersichtlich, daß die Summe $x + \frac{2y}{3}$ konstant bleiben soll, indem aus zwei Molen Cystin drei Mole Cystein entstehen. Dieser Zusammenhang wird für alle Proben bei 50 und 60° in guter Annäherung bestätigt, z. B. werden für die Reaktion von Cystin in 2 n NaOH bei 60° die folgenden Werte für $x + \frac{2y}{3}$ berechnet: 8,50, 8,45, 8,33, 8,28, 8,28, 8,24, 8,33, 8,39 mmol/l. Zwar läßt sich bei allen Proben zu Beginn

der Reaktion eine Abnahme der Summe $x + \frac{2y}{3}$ feststellen, die auf einen geringen Verbrauch von Cystin für Nebenreaktionen, z. B. Bildung von unidentifizierten gelbgefärbten Substanzen zurückgeführt werden kann, doch liegt diese Abweichung nahezu in der Fehlergrenze.

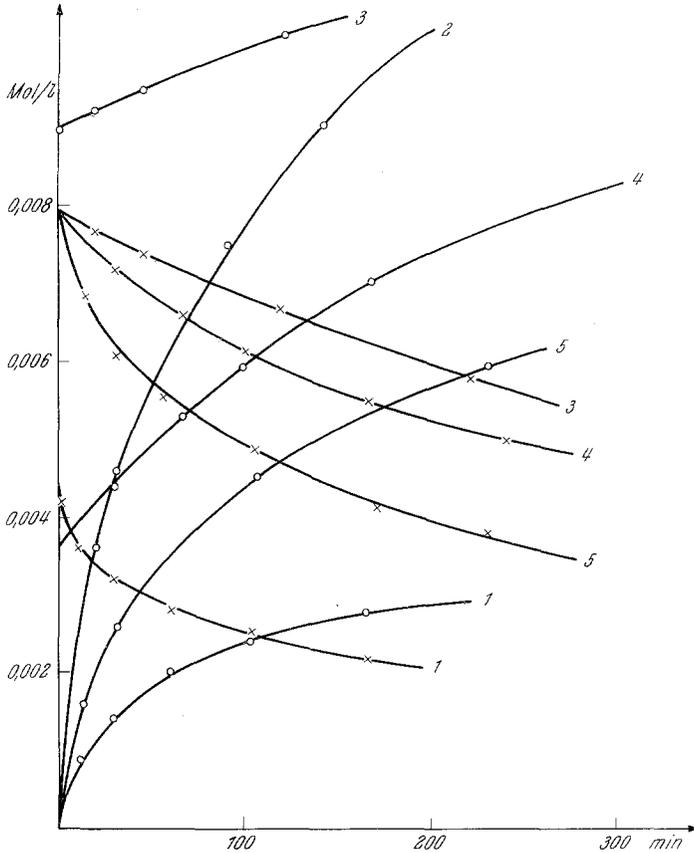
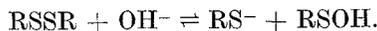


Abb. 2. Abhängigkeit der Konzentration von Cystin ($- \times - \times - \times$) und Cystein ($- \circ - \circ - \circ$) von der Zeit der Reaktion in n -NaOH bei 60° . 2 — Anfangskonzentration von Cystin 0,0170 m

Geht man nun zur kinetischen Deutung der Ergebnisse über, so werden ernste Schwierigkeiten angetroffen. Die Hemmung der Reaktion zwischen Cystin und NaOH durch Cystein läßt eine umkehrbare Reaktion vermuten. Dies ist aber nicht der Fall, denn, wie die Versuche ergaben, entsteht aus Cystein und Cysteinsulfinsäure in alkalischer Lösung, unabhängig von der NaOH-Konzentration, kein Cystin. Es kann aber angenommen werden, daß nur die erste Stufe der Reaktion umkehrbar ist,



Die Cysteinsulfensäure wird gleichzeitig in nicht umkehrbarer, schneller Reaktion zu Cystein und Cysteinsulfensäure umgesetzt. Die möglichen Reaktionen können wie folgt geschrieben werden:

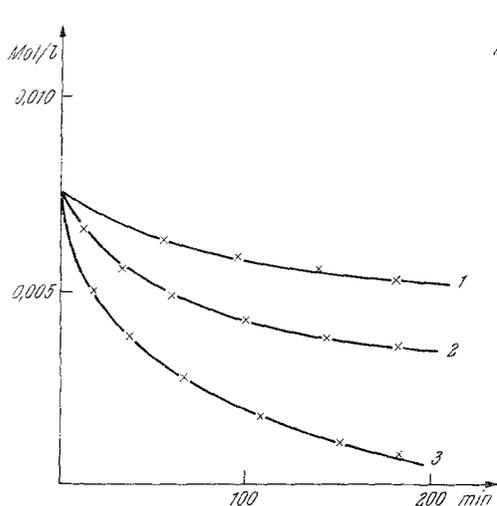
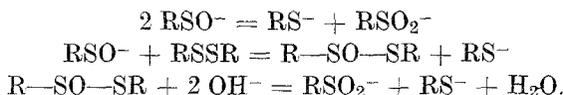


Abb. 3

Abb. 3. Abhängigkeit der Konzentration von Cystin von der Zeit der Reaktion mit o-Hydroxymercuribenzoessäure (HMB) bei 50° in 0,02 n NaOH. Anfangskonzentrationen von HMB: 1: 0,00428 m, 2: 0,00970 m, 3: 0,0204 m

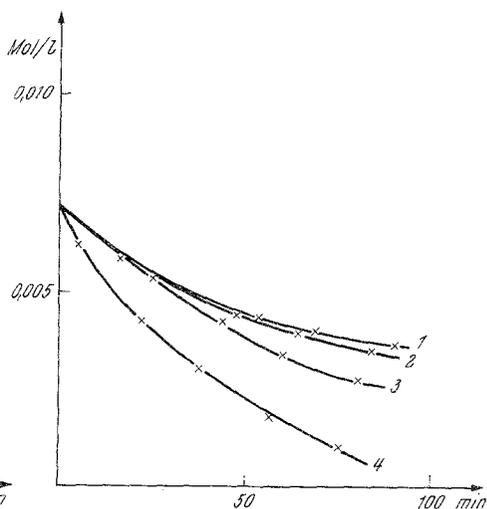


Abb. 4

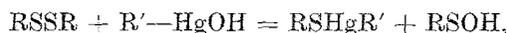
Abb. 4. Abhängigkeit der Konzentration von Cystin von der Zeit der Reaktion mit HMB und NaOH bei 50°. Anfangskonzentration von HMB — 0,0134 m. Anfangskonzentrationen von NaOH: 1: 0,02 n, 2: 0,4 n, 3: 0,8 n, 4: 1,6 n

Die obigen Betrachtungen führen zur folgenden kinetischen Gleichung:

$$-\frac{dx}{dt} = k_1 x q - k_2 y w, \quad (1)$$

wobei x , y , q , w die Konzentrationen von Cystin, Cystein, NaOH bzw. Cysteinsulfensäure sind. Die Gl. 1 kann aber nicht einfach nachgeprüft werden, weil die Konzentration der Cysteinsulfensäure unbekannt ist.

Betrachtet man nun die Reaktion zwischen Cystin und o-Hydroxymercuribenzoessäure $\text{o-C}_6\text{H}_4(\text{COO}^-)\text{HgOH}$, kurz als $\text{R}'\text{-HgOH}$ bezeichnet, so kann man zu folgenden Schlüssen kommen. Bei geringer Alkalität der Lösung findet nur eine bimolekulare, nicht umkehrbare Reaktion zwischen Cystin und $\text{R}'\text{-HgOH}$ statt,



wobei Cysteinsulfensäure in schneller Reaktion in Cystein und Cysteinsulfensäure umgewandelt wird. In Gegenwart von NaOH finden zwei unabhängige Reaktionen statt, die mit OH^- und mit HMB. Da aber das gebildete Cystein sofort von der HMB gebunden wird, so sind diese Reaktionen nicht umkehrbar. Man kann nun schreiben, wenn man die Konzentration von HMB als z bezeichnet,

$$-\frac{dx}{dt} = k_1 x q + k_3 x z \quad (2)$$

Setzt man in Gl. 2 $q = 0$ ein, so erhält man die einfache kinetische Gleichung zweiter Ordnung. Berücksichtigt man, daß $z = z_0 - 1,5(x_0 - x)$, so findet man nach Integration für k_3 den folgenden Ausdruck,

$$k_3 = \frac{2,3}{t(1,5x_0 - z_0)} \lg \frac{x z_0}{1,5xx_0 + x_0z_0 - 15x_0^2} \quad (3)$$

Die nach Gl. 3 berechneten Mittelwerte von k_3 sind in Tab. 1 dargestellt.

Tabelle 1. Die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion zwischen o-Hydroxymercuribenzoessäure und Cystin

Mol/l		Temp. °C	k_3 l Mol ⁻¹ · Min ⁻¹
z_0	x_0		
0,00428	0,00734	50	0,72
0,0107	0,00734	50	0,77
0,0204	0,00734	50	0,81
0,0134	0,00785	50	0,76
0,0134	0,00360	60	1,4
0,0134	0,00785	60	1,2
0,0134	0,0112	60	1,3

Man ersieht aus der Tab. 1, daß bei verschiedenen Anfangskonzentrationen von Cystin und HMB die Werte für k_3 innerhalb gewisser Grenzen konstant sind, so daß die Gl. 3 als richtig angesehen werden kann. Die Reaktion von Cystin mit Hydroxylionen bei 0,02 n NaOH kann vernachlässigt werden. Die mittleren k_3 -Werte bei 50° und 60° betragen 0,77 und 1,3 l · Mol⁻¹ · min⁻¹.

Um die Werte k_1 zu berechnen, wird Gl. 2 durch x dividiert und in Schrittformel umgewandelt, es wird

$$k_1 = -\frac{k_3 z_m}{q} \frac{\Delta \ln x}{q \Delta t}, \quad (4)$$

wo z_m den jeweiligen Mittelwert bedeutet.

Die nach Gl. 4 berechneten k_1 -Werte sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Die mittleren k_1 -Werte bei 50 und 60° betragen $9,9 \cdot 10^{-3}$ und $2,2 \cdot 10^{-2}$, sie liegen also etwa 70mal niedriger als die k_3 -Werte. Auf Grund

Tabelle 2. Die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion zwischen Cystin und Hydroxylionen. $x_0 = 0,0134m$

t	x_0	Temp. °C	k_1 (l · Mol ⁻¹ · Min ⁻¹)
0,40	0,00730	50	$1,0 \cdot 10^{-2}$
0,80	0,00730	50	$8,6 \cdot 10^{-3}$
1,60	0,00730	50	$1,1 \cdot 10^{-2}$
0,40	0,00785	60	$1,7 \cdot 10^{-2}$
0,40	0,0112	60	$2,3 \cdot 10^{-2}$
0,80	0,00785	60	$2,5 \cdot 10^{-2}$
0,80	0,0112	60	$2,1 \cdot 10^{-2}$
1,20	0,0112	60	$2,2 \cdot 10^{-2}$

der obigen Berechnungen kann die Gl. 2 als gültig innerhalb der Fehlergrenzen angenommen werden. Es folgt daraus, daß die geschwindigkeitsbestimmende Stufe der Reaktion zwischen Cystin und Natronlauge aus der Anlagerung von Hydroxylion an Cystin und darauffolgendem Zerfall der gebildeten Komplexe in Cystein und Cysteinsulfensäure besteht.