

261. Luigi Musajo und Margherita Minchilli: Konstitution und neue Synthesen der Xanthurensäure.

[Aus d. Institut für Pharmazeut. Chemie d. Königl. Universität „Benito Mussolini“ in Bari.]

(Eingegangen am 19. September 1941.)

Die Xanthurensäure, die vor einigen Jahren von dem einen von uns (Musajo) aus dem Urin proteinreicher ernährter Tiere isoliert wurde, ist eine Dioxychinolin-carbonsäure¹⁾. Sie wird zusammen mit der Kynurensäure, 4-Oxy-chinolin-carbonsäure-(2), aus dem Urin von Albino-Ratten isoliert, die fast ausschließlich mit Fibrin ernährt worden sind. Auch Kaninchen verhalten sich so, während Hunde keine Xanthurensäure, sondern nur Kynurensäure ausscheiden²⁾.

In dem Urin der bei dieser Diät gehaltenen Tiere findet sich außerdem Kynurenin³⁾, auf chromatographischem Wege wurde auch Indirubin isoliert⁴⁾, und kürzlich haben wir aus Rattenurin kleine Mengen eines anderen chinolinartigen Stoffs isoliert, dessen Konstitution wir noch nicht aufgeklärt haben⁵⁾.

Urine, die Xanthurensäure enthalten, zeigen eine charakteristische Farbreaktion; sie geben mit kleinen Mengen von Ferrosalzen in schwachalkalischer Lösung eine tiefgrüne Färbung.

Dies erklärt die Beobachtung einiger Physiologen⁶⁾, daß der Urin proteinreich (mit Fibrin, Casein u. ä.) ernährter Tiere häufig unmittelbar grün gefärbt ist, wenn diese in eisernen Käfigen gehalten werden⁷⁾. Diese von dem einen von uns entdeckte Farbreaktion mit Ferrosalzen hat zur Isolierung der Xanthurensäure geführt¹⁾. Für die Untersuchungen über Xanthurensäure wurden einige Dekaliter Urin von mit Fibrin ernährten Albino-Ratten aufgearbeitet. Diese Tiere wurden gewählt, weil sie einen besonders großen Anteil an Xanthurensäure ausscheiden.

Xanthurensäure ist immer von Kynurensäure begleitet, und um sie in sehr reinem Zustand zu erhalten, kann man sich der fraktionierten Destillation der Methylester im Hochvakuum bedienen⁸⁾. Hinsichtlich der Genese in vivo wurde festgestellt, daß sie wie die Kynurensäure aus dem Tryptophan entsteht⁹⁾. Die Xanthurensäure und ihre Salze sowie die Lösungen dieser Salze sind stark gelb; danach ist sie benannt worden.

Das erste synthetische Xanthurensäure-Präparat wurde aus 4-Oxy-2-methyl-chinolin durch Alkalischmelze hergestellt¹⁰⁾; sie ist also als x.4-Dioxychinolin-carbonsäure-(2) anzusehen. Zunächst hielt man es für wahrscheinlich, daß es sich um 3.4-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) handeln könnte. Weitere Untersuchungen bestätigten jedoch diese Annahme nicht.

¹⁾ L. Musajo, Gazz. chim. Ital. **67**, 165, 171 [1937].

²⁾ L. Musajo, Gazz. chim. Ital. **67**, 182 [1937].

³⁾ L. Musajo, Fußnote 2; über Kynurenin s. Kotake u. Mitarbb., Ztschr. physiol. Chem. **195**, 139 [1931].

⁴⁾ L. Musajo, Gazz. chim. Ital. **67**, 235 [1937].

⁵⁾ L. Musajo u. M. Minchilli, Gazz. chim. Ital. **70**, 307 [1940].

⁶⁾ Baglioni, Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **5**, II [1927]; Galamini, Arch. Farmacol. sperim. **45**, 215 [1928]; Perrini, Atti R. Accad. Lincei (Roma), Rend. [6] **18**, 520 [1933].

⁷⁾ Chiancone, Atti R. Acad. Lincei (Roma), Rend. [6] **21**, 287 [1935].

⁸⁾ Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden 1937 im Laboratorium des Hrn. Prof. E. Späth in Wien angestellt; mit Dankbarkeit erinnere ich mich der in diesem Institut genossenen Gastfreundschaft. L. Musajo.

⁹⁾ L. Musajo u. F. Chiancone, Gazz. chim. Ital. **67**, 218 [1937].

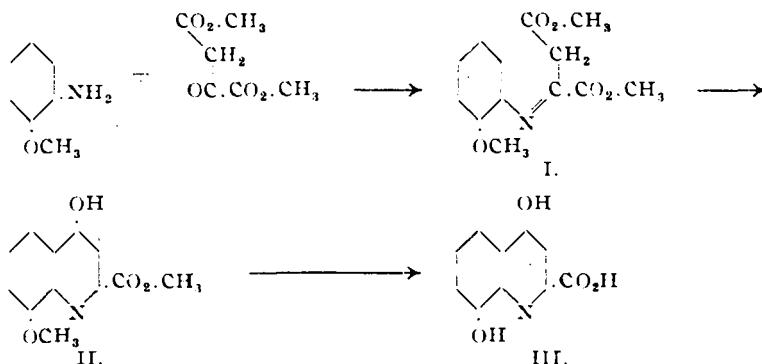
¹⁰⁾ L. Musajo, Gazz. chim. Ital. **67**, 230 [1937].

Wir haben nun die Versuche mit Ratten wieder aufgenommen und weitere Mengen natürlicher Xanthurensäure isoliert. Dabei konnte das Problem ihrer Konstitution auf dem in dieser Mitteilung beschriebenen Wege gelöst werden.

Durch Einwirkung von Phosphoroxychlorid auf Xanthurensäure war es uns möglich, eine der beiden Hydroxylgruppen durch Chlor zu ersetzen. Wir haben auf diese Weise eine Chlor-oxy-chinolin-carbonsäure-(2) erhalten, von der wir durch katalytische Enthalogenierung zu einer Monooxy-chinolin-carbonsäure-(2) gelangten. Letztere erlaubte es uns, die gesuchte Stellung des zweiten Hydroxyls der Xanthurensäure festzulegen, da wir durch Decarboxylierung 8-Oxy-chinolin erhielten. Da nun Xanthurensäure, wie schon gesagt, eine x.4-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) ist, und das zweite Hydroxyl sich in 8-Stellung befindet, so muß sie die Konstitution einer 4.8-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) besitzen. Das mit Phosphoroxychlorid erhaltene Produkt ist daher 4-Chlor-8-oxy-chinolin-carbonsäure-(2) und das dechlorierte Produkt 8-Oxy-chinolin-carbonsäure-(2).

Die der Xanthurensäure zuerkannte Konstitution wurde vollends bewiesen durch folgende Synthese: Wir stellten zunächst den Dimethylester der [2-Methoxy-phenyliniolo]-bernsteinsäure (I) dar (Schmp. 68—69°) durch Kondensation von Oxalessigsäure-dimethylester mit *o*-Anisidin (mit *o*-Aminophenol verläuft die Reaktion nicht einfach); daraus erhielten wir in Paraffinöl bei 240° den Methylester der 4-Oxy-8-methoxy-chinolin-carbonsäre-(2) (II), von der man zur 4.8-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) (III) kommt.

Die 4.8-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) ist in jeder Hinsicht identisch mit der natürlichen Xanthurensäure.



Beschreibung der Versuche.

8-Oxy-chinolin aus natürlicher Xanthurensäure.

1) Chlorierung¹¹⁾: 500 mg reinster Xanthurensäure (aus dem durch Sublimation im Hochvakuum gereinigten Methylester) werden mit 12 g Phosphoroxychlorid im Ölbad 1 Stde. auf 135° erwärmt. Man entfernt dann das Phosphoroxychlorid im Vak., neutralisiert den Rückstand mit Natriumcarbonat, fügt etwas Kaliumhydroxyd hinzu und erwärmt einige Minuten. Beim Ansäuern mit verd. Schwefelsäure fällt ein Niederschlag, der nach dem Absetzen filtriert und mit viel Wasser gewaschen wird. Seidige, blaßgelbe

¹¹⁾ Einige vorläufige Bemerkungen zu dieser Chlorierung s. Gazz. chim. Ital. **67**, 177 [1937].

Nadeln aus 50-proz. Essigsäure. Schmp. 209—210° (Zers., Vak.-Röhrchen). Ausb. 150 mg.

5.246 mg Sbst.: 10•295 mg CO₂, 1.320 mg H₂O. — 3.352 mg Sbst.: 0.175 ccm N (21°, 750 mm). — 5.720 mg Sbst.: 3.750 mg AgCl.

C₁₀H₈O₃NCI. Ber. C 53.69, H 2.68, N 6.26, Cl 15.88.

Gef. „, 53.54, „, 2.82, „, 5.98, „, 16.22.

2) Hydrierung: 130 mg der oben beschriebenen gechlorten Säure werden in 18 ccm 0.1-n. Kalilauge (etwa 3 Mol.) gelöst und nach Zugabe von 35 ccm Wasser in Gegenwart von Palladium-Kohle hydriert. Nach Beendigung der Hydrierung wird der Katalysator abfiltriert und die gelbe alkal. Lösung mit 0.1-n. Salzsäure neutralisiert. Man dampft dann im Vak. auf dem Wasserbade zur Trockne, trocknet den Rückstand im Vak.-Exsiccator, fügt 10 ccm Methanol zu und verestert 2 Stdn. auf dem Wasserbad mit Chlorwasserstoff. Nachdem man über Nacht im verschlossenen Gefäß hat stehenlassen; dampft man im Vak. zur Trockne, nimmt den Rückstand mit Wasser auf, neutralisiert mit Kaliumbicarbonat und extrahiert im Extraktionsapparat mit Äther. Nach 7—8 Stdn. ist die Extraktion beendet. Die äther. Lösung wird abgedampft und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Die Substanz geht als dichte Flüssigkeit zwischen 60° und 110° (Luftbad, 0.01 mm) über. Aus einer Mischung von Äther und Petroläther (1:2) krystallisiert sie in rein weißen Nadeln vom Schmp. 103—105° (Vak.-Röhrchen). Ausb. 50 mg. Die Verbindung löst sich in Alkalilaugen mit gelber Farbe, in alkohol. Lösung gibt sie mit Ferrochlorid eine grüne Färbung.

Eine Methoxyl-Bestimmung bestätigt, daß es sich, wie zu erwarten, um den Methylester einer Monoxy-chinolincarbonsäure handelt.

3.316 mg Sbst.: 3.017 ccm n/so-Na₂S₂O₃ (Vieböck).

C₁₁H₈O₃N. Ber. CH₃O 15.27. Gef. CH₃O 15.68.

40 mg dieses Methylesters werden verseift, indem man 10 Tropfen konz. Salzsäure zusetzt und auf dem Wasserbade zur Trockne dampft. Dieses Verfahren wird noch 2-mal wiederholt; dann nimmt man mit Wasser auf und dampft abermals zur Trockne.

3) Decarboxylierung: Das so erhaltene Produkt (dessen Schmelzpunkt zwischen 190° und 200° liegt) wird in Methanol aufgenommen, das Lösungsmittel abgedampft und der Rückstand im Bade bis auf 250° erwärmt. Durch nachfolgende Sublimation im Hochvakuum erhält man einen weißen krystallinen Stoff, der bereits sehr gut im Luftbad von 50° sublimiert. Nach zwei Sublimationen ist der Schmelzpunkt dieses Produktes 71—72°. Mischschmelzpunkt mit 8-Oxy-chinolin 72—73°.

Die Substanz gibt die Farb- und Fällungsreaktion des 8-Oxy-chinolins; zum Vergleich wurden auch die Pikrate dargestellt: 7 mg der isolierten Verbindung wurden in 1 ccm wasserfreiem Äther gelöst, mit äther. Pikrinsäure-Lösung versetzt, der erhaltene Niederschlag mit Äther gewaschen und aus absol. Alkohol umkrystallisiert. Schmp. 201—202°. Mischschmelzpunkt mit 8-Oxy-chinolin-pikrat 202—203°.

Dimethyläther-methylester der Xanthurensäure.

Diese in den früheren Arbeiten nicht beschriebene Verbindung wurde zum Vergleich des natürlichen mit dem synthetischen Produkt dargestellt. 50 mg reinsten Methylesters der natürlichen Xanthurensäure werden mit 2 ccm Methanol und einer äther. Lösung von Diazomethan aus 3.5 ccm Nitroso-methylurethan behandelt. Am nächsten Tage wird filtriert, das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Die Substanz

beginnt bei 130° (Luftbad, 0.01 mm) überzugehen, der größte Teil siedet bei 150—160°, ist anfangs flüssig und krystallisiert dann. Durch Umkristallisieren aus Äther erhält man weiße glänzende Täfelchen vom Schmp. 142.5°.

4.100 mg Sbst.: 11.390 mg AgJ.

$C_{13}H_{15}O_4N$. Ber. CH_3O 37.65. Gef. CH_3O 36.71.

Synthese der Xanthurensäure.

[2-Methoxy-phenylimino]-bernsteinsäure-dimethylester (I): 1.23 g o-Anisidin und 1.60 g Oxalessigsäure-dimethylester werden 1 Stde. auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Der Rückstand, ein zähes, gelbes Öl, wird 24 Stdn. im Vak.-Exsiccator aufbewahrt und dann wiederholt aus Petroläther umkristallisiert. Glänzende gelbe Blättchen vom Schmp. 68—69° (Vak.-Röhrchen), die, wie erwartet, 3 Methoxygruppen enthalten.

3.829 mg Sbst.: 7.70 ccm n_{50}^{20} - $Na_2S_2O_3$ (Vieböck). — 2.169 mg Sbst.: 4.710 mg CO_2 , 1.190 mg H_2O .

$C_{13}H_{15}O_6N$. Ber. C 58.87, H 5.66, CH_3O 35.09. Gef. C 59.24, H 6.14, CH_3O 34.66.

4-Oxy-8-methoxy-chinolin-carbonsäure-(2)-methylester (II): 1.15 g der oben genannten Verbindung werden in 30 g Paraffinöl auf 240° erwärmt; es tritt sofort Lösung ein. Man hält die Temperatur 5 Min. bei 240°. Nach dem Abkühlen fügt man das gleiche Volumen Petroläther hinzu und filtriert das ausgeschiedene Produkt nach längerem Absitzenlassen. Man wäscht mit Petroläther und krystallisiert mehrmals aus Benzol um (Ausb. 0.5 g). Weiße Täfelchen vom Schmp. 159—160° (Vak.-Röhrchen).

5.054 mg Sbst.: 11.470 mg CO_2 , 2.180 mg H_2O . — 3.347 mg Sbst.: 0.175 ccm N (23.5°, 762 mm). — 4.296 mg Sbst.: 8.300 mg AgJ.

$C_{12}H_{11}O_4N$. Ber. C 61.80, H 4.72, N 6.01, CH_3O 26.61.

Gef. „, 61.89, „, 4.83, „, 6.04, „, 25.54.

4.8-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) (III): 500 mg 4-Oxy-8-methoxy-chinolin-carbonsäure-(2)-methylester werden in einem Kolben mit Rückflußkühler mit 10 ccm Jodwasserstoff (d 1.7) 1. Stde. zum leichten Sieden erwärmt. Dann dampft man den Jodwasserstoff im Vak. vollständig ab, nimmt den Rückstand in Wasser auf und löst ihn in Sodalösung. Nach dem Filtrieren wird die klare Lösung mit verd. Salzsäure in Gegenwart von etwas Natriumbisulfit gefällt. Nach längerem Absitzenlassen filtriert man und wäscht wiederholt mit Wasser, dann mit Alkohol und Äther. Zur Reinigung wird die Substanz in Wasser suspendiert, mit geringen Mengen Kalilauge in Lösung gebracht und aus der klarfiltrierten Lösung mit verd. Salzsäure gefällt. Dieses Verfahren wird mehrmals wiederholt. Man erhält so die Dioxychinolincarbonsäure in schwefelgelben Mikrokristallen.

5.065 mg Sbst.: 10.770 mg CO_2 , 1.690 mg H_2O . — 3.300 mg Sbst.: 0.201 ccm N (24°, 762 mm).

$C_{10}H_7O_4N$. Ber. C 58.53, H 3.41, N 6.83. Gef. C 57.99, H 3.74, N 7.02.

Die Substanz zeigt alle Eigenschaften und Farbreaktionen der Xanthurensäure (sie löst sich in Alkalilaugen, Alkalicarbonat-Lösungen und in Ammoniak-Lösung mit gelber Farbe; löst man sie durch Zugabe von wenig Natriumbicarbonat zur wäßr. Suspension und fügt Ferrosulfat hinzu, so entsteht eine äußerst intensive Grünfärbung; mit Millons Reagens zeigt sie eine rote Färbung und mit alkal. Diazobenzolsulfonsäure eine lebhafte Rotfärbung). Sie schmilzt, wie die Xanthurensäure, bei 283—285° (bei schnellem Erhitzen) unter Zersetzung, und der Mischschmelzpunkt mit natürlicher Xanthurensäure zeigt keine Erniedrigung.

Methylester: 300 mg 4.8-Dioxy-chinolin-carbonsäure-(2) werden in 7 ccm Methanol suspendiert. Man erwärmt 2 Stdn. auf dem Wasserbad im trocknen Chlorwasserstoffstrom, läßt die Mischung 12 Stdn. im geschlossenen Gefäß und verdampft dann das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mit Wasser und einem geringen Überschuß Natriumbicarbonat aufgenommen. Man säuert mit Salzsäure schwach an und filtriert nach dem Absitzenlassen. Das Produkt wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und 3-mal aus Methanol umkristallisiert. Leuchtend citronengelbe Krystalle.

4.612 mg Sbst.: 10.145 mg CO₂, 1.740 mg H₂O. — 3.219 mg Sbst.: 0.179 ccm N (25°, 762 mm). — 3.593 mg Sbst.: 2.95 ccm n/so-Na₂S₂O₈ (Vieböck).

C₁₁H₁₀O₄N. Ber. C 60.27, H 4.11, N 6.39, CH₂O 14.15.

Gef. „ 60.02, „ 4.22, „ 6.39, „ 14.15.

Der Methylester schmilzt bei langsamem Erhitzen bei 255°, bei schnellem bei 261—262° unter Zersetzung. Das Verhalten des Methylesters der natürlichen Xanthurensäure ist damit völlig identisch. Mischschmelzpunkt mit dem natürlichen Methylester: bei langsamem Erhitzen 255°, bei schnellem 261° (Vak.-Röhrchen).

Dimethyläther-methylester: Zu 35 mg des obigen Methylesters fügt man 2 ccm Methanol und eine ätherische Diazomethan-Lösung aus 3 ccm Nitrosomethylurethan. Am nächsten Tage filtriert man und destilliert im Vak., wie oben beim natürlichen Produkt angegeben. Auch hier erhält man aus Äther weiße glänzende Täfelchen. Schmelzpunkt wie der des Dimethyläther-methylesters der Xanthurensäure 142.5°; Mischschmp. 142.5°.

5.030 mg Sbst.: 11.660 mg CO₂, 2.400 mg H₂O. — 3.700 mg Sbst.: 10.280 mg AgJ. C₁₃H₁₂O₄N. Ber. C 63.16, H 5.26, CH₂O 37.65. Gef. C 63.25, H 5.34, CH₂O 36.75..

4.8-Dioxy-chinolin: Wurde durch Decarboxylierung der synthetischen Säure dargestellt, wie für die Base aus natürlicher Säure beschrieben¹²⁾. Gibt dieselbe Farbreaktion mit Ferrichlorid (blaugrüne Färbung, die nach Zusatz von Natriumbicarbonat violett wird). Weiße Nadeln, Schmp. 318—319°. Ein Mischschmelzpunkt mit natürlicher Base (Schmp. 320°) zeigt keine Erniedrigung.

4.8-Dimethoxy-chinolin: 25 mg 4.8-Dioxy-chinolin und 1 ccm Methanol werden mit äther. Diazomethan-Lösung aus 2 ccm Nitrosomethylurethan versetzt. Am nächsten Tage verdampft man das Lösungsmittel und destilliert 2-mal im Hochvakuum. Die Substanz geht zuerst zwischen 110° und 135°, dann zwischen 110° und 120° über (Luftbad, 0.01 mm). Weiße Krystalle aus Petroläther, die, wie das Dimethoxychinolin aus natürlicher Xanthurensäure¹²⁾, bei 144.5° schmelzen. Mischschmp. 144.5°.

Tafel 1.

	Synthet. Produkt °C	Natürl. Produkt °C	Misch- Schmp. °C
Xanthurensäure (bei raschem Erhitzen) ...	283—285	284—285	284—285
Methylester bei raschem Erhitzen	261—262	262	261—262
Methylester bei langsamem Erhitzen	255	255	255
Dimethyläther-methylester	142.5	142.5	142.5
Dioxychinolin	318—319	320	318—319
Dimethoxychinolin	144.5	144.5	144.5

¹²⁾ Gazz. chim. Ital. 67, 176 [1937]; 70, 309 [1940].