

Ueber Liebig's Kynurensäure und das Kynurin, Constitution und Synthese beider.

Von
Rudolf Camps.

Der Redaction zugegangen am 4. August 1901.)

Bei Gelegenheit von Versuchen, welche Liebig¹⁾ im Jahre 1853 über den Harnstoffgehalt des Hundeharns anstellte und bei denen auch auf das Auftreten von Harnsäure Rücksicht genommen wurde, machte er die interessante Beobachtung einer neuen Säure, die er, um ihren Ursprung anzudeuten, Kynurensäure nannte. Nicht jeder Harn, den er untersuchte, nur solcher von manchen Tagen, und dies nur selten, enthielt dieselbe.

Diese Säure wurde in der Weise gewonnen, dass das nach längerem Stehen des Harns sich absetzende gefährte Sediment in Kalkwasser gelöst, mit Wasser verdünnt und heiss mit Salzsäure gefällt wurde, wobei sich die Kynurensäure in sehr feinen, kleinen, seidenglänzenden Nadeln abschied. Ohne Zusatz von Wasser zu der Kalkwasserlösung, also in concentrirter Lösung, fiel sie als weisses, mikrokrySTALLINISCHES Pulver aus, das beim Abfiltriren leicht durch das Filter hindurchging.

Wenn man heute die Eigenschaften der Kynurensäure und deren Spaltungsprodukt, das Kynurin, die beide jetzt sehr genau bekannt sind, mit den Eigenschaften vergleicht, die Liebig seiner neuen Säure gab, so muss man die ungemein feine Beobachtungsgabe bewundern, die es ihm ermöglichte, sie so übereinstimmend mit unseren heutigen Kenntnissen zu charakterisiren. Er erhitzt die Säure in einer Glasröhre, sie schmilzt zu einem braunen Liquidum, welches, höher erhitzt, sublimirt und wieder krystallinisch, seidenglänzend erstarrt und

¹⁾ Liebig, Ann. d. Chem. u. Pharm., 86, 125. (1853).

nen andere Eigenschaften besitzt, als die ursprüngliche Säure. Dieses Sublimat ist das heute gut gekannte γ -Oxychinolin, das Kynurin, welches aus der Kynurensäure unter Verlust von Kohlensäure entsteht. Obgleich die sehr lebhaft entwickelte Kohlensäureentwicklung, welche das Schmelzen der Säure begleitet und verursacht, dass das braune Liquidum im Glasröhrchen hoch aufschäumt, ihm entgangen zu sein scheint, und wenn er auch die Säure, die ihm nur in ganz geringer Menge zu Gebote steht, für stickstofffrei erklärt, so sind doch andererseits seine Angaben über den Säurecharakter, Salzbildung, Löslichkeitsverhältnisse und ihre Verschiedenheit von Harnsäure so exact, dass man ihnen heute nur wenig Neues hinzuzufügen braucht.

In einer späteren Abhandlung¹⁾ holt er Versäumtes nach und zeigt vornehmlich, dass sich die Menge der Kynurensäure im Harn der Hunde durch reichliche Fettfütterung vermehren lässt. Diese Beobachtung, verbunden mit einer besseren Abscheidungsmethode, die darin bestand, dass er den Harn etwas eindampfte und nach Zusatz von Salzsäure längere Zeit stehen liess, setzte ihn in den Stand, mehrere Gramme der Kynurensäure zur weiteren Forschung in Arbeit zu nehmen und sie durch die Analyse als eine stickstoffhaltige Substanz von der annähernd stimmenden Formel $C_{16}NH_7O_5$ zu charakterisiren.

Allein der Umstand, dass das Material ungemein schwer zu beschaffen war, trug wohl die Hauptschuld, wenn nicht besser stimmende Analysenwerthe geschaffen wurden, und wenn fast 14 Jahre verstreichen konnten, ehe die Kenntniss der Säure und ihres Umwandlungsproduktes eine weitere Förderung erfuhr.

An der Hand von 10—12 g Kynurensäure, die sich im Laufe der Jahre in ihrem Besitz angesammelt hatte, nahmen O. Schmiedeberg²⁾ und O. Schultzen (Dorpat 1872) das Studium derselben wieder auf. Bei der Gewinnung derselben lehnten sie sich fast ganz an die von Liebig gegebene Vorschrift an; sie dampften den Harn entweder direkt auf ein Drittel seines Volumens ein und liessen ihn nach Zusatz von

1) v. Liebig, Ann. d. Chem. u. Pharm., 108, 354. (1858).

2) O. Schmiedeberg u. O. Schultzen, Ann. d. Chem. u. Pharm., 164, 155. (1872).

etwas Salzsäure tagelang an einem kühlen Orte stehen oder aber sie liessen eine Fällung mit Bleizuckerlösung vorangehen, entfernten das überschüssige Blei durch Schwefelwasserstoff und dampften dann erst ein. Ob diese letztere Operation für eine bessere Ausbeute förderlich war, davon erwähnen sie nichts, jedenfalls bot sie wohl den Vortheil, dass eine Zersetzung des Harns weniger schnell eintrat.

Zur Aufarbeitung wurde die durch mitgefallenen Schwefel und Harnsäure verunreinigte Rohsäure in verdünntem Ammoniak gelöst und mit Salzsäure wieder ausgefällt, allein die weitere Reinigung der Säure bot, weil ihr, in ähnlicher Weise wie der Harnsäure, Farbstoffe des Harns hartnäckig anhafteten, grosse Schwierigkeiten. Erst wiederholtes Lösen in Ammoniak, Kochen mit Thierkohle und Ausfällen mit verdünnter Essigsäure führte zu einer reinen Substanz, die aus glänzenden, platten Nadeln bestand, zwei Moleküle Krystallwasser enthielt und bei $264-266^{\circ}$ unter Gasentwicklung schmolz. Aus der Analyse des Barytsalzes, das schon Liebig darstellte und dessen Zerlegung durch Kohlensäure sie in richtiger Weise deuteten, zogen sie den folgerichtigen Schluss, dass die Kynurensäure wahrscheinlich 2 Hydroxylgruppen enthalten müsse. Die Elementaranalyse führte zu der Formel $C_{20}H_{14}N_2O_6$, die mit der Analyse des Baryumsalzes im Einklange stand.

Wenn Schmiedeberg und Schultzen sich für die Verdoppelung der einfachen Formel $C_{10}H_7NO_3$ aussprachen, so wurden sie dazu durch die Analyse eines salzsauren Platin- und Goldsalzes der sehr schön krystallisirenden Base veranlasst, die sich beim Schmelzen der Säure bildete und die, wie ich oben erwähnte, schon Liebig als Sublimat beobachtet hatte. Kynurin nannten sie diese Base. Sie schmolz bei 201° und gab bei der Verbrennung Werthe für die verdoppelte Formel $C_{18}H_{14}N_2O_2$.

Diese sehr interessante Untersuchung, die die Kenntniss der Kynurensäure um ein gut Stück vorwärts brachte, schliessen sie mit dem Hinweis, dass diese Säure und ihr Spaltungsprodukt, das Kynurin, ihren Formeln und Reactionen nach der aromatischen Reihe angehören müsse.

Obgleich Schmiedeberg und Schultzen für diese den thatsächlichen Verhältnissen vorseilende Behauptung einen beweiskräftigen Grund nicht anzuführen vermochten, so lag doch andererseits für M. Kretschy,¹⁾ der 7 Jahre später in einer vorläufigen Mittheilung weitere Untersuchungen über die Kynurensäure ankündigte, keine Veranlassung vor, die verdienstvolle Arbeit jener beiden Forscher als <fragmentarisch> zu bezeichnen.

In einer umfangreich angelegten Arbeit,²⁾ die 2 Jahre später erscheint, nimmt Kretschy auf Untersuchungen von F. C. Schneider³⁾ (Wien) Bezug, der aus einer grossen Anzahl von Analysen des Baryumsalzes der Kynurensäure die Formel $C_{20}H_9NO_6$ (nach neuer Schreibweise $C_{10}H_9NO_3$) festgestellt hatte. Bei der Abscheidung der Säure aus dem Hundeharn wich Schneider nicht von der Vorschrift Liebig's ab, die Reinigung derselben wurde theils durch das Ammonsalz, theils durch das Baryum- oder Calciumsalz bewirkt. Leistete diese Methode zwar M. Kretschy die besten Dienste, so kehrte er schliesslich doch zu dem Verfahren von O. Schmiedeberg und O. Schultzen zurück, die die mit Thierkohle entfärbten Ammonsalzlösungen heiss mit verdünnter Essigsäure fällten und sehr langsam erkalten liessen. Von den Ammonsalzlösungen, die überschüssiges Ammoniak enthalten, behauptet Kretschy, dass sie leicht einer weitgehenden Zersetzung schon nach eintägigem Stehen in der wärmeren Jahreszeit anheimfallen, die dazu verwendete Säure mag roh oder schon gereinigt sein. Diese Beobachtung mag für eine nicht ganz reine Natursäure aus leicht begreiflichen Gründen richtig sein, für reine, auf synthetischem Wege dargestellte Säure trifft das nicht zu, ebenso wenig kann ich bestätigen, dass sich weisse, anscheinend also sehr reine Kynurensäure in Ammoniak mit mehr oder weniger dunkler Farbe löst. Der von

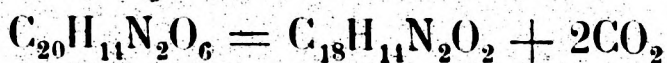
¹⁾ M. Kretschy, Ber. d. d. chem. Ges., 12, 1673. (1879).

²⁾ Monatsh. für Chem., 2, 57. (Wien 1881.)

³⁾ F. C. Schneider, Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissenschaften, 59, 24. — Gorup-Besanez, Handbuch der physiol. Chemie, II. Auflage, 255.

ihm zu niedrig gefundene Schmelzpunkt $257-258^{\circ}$ — ich fand in Uebereinstimmung mit Schmiedeberg und Schultzen 266° — lässt mich vermuthen, dass seine Säure, so weiss sie auch gewesen sein mag, organische Stoffe des Harns als Verunreinigung enthalten hat, die die Ursachen jener von ihm beobachteten Erscheinungen waren und die auch den Schmelzpunkt herabdrückten.

In dem ersten Theil seiner Arbeit fügt M. Kretschy bekannten Eigenschaften der Liebig'schen Säure und des Kynurins von Schmiedeberg und Schultzen einige ergänzende Daten hinzu, beschreibt eine Reihe von Salzen beider und stellt nach ergebnisslosen Versuchen mit Acetylchlorid, Essigsäureanhydrid und Phosphorpentachlorid in dem wichtigeren zweiten Theil die Thatsache fest, dass die Kynurensäure eine Chinolinoxycarbonsäure und das Kynurin ein Chinolinphenol sei, da er für beide bei der Zinkstaubdestillation Chinolin als Stammbase nachweisen konnte. Mit dieser wichtigen Entdeckung wurden endgültig die verdoppelten Formeln von Schmiedeberg und Schultzen beseitigt, so dass sich die Zersetzung der Kynurensäure in Kynurin nach der alten empirischen Gleichung:



durch den rationelleren Ausdruck: $\text{C}_9\text{H}_5\text{N}(\text{OH})(\text{COOH}) = \text{C}_9\text{H}_6\text{N}(\text{OH}) + \text{CO}_2$ ersetzen liess.

Von ebenso grosser Bedeutung waren zwei bald darauf folgende Untersuchungen¹⁾ desselben Forschers, die als Oxydationsprodukte beider Verbindungen die als Kynursäure bezeichnete Oxalylanthranilsäure



zu Tage förderten, wodurch die Stellung der Hydroxyl- und Carboxylgruppe im Pyridinkern des Chinolinmoleküls festgelegt war.

Einen weiteren Schluss hinsichtlich der Stellung der beiden Gruppen zu einander gestattete die Oxydation natürlich nicht,

¹⁾ M. Kretschy, M. f. Chem., 4, 156. (1883); 5, 16 (1884).

da die Oxalylanthranilsäure auch als Oxydationsprodukt von Verbindungen aufgetreten ist, die wie das α -Oxychinolin, das Carbostryl Friedlaender's,¹⁾ eine Carboxylgruppe nicht enthalten. Da das Kynurin hinsichtlich seiner Eigenschaften und Krystallform zweifellos vom α -Oxychinolin verschieden war, trotz der nahe bei einander liegenden Schmelzpunkte (α -Oxychinolin Schmp. 199° — Kynurin Schmp. 201°), so blieb eine Entscheidung zwischen der β - und γ -Stellung zu treffen übrig, während die Stellung der Carboxylgruppe in der Kynurensäure, von der Stellung der Hydroxylgruppe des Kynurins abhängig, vollständig unentschieden blieb. Trotzdem scheint von irgend einer Seite ein Schluss zu Gunsten der α -Stellung der Carboxylgruppe gezogen worden zu sein; nur so erklärt es sich, wenn die Säure in einigen Handbüchern²⁾ als α -Kynurensäure angesprochen worden ist.

Inzwischen war auch von physiologisch-chemischer Seite dieser interessanten Säure erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt worden und zwar durch Untersuchungen, die sich theils mit dem qualitativen und quantitativen Nachweis der Säure im Harn theils mit einzelnen Reactionen der Kynurensäure und des Kynurins beschäftigten und eine Constitutionsaufklärung in analytischer Richtung anstrebten.

In seinen bekannten Untersuchungen über den Nachweis der gepaarten Aetherschwefelsäuren der Phenole im Harn zeigt E. Baumann,³⁾ dass, ähnlich den Phenolen, reine Lösungen der Kynurensäure mit Bromwasser einen starken citronengelben, bald krystallinisch werdenden Niederschlag geben, der sich aus Alkohol umkrystallisiren lässt. Er macht ferner darauf aufmerksam, dass dieser Niederschlag im phenolfreien Hundeharn benutzt werden kann, um Spuren von Kynurensäure aufzufinden, dass aber namentlich durch diese Reaction festgestellt werden kann, dass bei der Abscheidung der Säure durch Salzsäure aus dem Hundeharn sich nur ein grösserer Theil

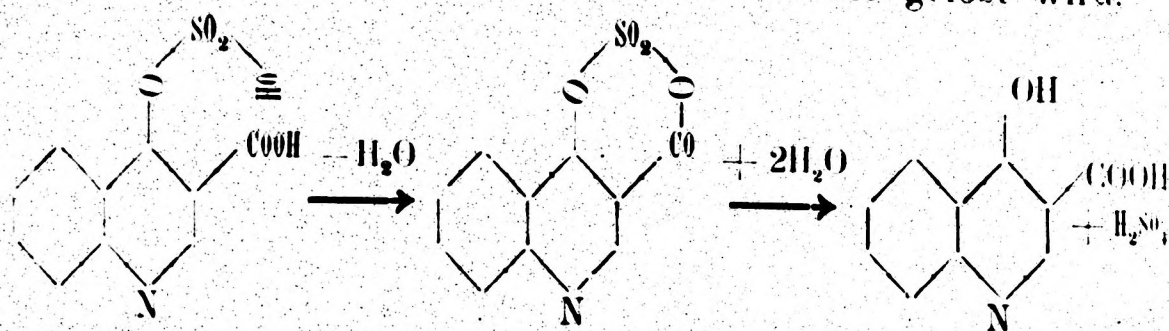
1) P. Friedlaender, Ber. d. d. chem. Ges., 15, 332.

2) Beilstein, Bd. IV, S. 364. — Kühling, Stickstoffhalt. Orthocondensat.-Produkte. Berlin.

3) E. Baumann, Diese Zeitschrift, Bd. I, S. 62.

derselben gewinnen lässt, ein kleiner Theil aber sich der Abscheidung entzieht.

Die Reactionsfähigkeit der Kynurensäure gegen Brom hat heute, da uns ihre Constitution als Phenolcarbonsäure — mit der Salicylsäurestellung beider Gruppen — bekannt ist, nichts mehr Auffälliges. Dieser Phenolcharakter aber erlaubt auch, auf die Frage zu antworten, weshalb die sonst schwer lösliche Säure erst auf Zusatz von Salzsäure aus dem Harn zur Abscheidung gelangt. Man wird vielleicht in der Annahme nicht fehl gehen, dass die Kynurensäure nicht als solche, sondern als leicht lösliche Phenolätherschwefelsäure im Hundeharn enthalten ist und erst beim Stehen mit Salzsäure in schwer lösliche Kynurensäure und Schwefelsäure gespalten wird. Auch die Möglichkeit, dass die Kynurensäure als saures Salz im Harn vorhanden ist, ist nicht ausgeschlossen. Weit gewagter allerdings und auch irgend eines Beweises entbehrend ist es, eine innere Anhydridbildung von folgender Constitution anzunehmen, die dann, wie oben, durch Salzsäure wieder gelöst wird.



Mit Vorbehalt möchte ich diese Anhydridbildung erwähnt haben, da durch ihre Formulierung die Löslichkeit derselben im Harn nicht genügend erklärt wird, obgleich man auch in den Betainen und Thetinen Körper ähnlicher Zusammensetzung kennen gelernt hat, die in Wasser leicht löslich sind.

Die von E. Baumann über die Bromirung der Kynurensäure gemachte Beobachtung veranlasste Brieger,¹⁾ diesen Gegenstand noch einmal aufzugreifen und die Bromirung auch auf das Kynurin auszudehnen. Bei der Einwirkung von Brom auf die Kynurensäure fand zuerst Kohlensäureentwicklung und dann Bromirung statt, wobei ein Körper von der Zusammen-

¹⁾ Brieger. Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 92. — M. Kretschy, M. f. Chem., Bd. II, 77. Fussnote.

setzung $C_9H_3Br_4NO$ erhalten wurde, der beim Kochen mit Alkohol Bromäthyl und Bromwasserstoff entwickelte. Nicht nur, dass diese Substanz bei dieser Einwirkung an ihrem äusseren Aussehen eine Einbusse erlitt, indem ihre gelbe Farbe blässer wurde, sondern auch ihr Bromgehalt nahm ab und gab nur noch Werthe für eine Verbindung $C_9H_4Br_3NO$.

Beim Bromiren von Kynurin erhielt Brieger eine analoge, gelbe Verbindung, die sich gegen kochenden Alkohol ebenso veränderlich zeigte. Nach wiederholtem Umkrystallisiren war sie blendend weiss geworden und kennzeichnete sich durch die Analyse als Tribromkynurin.

Ausserdem beschreibt Brieger eine durch Wasser leicht zersetzbare, lockere Verbindung der Kynurensäure mit Salzsäure.

Obgleich sich seitdem unsere Kenntniss über die Constitution der Kynurensäure und des Kynurins erweitert hat, so ist es doch nicht möglich, aus diesen Ergebnissen einen Schluss über die Stellung der noch vorhandenen und abgespaltenen Bromatome zu ziehen, die sowohl im Pyridin- als auch Benzolkern nach uns noch unbekanntem Gesetzmässigkeiten vertheilt sein können. Was die Abspaltung von Bromäthyl resp. Bromwasserstoff anbetrifft, so wird man geneigt sein, an eine das Stickstoffatom betreffende additionelle Bromverbindung zu denken, die bei der Behandlung mit Alkohol in das beständige Tribromkynurin übergeht, allein das Erkennen dieser Reactionen wird zweifellos durch Untersuchungen von Jaffé¹⁾ beeinträchtigt, der bei der Einwirkung von Chlor bzw. von chlorsaurem Kalium und Salzsäure zu etwas anderen Resultaten gelangte, die diesen nicht analog sind.

Gelegentlich seiner Untersuchungen über die Fällbarkeit von Pepton im Harn durch Phosphorwolframsäure macht F. Hofmeister²⁾ die Erfahrung, dass ausser anderen Substanzen wie Kreatinin und Xanthin auch die Kynurensäure durch dieses Reagens gefällt werde, und er kann zeigen, dass im Hundeharn Kynurensäure und Kreatinin, im Menschenharn hauptsächlich Kreatinin nebst etwas Xanthin, aber keine Kynurensäure an

1. M. Jaffé, Diese Zeitschrift. Bd. VII. S. 399.

2. F. Hofmeister, Diese Zeitschrift, Bd. V. S. 70.

der Bildung des Phosphorwolframsäureniederschlages betheiligte sind. Ferner geht aus seinen Versuchen hervor, dass dieses Reagens sich zu einem zwar nicht einfachen, aber doch quantitativen Verfahren zur Abscheidung der Kynurensäure verwenden lässt.

Diesem quantitativen Verfahren gesellte sich bald der von M. Jaffé¹⁾ aufgefundene, sehr scharfe Nachweis hinzu, der darin besteht, dass eine ganz geringe Menge Kynurensäure, mit etwas chlorsaurem Kalium und Salzsäure auf dem Wasserbade eingedunstet, einen röthlichen Rückstand hinterlässt, der, mit Ammoniak befeuchtet, nach kurzer Zeit schön smaragdgrün gefärbt wird. Indem Jaffé dem Chemismus dieser Reaction bei Anwendung grösserer Mengen Kynurensäure näher nachging, fand er, dass mit der Hand in Hand gehenden Oxydation und Chlorirung eine Abspaltung von Kohlensäure verbunden ist und dass ein Gemenge von chlorhaltigen Substanzen gebildet wird, die mehr oder minder jene smaragdgrüne Färbung mit Ammoniak erkennen lassen: wenigstens gab eine von ihm isolirte, gut charakterisirte Substanz vom Schmelzpunkt 179°, deren Verbrennungswerthe am besten auf ein Tetrachloroxykynurin stimmten, diese Reaction weniger gut, als die nicht näher isolirten Nebenprodukte. Mit synthetischer Säure tritt die Jaffé'sche Probe ebenfalls ein. Dazu möchte ich bemerken, dass die ammoniakalische Lösung einer rohen, synthetischen Säure beim Kochen mit Thierkohle sich gleichfalls schön blaugrün färbt, diese Färbung bleibt aber aus, wenn die Säure chemisch rein zur Anwendung gelangt. Die Ursachen beider Färbungen haben wohl nichts mit einander gemeinsam, und wie ich im experimentellen Theil zeigen werde, wird sie im letzteren Falle durch Spuren von α, γ -Dioxychinolin hervorgerufen, das nach P. Friedlaender,²⁾ sich in ammoniakalischer Lösung nach einiger Zeit schön blau färbt. So willkommen und werthvoll oft in diagnostischer Beziehung z. B. bei Aufindung von Alkaloiden solche Farbreactionen sind, so wenig

1) M. Jaffé. Diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 399.

2) P. Friedlaender, Ber. d. d. chem. Ges., 15, 2683.

Bedeutung haben sie meist für die Erkenntniss der entstehenden Verbindungen und der Constitution der Ausgangssubstanz selbst.

Es erübrigt noch, zweier Arbeiten von Capaldi¹⁾ hier zu gedenken, von denen die erstere sich auf rein physiologischem Gebiet bewegt und in den Schlussfolgerungen ausklingt, dass die Kynurensäure nicht im Darm gebildet wird und gegen Fäulnissbakterien sehr beständig ist. Die andere Untersuchung befasst sich mit einer quantitativen Bestimmungsmethode der Kynurensäure mittels einer ammoniakalischen Chlorbaryumlösung. Beiden Abhandlungen hat Capaldi eine reichhaltige Quellenangabe über weitere physiologische Studien über die Kynurensäure beigegeben; ich beschränke mich darauf, sie unten²⁾ anzuführen.

So werthvoll vom physiologisch-chemischen Standpunkte aus alle diese Untersuchungen waren, auf die Förderung der Constitutionsfrage oder Synthese der Kynurensäure oder des Kynurins übten sie keinen bemerkenswerthen Einfluss aus.

Mit viel Berechtigung lässt sich dies aber von Untersuchungen von Zd. H. Skraup³⁾ behaupten, der das Kynurin unter den Oxydationsprodukten des Cinchonins und der Cinchoninsäure bei der Behandlung mit Chromsäure und Schwefelsäure auffand. Wenn Skraup sich zwar nicht definitiv für die β - oder γ -Stellung der Hydroxylgruppe im Kynurin ent-

1) Capaldi, Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 87, 92.

2) E. Baumann, Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 131. — Rosenhain, Beiträge zur Kenntniss der Kynurensäurebildung im Thierkörper, Dissertat. Königsberg, 1886. — Haagen, Ueber den Einfluss der Darmfäulniss auf die Entstehung der Kynurensäure beim Hunde. Dissertat. Königsberg, 1887. — Morax, Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 318. — Häuser, Archiv für exper. Pathologie und Pharmakologie, 36, 1. — Eckhardt, Ann. d. Chem. u. Pharm., 97, 358. — Zabelin, Ann. d. Chem. u. Pharm. II, Suppl., pag. 335 (1862 u. 1863). — Voit und Riederer, Zeitschrift für Biologie, I, 315. — Naunyn u. Riess, Archiv für Anatomie und Physiologie, 1869, 381. — Jaffé-Schmidt, Ueber das Verhalten einiger Chinolinderivate im Thierkörper, mit Rücksicht auf die Bildung von Kynurensäure. Dissertat. Aug. Schmidt. Königsberg, 1884. — Niggeler, Archiv f. exper. Path. u. Pharmakologie, 3, 70. — P. Solomin, Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 497.

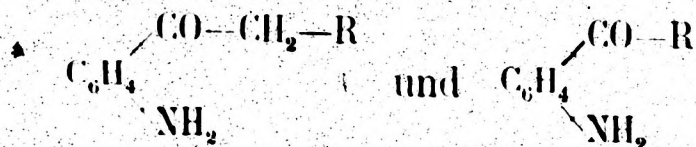
3) Zd. H. Skraup, M. f. Chem., 7, 518; 8, 801; 9, 821; 10, 726.

scheiden konnte, die α -Stellung kam nicht mehr in Betracht, weil er die Verschiedenheit des Kynurins vom Carbostyryl in überzeugender Weise feststellte, so gab er doch mit diesen Versuchen den Anstoss dazu, dass die Cinchoninsäure als γ -Chinolinecarbonsäure später von F. Wenzel¹⁾ zur Constitutionsaufklärung dieses Chinolinphenols herangezogen wurde.

Mit der Ueberführung des Cinchoninsäureamids nach der Hofmannschen Reaction in das γ -Amidochinolin beschrift F. Wenzel den von Skraup vorbereiteten Weg. Wenn auch die darauf folgende Diazotirung nicht das gesuchte Phenol, sondern das von Skraup aus dem Kynurin erhaltene Chlorchinolin ergab, so gestattete ihm doch die Umsetzung dieses reactionsfähigen Körpers mit Natriumalkoholat und Spaltung des Aetylkynurins in Kynurin einen einwandfreien Beweis für die γ -Stellung der Hydroxylgruppe zu erbringen. Mit dieser Beweisführung war auch die Hydroxylgruppe der Kynurensäure in der γ -Stellung festgelegt, für die Carboxylgruppe kam nunmehr die α - oder β -Stellung in Betracht.

Es musste daher von Interesse sein, diese letzte noch schwebende Frage einer Lösung entgegen zu führen und dann den immerhin umständlichen Weg von der Cinchoninsäure zum Kynurin durch einen kürzeren zu ersetzen. Beide Ziele hoffte ich durch die von mir aufgefundene Methode zur Darstellung von α - und γ -Oxychinolinen zu erreichen.

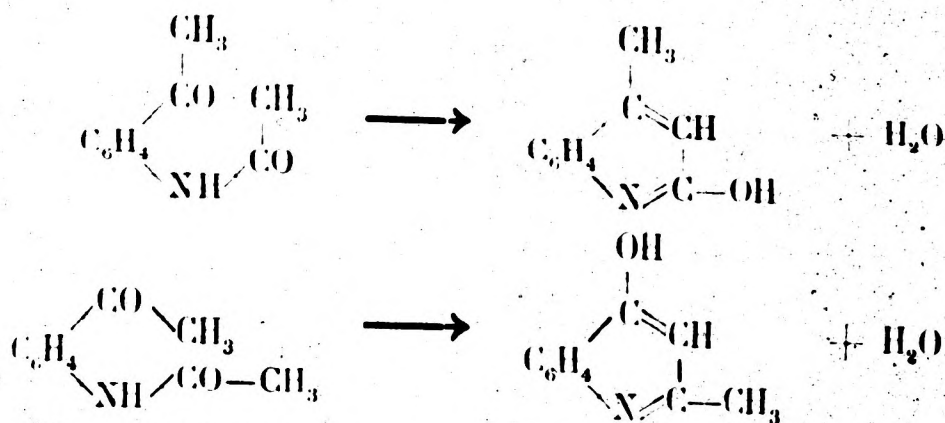
Vor einiger Zeit²⁾ habe ich zeigen können, dass gewisse Acylderivate von *o*-Amidoverbindungen vom allgemeinen Typus



durch Condensation mit Natriumhydroxyd in wässrig-alkoholischer Lösung in α - und γ -Oxychinoline übergehen. So entsteht, um ein Beispiel anzuführen, aus dem Acetyl-*o*-amidoacetophenon sowohl das α -Oxy- γ -Methylchinolin, als auch das γ -Oxy- α -Methylchinolin gleichzeitig.

1) F. Wenzel, M. f. Chem., 15, 453.

2) R. Camps, Ber. d. d. chem. Ges., 32, 3228. Archiv f. Pharmacie, 237, 659.



Die Gültigkeit dieser meist sehr glatt verlaufenden Synthesen konnte bis jetzt hauptsächlich am Amidoacetophenon und dessen zwei nächst höheren Homologen, dann am Amidobenzophenon, Amidobenzaldehyd, Amidobenzoylameisensäure (Iscatin) und an der Amidobenzoessäure bewiesen werden und zwar unter Anwendung der verschiedensten Säurereste. Diesen Beispielen reiht sich nun auch die *o*-Amidophenylpropionsäure an, die, unter Wasseraufnahme als hypothetische Amidobenzoyl-essigsäure reagirend, ebenfalls dieser allgemeinen Reaction folgt. Durch Anwendung ihrer Formylverbindung gelingt es, die Kynurensäure darzustellen und damit deren Constitution zu ermitteln. Auch die andere Frage wird gelöst, das Formyl-*o*-amidoacetophenon geht, wie nach den Gesetzmässigkeiten dieser Synthesen nicht anders zu erwarten war, in Kynurin über. Beide Wege eignen sich wegen befriedigender Ausbeute zur Darstellung der beiden Substanzen, so dass man nicht mehr allein auf den Hundeharn angewiesen ist.

Versuche zur Darstellung des Formyl-*o*-amidoacetophenons aus Ameisensäure und *o*-Amidoacetophenon sind schon vor längerer Zeit von A. Bischler¹⁾ zu anderen Zwecken unternommen worden. Sie schlugen wegen zu langer Einwirkungs-
dauer der Componenten aufeinander fehl, weil das primär gebildete Säurederivat mit einem noch intact gebliebenen Molekül Amidoacetophenon unter Austritt zweier Moleküle Wasser das Formylisoflavanilin bildete, von dem ich nachweisen konnte, dass es aus *o*-Flavanilin²⁾ und Ameisensäure zu erhalten war.

1) A. Bischler, Ber. d. d. chem. Ges. 26, 1352.

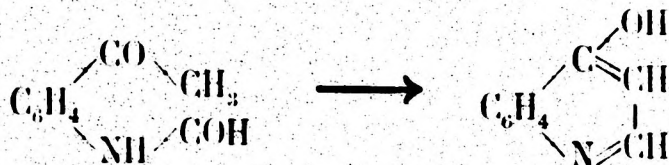
2) R. Camps, Ber. d. d. chem. Ges. 32, 3232. Archiv f. Pharmacie, 237, 672.

Ganz anders gestaltet sich dagegen der Versuch, wenn man Ameisensäure und o-Amidoacetophenon nur ganz kurze Zeit — etwa 5 bis 10 Minuten — im Sieden erhält. Bei Anwendung von 15 g Keton und 20 g wasserfreier Ameisensäure konnten nach dem Erkalten und Eingiessen der Reactionsmasse in Wasser 15 g Rohprodukt an Formyl-o-amidoacetophenon (83%) gewonnen werden, das aus heissem Alkohol in feinen, farblosen, glänzenden Nadeln vom Schmelzpunkt 79° auskrystallisirt.

Ber. für $C_9H_9O_2N$. N = 8,59%. Gefunden 8,65% N.

In den wässrigen ameisen-sauren Mutterlaugen befindet sich neben wenig unverändertem o-Amidoacetophenon das Formyl-o-Flavanilin vom Schmelzpunkt 107°, dessen Bildung sich nicht ganz vermeiden lässt. Es scheidet sich beim Eindampfen der Laugen alsbald erstarrendes Oel ab.

Während das Formylamidoketon beim Kochen mit Salzsäure leicht in die beiden Componenten verseift wird, erleidet es bei der gleichen Behandlung mit Natronlauge Chinolinring-schluss zum Kynurin.



Eine kochende Lösung von 14 g Formylamidoacetophenon in 90 ccm. Alkohol und 1 l Wasser wird nach Zusatz von 6 g Natriumhydroxyd, in 20 ccm. Wasser gelöst, etwa 3 Stunden am Rückflusskühler auf freier Flamme im Sieden erhalten und dann am absteigenden Kühler Alkohol, Wasser und zurück-verseiftes Amidoacetophenon bis auf 50 ccm. weggekocht. Nachdem das nach dem Erkalten der Flüssigkeit in geringer Menge abgeschiedene o-Flavanilin abfiltrirt ist, wird das alkalische Filtrat vorsichtig mit Salzsäure versetzt, wodurch das Kynurin als salzsaures Salz in der von M. Kretschy ermittelten Zusammensetzung $(C_9H_7NO)_2 + HCl + 2H_2O$, in feinen verfilzten, leicht verwitternden Nadeln in einer Ausbeute von 8,5 g ausfällt. Aus diesem Salze wird das Kynurin durch Digestion mit concentrirter Sodalösung abgeschieden — ein Ueberschuss von Soda ist zu vermeiden, weil es die Oxybase

löst — und aus verdünntem Alkohol unter Anwendung von Thierkohle umkrystallisirt. Farblose glasglänzende prismatische Krystalle, die bei 201° schmelzen. Sie sind mit dem Kynurin von O. Schmiedeberg und O. Schultzen und M. Kretschy identisch, die es aus der Kynurensäure durch Schmelzen gewonnen hatten.

Bei Anwendung von wässerigen Lösungen zum Umkrystallisiren habe ich auch die von Kretschy beschriebene wasserhaltige Krystallform beobachten können, die in strahlenförmigen Büscheln von einem Punkte aus angeordnet erst nach einiger Zeit anschiessen. Sie schmelzen unregelmässig zwischen 60 und 76° , nach dem Trocknen auf 120° bei 201° . Eisenchlorid erzeugt ein blutrothes Eisensalz des Phenols, erkennbar durch die intensive Färbung seiner wässerigen Lösung, eine charakteristische Reaction, die vielen von mir untersuchten γ -Oxychinolinen eigen ist, zum Unterschied von den α -Oxychinolinen, die nicht gefärbt werden.

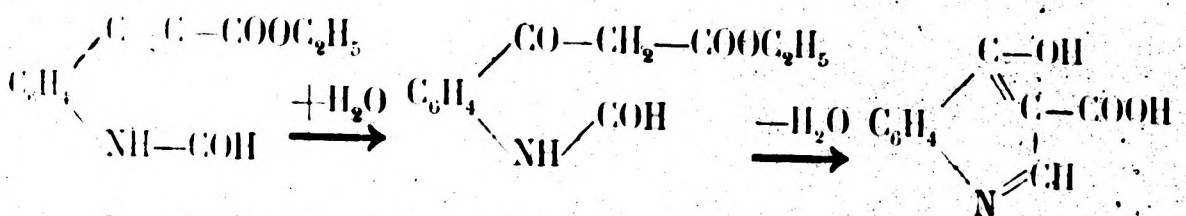
An einer früheren Stelle habe ich darauf aufmerksam gemacht, dass aus dem Ergebniss der Oxydation der Kynurensäure, das zu der als Oxalylanthranilsäure erkannten Kynursäure führte, ein Schluss auf die α -Stellung der Carboxylgruppe gezogen worden ist. Das Unrichtige dieser Schlussfolgerung lässt sich schon an der Hand von theoretischen Erwägungen nachweisen, wenn man sich daran erinnert, dass Chinolinphenole wie Kynurin und Carbostyryl, die nicht nur keine Carboxylgruppe enthalten, sondern auch ihre Hydroxylgruppen an verschiedenen Stellungen im Pyridinkern — in der γ - und α -Stellung — führen, ebenfalls bei der Oxydation diese Oxalylanthranilsäure ergaben. Hieraus geht hervor, dass Gesetzmässigkeiten bei der Oxydation solcher einander isomeren oder ähnlichen Verbindungen sich nur insofern ergeben, als immer die beständige Oxalylanthranilsäure entsteht, ganz gleichgültig, wie gross und welcher Art die aufgespaltene Kohlenstoffkette ist.

Von Interesse musste es daher sein, auch in experimenteller Hinsicht die Frage nach der α -Stellung der Carboxylgruppe in der Kynurensäure zur Entscheidung zu bringen. Es stand

Berechnet für $C_{11}H_7NO_3$:	Gefunden:
C 63,49	63,28
H 3,70	4,02
N 7,41	7,59

beim Schmelzen wie die Kynurensäure Kynurin liefert, so ist sie doch durch ihre Eigenschaften und durch den Schmelzpunkt von dieser verschieden.

Nach diesem Ergebniss musste die Kynurensäure die γ -Oxy- β -Chinolincarbonsäure sein, deren Synthese aus einer Formylamidobenzoylessigsäure zu erwarten war, und zwar aus dem Grunde, weil das Formylamidoacetophenon das Kynurin gebildet hatte. Obgleich verschiedene eigene Beobachtungen und Angaben in der Litteratur die Existenzfähigkeit einer Amidobenzoylessigsäure oder deren Ester anzuzweifeln berechtigen, so war doch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass der um ein Molekül Wasser ärmere *o*-Amidophenylpropionsäure-ester resp. dessen Formylderivat in diesem Sinne reagiren würde.



Der Versuch fiel zu Gunsten dieser Annahme aus. Als hauptsächlichstes Reactionsprodukt entsteht die Kynurensäure; das α , γ -Dioxchinolin, das γ -Chlor- α -Oxychinolin, das *o*-Amidoacetophenon und das Kynurin, alle insgesamt sind nur Produkte secundärer Reactionserscheinungen.

Zur Darstellung der Amidophenylpropionsäure benützte ich das zuerst von v. Baeyer und Bloem¹⁾ angegebene und dann von v. Richter²⁾ genauer präcisirte Verfahren, nach welchem die *o*-Nitrophenylpropionsäure in ammoniakalischer Lösung durch Eisenvitriol und Ammoniak reducirt wird.

Zu einer kalt gesättigten Lösung von 55 g Eisenvitriol in 180—200 cem. Wasser fügt man überschüssiges Ammoniak und dann von Zeit zu Zeit unter Umschwenken eine ammoniakalische Lösung von 5 g *o*-Nitrophenylpropionsäure. Nach

¹⁾ v. Baeyer und Bloem, Ber. d. d. chem. Ges. 15. 2147.

²⁾ v. Richter, Ber. d. d. chem. Ges. 16. 679.

zweistündigem Stehen wird das Eisenoxyduloxydhydrat abfiltrirt und das klare, gelbrothe, ammoniakalische Filtrat tropfenweis mit einem geringen Ueberschuss von Salzsäure versetzt, wobei ein gelatinöser rothbrauner Niederschlag in geringer Menge ausfällt, der schnell abfiltrirt wird. Aus dem Filtrat scheidet sich nach weiterem Zusatz von wenig Salzsäure die Amidosäure zumal beim Reiben mit einem Glasstabe als gelbes, sandig-krystallinisches Pulver ab, das aus verschiedenen Operationen oft verschiedene Nuancen zeigt. Schmp. 130°.

Nach den Angaben Baeyer's zur Darstellung des *o*-Amidophenylpropionsäureäthylesters, die ich im Wesentlichen befolgte, leitet man unter guter Eiskühlung in eine Suspension von 10 g. Amidosäure in 100 ccm. absoluten Alkohols einen langsamen Salzsäurestrom bis zur Sättigung ein und giesst das Ganze auf Eis. Beim Absättigen mit Soda scheidet sich der krystallinische Ester aus, der nach dem Absaugen zur weiteren Reinigung zuvor in Aether aufgenommen wird, der Nebenprodukte ungelöst lässt. Nach dem Verdampfen des Aethers hinterbleibt der Ester als bald erstarrendes Oel, das in wenig warmem Alkohol gelöst beim Erkalten desselben in schönen schwach gelb gefärbten Nadeln vom Schmp. 55° auskrystallisirt. Er riecht angenehm an Neroliöl erinnernd und hat grosse Neigung, sich zu verändern, insofern er nach einiger Zeit zum Theil seine leichte Löslichkeit in Alkohol und Aether verliert.

Die Einführung der Formylgruppe in den Amidosäureester bot zu Anfang einige Schwierigkeiten, da bei der Einwirkung von Ameisensäure auf denselben z. B. beim kurzen Aufkochen in der Hauptsache eine Verbindung entstand, die schon wegen ihres hohen Schmelzpunktes von 209—210° nicht das gesuchte Säurederivat sein konnte. Erst beim Lösen beider Componenten in wasserfreiem Aether und mehrstündigem Stehenlassen des Gemisches wurde die Frage in befriedigender Weise gelöst, wenn auch die Bildung dieser nicht näher untersuchten Verbindung sich nicht ganz vermeiden lässt.

2 g frisch bereiteter reiner *o*-Amidophenylpropionsäureäthylester wurden in 10 ccm. wasserfreien Aethers gelöst, durch eine Kältemischung gut abgekühlt und mit 10 g Ameisen-

säure, die zuvor mit 10 ccm. wasserfreien Aethers verdünnt sind, langsam versetzt, sodass sich die erste Einwirkung möglichst bei Temperaturen unter 0° vollzieht. Das Gemisch bleibt einige Zeit verschlossen stehen. Nach Verlauf von mehreren Stunden beginnen sich in der Flüssigkeit feine, zu kleinen kugeligen Aggregaten vereinigte Nadelchen abzuschneiden, deren Menge (0,4 g) sich nach 6 stündigem Stehen nicht weiter vermehrt. Man saugt von diesen ab und verdünnt das Filtrat, nachdem der Aether zum grössten Theil freiwillig verdunstet ist, mit Wasser, wodurch das abgeschiedene Öl alsbald krystallinisch erstarrt. Durch Absättigen der sauren Flüssigkeit mit Soda wird die Abscheidung des Formylderivates vervollständigt. Es wird zur weiteren Reinigung mit Aether aufgenommen, der geringe Mengen des oben erwähnten Nebenproduktes ungelöst lässt, und nach dem Verdampfen des Aethers in wenig warmem Alkohol gelöst. Beim Erkalten desselben krystallisirt es in derben, farblosen, seideglänzenden Nadeln, die, concentrisch von einem Punkte aus angeordnet, oft eine erhebliche Länge erreichen und bei 83° schmelzen. Ausbeute 1,6 g.

Berechnet für $C_{12}H_{11}O_3N$. N = 6.45%. Gefunden: 6.56% N.

In wässerig-alkoholischer Lösung mit Natronlauge gekocht, geht der Formyl-o-amidophenylpropionsäureester, zuerst Wasser aufnehmend, dann Wasser abspaltend, in die Kynurensäure über.

Löst man 2,5 g dieses Säurederivates in 40 ccm. Alkohol und 250—300 ccm. Wasser unter Erhitzen bis zum Sieden auf und setzt dazu 5 g Natriumhydroxyd, in 20 ccm. Wasser gelöst, so tritt sofort eine grüngelbe Fluorescenz auf, die jedoch beim Kochen der Flüssigkeit am Rückflusskühler bald einer rein gelben Farbe Platz macht. Nach 2 stündigem Erhitzen ist die Ueberführung in die Kynurensäure beendet, die nach dem Filtriren der erkalteten Reactionsflüssigkeit, die den angenehmen Geruch nach Neroliöl zeigt, durch einen Ueberschuss von Salzsäure ausfällt. 2,0 g Rohsäure vom Schmelzpunkt 263° (90% Ausbeute). Da bei dieser Condensation stets geringe Mengen des Formylesters in Ameisensäure und Ester bzw. Amidophenylpropionsäure verseift werden, so ist nicht zu verwundern, wenn man die Beobachtung von etwas α - γ -Di-

oxychinolin machen kann, das sich namentlich beim Lösen der Rohkynurensäure in Ammoniak und Erwärmen dieser Lösung durch die schöne lasurblaue von Friedlaender¹⁾ beobachtete Färbung zu erkennen gibt.

Seine Bildung aus zurückverseifter Amidophenylpropionsäure wird durch die Thatsache, dass Baeyer²⁾ dieses Dioxychinolin ebenfalls, aber unter anderen Bedingungen, aus der Säure erhalten konnte, leicht verständlich. Sie erklärt auch die Entstehung des γ -Chlor- α -Oxychinolins vom Schmelzpunkt 245° , wenn man die überschüssige Salzsäure enthaltende Mutterlauge, aus welcher die Rohkynurensäure ausgefällt war, eindampft.

Die Lösung der rohen Säure in Ammoniak oder Soda wird zur weiteren Reinigung mit Thierkohle gekocht. Nach dem Wiederausfällen mit Salzsäure wird die blendend weisse, aus verfilzten Nadelchen bestehende Säure entweder aus einem Gemisch von verdünnter heisser Essigsäure und Salzsäure oder aus heissem Alkohol, dem etwas Salzsäure zugesetzt ist, umkrystallisirt. Im ersteren Falle erhält man prachtvolle, silberglänzende, farblose Nadeln, im letzteren beim langsamen Abkühlen kleine glänzende, wohlausgebildete, flache Prismen, die unter heftigem Aufschäumen bei $266-267^\circ$ schmelzen.

Durch diesen Schmelzpunkt erweist sie sich mit der Kynurensäure, die O. Schmiedeberg und O. Schultzen (Schmelzpunkt 266°) aus dem Hundeharn gewonnen haben, identisch, während M. Kretschy den Schmelzpunkt seiner Hundeharnsäure zu $257-258^\circ$ angibt. Verschiedene Anzeichen, so z. B. die Zersetzung der ammoniakalischen Lösung der Säure bei Sommertemperatur nach eintägigem Stehen, deuten darauf hin, dass Kretschy eine noch nicht vollkommen reine Säure unter Händen gehabt hat, vielleicht hat er auch an einer solchen von ihm für rein gehaltenen Säure seine Schmelzpunktbestimmungen ausgeführt.

Ausser durch die Analyse einer aus Alkohol krystallisirten Säure, die nach dem Trocknen bei 150° keine Gewichtsabnahme zeigte, also kein Krystallwasser enthielt und folgende Werthe ergab:

1) P. Friedlaender, Ber. d. d. chem. Ges., 15. 2683.

2) v. Baeyer und Bloem, loc. cit.

Berechnet für $C_{10}H_7NO_3$	Gefunden:
C 63.49	63.39
H 3.70	3.82
N 7.41	7.52

habe ich mich darauf beschränkt, da sie eingehend schon von den oben genannten Forschern beschrieben worden ist, ihre Identität mit der aus dem Hundeharn erhaltenen Säure durch die Jaffé'sche Reaction und durch die Ueberführung in Kynurin nachzuweisen.

Es erübrigt noch, darauf hinzuweisen, dass die Verwendbarkeit des *o*-Amidophenylpropionsäureesters auf die Darstellung der Kynurensäure nicht allein beschränkt ist.

Führt man an Stelle der Formylgruppe mittelst Essigsäureanhydrid den Acetylrest ein und condensirt das entstandene Säurederivat mit Natronlauge in wässrig-alkoholischer Lösung bei Siedehitze, so entsteht neben dem α -Oxylepidin die α -methylirte Kynurensäure. Sie ist schon früher von Niementowski¹⁾ durch Einwirkung von Anthranilsäure auf Acetessigester in geringer Menge erhalten worden und sie ist mit der von Conrad und Limpach²⁾ durch Oxydation des entsprechenden Aldehyds erhaltenen α -Methyl- γ -Oxy- β -Chinolin-carbonsäure identisch.

Der *o*-Amidophenylpropionsäureester gestattet also bei Verwendung geeigneter Säurereste auch die Darstellung substituirtter Kynurensäuren.

Mit diesem Hinweise bin ich am Schlusse der dieser Abhandlung zu Grunde liegenden Aufgabe angelangt. Nicht abschliessen möchte ich dieselbe, ohne an dieser Stelle auf allgemeine interessante Beziehungen aufmerksam gemacht zu haben, durch die drei von der Natur erzeugte Substanzen, das Cinchonin, der Indigo und die Kynurensäure, mit einander verknüpft sind, Beziehungen, die durch Aufbau- und Abbaureactionen vermittelt werden.

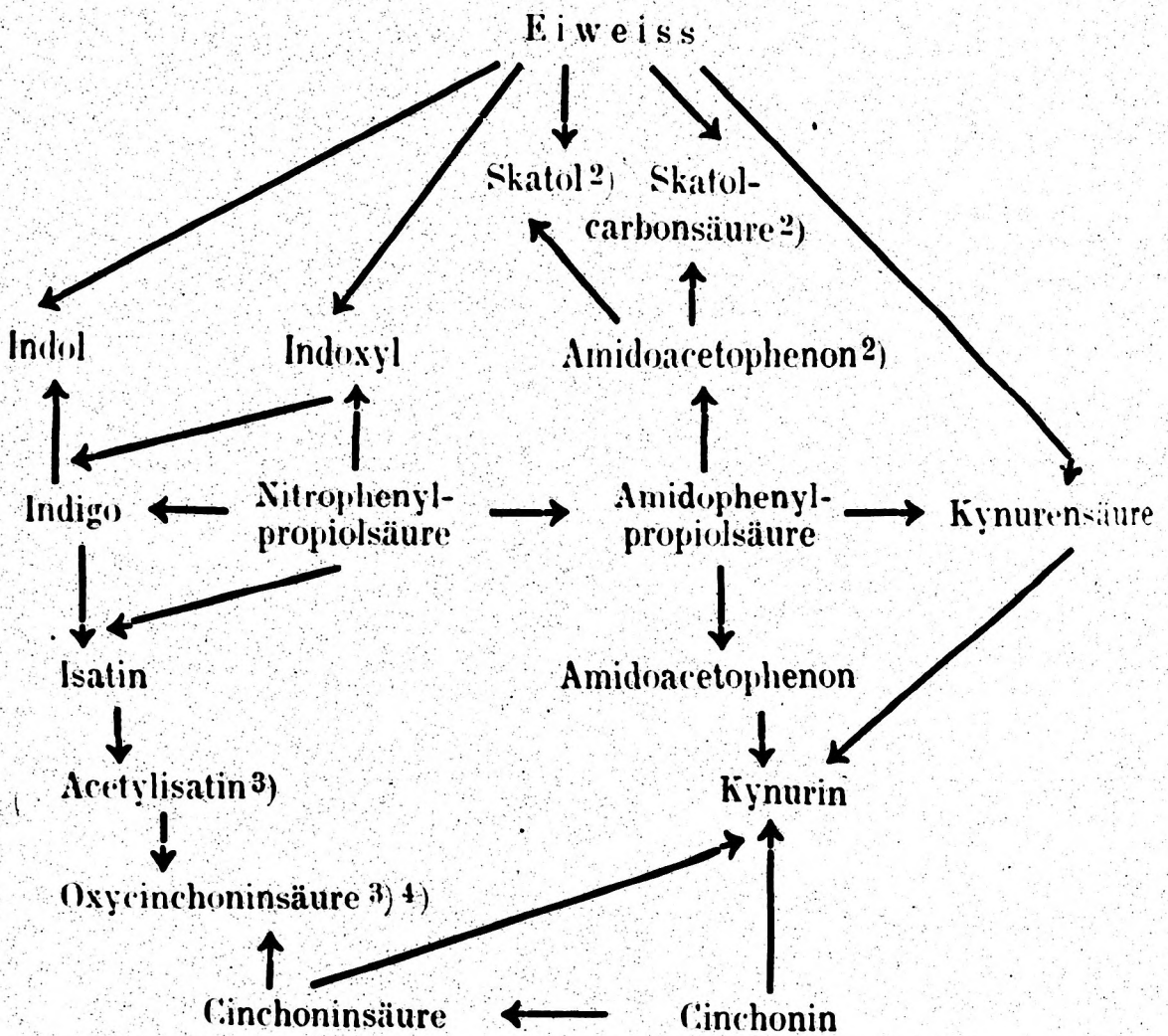
Während die Bildung des Indigo mit den beiden fünf-gliedrigen Indolringen sich durch Reduction der *o*-Nitrophenylpropionsäure durch Traubenzucker in alkalischer Lösung fast

1) v. Niementowski, Ber. d. d. chem. Ges. 27. 1396.

2) Conrad und Limpach, Ber. d. d. chem. Ges., 21. 1975.

quantitativ gestaltet, habe ich oben zeigen können, dass dieselbe Nitrophenylpropionsäure unter geeigneter Behandlung in die Kynurensäure mit dem sechsgliedrigen Chinolinring übergeführt werden kann. Eine ähnliche vermittelnde Stellung, wie sie zwischen dem Indigo und der Kynurensäure durch die Nitrophenylpropionsäure zum Ausdruck kommt, übernimmt das Kynurin zwischen dem Cinchonin und der Kynurensäure, von denen das erstere durch Oxydation unter besonderen Umständen (Skraup), die letztere unter Kohlensäureabspaltung in dasselbe Kynurin übergeht.

Endlich lässt sich das hauptsächlichste Oxydationsprodukt des Cinchonins, die Cinchoninsäure, durch Schmelzen mit Kali nach Königs¹⁾ in die α -Oxycinchoninsäure überführen, dieselbe Säure, die ich früher durch Condensation des acetylierten Isatins darstellen konnte, des Oxydationsproduktes des Indigo.



1) W. Königs, Ber. d. d. chem. Ges., 12, 99; 16, 2152.

2) R. Camps, Ber. d. d. chem. Ges., 32, 3234.

3) R. Camps, Archiv f. Pharm., 237, 687.

4) W. Königs, Ber. d. d. chem. Ges., 12, 99; 16, 2152.

Interessanter noch vielleicht als diese Relationen ist der Hinweis, dass in der Kynurensäure die Carboxylgruppe und die Hydroxylgruppe dieselbe benachbarte Stellung einnehmen, wie in der Salicylsäure. An diese Orthostellung knüpft sich die Vermuthung, dass diese beiden Gruppen vielleicht die Reste eines im Thierleibe abgebauten, complicirt zusammengesetzt gewesenen Moleküls sind; man wird geneigt sein, nicht zuletzt an das Eiweissmolekül zu denken, von dem die Kynurensäure ein im Thierorganismus relativ beständiges Spaltungsstück auszumachen scheint.

Dem Andenken seines unvergesslichen Lehrers, Professor E. Baumann in Dankbarkeit gewidmet.

Karlsruhe, im Juli 1901.

Chem.-Pharm. Laboratorium, Techn. Hochschule.