

# Zur Frage der Entstehung von Kynurensäure aus Tryptophan im Tierkörper<sup>1)</sup>.

Von

A. Ellinger und Z. Matsuoka.

(Aus den pharmakologischen Instituten der Universitäten Königsberg i. Pr. und Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Februar 1920.)

## 1. Verhalten der Indolbrenztraubensäure im Tierkörper.

In einer früheren Mitteilung<sup>2)</sup> haben wir darauf hingewiesen, daß der Weg, auf dem sich die Umwandlung von Tryptophan in Kynurensäure im Tierkörper vollzieht, noch der Aufklärung bedarf. Wir hatten versucht, hierzu dadurch beizutragen, daß wir das Verhalten des von uns synthetisch dargestellten Pr-2-Methyltryptophans im Tierkörper prüften. Da aber die Bildung einer methylierten Kynurensäure ausblieb, so konnten diese Versuche die früher erörterte Annahme der Ring-erweiterung nach Analogie der Bildung von  $\beta$ -Chlorchinolin durch Einwirkung von Chloroform und Kalilauge auf Indol nicht stützen. Diese Annahme war ohnedies hinfällig geworden durch den Nachweis, daß die Kynurensäure die Carboxylgruppe nicht in  $\beta$ -, sondern in  $\alpha$ -Stellung zum Stickstoff trägt, wie er inzwischen durch A. Homer<sup>3)</sup> erbracht worden ist.

Eine Arbeit von Barger und Ewins<sup>4)</sup> aus dem Jahre 1917, die, wie Herr Barger mitteilte, ohne Kenntnis

<sup>1)</sup> Die experimentellen Untersuchungen waren bereits vor Ausbruch des Krieges abgeschlossen. Im theoretischen Teil ist die inzwischen erschienene Literatur, soweit sie mir zugänglich war, berücksichtigt.

Ellinger.

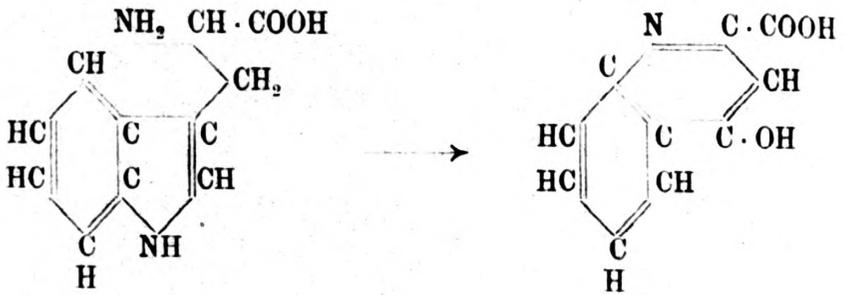
<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 91, S. 45 (1914).

<sup>3)</sup> Journ. of biolog. chemistry Bd. 17, S. 509 (1914).

<sup>4)</sup> Biochemical Journ. Bd. 11, S. 58 (1917).

unserer Veröffentlichung ausgeführt wurde, brachte eine Bestätigung unserer Erfahrungen über das Verhalten des Methyltryptophans im Tierkörper.

Barger und Ewins diskutieren ebenso wie wir die zweite Möglichkeit der Chinolinringbildung aus dem Tryptophan unter Abspaltung des Pyrrolstickstoffes und Beteiligung des Aminostickstoffs an der Ringschließung nach dem Schema:



Durch die Versuche mit Pr-2-Methyltryptophan ließ sich die Berechtigung der zweiten Annahme weder beweisen noch widerlegen. Dagegen konnte sie geprüft werden durch Verabreichung der Pr-2-Indolbrenztraubensäure, der das Aminostickstoffatom in der Seitenkette fehlt. Wenn diese Verbindung, die nach der geltenden Anschauung als erstes Abbauprodukt des Tryptophans zu erwarten ist, Kynurensäure im Organismus liefert, so ist die zur Diskussion gestellte Entstehungsweise zwar noch nicht endgültig widerlegt, — denn es könnte eine Rückverwandlung der Brenztraubensäure in das Alanin [Embden<sup>1)</sup>, Knoop<sup>2)</sup>] und sekundär die Chinolinringbildung in der fraglichen Weise erfolgen — aber sie wäre dann doch recht wenig wahrscheinlich.

Es gelang in der Tat aus dem Harn von Kaninchen, denen die von uns synthetisch dargestellte Indolbrenztraubensäure als Natriumsatz subkutan eingespritzt war, Kynurensäure zu gewinnen.

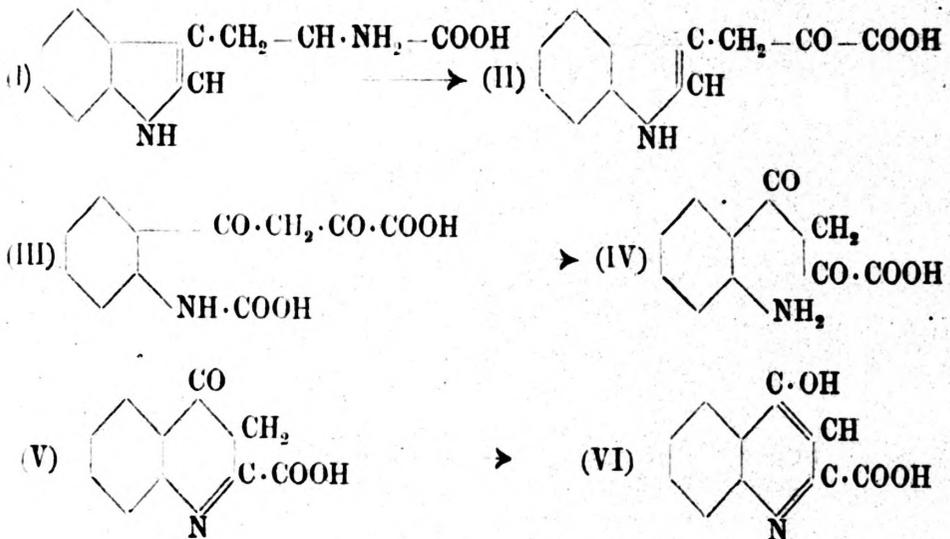
Die Menge der isolierten Kynurensäure ist gering, sie beträgt im günstigsten Falle nur knapp 12% bei einem Tiere.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 29, S. 423 (1910) und Bd. 38, S. 393 u. 407 (1912).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 67, S. 489 (1910) und Bd. 71, S. 251 (1911).

das nach Tryptophaninjektion mehr als die doppelte Menge Kynurensäure ausschied. Aber es erscheint nicht gerechtfertigt daraus zu schließen, daß der Weg zur Kynurensäure nicht über die Ketosäure führe, zumal die angewandten Dosen bereits toxische Wirkung ausübten.

Angesichts unserer positiven Befunde dürfte das folgende Schema der Umwandlung von Tryptophan in Kynurensäure den beobachteten Tatsachen am besten gerecht werden.



Das Schema ähnelt in den ersten Stufen dem von Dakin<sup>1)</sup> unter der Annahme der  $\beta$ -Stellung des Carboxyls in der Kynurensäure diskutierten und ist weiterer experimenteller Prüfung zugänglich, falls es gelingt, die o-Aminobenzoylbrenztraubensäure (IV) synthetisch darzustellen und ihre Umwandlungsprodukte aus dem Harn zu isolieren.

## Experimenteller Teil.

### I. Darstellung der Indolbrenztraubensäure.

Kondensation von Indolaldehyd mit Hippursäure, Essigsäureanhydrid und Natriumacetat zum azetylierten Azlaktone.

10 g Indolaldehyd, 14 g wasserfreie Hippursäure und 5,5 g frisch geschmolzenes Natriumacetat wurden gut mit-

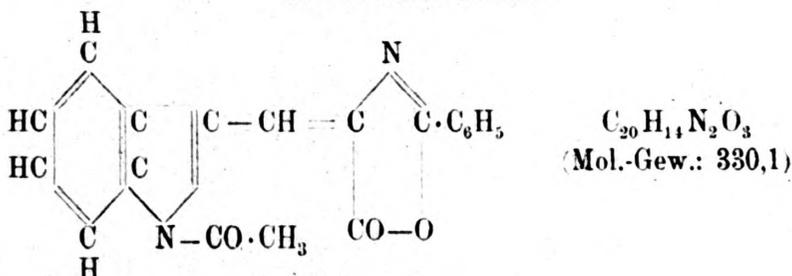
<sup>1)</sup> H. D. Dakin, Oxidations and reductions in the animal body S. 73 (1912).

einander verrieben, mit 25 ccm Essigsäureanhydrid übergossen und 1 Stunde lang im kochenden Wasserbade erhitzt. Die Mischung schmolz in 15 Minuten zu einer dunkelroten Flüssigkeit zusammen und erstarrte allmählich zu einer kristallisierten Masse. Diese wurde zunächst nach dem Erkalten mit Wasser gewaschen, dann mit Wasser wiederholt ausgekocht, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagierte.

Das dunkelbraune Rohprodukt, das 19 g wog, wurde im Trockenschrank bei 90° C. getrocknet und aus siedendem Chloroform umkristallisiert. Es kristallisierte ohne Chloroform in hellgelben rhombischen oder schiefhombischen Tafeln oder Säulen und schmolz bei 205—206° C.

0,1692 g Substanz, bei 105° C. getrocknet, gaben 0,4495 g CO<sub>2</sub> und 0,0686 H<sub>2</sub>O.

0,1528 g Substanz, bei 105° C. getrocknet, gaben 11,6 ccm N bei 21° C. und 755 mm Druck.



Ber.	C = 72,70	H = 4,27	N = 8,49
Gef.	C = 72,45	H = 4,54	N = 8,54

Es war also bei dem längeren Erhitzen im Wasserbad nicht das Azlaktone entstanden, wie es Ellinger und Flamand<sup>1)</sup> früher beschrieben haben, sondern dessen Acetylprodukt.

Spaltung des acetylierten Azlaktone zur Indolbrenztraubensäure.

4 g des acetylierten Azlaktone wurden in einem Halbliterkolben mit 60 ccm 40% iger Natronlauge am Rückflußkühler so lange erhitzt, bis eine einheitliche, gelbliche, klare Flüssigkeit entstanden und nur noch schwache Ammoniakentwicklung bemerkbar war; das Erhitzen dauerte 4—5 Stunden.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 55 S. 16 (1908).

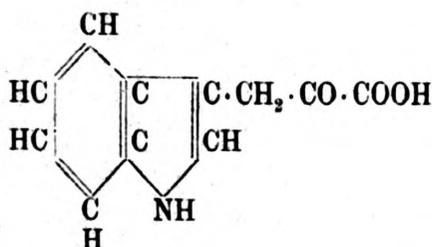
Nach Vollendung der Reaktion wurde der Kolben schnell mit Wasser abgekühlt und der Inhalt in die 10fache Menge Wasser eingegossen. Bei kurzem Stehen schied sich ein geringer nach Indol riechender Niederschlag aus, von dem abfiltriert wurde; die klare Flüssigkeit wurde mit Eis gut gekühlt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt.

Der Äther wurde abdestilliert, der Ätherrückstand im Luftstrom gut getrocknet, wiederholt mit Petroleumäther ausgekocht, um ihn von Benzoesäure zu befreien, und der stark dunkel gefärbte trockene Rückstand wurde abermals mit Äther aufgenommen, wobei eine stark gefärbte Verunreinigung unlöslich zurückblieb. Von der filtrierten ätherischen Lösung wurde der Äther abdestilliert. Der Ätherrückstand betrug 2,2 g, das sind etwa 90% der theoretischen Menge. Die Säure kristallisiert aus Eisessig mit einem Molekül Essigsäure. Bei der Wiederholung des Umkristallisierens verliert man erhebliche Mengen der Säure, und die Substanz ist nicht leicht farblos zu erhalten. Es ist zweckmäßig, vor dem Umkristallisieren die Säure nochmals in Äther zu lösen, von der in Äther unlöslichen Verunreinigung zu befreien, und dann aus Eisessig umzukristallisieren. Die in dieser Weise gewonnene Säure ist etwas gelblich gefärbt, aber wenn die Säure Essigsäure verliert, erscheint sie fast farblos. Die Kristallessigsäure geht im Vakuum über Schwefelsäure und Ätzkali im Laufe eines Monats vollständig weg, bei 100° im Vakuum über Ätzkali in 24 Stunden.

- I. 0,1865 g lufttrockene Substanz verlieren im Vakuum über Ätzkali und bei Wasserdampf Temperatur 0,0421 g Gewicht.
- II. 0,2108 g lufttrockene Substanz verlieren im Vakuum über Ätzkali und bei Wasserdampf Temperatur 0,0487 g Gewicht.
- III. 0,1386 g essigsäurefreie Säure: 0,3323 g CO<sub>2</sub> 0,0587 g H<sub>2</sub>O.
- IV. 0,1621 g " " " 0,3865 g CO<sub>2</sub> 0,0653 g H<sub>2</sub>O.
- V. 0,1252 g " " " 7,9 ccm N bei 22° u. 756 mm Hg.

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>  
(Mol.-Gew.: 263,1)

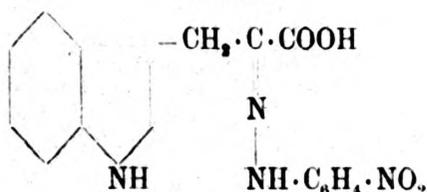
Ber. C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> 22,80  
Gef. C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (I) 22,63 (II) 23,10



$C_{11}H_9NO_3$	Ber.	C = 65,00	H = 4,47	N = 6,90
(Mol.-Gew.: 203,1)	Gef.	C = 65,39 (III)	H = 4,75 (III)	
	„	C = 65,16 (IV)	H = 4,51 (IV)	N = 7,07 (V)

Zur Identifizierung der synthetischen Säure mit der Ketsäure stellten wir eine para-Nitrophenylhydrazinverbindung dar.

para-Nitrophenylhydrazinverbindung der Indolbrenztraubensäure.



0,52 g Indolbrenztraubensäure mit 0,3 g para-Nitrophenylhydrazin und wenig Eisessig wurden in einem kleinen Kolben auf freier Flamme kurze Zeit im Sieden gehalten, die dunkelrote Reaktionsflüssigkeit wurde in ein kleines Becherglas gegossen; sie erstarrte über Nacht in der Kälte kristallinisch. Die Masse wurde auf Ton gestrichen und im Exsikkator getrocknet; die Ausbeute betrug 0,6 g.

Das Rohprodukt wurde mit siedendem Benzol wiederholt ausgezogen. Aus der vereinigten Benzollösung schied sich eine gelbe kristallinische Substanz aus, das abfiltrierte Benzol wurde mit Petroläther versetzt; der flockige gelbe Niederschlag wurde über Nacht ebenfalls kristallinisch. Die Gesamtausbeute an kristallinischer Substanz betrug 0,4 g. Die Substanz kristallisiert in gelben Tafeln, die sich in Rosetten gruppieren, sie schmilzt bei 153—154°.

0,1084 g Substanz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet:

		N = 15,8 ccm bei 20° u. 761 mm Druck
$C_{17}H_{14}N_4O_4$	Gef.	N = 16,58
(Mol.-Gew.: 338,1)	Ber.	N = 16,57.

## II. Verhalten der Indolbrenztraubensäure im Kaninchenorganismus.

Einem Kaninchen von 2,5 kg Körpergewicht, welches nur mit Hafer und Wasser gefüttert war, wurden zunächst 0,7 g Tryptophan als Na-Salz subkutan eingespritzt und aus dem Harn, der während 24 Stunden nach der Injektion gesammelt war, wurden 0,1712 g (28%) Kynurensäure gewonnen. Die Kynurensäurebestimmung wurde nach Jaffes Methode ausgeführt; der Harn wurde auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, mit Alkohol wiederholt ausgezogen, und die sämtlichen alkoholischen Auszüge wurden nach Absitzen über Nacht filtriert und eingedampft.

Der Alkoholrückstand wurde mit wenig Wasser aufgenommen, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit Äther überschichtet, die ausgeschiedene Kynurensäure wurde nach mehrtägigem Stehen auf ein gewogenes Filter gebracht, getrocknet und gewogen.

Das Filtrat wurde weiter mit Äther erschöpft und mit Phosphorwolframsäure versetzt; der Phosphorwolframsäureniederschlag wurde mit Barytwasser gekocht und filtriert, das Filtrat durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryumhydroxyd befreit. Das ausgeschiedene Baryumcarbonat wurde nach halbstündigem Kochen abfiltriert und das Filtrat auf ein ganz geringes Volumen auf dem Wasserbade eingedampft.

Kynurensäure, die sich der Ausscheidung entzogen hatte, sollte bei dieser Behandlung sich als Bariumsalz ausscheiden. Aber der Rückstand der eingedampften Lösung ergab keine Kynurensäurereaktion.

Demselben Kaninchen wurden 5 Tage nach der Tryptophaninjektion 0,5 g essigsäurehaltiger Indolbrenztraubensäure 2mal als Na-Salz im Laufe von 3 Stunden unter die Haut gespritzt. Aus dem während 24 Stunden gesammelten Harn wurden 0,0824 (11,7%) Kynurensäure gewonnen, die Säure wurde in das charakteristische Bariumsalz übergeführt. Der Alkoholrückstand aus dem Harn nach der Injektion der Indolbrenztraubensäure war zum größten Teil eine in Wasser oder Äther unlösliche, in Alkohol leicht lösliche Substanz, die sich

beim Überschichten mit Äther als harzige Masse zusammenballte und die Kynurensäureausscheidung erschwerte. Es ist deshalb zweckmäßig, die in Wasser unlösliche Substanz vor dem Ansäuern mit Schwefelsäure abzufiltrieren. Die Kynurensäure scheidet sich in einigen Tagen nach dem Ansäuern vollständig ab. Die in Wasser unlösliche Substanz scheint ein anderes wahrscheinlich den Indolkern enthaltendes Stoffwechselprodukt der Indolbrenztraubensäure zu sein, dessen Reindarstellung nicht gelang.

Im Harn des Kaninchens war nach der Injektion über 2 Wochen lang Eiweiß nachweisbar.

Nachdem das Tier nach 1 Monat sich vollkommen erholt hatte, wurden ihm 0,5 g der Indolbrenztraubensäure als Na-Salz 2 mal im Laufe von 5 Stunden eingespritzt. Aus dem Harn wurden diesmal 0,06 g Kynurensäure gewonnen. Die ausgeschiedene gefärbte Säure schied sich so einheitlich kristallinisch und wenig gefärbt aus, daß der Schmelzpunkt genommen wurde. Die Säure schmolz bei 267° C.

Um vielleicht eine bessere Ausbeute an Kynurensäure zu erhalten, wurde einem zweiten Kaninchen von 3350 g 1 g essigsäurehaltige Indolbrenztraubensäure als Na-Salz auf einmal ohne vorherige Probeinjektion von Tryptophan eingespritzt. Aus dem Harn wurden indessen nur 0,014 g Kynurensäure gewonnen. Der Harn enthielt reichlich Eiweiß und Zylinder. Das Tier magerte stark ab und erholte sich erst im Laufe von 4 Wochen allmählich.

Einem dritten Kaninchen (1600 g), welches nach Einspritzung von 0,5 g Tryptophan nur 0,03 g (7%) Kynurensäure im Harn ausschied, wurden eine Woche später 0,5 g Indolbrenztraubensäure 2 mal im Laufe von 3 Stunden unter die Haut gespritzt. Aus dem Harn, der während 24 Stunden gesammelt war, wurden nur 0,011 g Kynurensäure gewonnen. Der Harn war an den drei folgenden Tagen frei von Eiweiß.

In den beiden letzten Versuchen wurde nur so wenig Kynurensäure gewonnen, daß zur Identifikation nur die Farb-

reaktionen nach Jaffe und nach Kretschy (Rotfärbung beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid) benutzt wurde.

Übersicht über die Injektionsversuche.

Dat.	Nr. des Versuchstieres	Gewicht	Eingespritzt	Ausgeschiedene Kynurensäure	Bemerkungen
1./7.	I.	2500 g	0,7 g Tryptophan	0,172	Eiweiß —
7./7.			1 g Brenztraub.	0,0824	„ +
4./8.			1 g „	0,060	„ +
12./7.	II.	3350 g	1 g „	0,0142	„ +
22./7.	III.	1600 g	0,5 g Tryptophan	0,029	„ —
28./7.			1 g Brenztraub.	0,011	„ —

Eine Betrachtung der Versuchsergebnisse zeigt als wichtigstes Ergebnis, daß in allen Fällen aus Indolbrenztraubensäure Kynurensäure entstanden ist. Die Mengen der ausgeschiedenen Kynurensäure sind gering, sie schwanken zwischen 1,2 und 11,7% der theoretisch möglichen. Individuelle Verschiedenheiten zeigen sich sowohl in der Fähigkeit, aus Tryptophan wie aus der Brenztraubensäure Kynurensäure zu bilden. Kaninchen I, das etwa 28% der theoretischen Menge aus Tryptophan bildet, liefert 11,7% bzw. 6,8% aus Indolbrenztraubensäure; im Harn von Kaninchen III, das nur 7% nach Tryptophan ausscheidet, finden sich nach der Brenztraubensäure nur 1,2% der theoretischen Menge. Es wird also nur ein Bruchteil (etwa  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{3}$ ) der Menge Kynurensäure ausgeschieden, die im Harn nach Tryptophan erscheint.

## 2. Verhalten der $\alpha$ -Chinolincarbonsäure im Tierkörper.

Aus zwei Gründen war es von Interesse, das Verhalten der  $\alpha$ -Chinolincarbonsäure zu prüfen: einmal um zu sehen, ob die Oxydation in der  $\gamma$ -Stellung zum Stickstoff auch am bereits fertig dargebotenen Chinolinring stattfindet, ferner um

durch einen etwaigen Übergang in Kynurensäure ein neues Argument für die von Homer aufgestellte Kynurensäureformel beizubringen.

Es sei vorausgeschickt, daß, bevor die Homerschen Arbeiten erschienen waren, bereits Herr Dr. Flamand auf Veranlassung des einen von uns (E.) eine Versuchsreihe über das Verhalten der  $\beta$ -Chinolincarbonsäure im Tierkörper angestellt hatte, die die unveränderte Ausscheidung ergab und deren Einzelheiten hier nicht wiedergegeben werden sollen.

Auch die Versuche mit  $\alpha$ -Säure ergaben, daß eine Oxydation am Pyridinkern des Chinolins nicht eintritt. Die Säure wird vielmehr zum größeren Teil mit Glykokoll gepaart, zum kleineren unverändert ausgeschieden.

Zur Darstellung der  $\alpha$ -Chinolincarbonsäure wurde zuerst nach Döbner und W. v. Miller<sup>1)</sup> das Chinaldin mit Chromsäure und Schwefelsäure oxydiert. Da aber so nur 2 g Säure aus 20 g Chinaldin gewonnen wurden, wurde später nach Königs' Methode<sup>2)</sup> gearbeitet. Durch Kondensation von Chinaldin mit Formaldehyd im Einschmelzrohr wurde  $\alpha$ -Chinolypropandiol dargestellt und diese Verbindung durch konzentrierte Salpetersäure zu Chinolincarbonsäure oxydiert. Nach diesem Vorgehen wurden 15 g  $\alpha$ -Chinolincarbonsäure aus 20 g Chinaldin gewonnen. Die Säure schmolz bei 156 ° C., entsprechend der Angabe von Königs. Sie gibt mit Essigsäureanhydrid erhitzt eine intensive Rotfärbung, wie die Kynurensäure (Kretschys Farbreaktion).

Die Säure ist für Kaninchen ziemlich giftig. 0,5 g wurden als Natriumsalz einem Kaninchen von 2490 g Gewicht zweimal hintereinander im Laufe von 3 Stunden subkutan injiziert. Das Tier war auffallend ruhig, zeigte nach 24 Stunden intensive Hämoglobinurie und wurde sehr matt. Am nächsten Tage ging es zugrunde, in der Blase fand sich noch stark blutiger Harn. Das Ergebnis der Sektion bestätigte das Vorhandensein einer hämorrhagischen Nephritis.

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. Bd. 16, S. 2472 (1883).

<sup>2)</sup> Ebenda Bd. 32, S. 223 (1899).

Dem zweiten Kaninchen von 2,5 kg Gewicht wurden 0,3 g der Säure als Natriumsalz zweimal im Lauf von 3 Stunden injiziert, das Tier entleerte eiweißfreien Urin, wurde etwas matt, erholte sich aber nach und nach; nach 10 Tagen wurde ihm 1 g der Säure als Natriumsalz im Lauf von 6 Stunden eingespritzt. Das Tier wurde ebensowenig geschädigt wie früher, der Urin blieb auch diesmal eiweißfrei; das Tier erholte sich schnell. In dieser Weise wurde die Substanz immer in kleinen Mengen mehreren Kaninchen injiziert, aber die Tiere entleerten nicht immer blut- oder eiweißfreien Harn. Im ganzen wurde 6 Kaninchen je 1 g der Säure injiziert, und nur 2 Kaninchen erholten sich.

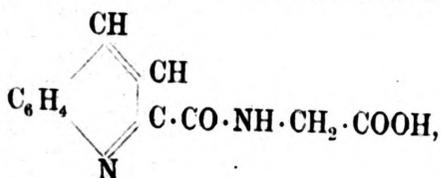
Der Harn, der 24 Stunden nach der Injektion gesammelt war, wurde von Eiweiß befreit, dann auf dem Wasserbad bis zur Trockne eingedampft und mit heißem Alkohol mehrmals ausgezogen; die alkoholischen Auszüge wurden auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde mit 5%iger Schwefelsäure in einen kleinen Kolben hineingebracht und nach Zusatz von Äther stehen gelassen. Da eine nennenswerte Ausscheidung wie bei Anwesenheit von Kynurensäure nicht bemerkbar war, wurde die ganze Flüssigkeit in einen Scheidetrichter gebracht und mit Äther wiederholt ausgeschüttelt. Beim Abdestillieren der ätherischen Auszüge schieden sich feine Kristalle aus, und nach längerem Stehen wurde der Rückstand durchgehends kristallinisch. Die Kristalle bestanden aus kleinen dicken Plättchen. Die kristallinische Masse wurde mit wenig Äther einmal gewaschen und in kochendem Wasser gelöst; aus der von wenig harziger Substanz abfiltrierten Lösung schieden sich bald etwas gefärbte Kristalle, zugespitzte schmale Täfelchen aus. Nach zweimaliger Umkristallisation schmolz die Substanz bei 188° C. Beim Erhitzen der Substanz trat Chinolingeruch auf.

0,1822 g Substanz bei 105° getrocknet: 19,2 ccm N bei 14° u. 750 mm Hg.

0,1387 g Substanz bei 105° getrocknet: 0,319 g CO<sub>2</sub> u. 0,0593 g H<sub>2</sub>O.

Ber.	(C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	C = 62,58	H = 4,38	N = 12,18
Gef.	(230,1)	C = 62,72	H = 4,78	N = 12,17.

Die Analysenzahlen stimmen also auf die Formel



des  $\alpha$ -Chinolincarboxylglykokoll.

Die sämtlichen Mutterlaugen und das ätherische Filtrat wurden vereinigt und eingeengt, einmal mit Tierkohle entfärbt und dann auf dem Wasserbade eingedampft. Der noch gefärbte sirupöse Rückstand wurde nach dem Zusatz von einigen Tropfen Wasser nach mehrtägigem Stehen kristallinisch, die Menge der Kristalle betrug 0,13 g bei dem ersten Versuch nach Einspritzung von 1 g Säure. Der Schmelzpunkt der wiederholt umkristallisierten Substanz lag bei 156° und sie erwies sich hierdurch wie durch die Analyse (s. u.) als unveränderte  $\alpha$ -Chinolincarbonsäure.

Die mit Äther erschöpfte ursprüngliche Flüssigkeit (angesäuertes mit Wasser aufgenommenes Extrakt) wurde filtriert und mit Phosphorwolframsäure gefällt, um noch gelöste Säure zu isolieren. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mehrmals mit 5%iger Schwefelsäure gewaschen, mit Barytwasser zerlegt, auf freier Flamme gekocht und heiß filtriert.

Das überschüssige Baryum wurde mit Schwefelsäure genau neutralisiert, das  $\text{BaSO}_4$  abfiltriert und das Filtrat zum Sirup eingedampft. Der mit Wasser aufgenommene Rückstand wurde mit Essigsäure neutralisiert und Bleiazetatlösung zugesetzt; der Niederschlag des Bleisalzes wurde abfiltriert, in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff von Blei befreit und das klare Filtrat vom Schwefelblei auf dem Wasserbad eingedampft. Bei langem Stehen schieden sich weiße nadelförmige Kristalle aus, die ebenfalls bei 156° schmolzen. So wurden noch 0,05 g der unveränderten Säure erhalten.

Zur Analyse wurde die Säure im Vakuumexsikkator getrocknet.

0,1072 g Substanz gaben N: 7,8 ccm bei 19° u. 764 mm Druck  
 0,1103 g Substanz: 0,2802 g  $\text{CO}_2$  u. 0,0435  $\text{H}_2\text{O}$

(C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> )	Ber. C = 69,34	H = 4,08	N = 8,10
(Mol.-Gew.: 173,1)	Gef. C = 69,20	H = 4,41	N = 8,36.

### Zusammenfassung.

1. Nach Einspritzung von Indolbrenztraubensäure, deren Synthese beschrieben wird, tritt im Harn Kynurensäure auf.
2.  $\alpha$ -Chinolincarbonsäure wird teils mit Glykokoll gepaart, teils unverändert vom Kaninchen ausgeschieden, sie wird nicht zu Kynurensäure vom Kaninchen oxydiert.
3. Der Weg vom Tryptophan zur Kynurensäure führt am wahrscheinlichsten über Indolbrenztraubensäure und  $\alpha$ -Aminobenzoylbrenztraubensäure.