

Biochemie der Pteridine

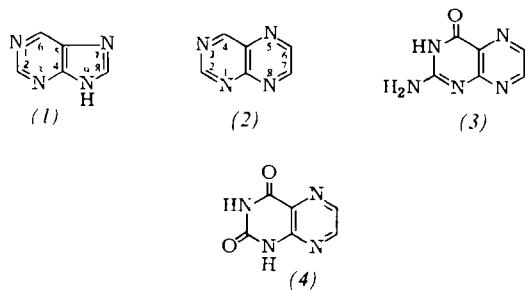
Von Heinz Rembold und William L. Gyure^[*]

Chemische Labilität und eine zumeist ungewöhnlich niedrige biologische Konzentration sind die Hauptgründe, warum die Biochemie der offenbar ubiquitären Pteridine erst im Verlauf der letzten fünfzehn Jahre experimentell zugänglich wurde. Neben schonenden Isolierungsmethoden brachte vor allem die Isotopentechnik Erkenntnisse über Biosynthese, Anabolismus und Katabolismus dieser Stoffklasse. Hydrierte Pterine sind Cofaktoren mehrerer mischfunktioneller Oxygenasen und sind am zellulären Elektronentransport beteiligt. Das physiologische Verhalten, das negative Redoxpotential und histoautoradiographische Daten sprechen für eine Reihe weiterer, bisher noch unbekannter katalytischer Funktionen der Pteridine im Zellstoffwechsel.

1. Einleitung

Bereits gegen Ende des letzten Jahrhunderts berichtete Hopkins^[1] über ein kristallines Pigment, das er aus Schmetterlingsflügeln erhalten hatte. Dieser zunächst nur wenig beachtete Befund wurde im Wielandschen Arbeitskreis wieder aufgegriffen, und es gelang Wieland und Schöpf, zunächst ein gelbes^[2] und wenig später ein weißes Pigment^[3] aus den Flügeln des Zitronenfalters bzw. des Kohlweißlings zu isolieren. Nach Überwindung großer experimenteller Schwierigkeiten konnte Purmann 1940 die Struktur der als Xanthopterin (35) und Leukopterin (37) bezeichneten Naturstoffe und auch die des Isoxanthopterins (38) aufklären^[4].

Für das bicyclische Grundgerüst dieser neuen Schmetterlingspigmente prägte Wieland den Namen „Pteridin“, während die Bezeichnung „Pterin“ ursprünglich als Sammelbezeichnung für alle Insektenpigmente gedacht war. Heute wird Pyrazino[2,3-*d*]pyrimidin als Pteridin (2) bezeichnet. Davon leiten sich die Grundkörper der natürlich vorkommenden Pteridin-Derivate ab; 2-Amino-4-oxodihydropteridin wird als Pterin (3), 2,4-Dioxotetrahydropteridin als Lumazin (4) bezeichnet.



In vielen Eigenschaften gleichen die Pteridine (2) den Purinen (1), wie sich schon aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit vermuten lässt. Beide Stoffklassen sind bei pH=7 schwerlöslich, besitzen charakteristische UV-Spektren,

bilden Metallchelate und schwerlösliche Quecksilber- und Silbersalze. Im Gegensatz zu den meisten Purinen fluoreszieren die oxidierten, aromatischen Pteridin-Derivate beim Bestrahlen mit UV-Licht intensiv blau bis rot. Dieses Verhalten erlaubt es, natürlich vorkommende Pteridine bereits in Chromatogrammen von Rohextrakten nachzuweisen, auch wenn sie nur in geringer Konzentration vorhanden sind.

Die Chemie der Pteridine wurde bereits zusammenfassend dargestellt^[5, 6]. Aus biochemischer Sicht ist die Bildung stabiler Dihydro- und Tetrahydro-Derivate unter Reduktion des Pyrazinrings von besonderer Bedeutung. Hydrierte Pterine sind sehr reaktionsfreudig und spielen sowohl als spezifische reduzierende Cofaktoren als auch im zellulären Elektronentransport eine Rolle. Ihre chemische Reaktionsfähigkeit erklärt aber auch die Schwierigkeiten beim Umgang mit hydrierten Pterin-Cofaktoren und lässt zudem verstehen, warum es erst in neuerer Zeit gelungen ist, das natürliche Vorkommen solcher Verbindungen zu beweisen und ihre biologische Funktion zu untersuchen. Schon die aromatischen Strukturen sind photolabil, und noch viel mehr gilt dies für die reduzierten Pteridine, welche außerdem häufig oxidativ abgebaut werden. So verlieren beispielsweise hydriertes Biopterin oder Neopterin ihre Dihydroxypropyl- bzw. Trihydroxypropylseitenkette zu etwa 75%, wenn man sie in neutraler wässriger Lösung und in Anwesenheit von Luftsauerstoff erhitzt^[7].

2. Isolierung

In fast allen bisher untersuchten tierischen und pflanzlichen Quellen wurden Pteridin-Derivate gefunden. Sie sind in mehreren Übersichten nach ihrem Vorkommen in Insekten^[8], Mikroorganismen^[9] oder Amphibien und Fischen^[10] zusammengefaßt. Normalerweise finden sich Pteridine nur spurenweise im biologischen Material. Biopterin (6b) kommt z. B. in Konzentrationen von weniger als 10 mg/kg vor; bei anderen Pteridinen sind die Konzentrationen oft noch wesentlich geringer. In Tabelle 1 soll dies am Beispiel der Honigbiene verdeutlicht werden.

Nur die Pteride, zu denen auch der im Wielandschen Laboratorium untersuchte Zitronenfalter und der Kohl-

[*] Prof. Dr. H. Rembold und Dr. W. L. Gyure
(American Cancer Society Postdoctoral Fellow) [**]
Max-Planck-Institut für Biochemie
8033 Martinsried

[**] jetzige Anschrift:
University Hospital, University of Washington, Seattle,
Wash. 98105 (USA)

Tabelle 1. In der Honigbiene, *Apis mellifica L.*, vorkommende Pteridine, angegeben in Mikrogramm pro Tier [11, 12]. Das mittlere Tiergewicht liegt bei 150–200 mg.

Pteridin	Puppe	Flugbiene
Biopterin (6b)	0.2	0.2
Neopterin (6a)	0.015	0.005
7-Hydroxylumazin (30)	0.25	0.4
Isoxanthopterin (38)	0.009	0.23
Pterin (3)	0.02	0
6-Pterincarbonsäure	0.013	0.01
Isoxanthopterincarbonsäure	0	0.004

weißling gehören, enthalten größere Pterinmengen. Xanthopterin (35), Isoxanthopterin (38) und Leukopterin (37) dienen dort zusammen mit anderen Verbindungen als Pigment. Abgesehen von noch einigen Ausnahmen bei Fischen und Amphibien fällt aber auf, daß die Pteridine in außerordentlich geringer Konzentration vorkommen. Ein Vergleich der Werte in Tabelle 1 zeigt, daß sie zur Reindarstellung manchmal mehr als 10⁹-fach angereichert werden müssen.

Für die Isolierung stehen mehrere Methoden zur Verfügung, deren Leistungsfähigkeit vor allem von der Löslichkeit und von der chemischen Stabilität der in Frage kommenden Pteridine abhängt (Tabelle 2). Leichter lösliche wie die 6-(Polyhydroxyalkyl)pterine [Biopterin (6b), Neopterin (6a), Sepiapterin (7b) u. ä.] lassen sich aus Trichloressigsäureextrakten isolieren. Diese sind weitgehend frei von Proteinen, und die labilen hydrierten Pteridine sind bei der sauren Extraktion stabil. Bei in Säure unlöslichen Pterinen (Isoxanthopterin, Leukopterin und den entsprechenden Lumazin-Derivaten) ist allerdings Vorsicht geboten. Oft bilden Pteridine Komplexe mit Proteinen, Peptiden und Nucleinsäuren^[13, 14]. Hier und auch bei den in Säure unlöslichen Pteridinen bieten basische Lösungen

mittler in Kombination mit basischem Aluminiumhydroxid^[15] Vorteile. Die Methode erfordert allerdings besondere Vorsicht bei den alkalilabilen reduzierten Pteridinen.

Wie sich die Struktur eines Tetrahydropterins je nach den angewendeten Isolierungsverfahren verändern kann, soll das folgende Beispiel veranschaulichen. Tetrahydronopterin (5) läßt sich am Kationenaustauscher Phosphocellulose adsorbieren und in Anwesenheit von Mercaptoäthanol durch verdünnte Ameisensäure wieder schonend in Freiheit setzen. Wenn man das Säuleneluat im Rotationsverdampfer einengt und auf der gleichen Säule rechromatographiert, werden bereits mit Wasser zwei Substanzzonen eluiert. Die Strukturanalyse ergab^[16], daß bei der schonenden Rückoxidation des Tetrahydronopterins neben Neopterin (6a) ein gelbes Pterin entstanden war, und zwar 6-(3-Hydroxypropionyl)-7,8-dihydropterin (7a). Wenn Tetrahydronopterin ohne Mercaptoäthanolzusatz chromatographiert wird, bildet sich dieses Dihydropterin auf der Säule.

Tabelle 2. Verfahren zur Isolierung und Identifizierung von Pteridinen aus biologischem Material.

1. Extraktion

Pteridin	Extraktionsmittel	Entfernung von Proteinen und Peptiden
säurelösliche Pteridine	Wasser oder 5% Trichloressigsäure	Trichloressigsäure [17]
alkalilösliche Pteridine	2 N NH ₄ OH	Al ₂ (SO ₄) ₃ /Ba(OH) ₂ [15]
labile hydrierte Pteridine	Wasser oder 5% Trichloressigsäure oder Sephadex [19]	Trichloressigsäure [18]
	2 N NH ₄ OH mit Mercaptoäthanol	Al ₂ (SO ₄) ₃ /Ba(OH) ₂ [15]

2. Anreicherung und Reinigung

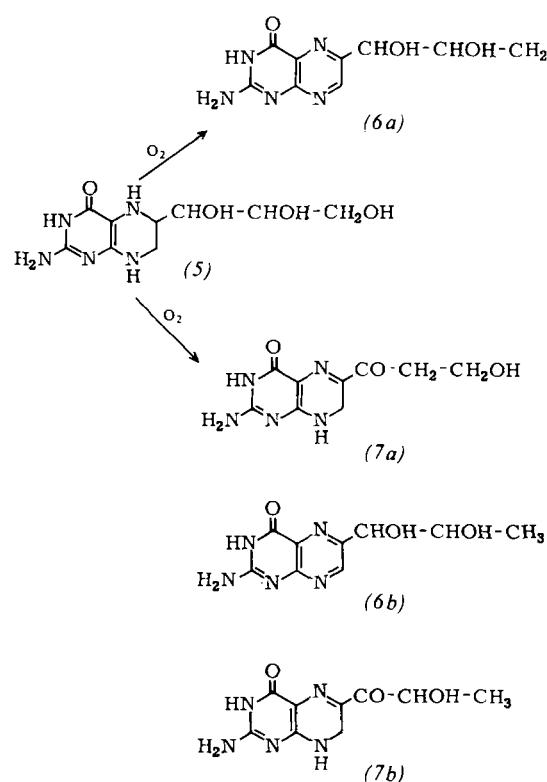
Säulenchromatographie (Dowex 1 und 50 [17]; Phosphocellulose [17]; Ecteolacellulose [17]; Cellulose [20]; Florisil [9]), Papierchromatographie [21], Dünnschichtchromatographie [22], Papierelektrophorese [23], Elektrophorese auf Celluloseacetat [24], Isoelektrische Fokussierung [25]

3. Identifizierung

UV-Absorptionsspektrum, Fluoreszenz-Emissionsspektrum, Chromatographisches Verhalten, Crithidia-Wachstumstest [26], Farbtests [15, 27], Enzymtests [28], Gaschromatographie [29, 30]

4. Quantitative Bestimmung

UV-Extinktionskoeffizienten, Fluoreszenzmessung auf dem Papier [31] oder in Lösung [32], Crithidia-Wachstum [26], Isotopenverdünnung [18], Farbtests [15, 27], Enzymtests [28], Gaschromatographie [29, 30]



In Tabelle 2 sind neben den Extraktionsmethoden auch Verfahren zur Reinigung, Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Pteridinen zusammengestellt. Als weitere Methoden bieten sich NMR- und Massenspektroskopie sowie die Elementaranalyse an. Wegen der oft geringen Löslichkeit und Flüchtigkeit vieler Pteridine sind diesen Identifizierungsverfahren aber enge Grenzen gesetzt. Nach Silylierung sind auch die sehr polaren Pteridine so flüchtig, daß eine gaschromatographische Auftrennung und anschließende massenspektroskopische Identifizierung gelingt^[29, 30].

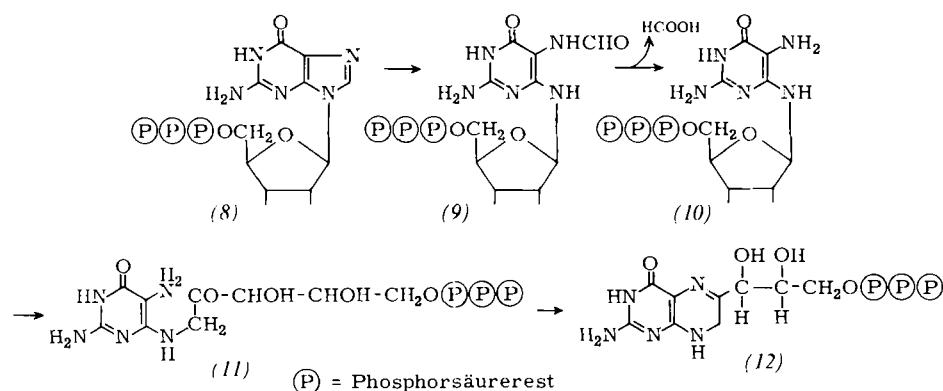
3. Stoffwechsel

3.1. Biosynthese des Pteridinrings

Wegen ihrer strukturellen Ähnlichkeit vermutete man schon bald, daß Purine und Pyrimidine Vorstufen bei der Pteridinbiosynthese sein könnten. Viele Untersuchungen zeigten, daß Purinvorstufen in der Tat von Bakterien, Pilzen, Amphibien und Insekten in den Pteridinring eingebaut werden^[33]. Der direkte Beweis für eine solche Umwandlung gelang *Brown* et al.^[34] durch die Isolierung des Enzyms GTP-Cyclohydrolase aus *Escherichia coli*. Dieses Enzym bewirkt die Umwandlung von Guanosin-5'-triphosphat (8) in *D-erythro*-7,8-Dihydronopterin-3'-triphosphat (12). Ein ähnliches Enzym wurde von *Shiota* aus *Lactobacillus plantarum* gewonnen.

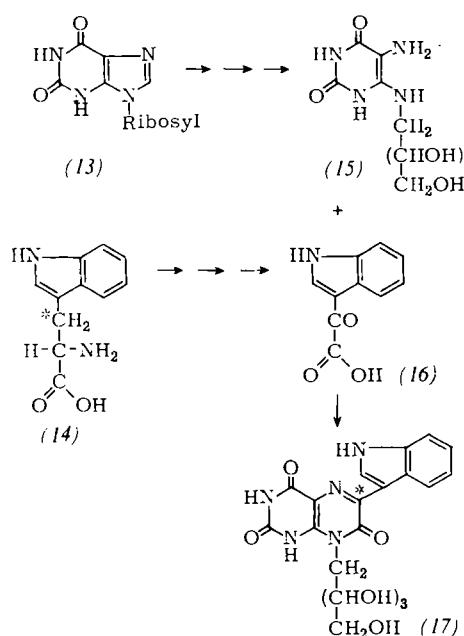
die Möglichkeit alternativer Biosynthesewege, die beispielsweise von einem Pyrazinring ausgehen könnten. Zu einem anderen Weg kommt *Takeda*^[35] für die Biosynthese von Indolyl- und Hydroxyphenylpteridinen in *Achromobacter petrophilum*. Auch hier dienen GTP (8) oder Xanthin-Derivate (13) als Pteridinvorstufen, zugleich wird aber auch die Radioaktivität von [3-¹⁴C]-Tryptophan in den Ring eingebaut. *Takeda* diskutiert den abgebildeten Biosyntheseweg zu (17)^[1].

Auch der Pterinstoffwechsel bei der Ratte läßt sich schwer aus dem Biosyntheseschema von *Brown* und *Shiota* erklären. Bei der Untersuchung möglicher Vorstufen fanden *Rembold* et al., daß die tägliche Biopterinausscheidung sehr konstant bei 30 µg liegt, auch wenn die Ratten über mehrere Generationen mit einer biopterinfreien Diät gefüttert werden^[36]. Dieses Ergebnis spricht für eine



Diese Reaktionsfolge wird durch eine Reihe weiterer experimenteller Daten gestützt, die *Shiota*^[33] und *Brown*^[34] in ihren Übersichten zur Folsäurebiosynthese diskutieren. Nach neueren Ergebnissen dürfte es aber noch nicht angebracht sein, den Brown-Shiota-Schenen Stoffwechselweg zu verallgemeinern. *Cone* und *Guroff*^[102] fanden bei *Comamonas* als Endprodukt der GTP-Umwandlung ein cyclisches Dihydronopterinphosphat. *Forrest*^[19] diskutiert zu Recht

Biopterinsynthese im Säuger, der ja Folsäure nicht zu bilden vermag. Verfüttert oder injiziert man Purinvorstufen (Formiat, Glycin) oder nach dem erwähnten Schema denkbare Pteridinvorstufen (Adenin, Guanin, Guanosin, Guanylsäure oder GTP), so werden diese nur spurenweise zur Biopterinsynthese verwendet. Der eingebaute Anteil läßt sich etwas vergrößern, wenn die Nucleinsäuresynthese durch gleichzeitige Injektion von Actinomycin D gehemmt und damit der Abfluß von Vorstufen in diesen Hauptweg gedrosselt wird^[37]. Die Radioaktivität von injiziertem Neopterin (6a) oder Tetrahydronopterin (5) ließ sich aber innerhalb von vier Tagen auch nicht spurenweise im von der Ratte ausgeschiedenen Biopterin (6b) nachweisen^[38]. Einen sehr geringen Einbau in Biopterin beschreibt auch *Fukushima*^[39], der in Kaulquappen von *Rana catesbeiana* radioaktiv markiertes Dihydronopterin oder dessen Triphosphat injizierte. Nach diesen Ergebnissen läßt sich Neopterin oder eines seiner Derivate nur schwer als Zwischenstufe der Biopterinsynthese postulieren.



3.2. Anabolismus

Nach der Synthese des Pteridinrings müssen meist viele weitere Zwischenstufen durchlaufen werden, um die vielen strukturell oft sehr verschiedenen Pteridine entstehen zu

[*] Anmerkung bei der Korrektur: (12. Okt. 1972):

6-(3-Indolyl)-7-oxo-8-(1-D-ribityl)lumazin (17) wurde auch aus *Pseudomonas ovalis* isoliert [113]. Dieser Befund spricht dafür, daß das Biosyntheseschema von *Takeda* auch bei *Pseudomonas* gilt und damit allgemeinere Bedeutung hat.

lassen, die man in der Natur findet. Die ersten Ergebnisse bei der Aufklärung solcher Stoffwechselsschritte beginnen sich erst abzuzeichnen. Die bis jetzt untersuchten Enzyme sind mit den von ihnen katalysierten Reaktionen in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Einige Enzyme, welche die Biosynthese von Pterinen katalysieren.

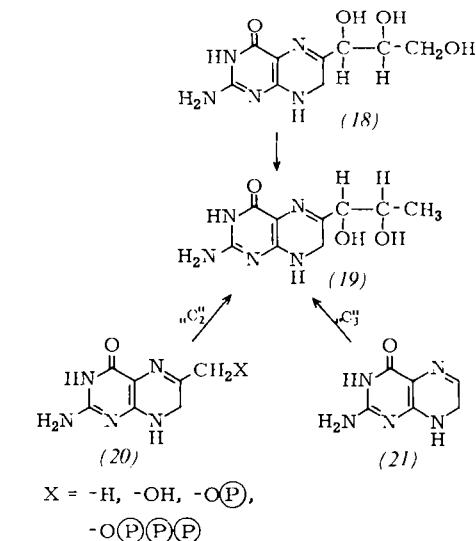
Reaktionstyp	Enzym (Quelle)	Substrat	Produkt
Biosynthese	GTP-Cyclohydrolase [41, 102] (<i>E. coli</i> , <i>Comamonas sp.</i>)	GTP	Dihydronopterin-triphosphat oder -cyclophosphat
	Dihydronopterin-triphosphat-Synthetase [48] (<i>L. plantarum</i>)	GTP	Dihydronopterin-triphosphat
Anabolismus, Folsäurebildung	Dihydronopterin-Aldolase [49] (<i>E. coli</i>)	Dihydronopterin	6-Hydroxymethyl-dihydronopterin
	Hydroxymethyldihydronopterin-Pyrophosphokinase [50, 51] (<i>E. coli</i> , <i>L. plantarum</i>)	6-Hydroxymethyldihydronopterin	6-Hydroxymethyl-dihydronopterinpyrophosphat
	Dihydropteroat-Synthetase [52] (Erbsenkeimlinge)	6-Hydroxymethyldihydronopterin	6-Hydroxymethyl-dihydronopterinpyrophosphat
	Dihydropteroat-Synthetase (<i>E. coli</i> [50], <i>L. plantarum</i> [91] Erbsenkeimlinge [52])	6-Hydroxymethyldihydronopterinpyrophosphat	Dihydropteroat
Erythropterinsynthese	Erythropterin-Synthetase [32] (<i>Oncopeltus fasciatus</i>)	Dihydroxyanthopterin	Erythropterin
Biopterin- und Sepiapterinsynthese	Sepiapterin-Reduktase [54, 98] (Pferdeleber, Rattengewebe)	Sepiapterin	Dihydrobiopterin
	Dihydrofolat-Reduktase [108]	Sepiapterin, Dihydrobiopterin	Reduziertes Sepiapterin, Tetrahydrobiopterin
Neopterinsynthese	Dihydropteroat-Reduktase [73, 114] (Schafleber, Rattenleber)	chinoides Dihydrobiopterin	Tetrahydrobiopterin
	cyclische Neopterinphosphat-Phosphodiesterase [111] <i>Comamonas</i>	cyclisches Neopterinphosphat	Neopterinphosphat

Trotz der positiven Ergebnisse mehrerer Arbeitsgruppen ist eine direkte Beziehung zwischen Neopterin (6a), das nach dem Brown-Shiota-Schen Biosyntheseweg als erstes Pterin entsteht, und den anderen in der Natur vorkommenden Pterinen noch nicht bewiesen, wenn man von den Zwischenstufen der Folsäurebiosynthese absieht. Die noch immer nicht geklärte Frage einer Beziehung zwischen Neopterin und Biopterin (6b) wurde bereits diskutiert.

In diesem Zusammenhang sind auch neuere Befunde von *Dayman* und *Guroff*^[111] über das Vorkommen einer Phosphodiesterase in *E. coli*, *Comamonas* und in der Ratte bemerkenswert, welche spezifisch cyclisches Neopterinphosphat in Neopterinphosphat spaltet. *Guroff*^[102] postuliert, daß bei dieser Hydrolyse die Neopterinseitenkette von der *D-erythro*- in die *L-threo*-Konfiguration umgelagert wird. Eine solche gekoppelte Reaktion würde auch erklären, warum weder *D-erythro*-Neopterin noch sein Phosphat als Biopterinvorstufen verwendet werden können.

Noch fundamentaler und völlig offen ist die Frage nach dem Ursprung der Kohlenstoffkette an C-6 des Pteridinrings. Es lassen sich drei Möglichkeiten diskutieren^[33]. Nach der ersten würden alle strukturellen Änderungen an der intakten Kette ablaufen, indem die Hydroxygruppen

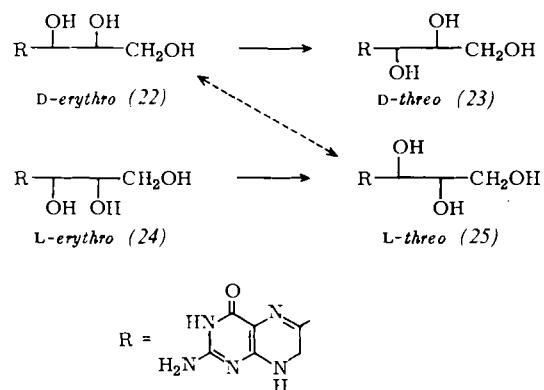
enzymatisch epimerisiert werden, wie auch von *Guroff* diskutiert wird. Entsprechend dieser Hypothese wäre 7,8-Dihydronopterin (18) oder einer seiner Phosphorsäureester die Muttersubstanz für die ganze Klasse der 6-(Polyhydroxyalkyl)pterine, zu denen auch das



etwas über die Synthese des 6-Methylpterins noch über die Herkunft der Kohlenstoffketten aus, welche an die Methylgruppe gehängt werden. Nach der dritten Hypothese schließlich soll die Kohlenstoffkette direkt mit dem Pteridinring (21) – im Falle des Biopterins also als C₃-Kette – verknüpft werden. Die drei Vorstellungen sollen am Beispiel des 7,8-Dihydrobiopterins (19) durch Formeln verdeutlicht werden.

Aus den bis jetzt vorliegenden Daten läßt sich nicht eindeutig zugunsten einer der aufgeführten Hypothesen entscheiden; möglicherweise hat sogar jeder dieser Wege eine Bedeutung für die Synthese spezieller Pteridine.

Nach dem Brown-Shiota-Schen Biosyntheseschema entsteht in *Escherichia coli* D-*erythro*-Neopterin als erstes Pteridin^[40, 41]. In mehreren Organismen wurde aber L-*threo*-Neopterin gefunden, vor allem auch als Hauptpterin in *Escherichia coli*^[42]. Brown^[43] konnte eine Epimeraseaktivität in diesem Bakterium nachweisen. Erste Ergebnisse, die allerdings einer weiteren experimentellen Bestätigung bedürfen, sprechen für eine Umwandlung der Konfiguration in der intakten Dihydronopterinseitenkette.



Dieses Schema folgt also der ersten oben diskutierten Möglichkeit, nämlich einer Epimerisierung der Hydroxygruppen in der intakten Pterinseitenkette.

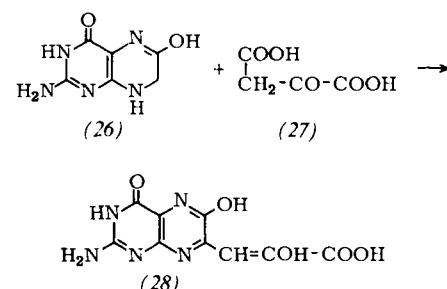
Die Eigenschaften der vier optischen Isomeren aus der Neopterin-^[44] und aus der Biopterinreihe^[45] sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Erwartungsgemäß lassen sich die *erythro*- leicht von den *threo*-Isomeren unterscheiden, während für die weitere Zuordnung eines unbekannten Isomeren der mikrobiologische *Crithidia*-Test nur in der

Tabelle 4. Eigenschaften der vier optischen Isomeren des Neopterins [44] und des Biopterins [45]. Die R_f-Werte sind gemessen in Isopropanol/5-proz. wässriger H₃BO₃-Lösung (4:1).

	R _f -Wert	Halboptimale Wuchsstoffkonz. [ng/ml Nährösung]	[α] _D ²⁵ [°]
Neopterin (6a)			
D- <i>erythro</i>	0.21	10	+45 ± 3
L- <i>erythro</i>	0.21	0.03	-44 ± 3
D- <i>threo</i>	0.12	10	-92 ± 3
L- <i>threo</i>	0.12	2	+97 ± 3
Biopterin (6b)			
D- <i>erythro</i>	0.30	0.7	+61
L- <i>erythro</i>	0.30	0.006	-62
D- <i>threo</i>	0.26	0.5	-94
L- <i>threo</i>	0.26	0.2	+95

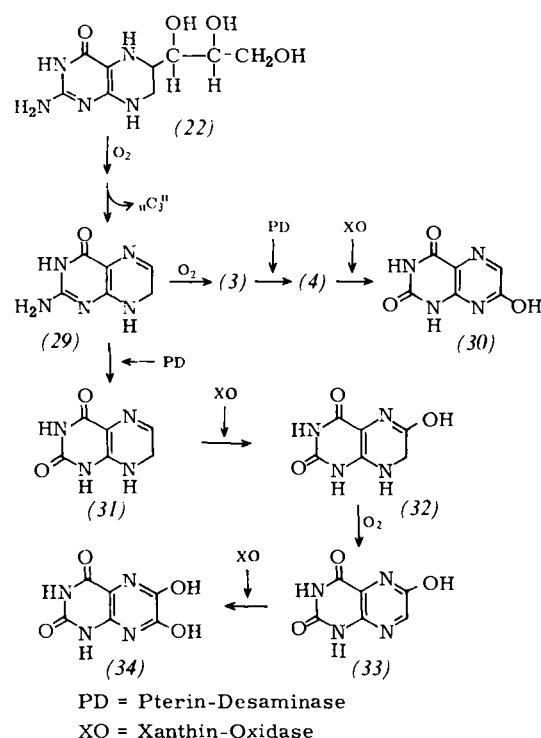
erythro-Reihe ausreicht. Im Falle der *threo*-Reihe muß dagegen stets der Drehwert bestimmt werden, eine Bedingung, welche nicht für alle als Naturstoffe beschriebenen 6-(Polyhydroxyalkyl)-pterine erfüllt wurde. Wegen ihrer ähnlichen Eigenschaften sollten auch bei Enzymtests möglichst alle vier optischen Isomeren auf ihre Cofaktoraktivität geprüft werden.

Eine direkte Angliederung der Kohlenstoffkette in Position 7 des Pteridinrings wurde am Beispiel des Erythropterins (28) gezeigt. In den Schmetterlingen *Colias eurytheme* und *Colias croceus* werden Xanthopterin (35) und noch leichter 7,8-Dihydroxanthopterin (26) direkt in Erythropterin (28) eingebaut^[46, 47]. Mit der gleichen Vorstufe fand Forrest^[32], daß in den Eiern von *Oncopeltus fasciatus* Oxalessigsäure (27) die Erythropterinseitenkette liefert.



3.3. Katabolismus

Wesentlich mehr Kenntnis als von ihrem Aufbau haben wir vom Abbau der Pteridine im Organismus. In einer Reihe von Untersuchungen haben Rembold et al. gezeigt, daß Tetrahydrobiopterin (42) und Tetrahydronopterin (22) sowohl in vitro – durch Rattenleberhomogenat^[7, 55, 56] – als auch in vivo – nach intraperitonealer Injektion bei der Ratte^[38] – in ähnlicher Weise abgebaut werden. Die Haupt-

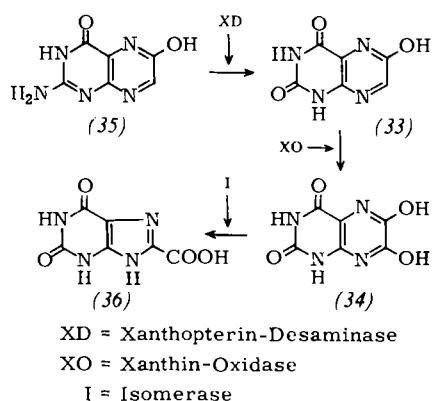


PD = Pterin-Desaminase
XO = Xanthin-Oxidase

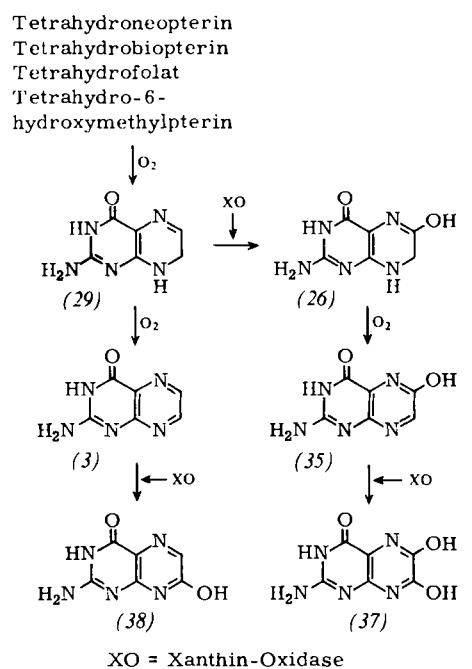
schrifte des zu einfachen Lumazinen führenden Stoffwechsels sind im Formelschema dargestellt.

Demnach wird die Polyhydroxyalkylkette in einer nicht-enzymatischen Reaktion oxidativ als Aldehyd abgespalten, und es entsteht als eigentliches Pteridinsubstrat für die folgenden enzymatischen Reaktionen 7,8-Dihydropterin (29). Dieses kann von Xanthin-Oxidase zum Dihydroxanthopterin (26) oxidiert werden^[57] oder einer hochspezifischen Pterin-Desaminase als Substrat dienen. Im letzteren Falle entsteht 7,8-Dihydroxolumazin (31) oder aus intermediär gebildetem Pterin (3) Lumazin (4). Beide können von Xanthin-Oxidase weiteroxidiert werden.

Levy und McNutt^[58, 59] studierten den Pteridinabbau in *Alcaligenes faecalis*. Ausgehend von den einfachen Pterinen Isoxanthopterin (38) und Xanthopterin (35) entstehen hier über eine Serie von Desaminierungen und Oxidationen ebenfalls die obigen Lumazin-Derivate. Der Mikroorganismus vermag aber noch in einem zusätzlichen Abbau schritt das 6,7-Dihydroxylumazin (34) in die isomere Xanthincarbonsäure (36) umzulagern. Der Pteridinring wird also in den Purinring umgewandelt.



Entsprechend den Reaktionen in der Lumazinreihe werden auch die am Ring hydroxylierten Pterine gebildet^[56].



Je nachdem, ob am Katabolismus eine Pterin-Desaminase beteiligt ist oder nicht, endet der Pterinabbau auf der Stufe einfacher Lumazine oder Pterine. Pterin (3) und Lumazin (4) sind gleichwertige Substrate für die Xanthin-Oxidase. Beide Pteridine werden vom Enzym an C-7 hydroxyliert^[60, 61]. Im Falle der 7,8-Dihydroverbindungen wird dagegen an C-6 oxidiert^[57].

Forrest et al.^[62] fanden in der Mutanten *ry*² von *Drosophila melanogaster*, welcher das Enzym Xanthin-Oxidase fehlt, nur Pterin (3), während der Wildstamm statt dessen Isoxanthopterin (38) enthält. Nach Injektion von radioaktivem Pterin in Puppen des Schmetterlings *Colias croceus* wies *Descimon*^[64] radioaktives Isoxanthopterin nach, während nach entsprechender Injektion von Tetrahydropterin Xanthopterin (35) und Leukopterin (37) gebildet wurde. Harmsen^[65] züchtete Schmetterlingspuppen von *Mylothris chloris* bei verschiedenen Sauerstoff-Partialdrücken und fand, daß bei niedrigem Sauerstoffdruck, also unter reduzierenden Bedingungen, im erwachsenen Schmetterling mehr Xanthopterin (35) und andere 6-substituierte Pterine gebildet werden, während bei hohem Sauerstoffdruck die Entstehung von 7-substituierten Pterinen begünstigt ist. Dustmann^[63] konnte bei der Honigbiene in den Drohnen 6-Hydroxylumazin (33) und 6,7-Dihydroxylumazin (34) nachweisen, während nach Rembold und Buschmann^[12] in der Arbeiterin 7-Hydroxylumazin (30) akkumuliert wird (vgl. Tabelle 1). Die Drohnen bauen die Pteridine offenbar über 7,8-Dihydroxylumazin, die Arbeiterinnen über Lumazin zum Endprodukt ab.

Nach diesen Befunden stellt sich die Frage, ob die einfachen oxidierten Pterine und Lumazine tatsächlich katabolische Endprodukte sind oder ob sie im Körper noch weiter abgebaut werden. Diese Frage haben Gyure und Corrigan^[15] bei mehreren Insekten untersucht. Beim Seidenspinner *Bombyx mori* wird Isoxanthopterin (38) in Homogenaten von einer hochspezifischen Isoxanthopterin-Desaminase in 7-Hydroxylumazin (30) umgewandelt, welches nicht weiter abgebaut wird. Synthetisches 6-Hydroxylumazin (33) wurde im Homogenat durch Xanthin-Oxidase in 6,7-Dihydroxylumazin (34) umgewandelt, welches stoffwechselstabil war.

Zu den gleichen Ergebnissen kamen die Autoren mit der Schabe *Periplaneta americana* und den Seidenmotten *Hyalophora cecropia* und *Rothschildia orizaba*. In der Schabe *Brysonia fumigata* und in der Feuerwanze *Pyrrochoris apterus* laufen die gleichen oder doch ähnlichen Reaktionen ab; die Insekten enthalten aber auch eine Pterin-Desaminase, deren Aktivität etwa so hoch wie bei der Ratte ist. Auch in Homogenaten dieser fünf Insekten wurde das gebildete 7-Hydroxylumazin nicht weiter verändert. Da es auch normalerweise in *Bombyx mori*, *Hyalophora cecropia*, *Rothschildia orizaba* und *Pyrrochoris apterus* vorkommt, ist 7-Hydroxylumazin in diesen Organismen höchstwahrscheinlich ein Stoffwechselendprodukt.

Homogenate aus den relativ pterinreichen Schmetterlingen *Pieris rapae* und *Colias eurytheme* bauen weder Isoxanthopterin und Leukopterin noch 7-Hydroxylumazin und 6,7-Dihydroxylumazin weiter ab. Da eine Pterin-Desaminase fehlt, sind hier Isoxanthopterin und Leukopterin offensichtlich Endprodukte des Pteridinabbaus. Diese Da-

ten zeigen, daß unter den bisher untersuchten Organismen nur das Bakterium *Alcaligenes* Pteridine vollständig abbaut, während bei der Ratte und bei den beschriebenen Insekten der Stoffwechsel auf der Stufe einfacher Pteridine endet.

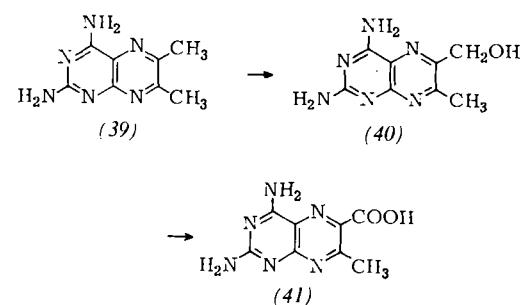
Tabelle 5. Vergleich der Eigenschaften von Pterin-Desaminasen.

Eigenschaften	<i>A.-Faecalis</i> -Pterin-Desaminase [66]	Rattenleber-Pterin-Desaminase [55]	<i>P.-americana</i> -Ixoanthopterin-Desaminase [15]	<i>B.-mori</i> -Ixoanthopterin-Desaminase [15]	<i>B.-mori</i> -Sepiaapterin-Desaminase [53.67]
pH-Optimum	6.3 6.7	6.5	6.6	6.6	8.0
Stabilität	Instabil bei pH = 7 und 0°C. Stabil bei pH = 9 und 0°C	Instabil bei pH = 6.5 und 4°C. Aktivität nimmt in 5 Tagen um 50% ab	Instabil bei pH = 7 und 0°C.	Instabil bei pH = 7 und 0°C. Aktivität nimmt in 7 Tagen um 50% ab.	Stabil
K_M		3×10^{-5} mol/l		1.2×10^{-5} mol/l	5.9×10^{-4} mol/l
Spezifität	Pterin und alle 6-substituierten Derivate	Tetrahydropterin > Pterin > Isoxanthopterin	Ixoanthopterin	Ixoanthopterin	Sepiaapterin und Isosepiaapterin
Inhibitoren	<i>p</i> -Chlor-quecksilberbenzoat, NaF	KCN, Lumazin, Azaguanin	KCN, KF, Xanthopterin, Azaguanin	KCN, KF, Guanin, Xanthopterin	Xanthopterin, Pterin, Biopterin

Die in Tabelle 5 zusammengestellten Pterin-Desaminasen sind sich - mit Ausnahme der Sepiapterin-Desaminase - in ihren Eigenschaften sehr ähnlich. Ein Vergleich mit Guanase zeigt, daß auch hier manche Gemeinsamkeiten bestehen; Guanase hat das gleiche pH-Optimum wie die Pterin-Desaminasen, sie wirkt ebenfalls irreversibel und wird auch durch Xanthopterin gehemmt. Diese Eigenschaften legen die gleiche Wirkungsweise beider Enzyme nahe.

Demgegenüber unterscheidet sich die Sepiapterin-Desaminase aus dem Seidenspinner deutlich, wobei man aber nicht übersehen darf, daß ihr Substrat ein 7,8-Dihydropteroxin ist, während die anderen aufgeführten Enzyme normalerweise die unhydrierten Pterine umsetzen. Ausnahmen sind die Enzyme aus Rattenleber^[55] und aus *Drosophila*^[15], welche sowohl hydriertes als auch unhydriertes Pterin desaminieren. Purin- und Pteridin-Desaminasen haben eine weitaus höhere Substratspezifität als Xanthin-Oxidase. Guanase und Uricase aus Bakterien, Pilzen, Insekten und Säugern desaminierten keines der untersuchten Pterine, wie auch umgekehrt keines der Purine von den Pterin-Desaminasen hydrolysiert wurde^[15].

Eine Anzahl synthetischer Pteridine hat diuretische Wirkung. Eder und Rembold^[68, 69] fanden, daß 2,4-Diamino-6,7-dimethylpteridin (39) nach intraperitonealer Injektion von der Ratte sehr schnell inaktiviert wird, indem die 6-Methylgruppe über das Hydroxymethyl-Derivat (40) zur Carbonsäure (41) oxidiert wird.

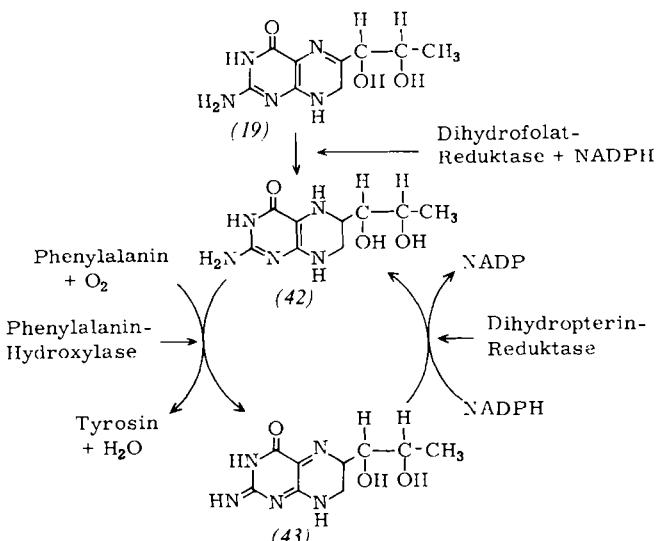


Während das erste Oxidationsprodukt (40) noch schwach diuretisch wirkt, ist die Carbonsäure (41) pharmakologisch inaktiv. Diese enzymatische Reaktion liefert ein weiteres Beispiel für die biologische Bedeutung des Substituenten an C-6 des Pteridinrings. In diesem Zusammenhang

sei darauf hingewiesen, daß beim Biopterin die Verschiebung der Dihydroxypropylseitenkette von C-6 nach C-7 zum Verlust der Wuchsstoffwirkung bei *Crithidia fasciculata* führt^[70].

4. Cofaktorfunktionen

Hydrierte Pterine aktivieren eine Reihe von Oxygenase-Reaktionen. Durch den Nachweis, daß reduziertes Biopterin der natürliche Cofaktor der Phenylalanin-Hydroxylase^[103] ist, konnte Kaufman^[71] erstmals die katalytische



Wirkung eines unkonjuguierten Pterins im Stoffwechselgeschehen zeigen. Das reduzierte Pterin übt seine Funktion aus, indem es von seiner inaktiven 7,8-Dihydro- (19) in die Tetrahydroform (42) und von dort unter Abgabe von 2 Reduktionsäquivalenten in eine *p*-chinoide Dihydrostruktur (43) übergeht^[72]. Aus dieser wird das Tetra-

hydropterin durch eine NADPH-abhängige Dihydropterin-Reduktase regeneriert.

Es wurde gezeigt, daß das Pterin für die Hydroxylierungsreaktion spezifisch ist – andere Reduktionsmittel wie Ascorbinsäure, Glutathion, Fe^{2+} können das reduzierte Pterin nicht ersetzen –, daß es katalytisch wirkt – Tetrahydrobiopterin katalysiert in Gegenwart eines regenerierenden Systems die Oxidation größerer Substratmengen – und daß das Pterin in stöchiometrischen Mengen verbraucht wird, wobei der Verbrauch vom Substrat und vom Enzym abhängt^[73]. In einer näheren Prüfung der Cofaktorspezifität fanden *Osanai* und *Rembold*^[74], daß von den vier isomeren Verbindungen (42) L-*erythro*-Tetrahydrobiopterin die bei weitem beste Cofaktorfunktion im System der Rattenleber-Phenylalanin-Hydroxylase ausübt.

Auch die Phenylalanin-Hydroxylase aus *Pseudomonas* wird von reduzierten Pterinen aktiviert^[75]. Die Struktur des natürlichen Cofaktors ist noch nicht bekannt, man weiß aber, daß der Mikroorganismus den Pteridinring und den natürlichen Cofaktor in ausreichender Menge *de novo* synthetisieren kann^[76]. Nach Extraktion wurden L-*threo*-Neopterin als Hauptpterin sowie 6-Pterincarbonsäure, Pterin und Xanthopterin identifiziert; Biopterin wurde dagegen nicht gefunden. Im *Pseudomonas*-System ist reduziertes Neopterin ebenso wirksam wie Tetrahydrobiopterin; ersteres ist deshalb wahrscheinlich der natürliche Cofaktor.

Tyrosin-Hydroxylase wurde aus Rinder-Nebennierenmark hoch angereichert^[77]. Auch bei diesem Enzym scheint Tetrahydrobiopterin (42) der natürliche Cofaktor zu sein^[110]. Für alle anderen Oxygenase-Systeme, bei denen hydrierte Pterine aktivieren, wurde der natürliche Cofaktor nicht identifiziert oder es wurde nicht bewiesen, daß er ein Pteridin ist. Zumindest bei einem Enzym ist aber bekannt, daß es reduzierte Pterine spezifisch, katalytisch und auch stöchiometrisch umsetzt. Das aus Rattenleberpräparationen gewonnene Enzym katalysiert die Umwandlung langkettiger Glycerinäther in Fettsäuren und Glycerin^[78].

In Tabelle 6 sind noch andere, weniger gut charakterisierte Reaktionen zusammengefaßt, die alle eine signifikante Aktivierung durch reduzierte Pterine zeigen. Die angebliche Pterinabhängigkeit muß aber hier noch weiter gesichert werden, nachdem bekannt ist, daß reduzierte Pterine eine Enzymreaktion auch schon dadurch stimulieren können, daß sie das Enzym vor Inaktivierung schützen^[79].

Tabelle 6. Bisher beschriebene Enzymreaktionen, an welchen Pteridincofaktoren beteiligt sein sollen.

Enzym	Reaktion	Lit.
Tryptophan-5-Hydroxylase	Tryptophan zu 5-Hydroxytryptophan	[84, 115]
Zimtsäure-Hydroxylase	Zimtsäure zu p-Cumarsäure	[85]
Anthraniolsäure-Hydroxylase	Anthraniolsäure zu Hydroxyanthraniolsäure	[86]
Progesteron-17-Hydroxylase	Progesteron zu 17 α -Hydroxyprogesteron	[87]
Prolin-Hydroxylase	Prolin zu Hydroxyprolin	[88]
Prostaglandin-Synthetase	Prostaglandinbiosynthese	[89]
Pseudomonas-Aikoalohol-dehydrogenase	Äthanol zu Acetaldehyd	[90]

Da hydrierte Pteridine sehr starke Reduktionsmittel sind, überraschte der Befund nicht, daß Tetrahydropterine in Anwesenheit von Fe^{2+} aromatische Aminosäuren auch ohne Enzyme hydroxylieren^[80, 81, 112]. Man sollte also eine solche rein chemische Reaktion bei der Prüfung der in Tabelle 6 aufgeführten enzymatischen Reaktionen im Auge behalten. *Hanser* und *Rembold* fanden aber bei histoautoradiographischer Untersuchung der Ratte^[37] und der Honigbiene^[82], daß sich die Radioaktivität des injizierten Biopterins und Neopterins vor allem in den stoffwechselaktiven Organen – bei der Biene im Fettkörper und zur Zeit der Sklerotisierung in der Cuticula, bei der Ratte in der Leber und im Zentralnervensystem – anreichert. Gerade dort aber werden auch die Pterincofaktoren für die Tyrosin-Hydroxylase, Phenylalanin-Hydroxylase und für die Alkyläther-Hydroxylase benötigt. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen *Kokolis* und *Ziegler*^[83], die nachwiesen, daß im regenerierenden Schwanzstück von *Triturus cristatus* Tetrahydrobiopterin (42) in erhöhter Konzentration vorkommt.

5. Hydrierte Pterine beim zellulären Elektronentransport

Neben vielen anderen Hinweisen spricht vor allem das Redoxverhalten für eine Beteiligung der Pterine am zellulären Elektronentransport^[91]. Die polarographischen Halbstufenpotentiale der nicht reduzierten Verbindungen sind denen der Pyridinnucleotide ähnlich^[92]. Das Standard-Redoxpotential von 6,7-Dimethyltetrahydropterin liegt bei +150 mV^[93] und damit im Bereich der Cytochrome (Tabelle 7). EPR-Messungen zeigten die Möglichkeit,

Tabelle 7. Standard-Redoxpotentiale E'_0 von Komponenten der Atmungskette und von 6,7-Dimethyltetrahydropterin (DMTH).

Verbindung	E'_0 [V]
Cytochrom a/a ₃	+0.29
Cytochrom c	+0.25
Cytochrom c ₁	+0.23
DMTH	+0.15
Cytochrom b	+0.04
Flavoproteine	-0.05

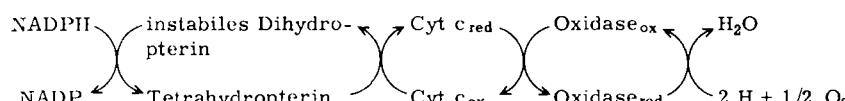
daß dieses Tetrahydropterin unter physiologischen Bedingungen ein Radikalkation bilden kann^[94].

Wenn sich auch mit diesem Befund noch nicht beweisen läßt, daß ein Pterinradikal der primäre Elektronenacceptor bei der Photosynthese ist, so stützt er doch eine von *Fuller* und *Nugent*^[95] aufgestellte Hypothese. Danach soll ein Trihydropterin-Radikalkation in der Lichtreaktion ein Elektron aufnehmen und in Tetrahydropterin übergehen, das dann Ferredoxin reduziert. Da aber die Standard-Redoxpotentiale für Tetrahydropterin (+0.15 V) und für Ferredoxin (-0.42 V) für einen entgegengesetzten Elektronenübergang sprechen, nämlich daß in der Pflanze Dihydropterin durch Ferredoxin reduziert wird, muß man noch weitere Ergebnisse abwarten.

Auch die Frage, ob überhaupt Pterine in den Chloroplasten vorkommen, ist noch nicht eindeutig beantwortet. Möglicherweise handelt es sich bei den bisher aus Pflanzen isolierten einfachen Verbindungen nur um Zwischenprodukte des Folsäure- und Riboflavinstoffwechsels.

Wesentlich klarer liegen die Dinge im Falle der Mitochondrien, in denen durch Isotopenverdünnung eine signifikante Menge Tetrahydrobiopterin (42) nachgewiesen wurde^[18]. Hydrierte Pterine stimulieren in der Tat die mitochondriale Atmung schon in physiologischen Konzentrationen. Der Sauerstoffverbrauch nimmt linear mit der Tetrahydropterinkonzentration zu und erreicht ein Plateau bei einer Konzentration, die etwa fünfzehnmal höher als die physiologische liegt.

Tieftemperatur-Differenzspektren zeigen, daß in der Atmungskette nur die Cytochrome c und a/a₃ reduziert werden, daß die Elektronen also nicht von dem ausgrund seines Redoxpotentials (Tabelle 7) ebenfalls in Frage kommenden Cytochrom c₁ aufgenommen werden. Bemerkenswert ist, daß diese Atmung ohne ATP-Bildung abläuft; die Elektronen müssen also von Cytochrome c direkt auf seine Oxidase übertragen werden^[19]. Es gelang, ein lösliches Elektronentransportsystem aufzubauen (Schema 1).



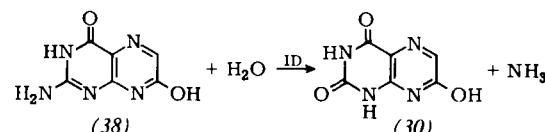
Schema 1

Für eine optimale Oxidation des reduzierten Pyridinucleotids ist jeder Bestandteil des Systems essentiell. Das Tetrahydropterin kann auch nichtenzymatisch aus einer instabilen (radikalischen?) Stufe durch NADPH regeneriert werden. Das System reduziert ein Mehrfaches an Sauerstoff als dem eingesetzten Tetrahydropterin entspricht; letzteres hat also in diesem Modellsystem eindeutig eine katalytische Wirkung^[16, 96]. Welches Gewicht Tetrahydrobiopterin (42) als Cofaktor im Elektronentransport der Zelle hat, werden weitere Untersuchungen klären müssen.

6. Physiologische Aspekte

Ein im Körper gebildetes Pteridin wird entweder gleich am Ort seiner Synthese verwendet oder in andere Organe transportiert, wo es dann als Cofaktor dienen oder für eine spätere Verwendung deponiert werden kann. Die Vorgänge bei Transport und Ablagerung sind noch weitgehend unbekannt. Untersuchungen von Gyure^[15] beim Seidenspinner *Bombyx mori* geben aber doch zumindest für das Beispiel der Insekten erste Einblicke in allgemeine physiologische Eigenschaften der Pteridine. Die Ergebnisse sollen deshalb im folgenden etwas eingehender betrachtet werden.

7-Hydroxylumazin (30) kommt in den Eiern von *Bombyx mori* nur in Spuren vor, die wahrscheinlich noch aus dem mütterlichen Organismus stammen. Mit dem Schlüpfen der Raupe steigt die Aktivität der Isoxanthopterin-Desaminase stark an, also des Enzyms, welches Isoxanthopterin (38) in 7-Hydroxylumazin (30) umwandelt.



ID = Isoxanthopterin-Desaminase

Parallel zur Desaminaseaktivität findet man 7-Hydroxylumazin während der gesamten Larvenentwicklung, und zwar hauptsächlich in der Haut. Nach Tsujita und Sakurai^[97] sind dort Pteridine und Purine an spezifische Proteine gebunden und in den Pteridingranula abgelagert. Die Autoren wiesen spezifische Komplexe aus Protein und Harnsäure, Sepiapterin (7b) oder Isoxanthopterin (38) nach. Noch unklar ist, ob desaminiertes Sepiapterin und 7-Hydroxylumazin, die beide ebenfalls in *Bombyx* vorkommen, einen eigenen Träger besitzen, oder ob sie sich an das gleiche Protein binden, welches ihre Vorstufe enthält. Da die Desaminase ebenfalls im Integument vorkommt, wird 7-Hydroxylumazin offensichtlich am Bildungsraum abgelagert.

Zu Beginn der Spinnphase und damit beim Übergang vom Larven- zum Puppenstadium verliert die Haut ihre milchig-trübe Farbe. Sie wird hell und durchsichtig, weil sich

jetzt die Membranen der Pteridingranula auflösen und die Pteridine in das Cytoplasma und in die Hämolymphe entlassen werden. Daß das schwerlösliche 7-Hydroxylumazin in der Hämolymphe so rasch und in relativ großer Menge aufgenommen wird, läßt sich wahrscheinlich wieder mit der Bildung eines löslichen Protein-Pteridin-Komplexes erklären. Mit der Ausbildung der Puppe geht die Konzentration des 7-Hydroxylumazins in der Hämolymphe rasch zurück; ein Teil wird ausgeschieden, der Rest im Fettkörper abgelagert.

Daß das Pteridin nicht etwa dort gebildet, sondern tatsächlich hintransportiert wird, beweist das Verhalten der Isoxanthopterin-Desaminaseaktivität. Sie geht mit der Resorption der Pteridingranula in der Haut völlig zurück, ohne daß sie sich zu irgendeinem Zeitpunkt der Bombyxentwicklung im Fettkörper nachweisen ließe. 7-Hydroxylumazin findet sich nur in der ersten Hälfte der Puppenentwicklung im Fettkörper, verschwindet dann wieder vollständig aus diesem Organ und sammelt sich im Schlupfsekret an. Mit ihm gibt dann der ausschlüpfende Schmetterling auch einen großen Teil des 7-Hydroxylumazins ab, während ein Rest über die ganze imaginalen Lebenszeit in der peritrophischen Membran des Darms verbleibt. Schon während der letzten Tage der Imaginalentwicklung setzt im weiblichen Falter in Haut und Flügeln abrupt eine Neusynthese von 7-Hydroxylumazin ein, begleitet von einem Aktivitätsanstieg der Isoxanthopterin-Desaminase. Bemerkenswerterweise fehlt dieser Effekt, wahrscheinlich aus genetischen Gründen, beim Seidenspinnermännchen völlig.

Ähnliche Abläufe wie bei *Bombyx* wurden auch bei anderen Insekten, bei Fischen und bei Amphibien beobachtet. So hat *Hama*^[10] die Pteridingranula von Fischen, Reptilien und Amphibien beschrieben. *Obika*^[99] isolierte Pterinosomen aus niederen Vertebraten und fand, daß hier etwa 60% aller Pterine an Zellpartikel gebunden sind. In den wild lebenden Seidenspinnern *Hyalophora cecropia* und *Rothschildia orizaba* verhalten sich Aktivität der Isoxanthopterin-Desaminase und Vorkommen des 7-Hydroxylumazins ganz ähnlich wie bei *Bombyx mori*^[15]. Auch bei der Honigbiene fanden *Hanser* und *Rembold*^[82, 100], daß ein großer Teil der Radioaktivität nach Verabreichung von markiertem Biopterin im Bereich des Mittel- und Endarms auftritt.

Zu erwähnen sind ferner die Untersuchungen von *Harmsen*^[101] am Kohlweißling *Pieris brassicae*. Während der Larven- und frühen Puppenstadien verhalten sich seine Pterine ziemlich ähnlich wie beim Seidenspinner. Mit der Ausbildung des erwachsenen Schmetterlings werden dann aber bereits in der Puppe Pterine in großen Mengen gebildet. Wie schon eingangs erwähnt, unterscheiden sich die Pieriden darin von den anderen Schmetterlingen. So ist z. B. die Isoxanthopterin-Konzentration im Kohlweißling etwa dreißigmal höher als im Seidenspinner. *Ziegler* und *Harmsen*^[8] nehmen an, daß die großen Pterinmengen in den Flügeln des Kohlweißlings zum Teil aus dem Fettkörper, zum Teil aber auch aus einer Neusynthese stammen. Ergebnisse, die *Watt*^[46] mit *Colias erythème*, einem anderen Pieriden, erhielt, scheinen diese Theorie zu stützen. Er fand bei der Inkubation noch nicht voll entwickelter Flügel dieses Schmetterlings mit Guaninvorstufen einen Einbau der Radioaktivität in die Flügelpterine. *Descimon*^[47] konnte jedoch 6-Hydroxymethylpterin, das er in Puppen von *Colias croceus* injiziert hatte, wieder aus Flügeln isolieren; da es dort normalerweise nicht vorkommt, muß es von der Injektionsstelle in die wachsenden Flügel transportiert worden sein. Mit Isoxanthopterin beobachtete *Lafont*^[109] bei *Pieris brassicae*, daß das in die Puppe injizierte Pterin zuerst in ihrem Fettkörper und mit fortschreitender Entwicklung des erwachsenen Falters in seinen Flügeln, im Schlupfsekret und in den Eiern auftritt. Alle diese Befunde zeigen, daß im Schmetterlingsflügel unabhängig voneinander Neusynthese und Ablagerung als Folge eines gerichteten Transports ablaufen.

7. Ausblick

Nach den bisher vorliegenden Befunden scheinen Purine generell als biogenetische Vorstufen des Pteridinrings verwendet zu werden. Eine spezifische GTP-Cyclohydrolase konnte aber bisher nur aus Mikroorganismen angereichert werden, und auch hier besteht noch keine Klarheit über den Verlauf der enzymatischen Reaktion. Das erste faßbare Produkt bei der Purin-Pterin-Umwandlung ist beim E.-coli-Enzym^[41] D-*erythro*-7,8-Dihydronoopterintriphosphat (12), beim Comamonas-Enzym^[102] dagegen cyclisches D-*erythro*-7,8-Dihydro-neopterin-2',3'-monophosphat. Das Beispiel des Indolyl-Derivats (17) zeigt aber, daß sich das Schema der Purin-Pterin-Umwandlung noch nicht einmal für die Mikroorganismen verallgemeinern läßt.

In noch stärkerem Maße gilt dieser Vorbehalt für die höheren Organismen, die offenbar bis herauf zum Säuger den Pteridinring de novo synthetisieren können. Hier wurde noch in keinem Falle ein Enzym der Pteridinbiosynthese angereichert. Man kann aber damit rechnen, daß speziell im Falle der in Tabelle 3 aufgeführten anabolischen Enzyme bald weitere Ergebnisse folgen.

Demgegenüber liegen die Verhältnisse beim Katabolismus der Pteridine wesentlich klarer, nachdem die Funktion der Xanthin-Oxidase und der spezifischen Pterin-Desaminasen bekannt ist. Offen ist noch die Frage, ob die Pterinseitenkette auch im Organismus nichtenzymatisch abgespalten wird oder ob hier ein spezifisches Enzym beteiligt ist, welches dann auch die Cofaktorkonzentration kontrollieren könnte.

Pteridine wurden noch in keinem Fall als Bausteine in hochmolekularem Material gefunden. Ihre primäre Funktion scheint vielmehr die von Redoxkatalysatoren zu sein, die bei spezifischen Reaktionen an das Wasserstoffpotential der Pyridinnucleotide gekoppelt sind. Bei der Synthese von Vorstufen des Adrenalins (Tyrosin, DOPA) und des Serotonin (5-Hydroxytryptophan) liegt ihre Bedeutung auf der Hand, und man darf gespannt sein, ob die anderen in Tabelle 6 aufgeführten Enzyme ähnliche Funktionen ausüben.

Der Nachweis, daß die mitochondriale Atmung durch Tetrahydropterine schon in physiologischen Konzentra-

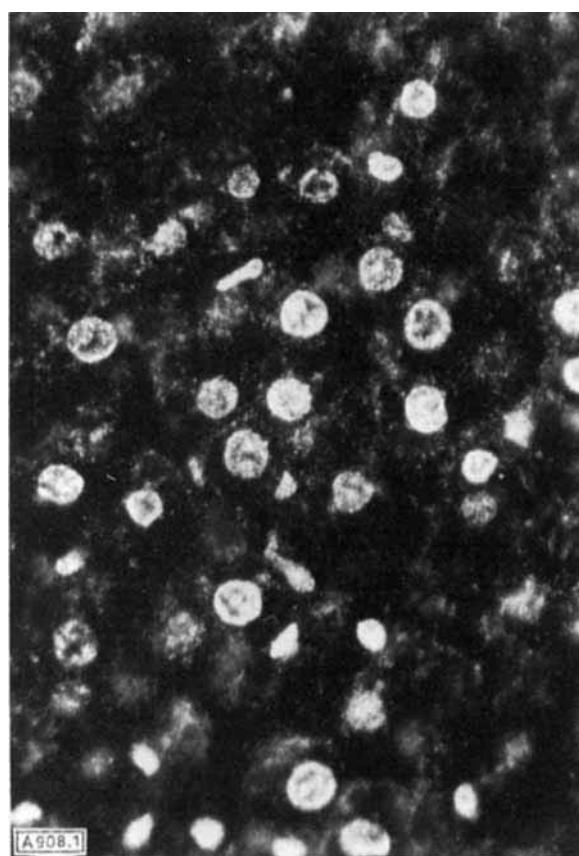


Abb. 1. Histoautoradiographie des Leberschnitts aus einer Ratte, der 24 Stunden vorher wenige Mikrogramm [2-¹⁴C]-Tetrahydrobiopterin injiziert worden waren. Im Auflicht zeigen die hell leuchtenden Flecken die über den Kernen liegenden Silberkörner an und damit die Fixierung der Radioaktivität in der Zelle. (Aufnahme Dr. G. Hanser.)

tionen aktiviert wird, legt gezielte Untersuchungen über die Bedeutung der Pteridine für den Elektronentransport der Zelle nahe. Einerseits muß schon aufgrund der geringen Konzentration ihre Wirkung auf ganz spezielle, regulierende Schritte beschränkt sein, andererseits fällt auf, wie ubiquitär gerade die 6-(Polyhydroxyalkyl)pterine in der Natur verbreitet sind. Aus einer Fülle autoradiographischer Daten soll Abbildung 1 am Beispiel der Ratte zeigen, wie gezielt sich Pteridine innerhalb der Zelle beispielsweise im Kern anreichern können.

Auch das physiologische Verhalten zeigt, daß Pteridine im allgemeinen nicht die Rolle von Stoffwechselprodukten spielen. Erste Befunde über Protein-Pteridin-^[197] und Pteridin-Flavin-Komplexe^[104] oder über einen energieabhängigen, selektiven Biopterintransport^[105] müssen deshalb weiter verfolgt werden. Der Nachweis einer gezielten Bindung an die DNA^[106] verdient im Hinblick auf eine möglicherweise regulatorische Funktion der Pterine ebenso Beachtung wie z. B. die auffälligen Unterschiede im Pteridinmuster der Waldameise, *Formica polyctena*^[107].

Ein eingegangen am 21. Juli 1971, ergänzt am 11. Februar 1971 [A 908]

- [1] F. G. Hopkins, *Nature* **40**, 335 (1889).
- [2] H. Wieland u. C. Schöpf, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **58**, 2178 (1925).
- [3] C. Schöpf u. H. Wieland, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **59**, 2067 (1926).
- [4] R. Purrmann, *Liebigs Ann. Chem.* **544**, 182 (1940); **546**, 98 (1940); **548**, 284 (1941).
- [5] W. Pfleiderer, *Angew. Chem.* **75**, 993 (1963); *Angew. Chem. internat. Edit.* **4**, 114 (1964).
- [6] R. C. Elderfield u. A. C. Mehta in R. C. Elderfield: *Heterocyclic Chemistry*. Wiley, New York 1967, Band 9, S. 1.
- [7] H. Rembold, H. Metzger, P. Sudershan u. W. Gutensohn, *Biochim. Biophys. Acta* **184**, 386 (1969).
- [8] I. Ziegler u. R. Harmsen, *Advan. Insect Physiol.* **6**, 139 (1969).
- [9] H. S. Forrest u. C. van Baalen, *Annu. Rev. Microbiol.* **24**, 91 (1970).
- [10] T. Hama, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **100**, 977 (1963).
- [11] L. Buschmann, Dissertation, Universität München 1963.
- [12] H. Rembold u. L. Buschmann, *Liebigs Ann. Chem.* **662**, 72 (1963).
- [13] M. Tsujita u. S. Sakurai, *Japan. J. Genet.* **38**, 97 (1963).
- [14] J. M. Lagowski u. H. S. Forrest, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **58**, 1541 (1967).
- [15] W. L. Gyure, Dissertation, Tufts University 1970; University Microfilms, Ann Arbor, Michigan No. 71-13, 749.
- [16] K. Buff, Dissertation, Universität München 1971.
- [17] H. Rembold u. L. Buschmann, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **330**, 132 (1960).
- [18] H. Rembold u. H. Metzger, *Z. Naturforsch.* **22b**, 827 (1967).
- [19] V. C. Dewey u. G. W. Kidder, *J. Chromatogr.* **31**, 326 (1968).
- [20] M. Viscontini u. H. Stierlin, *Helv. Chim. Acta* **45**, 2479 (1962).
- [21] E. Hadorn u. H. K. Mitchell, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **37**, 650 (1951).
- [22] H. Descimon u. M. Barial, *J. Chromatogr.* **25**, 391 (1966).
- [23] M. Viscontini, E. Hadorn u. P. Karrer, *Helv. Chim. Acta* **40**, 579 (1957).
- [24] J. D. Gerhart u. R. J. MacIntyre, *Anal. Biochem.* **37**, 2525 (1970).
- [25] C. H. Eugster, E. F. Frauenfelder u. H. Koch, *Helv. Chim. Acta* **53**, 131 (1970).
- [26] V. C. Dewey u. G. W. Kidder in D. B. McCormick u. L. D. Wright: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York 1971, Band 18 B, S. 618.
- [27] W. S. McNutt, *Anal. Chem.* **36**, 912 (1964).
- [28] G. Guroff in [26], S. 600.
- [29] P. Haug, *Anal. Biochem.* **37**, 285 (1970).
- [30] T. Lloyd, S. Markey u. N. Weiner, *Anal. Biochem.* **42**, 108 (1971).
- [31] H. Kraut, W. Pabst, H. Rembold u. L. Wildemann, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **332**, 101 (1963).
- [32] H. S. Forrest, M. McNater u. J. Alexander, *J. Insect Physiol.* **12**, 1411 (1966).
- [33] T. Shiota in M. Florkin u. E. H. Stotz: *Comprehensive Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam 1971, Band 21, S. 111.
- [34] G. M. Brown in D. Greenberg: *Metabolic Pathways*. Academic Press, New York 1970, Band 4, S. 383; *Advan. Enzymol.* **35**, 35 (1971).
- [35] I. Takeda in K. Iwai, M. Goto, M. Akino u. Y. Iwanami: *Chemistry and Biology of Pteridines*. Internat. Acad. Printing Co., Tokio 1970, S. 183.
- [36] W. Pabst u. H. Rembold, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **344**, 107 (1966).
- [37] H. Rembold, unveröffentlicht.
- [38] H. Rembold, V. Chandrashekhar u. P. Sudershan, *Biochim. Biophys. Acta* **237**, 365 (1971).
- [39] T. Fukushima, *Arch. Biochem. Biophys.* **139**, 361 (1970).
- [40] T. H. D. Jones u. G. M. Brown, *J. Biol. Chem.* **242**, 3989 (1967).
- [41] A. W. Burg u. G. M. Brown, *J. Biol. Chem.* **243**, 2349 (1968).
- [42] H. Rembold u. G. Heinz, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **352**, 1271 (1971).
- [43] G. M. Brown in [35], S. 243.
- [44] H. Rembold u. L. Buschmann, *Chem. Ber.* **96**, 1406 (1963).
- [45] B. Green u. H. Rembold, *Chem. Ber.* **99**, 2162 (1966).
- [46] W. B. Watt, *J. Biol. Chem.* **242**, 565 (1967).
- [47] H. Descimon, Dissertation, Ecole Normale Supérieure, Paris 1969.
- [48] T. Shiota, R. Jackson u. C. M. Baugh in [35], S. 265.
- [49] J. B. Mahis u. G. M. Brown, *J. Biol. Chem.* **245**, 3015 (1970).
- [50] D. P. Richey u. G. M. Brown, *J. Biol. Chem.* **244**, 1582 (1969).
- [51] T. Shiota, C. M. Baugh, R. Jackson u. R. A. Dillard, *Biochemistry* **8**, 5022 (1969).
- [52] K. Iwai, O. Okinaka, M. Ikeda u. N. Suzuki in [35], S. 281.
- [53] M. Tsusue, *J. Biochem. (Tokyo)* **69**, 781 (1971).
- [54] M. Matsubara, *Arch. Biochem. Biophys.* **126**, 426 (1968).
- [55] H. Rembold u. F. Simmersbach, *Biochim. Biophys. Acta* **184**, 589 (1969).
- [56] H. Rembold, H. Metzger u. W. Gutensohn, *Biochim. Biophys. Acta* **230**, 117 (1971).
- [57] H. Rembold u. W. Gutensohn, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **31**, 837 (1968).
- [58] C. Levy u. W. S. McNutt, *Biochemistry* **1**, 1161 (1962).
- [59] W. S. McNutt, *J. Biol. Chem.* **238**, 1116 (1963).
- [60] F. Bergmann u. H. Kwiecny, *Biochim. Biophys. Acta* **28**, 613 (1958).
- [61] F. Bergmann u. H. Kwiecny, *Biochim. Biophys. Acta* **33**, 29 (1959).
- [62] H. S. Forrest, E. Glassman u. H. K. Mitchell, *Science* **124**, 725 (1956).
- [63] S. H. Dustmann, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **352**, 1599 (1971).
- [64] H. Descimon, *C. R. Acad. Sci. D* **268**, 416 (1969).
- [65] J. Harmsen, *J. Insect Physiol.* **15**, 2239 (1969).
- [66] B. Levenberg u. O. Hayashi, *J. Biol. Chem.* **234**, 955 (1959).
- [67] M. Tsujita u. S. Sakurai, *Proc. Jap. Acad.* **43**, 991 (1967).
- [68] J. Eder u. H. Rembold, *Z. Anal. Chem.* **237**, 50 (1968).
- [69] J. Eder u. H. Rembold, *Arzneimittel-Forsch.* **21**, 562 (1971).
- [70] H. Rembold u. H. Metzger, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **329**, 291 (1962).
- [71] S. Kaufman, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **50**, 1085 (1963).
- [72] S. Kaufman, *J. Biol. Chem.* **239**, 332 (1964); *Advan. Enzymol.* **35**, 245 (1971).
- [73] S. Kaufman, *Trans. N. Y. Acad. Sci.* **26**, 977 (1964).
- [74] M. Osanai u. H. Rembold, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **352**, 1359 (1971).
- [75] G. Guroff u. C. A. Rhoads, *J. Biol. Chem.* **242**, 3641 (1967).
- [76] G. Guroff u. C. A. Rhoads, *J. Biol. Chem.* **244**, 142 (1969).
- [77] R. Shiman, M. Akino u. S. Kaufman, *J. Biol. Chem.* **246**, 1330 (1971).
- [78] A. Tietz, M. Lindberg u. E. P. Kennedy, *J. Biol. Chem.* **239**, 4081 (1964).
- [79] V. G. Zamoni, N. C. Brown u. B. N. LaDu, *Fed. Proc.* **22**, 232 (1963).
- [80] W. F. Coulson, M. J. Powers u. J. B. Japson, *Biochim. Biophys. Acta* **222**, 606 (1970).
- [81] M. Viscontini u. T. Okada, *Helv. Chim. Acta* **50**, 1845 (1967).
- [82] G. Hanser u. H. Rembold, *Z. Naturforsch.* **23b**, 666 (1968).
- [83] N. Kokolis u. I. Ziegler, *Z. Naturforsch.* **23b**, 860 (1968).

- [84] S. Hosoda u. D. Glick, *J. Biol. Chem.* **241**, 192 (1966).
- [85] P. M. Nair u. L. C. Vinning, *Phytochemistry* **4**, 161 (1965).
- [86] P. M. Nair u. C. S. Vaidyanathan, *Phytochemistry* **3**, 235 (1964).
- [87] D. D. Hagerman, *Fed. Proc.* **23**, 480 (1964).
- [88] B. Peterkofsky u. S. Udenfriend, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **53**, 335 (1965).
- [89] B. Samuelsson, E. Granstrom u. M. Hamberg in S. Bergstrom u. B. Samuelsson: *Prostaglandins. Nobel Symposium. Interscience, Stockholm 1967*, Bd. 2, S. 31.
- [90] C. Anthony u. L. J. Zatman, *Biochem. J.* **104**, 960 (1967).
- [91] H. Rembold u. K. Buff in E. Quagliariello, S. Papa u. C. S. Rossi: *Energy Transduction in Respiration and Photosynthesis. Adriatica Editrice Bari 1971*, S. 467.
- [92] H. Rembold u. H. Metzger, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **348**, 194 (1967).
- [93] M. C. Archer u. K. G. Scrimgeour, *Can. J. Biochem.* **48**, 526 (1970).
- [94] A. M. Bobst, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **68**, 541 (1971).
- [95] R. C. Fuller u. N. A. Nugent, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **63**, 1311 (1969).
- [96] H. Rembold u. K. Buff, *Eur. J. Biochem.* **28**, 579, 586 (1972).
- [97] M. Tsujita u. D. Sakurai, *Proc. Jap. Acad.* **41**, 230 (1965).
- [98] S. Katoh, *Arch. Biochem.* **146**, 202 (1971).
- [99] M. Obika in [35], S. 413.
- [100] G. Hanser u. H. Rembold, *Z. Naturforsch.* **19b**, 938 (1964).
- [101] R. Harmsen, *J. Insect Physiol.* **12**, 9 (1966).
- [102] J. Cone u. G. Guroff, *J. Biol. Chem.* **246**, 979 (1971).
- [103] S. Kaufman u. D. B. Fisher, *J. Biol. Chem.* **245**, 4745 (1970).
- [104] G. H. Schmidt u. M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **47**, 2049 (1964).
- [105] H. Rembold u. A. Vaubel, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* **351**, 1277 (1970).
- [106] H. S. Forrest in [35], S. 155.
- [107] G. H. Schmidt, in [35], S. 399.
- [108] S. Katoh, M. Nagai, Y. Nagai, T. Fukushima u. M. Akino, in [35], S. 225.
- [109] R. Lafont, *C. R. Acad. Sci. D* **273**, 1484 (1971).
- [110] T. Lloyd u. N. Weiner, *Mol. Pharmacol.* **7**, 569 (1971).
- [111] J. Dayman u. G. Guroff, *Fed. Proc.* **30**, 1141 (1971).
- [112] L. I. Woolf, A. Jakubović u. E. Chan-Henry, *Biochem. J.* **125**, 569 (1971).
- [113] A. Suzuki u. M. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jap.* **44**, 1869 (1971).
- [114] K. Lind, *Eur. J. Biochem.* **25**, 560 (1972).
- [115] P. A. Friedman, A. H. Kappelman u. S. Kaufman, *J. Biol. Chem.* **247**, 4165 (1972).

ZUSCHRIFTEN

Darstellung und Struktur des Fluoroxo-Komplexes Rb[Mo₂O₂F₉]

Von Arnd Beuter und Wolfgang Sawodny¹⁾

Aus ¹⁹F-NMR-Daten wurde bereits mehrfach auf die Existenz dimerer Fluoroxo-Komplexe der Formel [M₂O₂F₉]⁻ (M=Mo und W) geschlossen^[1-3], doch konnten derartige Verbindungen bisher nicht rein isoliert werden. Bei Versuchen, den Komplex [MoOF₅]⁻ darzustellen, erhielten wir Nebenprodukte in wechselnder Menge. Eines davon ließ sich durch die Umsetzung von RbF mit MoOF₄ in flüssigem SO₂ rein gewinnen. Analysenergebnis und Schwingungsspektrum weisen es als Rb[Mo₂O₂F₉]⁻ aus.

Es zeigte sich, daß bei allen von uns zur Darstellung von [MoOF₅]⁻ benutzten Methoden (Umsetzung von feuchtem CsF mit MoF₆ in JF₅ oder SO₂, Umsetzung von Cs₂[MoO₂F₄] mit MoF₆ in SO₂, Umsetzung von K₂MoO₄ mit wasserfreiem HF) der dimere Fluoroxokomplex [Mo₂O₂F₉]⁻ als Hauptprodukt auftritt. Hingegen konnte der analoge Wolfram-Komplex [W₂O₂F₉]⁻ als Verunreinigung von Cs[WO₅] und Cs[WF₆] zwar schwingungsspektroskopisch nachgewiesen werden (v_{WO} bei 1032(st) und 1047(ss) cm⁻¹), ließ sich aber bisher nicht rein isolieren^[4].

Obwohl sich die Schwingungsspektren des Rb[Mo₂O₂F₉]⁻ noch nicht vollständig zuordnen lassen (Tabelle 1), können aus ihnen bereits einige Rückschlüsse auf die Struktur des [Mo₂O₂F₉]⁻-Ions gezogen werden. Die über 1000 cm⁻¹ – also sehr hoch – liegenden beiden MoO-Valenzschwingungen zeigen, daß es sich um endständige O-Atome han-

deln muß (d.h. daß keine Mo—O—Mo-Brücke vorliegt), und daß an ein Mo-Atom jeweils nur ein Sauerstoff gebunden sein kann^[5]. Neben den Valenzfrequenzen der endständigen F-Atome (579 bis 689 cm⁻¹) tritt eine IR-Bande bei 422 cm⁻¹ auf, die ihrer Lage nach weder diesen noch Deformationsschwingungen zugeordnet werden kann. Sie läßt sich plausibel als asymmetrische Mo—F—Mo-Brückenschwingung deuten. Die Deformationsschwingungen (von 321 cm⁻¹ abwärts) sind unvollständig und lassen sich vorerst nicht zuordnen. Die bei allen Spektren mit wechselnder Intensität auftretenden Banden zwischen 900 und 1000 cm⁻¹ sind wohl auf Hydrolyseprodukte der sehr feuchtigkeitsempfindlichen Substanz zurückzuführen.

Tabelle 1. IR- und Raman-Spektren von Rb[Mo₂O₂F₉]⁻ [a].

IR [cm ⁻¹]	Raman [cm ⁻¹]	Zuordnung
1033 s	1033 m	v _{MoO} sym.
1022 st	984 s	v _{MoO} asym.
974		
953	930 ss	
935	689 Sch	
	685 st	v _{MoF} sym.
	660 sst	v _{MoF} asym.
	635 s	v _{MoF}
	576 s	v _{MoF}
422 m	321 m	v _{Mn-F-Mo} asym.
310 s	310 s	
284 st		Deformations-
270 m		schwingungen

[a] Das IR-Spektrum einer Nujolverreibung wurde mit einem Gitterspektrographen des Typs Perkin-Elmer 325 aufgenommen, das Raman-Spektrum am Kristallpulver in einer Glaskapillare mit dem Coderg-Gerät PH 1 unter Anregung mit der blauen (4880 Å) und grünen (5140 Å) Linie eines Ar/Kr-Mischgaslasers.

[*] Dipi.-Chem. A. Beuter und Prof. Dr. W. Sawodny
Abteilung für Anorganische Chemie der Universität
79 Ulm, Oberer Eselsberg