

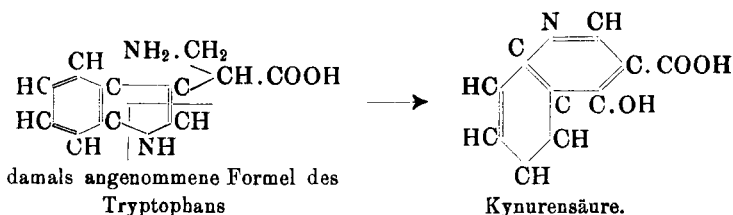
403. Alexander Ellinger: Ueber die Constitution der Indolgruppe im Eiweiss.

III. Mittheilung: Oxydation des Tryptophans zu  $\beta$ -Indolaldehyd.

[Aus dem Universitäts-Laboratorium für medic. Chemie und experimentelle Pharmakologie zu Königsberg i/Pr.]

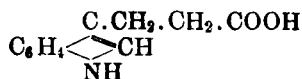
(Eingegangen am 12. Juli 1906.)

In meiner ersten Untersuchung über die Indolgruppe im Eiweiss<sup>1)</sup> glaubte ich, für die im Thierkörper stattfindende Umwandlung des Tryptophans in Kynurensäure die folgende Formulierung als wahrscheinlich bezeichnen zu dürfen:



Zu dieser Annahme veranlasste mich hauptsächlich der Umstand, dass durch sie die Stellung der Substituenten im Pyridinkern der Kynurensäure von vornherein gegeben schien. Von einem anderen naheliegenden Erklärungsversuch, dass nämlich der Chinolinring durch Erweiterung des Indolrings sich bilde, sah ich hauptsächlich aus dem Grunde ab, weil die dem Tryptophan nahestehende Indolessigsäure (Salkowski's »Skatolcarbonsäure«), wie ich mich schon damals überzeugt hatte, des Uebergangs in Kynurensäure nicht fähig war.

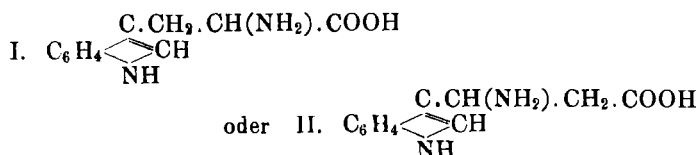
Durch die inzwischen von mir ausgeführte Synthese der Indolpropionsäure<sup>2)</sup> (Nencki's Skatollessigsäure), welche nach Hopkins' und Cole's Beobachtungen bei anaërober Fäulniss aus dem Tryptophan entsteht, ist die zuerst von mir angenommene Formel dieser Aminosäure unhaltbar geworden. Da für die Nencki'sche Säure die Formel:



<sup>1)</sup> Diese Berichte 37, 1801 [1904] und Zeitschr. für physiolog. Chem. 43, 325 [1904].

<sup>2)</sup> Diese Berichte 38, 2884 [1905].

durch die Synthese bewiesen ist, kommt für das Tryptophan nur noch die Constitution:



in Betracht. Es fällt somit auch die oben wiedergegebene Formulirung des Uebergangs von Tryptophan in Kynurensäure.

Weitere Aufschlüsse waren vom Studium der Oxydation des Tryptophans im Reagensglas zu erhoffen. Hopkins und Cole<sup>1)</sup> haben bereits einen Körper von der Formel  $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$  beschrieben, welcher bei der Oxydation des Tryptophans mit Eisenchlorid erhalten wird. Sie haben die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass es sich hier um ein noch unbekanntes Oxychinolin handle. Die nähere Untersuchung dieser Substanz erschien deshalb für unsere Frage von Wichtigkeit und wurde von mir im Einverständniss mit Hrn. Prof. Hopkins vorgenommen.

Vorversuche, das Product mit Natrium in alkoholischer Lösung zu einem Chinolin oder hydrirten Chinolin zu reduciren, zeigten, dass hierbei Körper entstanden, welche nach ihrem Geruch und ihren Farbenreactionen in die Indolgruppe zu gehören schienen. Das wies darauf hin, dass das Oxydationsproduct vielleicht ein Aldehyd des Indols sei, für welchen die Bruttoformel ebenfalls stimmte. Das Ausbleiben einiger Aldehydreactionen (Reduction von ammoniakalischer Silberlösung, Rothfärbung mit fuchsin-schwefliger Säure), von welchem die englischen Autoren berichten, konnte gegen die Annahme nicht zu schwer in's Gewicht fallen, da aus der Untersuchung von Bamberger und Djierdjian<sup>2)</sup> bekannt ist, dass auch der von ihnen dargestellte Pyrrolaldehyd in seinen Eigenschaften von anderen Aldehyden wesentlich abweicht.

Dass in der That der  $\beta$ -Indolaldehyd vorlag, liess sich leicht dadurch beweisen, dass die Substanz durch Oxydation mit Kaliumpermanganat in die von Ciamician und Zatti<sup>3)</sup> zuerst beschriebene  $\beta$ -Indolcarbonsäure übergeführt werden konnte.

Weiterhin gelang die identificirung auch durch die synthetische Darstellung des  $\beta$ -Indolaldehyds nach der Tiemann-Reimer'schen Reaction. Lässt man auf Indol in alkoholischer Lösung Chloroform und alkoholische Kalilauge in der Wärme einwirken, so entsteht

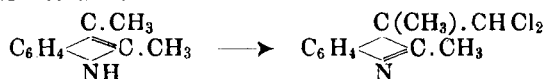
<sup>1)</sup> Journ. of physiol. 29, 451 [1903].

<sup>2)</sup> Diese Berichte 33, 536 [1900].

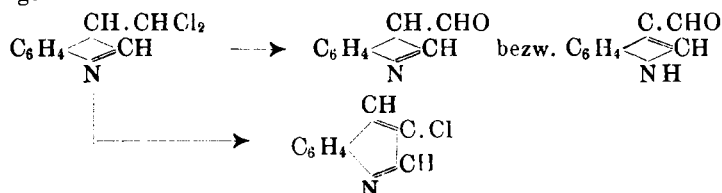
<sup>3)</sup> Diese Berichte 21, 1933 [1888].

ausser anderen Substanzen als leicht isolirbares Product der  $\beta$ -Indolaldehyd, der sich mit dem Oxydationsproduct aus Tryptophan identisch erwies. In relativ guter Ausbeute erhält man daneben  $\beta$ -Chlorchinolin, ein Resultat, das nach den Untersuchungen Ciamician's und seiner Schüler<sup>1)</sup>, insbesondere Magnanini's<sup>2)</sup>, über die Einwirkung von Chloroform und Natriumäthylat auf  $\alpha$ - und  $\beta$ -Methylindol leicht erklärlich ist.

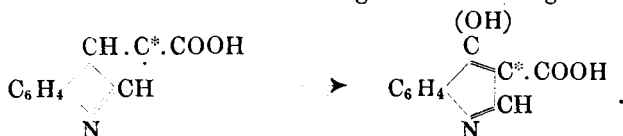
Plancher und Carrasco<sup>3)</sup> haben gezeigt, dass bei der Einwirkung von Chloroform und Natriumäthylat auf  $\alpha, \beta$ -Dimethylindol als Zwischenproduct ein gechlortes Indolenin entsteht, wie es die folgenden Formeln veranschaulichen:



Ebenso dürfte aus dem Indol mit Chloroform und alkoholischer Kalilauge das entsprechende nicht substituirte Chlorderivat sich bilden, welches einerseits unter Ersatz des Chlors durch Hydroxyl in den Indolaldehyd, andererseits durch Erweiterung des Fünfringes zum Sechsring unter Austritt von Chlorwasserstoff in  $\beta$ -Chlorchinolin übergeht:



In ähnlicher Weise wird man sich auch die Entstehung der Kyurensäure aus Tryptophan im Thierkörper so vorstellen müssen, dass die dreigliedrige Seitenkette des Indolringes zu einer zweigliedrigen oxydirt wird und das mit dem Carboxyl verbundene Kohlenstoffatom der Seitenkette sich bei der Schliessung des Chinolinringes beteiligt:



Dabei mag es vorerst dahingestellt bleiben, ob die Oxydation im Thierkörper über die Indolglyoxylsäure führt und das Hydroxyl aus

<sup>1)</sup> Die Literatur s. in dem Vortrage von Ciamician, diese Berichte **37**, 4231 [1904].

<sup>2)</sup> Diese Berichte **17**, 246 [1884] und **20**, 2608 [1887].

<sup>3)</sup> Rend. Acc. Lincei **13**, I, 573 [1904] citirt n. Ciamician.

der Seitenkette in den Pyridinkern wandert — womit eine weitgehende Analogie zwischen der Oxydation im Thierkörper und der Einwirkung des Eisenchlorids gegeben wäre —, oder ob die Oxydation in der  $\gamma$ -Stellung nach bzw. gleichzeitig mit dem Chinolinringschlusse erfolgt. Zur weiteren Klärung dieser Frage sind Fütterungsversuche mit verschiedenen Indol- und Chinolin-Derivaten im Gange.

Zwanglos erklärt sich jedenfalls durch diese Vorstellung die  $\beta$ -Stellung der Carboxylgruppe in der Kynurensäure, da bei allen bisher beobachteten Uebergängen von substituirten Pyrrolen in Pyridine und Indolen in Chinoline der Substituent die  $\beta$ -Stellung einnahm<sup>1)</sup>.

#### Oxydation von Tryptophan zu $\beta$ -Indolaldehyd.

Die Oxydation des Tryptophans erfolgte nach der von Hopkins und Cole gegebenen Vorschrift: 2–3 g Substanz wurden in 1 L Wasser gelöst und auf dem siedenden Wasserbade die fünffache Menge Eisenchlorid in 10-procentiger Lösung in kleinen Portionen zugegossen. Die dunkel gefärbte Flüssigkeit blieb eine Stunde auf dem Wasserbade und wurde schliesslich noch eine Viertelstunde im Sieden gehalten. Die erkaltete Lösung wurde 3 Mal je 15–30 Minuten im Schüttelapparat mit viel Aether ausgeschüttelt, die Aetherlösungen gründlich mit Wasser gewaschen und der Aether abdestillirt. Die Menge des gesammten Rückstandes betrug in meinen Versuchen selten mehr als 10 pCt. des Ausgangsmaterials. Die ausgeschüttelte Lösung wurde durch Zusatz von Natronlauge vom Eisen befreit, der Ueberschuss von Natronlauge mit Salzsäure neutralisirt, und es wurde von Neuem, wie oben angegeben, oxydirt. Durch dreimalige Wiederholung der Operation wurden schliesslich ca. 25 pCt des Tryptophans an Oxydationsproduct erhalten. Die von Hopkins und Cole aus der alkalisch gemachten Lösung erhaltene Base  $C_{12}H_{10}N_2$  konnte ich in keinem meiner zahlreichen Versuche auffinden.

Der Aetherrückstand wurde wiederholt aus heissem Wasser umkrystallisirt und so, ein wenig gelb gefärbt, nahezu rein, in rhombi-

<sup>1)</sup> A. Pictet hat in einem Vortrag über die Entstehung der Alkaloide in den Pflanzen (Arch. Sc. phys. nat. Genève [4] 19, 329 [1905]) darauf hingewiesen, dass man die Bildung des Chinolinringes aus dem Indolcomplex der Eiweissstoffe als Methylierungsvorgang auffassen könne, entsprechend der von ihm beobachteten Umwandlung von Methylpyrrolen in Pyridine beim Durchleiten durch glühende Röhren. Für die Bildung des Chinolinderivats im Thierkörper scheint mir die oben gegebene Formulierung des Vorganges, bei welchem das fünfte Kohlenstoffatom des Pyridinringes nicht als Methyl vom Thierkörper geliefert wird, sondern aus der Seitenkette der Muttersubstanz stammt, die besser begründete zu sein.

schen Tafeln vom Schmp. 193° erhalten. (Ausbeute ca. 15 pCt. des Tryptophans.) Die letzten Spuren Farbstoff sind schwer zu entfernen. Am besten gelang es, wenn die wässrige Lösung mit viel Thierkohle gekocht wurde, wobei fast die ganze Substanz in die Kohle ging, und die Thierkohle gründlich mit heissem Alkohol extrahirt wurde. Der Rückstand der alkoholischen Lösung, aus Wasser umkrystallisirt, lieferte farblose, häufig gezackte Tafeln vom Schmp. 195°, dem gleichen, welchen Hopkins und Cole angeben. Die Substanz stimmt auch in ihrem chemischen Verhalten mit der der englischen Forscher überein.

0.1709 g Sbst.: 0.4650 g CO<sub>2</sub>, 0.0758 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO. Ber. C 74.48, H 4.83.

Gef. » 74.21, » 4.93.

Zur Erkennung sehr kleiner Mengen der Substanz kann eine prächtige Farbenreaction dienen. Erhitzt man selbst stark verdünnte Lösungen mit etwa der gleichen Menge 20-procentiger Schwefelsäure oder Salzsäure, so färbt sich die Lösung alsbald intensiv gelbroth. Lässt man nach mehrere Minuten langem Kochen erkalten, so scheidet sich ein in prachtvollen, gewundenen Nadeln krystallisirender rother Farbstoff aus, der nicht ganz scharf bei 175° schmilzt. Er giebt ein charakteristisches Absorptionsspectrum, das dem des Skatolfarbstoffes aus dem Harn ähnlich, aber nicht mit ihm identisch ist. Seine weitere Untersuchung musste vorerst wegen der Kostbarkeit des Ausgangsmaterials aufgeschoben werden.

Ausser der gleich zu beschreibenden Oxydation zu  $\beta$ -Indolcarbonsäure wurde ein weiterer Beweis für die Aldehydnatur der Substanz dadurch erbracht, dass sie mit Hippursäure, Natriumacetat und Essigsäureanhydrid ein Azlacton von ähnlichem Verhalten liefert, wie Erlenmeyer jun <sup>1)</sup> es für die entsprechenden Condensationsproducte aus Benzaldehyd, Oxybenzaldehyd u. s. w. beschrieben hat. Wenn die nach dem bisher vorliegenden Material wahrscheinlichste Annahme, dass das Tryptophan Indol- $\alpha$ -aminopropionsäure ist, zutrifft, so muss die weitere Verarbeitung des Azlactons nach Erlenmeyer zur Synthese des Tryptophans führen. Die Versuche hierüber sind noch nicht abgeschlossen.

#### $\beta$ -Indolcarbonsäure aus Indolaldehyd.

0.725 g Indolaldehyd wurden in 40 cem Wasser und 20 cem <sup>n</sup>/<sub>4</sub>-Kalilauge heiss gelöst und dazu allmählich 330 cem <sup>n</sup>/<sub>20</sub>-Kaliumpermanganat-Lösung zugegeben. Die Temperatur wurde auf 50–60° gehalten; nach Zusatz des Oxydationsmittels wurde aufgeköcht und heiss vom gebildeten MnO<sub>2</sub> abfiltrirt.

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem. 275, 3 [1893]; 307, 138 [1899]; 337, 265 ff. [1904].

Die schwach alkalische Lösung wurde nach dem Erkalten mit Aether ausgeschüttelt, bis eine Probe beim Kochen mit Schwefelsäure die Farbreaction kaum mehr gab. In den Aether ging etwa die Hälfte des Aldehyds unverändert über. Nach dem Ausschütteln wurde mit Schwefelsäure angesäuert und vier bis fünf Mal von neuem mit Aether extrahirt. Der krystallinische Rückstand (0.3 g) wurde durch wiederholtes Umfällen aus Aceton mit Wasser in farblosen Plättchen erhalten, welche im zugeschmolzenen Röhrchen unter Zersetzung bei 218° schmolzen.

0.1469 g Subst.: 0.3592 g CO<sub>2</sub>, 0.0610 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>. Ber. C 67.08, H 4.35.

Gef. » 66.70, » 4.62.

Beim Erhitzen über den Schmelzpunkt zerfiel die Substanz in Kohlensäure und Indol, welches durch den Geruch, die Nitrosoindolreaction und die Farbreaction mit Nitroprussidnatrium identificirt wurde. Die Säure zeigte alle von Ciamician und Zatti<sup>1)</sup>, sowie von Zatti und Ferratini<sup>2)</sup> für die  $\beta$ -Indolcarbonsäure beschriebenen Eigenschaften.

#### Einwirkung von Chloroform und Kalilauge auf Indol.

10 g Indol werden in 100 ccm 96-procentigem Alkohol gelöst und mit 36 ccm Chloroform am Rückflusskühler bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Durch einen Tropftrichter giebt man im Laufe von über 2 Stunden zur schwach siedenden Lösung 250 ccm 10-procentige alkoholische Kalilauge zu, welche durch Lösen von 25 g Aetzkali in der gleichen Menge Wasser und Auffüllen mit 96-procentigem Alkohol auf 250 ccm dargestellt sind. Die Lösung färbt sich schon im Beginn gleichzeitig mit der Abscheidung des Chlorkaliums röthlich. Nach beendigtem Zusatz der Kalilauge wird noch eine Viertelstunde stark gekocht. Vom Reactionsproduct wird der Alkohol und unverändertes Chloroform aus dem Wasserbade abdestillirt. Der neutral reagirende Rückstand wird mit heissem Wasser aufgenommen und im Dampfstrom destillirt, bis in der wässrigen Lösung höchstens noch Spuren von Indol nachweisbar sind, d. h. eine Probe in der Kälte keine Nitrosoindolreaction mehr giebt. Die wässrige Lösung, aus welcher sich ein braunes Harz während der Destillation hauptsächlich an der Kolbenwand abscheidet, wird heiss durch einen Heisswassertrichter filtrirt.

Aus dem Filtrate scheiden sich beim Erkalten centimeterlange Nadeln des  $\beta$ -Indolaldehyds schwach gelblich gefärbt ab. Die Gewinnung farbloser Krystalle gelingt in der gleichen Weise wie bei dem aus Tryptophan gewonnenen Indolaldehyd. So gereinigt zeigte die Substanz auch unter dem Mikroskop die gleichen Formen, wie sie sich auch sonst im Schmelzpunkt und allen ihren chemischen Eigenschaften mit dem Oxydationsproduct aus Tryptophan identisch

<sup>1)</sup> Diese Berichte 21, 1923 [1888].

<sup>2)</sup> Diese Berichte 23, 2296 [1890].

erweist. Auch sie wurde mit Kaliumpermanganat zu  $\beta$ -Indolcarbon-säure oxydirt. Die Ausbeute an dem Aldehyd ist wenig befriedigend. In einer Operation wurden bis jetzt durchschnittlich 8 pCt. des angewandten Indols erhalten. Durch wiederholte Verarbeitung des unveränderten Indols lässt sich indessen die Ausbeute auf über 20 pCt. steigern. Aus dem Harz, das etwa in der doppelten Menge des Aldehyds sich bildet, reine Substanzen zu isoliren gelang bisher nicht. Insbesondere wurde ohne Erfolg auf einen isomeren Indolaldehyd gefahndet. Das Harz schliesst nicht unbeträchtliche Mengen  $\beta$ -Indolaldehyd ein und muss wiederholt mit Wasser ausgekocht werden.

Beim Destilliren im Dampfstrom scheidet sich das unveränderte Indol krystallinisch theils im Kühler, theils in der Vorlage ab, daneben geht ein deutlich nach Chinolin riechendes, farbloses Oel über<sup>1)</sup>. Das Destillat wird mit Aether wiederholt ausgeschüttelt, der Aether etwa 12 Mal mit 2-procentiger Salzsäure geschüttelt, bis die salzsaure Lösung mit Zusatz von Soda keine Trübung mehr giebt. Aus dem so gewaschenen Aether bleibt das Indol krystallinisch, aber gefärbt zurück und kann von neuem mit Chloroform und Kali behandelt werden. Die Ausbeuten werden aber allmählich schlechter und es empfiehlt sich nach etwa dreimaliger Verwendung, das Indol durch Dampfstromdestillation von einem gefärbten Rückstand zu reinigen.

Die salzsaure Lösung der Chinolinbase wird mit fester Soda alkalisch gemacht und ausgeäthert. Sie bleibt als gefärbtes Oel zurück. Beim Destilliren unter 15 mm Druck geht die Base bei  $141^{\circ}$  constant über, unter 764 mm Druck siedet sie nahezu unzersetzt bei  $256-257^{\circ}$ . Aus 50 g Indol wurden nach wiederholter Verarbeitung 16.5 g Rohbase gewonnen. Die Base zeigte sich, wie sich aus dem Siedepunkt und den folgenden Angaben ergibt, mit dem von Edinger und Lubberger<sup>2)</sup> aus Chinolin und Schwefeldichlorid gewonnenen  $\beta$ -Chlorchinolin identisch.

Das wiederholt aus Alkohol umkrystallisirte Chlorhydrat schmolz bei  $210^{\circ}$ .

0.2034 g Sbst.: 0.4058 g  $\text{CO}_2$ , 0.0749 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_9\text{H}_6\text{ClN.HCl}$ . Ber. C 54.00, H 3.50.

Gef. » 54.41, » 4.10.

<sup>1)</sup> Bei der Verarbeitung von synthetischem Indol der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik zeigte das Destillat einen deutlichen Isonitrilgeruch, der vielleicht auf eine geringe Beimengung einer primären Base zurückzuführen ist. Durch Fibrinfäulniss dargestelltes Indol gab keinen Isonitrilgeruch.

<sup>2)</sup> Journ. für prakt. Chem., N. F., 54, 340 [1896].

