

Zur Konstitution der Kynurensäure

Von

Ernst Späth

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung vom 10. März 1921)

Allgemeines.

Die Kynurensäure, das bekannte Stoffwechselprodukt im Harn des Hundes, wurde von Liebig¹ entdeckt, von Schneider², Schmiedeberg³, Kretschy⁴, Ellinger⁵ und anderen Forschern genauer untersucht und als eine Oxychinolincarbonsäure erkannt. Die Stellung der Hydroxylgruppe in dieser Verbindung wurde durch die Synthese des Kynurens, des 4-Oxychinolins, durch Franz Wenzel⁶ ermittelt. Das Problem war anscheinend gelöst, als Camps⁷ 1901 eine 4-Oxychinolin-3-carbonsäure darstellte und sie auf Grund der Bestimmung des Schmelzpunktes für identisch mit der natürlichen Kynurensäure erklärte. Da erschien 1914 eine Arbeit von Annie Homer⁸, in welcher gezeigt wird, daß die Kynurensäure, für welche Schmiedeberg den Schmelzpunkt 264 bis 266° und Kretschy 257 bis 258° gefunden hatten, durch oftmaliges Umlösen den Schmelzpunkt 289° erreicht, welcher für die gleichfalls von Camps dargestellte 4-Oxychinolin-2-carbonsäure zutrifft. Auf diesen

¹ Liebig, Ann. d. Chem. u. Pharm., 86, 125 (1853); 108, 354 (1858).

² Schneider, Sitzungsber. der Wiener Akad. d. W., 59, 24.

³ Schmiedeberg und Schultzen, Ann. d. Chem. u. Pharm., 164, 155 (1872).

⁴ Kretschy, Monatshefte für Chemie, 2, 57 (1881); 4, 156 (1883); 5, 16 (1884).

⁵ Ellinger, Ber. der Deutschen Chem. Ges., 37, 1801 (1904).

⁶ F. Wenzel, Monatshefte für Chemie, 15, 462 (1894).

⁷ Camps, Zeitschr. f. physiol. Chem., 33, 390 (1901).

⁸ Annie Homer, Journ. of Biol. Chem., 17, 509 (1914).

Befund hin wird nun von A. Homer die Kynurensäure als 4-Oxychinolin-2-carbonsäure angesprochen, von physiologischen Chemikern als solche geführt, während bei einigen anderen Chemikern¹ die alte Formel ihre Gültigkeit behält.

Bei der Beurteilung der Identifizierung der natürlichen Kynurensäure mit einer der beiden synthetischen Säuren fällt auf, daß weder Camps noch Homer zum Vergleich der Säuren Abkömmlinge derselben dargestellt hatten, welche zum Unterschied von den freien Säuren einen scharfen Schmelzpunkt ohne Zersetzung zeigten. Diese genauere Art der Identifizierung wäre im vorliegenden Falle deshalb sehr notwendig gewesen, weil bekanntlich die Schmelzpunkte von Säuren, welche unter Kohlendioxydabspaltung schmelzen, zumeist von der Geschwindigkeit des Erhitzens abhängen und öfters durch kleine Verunreinigungen² stark beeinflußt werden. Aus letzterem Grunde ist das zumeist gepflogene gleichmäßige Erhitzen bei der Bestimmung solcher Schmelzpunkte nicht ausreichend genug, um sicher vergleichen zu können. So interessant auch die Angaben von Annie Homer sind, bringen sie dennoch keinen zwingenden Beweis für die Stellung der Carboxylgruppe in der Kynurensäure. Nach der kürzlich erschienenen Arbeit von Ellinger und Matsuoka³, welche die Umwandlung des Tryptophans in Kynurensäure im Tierkörper zum Gegenstand hatte und Anlaß zu dieser Arbeit war, glaubte ich sogar, daß die alte Formel größere Wahrscheinlichkeit besitzen könnte. Daher mußte bei der Wichtigkeit, welche die Kynurensäure als Stoffwechselprodukt hat, diese Frage einmal eindeutig gelöst werden, was leicht gelang, da größere Mengen Kynurensäure zur Verfügung standen.

Zunächst konnte durch Darstellung des Methylesters der Kynurensäure, welcher als Chlorhydrat in Methylalkohol schwer löslich ist, eine rasche Reinigung der durch eiweißartige Verbindungen stark verunreinigten Säure erzielt werden, ein Verfahren, welches sich auch zur sicheren Erkennung kleiner Mengen roher Kynurensäure gut eignen wird.

Dann überführte ich die aus dem Ester erhaltene Kynurensäure durch Phosphorpentachlorid in eine 4-Chlorchinolincarbon-säure und ersetzte in dieser Verbindung das Chlor katalytisch durch Wasserstoff bei Anwesenheit von Palladium-Bariumsulfat. Die so gewonnene Säure wurde durch Umwandlung in den Methyl ester und in das Amid scharf als Chinolin-2-carbonsäure gekennzeichnet.

Zur Prüfung dieses analytischen Resultates stellte ich die 4-Oxychinolin-2-carbonsäure nach Camps synthetisch dar, über-

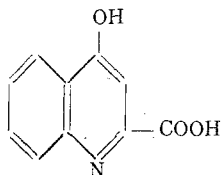
¹ v. Niementowski und Sucharda, Journ. f. prakt. Chem., 94, 199 (1916); ferner S. Gabriel, Ber. der Deutschen Chem. Ges., 51, 1505 (1918).

² Casimir Fajans, Zeitschr. f. physik. Chem., 73, 54 (1910).

³ Ellinger und Matsuoka, Zeitschr. f. physiol. Chem., 109, 259 (1920).

führte sie in den Methylester, in den Methyläthermethylester und in den Benzoylmethylester, Verbindungen, die mit den entsprechenden Abkömmlingen der natürlichen Kynurensäure in Schmelz- und Mischschmelzpunkt sich identisch erwiesen.

Damit ist festgestellt, daß die Kynurensäure als 4-Oxychinolin-2-carbonsäure aufzufassen ist:



Die Angabe von Camps, der die Kynurensäure durch Schmelzpunktsbestimmung mit der 4-Oxychinolin-3-carbonsäure identifizierte, ist unrichtig, was um so bezeichnender ist, als er auch die mit der Kynurensäure tatsächlich identische 4-Oxychinolin-2-carbonsäure synthetisch erhalten hatte. Wie wenig eben der Schmelzpunkt der Kynurensäure zum Vergleichen geeignet ist, kann daraus erkannt werden, daß bei einem und demselben Produkt je nach der Geschwindigkeit des Erhitzens Schmelzpunkte von 255 bis 289° erhalten werden.

Übereinstimmend mit den vorliegenden experimentellen Resultaten ist das Ergebnis von A. Homer. Wenn auch aus ihrer Arbeit keine bestimmten Schlüsse gezogen werden können, hat diese Forscherin jedenfalls eine Frage, welche bereits längere Zeit falsch beantwortet war, von neuem aufgerollt und richtig gedeutet.

Durch die sichere Aufklärung der Kynurensäure ist auch der Vorgang, den Ellinger und Matsuoka¹ für die Umwandlung des Tryptophans in Kynurensäure im Tierkörper annehmen, auf eine feste Grundlage gestellt.

Experimentelles.

Die in Verwendung genommene rohe Kynurensäure war eine grünlich gelbbraune Masse von urinösem Geruch. Die Reinigung derselben erfolgte über den Methylester.

25 g der fein zerriebenen, bei 120° getrockneten unreinen Säure wurden mit 200 *cm*³ Methylalkohol am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt und trockener Chlorwasserstoff bis zur Sättigung eingeleitet. In der braunschwarzen Flüssigkeit hatten sich nach einiger Zeit glänzende Krystalle abgeschieden. Nach mehrstündigem Stehen am Eis wurde scharf abgesaugt und einige Male mit kaltem Methylalkohol, der mit Chlorwasserstoff gesättigt war, nachgewaschen. Die fast farblosen Krystalle wurden mit etwa 200 *cm*³

¹ L. c.

kochendem Wasser übergossen, umgerührt und rasch von einer geringen Menge ungelöster Substanz abgesaugt und abgekühlt. Beim Versetzen mit einer Lösung von Kaliumbicarbonat entstand eine fast weiße krystallinische Fällung, die nach dem Trocknen 14 g wog und bei 224° unter Gasentwicklung schmolz. Nach dem Umlösen aus heißem Methylalkohol blieb der Schmelz- und Zersetzungspunkt derselbe.

0·1470 g gaben nach Zeisel 0·1713 g AgJ.

Gef. OCH₃ 15·39 %;

ber. für C₉H₆O NCOOCH₃ 15·27 % OCH₃.

5 g des ungelösten Esters wurden mit 50 cm³ 10 prozentiger Kalilauge eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht, dann mit etwas Wasser verdünnt und mit 40 cm³ 10 prozentiger Salzsäure versetzt. Es schied sich in fast quantitativer Ausbeute weiße, krystallinische Kynurensäure ab. Im Roth'schen Apparat lag bei raschem Erhitzen der Punkt, bei dem die Säure unter Kohlenoxydentwicklung schmolz, bei 270 bis 271°, während Schmiedeberg und Schultzen 264 bis 266°, Kretschy 257 bis 258° fanden. Erfolgte die Schmelzpunktsbestimmung in der Weise, daß fast das ganze Thermometer samt der langen oben offenen Kapillare in konzentrierte Schwefelsäure tauchte, die sich in einem Jenaer Rohr befand, so wurde, falls das Einführen des Thermometers samt Kapillare erst nach dem Erhitzen des Bades auf 260° erfolgte, der Schmelzpunkt 274° gefunden. Die so gewonnene Kynurensäure wurde nun dreimal aus heißer 40 prozentiger Essigsäure umgelöst. Bei raschem Erhitzen in dem auf 260° vorgewärmten Schwefelsäurebad lag der Zersetzungspunkt dieser Substanz bei 287 bis 288°, während Annie Homer für ihre reinste Kynurensäure 288 bis 289° fand. Erhitzt man jedoch langsam ohne Vorheizen des Bades, so können je nach der Geschwindigkeit des Erhitzens Schmelzpunkte bis zu 260° herab erhalten werden. Wird die vollständig reine Säure auf 255 bis 257° erhitzt, so erfolgt nach 10 bis 15 Minuten Schmelzen unter Gasentwicklung. Der Schmelzpunkt ist demnach keine besonders charakteristische Eigenschaft der Säure.

Umwandlung der Kynurensäure in die Chinolin-2-carbonsäure.

Zunächst wurde die Kynurensäure in die entsprechende Chlorchinolincarbonensäure umgewandelt.

2 g der bei 140° getrockneten reinen Kynurensäure wurden mit 15 cm³ Phosphoroxychlorid und 10 g Phosphorpentachlorid eine Stunde auf 135° erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde in kleinen Teilen in Wasser eingetragen, dann mit Soda die Säuren abgestumpft und schließlich mit konzentrierter Kalilauge versetzt.

Es schied sich eine weiße krystallinische Masse aus, welche das in Lauge schwer lösliche Kaliumsalz der 4-Chlorchinolincarbonsäure ist. Es wurde abgesaugt, mit Kalilauge nachgewaschen, dann in heißem Wasser gelöst, filtriert und mit Salzsäure eine weiße krystallinische Säure gefällt, welche bei 170 bis 171° unter Schwärzung und Kohlendioxydentwicklung schmolz. Nach dem Umlösen aus heißem Methylalkohol lag der Schmelzpunkt bei 170 bis 171°. Die Ausbeute war 1·5 g.

0·1500 g gaben nach Carius 0·1053 g AgCl.

Gef. 17·36 0/10 Cl;

ber. für $C_{10}H_6O_2NCl$ 17·08 0/10 Cl.

Der Ersatz von Chlor gegen Wasserstoff wurde wie folgt vorgenommen:

0·68 g der 4-Chlorchinolincarbonsäure wurden mit einem Gemisch von 25 g Eisessig, 30 cm^3 Wasser und 1 g Natriumazetat gelinde erwärmt, bis Lösung eingetreten war. Nun wurde durch 12 Stunden gut gereinigter Wasserstoff in die mit Palladium-Bariumsulfat versetzte Lösung durchgeleitet. Noch rascher verläuft die Reduktion, wenn man die Säure in der doppelten der berechneten Menge Ätznatron löst und sonst in gleicher Weise verfährt. Das klar filtrierte Reaktionsprodukt wird nach dem Ansäuern mit Essigsäure im Vakuum eingedampft. Da der Rückstand leicht durch warmes Wasser gelöst werden konnte, war es ziemlich wahrscheinlich, daß Chinolin-2-carbonsäure vorlag. Zur sicheren Identifizierung wurden Ester und Amid dargestellt.

Das vollständig trockene Reduktionsprodukt wurde mit 60 cm^3 Methylalkohol übergossen und dann kochend mit Chlorwasserstoff gesättigt. Nun wurde noch 12 Stunden mäßig erwärmt, im Vakuum von der Hauptmenge des Methylalkohols befreit und die mit Wasser und Kaliumbicarbonat versetzte Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Der beim Abdestillieren hinterbleibende Ester wurde aus Benzin umgelöst, wobei eine bei 79 bis 80° schmelzende Krystallmasse erhalten wurde. Nach nochmaligem Umlösen und Umschmelzen im Vakuum, wobei kleine Mengen Kohlenwasserstoffe weggingen, lag der Schmelzpunkt bei 85°. Hans Meyer¹ findet den Schmelzpunkt des Chinolin-2-carbonsäuremethylesters zu 78°, während Besthorn und Ibele² 85° angibt. Der Mischschmelzpunkt des von mir erhaltenen Esters mit nach Besthorn und Ibele dargestellten Chinolin-2-carbonsäuremethylester lag bei 85°.

Der erhaltene Ester wurde in das Amid übergeführt.

Eine kleine Menge des Esters wurde mit 3 cm^3 mit Ammoniak gesättigtem Äthylalkohol 24 Stunden stehen gelassen. Der beim

¹ H. Meyer, Monatshefte für Chemie, 25, 1198 (1904).

² E. Besthorn und I. Ibele, Ber. der Deutschen Chem. Ges., 39, 2332 (1906).

Abdunsten verbleibende harzige Rückstand wurde mit Benzin einige Zeit verrührt, wobei er krystallinisch wurde. Durch Lösen in wenig Salzsäure und Fällen mit Lauge wurde er gereinigt und schmolz übereinstimmend mit Chinolin-2-carbonsäureamid¹ bei 132 bis 133°. Nach dem Vermischen mit einem nach Besthorn und Ibele¹ hergestellten Chinolin-2-carbonsäureamid erhielt ich gleichfalls den Schmelzpunkt 132 bis 133°. Chinolin-3-carbonsäureamid schmilzt nach William Hobson Mills und W. H. Watson² bei 198 bis 199°.

Vergleich der synthetischen 4-Oxychinolin-2-carbonsäure mit Kynurensäure.

4-Oxychinolin-2-carbonsäure wurde nach Camps³ aus *o*-Amidoazetophenon dargestellt. Die Rohsäure schmolz bei raschem Erhitzen bei 270 bis 271°, nach mehrmaligem Umlösen aus 40 prozentiger Essigsäure bei 287 bis 288°.

Von der synthetischen Säure wurde, wie vorher bei der Kynurensäure beschrieben worden ist, der Methylester hergestellt und als eine bei 224° unter Gasentwicklung schmelzende Krystallmasse erhalten. Der Mischschmelzpunkt mit Kynurensäuremethylester lag bei derselben Temperatur.

Auch die Methyläthermethylester beider Säuren waren gleich.

0·5 g Methylester der natürlichen Kynurensäure wurden mit einer aus 3 cm³ Nitrosomethylurethan gewonnenen ätherischen Diazomethanlösung 24 Stunden stehen gelassen. Die ätherische Lösung wurde nun von unangegriffenem Ester abfiltriert. Nach dem Abdestillieren hinterblieben 0·15 g Krystalle, die bei 138 bis 140° schmolzen. Nach dem Waschen mit wenig verdünnter Kalilauge, Nachwaschen mit Wasser, Lösen in Äthylalkohol und Versetzen mit Wasser wurde das reine bei 148 bis 149° schmelzende Produkt erhalten. Auch der in Äther unlösliche Teil des Reaktionsproduktes gab beim Behandeln mit kalter Kalilauge noch etwas Ätherester.

0·1113 g gaben nach Zeisel 0·2388 g AgJ.

Gef. OCH₃ 28·34 %;

ber. für C₁₀H₅ON(OCH₃)₂ 28·58 % OCH₃.

Dieselbe Verbindung wurde in gleicher Weise aus dem synthetischen 4-Oxychinolin-2-carbonsäuremethylester gewonnen. Schmelz- und Mischschmelzpunkt beider Substanzen lagen bei 148 bis 149°.

¹ Besthorn und Ibele, l. c.

² W. H. Mills und W. H. Watson, Journ. of Chem. Soc., 97, 741 (1909).

³ Camps, Zeitschr. f. physiol. Chem., 33, 390 (1901).

Schließlich wurden noch die Benzoylprodukte der Ester dargestellt.

0·5 g Methylester der natürlichen Kynurensäure wurden in 3 cm^3 warmen wasserfreien Pyridin gelöst, rasch abgekühlt und unter Umschwenken 0·5 g Benzoylchlorid hinzugegeben. Nach 5 Minuten wurde in die zum Teil erstarrte Flüssigkeit Wasser hinzugefügt, die ausgeschiedene weiße Krystallmasse abgesaugt, einmal mit verdünnter Kalilauge und dann mehrmals mit Wasser nachgewaschen. Durch Lösen in Methylalkohol und Fällen mit Wasser wurde in guter Ausbeute der bei 143° schmelzende Benzoylkynurensäuremethylester erhalten.

0·2470 g gaben nach Zeisel 0·1889 g AgJ.

Gef. OCH_3 10·10 %;

ber. für $C_{17}H_{10}O_3N(OCH_3)$ 10·10 % OCH_3 .

Das aus dem synthetischen 4-Oxychinolin-2-carbonsäuremethylester erhaltene Benzoylprodukt schmolz gleichfalls bei 142 bis 143° und gab nach dem Vermischen mit Benzoylkynurensäuremethylester keine Depression des Schmelzpunktes.
