

Ms. B 70/38.

37

38



F. P. MAZZA - C. MIGLIARDI

Sulla costituzione chimica della cinu-
renina e sulla sua trasformazione
biologica in acido cinurenico

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA", VOL. I

Esemplari fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.





F. P. MAZZA - C. MIGLIARDI

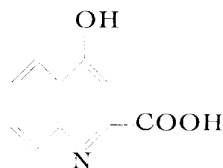
Sulla costituzione chimica della cinu-
renina e sulla sua trasformazione
biologica in acido cinurenico

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA", VOL. 1

F. P. MAZZA e C. MIGLIARDI

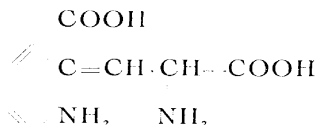
SULLA COSTITUZIONE CHIMICA DELLA
CINURENINA E SULLA SUA TRASFORMA-
ZIONE BIOLOGICA IN ACIDO CINURENICO

È noto che il metabolismo ossidativo del triptofano in molti organismi animali conduce ad ossiacidi derivati dalla chinolina, e propriamente all'acido cinurenico nel maggior numero dei casi, più raramente all'acido anturenico:

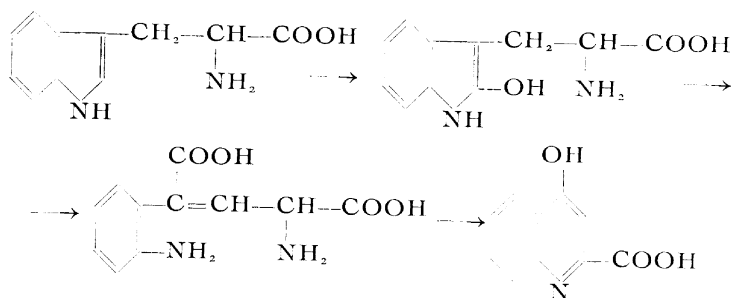


Acido cinurenico.

Il meccanismo di formazione dell'acido cinurenico è stato lungamente studiato dal Kotake ed allievi [1], i quali hanno isolato, come prodotto intermedio, dall'urina dei conigli una sostanza a proprietà basiche, la *cinurenina*, alla quale hanno attribuita la struttura (non confermata dalla sintesi):

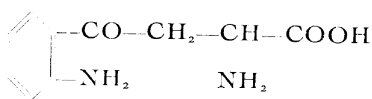


e che si formerebbe dal triptofano, previamente ossidato ad α -ossitriptofano (o *procinurenina*) secondo lo schema:



Recentemente, intanto, la cinurenina ha assunto una importanza grandissima dal punto di vista biologico, giacchè Butenandt, Weidel e Becker [2] hanno osservato che essa è identica con una sostanza contenuta in certi insetti (*Drosophila melanogaster*, *Ephestia kuehniella*, *Calliphora erythrocephala*), e che è capace di produrre la pigmentazione degli ommatidi e dei tegumenti in razze mutate a colorazione più sbiadita. Esercita, in altre parole, la cinurenina un'azione simile a quella di certi geni. Nella *drosophila*, ad esempio, la razza selvatica, che possiede i geni v^+ e cn^+ , ha occhi rosso-bruni; esistono, intanto, una razza mutata vermiglia con i geni v e cn^+ , ed una di color cinabro, con i geni v^+ e cn , che hanno occhi chiari. Con prove di impianti dei testicoli, si è stabilito che il gene v^+ provoca la formazione di cinurenina, la quale, sotto l'influenza del gene cn^+ , produce un'altra sostanza, che regola la pigmentazione. La mutazione di un gene v^+ o cn^+ , localizzati in cromosomi diversi, perciò, interrompe la catena di reazioni che genera il pigmento. Analogamente si svolgono le cose nella *ephestia* e nella *calliphora*. Questa sostanza, che diremo v^+ , agisce già a dosi di 0,3 γ nella *drosophila*, agisce anche sulle culture *in vitro* degli ommatidi provocandone la pigmentazione a concentrazione di $10^{-4}\%$ e può esser sostituita dalla cinurenina ed anche, sebbene a dosi più elevate, dall' α -ossitriptofano, recentemente isolato da H. Wieland e Witkop [3], il che conferma lo schema ammesso per la forma-

zione della cinurenina [4]. È questa, dunque, la prima volta che si può dare un fondamento sperimentale all'ipotesi, tante volte formulata, anche da uno di noi, che l'attività dei geni consti nella formazione di enzimi, i quali regolano poi l'andamento di certe reazioni: nel nostro caso il primo attacco demolitivo al triptofano. Se, poi, la cinurenina sia un propigmento, capace di trasformarsi in pigmento solo in presenza di un gene determinato, oppure costituisca, per sè stessa, un genormone, ancora resta da chiarire [5]. Queste nuove interessanti proprietà della cinurenina, ci hanno stimolati ad indagarne l'azione anche su gli animali superiori. Ne abbiamo, pertanto, preparata una certa quantità dalle urine di conigli, ai quali si erano somministrate forti dosi di triptofano (gr. 4) per via parenterale, seguendo il metodo descritto dal Kotake. Ed avendola sottomano, abbiamo voluto determinarne la composizione, la curva di elettrotitolazione e lo spettro di assorbimento. Per la composizione abbiamo, con nostra meraviglia, ottenuto costantemente cifre che si accordavano assai meglio con la formula $C_{10}H_{12}O_5N_2$ che con quella $C_{11}H_{12}O_4N_2$ data dal Kotale. Ci è, intanto, venuto sott'occhio un breve sunto di una conferenza del Butenandt [5], dal quale si deduce che anche nel suo laboratorio si erano ottenuti risultati analoghi, che gli facevano proporre per la struttura della cinurenina la formula:



come più probabile di quella dedotta dal Kotake nelle sue ricerche. Difatti, la curva di elettrotitolazione da noi ottenuta, concordava appieno con la struttura postulata dal Butenandt, giacchè svelava nella cinurenina un solo carbossile ($pK'_a = 2,31$) e due gruppi amminici ($pK'_{b_1} = 9,25$; $pK'_{b_2} = 11,52$). Anche la curva di assorbimento nell'u. v. a pH 7 (fig. 1) non mostrava la caratteristica banda a 2400 Å degli acidi $\alpha - \beta$ - insaturi, ma piuttosto la larga banda propria del carbonile. È notevole che l'assorbimento dipende dall'attività idrionica del mezzo: a pH 7 in alcool si hanno a

SULLA COSTI-
TUZIONE CHI-
MICA ECC.

due bande con centri verso $3585 \text{ \AA}$ e $2520 \text{ \AA}$, che non si spostano a pH 10, in acqua, sebbene l'assorbimento divenga un po' più intenso. A pH 2, invece, mentre la banda a frequenza maggiore resta pressochè inalterata, quella a minor frequenza si sposta verso il rosso, diminuendo d'intensità (centro a $3620 \text{ \AA}$). Analo-

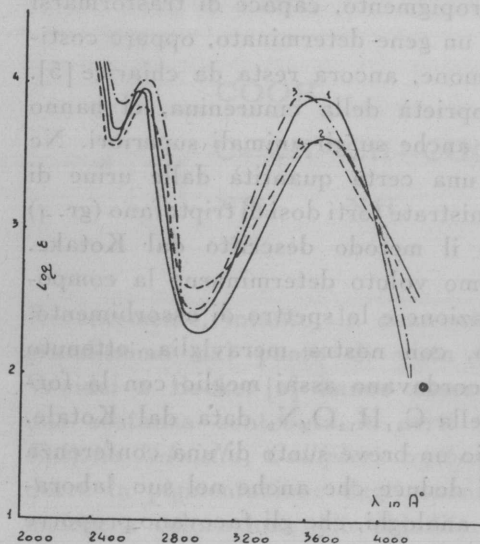
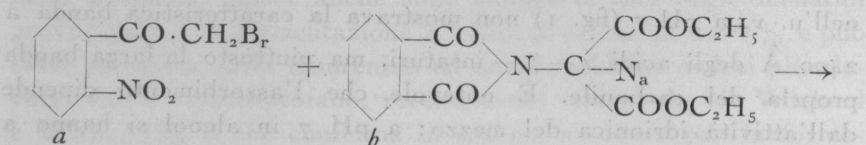


Fig. 1.

Spettri d'assorbimento della l-cinurenina e dell'acido d-l-β-o-aminobenzoil-α-aminopropionico. Conc. 0,002 mol.

- 1) l-cinurenina a pH 10.
- 2) l-cinurenina a pH 2.
- 3) ac. d-l-β-o-aminobenzoil-α-aminopropionico a pH 10.
- 4) ac. d-l-β-o-aminobenzoil-α-aminopropionico a pH 2.

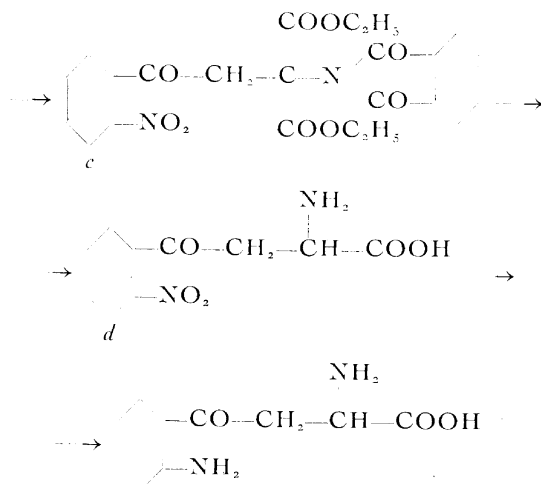
alcolica, ha dato il composto desiderato, che si è isolato come solfato:



gamente si comportano triptofano e tirosina.

Questi dubbi, certamente gravi, ci hanno indotto a verificare con la sintesi se l'acido α-amino-β-o-aminobenzoilpropionico fosse identico con la cinurenina naturale.

La sintesi del composto è stata agevole: l'o-nitro-ω-bromoacetofenone (a), scaldato con etere sodioftalimidomalonico (b), ha reagito con questo molto vivacemente, e dai prodotti della condensazione si è isolato, con buoni rendimenti, l'etere o-nitro-fenacilftalimidomalonico (c). Questo, idrolizzato per 6^h di ebullizione con HCl concentrato, ha eliminato acido ftalico e CO₂, trasformandosi in acido α-amino-β-o-nitrobenzoilpropionico (d), il quale, per riduzione con Na₂S in soluzione



Curva di elettrotitolazione e curve di assorbimento a pH 3 e 10 del prodotto sintetico coincidono praticamente con quelle della cinurenina naturale, come si rileva dai grafici punteggiati della figura 1.

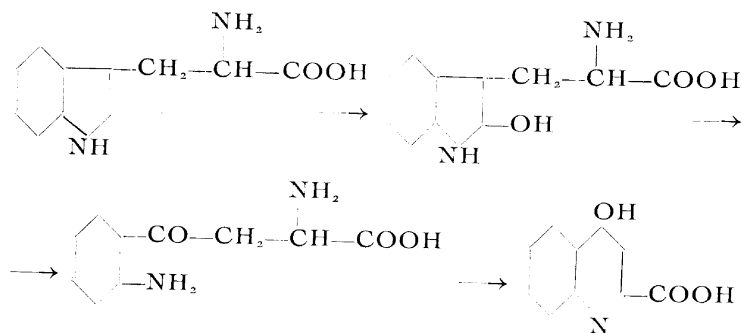
Il punto di fusione della cinurenina naturale è verso $189-190^\circ$ con decomposizione (la quale si inizia già verso $165-168^\circ$).

L'acido α -amino- β -o-aminobenzoilpropionico sintetico incomincia ad imbrunire verso 160° , per fondere decomponendosi verso 195° . L'*habitus* cristallino è per entrambi in fogliette.

Era da prevedersi che la lieve differenza dei punti di fusione del prodotto naturale e di quello sintetico dipendesse dall'esser questo racemico. Abbiamo, pertanto, tentato di scindere l'acido d-l- α -amino- β -o-aminobenzoilpropionico negli antipodi ottici, trasformandolo nel d-canfosolfonato. Lasciato cristallizzare questo frazionatamente da l'alcool, le prime porzioni che si separano hanno p. f. 221° e $[\alpha]_D^{20} = -31,2^\circ$. Decomposta, questa frazione ha dato una base che presentava, in H_2O , $[\alpha]_D^{20} = -25,05$ ed in H_2SO_4 1 n, $[\alpha]_D^{20} = +9,98$, valori abbastanza concordanti con quelli dati nella letteratura per la cinurenina naturale ($[\alpha]_D^{20}$ in $\text{H}_2\text{O} = -28,05$; $[\alpha]_D^{20}$ del solfato = $+10,7$)

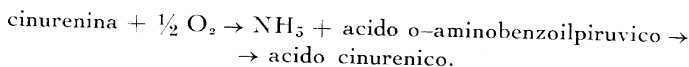
e da noi controllati sui nostri preparati ($[\alpha]_D^{20}$ in $H_2O = -29.02$ e per il solfato $+11.02$). Il punto di fusione della base sintetica era verso i 188° , con decomposizione, ed un p. f. in miscela con la cinurenina naturale non ha mostrato abbassamento di sorta. Resta così dimostrato che la cinurenina è *acido l(-)- α -amino- β -o-aminobenzoilpropionico*. Dalle acque madri della cristallizzazione del canfosolfonato di l-cinurenina, abbiamo ottenuto per concentrazione un canfosolfonato fondente lievemente più in basso (216°) e che, decomposto, ha dato preparati di d-cinurenina ancora piuttosto impuri, come dimostrava il potere rotatorio: $[\alpha]_D^{20}$ in $H_2O = +18.01$, in $H_2SO_4 = -6.03$. Attendiamo alla purificazione di questo prodotto per studiare le eventuali differenze di attività fisiologica dei due antipodi sulla pigmentazione degli insetti.

Iniettando sottocute la l-cinurenina naturale, disciolta in acqua, ai ratti albini (gr. 0,25 per animale), essa si elimina per le urine come acido cinurenico per l'85-90 % circa, in 36h. Iniettando, invece, gr. 0,25 di d-l-cinurenina, si elimina per le urine in 36h solo il 45-50 % di acido cinurenico, il che dimostra come l'organismo attacchi preferenzialmente la l-forma, lasciando indietro quella d-. Lo schema di formazione dell'acido cinurenico è perciò:

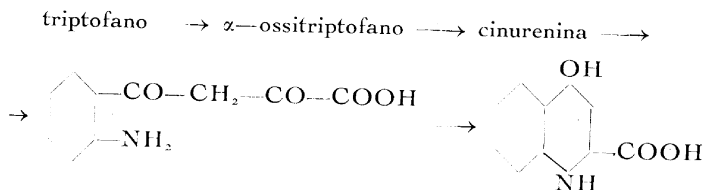


Per indagare sul meccanismo del passaggio dalla cinurenina all'acido cinurenico, abbiamo cimentata la d-cinurenina, sebbene ancora impura, con estratti di rene di ratto dializzati, adoperando la tecnica

manometrica di Barcroft-Warburg. Gli estratti contengono forti quantità di d-aminoacido-deidrase: abbiamo osservato che, in ambiente di O_2 a pH 7,4, sono capaci di provocare rapidamente la desaminazione ossidativa della d-cinurenina, mettendosi in libertà 1 mol di NH_3 per $\frac{1}{2}$ mol. O_2 . Da prove di bilancio, eseguite con più grandi quantità di materiale, abbiamo potuto determinare l' O_2 consumato, e l' NH_3 e l'acido cinurenico prodotti: nei limiti degli errori sperimentali, inevitabili in simili esperimenti, i numeri ottenuti concordano con lo schema:



Il passaggio acido o-aminobenzoilpiruvico $\rightarrow$ acido cinurenico non richiede la presenza di ossigeno, come dimostrano i bilanci. Non è chiaro, tuttavia, se si svolga per azione di uno speciale enzima o pur no. Una prova da noi eseguita parrebbe escludere le azioni enzimatiche: cimentando la d-cinurenina con un preparato di d-aminoacido-deidrase sintetica, ottenuta secondo Karrer e Frank [7] dall'adenin-allossiazin-dinucleotide di Warburg e Christian [8], riunito con l'apoenzima preparato dal rene di montone, secondo Negelein e Brömel [9], si è dimostrato che questo oloenzima puro da altri enzimi, o quasi, forma acido cinurenico dalla d-cinurenina. Sebbene per la tenue quantità dei preparati enzimatici a nostra disposizione sia stato impossibile seguire quantitativamente la formazione di acido cinurenico, riteniamo che l'esperimento renda assai verosimile che, prodottosi per desaminazione della cinurenina l'acido o-aminobenzoilpiruvico, questo si ciclizzi spontaneamente per formare acido cinurenico. Non si esclude in ogni modo che questa reazione spontanea possa venir catalizzata da appositi enzimi. Potremmo, concludendo, tracciare lo schema seguente per la trasformazione del triptofano in acido cinurenico:



ESPERIMENTI (*).

Preparazione della l-cinurenina. — È stata eseguita, come è prescritto da Kotake e Iwai [10]. Alla microanalisi ha dato le cifre seguenti:

	C %	H %	N %
I	57,1	6,1	15,2
II	56,8	5,9	15,1
Calc. per $C_{10}H_{12}O_5N_2$	57,6	5,76	15,4
Calc. per $C_{12}H_{12}O_4N_2$	55,9	5,08	11,8

Corrispondeva per il p. f. (165–168° imbrunimento, 189–190° fusione dec.) e per lo spettro di assorbimento (fig. 1) con le cifre date da Kotake e collaboratori. Dava la reazione caratteristica con la fenilidrazina in soluzione alcalina. Il potere rotatorio, misurato con un polarimetro spettrale di Abderhalden a campo tripartito, ed in soluzione 0,2 n, era, in acqua $[\alpha]_D^{20} = -28,05$, in H_2SO_4 0,5 n $[\alpha]_D^{20} = +11,2$.

Elettrolitolazione. — È stata eseguita, in soluzione 0,1 n con l'elettrodo di vetro e l'ultraionografo a valvola termoionica di Lautenschäger, a 25°. Dalla curva abbiamo calcolato quella $\Delta\beta/\Delta pH$, come è indicato dal van Slyke [11]. Abbiamo trovato $pK'_a = 2,31$; $pK'_{b_1} = 9,25$; $pK'_{b_2} = 11,52$. Il punto isoionico è a pH 6,12.

Spettri di assorbimento. — Si sono determinati con lo spettrografo universale a prisma di quarzo di Zeiss. Doppio settore rotante di Gude, fotometro di Hüfner, vaschette logaritmiche di Scheibe. Sorgente luminosa; scintilla di alta frequenza tra elettrodi di tungsteno. Fenditura mm. 0,01; lastre « Isochrom » Agfa.

(*) Quando questo lavoro era terminato, abbiamo appreso da una nota preventiva di BUTENANDT, WEIDEL e von DERJUGIN, inviata come estratto ad uno di noi, e pubblicata nel fasc. 1–5 di « Naturwissenschaften » di quest'anno, che gli autori sono giunti alla sintesi della d-l-cinurenina, per la stessa via da noi percorsa. Quella nota tuttavia, non dà particolari di tecnica.

Sintesi dell'acido d-l-β-o-aminobenzoil-α-aminopropionico. — L'o-nitro-ω-bromoacetofenone, preparato secondo Arndt e Eistert [12] è stato scaldato a bagno d'olio in proporzioni equimolecolari con etere sodio-ftalimidomalonico, ottenuto come è descritto nelle « Organic Synthesis » [13]. Verso i 100° si inizia una violenta reazione, che prosegue senza che occorra scaldare ulteriormente. Quando è attenuata, si scalda a 140° per 2 ore; dopo raffreddamento, si riprende con H₂O all'ebollizione, che discioglie il NaBr, poi si estrae la massa bruna con alcool bollente. La soluzione alcoolica viene decolorata con carbone attivo, filtrata e portata a cristallizzazione. Si separa così, in begli aghi soffici, l'estere o-nitrofenacil-ftalimidomalonico, fondente a 153°.

Questo estere viene bollito a ricadere 6-8 ore con 10 p di HCl d = 1,19. Si svolge CO₂, e la soluzione, raffreddata a 0°, lascia separare acido ftalico, che si filtra. Il filtrato si concentra nel vuoto, quasi a secchezza, e portato a 0°, separa cristalli foliari di cloridrato dell'acido β-o-nitrobenzoil-α-aminopropionico che, raccolto su filtro di vetro di Jena ed essiccato nel vuoto su Koff, fonde a 183-184°.

La riduzione del nitrogruppo avviene agevolmente per azione del solfuro sodico, in soluzione alcoolica. Grammi 2 di cloridrato, con 20 ml. di alcool si triturano per 2^h in mortaio con un eccesso di Na₂S. Si filtra, ed il filtrato si concentra a piccolo volume, dopo avere acidificato con H₂SO₄ e filtrato. Il residuo si porta a secco in essiccatore nel vuoto su H₂SO₄, e si estrae con alcool al 60%. Il soluto, concentrato, depone cristalli aghiformi gialletti, che si ricristallizzano 2 volte da alcool a 65%, in presenza di carbone attivo. Si ottengono in tal modo cristalli di solfato dell'acido β-o-amino-benzoil-α-aminopropionico, che imbruniscono verso i 160° e fondono, annerendosi e decomponendosi, verso i 190°.

All'analisi il prodotto ha dato:

	C %	H %	N %	S %
trov. I	58,4	4,9	9,2	10,6
trov. II	59,0	4,8	9,5	10,5
Calc. per C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅ · H ₂ SO ₄	59,19	5,461	9,15	10,47

All'elettrotitolazione ha dato: $pK'_a = 2,30$; $pK'_b = 9,30$; $pK'_{b_2} = 11,48$. pH isoelettrico 6,10.

Il solfato è stato trasformato in base disciogliendolo in 5 p. di H_2O e trattandolo con la quantità teorica di barite, filtrando, ed evaporando nel vuoto in assenza di O_2 . La base cristallizzava in fogliette che, in tubetto chiuso, imbrunivano a 160° , e fondevano, decomponendosi, verso 195° . Sia il solfato che la base erano otticamente inattivi. Spettri di assorbimento, vedi figura 1.

Scissione dell'acido d-l- β -o-aminobenzoil- α -aminopropionico negli antipodi ottici. Grammi 2 del composto si sono salificati con quantità equimolecolare di acido canfosolfonico, in alcool al 70 %. Evaporando lentamente la soluzione, si è deposta una prima frazione, in aghi che imbruniscono a 215° e si decompongono a 221° , e presentanti $[\alpha]_D^{20} = -31,2$ (gr. 0,8). Questa frazione si è decomposta con la quantità teorica di barite, estraendo con alcool a 60 % caldo l'acido β -o-aminobenzoil- α -aminopropionico. L'estratto, evaporato nel vuoto, ha lasciato una sostanza cristallina fondente a 188° (dec.) e che, mescolata in parti eguali con la l-cinurenina naturale, non ha mostrato depressione della temperatura di fusione. Questa sostanza presentava, disciolta in H_2O in concentrazione 0,05 mol. $[\alpha]_D^{20} = -28,5$ ed in H_2SO_4 1n, $[\alpha]_D^{20} = -10,7$; era pertanto, costituita da l-cinurenina identica con il prodotto naturale.

Concentrando le acque madri alcooliche della cristallizzazione del canfosolfonato di d-l-cinurenina, si è separata una nuova frazione (gr. 0,5), costituita dal sale del l-isomero impuro; le ultime acque madri, portate a cristallizzazione, hanno lasciato gr. 0,7 di un canfosolfonato, che trasformato, come si è detto, in cinurenina, ha dato un aminoacido che in H_2O presentava $[\alpha]_D^{20} = -18,1$ ed in $H_2SO_4 = -6,3$, e che era costituito, con ogni verosimiglianza, da d-cinurenina impura per l'antipodo l-.

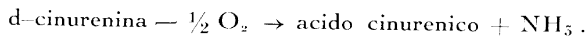
Azione della d-aminoacidodeidrasi sulla d-cinurenina. - Abbiamo usato estratti di d-aminoacidodeidrasi, preparati secondo Holtz e Buchsel [14] dal rene di montone, e dializzati per 24h a 0° contro tampone di fosfati 0,05 m a pH 7,4, corrente. L'attività degli

estratti si è provata su la d-l-alanina. Gli esperimenti si sono eseguiti con la tecnica manometrica, in grossi vasi di Warburg, muniti di diverticolo laterale e pozzetto centrale. In due vasi venivano introdotti, nello spazio centrale, 10 ml. di estratto e 1 ml. di KCN 0,02n, nel diverticolo mg. 50 di d-cinurenina (impura), disciolti in 1 ml. di H₂O; nel pozzetto 0,2 ml. di miscela di NaOH e KCN secondo Krebs [15]. Un terzo vaso conteneva il solo estratto, un quarto serviva da termobarometro. Riempiti di O₂ gli apparecchi, si sono tenuti in termostato (t = 38°) sino a stabilizzazione della pressione (10^m); poi si sono mescolate le soluzioni e si sono eseguite letture per 3^h. Si sono recuperati quantitativamente i liquidi, riunendo i due contenenti la cinurenina, si sono concentrati a piccolo volume, trattati con eccesso di alcool a 95 %, filtrati, lavando il precipitato, e il filtrato, evaporato sino a scaccia reghasi completamente l'alcool, si è precipitato l'acido cinurenico per acidificazione al rosso Congo, raccogliendolo su microfiltro di Pregl tarato ed essiccandolo nel vuoto su silicagel, sino a peso costante. Su di 1 ml. dei liquidi si era preventivamente determinata l'NH₃ secondo Krebs.

I risultati sono stati (detratti i valori della prova in bianco):

	mm ⁵ O ₂ consumati				mg NH ₃ prodotti
	1 ^a ora	2 ^a ora	3 ^a ora	totali	
I	270	170	100	540	0,90
II	240	160	120	520	0,81

Dalla due prove si sono isolati mg. 16,1 di acido cinurenico. Il bilancio, pertanto, corrisponde con sufficiente esattezza allo schema:



Azione della d-aminoacidodeidrase pura sulla d-cinurenina. I preparati sono stati ottenuti come è consigliato da Karrer e Frank [7]. L'esperimento è stato eseguito in un apparecchio di Warburg, contenente nello spazio centrale 2 ml. di soluzione di proteina B (secondo Warburg), 10 γ di adenin-allossiazin-dinucleotide in 0,5 ml. di di H₂O, 0,10 mg. di d-cinurenina in 0,5 ml. di tampone di fosfati 0,1 m a pH 8. Nel pozzetto centrale 0,2 ml. di KOH al 10 %.

Riempito l'apparecchio di O_2 , e stabilizzata la pressione in termostato a 38° , si sono eseguite letture ogni 30^m per 3^h .

mm5 O_2 consumati					
50m	60m	90m	120m	150m	180m
20	45	60	80	100	115

Terminato l'esperimento, il liquido si è centrifugato, concentrato a 0,5 ml., introdotto in tubetto da centrifuga e acidificato al rosso Congo. Dopo 12^h di permanenza a 0° , si è separata una piccola quantità di precipitato, che si è raccolto e lavato per centrifugazione, e che mostrava le proprietà dell'acido cinurenico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Riassunto in: KOTAKE, « *Ergebn. Physiol.* », 1935, 57, 245.
- [2] « *Naturwiss.* », 1940, 28, 63.
- [3] H. WIELAND e WITKOP, « *Liebigs Ann.* », 1940, 545, 171.
- [4] BUTENANDT, WEIDEL e BECKER, « *Naturwiss.* », 1940, 28, 447.
- [5] BECKER, « *Biol. Zbl.* », 1939, 59, 597; DANNEEL, *ibid.*, 1941, 61, 388.
- [6] « *Angew. Chem.* », 1941, 54, 89.
- [7] KARRER e FRANK, « *Helv. chim. Acta* », 1940, 23, 948.
- [8] WARBURG e CHRISTIAN, « *Bioch. Zeit.* », 1938, 298, 150.
- [9] NEGELEIN e BROMEL, « *Bioch. Zeit.* », 1939, 500, 225.
- [10] KOTAKE e IWAO, « *Zeit. physiol. Chem.* », 1931, 195, 139.
- [11] van SLYKE, « *Jour. biol. Chem.* », 1922, 51, 525.
- [12] ARNDT e EISTERT, « *Ber. dtische Chem. Ges.* », 1927, 60, 1366.
- [13] « *Organic Synthesis* », vol. 14, p. 59.
- [14] HOLTZ e BÜCHSEL, « *Zeit. physiol. Chem.* », 1942, 272, 201.
- [15] KREBS, « *Zeit. physiol. Chem.* », 1933, 217, 191; « *Biochem. Jour.* », 1935, 29, 1620.

RIASSUNTO

Discussa l'importanza della cinurenina come genormone negli insetti, si rileva il disaccordo tra composizione, spettro di assorbimento, costanti di dissociazione della sostanza naturale esaminata dagli AA., con i valori previsti dalla struttura assegnatale dal Kotake. Vien, quindi, dimostrata l'identità del composto con l'acido l(-) α amino β o amino-benzoilpropionico, ottenuto per sintesi condensando l'o-nitro fenacil-ftalimido malonico e riducendo l'acido α -amino β o nitro benzoil propionico formato con solfuro so-

dico. La cinurenina racemica così preparata è stata sdoppiata negli antipodi attraverso cristallizzazione frazionata del canfosulfonato.

Si è quindi dimostrato che la d-cinurenina è attaccata dalla d-aminoacidodeidrasi del rene di ratto, che, attraverso una desaminazione ossidativa, la muta in acido cinurenico, secondo lo schema seguente, convalidato dai bilanci:

cinurenina + $\frac{1}{2} O_2$ — NR₅ + ac. o-aminobenzoilpiruvico → ac. cinurenico.

E, con prove eseguite con d-aminoacidodeidrasi pura, ottenuta riunendo l'adenin-allosiazin-dinucleotide con la proteina B di Negelein e Brömel, si è ancora osservata formazione di acido cinurenico dalla d-cinurenina, il che rende verosimile pensare che la seconda fase del precedente schema non richieda la presenza di enzimi. Così che, infine, può ricostruirsi lo schema di formazione biologica dell'acido cinurenico dal triptofano → ossitriptofano → cinurenina → ac. o-aminobenzoilpiruvico → ac. cinurenico.

SULLA COSTITUZIONE CHIMICA ECC.

97858

Esempio di fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.

346709

100-1000

