

# *Isolierung und Untersuchung der Pigmente in den Augen des Polychäten *Platynereis dumerilii**

*Von Willi-Peter Hummel, Zürich*

## **Vorwort**

---

Die Untersuchung der Augenpigmente von Nereiden wurde im Rahmen meiner Dissertationsarbeit am Organisch-chemischen Institut der Universität Zürich unter der Leitung von [Prof. Dr. M. Viscontini](#) in den Jahren 1971-1976 durchgeführt. Aus persönlichen Gründen beschloss ich damals, die Arbeit auf Eis zu legen.

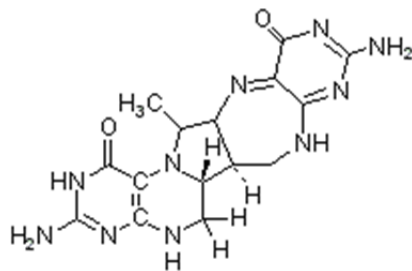
Heute finde ich wieder etwas Zeit mich weiter mit den mich immer noch faszinierenden Pigmenten zu befassen.

Die vorliegende Arbeit entspricht der gescannten Fassung aus dem Jahre 1977 – lediglich einige sprachliche Änderungen (oxidieren und nicht oxydieren, ethyl- und nicht aethyl-u.s.w.) sind vorgenommen worden. Die Originalspektren sind bis auf ein [UV-VIS-Spektrum](#) der Nereidenpigmente aus der Korrespondenz mit [Prof. Dr.A. Fischer](#), nicht mehr vorhanden und mussten aus der Rohfassung aus dem Jahre 1976 übernommen werden. Die früher mit Schablonen gezeichneten Formeln sind durch mit dem Computer gezeichnete Formeln ersetzt worden.

Meine Absicht ist die, mit den heute zugänglichen Methoden nochmals einige Spektren - Massenspektren und NMR-Spektren - von den damals isolierten Naturprodukten aufzunehmen und mit den Spektren und Interpretationen vor beinahe 30 Jahren zu vergleichen.

Auch möchte ich die Geschichte der Erforschung der farbigen Pterinpigmente weiterführen.

Ich werde die nun 30 Jahre alte Arbeit auf meiner Homepage veröffentlichen, wohl wissend, dass die Strukturen von einigen Pterinderivaten inzwischen genauer untersucht und revidiert worden sind. So findet man die damals noch umstrittene Struktur des Drosopterins heute bereits im Römpp Lexikon "Naturstoffe", 1997.



Strukturformel von Drosopterin

---

## Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1.	<i>Einleitung</i>	4
2.	<i>Theoretischer Teil</i>	5
2.1.	Natürliche, farbige Pterinpigmente	5
2.1.1.	Natürliche 7 substituierte Xanthopterine	6
2.1.2.	Natürliche 6 substituierte 7,8-Dihydropterine	7
2.2.	Vorkommen	9
2.3.	Morphologische Funktionen	9
2.4.	Biosynthese und biochemische Funktionen	9
2.5.	Nerepterin und Platynerepterin	13
2.6.	Die Synthesen der farbigen natürlichen Pterinpigmente und die Synthesen von Modellverbindungen	14
2.6.1.	Die Synthesen der 7 substituierten Xanthopterine	14
2.6.2.	Die Synthese der 6 substituierten 7,8-Dihydropterine	21
3.	<i>Eigene Arbeiten</i>	23
3.1.	Einleitung	23
3.2.	Aufarbeitung, Trennung und Isolierung von Nerepterin und Platynerepterin	23
3.3.	Charakterisierung von Nerepterin und Platynerepterin	24
3.3.1.	Physikalische und chemische Untersuchungen an Nerepterin und Platynerepterin	25
3.3.1.1.	Physikalische Eigenschaften	25
3.3.1.1.1.	Elektrophorese	25
3.3.1.1.2.	Spektren von Nerepterin und Platynerepterin	25
3.3.1.1.2.1.	Elektronenspektren	25
3.3.1.1.2.2.	NMR Spektren	27
3.3.1.1.2.3.	Massenspektren	27
3.3.2.	Chemische Abbaureaktionen	28
3.3.2.1.	Verbrennungsanalyse	28
3.3.2.2.	Oxidation in saurem Milieu an Luft	28
3.3.2.3.	Verhalten in basischem Milieu unter Lichteinfluss	29
3.3.2.4.	Oxidation mit Kaliumpermanganat	29
3.3.2.5.	Ozonolyse der Pigmente	29
3.3.2.6.	Reduktion mit Natriumborhydrid	30
3.4.	Zur Struktur von Nerepterin und Platynerepterin	31
3.4.1.	Diskussion der Spektren	31
3.4.1.1.	Elektronenspektren	31
3.4.1.2.	NMR Spektren	42
3.4.1.3.	MS Spektren	43
3.4.2.	Zur Struktur des Chromophors der in 7 Stellung substituierten Xanthopterine	43
3.4.3.	Diskussion der chemischen Abbauprodukte	48
3.4.3.1.	Verbrennungsanalyse	48
3.4.3.2.	Oxidation in saurer Lösung an Luft	49
3.4.3.3.	Verhalten in basischem Milieu unter Lichteinfluss	51
3.4.3.4.	Oxidation mit Kaliumpermanganat	51

3.4.3.5.	Ozonolyse (keine Bemerkung)	51
3.4.3.6.	Reduktion mit Natriumborhydrid	52
3.5.	Strukturvorschläge für das Nerepterin und das Platynerepterin	53
4.	<i>Experimenteller Teil</i>	56
4.1.	Allgemeines	56
4.2.	Beschaffung und Aufarbeitung der Augenpigmente von <i>Platynereis dumerilii</i>	57
4.3.	Charakterisierung von Nerepterin und Platynerepterin	59
4.3.1.	Nerepterin	59
4.3.1.1.	Nerepterin in basischen Milieu und unter Lichteinfluss	60
4.3.1.2.	Oxidation von Nerepterin mit Kaliumpermanganat	60
4.3.2.	Platynerepterin	61
4.3.2.1.	Oxidation von Platynerepterin in saurem Milieu an Luft	62
4.3.2.2.	Platynerepterin in basischem Milieu und unter Lichteinfluss	63
4.3.2.3.	Oxidation von Platynerepterin mit Kaliumpermanganat	64
4.3.2.4.	Oxidation von Platynerepterin mit Ozon	65
4.3.2.5.	Reduktion von Platynerepterin mit Natriumborhydrid	66
4.4.	Synthesen der Pterine und der Modellverbindungen	67
4.4.1.	Oxidatives Kondensationsprodukt [122] von 2-Methylchinoxazon [120] und Chinoxazon [121]	67
4.4.2.	Oxidatives Kondensationsprodukt [124] von Xanthopterin [6] mit 2-Methylchinoxazon [120]	67
4.4.3.	Pterorhodin [12]	68
4.4.4.	Xanthopterin [6]	69
4.4.5.	7-Methylxanthopterin [8]	70
4.4.6.	7-Ethylxanthopterin	71
4.4.7.	7-Propylxanthopterin	72
4.4.8.	7-Isopropylxanthopterin	73
4.4.9.	7-Acetyl-xanthopterin [133]	74
4.4.10.	7-(2'-Hydroxypropyl)-xanthopterin	75
4.4.11.	7-Propyl-(2')-en-xanthopterin	76
4.4.12.	Dehydroekapterin	77
4.4.13.	Eapterin [9]	78
4.4.14.	7-Styrylxanthopterin	79
4.4.15.	7-Phenacylxanthopterin	81
4.4.16.	7-Xanthopterincarbonsäure [41]	82
4.4.17.	Erythropterin [10]	83
4.4.18.	Lepidopterin [11]	84
4.4.19.	7-Aminoxanthopterin [42]	85
4.4.20.	Xanthopteryl-3-methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-(2)-on	87
4.4.21.	3-Methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-(2)-on	88
5.	<i>Literaturverzeichnis</i>	89

## ***1. Einleitung***

---

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Trennung, Isolierung und Strukturermittlung der farbigen Inhaltsstoffe der Augen von *Platynereis dumerilii*, eines frei lebenden Meeresborstenwurmes. Im Verlaufe der Arbeiten zeigte es sich, dass diese farbigen Inhaltsstoffe Pigmente sind, die der Klasse der Pterine zuzuordnen sind. Diese strukturelle Verwandtschaft der Pigmente wurde zum Anlass genommen, einige der schon lange bekannten, natürlich vorkommenden farbigen Pterine mit neueren physikalischen Methoden zu untersuchen und einige neue Modellverbindungen zu synthetisieren.

## 2. Theoretischer Teil

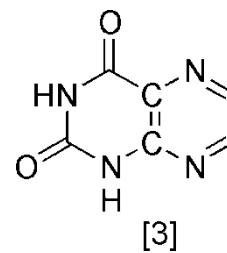
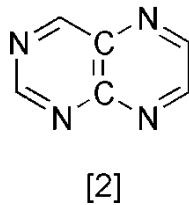
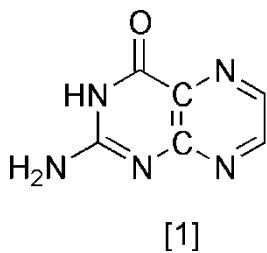
---

### 2.1. Natürliche farbige, Pterinpigmente

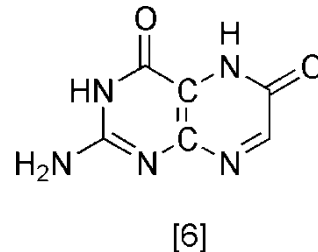
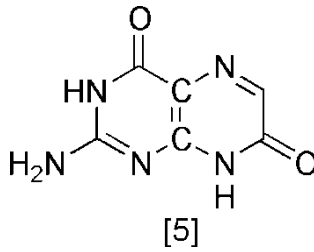
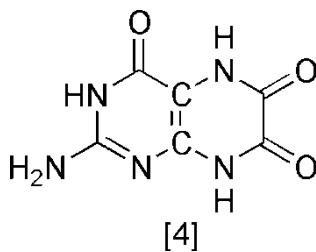
---

Der Name „Pterin“ wird heute für 2-Amino-oxo-3,4-dihydropteridin [1] verwendet, während die Bezeichnung „Pteridin“ für Pyrimido-(4,5-b)-pyrazin [2] gebraucht wird.

Alle bis heute aus natürlichen Quellen gefundenen Pteridine gehören zur Gruppe der Pterine, die meist aus tierischem Material stammen oder sie haben das Grundgerüst von 2,4-Dioxopteridin [3] und werden „Lumazine“ genannt. Diese Lumazine kommen meist in Pflanzen vor.

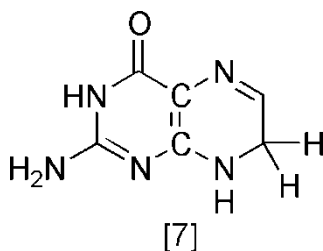


Der Beginn aller Untersuchungen an Pterinpigmenten geht auf das Jahr 1889 zurück, als F. G. Hopkins erstmals die Farbstoffe in Schmetterlingsflügeln untersuchte (1). Erst 51 Jahre später gelang es, die Struktur von einigen dieser Pigmente aufzuklären (2). Die damals gefundenen Pigmente waren das Leucopterin [4], das Isoxanthopterin [5] und das gelb gefärbte Xanthopterin [6].



Ein anderer Weg, der zum Auffinden von neuen Pterinpigmenten führte, wurde im Jahre 1932 von S. Wright eingeschlagen (3).

Er untersuchte Faktoren, die die Augenfarben von *Drosophila melanogaster* beeinflussten. Die darauf folgenden, von der Genetik geprägten Arbeiten, führten zum Auffinden von neuen Pterinderivaten, deren Strukturen zum Teil heute noch nicht gesichert sind. So wurden, neben den schon in Schmetterlingsflügeln gefundenen Pterinpigmenten, die in 6-Stellung substituierten 7,8-Dihydropterine [7] gefunden.



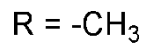
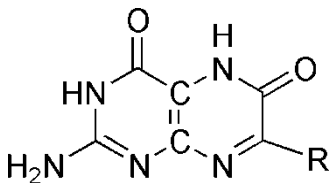
Das Auffinden und die Strukturermittlung der neuen farbigen Pterinpigmente zeigte, dass diese Pigmente immer zu der Gruppe der 6-substituierten 7,8-Dihydropteine oder zu der Gruppe der in 7-Stellung; substituierten Xanthopterine zugeordnet werden konnten. Im Folgenden werden die Verbindungen der farbigen Pterine, getrennt nach den oben aufgezeigten Gruppen, genauer besprochen.

### 2. 1. 1. Natürliche 7-substituierte Xanthopterine

---

Der Name Xanthopterin [6] wurde von Schöpf und Wieland für ein gelbes Produkt, das im Jahre 1925 aus Schmetterlingsflügeln isoliert wurde, gewählt (4). 15 Jahre später gelang es E. Purmann im Jahre 1940 die Struktur dieses Xanthopterins [6] (2), des Leukopterins [4] (5) und Isoxanthopterins [5] (6) aufzuklären.

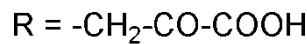
Derivate dieses Xanthopterins [6], wie das Methylxanthopterin [8], das Ekapterin [9], das Erythropterin [10], das Lepidopterin [11] und das Pterorhodin [12] konnten im Verlauf der nächsten 22 Jahre ebenfalls in ihrer Struktur aufgeklärt werden.



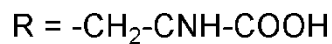
[8]



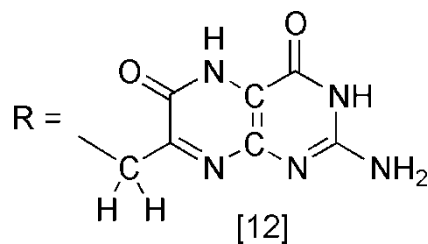
[9]



[10]



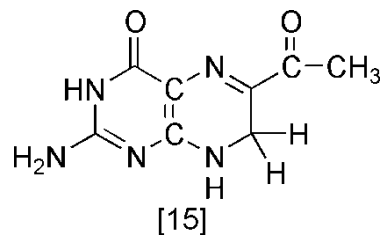
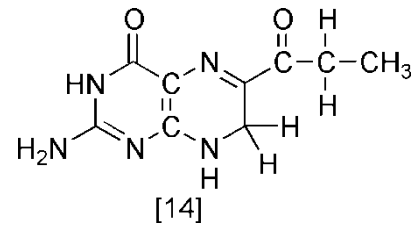
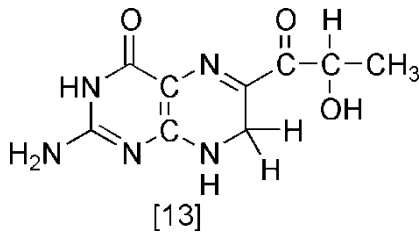
[11]



## 2. 1. 2 Natürliche 6-substituierte 7,8-Dihydropterine

Nach mehreren erfolglosen Versuchen, die roten Pigmente aus dem *Drosophila*aauge zu isolieren (7) (8) (9), gelang es 1954, aus der *Drosophila*mutante „Sepia“ das Sepiapterin [13] zu isolieren (10), und in seiner Struktur aufzuklären (11) (19) (13).

Aus derselben *Drosophila*mutante konnten zwei weitere Pigmente isoliert werden, das Deoxysepiapterin [14] (früher als Iosepiapterin bezeichnet) und das Sepiapterin C [15] (14).



Die Pigmente aus dem Wildtyp der *Drosophila*fliege, das Drosopterine [16], das Isodorosopterine [17], das Neodorosopterine [18] und das Aureodorosopterine sind in ihrer Struktur noch nicht gesichert, dies obwohl das Drosopterine synthetisiert werden konnte (16). Für das Aureodorosopterine wurde noch kein Strukturvorschlag gemacht (15).

In der nachfolgenden Tabelle 1 sind die bisherigen Strukturvorschläge zu den Drosopterinen in chronologischer Reihenfolge aufgezeichnet.

Ein weiteres Pterinpigment, welches man zu dieser Pteringruppe zählen könnte, ist im Jahre 1965 in der Mutante "Lem" der Seidenraupe gefunden worden (21). Als Struktur wird ein 8-Methylsepiapterin [19] angenommen.

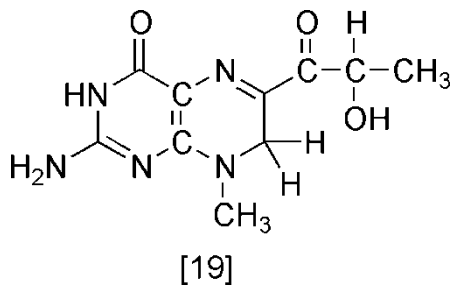
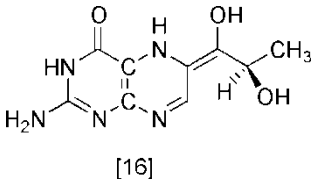


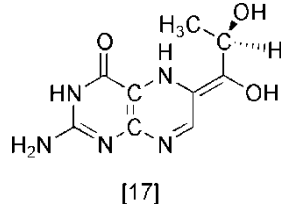
Tabelle 1

1959 Strukturvorschläge von M. Viscontini und E. Möhlmann (17)

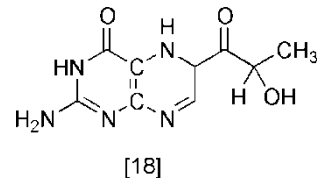
Drosopterin [16]



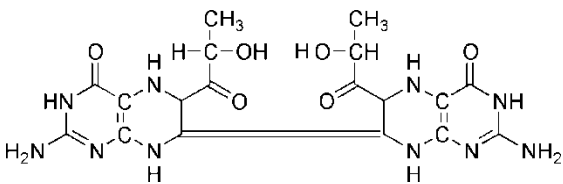
Isodrosopterin [17]



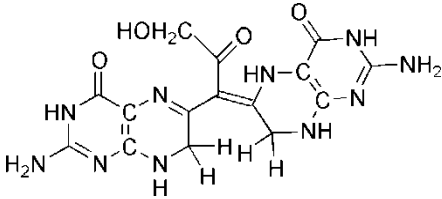
Neodrosopterin [18]



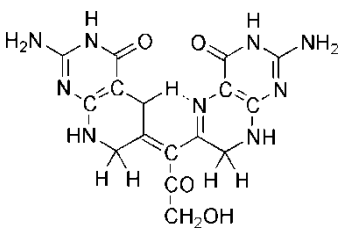
1970 Strukturvorschlag von W. Pfeleiderer, dass Drosopterine Dimere sind (18)



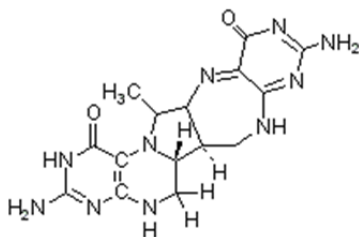
1972 Annahme von H. Schlobach und W. Pfeleiderer, dass Isodrosopterin und Drosopterin Enantiomere seien ((19)



1975 Weitere Strukturvorschläge zu Drosopterinen von K. Rokos und W. Pfeleiderer (15)



1977 Weitere Strukturvorschläge zu Drosopterinen von Theobald und W. Pfeleiderer





## 2. 2. Vorkommen

---

Die erwähnten Pterinpigmente findet man weit verbreitet in Lebewesen, von den Mikroorganismen (22) bis zu den Vertebraten (23) (24). Aus Mikroorganismen wurden das Xanthopterin [6] (25), das Erythropterin [10] (26) und das Pterorhodin [12] (27) gefunden.

Im Weiteren konnte das Xanthopterin [6] in den Häuten von Reptilien (28) (29), Amphibien (30) (31), Fischen (32) und Crustaceen (33) nachgewiesen werden.

Die stärkste Verbreitung des Xanthopterins [6] und seiner Derivate findet man bei den Insekten (23) (24).

Die Derivate der 7,8-Dihydropterinpigmente sind nicht so verbreitet oder wegen der schwierigen Isolierung und Instabilität der Produkte nicht so häufig gefunden worden wie die Xanthopterin-derivate. Die Pigmente wurden jedoch auch in Reptilien (34), Amphibien (29), Fischen (32) und - ausser in *Drosophila melanogaster* - noch in anderen Insekten (35) gefunden.

Das Deoxysepiapterin [14] wurde in grösseren Mengen aus der Alge *Anacystis nidulans* isoliert (36).

## 2. 3 Morphologische Funktionen

---

Es ist selten, dass die Pterinpigmente allein die die Farbe bestimmenden Faktoren sind. In den meisten Fällen treten die Pterinpigmente zusammen mit Ommochromen (37), Porphyrinen (38) und manchmal auch mit Flavonoidfarbstoffen (39) auf. Bei den Arthropoden, wo die Pterinpigmente in grösseren Mengen vorkommen, sind sie meist in einem charakteristischen Muster ins Integument und in den Augen verteilt (23).

Bei den Schmetterlingen zum Beispiel befinden sich die pterinreichen Zonen an den Hautfalten oder in den Gebieten des Integumentes die über den Trachäahöhlen liegen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Schmetterlingsflügeln zeigten, dass sich die Pterinpigmente im interlamellaren Raum in Form von elliptischem Granulat ablagern (40) (41). In den Ommatiden der Facettenaugen werden die farbigen Pterinpigmente zusammen mit Ommochromen in Form von rundem proteinhaltigem Granulat gefunden, das in den Pigmentzellen eingeschlossen ist. Diese Pigmentzellen umgeben den Linsenkörper und die Retinula (42).

Die Verteilung der Pterinpigmente im Zusammenhang mit Erbfaktoren ist für die Augen von *Drosophila* und *Ephestia* durchgeführt worden (43).

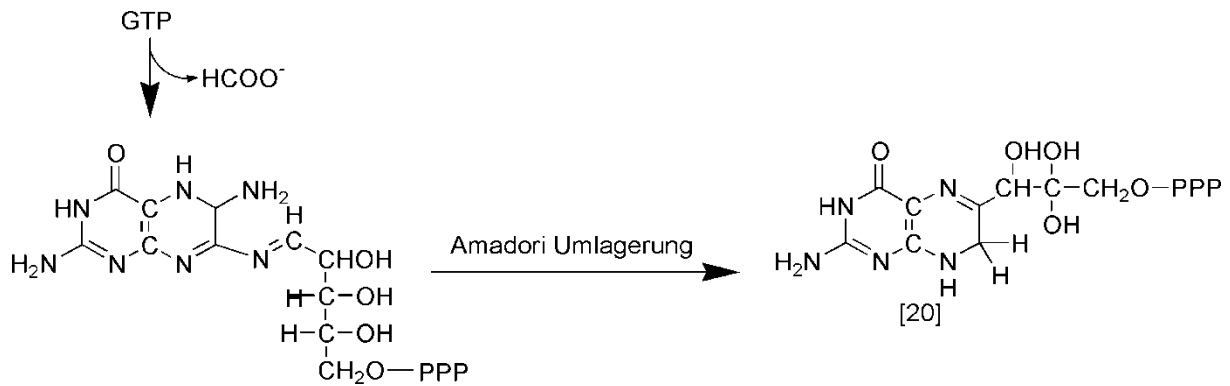
Bei den niederen Vertebraten sind die Pterinpigmente in stark gefärbten Zellen, den Xanthophoren und den Erythrophoren lokalisiert (44). Morphologische Studien zeigten, dass sich in diesen Zellen die Pterinpigmente in den Pterinosomen befinden (45). Diese Pterinosomen haben eine kugelige oder elliptische Form mit einem Durchmesser von 0,6  $\mu$ . Die Strukturierung der Pterinosomen zeigt konzentrisch angeordnete Lamellen (46).

## 2. 4. Biosynthese und biochemische Funktionen

---

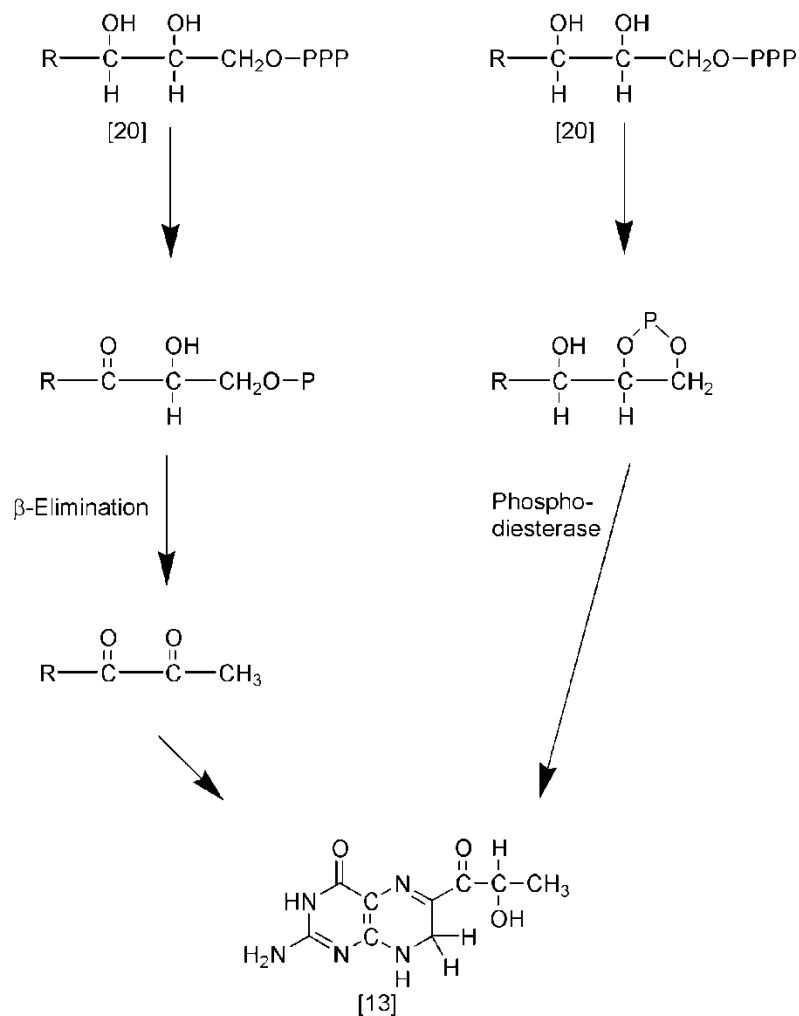
Über die Biosynthesen der natürlich vorkommenden Pterine gibt es noch sehr wenige Daten. Bekannt ist die Bildung des 7,8-Dihydro-D-neopterin-3-triphosphates [20]. Dieses Produkt [20] wird in Bakterien, Insekten, Amphibien (47) und Säugetieren (48) aus

Guanosintriphosphat durch Abspaltung von Formiat und einer anschliessenden Amadoriumlagerung gebildet.

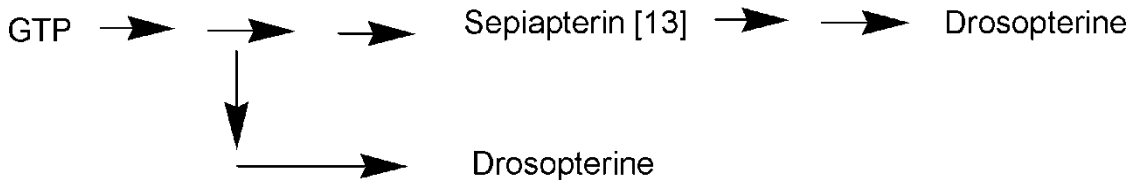


Die weiteren biochemischen Schritte vom 7,8-Dihydro-D-neopterin-3'-triphosphat [20] zum Sepiapterin [13], dem biogenetisch ersten farbigen Pterinpigment sind noch wenig gesichert. Von verschiedenen Autoren werden abweichende Reaktionsschritte vorgeschlagen. Im folgenden Schema sind 2 Möglichkeiten einander gegenübergestellt (41) (50).

R = 6-(2-Amino-4-hydroxy-7,8-dihydropteridinyl)-



In der Mutante "Sepia" von *Drosophila melanogaster* wird das Sepiapterin [13] akkumuliert, jedoch werden keine Drosopterine gefunden (10). Es steht jedoch nicht fest, da die Struktur der Drosopterine (16) (17) (18) noch nicht als gesichert gelten kann, ob das Sepiapterin [13] der biochemische Vorläufer in der Drosopterinsynthese ist, oder ob die Biosynthese der Drosopterine von einer Vorstufe des Sepiapterins [13] ausgeht.



Über die Biosynthese der anderen Gruppe der farbigen Pterinpigmente, der in 7-Stellung substituierten Xanthopterinderivate ist noch sehr wenig bekannt. Als Vorstufe kann das 7,8-Dihydroxanthopterin [21] angesehen werden. Die Bildung dieses Produktes [21] erfolgt aus dem 7,8-Dihydropterin [22] durch Oxidation mit Xanthinoxidase (51).

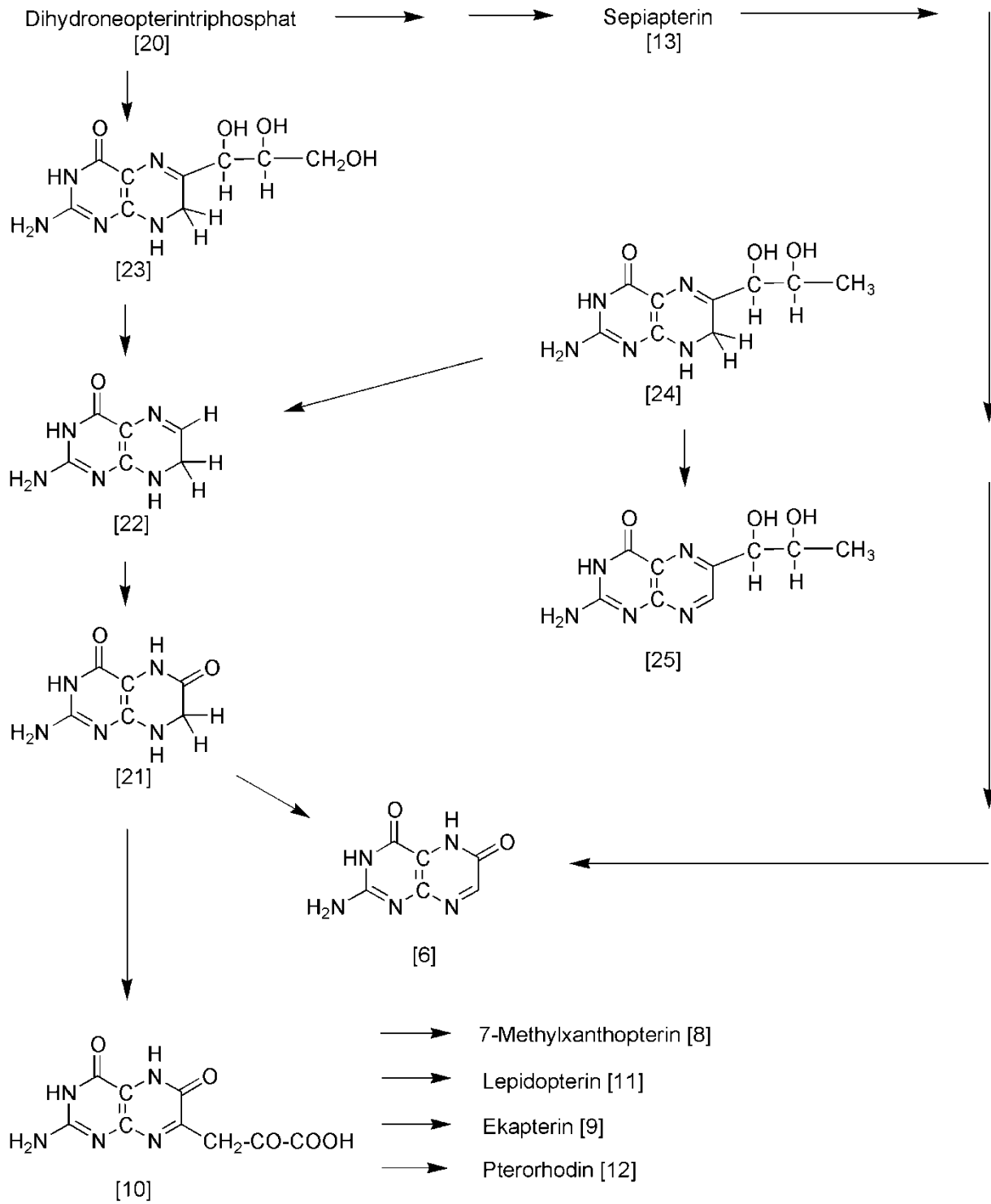
Das 7,8-Dihydropterin [22] andererseits wird durch Abspaltung der in 6 Stellung haftender Seitenkette des 7,8-Dihydroneopterin [23] oder 7,8-Dihydrobiopterins [24] gebildet (41).

Das Erythropterin [10] wird in Insekten durch eine direkte enzymatische Angliederung einer C3-Kohlenstoffkette, vermutlich der Oxalessigsäure an das Dihydroxanthopterin [21] (52) gebildet. Die Angliederung der Oxalessigsäure und der Brenztraubensäure an das Xanthopterin [6] verläuft *in vitro*. *In vivo* ist jedoch die Anlagerung der Oxalessigsäure an das Xanthopterin [6] gegenüber der Anlagerung an das 7,8-Dihydroxanthopterin [21] verlangsamt.

Die Umwandlungen des Erythropterins [10] in die weiteren, natürlich vorkommenden Xanthopterinderivate, wie das 7-Methylxanthopterin [8], das Lepidopterin [11], das Ekapterin [9] und das Pterorhodin [12] können chemisch leicht durchgeführt werden, die biochemischen Vorgänge hingegen sind nicht untersucht worden.

In einer neueren Arbeit konnte gezeigt werden, dass das Sepiapterin [13] selbst von einer grossen Zahl von Bakterienstämmen zu einem unbekanntem Xanthopterinderivat abgebaut wird, welches nach hydrolytischer Spaltung das Xanthopterin [6] bildet (53). Es wurde dabei gezeigt, dass das Pterin [1], das Biopterin [25], das Xanthopterin [6] und die 7,8-Dihydroverbindungen dieser drei Substanzen keine biogenetischen Vorläufer zu diesem Xanthopterinderivat sein können. Neben den schon erwähnten biochemischen Umwandlungen von 7,8-Dihydro-D-neopterin-3'-triphosphat [20] zum Xanthopterin [6] und seinen Derivaten ist dies eine weitere Möglichkeit, und vermutlich nicht die letzte, die gefunden worden ist.

Das in *Bombyx mori* gefundene 8-Methylsepiapterin [19] ist bislang der einzige Vertreter eines natürlichen, in 8-Stellung substituierten Pterins. Mögliche biochemische Synthesen sind bisher weder vorgeschlagen noch untersucht worden. In 8-Stellung substituierte Lumazine [3] sind einige bekannt wie zum Beispiel das 6,7-Dimethyl-8-ribityl-lumazin, welches der Vorläufer des Riboflavins ist [54].



## 2. 5. *Nerepterin und Platynerepterin*

---

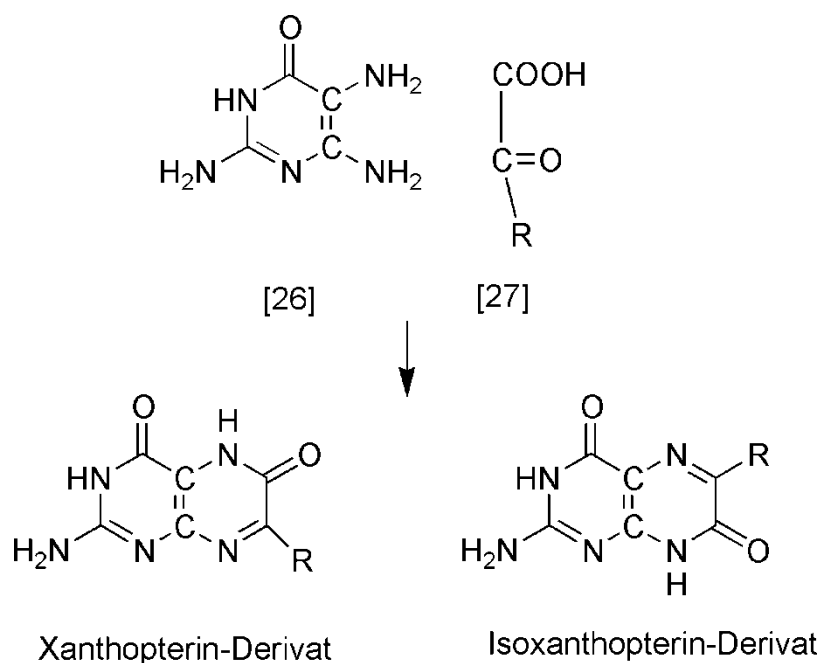
Viele Arten von Meeresborstenwürmern (Polychäten) sind auffällig gefärbt. Dementsprechend wurde auch die chemische Natur ihrer Pigmente verschiedentlich untersucht (55). Der Polychät *Platynereis dumerilii*, der in Bezug auf morphologische und genphysiologische Eigenschaften sehr genau untersucht worden ist (56) (57) (58) (59) (60), zeigt intensiv dunkelrot gefärbte Pigmentbecheraugen. Die Pigmente die diese Färbung verursachen, schirmen das Augeninnere optisch weitgehend ab und ermöglichen dadurch das Richtungssehen dieser frei lebenden Polychäten. Im Elektronenmikroskop ähnelt die Augenpigmentgranula in den Stützzellen von *Platynereis dumerilii* stark den Pterinosomen in den Erythrophoren und Xanthophoren des Fisches *Xiphophorus hellerii* (32) und des Frosches *Rana japonica* (45). In unserem Laboratorium wurden die Pigmente in den Augen von *Platynereis dumerilii* untersucht (61).

Es zeigte sich, dass im Wesentlichen 2 Pigmente für die Färbung der Augenbecher verantwortlich waren. Das eine Pigment zeigte eine rote Farbe und wurde, nachdem durch chemischen Abbau, bei dem Leucopterin [4] als Abbauprodukt erhalten wurde, als Platynerepterin bezeichnet. Das andere, ein gelbes Pigment mit ähnlichen Eigenschaften wie das Platynerepterin wurde als Nerepterin bezeichnet. Auf Grund der weitgehenden Übereinstimmung in physikalischen Eigenschaften von Platynerepterin und Pterorhodin [12] wurde vermutet, dass es sich bei diesen Pigmenten ebenfalls wie bei Pterorhodin [12] und eventuell bei den Drosopterinen um so genannte "Dimere Pterine" handeln könnte.

## 2. 6. Die Synthesen der farbigen natürlichen Pterinpigmente und die Synthesen von Modellverbindungen

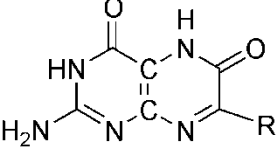
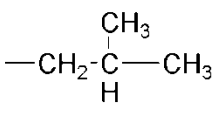
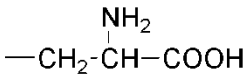
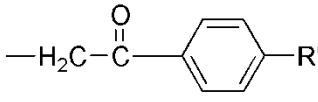
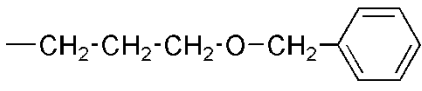
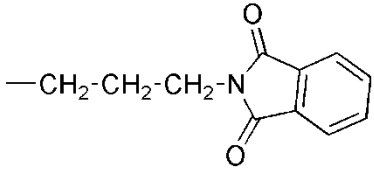
### 2. 6. 1. Die Synthese der 7 substituierten Xanthopterine

Die Synthese des Leucopterins [4], des Xanthopterins [6] und des Isoxanthopterins [5] bildeten den Ausgangspunkt für die Entwicklung der Pterinchemie. Eine Zusammenfassung über diese Synthesen findet man bei Metha und Elderfield (62). Im folgenden Abschnitt werden die Synthesewege zum Xanthopterin [6] und seinen Derivaten genauer untersucht. Zum grössten Teil wurde das Xanthopterin [6] oder die Xanthopterinderivate nach der Methode von Isay (63) hergestellt. Dieser Syntheseweg beinhaltet in seinem letzten Schritt die Bildung des Pyrazinringes aus 2,4,5-Triamino-6-hydroxypyrimidin [26] mit  $\alpha$ -Ketosäuren [27].



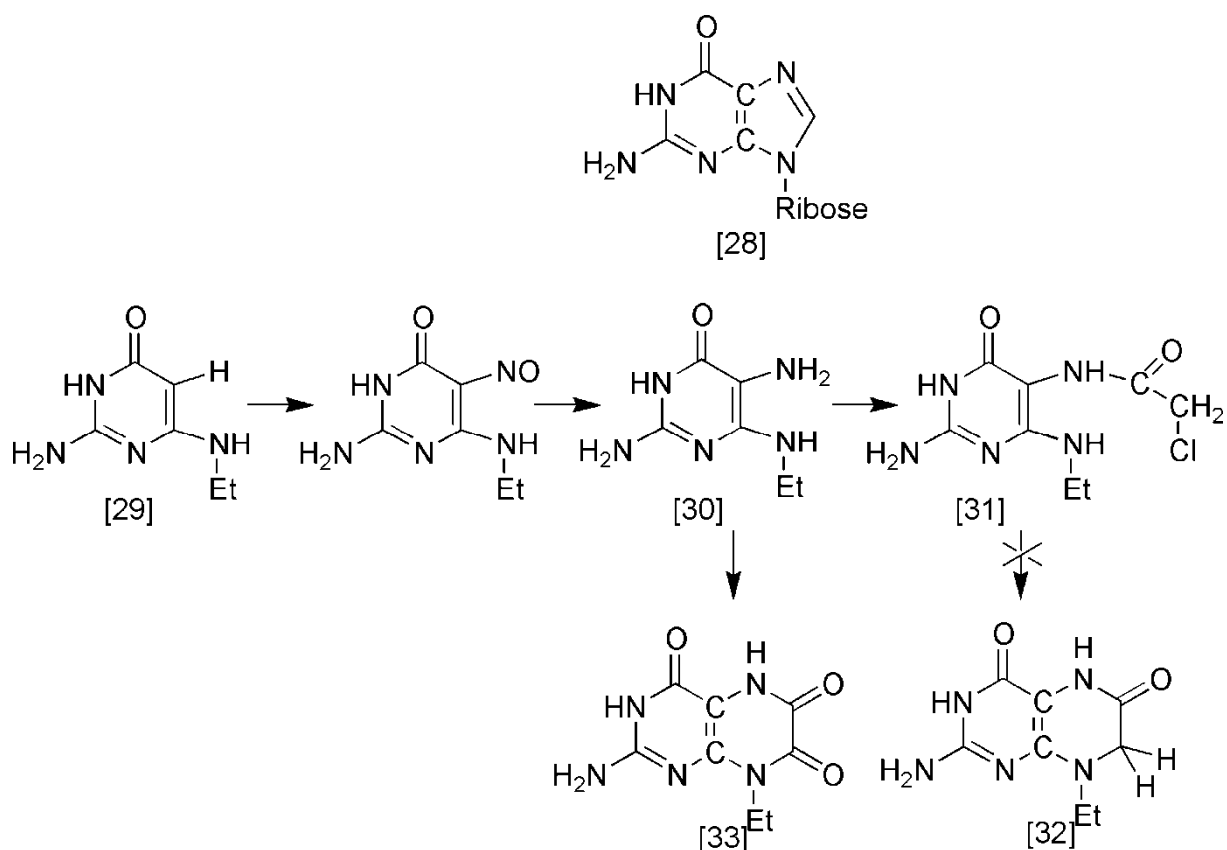
Durch geeignete Reaktionsbedingungen konnte das Xanthopterinderivat oder das Isoxanthopterinderivat bevorzugt erhalten werden. Da die Löslichkeit des Isoxanthopterins [5] in Säuren gegenüber der des Xanthopterins [6] schlecht ist, gelang meist eine isomerenfreie Aufarbeitung des einen Produktes. Die folgende Tabelle 2 zeigt die Xanthopterinderivate die auf diese Weise aufgebaut worden sind.

Tabelle 2

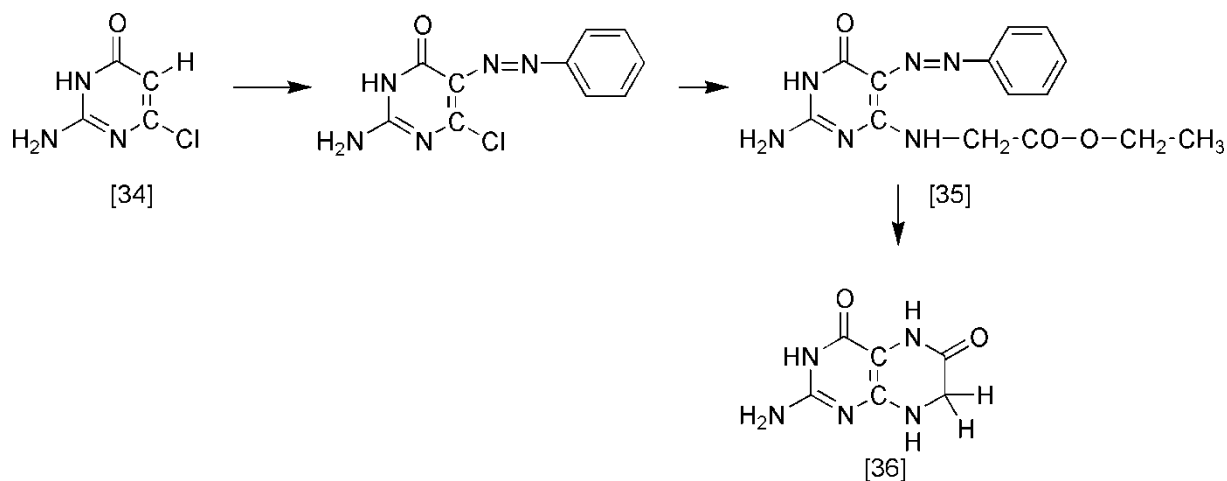
		Lit.	Lit.
R = —H	(64)	—CH <sub>3</sub>	(65)
	(66)	—COOH	(6)
—CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	(66)	—CH <sub>2</sub> -CO-COOH	(67)
	(66)	—CH <sub>2</sub> -CO-CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>3</sub>	(68)
	(69)		(68)
—CH <sub>2</sub> -COOCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	(70)		(68)
—CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	(71)		

Im Hinblick darauf, dass natürliche Pterine in Analogie zu Guanosin [28] als 8-N-Glycoside vorliegen könnten, wurde der Versuch der Synthesen von 8-substituierten Pterinen unternommen. Eingeleitet wurden diese Synthesen von Forrest, Hull, Roda und Todd (72) und von Leigh (73).

Ausgehend von 2-Amino-4-ethylamin-6-hydroxypyrimidin [29] wurde durch Nitrosierung und anschließender Reduktion das Amin [30] erhalten. Das Amin [30] wurde mit Chloracetylchlorid versetzt. Das gebildete Produkt war das 2-Amino-5-chloroacetamido-4-ethylamin-6-hydroxypyrimidin [31]. Die anschließende Zyklisierung des Produktes zum 8-substituierten Xanthopterin [32] gelang den Autoren nicht. Es gelang lediglich, das Amin [30] mit Oxalsäure zum 8-Ethylleukopterin [33] zu kondensieren (72).



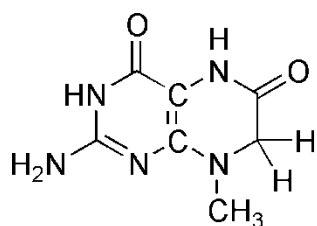
Boon und Leigh (73) diazotierten das 2-Amino-4-chloro-6-hydroxy-pyrimidin [34]. Mit Glyzinester wurde das 2-Amino-6-hydroxy-5-phenylazo-4-pyrimidinyl-aminoacetat [35] erhalten, welches nach Reduktion mit Zink/Salzsäure sofort zum 7,8-Dihydroxanthopterin [36] zyklisierte.



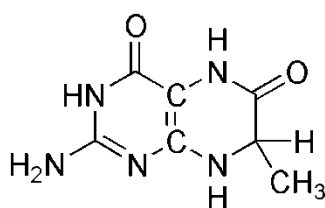
Dieses Syntheseprinzip wurde auch verwendet zur Synthese von weiteren 7,8-Dihydroxanthopterinderivaten. So konnte 8-Methyl-7,8-dihydroxanthopterin [37] erhalten werden, wenn an Stelle des Glyzinesters der N-Methylglyzinester (Sarkosinester) verwendet wurde.

Das 7-Methyl-7,8-dihydroxanthopterin [38] wurde erhalten, wenn der Alaninethylester verwendet wurde (74). Das 7,7-Dimethyl-7,8-dihydroxanthopterin [39] wurde synthetisiert, indem der Glyzinester durch  $\alpha$ -Ameisensäuremethylester ersetzt wurde (75).

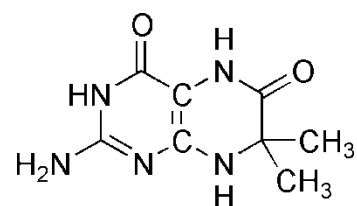




[37]



[38]

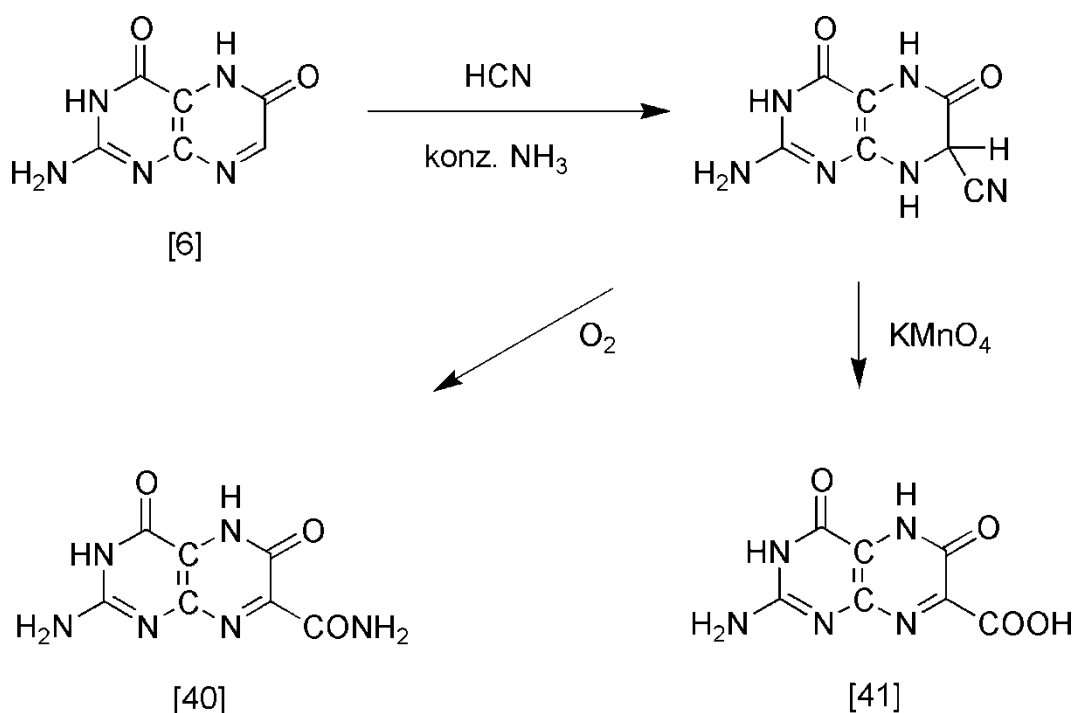


[39]

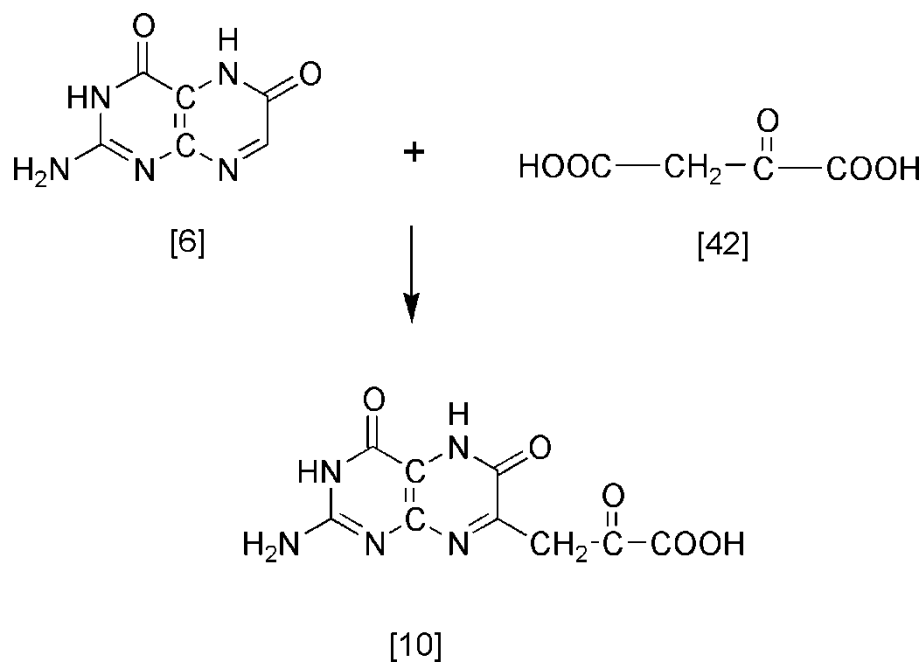
Die Synthesen der weiteren natürlichen in 7 Stellung substituierten Xanthopterine wurden von Viscontini und Piraux (76) eingeleitet, als sie zeigten konnten, dass die 7-Stellung des Xanthopterins [6] leicht einer nukleophilen Addition zugänglich ist. Die dadurch entstandenen 7,8-Dihydroxanthopterinderivate oxidierten an Luft leicht zu den entsprechenden Xanthopterinderivaten.

Anhand der Addition des Cyanid-Ions an das Xanthopterin [6] wurden diese Eigenschaften beschrieben. So konnte nach längerem Stehen lassen einer Lösung von Xanthopterin [6] und Kaliumcyanid in konzentrierter ammoniakalischer Lösung an Luft, das Xanthopterin-7-carbonsäureamid [40] isoliert werden.

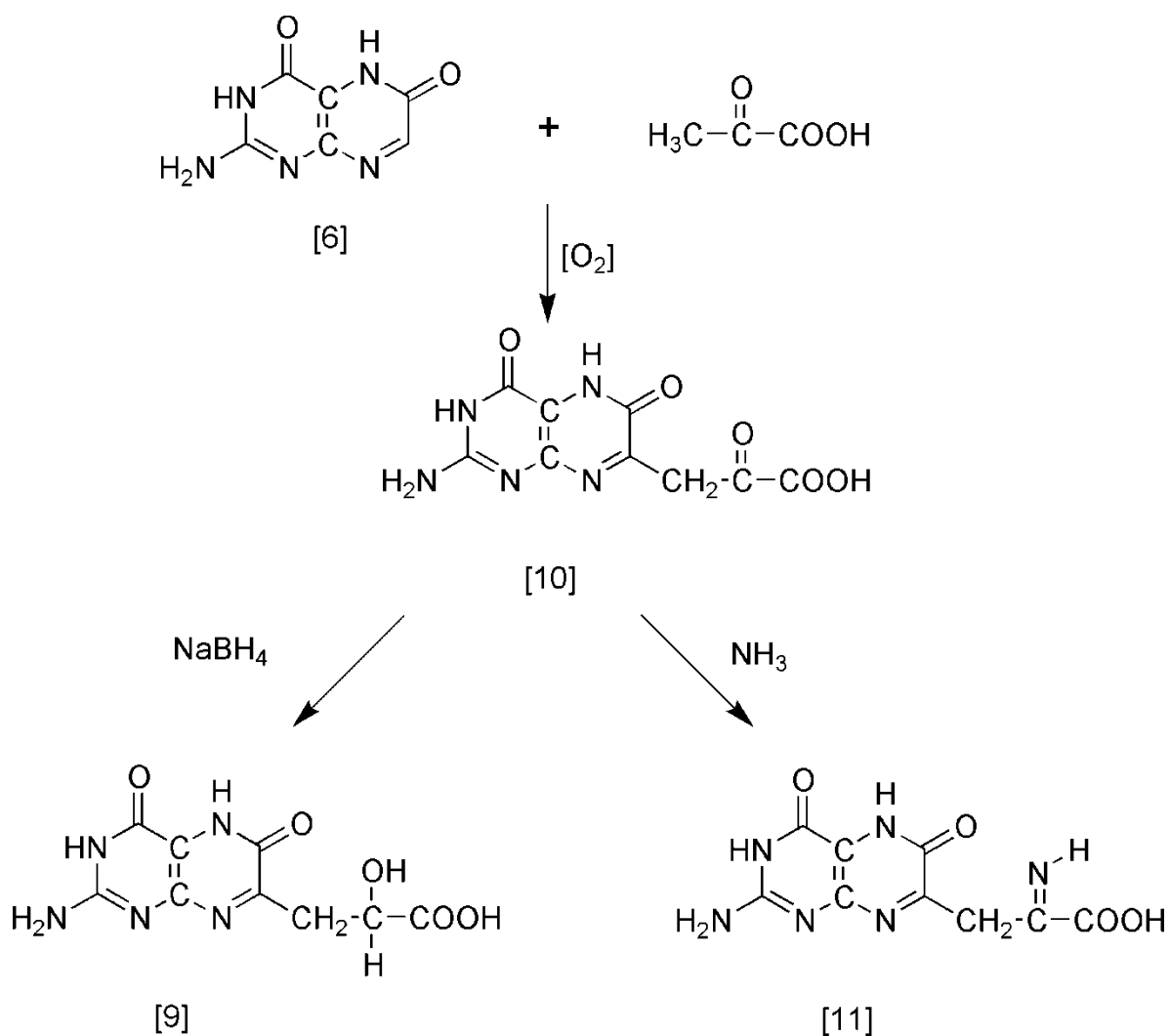
Wurde die Lösung mit Kaliumpermanganat oxidiert, konnte anschliessend die Xanthopterin-7-carbonsäure [41] isoliert werden, die ein direkter Beweis für Anlagerung des Cyanid-Ions an die 7-Stellung des Xanthopterins [6] war.



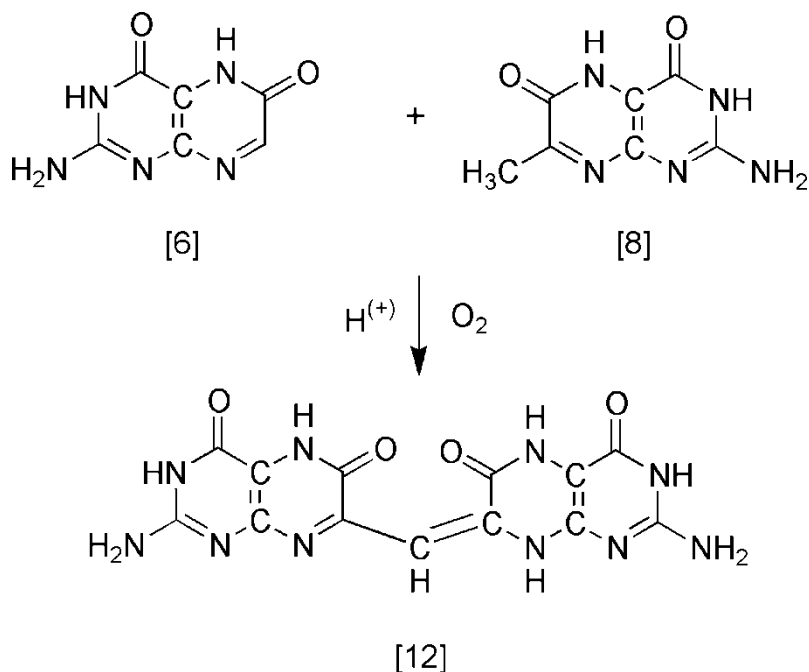
Die Synthese des Erythropterins [10] gelang 1962 gleichzeitig und unabhängig voneinander bei Schöpf und Gänshirt (77) durch Behandlung von Xanthopterin [6] mit Oxalessigsäure [42] und bei Viscontini und Stierlin (76) durch Behandlung von Xanthopterin [6] mit Brenztraubensäure an Luft.



Durch Reduktion des Erythropterins [10] mit Natriumborhydrid konnte das Ekapterin [9] synthetisiert und gleichzeitig in seiner Struktur aufgeklärt werden. Das Lepidopterin [11] stellte sich als das Ketimin des Erythropterins [10] heraus (78).

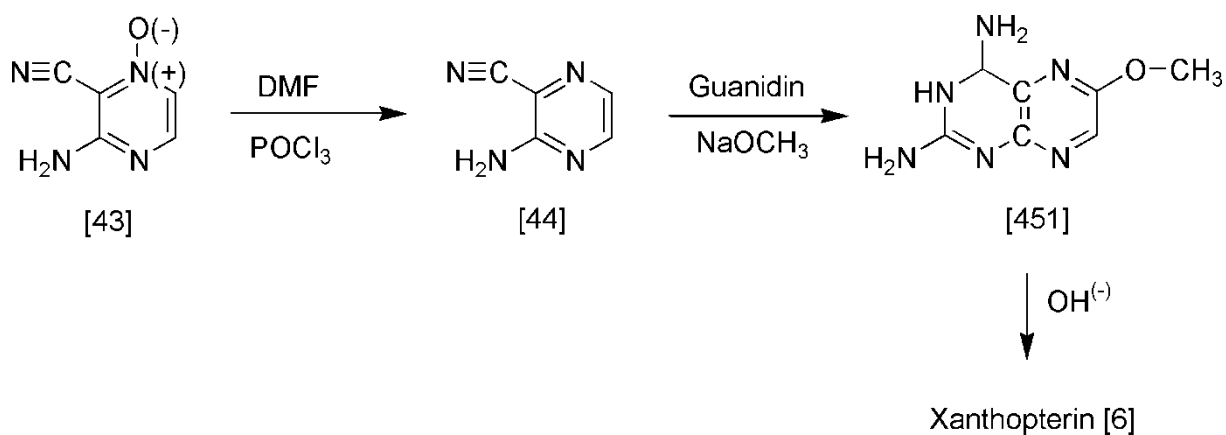


Die Synthese des Pterorhodins [12], eines violett-roten Pigmentes, das häufig als Behandlungsartefakt bei der Isolierung und der Synthese der 7-substituierten Xanthopterine auftritt, gelang schon im Jahre 1949, durch oxidative Kondensation von Xanthopterin [6] mit 7-Methylxanthopterin [8] (79).



Ein neuer Weg zum Aufbau von Xanthopterin [6] und seinen Derivaten, wurde von Taylor und Mitarbeitern entwickelt (80). Anhand der Synthese des Xanthopterins [6] sei der Syntheseweg, der auch für andere Pterinsynthesen breite Anwendungsmöglichkeiten eröffnete, kurz erläutert.

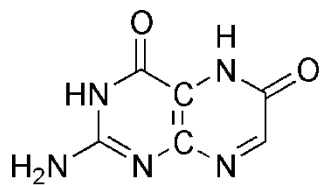
Das Ausgangsprodukt, 2-Amino-3-cyanopyrazin-4-oxid [43], wurde durch Phosphoroxychlorid in Dimethylformamid zum 2-Amino-3-cyano-5-chloropyrazin [44] umgewandelt. Versetzen des Produktes [44] mit Guanidin in Natriummethylat lieferte das 2,4-Diamino-6-methoxypteridin [45], welches durch Base zum Xanthopterin [6] hydrolysierte.



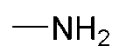
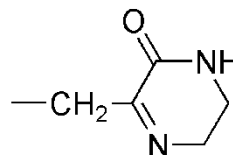
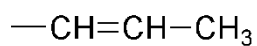
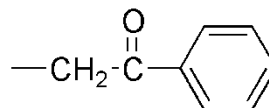
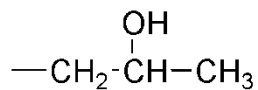
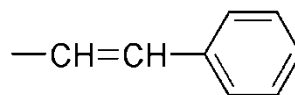
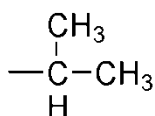
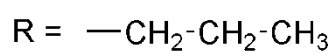
Da bei der Aufklärung der Strukturen des Nerepterins und des Platynerepterins eine Ähnlichkeit der Produkte mit Xanthopterinderivaten vermutet wurde und bisher ein nur sehr lückenhaftes Angebot an Referenzsubstanzen vorlag, waren wir gezwungen einige neue

Xanthopterinderivate selbst zu synthetisieren, zu charakterisieren und mit den Eigenschaften der Naturprodukte zu vergleichen. In der Tabelle 3 sind die von uns synthetisierten neuen Verbindungen aufgeführt.

Tabelle 3

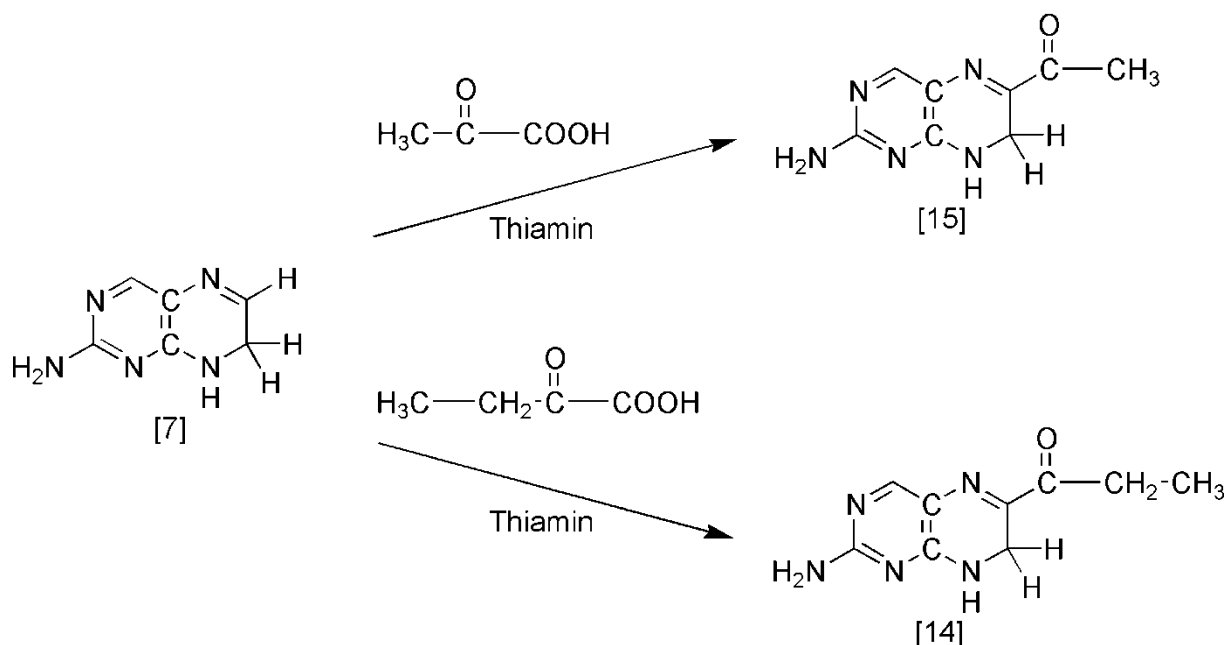


[6]

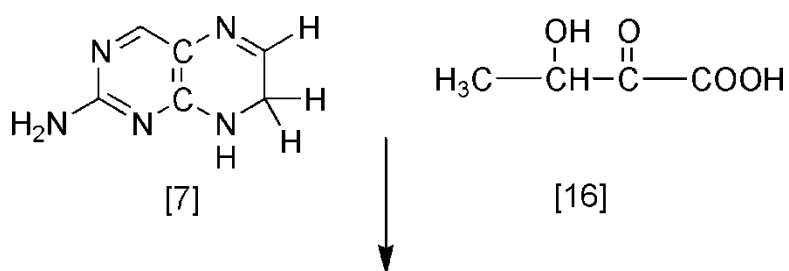


## 2. 6. 2. Die Synthesen der 6 substituierten 7,8-dihydropterine

Im Jahre 1962 gelang es Forrest und Nawa das Deoxysepiapterin [14] durch Kondensation des 7,8-Dihydropterins [7] mit  $\alpha$ -Ketobuttersäure in Gegenwart von Thiamin zu synthetisieren. Ein weiteres Produkt welches die Autoren durch Kondensation von 7,8-Dihydropterin [7] mit Brenztraubensäure erhielten war das 6-Acetyl-7,8-dihydropterin [15] (11). Erst im Jahre 1973 konnte Sugiura und Takikawa dieses Produkt als Naturprodukt, als das Sepiapterin C [15], isolieren und identifizieren (14).

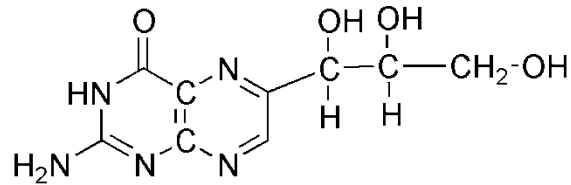


Die Synthese des Drosopterins [16] und des Isodrosopterins [17] gelang ohne Kenntnis dieser Strukturen durch Kondensation von 7,8-Dihydropterin [7] mit  $\alpha$ -Keto- $\beta$ -hydroxybuttersäure [16] (19).

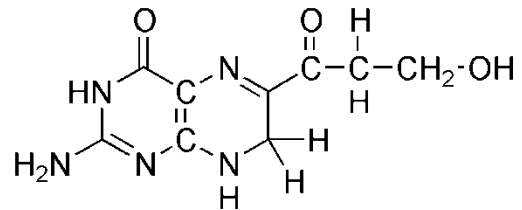
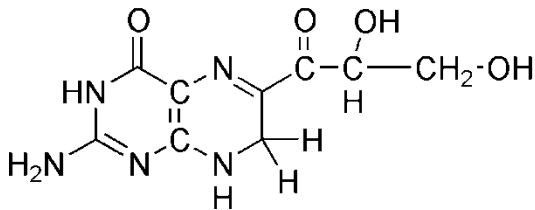
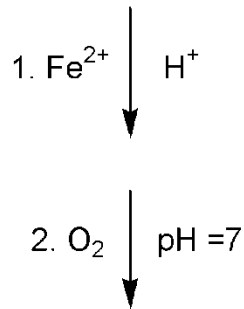


Drosopterin + Isodrosopterin

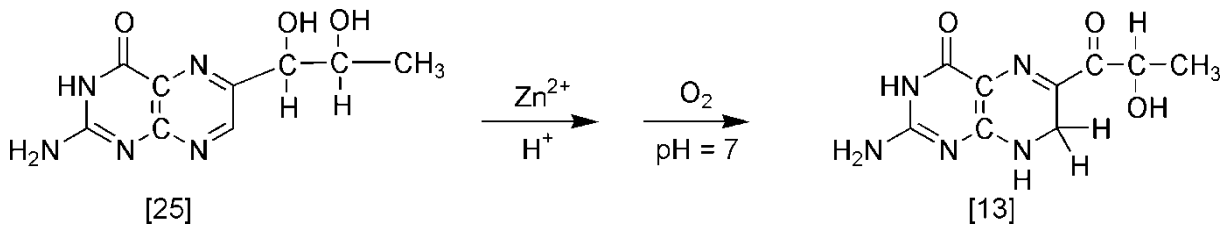
Ein Weg zur Synthese des Sepiapterins [13] zeigte sich in der Arbeit von Sugiura und Goto, die nach Reduktion von D-erythro-Neopterin [46] Produkte erhielten, die dem Sepiapterin [13] sehr ähnlich waren (81).



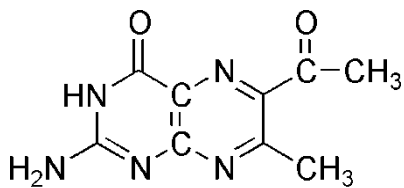
[46]



Analoges Vorgehen von Pfeleiderer durch Reduktion des Biopterins [47] und anschließender Reoxidation führten zu Bildung des Sepiapterins [13] (13).



Erwähnenswert ist noch eine Synthese von Sugiura und Goto (62), die durch Kondensation von 2,4,5-Triamino-6-hydroxypyrimidin [26] mit Triketopentan in saurem Milieu ein farbloses Produkt, das 6-Acetyl-7-methylpterin [48] erhielten. Nach Reduktion von 6-Acetyl-7-methylpterin [48] mit Natriumamalgam wurde das 6-Acetyl-7-methyl-7,8-dihydropterin als gelbes Produkt erhalten. Das Produkt [48] ist insofern von Interesse, da bisher noch keine Arbeiten vorliegen, die aus natürlichen 6 substituierten 7,8-Dihydropterenen durch Oxidation gebildete 6-substituierte Pterine beschreiben.



[48]

### 3. Eigene Arbeiten

---

#### 3.1. Einleitung

---

Das Ziel der Arbeit an den Augenfarbstoffen von *Platynereis dumerilii* war, die Struktur von Nerepterin und Platynerepterin zu erhellen. Die Struktur dieser beiden Pigmente interessierte im Hinblick auf die biogenetische Wirkungsweise im Pterinstoffwechsel von *Platynereis dumerilii* und deren or-Mutante.

Das Vorgehen in der Strukturaufklärung war gegeben durch die sehr beschränkte und schwierig zu beschaffende Menge an Naturprodukt. Es wurde versucht, nachdem die Pterinstruktur der beiden Pigmente feststand, durch Synthese von Modellverbindungen die mit Nerepterin und Platynerepterin grosse Ähnlichkeit hatten, die Struktur weiter einzuengen, und so weit wie möglich zu charakterisieren.

#### 3.2. Aufarbeitung, Trennung und Isolierung von Nerepterin und Platynerepterin

---

Die zur Isolierung der Pigmente verwendeten Tiere stammten zum grössten Teil aus Wildfängen. Mit Hilfe von starken Halogenlampen, die in Küstennähe auf die Meeresoberfläche aufgelegt wurden, konnten die geschlechtsreifen Tiere in der Nacht angelockt werden (102).

Der Fang von geschlechtsreifen Tieren erwies sich gegenüber dem Fang der noch nicht schwärmenden Tiere in zweierlei Hinsicht überlegen. Einerseits konnten die gesuchten Nereiden sehr selektiv gefangen werden und andererseits zeigte es sich, dass die Menge der gesuchten Pigmente in einem epitoken Tier ungefähr um den Faktor 5 gegenüber einem adulten Tier vergrössert war. Die Schwärmzeit der Tiere ist stark abhängig von der Mondphase.

So gelang es auf zwei Exkursionen in Banyuls-s-Mer innerhalb eines Mondzyklus, in den Nächten, 20 000 resp. 30 000 Tiere zu sammeln. Die Schwärmzeit der Tiere beschränkte sich auf die Zeit zwischen Sonnenuntergang und Mondaufgang und auf die Zeit zwischen Monduntergang und Sonnenaufgang.

Es handelte sich vorwiegend um drei Arten von Nereiden die gefangen wurden, nämlich um *Platynereis dumerilii*, *Nereis rava* und *Nereis zonata*.

Die in den zwei anderen Arten gefundenen Pigmente erwiesen sich mit dem Nerepterin und dem Platynerepterin identisch. Die gefangenen Tiere wurden sofort in Ethanol gegeben und innerhalb eines Monats dekapitiert.

Die zwei Augenpigmente der Tiere aus der ersten Exkursion wurden durch mehrfache Reinigungsoperationen an Cellulosesäulen, Ionentauschersäulen und mit Hilfe präparativer Papierchromatographie getrennt und isoliert. Die Isolierung der Pigmente nach der zweiten Exkursion konnte wesentlich vereinfacht werden. Nach Fraktionierung des Homogenisates der Tierköpfe über eine Cellulosesäule, konnte das Platynerepterin durch Umfällen rein erhalten werden. Das gelbe Nerepterin wurde nach einmaliger Trennung an einer SH-20 Sephadexsäule und Umfällen als reines Produkt erhalten.

Da sich Nerepterin in ammoniakalischem Milieu zu einem neuen Produkt umwandelt, wurde bei der Aufarbeitung der Naturprodukte Ammoniak vermieden.

### 3.3. Charakterisierung von Nerepterin und Platynerepterin

---

Das Nerepterin ist ein amorphes korngelbes Produkt welches durch Ausfällen aus konzentrierten Ameisensäurelösungen durch Verdünnen mit Wasser oder Ethanol erhalten wurde. Das Nerepterin ist unlöslich in allen üblichen organischen Lösungsmitteln und nur sehr schwer löslich in Wasser. In konzentrierter Ameisensäure ist es relativ gut löslich, fällt aber beim Verdünnen mit Wasser leicht wieder aus.

In 0,1 M Natronlauge ist, es sehr leicht löslich und während Tagen im Dunkeln stabil, zersetzt sich jedoch in dieser Lösung in Gegenwart von Licht sehr schnell.

Die intensive gelbgrüne Fluoreszenz des Nerepterins in Lösung und auf DC ist gleich wie die Fluoreszenz von Sepia- resp. Deoxysepiapterin [13] [14].

Das Platynerepterin ist ein indigoblaues amorphes Produkt, welches durch Ausfällen aus konzentrierter Ameisensäure durch geringes Verdünnen mit Wasser erhalten werden kann. Das Platynerepterin ist unlöslich in allen üblichen organischen Lösungsmitteln, völlig unlöslich in Wasser, selbst kaum löslich in konzentrierter Salzsäure, aber relativ gut löslich in konzentrierter Ameisensäure in der es sich mit schöner rubinroter Farbe und Fluoreszenz löst. Ohne Luftzufuhr ist es in dieser Ameisensäure, wie auch in Trifluoressigsäure recht stabil. Durch sorgfältiges Verdünnen der Lösungen in Ameisensäure mit Wasser kann ein sprunghafter Farbumschlag zu indigoblauer Lösung beobachtet werden.

Durch einen geringen Überschuss an Wasser fällt das Produkt als indigoblaues Produkt aus.

In Basen, wie z.B. 0,1 M Natronlauge ist das Produkt leicht löslich, wobei eine fluoreszierende, ziegelrote Lösung entsteht. Ohne Lichteinfluss bleibt das Produkt in dieser 0,1 M Natronlauge wie das Nerepterin über Tage stabil, zersetzt sich jedoch leicht an Tageslicht zu einer schwach gelblichen Lösung, die im UV Licht weisslich-blau fluoresziert. Auf Cellulose zeigt Platynerepterin einen substantiven Färbecharakter und ist weder mit Säuren noch mit konzentrierten Ammoniak Lösungen wieder vollständig eluierbar.

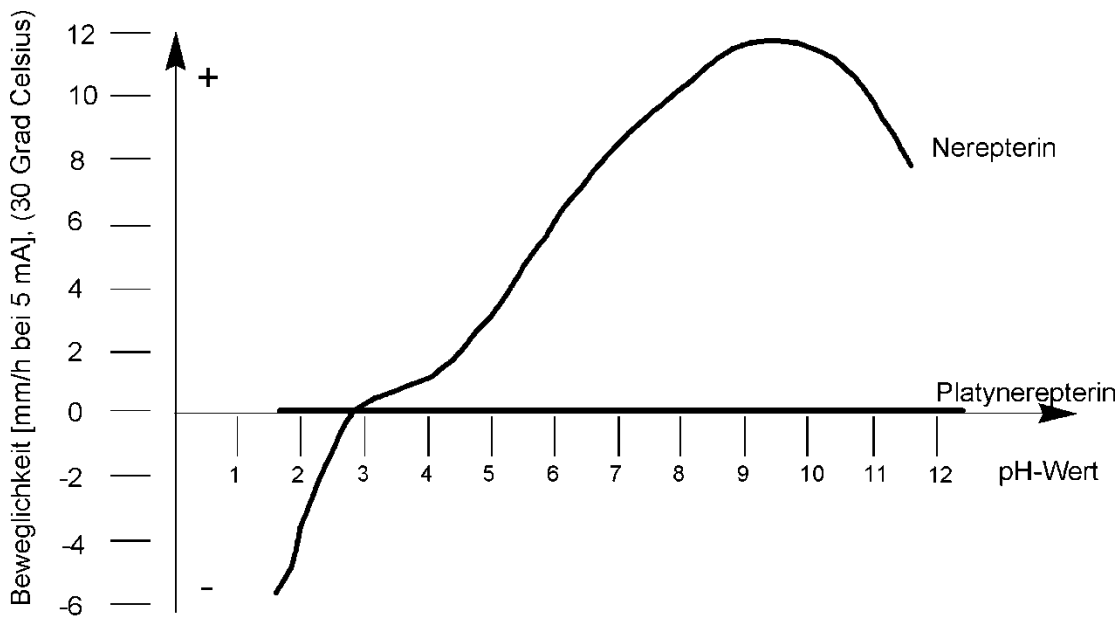


### 3.3.1. Physikalische und chemische Untersuchungen an Nerepterin und Platynerepterin.

#### 3.3.1.1. Physikalische Eigenschaften

##### 3.3.1.1.1. Elektrophorese

Von den beiden Pigmenten zeigte nur das Nerepterin Wanderung auf Cellulose. Das Platynerepterin blieb bei allen pH-Werten unbeweglich (Figur 20).



**Figur 20**

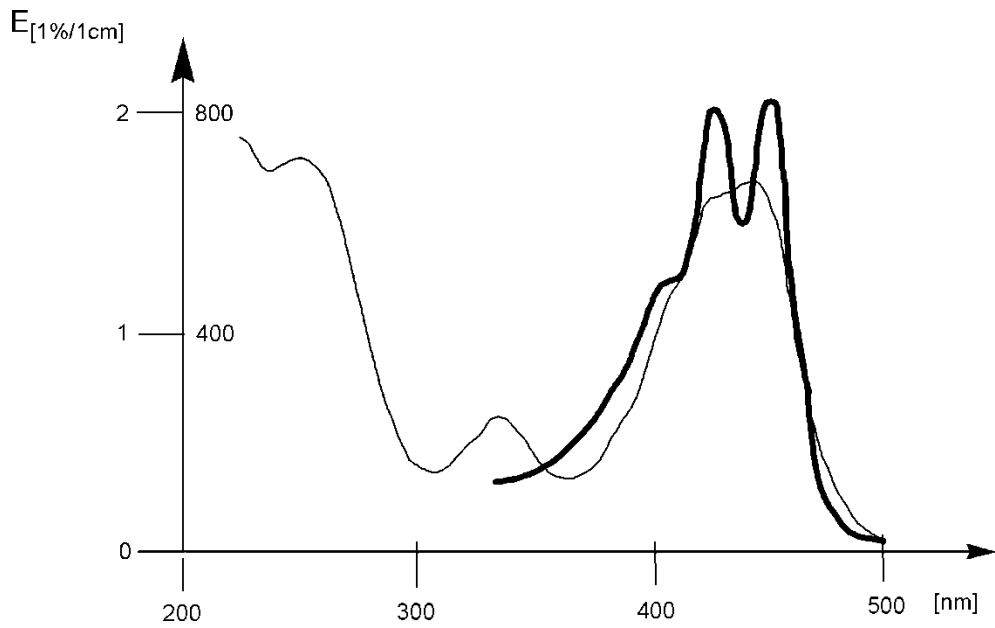
Elektrophorese von Nerepterin und Platynerepterin bei unterschiedlichen pH-Werten

Der isoelektrische Punkt von Nerepterin liegt bei pH 2,8

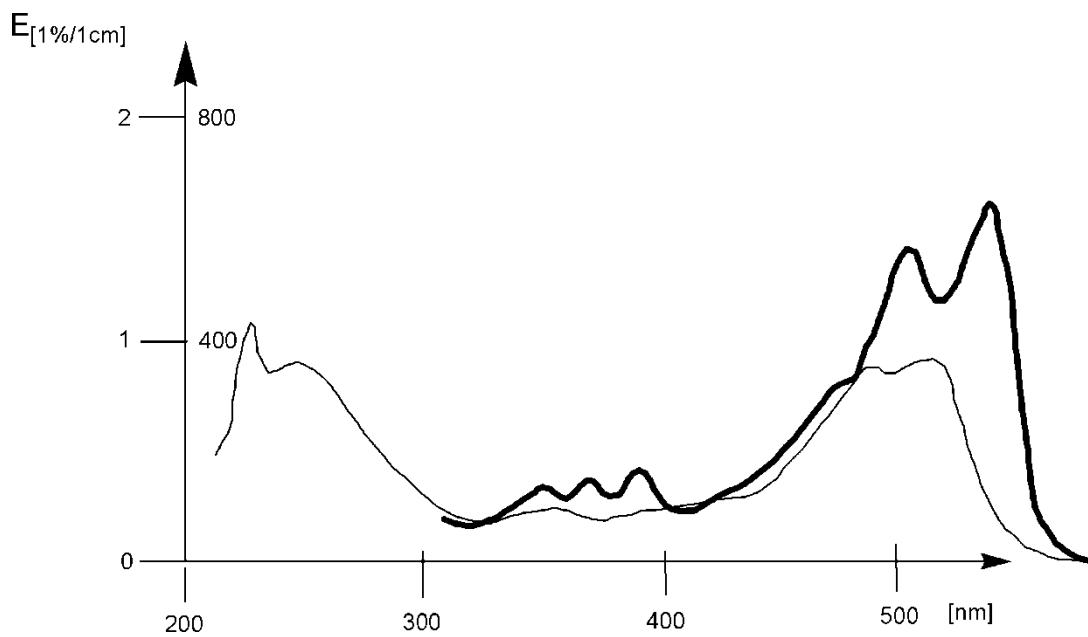
##### 3.3.1.1.2. Spektren von Nerepterin und Platynerepterin

###### 3.3.1.1.2.1. Elektronenspektren

Da die Molekularmassen von den Pigmenten unbekannt waren, wurden die Extinktionswerte für 1%ige Lösungen mit einer Schichtdicke von 1 cm aufgezeichnet (Figur 21 und Figur 22).

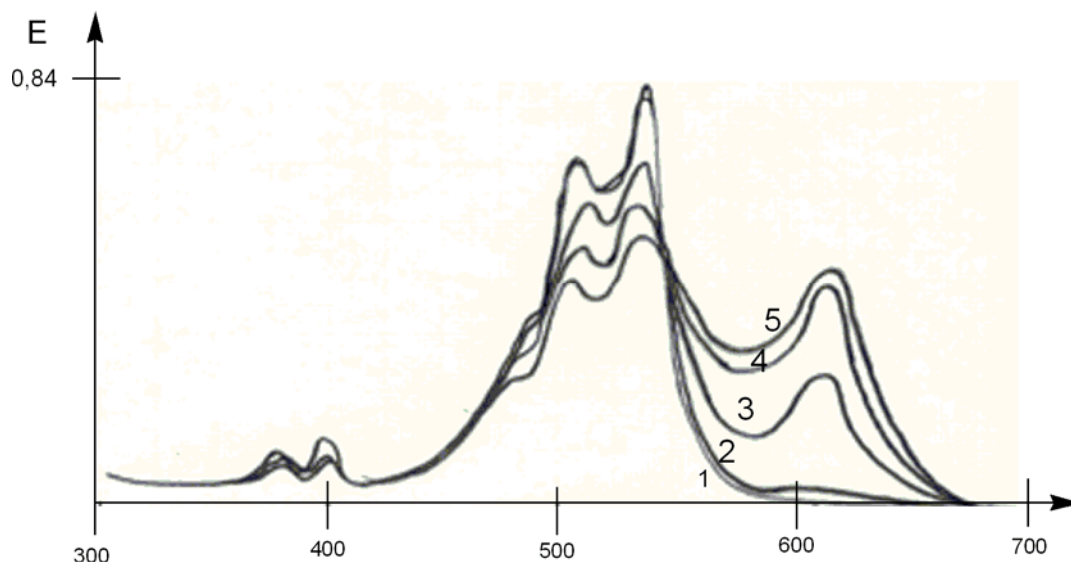


**Figur 21**  
Elektronenspektrum von Nerepterin in 90 % Ameisensäure (fett) und in 0,1 M Natronlauge (fein)



**Figur 22**  
Elektronenspektrum von Platynerepterin in 90 % Ameisensäure (fett) und in 0,1 M Natronlauge (fein)

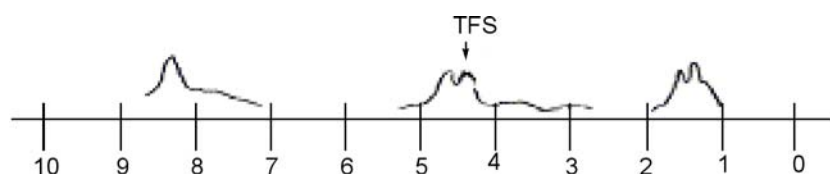
Wenn die Lösung von Platynerepterin in konzentrierter Ameisensäure vorsichtig mit Wasser verdünnt wurde, änderte sich die Farbe der Lösung zu einem intensiven Blau (Figur 23)



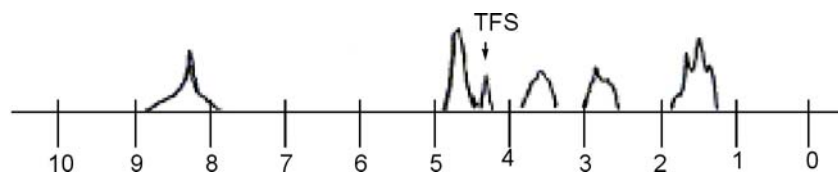
**Figur 23**  
Sichtbarspektrum von Platynerepterin in Ameisensäure und nach stufenweisem Verdünnen mit Wasser

### 3.3.1.1.2.2. $^1\text{H-NMR}$ Spektren

Als Folge von Substanzmangel und auf Grund der schlechten Löslichkeit der Produkte konnten FT-NMR Spektren nur in Trifluoressigsäure erhalten werden (Figur 24 und Figur 25).



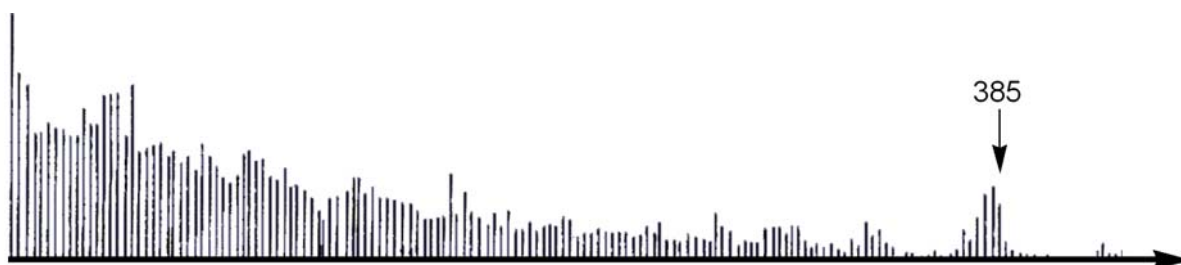
**Figur 24**  
 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Platynerepterin in Trifluorsulfonsäure



**Figur 25**  
 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Nerepterin in Trifluorsulfonsäure

### 3.3.1.1.2.3. Massenspektren

Die beiden Pigmente zeigten unterhalb 270° Celsius keinen Schmelzpunkt. Diese Eigenschaft drückte sich auch in den Massenspektren aus. Von Nerepterin konnte kein MS aufgenommen werden, Vom Platynerepterin konnte bei 385 m/e ein deutliches Signal beobachtet werden. (Figur 26).



**Figur 26**  
Massenspektrum von Platynerepterin

### 3.3.2. Chemische Abbaureaktionen

#### 3.3.2.1. Verbrennungsanalyse

Die bei einer Temperatur von 120° C und einem Druck von 0,02 Torr während 3 Stunden getrockneten Naturprodukte ergaben bei der Verbrennungsanalyse die in Tabelle 10 aufgeführten Werte.

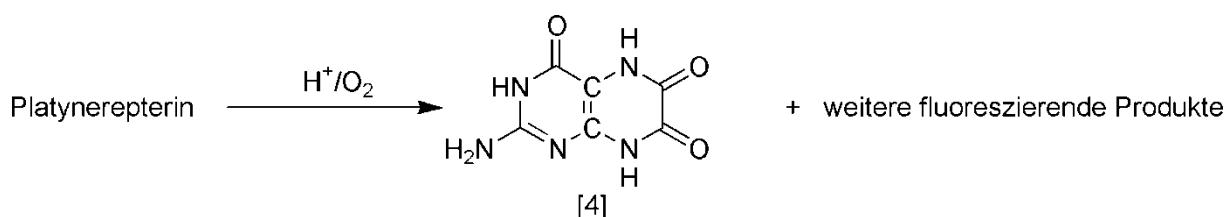
**Tabelle 10**

	m%C	m%H	m%N	%Rückstand	Einwaage (mg)
Nerepterin	43,78	4,74	15,59	6,88	1,2060
Nerepterin (korr. Werte)	47,04	5,10	16,75	0,00	1,1222
Platynerepterin 1. Analyse	43,90%	4,42	16,56	3,05	1,2635
Platynerepterin 1. Analyse (korr. Werte)	45,28	4,56	17,08	0,00	1,2250
Platynerepterin 2. Analyse			16,68	Spuren	

#### 3.3.2.2. Oxidation in saurem Milieu an Luft

Nach längerem Stehen lassen einer 50%-igen Ameisensäurelösung von Platynerepterin an der Luft, konnten dünn-schichtchromatographisch 11 verschiedene, zum Teil fluoreszierende Abbauprodukte nachgewiesen werden.

Eines der 4 fluoreszierenden Produkte konnte als Leukoapterin [4] identifiziert werden, sowohl durch Dünnschichtchromatographie und Elektrophorese als auch durch Elektronenspektren. Nerepterin erwies sich unter diesen Bedingungen als stabil.



### 3.3.2.3. Verhalten in basischem Milieu und unter Lichteinfluss

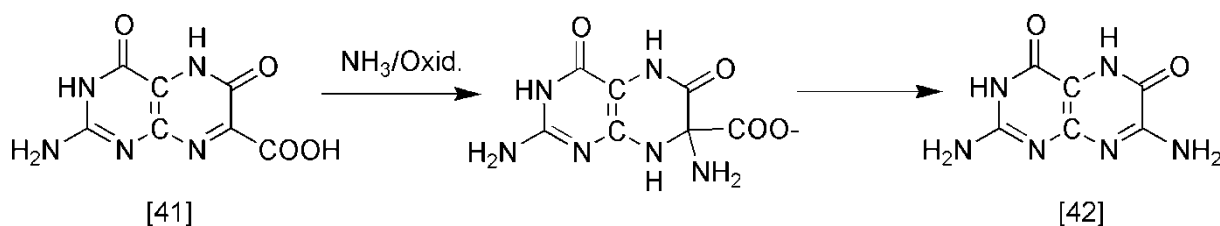
In der Dunkelheit waren das Nereppterin und das Platynereppterin in 1,0 M Natriumhydroxidlösung relativ stabil. So konnte nach 1 tägigem Stehen lassen einer 1,0 M Lösung keine Änderung der Elektronenspektren festgestellt werden. Sobald jedoch die Lösungen an Licht aufbewahrt wurden, zersetzten sich die Produkte schnell zu leicht gelblichen, bläulich fluoreszierenden Lösungen. An direktem Sonnenlicht war nach ca. 1 Stunde kein Ausgangsprodukt mehr sichtbar.

Dünnschichtchromatographisch konnte als Abbauprodukt des Platynereppterins die Xanthopterin-7-carbonsäure [41] oder eine damit sehr verwandte Verbindung wahrscheinlich gemacht werden.

Es zeigte sich, dass beim Isolieren des Abbauproduktes des Platynereppterins die Fluoreszenz des zuerst gelb erscheinenden Produktes in ein intensives Blau überging, sobald Ammoniak zur Aufarbeitung verwendet wurde. Dasselbe Verhalten konnte auch bei der Xanthopterin-7-carbonsäure [41] nachgewiesen werden.

Synthesen dieses blau fluoreszierenden Produktes durch Stehen lassen der Xanthopterin-7-carbonsäure [41] in konzentriertem Ammoniak an Luft, zeigten die Bildung von 7-Aminoxanthopterin [42].

Die Strukturaufklärung von 7-Aminoxanthopterin [42] wurde anhand von NMR, MS, UV und CHN-Analyse durchgeführt.



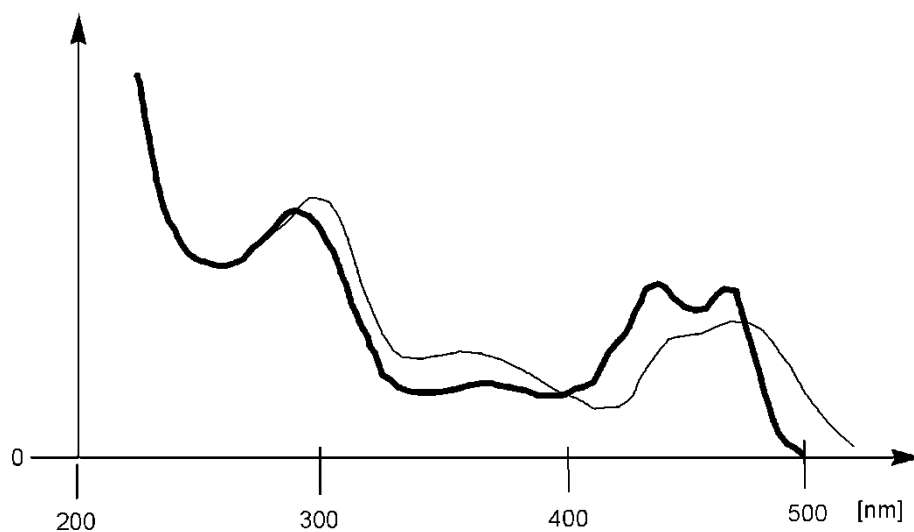
### 3.3.2.4. Oxidation mit Kaliumpermanganat

Wenn Platynereppterin und Nereppterin, welche in 0,1 M Natronlauge gelöst waren, mit einem geringen Überschuss an verdünnter Kaliumpermanganatlösung versetzt wurden, konnte bei beiden ein identisches blauviolett fluoreszierendes Abbauprodukt nachgewiesen werden. Dünnschichtchromatographisch erwiesen sich die Abbauprodukte als identisch.

Wenn Platynereppterin mit einem geringen Unterschuss an Kaliumpermanganatlösung versetzt wurde, konnten 8 fluoreszierende Produkte dünnschichtchromatographisch festgestellt werden. Die Identifizierung der Produkte gelang nicht.

### 3.3.2.5. Ozonolyse der Pigmente

Platynereppterin wurde in Ameisensäure gelöst und ein Überschuss an Ozon durchgeleitet. Die Lösung färbte sich gelb und wurde nach oxidativer Ozonidsplaltung untersucht. Es wurden 2 Abbauprodukte gefunden: Ein wie Nereppterin gelbgrün fluoreszierendes Produkt, das im sichtbaren Bereich ein ähnliches Spektrum (Figur 27) hatte wie Nereppterin nach Periodatsplaltung oder das mit  $\text{NaBH}_4$  reduzierte Platynereppterin. Das andere Produkt war ein blau fluoreszierendes Produkt in geringer Menge.



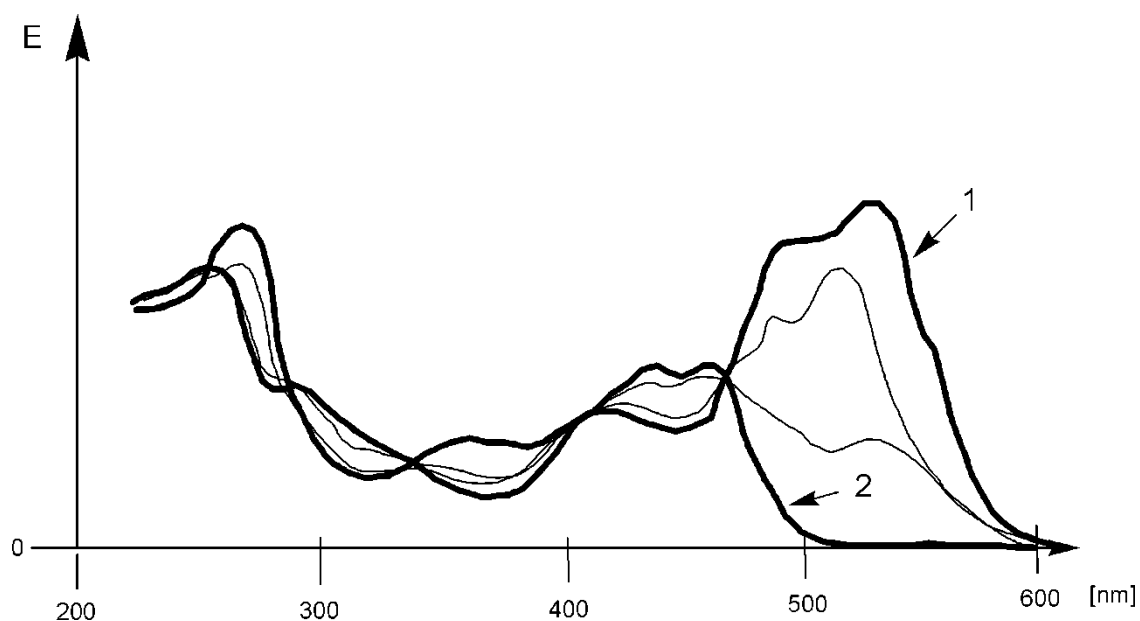
**Figur 27**

*Produkt aus der Ozonolyse von Platynerepterin in saurem Milieu (fett) und in basischem Milieu (fein)*

Bei der Ozonolyse von Nerepterin, die auf die gleiche Art wie die des Platynerepterins durchgeführt wurde, konnte selbst bei 10 fachem Ozonüberschuss keine Veränderung des Ausgangsproduktes festgestellt werden.

### 3.3.2.6. Reduktion mit Natriumborhydrid

Platynerepterin konnte mit Natriumborhydrid, welches im Überschuss zu einer basischen Lösung gegeben wurde, zu einem gelben Produkt reduziert werden, das ein dem Nerepterin beinahe identisches UV-Sichtbarspektrum aufwies. Die Reduktion des Platynerepterins konnte Aufnahmen von Elektronenspektren verfolgt werden. Es zeigten sich stabile isosbestische Punkte (Figur 28). Im Gegensatz zu Nerepterin war das reduzierte Platynerepterin in saurer Lösung jedoch nicht stabil und wurde vollständig wieder zum Platynerepterin zurückoxidiert.



**Figur 28**

*Reduktion von Platynerepterin mit Natriumborhydrid. (Anfang: Kurve 1, Ende: Kurve 2)*

Das Nerepterin wurde unter den Bedingungen bei denen das Platynerepterin mit Natriumborhydrid reduziert wurde, nicht reduziert.

### 3.4. Zur Struktur von Nerepterin und Platynerepterin

#### 3.4.1. Diskussion der Spektren

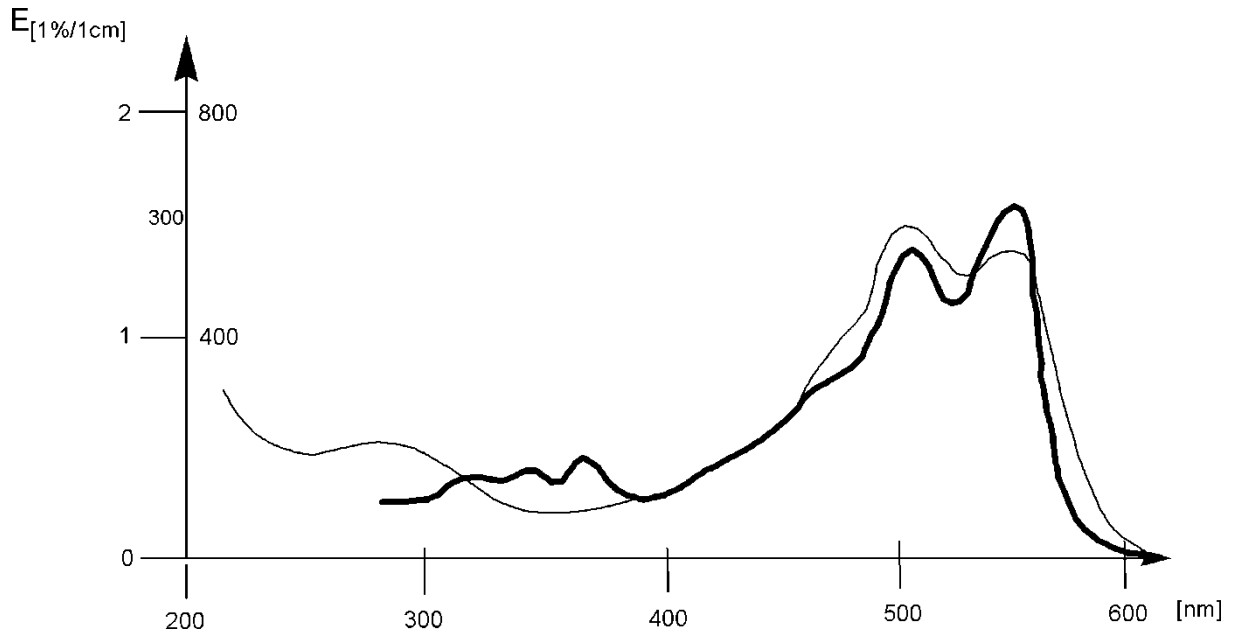
##### 3.4.1.1. Elektronenspektren

Auffällig an den Elektronenspektren von Platynerepterin und Nerepterin sind die bei beiden Verbindungen ausgeprägt in stark sauren Lösungsmitteln vorkommenden Doppelmaxima bei 430 nm und 458 nm bei Nerepterin und 508 nm und 543 nm bei Platynerepterin. In Tabelle 11 sind die Charakteristika dieser Spektren und die einiger weiterer natürlicher Pterinpigmente aufgezeichnet.

**Tabelle 11**

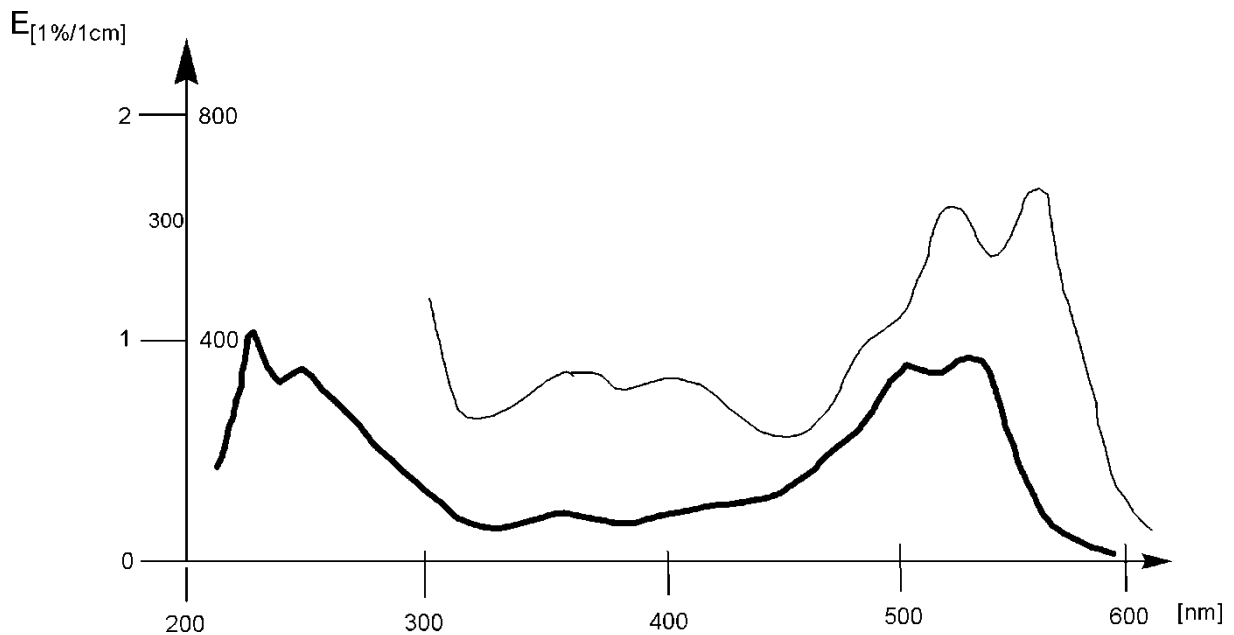
Substanz	Milieu (pH)	$\lambda_{\text{Max}}$ in nm (Extinktion einer 1% Lösung)	Lit.
Nerepterin	50% Ameisensäure	430 (784), 458 (800)	
	0,1 M Natronlauge	431 (640), 446 (664)	
Platynerepterin	90% Ameisensäure	508 (528), 545 (610)	
	0,1 M Natronlauge	487 (328), 517 (352)	(103)
Sepiapterin [13]	pH 1	410 (350)	(104)
	0,1 M Natronlauge	440 (510)	
Drosopterin	pH 1	473 (720)	
	0,1 M Natronlauge	503 (850)	
Erythropterin [10]	90% Ameisensäure	428 (332)	
	0,1 M Natronlauge	464 (490)	
Lepidopterin [11]	90% Ameisensäure	453 (600), 487 (600)	
	0,1 M Natronlauge	460 (526)	
Pterorhodin [12]	Ameisensäure	506 (576), 543 (544)	
	0,1 M Natronlauge	503 (632), 538 (656)	

Vergleiche der Sichtbarspektren des Platynerepterins mit denen des Pterorhodin [12] zeigten eine grosse Ähnlichkeit. Vor allem zeigen die beiden Produkte in saurem Lösungsmittel ähnliche Spektren (Figur 29)



**Figur 29**  
*Platynerepterin (fett) und Pterorhodin [12] (fein) in saurem Milieu*

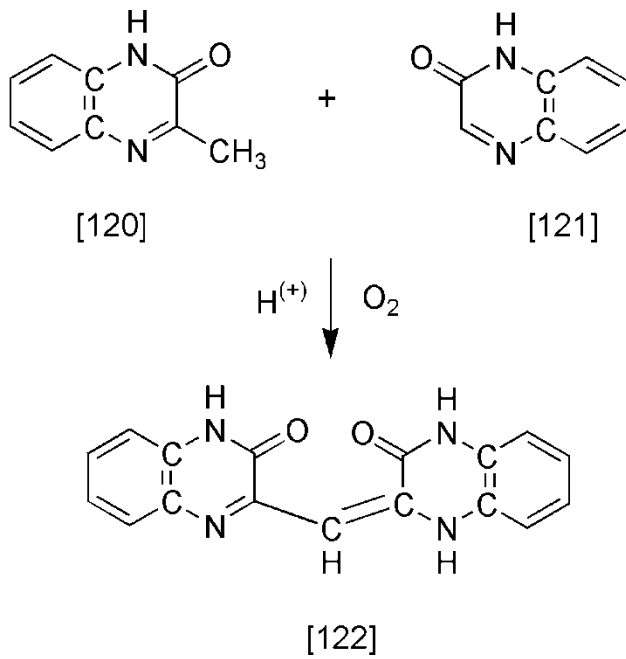
Ein grösserer Unterschied zwischen den beiden Produkten zeigte sich erst in basischem Milieu (Figur 30).



**Figur 30**  
*Platynerepterin (fett) und Pterorhodin [12] (fein) in basischem Milieu*

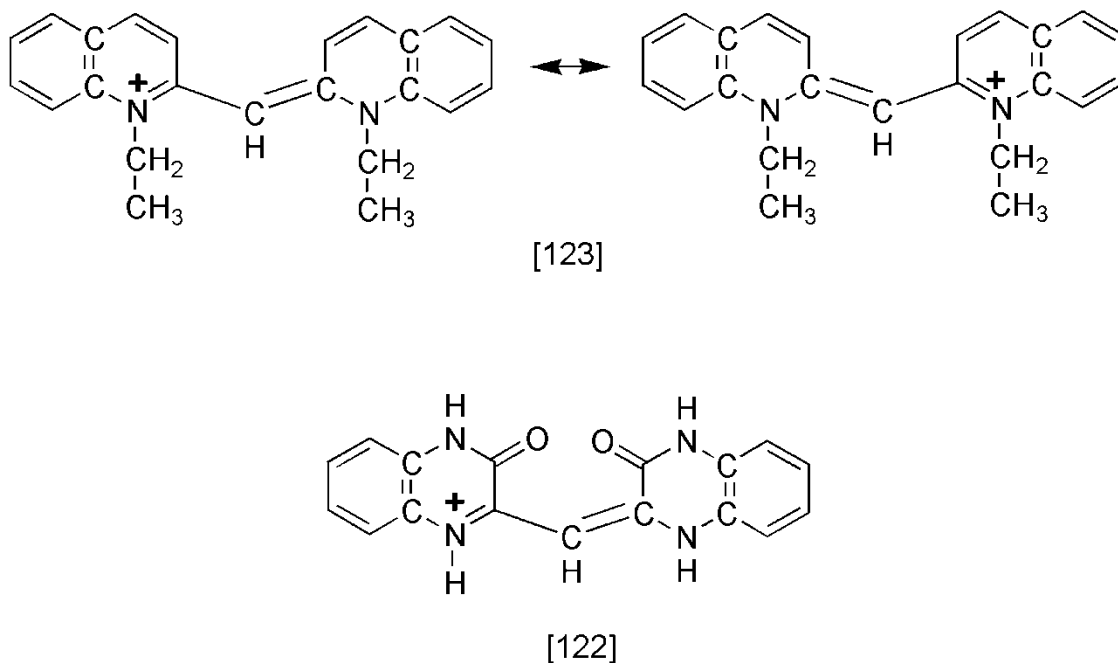
Die Frage nach der Art des in Pterorhodin [12] und eventuell auch in Platynerepterin vorliegenden Chromophors wurde mit Hilfe einer Modellverbindung zu lösen versucht. So wurde das Kondensationsprodukt [122] von 2-Methylchinoxazon [120] und Chinoxazon [121] - analog der Synthese der Pterorhodins [12] aus 7-Methylxanthopterin [8] und Xanthopterin [6] (105) - synthetisiert.





Die Ausgangsprodukte wurden nach einer Vorschrift von Hinsberg synthetisiert (106).

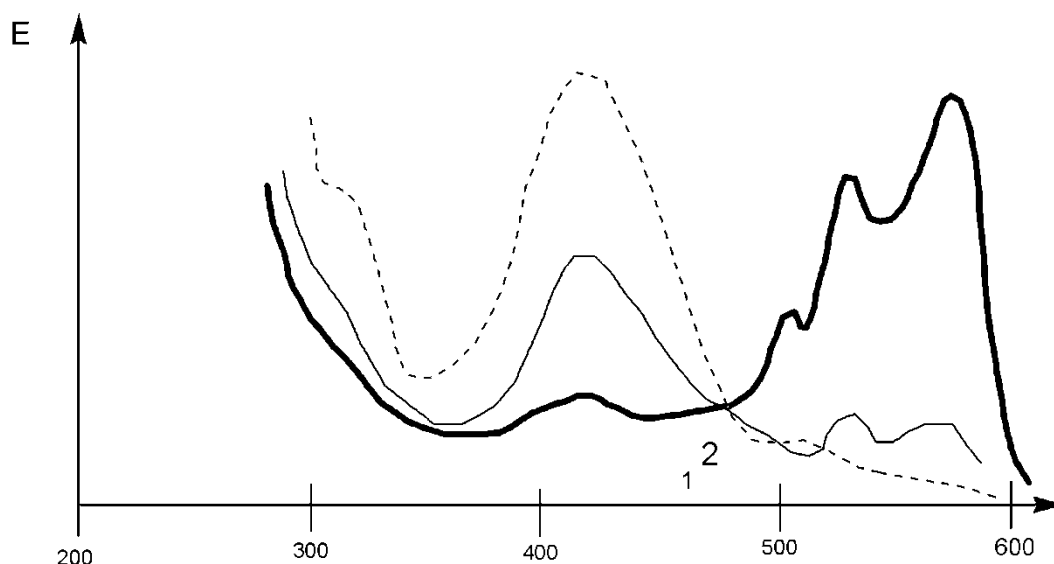
Das gebildete Kondensationsprodukt [122] war ein gelbes Produkt, das durch Zugabe von Säure in ein intensiv rot gefärbtes Produkt umgewandelt wurde. Durch Verdünnen mit Wasser wurde wieder das gelbe Produkt erhalten. Die Elektronenspektren der protonierten Form des Kondensationsproduktes [122] sind denen des Pseudoisozyanins [123] sehr ähnlich (Figur 31) (107).



**Figur 31**

Protonierte Form von [122]

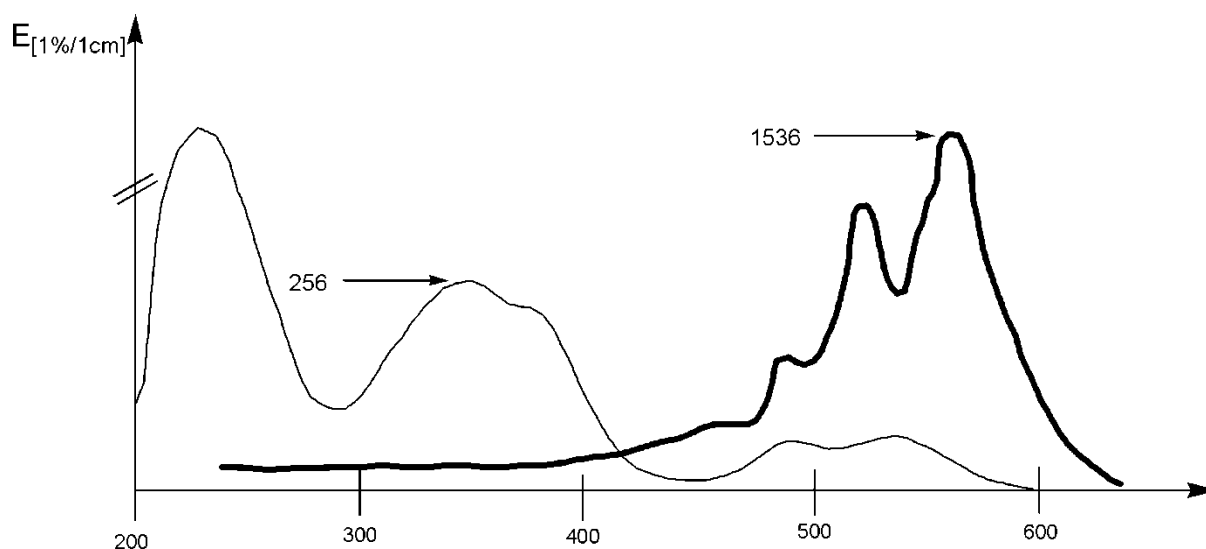
Elektronenspektren des Kondensationsproduktes [122] wurden in unterschiedlich starken Säuren aufgezeichnet (Figur 32).



**Figur 32**

Elektronenspektrum des Kondensationsproduktes [122] in konzentrierter Schwefelsäure (fett), in konzentrierter Ameisensäure (fein) und in verdünnter Ameisensäure (gepunktet)

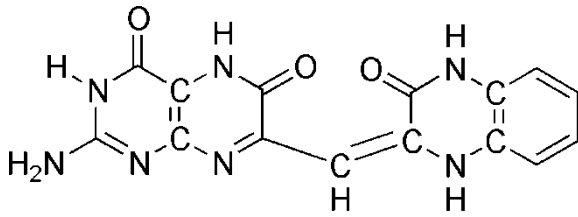
Gleiches optisches Verhalten wie das Kondensationsproduktes [122], zeigte auch das Kondensationsprodukt [124] von Xanthopterin [6] mit 2-Methylchinoxazon [120], welches in saurem Milieu rot, in basischem gelb war (Figur 33).



**Figur 33**

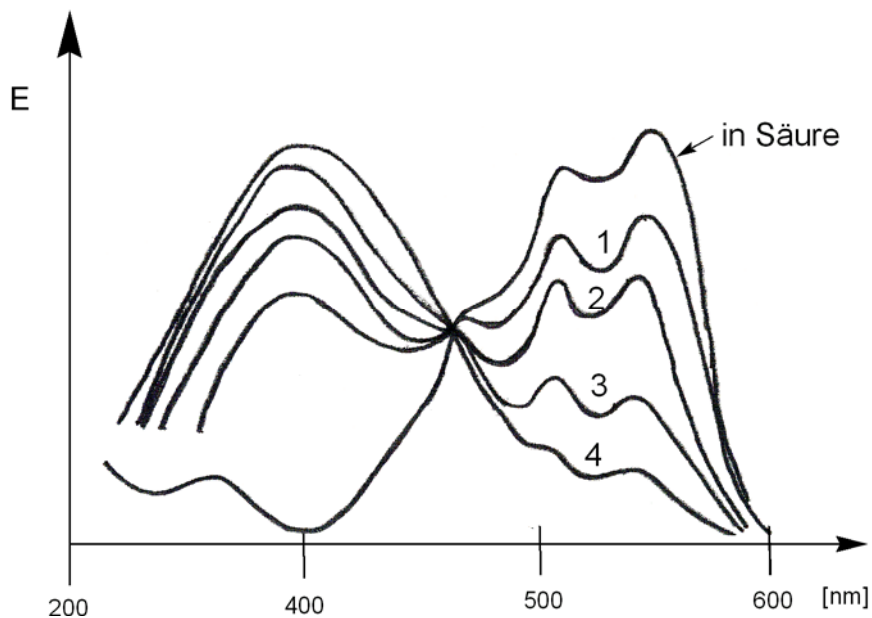
Elektronenspektrum des Kondensationsproduktes [124] in konzentrierter Ameisensäure (fett), in 0,1 M Natronlauge (fein)

Dieses Kondensationsprodukt [124] wurde ebenfalls erhalten, wenn Erythropterin [10] mit o-Phenylendiamin kondensiert wurde (108).



[124]

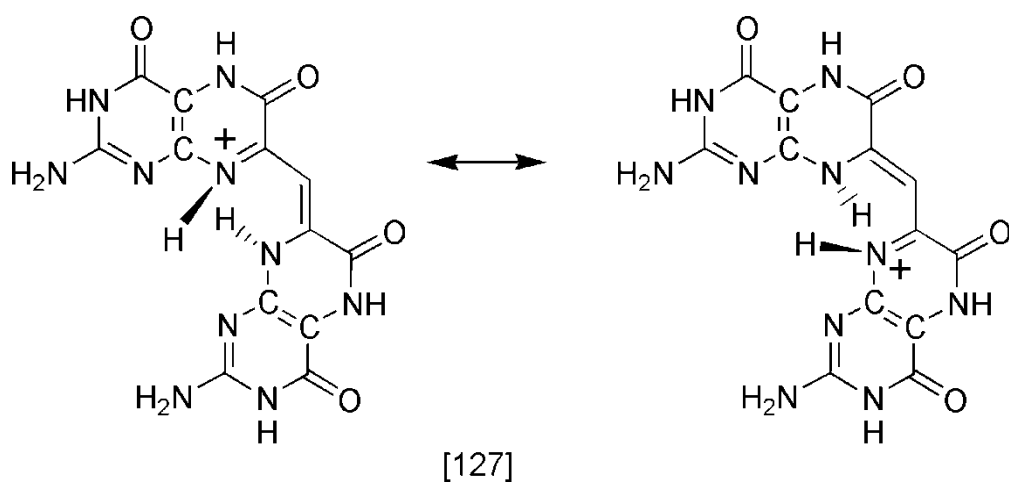
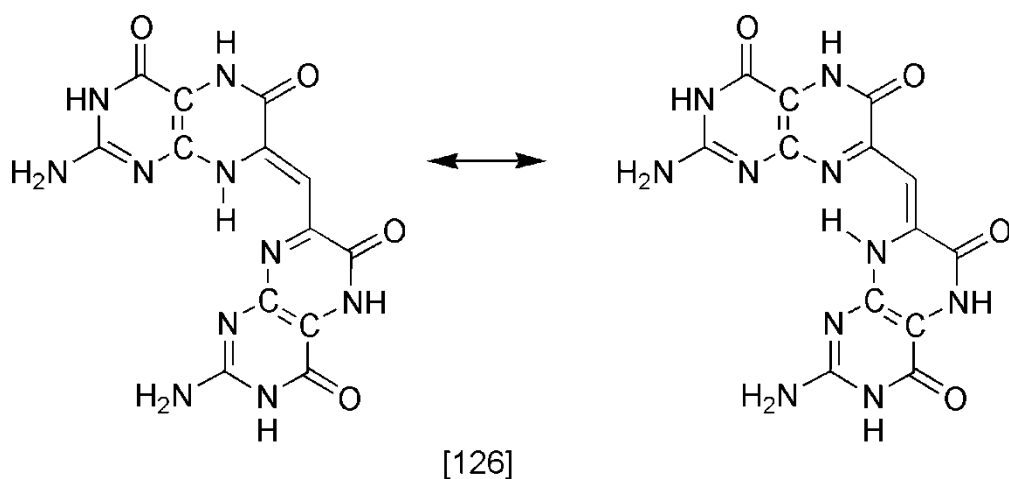
Das Pterorhodin [12] zeigte ein zum Kondensationsprodukt [124] unterschiedliches Verhalten. In Säure war das Produkt stabil und zeigte die bekannte rote Farbe. Wenn das Produkt in Base gemessen wurde, konnte gleich nach dem Lösen noch ein rotes Produkt gemessen werden, welches aber nach ca. 15 Minuten in ein neues Produkt umgewandelt wurde, welches aber wiederum zu wenig stabil war, um in grossen Mengen isoliert zu werden (Figur 34). Durch Ansäuern der Lösung konnte wieder das Pterorhodin [12] erhalten werden. Wenn das Zwischenprodukt zu lange stehen gelassen wurde, konnte als Abbauprodukt nur noch das Leukopterin [4] und das 7-Methylxanthopterin [8] erhalten werden.



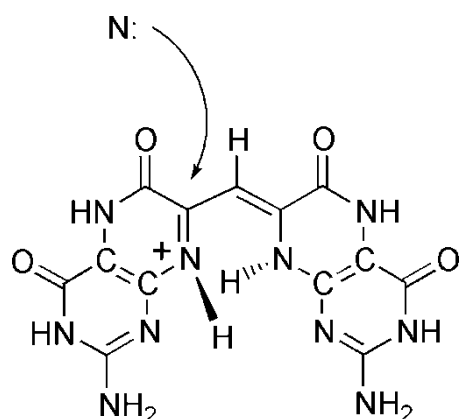
**Figur 34**  
Elektronenspektrum des Pterorhodins [12] in 0,1 M Natronlauge

Da die Kondensationsprodukte [122] und [124] erst durch Protonierung die rote Farbe erhalten, kann angenommen werden, dass bei Pterorhodin [12] auch eine ähnliche Gruppierung vorliegen müsste.

Möglich beim nicht protonierten Pterorhodin [12] wäre die Struktur [126] mit einem Proton zwischen den beiden N(8)-Atomen oder beim protonierten Pterorhodin eine Struktur [127] wie sie z.B. bei den Neutrocyaninen angenommen wird.



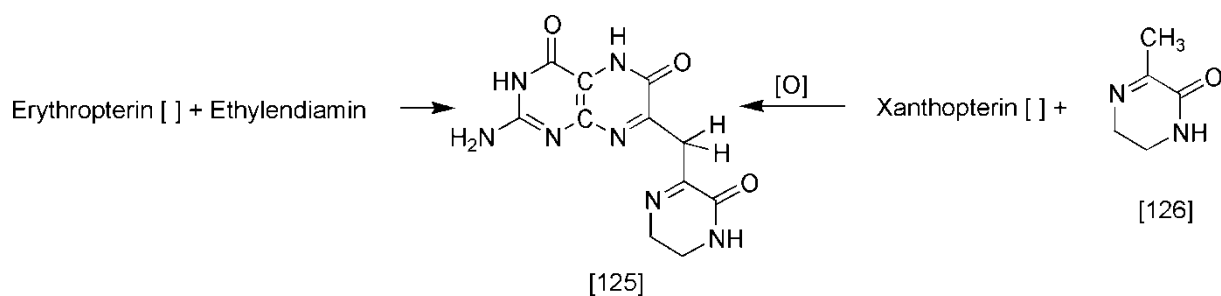
Ein nukleophiler Angriff durch Donatormoleküle würde leicht in  $\alpha$ -Stellung der Cyaninkette erfolgen (109).



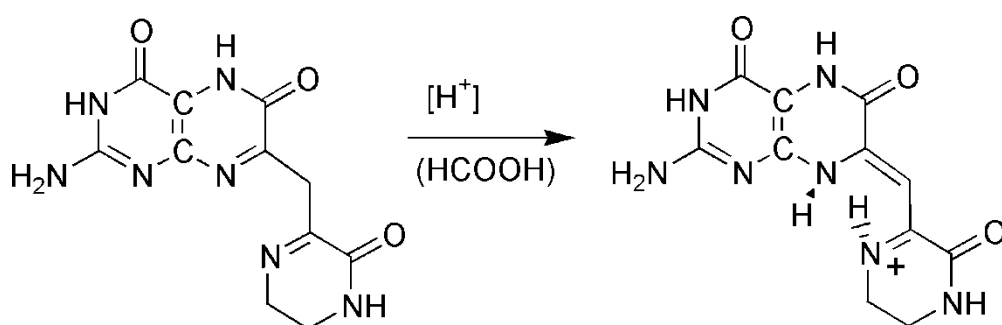
Bei weiteren 7-substituierten Xanthopterinderivaten konnte dasselbe spektroskopische Verhalten in Säure beobachtet werden. So zeigte das Lepidopterin [11] in Base ein Absorptionsmaximum bei 460 nm, in Säure dagegen ein Doppelmaximum bei 453 nm und 487 nm.

Da das Lepidopterin [11] äusserst schwierig rein zu isolieren war, wurde zuerst ein stabileres Produkt [123] synthetisiert, indem Erythropterin [10] mit Ethylendiamin versetzt wurde und so ein Produkt [125] erhalten wurde, das stabil in Säure und Base war und ein dem Lepidopterin [11] analoges optisches Verhalten zeigte. Dasselbe Produkt [125] wurde auch

erhalten durch Kondensation von Xanthopterin [6] mit 3 Methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-2-on [126].

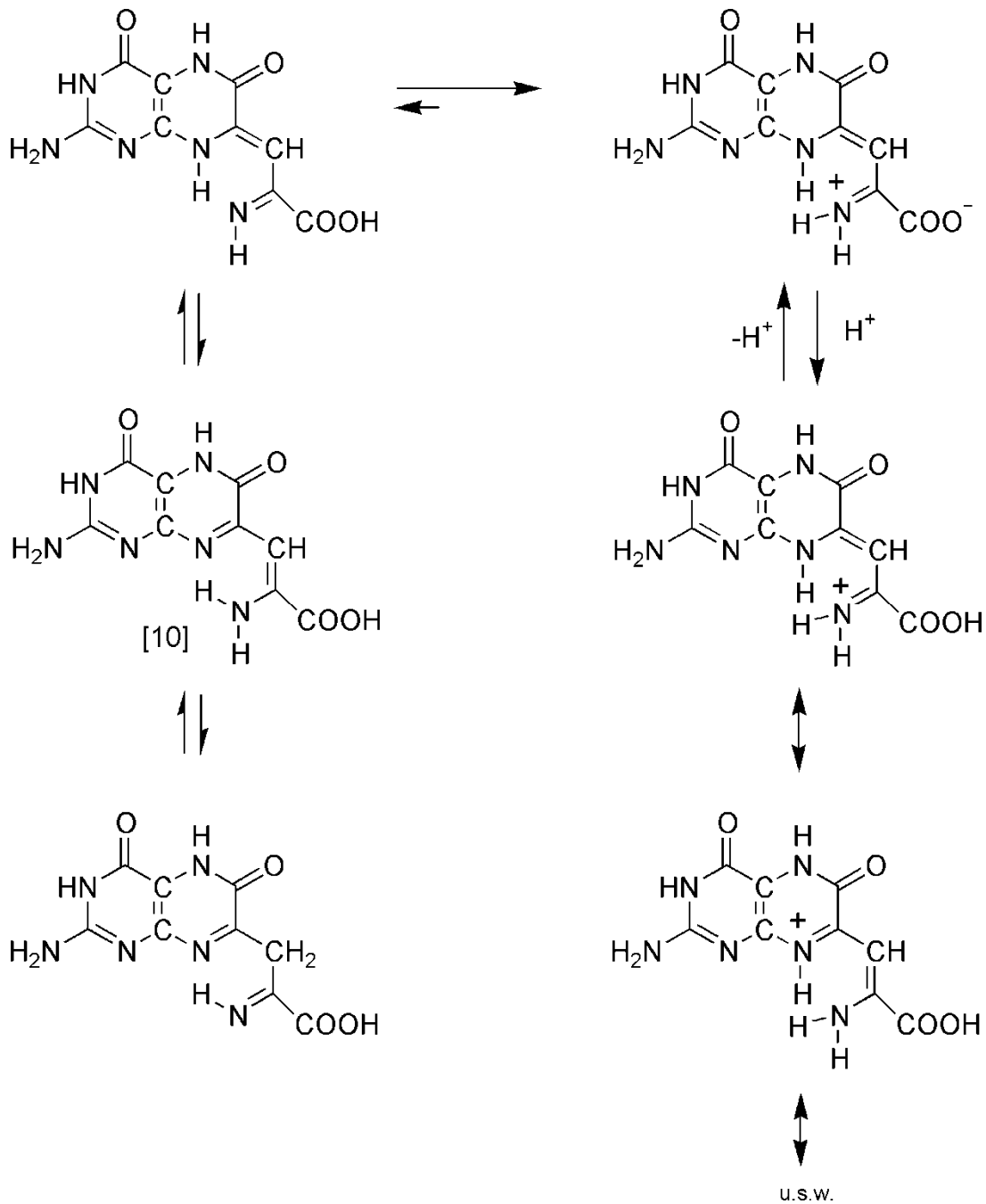


In Base zeigt das Produkt [125] ein  $\lambda_{\text{Max}}$  von 468 nm. Das durch Ameisensäure protonierte Produkt [125] (Figur 35) zeigt ein Doppelmaximum bei 471 nm und 495 nm.



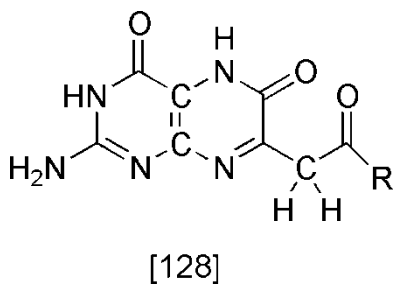
**Figur 35**  
Produkt [125] in Ameisensäure

Diese tautomere Struktur kann für Lepidopterin [11] schon in neutraler Lösung vorkommen, wenn man berücksichtigt, dass das Proton von der Carbonsäure an die basischste Stelle im Molekül verschoben werden kann, so dass ein Zwitterion vorläge (Figur 36).

**Figur 36**

*Tautomere und mesomere Strukturen des Lepidopterins [11] und seiner protonierten Form*

Verbindungen mit der Grundstruktur [128] zeigten in Säure ebenfalls einen bathochromen Shift, jedoch genügt in diesen Fällen Ameisensäure nicht, sondern Protonierung der weniger basischen Produkte als z. B. Lepidopterin [11] erfolgte erst in Schwefelsäure.

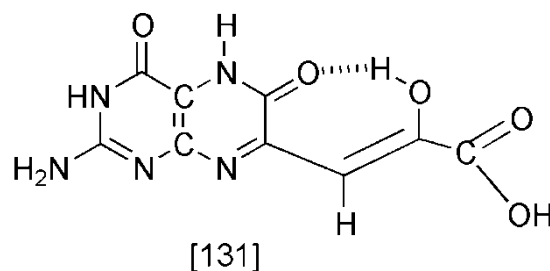
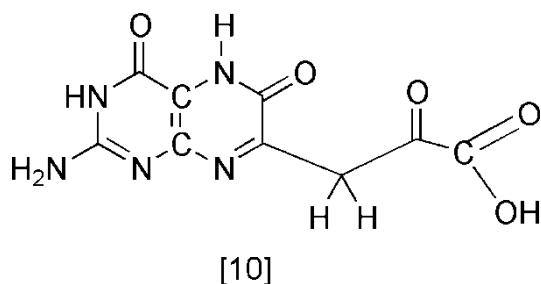


In der nachfolgenden Tabelle 12 sind die Daten aus den Elektronenspektren zusammengestellt.

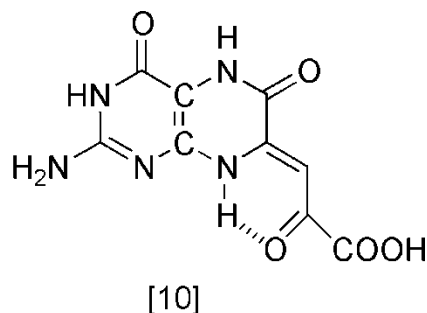
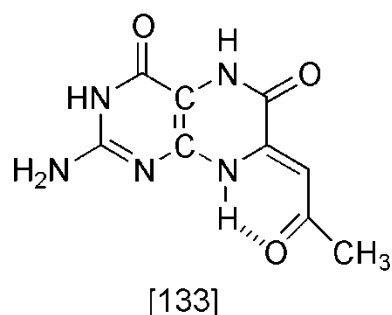
**Tabelle 12**

	0,1 M Natronlauge	Ameisensäure	konz. Schwefelsäure
Erythropterin [10]	464 (490)	428 (332)	417 (456), 437 (480)
7-Acetyl-xanthopterin [133]	430 (472)	390 (816)	434 455
Kondensationsprodukt von Xanthopterin [6] mit Acetophenon	479 (1040)	425 (624)	473 500

Vorschläge und Arbeiten über die Struktur des Erythropterins [10] wurden 1962 und 1963 von 2 verschiedenen Arbeitsgruppen unternommen. So erklärte Pfeleiderer als die wesentliche Veränderung des Erythropterin-Chromophors gegenüber dem des 7-Methylxanthopterins [8] die Enolisierung in der Seitenkette, was eine Verlängerung des konjugierten Systems ergibt, wie die Struktur [131] zeigt (110).

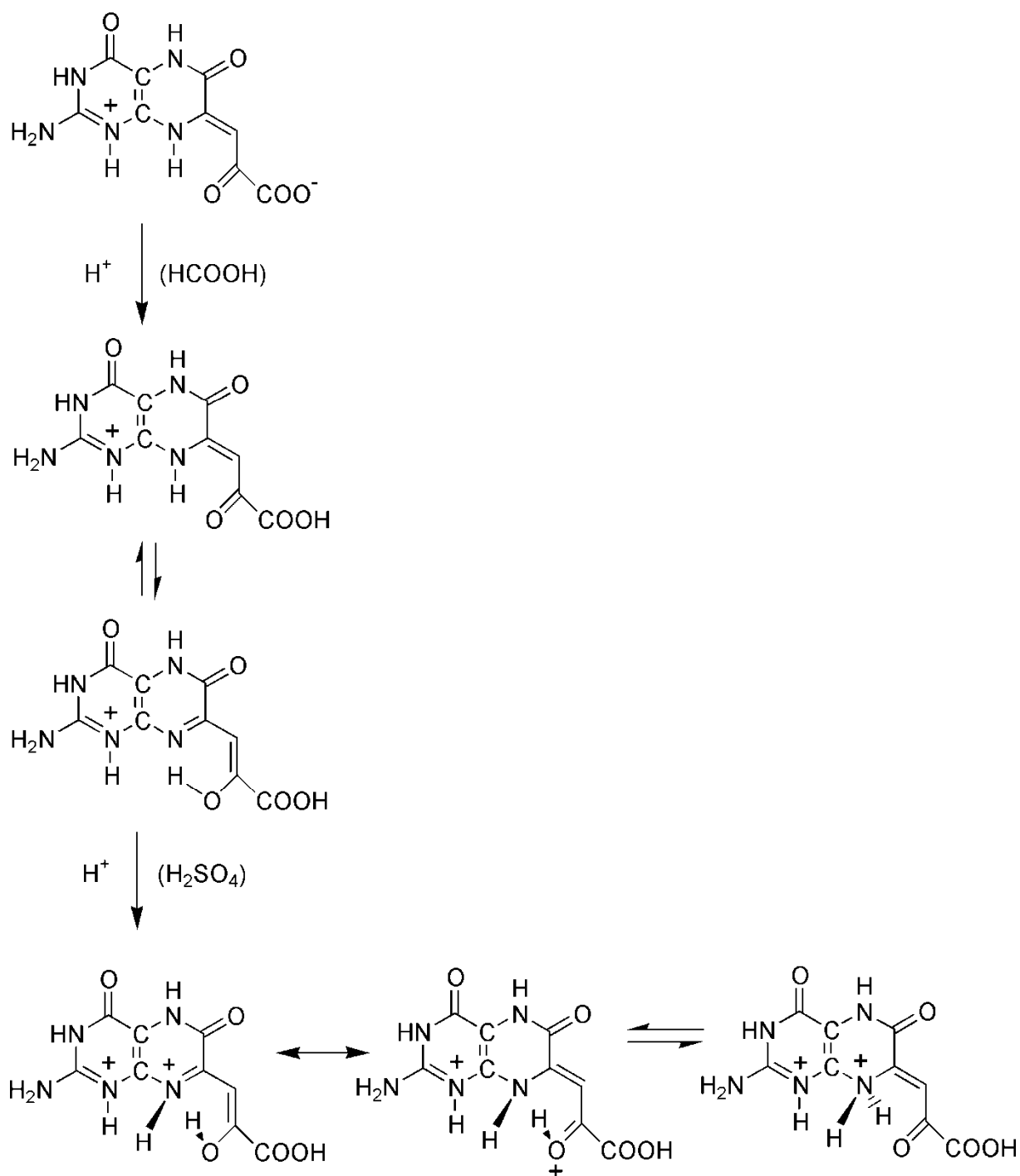


Die andere Arbeitsgruppe (111) schlug eine exocyclische Doppelbindung an der 7-Stellung als den entscheidenden Unterschied des Chromophors des Erythropterins [10] und des 7-Acetyl-xanthopterins [133] gegenüber dem des 7-Methylxanthopterins [8] vor.



Für den Chromophor und die Struktur der protonierten Formen dieser Verbindungen könnte man die in Figur 37 für Erythropterin [10] angegebenen Strukturen annehmen.

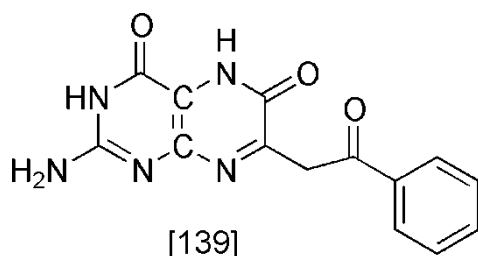
Die erste Protonierung tritt bei Xanthopterin [6] und Xanthopterin-derivaten an N(1) ein, die zweite am N(8) (112). Es kann angenommen werden, dass das Erythropterin [10] als Neutalmolekül als Ampholyt vorliegen könnte ( $pK_i = 1$ ), wobei die erste Protonierung dann am Carbonsäureanion stattfinden könnte.



**Figur 37**  
Strukturen der protonierten Form von Erythropterin [10]

Eine exocyclische Doppelbindung kann auch für die protonierte Form des Kondensationsproduktes [139] aus Xanthopterin [6] und Acetophenon auf Grund der UV-Sichtbarspektren angenommen werden.

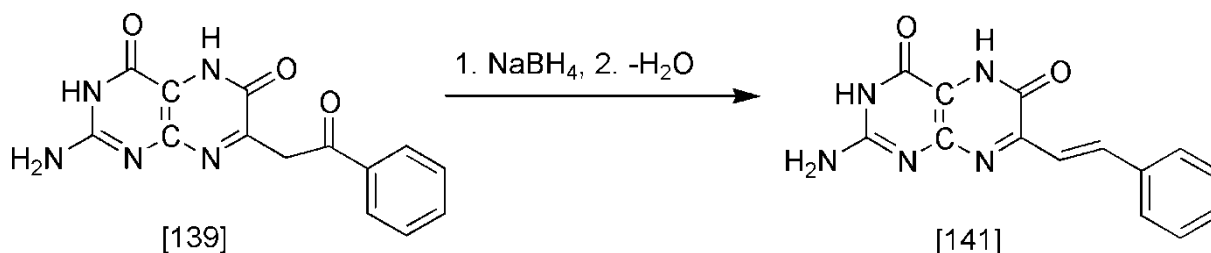




§

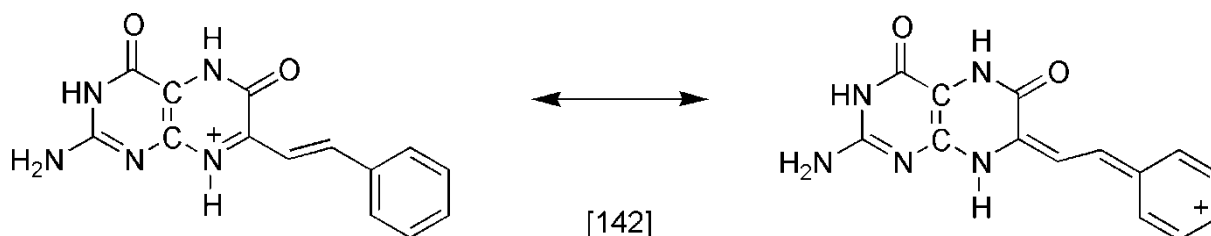
Dasselbe Produkt [139] wurde auch von Iwanami und Seki 1972 (113) durch Kondensation von 2, 5, 6-Triamino-4-hydroxypyrimidin-sulphat mit Benzoylbrenztraubensäureethylester synthetisiert. Sie erhielten ein oranges Produkt mit einem  $\lambda_{\max}$  in 0.1 M Natronlauge von 422 nm (Das von uns synthetisierte Produkt zeigte ein  $\lambda_{\max}$  in 0.1 M Natronlauge von 479 nm!), dem Sie auf Grund des NMR-Spektrums in Schwefelsäure die schon von W. v. Philipsborn, H. Stierlin und W. Traber (117) vorgeschlagene Enaminstruktur gaben. Als Begründung des Vorschlages wurde das Fehlen eines Signals zwischen 0 bis 7,17 ppm angegeben. Eine Enolform wurde ausgeschlossen, da die bei tiefstem Feld erscheinenden aromatischen Protonen bei 8,3 ppm erschienen und somit ortho zu einer Carbonylgruppe stehen mussten.

Ein weiteres Xanthopterinderivat wurde von uns synthetisiert, welches einen ausgeprägten bathochromen Schift in Schwefelsäure zeigte. Es handelte sich um das Kondensationsprodukt [141] von 7-Methylxanthopterin [8] mit Benzaldehyd. Dasselbe Produkt [141] wurde auch durch Reduktion des Kondensationsproduktes [139] mit Natriumborhydrid und anschließender Wasserabspaltung erhalten.



In 0,1 M Natronlauge zeigte das Produkt ein Absorptionsmaximum bei 452 nm, in Ameisensäure eines bei 430 nm und in Schwefelsäure ein Doppelmaximum bei 515 nm und 547 nm.

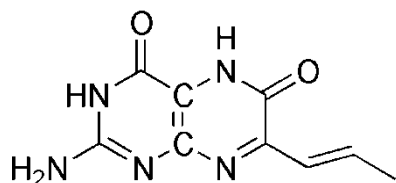
Als Erklärung dieses bathochromen Schiftes um mehr als 100 nm könnte das in Schwefelsäure durch Protonierung gebildete Produkt [142] vorgeschlagen werden.



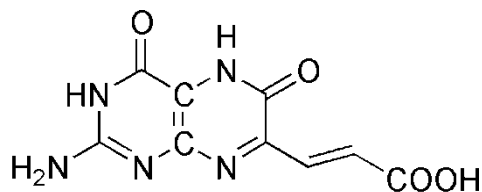
Zwei weitere von uns synthetisierte Produkte, das 7-Propyl-1-en-xanthopterin [143] und das Dehydroekapterin [144] zeigten in Säuren keinen bathochromen Schift wie das 7-Styrylxanthopterin [141], da die positive Ladung an N(8) die durch die Protonierung entstand, nicht delokalisiert werden kann.

Synthetisiert wurde das 7-Propyl-1-en-xanthopterin [143] durch Reduktion des 7-Acetylxanthopterins [133] mit Natriumborhydrid und anschließender Wasserabspaltung in

Säure. Das Dehydroekapterin [144] wurde sowohl erhalten durch Reduktion des Erythropterins [10] mit Natriumborhydrid zum Ekapterin [9] und anschließender Wasserabspaltung, als auch durch Kondensation von 7-Methylxanthopterin [8] mit Glyoxylsäurealdehyd in Säure, wobei als Nebenprodukt auch Ekapterin [9] erhalten werden konnte.



[143]



[144]

### 3.4.1.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektren

Die Spektren der Augenpigmente sind nicht eindeutig interpretierbar auf Grund der schlechten Auflösung der Signale. Eine Verwandtschaft zwischen den beiden Pigmenten, unter Berücksichtigung der Indizien aus anderen Analysen, kann als gesichert gelten (Tabelle 13).

#### Tabelle 13

Lage der Signale in Trifluoressigsäure (ppm)

Platynerepterin	8,26	4,49	3,63	3,10	1,41
Nerepterin	8,23	4,28	3,52	2,95	1,46

Unter der Annahme, dass das Nerepterin und das Platynerepterin entweder zu den Xanthopterinderivaten oder den 7,8-Dihydropterinderivaten zuzuordnen sind, wie dies bisher für alle natürlichen farbigen Pterine der Fall war, könnte man folgende Strukturelemente annehmen:

Das Singulett bei 8,26 ppm bei Platynerepterin und bei 8,23 ppm bei Nerepterin könnte den C(2)-NH-Protonen entsprechen, die bei Xanthopterin [6] in TFS bei 8,35 ppm erscheinen (in FSA bei 7,5-7,7 ppm). In diesem Bereich findet man auch das Vinylproton des Pterorhodins [12], das in Schwefelsäure bei 8,15 und in FSA bei 8,19 ppm erscheint. Das Vinylproton des Erythropterins [10] liegt in TFS bei 7,44 ppm, während die C(2)-NH-Protonen nicht sichtbar sind. Die Lage der Signale im Bereich von 2,95 bis 4,49 ppm entspricht dem Bereich der Methen- und Methinprotonen in polyhydroxylierten Ketten wie sie im Nerepterin durch Periodatspaltung wahrscheinlich gemacht ist. Bei 4,63 ppm erscheinen aber auch die Protonen in 7-Stellung des Deoxysepiapterins [14], bei 3,48 ppm - 4,72 ppm diejenigen der Drosopterine. Die bei beiden Pigmenten auftretenden Signale bei 1,41 ppm resp. bei 1,46 ppm entsprechen denen von Methylgruppen von Ethylgruppierungen. Ob diese Signale tatsächlich zu den Naturprodukten gehören ist nicht zu entscheiden, doch kennt man diese Signallagen z.B. für Deoxysepiapterin [14], wo die Methylgruppe bei 1,22 ppm erscheint. Nicht auszuschliessen ist, dass Ethanol, welches die beim Isolieren der Substanzen verwendet wurde fest an die Produkte gebunden wurde, wie dies häufig bei Pterinen mit Wasser geschieht.

Ob die untersuchten Naturprodukte entweder zu der Gruppe der Xanthopterinderivate oder zur Gruppe der 6-substituierten 7,8-Dihydroderivate gehört, kann anhand dieser NMR Spektren nicht entschieden werden.

### 3.4.1.3. MS Spektren

Der einzige schwache Anhaltspunkt den man aus dem Massenspektrum von Platynerepterin mitnehmen kann, ist die Annahme, dass der Peak bei 385 m/e der Molekularpeak oder ein Bruchstück des Platynerepterins ist.

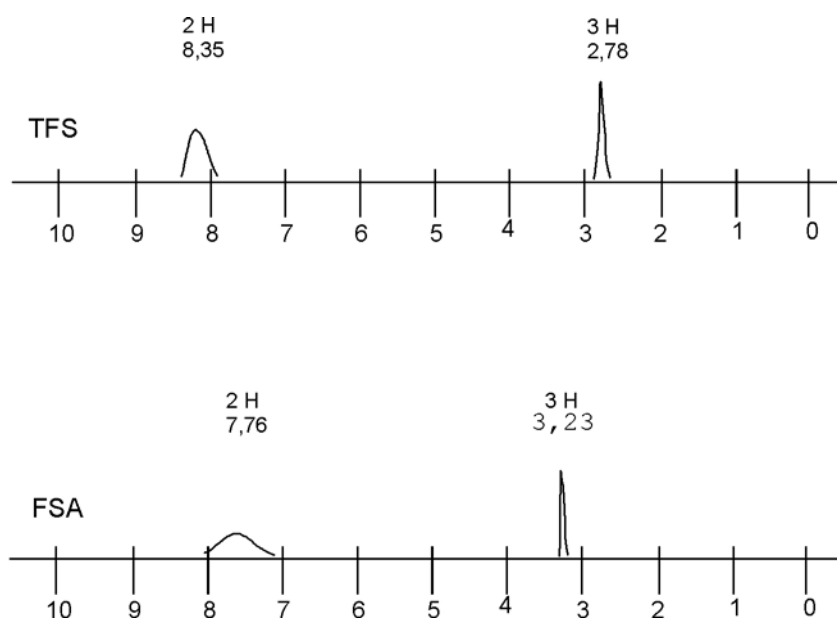
Da die natürlichen farbigen Pterine sehr schwer verdampfen, gelangen bis heute zur wenige Massenspektren. So ist lediglich das MS des Sepiapterins [13] (114) und das MS des silylierten Xanthopterins (115) beschrieben. Im Verlaufe der Arbeit gelang uns, vom Xanthopterin [6] und einigen synthetisierten Derivaten, Massen-Spektren aufzunehmen. Auch gelang die Aufnahme des Massenspektrums von Erythropterins [10] selbst.

Das Nerepterin selbst lieferte kein Spektrum.

### 3.4.2. Zur Struktur des Chromophors der in 7-Stellung substituierten Xanthopterine

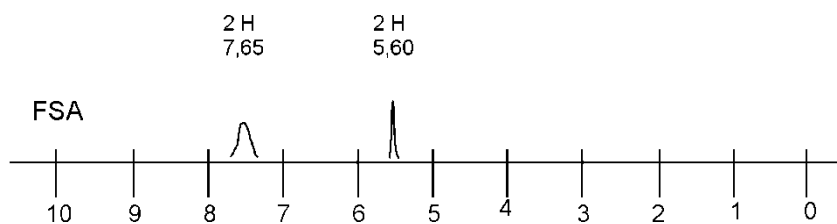
Da die Elektronenspektren des Nerepterins und des Platynerepterins starke Ähnlichkeiten mit protonierten Formen von in 7-Stellung substituierten Xanthopterinderivaten aufwiesen, wurde versucht, die Struktur dieser Verbindungen zu erfassen. Dazu wurden einige Modellverbindungen NMR spektroskopisch in Trifluoressigsäure (TFS) und Fluorsulfonsäure (FSA) untersucht, und mit den Elektronenspektren in den entsprechenden Lösungsmitteln verglichen.

Als einfachste Modellverbindung wurde das 7-Methylxanthopterin [8] genommen. Die NMR-Spektren sind in der Figur 38 aufgezeichnet.



Figur 38  
NMR-Spektren von 7-Methylxanthopterin [8] in Trifluoressigsäure (TFS) und in Fluorsulfonsäure (FSA)

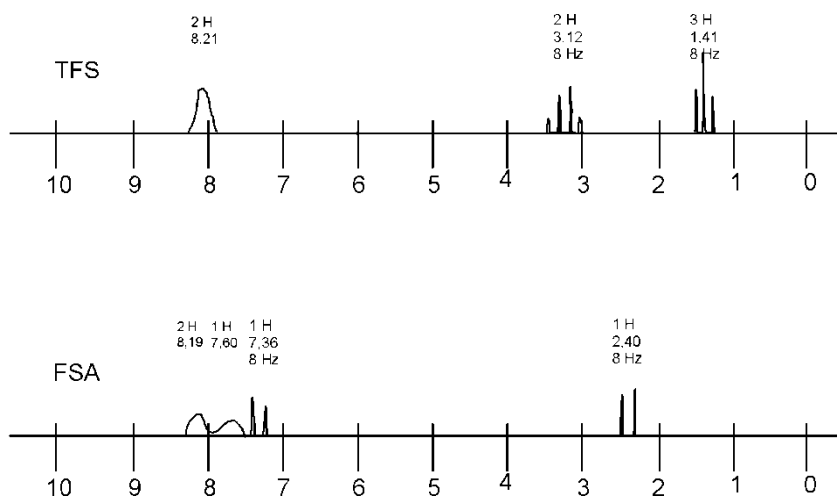
Wenn das 7-Methylxanthopterin [8] einige Stunden in der FSA stehengelassen wird, ändert sich das NMR-Spektrum (Figur 39)



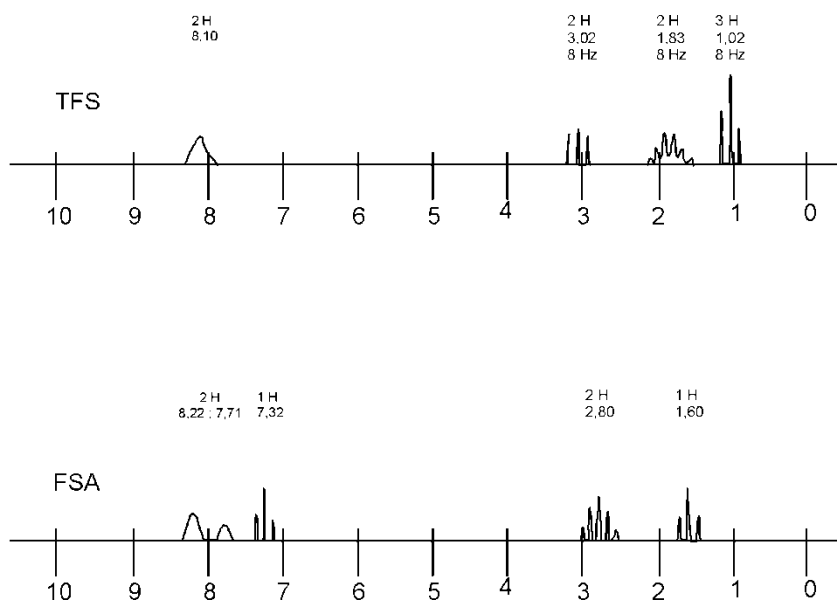
Figur 39  
NMR-Spektren von 7-Methylxanthopterin [8] in Fluorsulfonsäure (FSA) nach 5 Stunden

Als mögliche neu entstandene Verbindung ist ein 7-Sulphomethylxanthopterin anzunehmen, wie dies von Tschesche und Schäfer vorgeschlagen und untersucht worden ist (116).

Gleiches Verhalten wie 7-Methylxanthopterin [8] zeigen auch das 7-Ethylxanthopterin (Figur 40) und das 7-Propylxanthopterin (Figur 41).

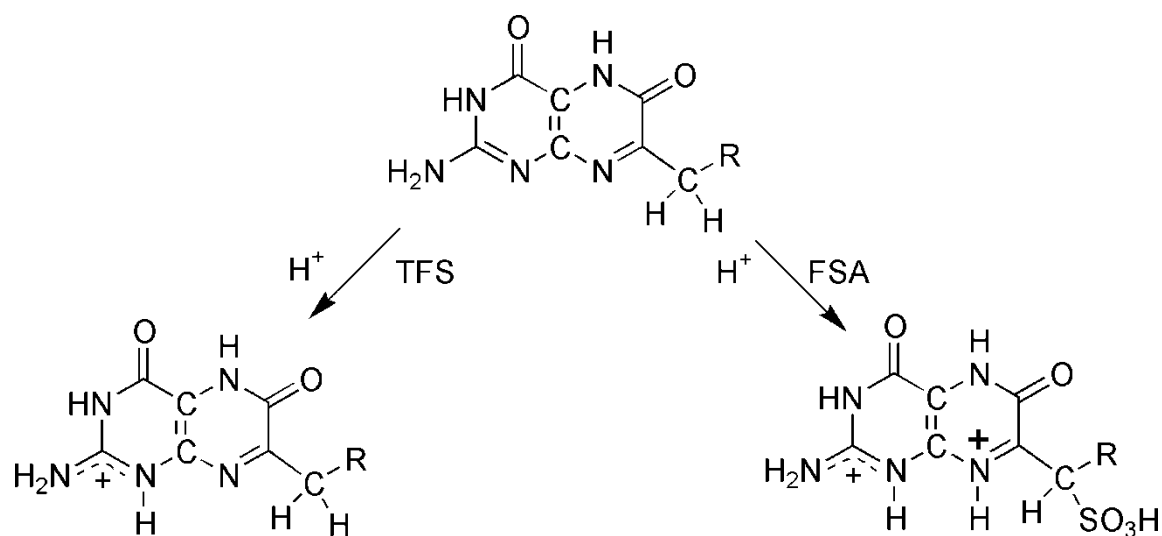


Figur 40  
7-Ethylxanthopterin in Trifluoressigsäure (TFS) und in Fluorsulfonsäure (FSA)

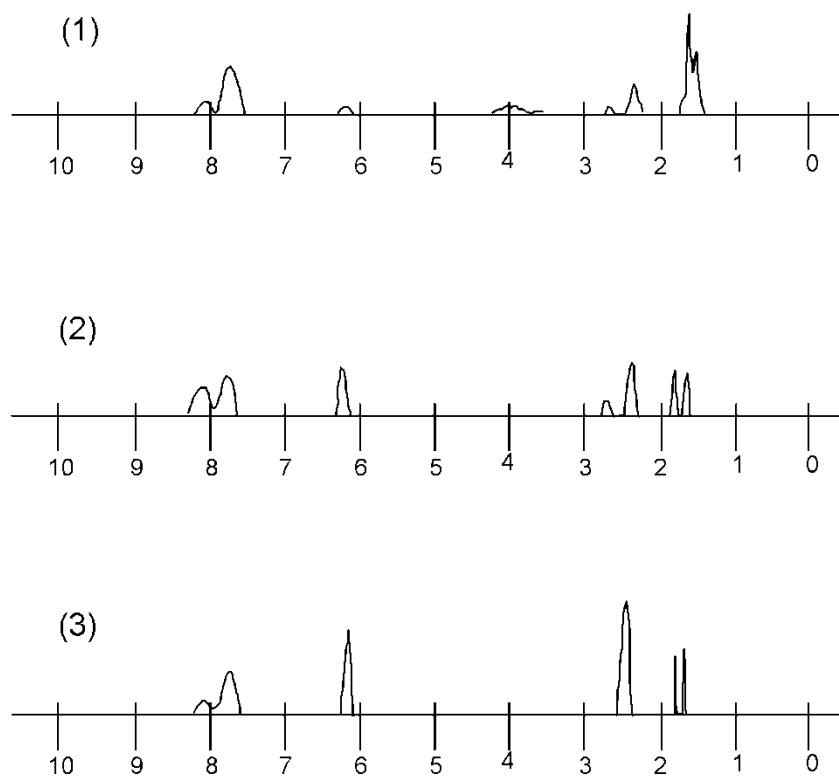


Figur 41  
7-Propylxanthopterin in Trifluoressigsäure (TFS) und in Fluorsulfonsäure (FSA)

Anhand des Protonierungsschemas für Xanthopterin [6], kann auch für die Protonierung der 7-alkylsubstituierten Produkte der folgende Verlauf angenommen werden:

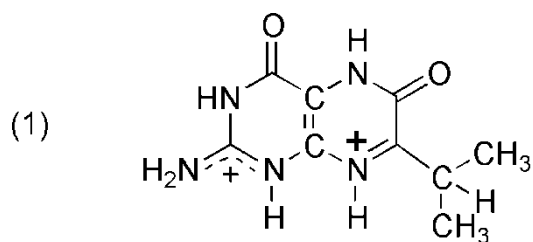


Das 7-Isopropylxanthopterin zeigt ein von den anderen Produkten verschiedenes Verhalten. So zeigt sich bei diesem Produkt in FSA eine langsame Veränderungen in dem NMR-Spektrum (Figur 42)

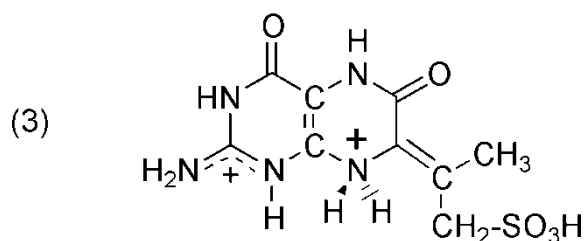


Figur 42  
7-Isopropylxanthopterin in Fluorsulfonsäure (FSA) nach Auflösen (1), 3 Tagen (2) und 7 Tagen (3)

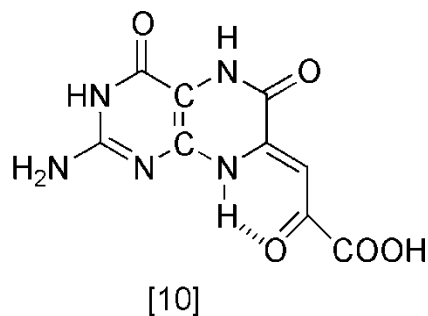
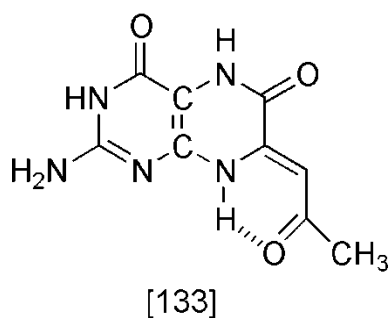
Die Veränderungen könnten dahin interpretiert werden, dass bei diesem Produkt wirklich eine exozyklische Doppelbindung vorliegen müsste und eine Sulfomethylierung an der Methylgruppe eintritt.



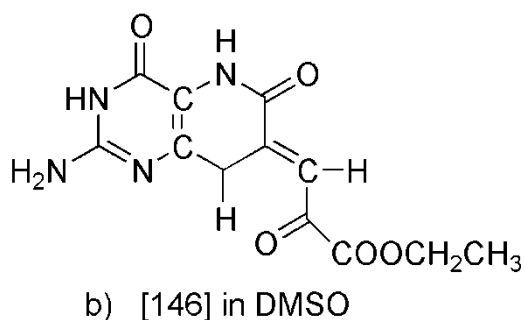
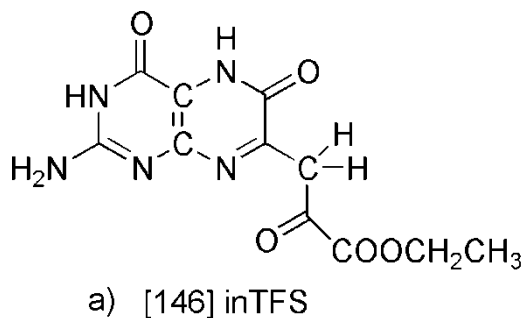
(2) Mischung (1) und (2)



Beim Übergang zu Verbindungen mit Seitenketten die eine funktionelle Gruppe tragen, werden die Aussagen über die Struktur, resp. den Chromophor des Systems noch schwieriger. So wurden von Philipsborn, Stierlin und Traber 1963 (117) für das 7-Acetylxanthopterin [133] und das Erythropterin [10] in neutraler und saurer Lösung die folgenden tautomeren Strukturen vorgeschlagen:

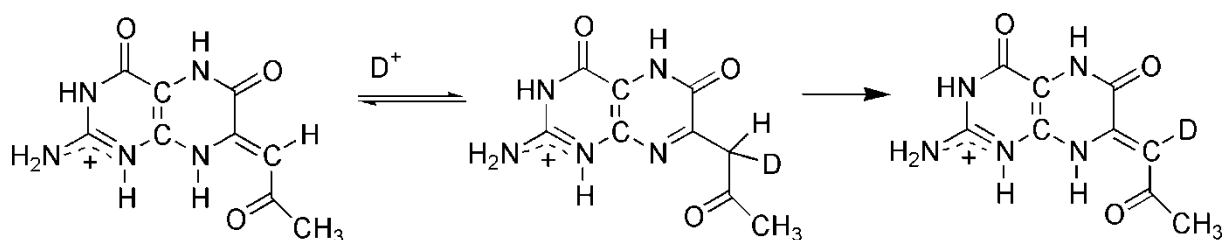


1963 schlugen Merlini, Philipsborn und Viscontini noch für weitere Xanthopterin-derivate tautomere Strukturen vor (118). Für Xanthopterinessigsäureethylester [146] in neutralem Milieu (DMSO) die Struktur a). In Trifluoressigsäure die Struktur b) die in einem 1:1 Verhältnis mit der Struktur a) vorliegt.

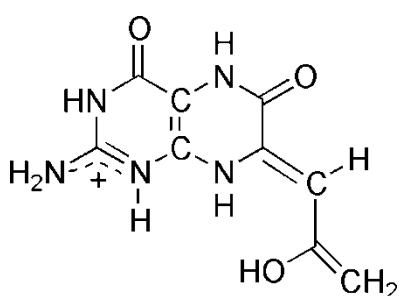


Wenn wir 7-Acetylxanthopterin [133] in d-Trichloressigsäure lösten, konnte beobachtet werden, dass das Vinylproton bei 6,72 ppm verschwand, das Methylproton hingegen

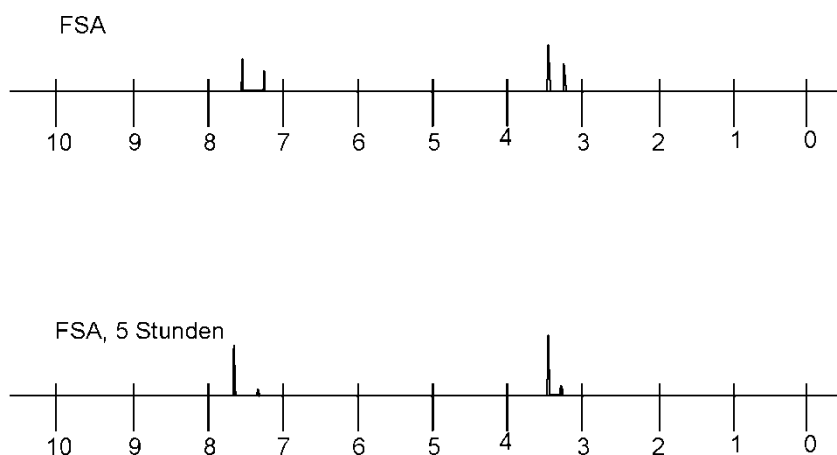
unverändert erhalten blieb. Dieser Austausch lässt sich anhand des folgenden Schemas erklären.



Wobei sich die Frage stellen würde, weshalb nicht auch die Methylprotonen austauschen könnten, wenn man zu der exozyklischen Doppelbindung noch eine dazu konjugierte Enolbildung annehmen könnte.



Bei der von uns untersuchten zweifachprotonierten Form des 7-Acetylxanthopterins [133] in FSA zeigte sich folgendes Verhalten. Sofort nach Auflösung zeigten sich zwei Formen, von denen die eine nach 5 Stunden beinahe vollständig verschwunden war (Figur 43). Erstaunlicherweise blieb das Verhältnis der Vinylprotonen zu den Methylprotonen konstant 1:3.

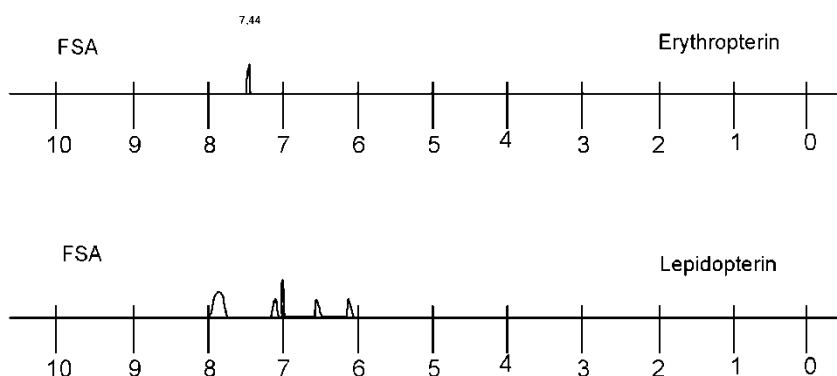


Figur 43  
7-Acetylxanthopterin [133] in Fluorsulfonsäure

Als mögliche Verbindung die in FSA entsteht, kann z.B. eine Veresterung der Enolform vermutet werden, obwohl in diesem Falle eine Allylkopplung im NMR sichtbar sein sollte. Erstaunlich ist auch, wie schon bei der Diskussion der Elektronenspektren beschrieben, der stark bathochrome Shift des Absorptionsmaximums zu einem Doppelmaximum. Als Struktur dieser Verbindung kann im Gegensatz zu der einfach protonierten Form eine viel stärkere Delocalisierung der Doppelbindungen angenommen werden, als dies bei der einfach

protonierten Form der Fall ist. Die Strukturen sind schon bei der Diskussion der Elektronenspektren angegeben.

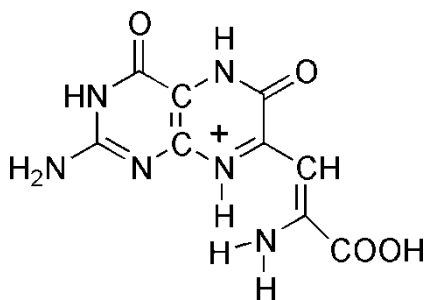
Dass die Protonierung der in 7-Stellung substituierten Xanthopterine in 8-Stellung nicht nur den angegebenen Chromophor des Systems ändert, sondern noch weiter in die Struktur des Moleküls eingreift, zeigen sich anhand der NMR Spektren. So sind die 2 Aminoprotonen des Erythropterins [10] und des 7-Acetyl-xanthopterins [133] in TFS nicht zu sehen, während sie für die in 7-Stellung durch Alkyl, Carboxyl und Alken substituierten Xanthopterinderivate als relativ scharfe Singulette ( $\Delta\nu = 10$  Hz) im Bereich von 7,6 ppm - 8,2 ppm erscheinen. In Figur 44 sind zum Vergleich die NMR Spektren von Erythropterin [10] und Lepidopterin [11] in TFS angegeben.



Figur 44  
NMR Spektrum von Erythropterin [10] und Lepidopterin [11] in Fluorsulfonsäure

Im Erythropterin [10] erscheint in TFS das Vinylproton bei 7,44 ppm als einziges Signal, bei Lepidopterin [11] erscheint das Vinylproton bei 7,01 ppm. Daneben sind noch bei 7,90 ppm das Signal der C(2)-Aminogruppe und die drei Signale, die einem Ammoniumkation entsprechen, im Verhältnis 1:1 zu beobachten.

Diese drei Signale waren selbst beim sorgfältigst gereinigten Lepidopterin [11] vorhanden. Es kann angenommen werden, dass das Ammoniumsalz gebildet worden ist, oder dass die in Figur 36 angegebene Struktur vorliegt.



### 3.4.3. Diskussion der chemischen Abbauprodukte.

#### 3.4.3.1. Verbrennungsanalyse

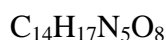
Die gefundenen C-, H- und N-Werte zeigen als auffallendes Merkmal einen sehr geringen Anteil an Stickstoff von ca. 17%, wenn man die Produkte mit den anderen Pterinen vergleicht. In Tabelle 14 sind die Elementaranalysen einiger Pterinpigmente aufgeführt



**Tabelle 14**

Verbindung	m% C C	m% C H	m% C N
Xanthopterin [6]	40,19	2,79	39,08
7-Methylxanthopterin [8]	47,50	3,98	39,6
Erythropterin [10]	40,76	2,66	26,41
Lepidopterin [11]	38,30	3,57	29,78
Pterorhodin [12]	42,17	2,70	37,83
Sepiapterin [13]	45,57	4,68	29,5a
Deoxysepiapterin [14]	48,86	5,01	31,66
Riboflavin [49]	47,51	7,67	18,47

Auf Grund der CHN-Analyse und unter der Annahme, dass der Molekularpeak bei ungefähr 385 u liegt, kann für das Platynerepterin eine mit einer grossen Unsicherheit behaftete Summenformel von



angegeben werden. Für diese Formel würden die Prozentwerte so aussehen;

	m% C	m% H	m% N
berechnet	43,78	4,47	18,27
exp. bestimmt	45,28	4,56	17,08

### 3.4.3.2. Oxidation in saurer Lösung an Luft

Das Leukopterin [4], welches aus Platynerepterin gebildet wurde, zeigte eindeutig die Zugehörigkeit dieses Naturproduktes zu der Klasse der Pterine. Leukopterin [4] als Abbauprodukt der farbigen Pterine wird sehr häufig gefunden. Es ist ein sehr beständiges Produkt welches sehr leicht aus einer grossen Anzahl von Pterinen als Oxidationsprodukt gebildet wird. So wird aus Xanthopterin [6] mit  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{PtO}_2$  und  $\text{O}_2$ , oder mit Periodsäure, das Leukopterin [4] gebildet (119).

Aus Erythropterin [10] entsteht mit Perhydrol in Schwefelsäure die Xanthopterin-7-carbonsäure [41] und daneben das Leukopterin [4] (108).

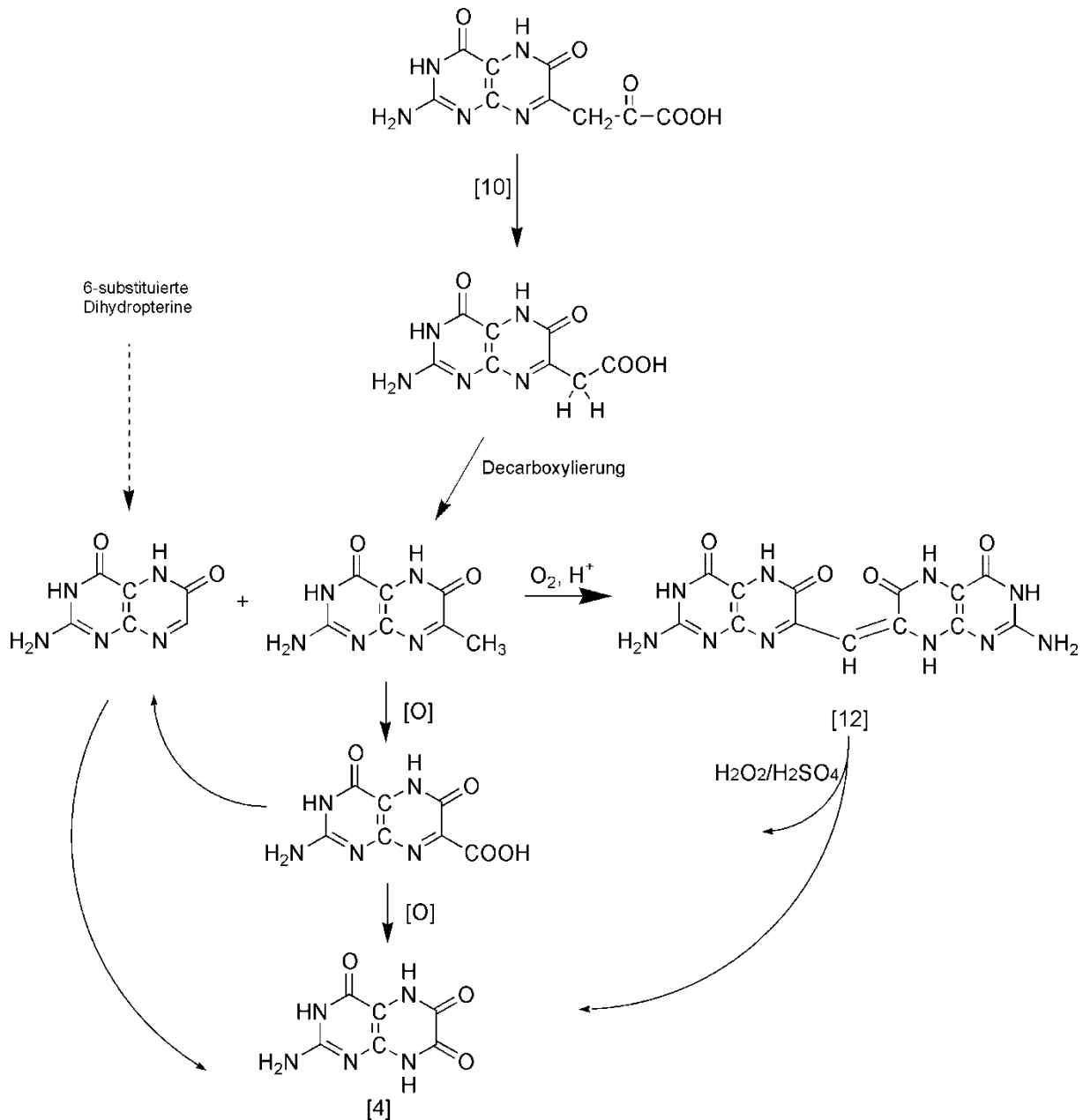
Das Pterorhodin [12] selbst bildet in schwefelsaurer Lösung ebenfalls Leukopterin [4] als Abbauprodukt.

Auch aus 7-Methylxanthopterin [8] bildet sich als Abbauprodukt das Leukopterin [4]. Die Bildung kann man sich nach folgendem Schema vorstellen: Wenn 7-Methylxanthopterin [8] in 2 M Schwefelsäure unter Durchleiten von Luft erwärmt wird, bildet sich Pterorhodin [12]. Durch Disproportionierung von Pterorhodin [12] können sich das 7-Methylxanthopterin [8] und das Leukopterin [4] bilden.

Die Bildung des Pterorhodins [12] aus 7-Methylxanthopterin [8] war Gegenstand einiger Untersuchungen in unserem Labor.

Vermutlich wird das 7-Methylxanthopterin [8] durch Luftsauerstoff zu der Xanthopterin-7-carbonsäure [41] oxidiert, welche dann zum Xanthopterin [6] decarboxylieren kann. Durch oxidative Kupplung, welche vermutlich über Radikale verläuft, kann das Pterorhodin [12] gebildet werden, welches dann, wie schon beschrieben, weiter zu Leukopterin [4] oxidiert werden kann.

Aus Erythropterin [10] bildete sich in sauren Lösungen immer das Pterorhodin [12] (120) (121). Die Bildung kann man sich so vorstellen, dass durch Oxidation das 7-Acetylxanthopterin entsteht, welche sehr schnell zu 7-Methylxanthopterin [8] decarboxyliert wird. Die weiteren Abbaureaktionen sind bei 7-Methylxanthopterin [8] beschrieben. Gleiches Verhalten wurde bei der Kondensation von Xanthopterin [6] mit 7-Acetylxanthopterin [133] gefunden. Als Produkt konnte das Pterorhodin [12] gefunden werden. In der nachfolgenden Figur 45 sind die untersuchten und möglichen Wege zur Leukoapterinbildung auf gezeichnet.



Figur 45  
Oxidation der 7-substituierten Xanthopterin-derivate zu Leukoapterin [4]

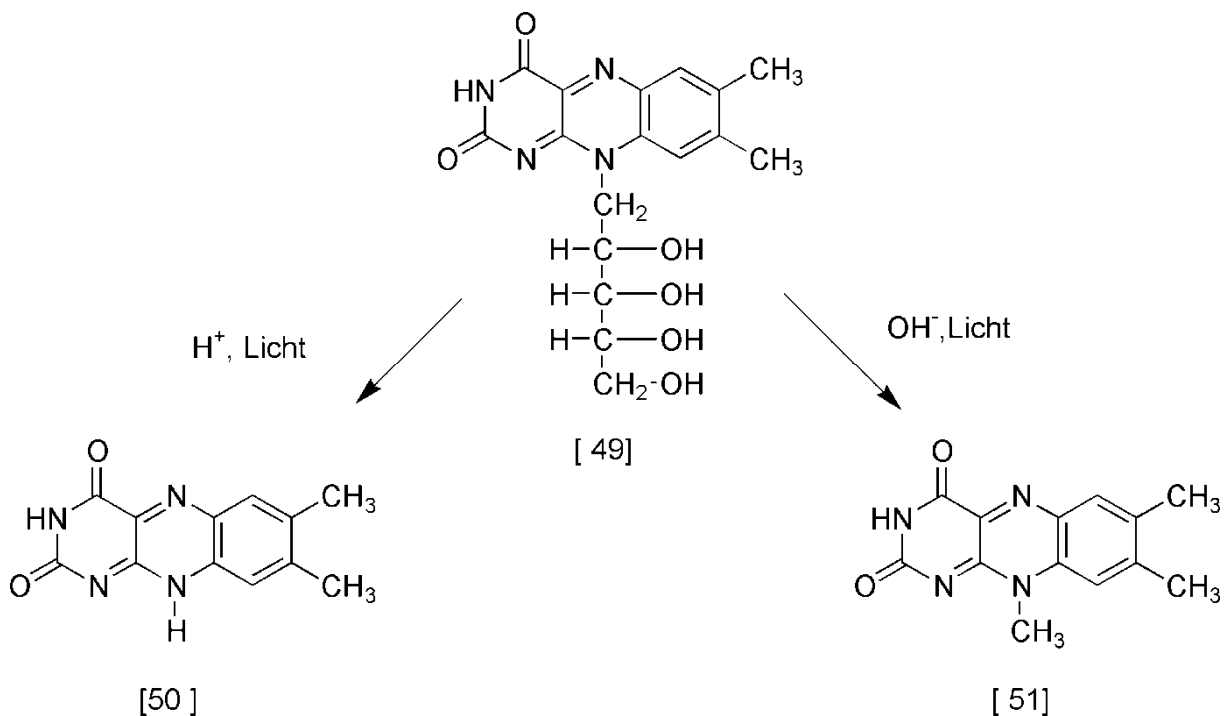
Die Schritte von der Xanthopterin-7-carbonsäure [41] zum Leukoapterin [4] sind nicht beschrieben. Ein Ansatz zur Erklärung dieser Reaktionen hierzu ist der, dass wir gefunden haben, dass Xanthopterin-7-carbonsäure [41] in Ammoniak zu 7-Aminoxanthopterin [42] oxidiert werden kann (beschrieben bei den Abbauprodukten von Platynerepterin).

Die Beschreibung des Leukopterins [4] als Abbauprodukt bei den 6-substituierten natürlichen farbigen Pigmenten ist nicht speziell beschrieben, da es im Bezug auf die Strukturaufklärung wenig informativ ist. Es kann aber angenommen werden, dass es ebenfalls gefunden werden kann, da als Abbauprodukte der 6-substituierten farbigen Pterine das Xanthopterin [6] gefunden wurde, welches leicht zu Leukopterin [4] oxidiert werden kann. So wurde als Abbauprodukt des Sepiapterins [13] in Borax das 7,8-Dihydroxanthopterin [21] isoliert (103), welches leicht zum Xanthopterin [6] oxidiert.

### 3.4.3.3. Verhalten in basischem Milieu und unter Lichteinfluss

Wenn Nerepterin und Platynerepterin in basischem Milieu, d.h. in 0,1 M – 1,0 M Natronlauge aufbewahrt wurden, konnte keine Veränderung der Produkte im UV-Sichtbarspektrum festgestellt werden. Sobald jedoch die Lösungen an Licht stehengelassen wurden, verschwand die Farbe der Lösungen und es blieb eine gelbliche Lösung mit blauvioletter Fluoreszenz zurück. Die Zersetzung an Licht ist für Pterine, die eine Seitenkette in 6 Stellung besitzen sehr typisch. So wird Sepiapterin [13] und Deoxysepiapterin [14] an Licht leicht zu Pterin [6] und Pterin-6-carbonsäure abgebaut (123).

Die Zersetzung durch Licht ist auch bei dem in N-8-Stellung mit einer Polyhydroxykette substituierten Lumazin [3], dem Riboflavin [49] typisch. So entsteht in saurem Milieu das Lumichrom [50], in basischem Milieu das Lumiflavin [51] (124)(125).



### 3.4.3.4. Oxidation mit Kaliumpermanganat

Dass durch Kaliumpermanganatoxidation von Nerepterin und Platynerepterin identische Abbauprodukte erhalten werden konnten, zeigt, neben den sehr verwandten NMR-Spektren der Produkte, dass sie sich verwandt sein müssen. Man kann somit annehmen, dass das Nerepterin in seiner Grundstruktur dem Platynerepterin recht ähnlich ist.

### 3.4.3.5. Ozonolyse

(nicht diskutiert)

### *3.4.3.6. Reduktion mit Natriumborhydrid*

Die Reduktion mit Natriumborhydrid wurde z.B. bei der Reduktion des Erythropterins [10] zu dem Ekapterin [9] angewandt. Dass Platynerepterin mit Borhydrid leicht reduziert werden konnte, könnte auf das Vorliegen einer Carbonylgruppe, wie bei Erythropterin [10], hinweisen. Erstaunlich hingegen ist, dass das gebildete Produkt nicht wie ein Alkohol relativ stabil gegenüber Oxidation ist, sondern durch Luft sehr leicht wieder zum Ausgangsprodukt oxidiert wird.

Dieses Verhalten von Platynerepterin ist eher den 6-substituierten 7,8-Dihydropterinen eigen. So lassen sich Sepiapterin [13], die Drosopterine [13], [14], [15] und das in *Bombyx mori* gefundene 8-Methylsepiapterin [19] leicht reduzieren. Die Rückoxidationen dieser reduzierten Produkte führen jedoch nicht mehr zu den Ausgangsstoffen.

### 3.5. Strukturvorschläge für das Nerepterin und das Platynerepterin

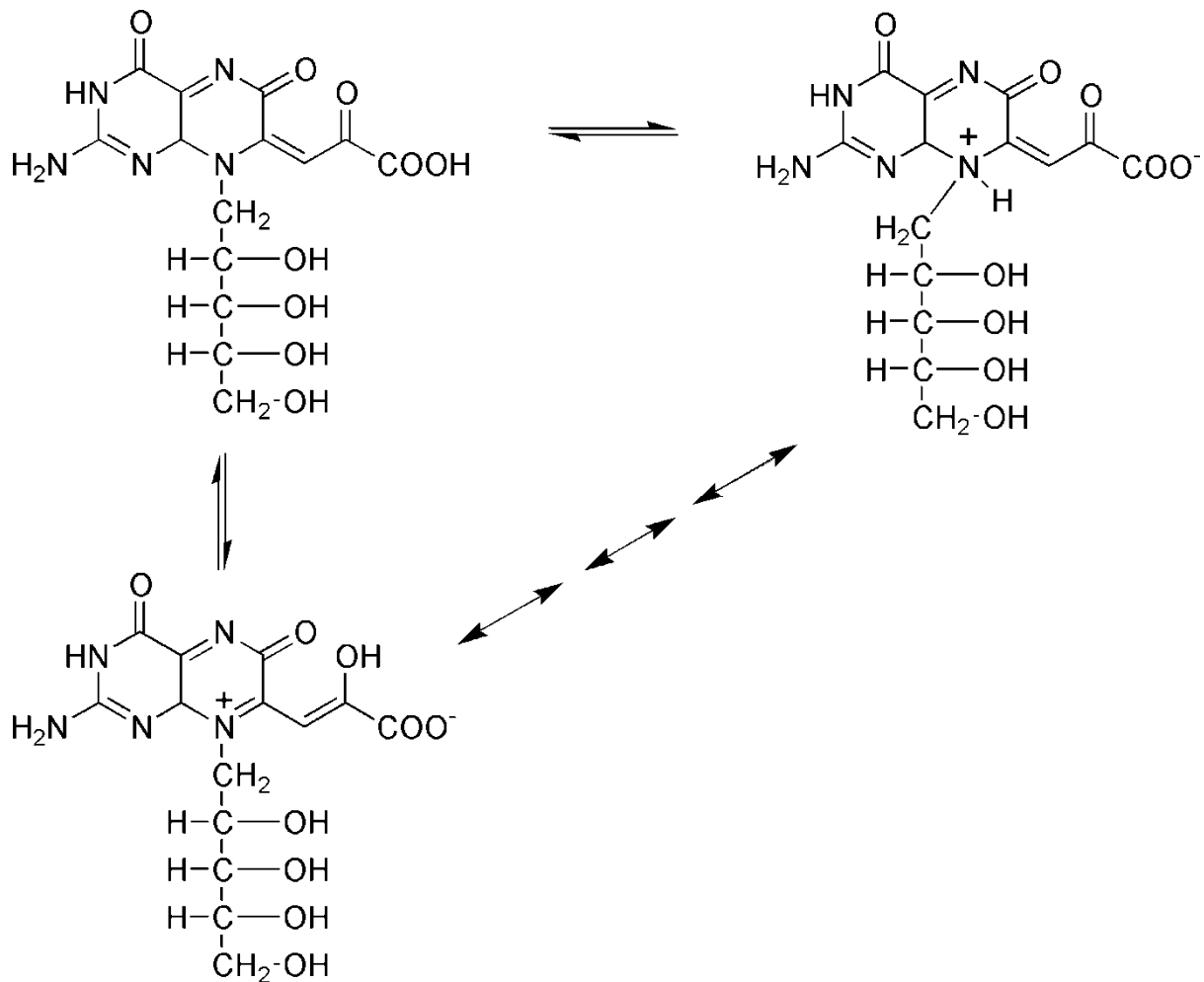
---

Die bisher erhaltene Information über die Naturprodukte erlaubt keine genauere Strukturbeschreibung.

So konnte bisher nicht entschieden werden, ob die Pigmente zu der 7-substituierten Xanthopteringruppe oder zu der Gruppe der 6-substituierten 7,8-Dihydropterine gehört. Diese Unsicherheit erschwerte und erschwert immer noch das Vorgehen in der Aufklärung der Struktur. Im Folgenden sind „trotz allem“ einige Vorschläge gemacht worden.

#### Typ 7-substituierte Xanthopterinderivate

Für das Nerepterin wurde ein  $pH_i$  von 2,8 ermittelt. Im Vergleich zu anderen Pterinen (Drosopterine 10,8, Sepiapterin 9,4, Erythropterin 1,0 (126)) zeigt sich, dass in dieser Verbindung die stark sauren Eigenschaften vorherrschen. Man könnte annehmen, dass es sich wie beim Erythropterin [10] um eine Säure handeln könnte. Das Vorliegen einer polyhydroxylierten Seitenkette zeigte sich durch die Periodatspaltung, die ein Produkt mit unverändertem Chromophor bildete. Ein weiterer Hinweis auf eine solche Seitenkette zeigt sich in der Lichtempfindlichkeit des Produktes (ähnlich dem Riboflavin [49]). Der Chromophor des Produktes lässt sich erklären anhand des Elektronenspektrums der protonierten Form z.B. des Erythropterins [10]. Im Nerepterin könnte diese Struktur fixiert sein, durch eine Substitution mit einer polyhydroxylierten Seitenkette in der 8-Stellung, was dieselben Folgen wie eine Protonierung an dieser Stelle haben dürfte. Als Vorschlag soll diese angegebene Struktur gelten.

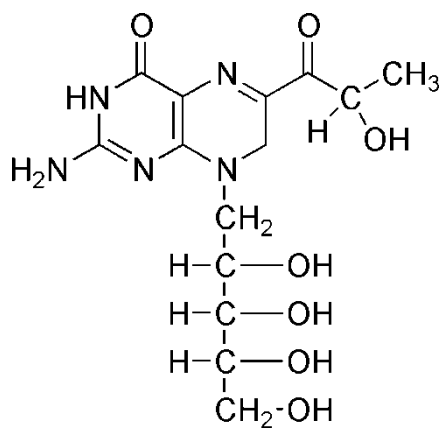


Mit dieser Struktur im Einklang, respektive nicht im Widerspruch sind die NMR-Spektren unter der Annahme, dass das Signal bei 1,46 ppm einer nicht mehr entfernbaren CH<sub>3</sub>-Gruppierung des Ethanolts entspricht, der zum Waschen des Produktes verwandt wurde. Die Signale zwischen 3,01 und 4,49 ppm würden den H-Atomen der polyhydroxylierten Kette entsprechen (für Riboflavin [49] 4,1-5,5 ppm).

Das Signal bei 8,26 ppm würde mit dem Vinylproton in der C(7)-Seitenkette übereinstimmen. Mit der angegebenen Formel ebenfalls in Übereinstimmung ist die CHN-Analyse. Für die angegebene Formel C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub> würden die Werte (berechnet C 42,11%, H 4,29%, N 17,53%) nicht in allzu scharfem Widerspruch liegen. Für das Platynerepterin müsste eine ähnliche, eventuell eine Dimere Formulierung in Betracht gezogen werden. Möglich wäre auch eine Lactonbildung der COOH-Gruppe mit einer OH-Gruppe der hydroxylierten Seitenkette, was seinen Niederschlag im MS-Spektrum finden würde (MS: M<sup>+</sup> = 381 u; gefunden: 381 u-385 u).

#### Typ 6-substituierte 7,8-Dihydropterine

Bei der Annahme, dass die Pigmente der Gruppe der 6 subst. 7,8-Dihydropterine zuzuordnen sind, könnten folgende Argumente dienen: Die Fluoreszenz des Nerepterins ist gleich wie diejenige des Deoxysepiapterins. Ein weiteres Indiz wäre die Photolabilität der Produkte. Ein Vorschlag könnte dieser sein:



Dazu würde das NMR-Spektrum die CH<sub>3</sub>-CHOH-Gruppierung stützen. Das Signal bei 4,49 ppm beim Platynerepterin, resp. Bei 4,28 ppm bei Nerepterin, würde den zwei C(7)-H-Atomen entsprechen.

Die Verhältnisse im Bezug auf den Chromophor von solchen Systemen sind noch wenig untersucht und lassen nicht einmal Raum zu Spekulationen.

---

## 4. Experimenteller Teil

---

### 4.1 Allgemeines

---

Elektronenspektren wurden am BECKMANN ACTA III und UNICAM SP 500, IR-Spektren am PERKIN ELMER Spektrographen (Modell 275 mit Gitteroptik) aufgenommen. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurden am Varian 60, am Varian XL-100-Spektrometer mit Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard aufgenommen. Bei Fluorsulfonsäure als Lösungsmittel wurde TMS in einer Glaskapillare als externer Standard zugegeben.

Reemissionsspektren ab Dünnschicht wurden an einem Dünnschichtspektralphotometer ZEISS PMQ II aufgenommen.

Für die Säulenchromatographie verwendeten wir Whatmann-Cellulosepulver, Sephadex G-25 fine und Sephadex LH 20 der Firma PHARMAZIA Uppsala.

Zur Papierchromatographie diente Whatmann Nr.1 und SCHLEICHER und SCHÜLL 2668. Zur Dünnschichtchromatographie wurden Cellulosefertigplatten mit und ohne Fluoreszenzindikator der Firma MERCK verwendet. Auswertung der Chromatogramme erfolgte unter UV-Licht. Um die Fluoreszenz zu verstärken wurden die Chromatogramme manchmal mit flüssigem Stickstoff gekühlt.

Als Laufmittel wurden vorwiegend folgende Systeme verwendet:

Laufmittel	Bezeichnung
3% Ammoniumchlorid	1
Butanol/Eisessig/Wasser 20:3:7	2
Isopropanol/1% Ammoniak 2:1	3
Wasser	4
Ameisensäure/Ethanol/Wasser/Salzsäure 50:15:20:1	5



---

## 4.2. Beschaffung und Aufarbeitung der Augenpigmente von *Platynereis dumerilii*

---

Für die Arbeit wurden Tiere aus zwei verschiedenen Exkursionen verwendet und auch verschieden aufgearbeitet.

### *Erste Aufarbeitung*

15'000 Nereiden, die im Jahre 1970 in Banyuls-s-Mer gesammelt worden waren und sich aus *Platynereis dumerilii*, *Nereis rava* und *Nereis zonata* zusammensetzten, wurden für die Isolierung der Pigmente verwendet. Die in Kunzmann Alkohol aufbewahrten Tiere wurden im Juli 1971 geköpft. Die Köpfe wurden homogenisiert, mit gewaschener Cellulose versetzt und eingengt. Das Produkt wurde auf eine trocken gestopfte, mit Wasser klimatisierte Cellulosesäule gegeben (100 g, Höhe 22 cm, Durchmesser 4 cm). Nach Eluieren mit Wasser wurde das Elutionsmittel langsam mit Salzsäure/Essigsäure verstärkt. So konnte zuerst das gelbgrün fluoreszierende Nerepterin und anschliessend das orange fluoreszierende Platynerepterin roh erhalten werden. Die Eluate wurden eingengt. Das rohe Platynerepterin wurde erneut auf eine Cellulosesäule (Höhe 12 cm, Durchmesser 1,3 cm) aufgetragen und zuerst mit Wasser dann zunehmend mit Ameisensäure eluiert, bis zu einem Verhältnis Wasser/Ameisensäure 1:1. Das noch vorhandene schnell laufende Nerepterin wurde zur Hauptmenge des Nerepterins gegeben. Das eluierte Platynerepterin wurde zur Trockene eingengt. Die Ausbeute an rohem Produkt betrug 464 mg. Das Produkt wurde in 0,1 % Ammoniak gelöst und auf eine Anionentauschsäule Dowex 1 x 8 (Höhe 3 cm, Durchmesser 4 cm) gegeben und mit Wasser eluiert. Darauf wurde mit 30% Ameisensäure eluiert und das Eluat im Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt. Die Ausbeute betrug 29 mg.

Zur weiteren Reinigung des Platynerepterin wurde das Produkt in einigen Millilitern Ameisensäure gelöst und durch Verdünnen mit Wasser ausgefällt. Nach Abzentrifugieren und 3-maligem Waschen mit Wasser und Kunzmannalkohol wurden 4,4 mg reines Platynerepterin erhalten.

Das rohe Nerepterin wurde auf eine mit Whatmanncellulose nass gefüllte Säule (Höhe 20 cm, Durchmesser 4 cm) gegeben und mit Wasser bidest. eluiert. Nach Einengen der eluierten Nerepterinfraktion wurden 320 mg rohes Nerepterin erhalten. Das Produkt wurde in Ameisensäure gelöst und auf 12 Blätter Schleicher und Schüll 2668 Papier aufgetragen. Mit 3% Ammoniumchlorid wurde auf einer Strecke von 54 cm eluiert. Die Eluate mit der reinen Fraktion an Nerepterin wurden auf eine Säule (Höhe 10 cm, Durchmesser 1,3 cm) mit Kationentauscher Dowex W50 in der H<sup>+</sup>-Form gegeben. Zuerst wurde mit Wasser gewaschen, anschliessend mittels 1% Ammoniak eluiert und eingengt. Die Ausbeute betrug 14 mg. Nach Auflösen des Produktes in Ameisensäure und Ausfällen durch verdünnen mit Ethanol konnten 3,5 mg reines Nerepterin erhalten werden.

### *Zweite Aufarbeitung*

Auf einer Exkursion im Sommer 1975 in Banyuls-s-Mer wurden 24450 *Platynereis dumerilii*, *Nereis rava* und *Nereis zonata* gefangen. Die Tiere wurden nach Aufbewahrung in Ethanol dekapitiert und die Köpfe in einem Volumen von 200 mL Ethanol homogenisiert. Im Rotationsverdampfer wurde der Alkohol abgezogen und der Rückstand mit 200 mL Ameisensäure versetzt. In die Aufschlammung wurde 50 Gramm Cellulosepulver eingerührt und alles auf eine breite Cellulosesäule (Höhe 5 cm, Durchmesser 12 cm) gegeben und mit reiner Ameisensäure eluiert. Die gesamte orangefarbige Fraktion wurde auf ungefähr 50 mL Volumen eingengt und auf eine Cellulosesäule (Höhe 35 cm, Durchmesser 4 cm) gegeben. Um ein Verstopfen der Säule zu verhindern wurde die Lösung in den Kopf der Säule

eingührt und mit einer Schicht von 1 cm Cellulosepulver überschichtet. Eluiert wurde mit 10% Ameisensäure.

Es wurde auf diese Weise eine gelbe Fraktion mit dem Nerepterin eluiert, während die violette Fraktion im oberen Teil der Säule zurückblieb. Das violette Produkt mit dem Platynerepterin wurde anschliessend mit 50%iger Ameisensäure eluiert und zur Trockene eingengt. Dieses Produkt wurde nach dreimaligem Auflösen in Ameisensäure und Ausfällen mit Wasser, abfiltriert und am Hochvakuum getrocknet. Auf diese Weise wurden 13 mg reines Platynerepterin erhalten.

Die gelbe Fraktion die das Nerepterin enthielt, wurde auf 50 mL eingengt und auf eine Sephadexsäule LH 20 gegeben. Durch Eluieren mit Wasser wurde zuerst ein schnell laufendes braunes Produkt eluiert, welches verworfen wurde. Nach längerem Eluieren mit bidest. Wasser konnte das Nerepterin als reine Fraktion erhalten werden. Durch Einengen der Lösung auf ein Volumen von ungefähr 100 mL konnte das reine Nerepterin ausgefällt werden. Die Ausbeute betrug nach Trocknen im Hochvakuum 8 mg.

---

### 4.3. Charakterisierung von Nerepterin und Platynerepterin

---

#### 4.3.1. Nerepterin

---

<u>Elektrophorese:</u> (nach F. Kavanagh und R. H. Goodwin (200))	
	pH <sub>i</sub> = 2,8

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ )		
	0,1 M Natronlauge	250 (720), 335(244), 431(Schulter 636), 446(668)
	90% Ameisensäure	406 (Schulter 462), 430 (784), 458 (800)

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (TFS), Figur 25		
	1,46 ppm:	t (?)
	2,95 ppm	breites Signal
	3,52 ppm	breites Signal
	2,28 ppm:	s
	8,23 ppm:	s und darunter breites Signal

<u>CHN-Analyse:</u>					
Schmelzpunkt > 300°C		m% C	m% H	m% N	Rückstand
	gefunden	43,78	4,74	15,59	6,88%
	korrigiert	47,0	5,51	16,75	

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,13	0,13	0,00	-	0,67

#### 4.3.1.1. Nerepterin in basischem Milieu unter Lichteinfluss:

Eine Lösung von 0,12 mg Nerepterin in 10 mL 0,1 M Natronlauge wurde zum Teil im Dunkeln, zum anderen Teil an Licht aufbewahrt. Im Verlaufe der Zeit wurde die Extinktion des längstwelligsten Maximums gemessen.

Zeit	Im Dunkeln: Extinktion	An Licht: Extinktion
0	0,74	0,74
6 h	0,74	0,21
24 h	0,73	-

#### 4.3.1.2. Oxidation von Nerepterin mit Kaliumpermanganat

Ca. 0,05 mg Nerepterin wurden in einem Analysenröhrchen mit: 1 Tropfen 0,1 M Natronlauge gelöst und aus einer Kapillare mit sehr verdünnter Kaliumpermanganatlösung versetzt, welches sofort reduziert wurde. Dünnschichtchromatographisch wurde ein blauviolett fluoreszierendes Abbauprodukt charakterisiert.

D-Chromatogramme:						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,61	0,19	0,08	-	0,76

## 4.3.2. Platynerepterin

<u>Elektrophorese:</u>	
	In keinem pH-Bereich war eine Wanderung des Produktes festzustellen

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ )		
0,1 Natronlauge	M	245 (336), 356 (72), 487 (332), 514(352)
90% Ameisensäure		378 (124), 399 (144), 479 (Schulter 296), 508 (528), 545(610)
verd. Ameisensäure		neues Maxima bei 615 nm

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)					
	$M^+$ : (?) 385 (1,6%)	241 (5%)	91 (100%)		

<u><math>^1\text{H-NMR-Spektrum:}</math></u> (TFS), Figur 25		
1,41 ppm:	t	
3,01 ppm	breites Signal	
3,63 ppm	breites Signal	
4,49 ppm:	s	
8,26 ppm:	b s und darunter b s	

<u>CHN-Analyse:</u>					
Smp. > 300°C		m%C	m% H	m%N	Rückstand
	1. Analyse	43,90	4,42	16,56	3,05
	korr. Werte	45,28	4,56	17,08	
	2. Analyse	-	-	16,68	Spuren

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13

#### 4.3.2.1. Oxidation von Platynerepterin in saurem Milieu an Luft

0,77 mg reines Platynerepterin wurde in 4 mL 50% Ameisensäure gelöst und unter Durchleiten von Luft stehengelassen. Die verdunstete Flüssigkeit wurde fortlaufend ersetzt. Nach 8 Tagen wurde das Produkt in einem 10 cm langen Streifen auf langsam laufendes Chromatographiepapier aufgetragen und mit dem Elutionsmittel 2 eluiert. Nach einer Laufstrecke von 32 cm konnten 5 fluoreszierende Produkte beobachtet werden.

<u>P-Chromatogramme:</u>	Rf -Wert in 2	Eigenschaft
	0,00	rotes Produkt (nicht umgesetztes Platynerepterin)
	0,03	gelb fluoreszierendes Produkt
	0,07	weissblau fluoreszierendes Produkt
	0,14	blau fluoreszierendes Produkt
	0,93	fluoreszenzlöschendes Produkt, bei Kühlen mit flüssigem Stickstoff jedoch intensiv blau fluoreszierendes Produkt

Das weissblau fluoreszierende Abbauprodukt mit dem  $R_f = 0,07$  wurde mit 1% Ammoniak eluiert, zur Trockene eingengt und für die weiteren Untersuchungen verwendet.

#### Charakterisierung des Abbauproduktes:

Vergleich des Abbauproduktes ( $R_f$  in 2 = 0,07) mit Leukopterin [4] .

<u>D-Chromatogramme:</u>	E-Mittel	1	2	3	5	6*
	Rf Abbauprodukt	0,12	0,03	0,20	0,62	0,45
	Rf Leukopterin	0,12	0,03	0,20	0,62	0,45

\* Elutionsmittel: Pyridin / Essigester / Wasser 4:3:3

<u>Elektrophorese:</u>	Bedingungen	Produkte	Laufstrecke
	pH = 7,2; t = 2h; I = 3 mA; U = 200 V	Abbauprodukt	4,0 mm
		Leukopterin	4,0 mm
	pH = 9,1; t = 2h; I = 5 mA; U = 150 V	Abbauprodukt	18 mm
		Leukopterin	18 mm

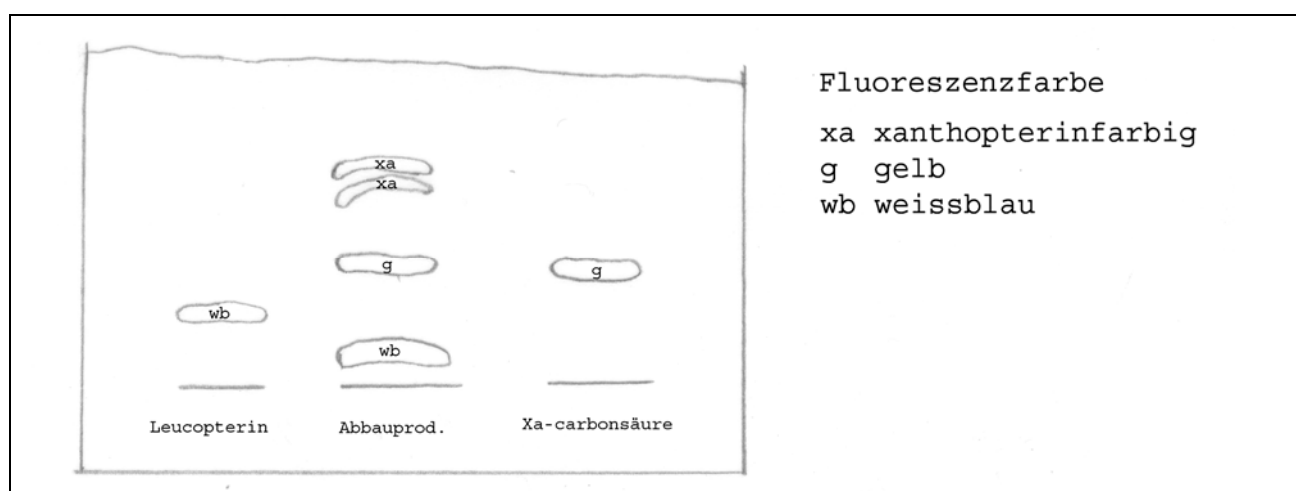
<u>Elektronenspektren:</u>		
	Gemessen wurde das Reemissionsspektrum von einer mit dem Elutionsmittel 1 entwickelten Dünnschichtplatte	
	$\lambda_{Max}$ [nm] Abbauprodukt	230, 305, 345 $\pm$ 5
	$\lambda_{Max}$ [nm] Leukopterin [4]	230, 305, 345 $\pm$ 5

#### 4.3.2.2. Platynerepterin in basischem Milieu und unter Lichteinfluss

Eine Lösung von Platynerepterin mit einer Konzentration von 0,145 mg/10 mL wurde zum Teil im Dunkeln, zum anderen Teil am Tageslicht stehengelassen. Im Verlaufe der Zeit wurde die Extinktion des längstwelligsten Maximums gemessen.

Zeit	Im Dunkeln, Extinktion	An Licht, Extinktion
0 h	0,51	0,51
6 h	0,48	0,12
4 Tage	0,45	-

Zur Identifizierung der Abbauprodukte wurde 0,20 mg Platynerepterin in 2 Tropfen Wasser und 0,3 mL Natronlauge gegeben. Während 5 Stunden wurde die Lösung im Wasserbad auf 90° C erwärmt. Darauf wurde das Reaktionsprodukt auf eine präparative Celluloseplatte aufgetragen und 2-mal mit 2% Ammoniak eluiert. Die Platte, auf der zu Vergleichszwecken Leucopterin [4] und 7-Xanthopterincarbonsäure [41] aufgetragen worden war, zeigte folgendes Bild:



Das gelb fluoreszierende Abbauprodukt des Platynerepterins wurde abgekratzt, 2-mal mit je 2,5 mL 10% Ammoniak eluiert und zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in einem Tropfen Ameisensäure gelöst und für Dünnschichtchromatogramme verwendet.

D-Chromatogramme:						
		1	2	5	7*	8**
	Abbauprodukt	0,30	0,02	0,75	0,21	0,43
	7-Xanthopterincarbonsäure	0,29	0,02	0,75	0,24	0,39
		7*: i-PropOH: 2% NH <sub>3</sub> 2:1				
		8**: 44% Natriumcitrat				

Mischchromatogramme des Abbauproduktes mit 7-Xanthopterincarbonsäure [41] erschienen als einheitliche Flecken.

#### 4.3.2.3. Oxidation von Platynerepterin mit Kaliumpermanganat

0,12 mg Platynerepterin wurden in einem Analysenröhrchen mit 2 Tropfen 0,1 M Natronlauge gelöst, und mit einem Unterschuss von verdünnter Kaliumpermanganat versetzt. Dünnschichtchromatogramme des Reaktionsproduktes zeigten ein Gemisch von 8 fluoreszierenden Verbindungen.

<u>D-Chromatogramme:</u>				
	E-Mittel	1	2	Fluoreszenz
	Rf-Werte	0,63	0,21	blau*
		0,32	0,25	blaugrün
		0,25	0,04	blau*
		0,15	0,04	gelblich
		0,10	0,03	orange
		0,05	0,10	blau
		0,05	0,10	grün
		0,00	0,03	gelb

\*Die Zuordnung der blau fluoreszierenden Produkte ist nicht eindeutig.

Wurde die Lösung des Platynerepterins in 0.1 M Natronlauge mit einem geringen Überschuss an Kaliumpermanganatlösung versetzt, so konnte nur noch ein blau violett fluoreszierendes Produkt in sehr geringer Menge dünnschichtchromatographisch festgestellt werden.

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Werte	0,61	0,20	0,07	-	0,78

Dieses Produkt ist identisch mit dem unter 4.3.1.2. beschriebenen, blau fluoreszierenden Abbauprodukt des mit Kaliumpermanganat oxidierten Nerepterins.



#### 4.3.2.4. Oxidation des Platynerepterins mit Ozon

0.10 mg Platynerepterin wurden in 6 mL Ameisensäure gelöst und mit Ozon / Luftgemisch durchspült. Nach Zugabe von einem grossen Überschuss (14 mg) von Ozon, änderte sich die Farbe der Lösung zu gelb. Die Lösung wurde auf 0,5 mL eingengt und mit 0,2 M Natriumcarbonatlösung auf pH = 3 gebracht. Das Reaktionsgemisch wurde auf eine präparative Celluloseplatte aufgetragen und mit Wasser entwickelt. Es konnten 2 Produkte gesehen werden. Ein schnell laufendes blau fluoreszierendes Produkt und ein am Start verbleibendes gelb fluoreszierendes Produkt.

a) Das gelb fluoreszierende Produkt wurde durch Zerschneiden der Glasplatte vom blau fluoreszierenden Produkt getrennt. Zuerst wurde mit Wasser eluiert. Um das Produkt zu isolieren wurde mit 1 % Ammoniak eluiert. Nach dem Einengen wurde das Produkt charakterisiert.

<u>D-Chromatogramme:</u>				
	E-Mittel	1	2	3
	Rf-Werte des gelb fluoresz. Abbauproduktes	0,05	0,19	0,03

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E qualit.)		
	0,1 M Natronlauge	272 (0,47), 347 (0,13), 470(0,26)
	90% Ameisensäure	265 (0,42), 442 (0,31), 470 (0,30)

b) Das blau fluoreszierende Abbauprodukt wurde von der Platte mit Wasser eluiert und charakterisiert.

<u>D-Chromatogramme:</u>				
	E-Mittel	1	2	3
	Rf-Werte des blau fluoresz. Abbauproduktes	0,30	0,19	0,02

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E qualit.)		
	pH 12	277 (0,36), 340 (0,16)
	pH 1	271 (0,33), 334 (0,12)

#### 4.3.2.5. Reduktion von Platynerepterin mit Natriumborhydrid

In einer UV-Küvette wurde Platynerepterin in 10% Ammoniak gelöst und mit Stickstoff gespült. Zu dieser Lösung wurde ca. 5 mg Natriumborhydrid gegeben und der Reaktionsverlauf durch Aufnahme der Elektronenspektren verfolgt (siehe Figur 28). Nach 5 Stunden wurde eine weitere Spatelspitze Natriumborhydrid zugegeben, da die Reaktion nicht weiterlief. Nach 7 Stunden war das Platynerepterin zu einem neuen Produkt reduziert. Isosbestische Punkte konnten bei 234 nm, 285 nm, 343 nm, 393 nm und 450 nm gemessen werden.

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E qualit.)		
	pH 12	268 (0,42), 328 (0,17), 425 (0,37), 455 (0,38)
	pH 1	260 (0,35), 436 (0,41), 461(0,41)

Das reduzierte Produkt wurde in der Küvette mit Salzsäure versetzt. Nach 7 Stunden stehen lassen an der Luft, war alles Produkt wieder in Platynerepterin zurückoxidiert worden. Durch Aufnahme von Elektronenspektren und Rf-Werten wurde die Rückoxidation zum Platynerepterin überprüft.

---

#### 4.4. Synthesen der Pterine und der Modellverbindungen

---

##### 4.4.1. Oxidatives Kondensationsprodukt [122] von 2-Methylchinoxazolon[120] und Chinoxazolon [121]

---

In einem qualitativen Versuch wurden je 50 mg der Ausgangsstoffe 2-Methylchinoxazolon und Chinoxazolon in 10 mL DMSO gelöst und ein Tropfen Schwefelsäure zugegeben. Nach einigen Stunden erwärmen auf 120° C färbte sich die Reaktionslösung dunkel.

Das gesamte Reaktionsgemisch wurde auf eine Sephadexsäule (LH-20, Höhe 24 cm, Durchmesser 5,5 cm) gegeben und mit Wasser eluiert. Ein gelbes Produkt wurde eluiert und eingengt. Für ein Elektronenspektrum wurde etwas Produkt in verdünnter Ameisensäure gelöst. Bei Zugabe von konz. Ameisensäure färbte sich die Lösung rot und bei weiterer Zugabe von Schwefelsäure färbte sie sich intensiv violett. Die Farbänderungen waren durch Zugabe von Wasser wieder rückgängig zu machen (Figur 32).

##### 4.4.2. Oxidatives Kondensationsprodukt [124] von Xanthopterin [6] und 2-Methylchinoxazolon [124]

---

Bedingungen für die Synthese dieses Kondensationsproduktes [124] fehlen.

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E qualit.)		
	0,1 M Natronlauge	238 (904), 365 (256), 380 (240), 494 (40), 525 (320)
	90% Ameisensäure	306 (232), 483 (512), 515 (1200), 554 (1536)

#### 4.4.3. Pterorhodin [12]

---

Pterorhodin [12] wurde nach der Vorschrift von Russel et al. (201) synthetisiert.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	In Schwefelsäure	C(7')-H: s 8,16 ppm
	In FSA	C(7')-H: s 7,98 ppm, C(2)-NH <sub>2</sub> : b 7,64 und s bei 8,0 ppm

<u>Elektronenspektren:</u>		
$\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E quali.)		
	0,1 M Natronlauge	340 (366), 396 (332), 503 (632), 538 (656)
	90% Ameisensäure	324 (172), 506 (576), 543 (626)

Das Elektronenspektrum von Pterorhodin [12] in 0,1 M Natronlauge veränderte sich schnell. In Intervallen von 2 Minuten wurden Spektren aufgenommen (Figur 34). Der isosbestische Punkt liegt bei 463 nm. Das  $\lambda_{\text{Max}}$  des neu gebildeten Produktes liegt bei 415 nm.

#### 4.4.4. Xanthopterin [6]

---

Xanthopterin [6] wurde nach einer Vorschrift von A. Albert und H. C. S. Wood (202) synthetisiert, welche durch Reduktion des Leukopterins [4] mit Natrium-Quecksilber das Dihydroxanthopterin [21] erhielten. Nach Oxidation mit Kaliumpermanganat wurde das Xanthopterin [6] erhalten.

Wir reinigten das Xanthopterin [6] über das Hydrochlorid, welches in kristalliner Form erhalten wurde. Durch Röntgenstrukturanalyse wurde von uns (203) die Struktur von diesem Xanthopterin-Hydrochlorid bestimmt.

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Peaks)					
	M <sup>+</sup> : 179 (65%)	152 (30%)	134 (8%.)	124 (5%)	109 (24%)
	43 (100%)				

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ )		
	0,1 M Natronlauge	256 (832 ), 392 (400)
	90% Ameisensäure	260 (880), 353 (350), 388 (Schulter 250)

#### 4.4.5. 7-Methylxanthopterin [8]

Nach einer Vorschrift von Gertrude B. Elion und G. H. Hitchings (204) wurde das 7-Methylxanthopterin [8] hergestellt. Das rohe 7-Methylxanthopterin [8] wurde nicht wie in der Vorschrift aus 2 M Salzsäure umkristallisiert, da dabei grössere Mengen von Pterorhodin [12] die gewünschte Reinigung zunichte machten, sondern das 7-Methylxanthopterin [8] wurde in Ameisensäure bei 90° C gelöst und mit einem grossen Überschuss von siedendem Wasser versetzt und langsam abgekühlt. Die Verunreinigungen wie sie bei der anderen Methode auftraten (6-Methylisoxanthopterin und Pterorhodin [12]) waren nicht mehr auffindbar.

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 193 (67%) 43 (100%)	165 (14%)	152 (57%)	123 (28%)

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (FSA)		
	sofort	nach
	Auflösen:	C(7)-CH <sub>3</sub> : s 3,23 ppm, 3H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 7,76 ppm, 2 H
	nach 6 Stunden	C(7)-CH <sub>3</sub> : s 5,60 ppm, 2 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 7,65 ppm, 2 H

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,26	0,17	0,36	-	0,86

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	250 (720), 380 (336)
	90% Ameisensäure	263 (470), 355 (330), 372 (Schulter 230)

#### 4.4.6. 7-Ethylxanthopterin

In 200 mL 2 M Schwefelsäure wurden 10 Gramm 2,4,5-Triamino-6-hydroxypyrimidin (THP) und 5 Gramm 2-Oxobuttersäure gekocht. Es wurde während 3 Stunden gekocht. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung über Nacht stehengelassen. Es fielen einige hellgelbe Kristalle aus, die ebenfalls abfiltriert wurden. Bei Siedehitze wurde anschliessend mit Natriumcarbonat auf pH = 4 gebracht. Über Nacht wurde erneut stehengelassen und der gebildete Niederschlag abgenutscht. Nach Waschen des Niederschlages mit Wasser/Ethanol und Ether wurde im Hochvakuum bei 80° C während 4 Stunden getrocknet. Die Ausbeute betrug 5,0 g.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	In TFS:	C(7')-CH <sub>3</sub> : t 1,41 ppm, J = 8 Hz, 3 H;
		C(7)-CH <sub>2</sub> : q 3,12 ppm, J= 8 Hz, 2 H;
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 8,21 ppm, 2 H;
	In FSA:	C(7')-CH <sub>3</sub> : d 2,40 ppm, J = 8 Hz, 3 H
		C(7)-CH(SO <sub>3</sub> H) : d 7,36 ppm, J = 8 Hz, 1 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 7,66 ppm und s 8,19 ppm, 2 H;

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M+: 207 (33%)	178 (7%)	171 (7%)	152 (17%)
	43 (100%)			

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ )		
	0,1 M Natronlauge	250 (768), 382 (384)
	90% Ameisensäure	352 (392), 370 (Schulter 288)

#### 4.4.7. 7-Propylxanthopterin

2, 5 g THP-Sulphat und 1,5 g 2-Oxovaleriansäure (Fluka) wurden in 200 mL 2 M Schwefelsäure eine Stunde gekocht. Nach Abkühlen auf 40° C wurde abfiltriert und über Nacht stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und in 10 mL konzentriertem Ammoniak gelöst. Das Ungelöste wurde abfiltriert. Nach dem Abziehen des Ammoniaks am Vakuum wurde das Produkt auf eine Sephadexsäule (LH 20, Höhe 20 cm, Durchmesser 5,5 cm) gegeben und mit 1% Ammoniak eluiert. Neben blau fluoreszierenden Produkten wurde das blaugrün fluoreszierende Propylxanthopterin eluiert. Die Fraktion wurde leicht eingengt (um den Ammoniak zu entfernen) und mit einigen Tropfen Ameisensäure leicht angesäuert. Der entstehende Niederschlag wurde abfiltriert und nach Waschen mit Alkohol und Ether im Hochvakuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 213 mg und war chromatographisch einheitlich.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	In TFS:	-CH <sub>3</sub> : t 1,02 ppm, J = 8 Hz, 3 H
		C(7')-CH <sub>2</sub> :- m 1,83 ppm, J = 8 Hz, 2 H
		C(7)-CH <sub>2</sub> :- t 3,02 ppm, J = 8 Hz, 2 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 8,10 ppm, 2 H
	In FSA:	-CH <sub>3</sub> : t 1,60 ppm, J = 8 Hz, 3 H
		C(7')-CH <sub>2</sub> :- Quintett 2,80 ppm, J = 8 Hz, 2 H
		C(7)-CH(SO <sub>3</sub> H):- t 7,32 ppm, J = 8 Hz, 1 H;

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 221 (43%)	206 (35%)	193 (100%)	165 (30%)
	152 (26%)	124 (18%)		

<u>CHN-Analyse:</u>					
(C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> )		m% C	m% H	m% N	m% O
	berechnet	48,8	4,97	31,7	6,88%
	gefunden	47,16	5,00	28,68	

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,32	0,60	0,55	-	0,93

<u>Elektronenspektren:</u>		
$\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	250 (696), 383 (360)
	90% Ameisensäure	262 (480), 354 (360), 370 (Schulter 288)



#### 4.4.8. 7-Isopropylxanthopterin

1 g des Natriumsalzes von 3-Methyl-2-oxo-buttersäure (Fluka puriss.) wurde mit 2,1 g THP-Sulphat in 100 mL 1 M Schwefelsäure während 4 Stunden gekocht. Die Lösung färbte sich leicht gelblich. Mit Natriumhydrogenkarbonat wurde neutralisiert. Über Nacht fiel ein weissgelbliches Produkt aus, welches abfiltriert wurde. Es erwies sich als das 7-Isopropylisoxanthopterin. Die Reaktionslösung wurde auf 50 mL eingengt und auf einer Sephadexsäule (LH 20, Höhe 28 cm, Durchmesser 6,5 cm) mit Wasser chromatographiert. Eine schnell laufende xanthopterinfarbig fluoreszierende Fraktion wurde im Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt, in wenig konz. Ammoniak gelöst und erneut auf dieselbe Sephadexsäule aufgetragen. Die wiederum mit Wasser eluierte Fraktion wurde aufgenommen und etwas eingengt. Nach Zugabe von einigen Tropfen Ameisensäure fiel ein hellgelbes Produkt aus. Es wurde mit Ethanol und Ether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 59 mg.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (FSA)			
	sofort	nach	C(7)-CH <sub>3</sub> : d 1,78 ppm, J 7 Hz, 6 H
	Auflösen:		C(7')-H: m 3,95 ppm, 1 Hz
			C(2) NH <sub>2</sub> : s 7,63 ppm und s 8,01 ppm, 2 H
	nach 3 Tagen		C(7')-CH <sub>3</sub> : s 2,55 ppm, 3 H
			C(7') CH <sub>2</sub> (SO <sub>3</sub> H): s 6,20 ppm, 2 H
			C(2) NH <sub>2</sub> : s 7,85 ppm und s 8,15 ppm, 2H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 221 (100%)	206(47%)	193(36%)	178(42%)
	161 (19%)	152 (58%)	124 (14%)	

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,45	0,72	0,63	-	0,92

#### 4.4.9. 7-Acetyl-xanthopterin

---

Dieses Produkt wurde nach der Vorschrift von R. Tschesche und F. Horte (205) durch Kondensation von THP-Sulphat mit Acetonoxalester in 2 M Schwefelsäure synthetisiert.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (d-Trichloressigsäure)		
	sofort nach Auflösen:	-CO(CH <sub>3</sub> ): s 2,46 ppm, 6 H C(7')-H: s 6,72 ppm, 1H
	nach 15 Minuten	-CO(CH <sub>3</sub> ): s 2,46 ppm, 6 H C(7')H: s 6,72 ppm, 0,4 H

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (FSA)		
	sofort nach Auflösen:	-CO(CH <sub>3</sub> ): s 3,20 ppm und s 3,33 ppm, 3 H C(7')-H: s 7,36 ppm und 7,64 ppm, 1 H
	nach 3 Tagen	-CO(CH <sub>3</sub> ): 3,25 ppm, 3H C(7')-H: s 7,60 ppm, 1 H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 235 (100%)	220 (43%/)	192 (34%)	43 (80%)

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ )		
	0,1 M Natronlauge	234 (904), 308 (272), 430 (472)
	90% Ameisensäure	318 (560), 390 (816)
	konz. Schwefelsäure	434, 455 (Schulter)

#### 4.4.10. 7-(2'-Hydroxypropyl)-xanthopterin

205 mg 7-Acetyl-xanthopterin [133] wurden in 100 mL 0,05 M Natronlauge gelöst. Nach Spatelspitzenweiser Zugabe von Natriumborhydrid während 5 Stunden war alles Ausgangsprodukt reduziert zu einem Produkt mit derselben Fluoreszenz wie das Xanthopterin [6]. Mit 5 mL Aceton wurde der Überschuss an Natriumborhydrid unter Kühlen mit flüssigem Stickstoff vernichtet. Mit Ameisensäure wurde auf pH 4,0 eingestellt, und der gelbe Niederschlag abzentrifugiert. In wenig konz. Ammoniak wurde das Produkt gelöst und über eine Sephadexsäule (100 g LH 20, h = 28 cm, D = 6,5 cm) chromatographiert. Als Elutionsmittel wurde 1% Ammoniak verwendet.

Die xanthopterinfarbig fluoreszierende Fraktion wurde eingengt, bis alles Ammoniak entfernt war. Nach Zugabe von einigen Tropfen Ameisensäure bis pH 6 fiel ein gelbes Produkt aus. Nach Abzentrifugieren und Waschen mit Ethanol und Ether wurde im Hochvakuum Stunden bei 80° C getrocknet. Die Ausbeute an 7-(2'-Hydroxypropyl)-xanthopterin betrug 45 mg.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (TFS)		
	sofort nach Auflösen:	C(2')-CH <sub>3</sub> : d 1,56 ppm, J = 6 Hz, 3 H
		C(7')-CH <sub>2</sub> :- d 3,37 ppm, J = 6 Hz, 2 H
		C(2')-H: Sextett 4,75 ppm, J = 6 Hz, 1 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 8,21 ppm, 2 H
	nach 1 Tag	C(2')-H: von 4,75 ppm nach 5,92 ppm verschoben (Esterbildung der (2')-Hydroxylgruppe).

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> - H <sub>2</sub> O: 219 (32%)	193 (88%)	165 (15%)	152 (65 %)
	124 (32%)	43 (100%)		

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ )		
	0,1 M Natronlauge	250 (680), 383 (296)
	90% Ameisensäure	260 (416), 353 (320)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,47	0,29	0,40	-	0,90

#### 4.4.11. 7- Propyl-(2')-en-xanthopterin

50 mg 7-(2'-Hydroxypropyl)-xanthopterin wurde in 100 mL wasserfreier Ameisensäure 1 Stunde auf 80° C erwärmt. Das Reaktionsprodukt färbte sich dunkel. Das Produkt wurde zur Trockene eingengt und in wenig 1 M Natronlauge auf eine Sephadexsäule (LH 20, Höhe 28 cm, Durchmesser cm) aufgetragen und mit 1% Ammoniak eluiert. Nach Einengen, bis der Ammoniak entfernt war und Zugabe von einigen Tropfen Ameisensäure, fiel ein gelbes Produkt aus, welches mit Ethanol und Ether gewaschen wurde. Getrocknet wurde das Produkt im Hochvakuum. Die Ausbeute betrug 30 mg.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (TFS)	
	-CH <sub>3</sub> : d 2,10 ppm, J = 6,8 Hz, 3 H
	C(3')-H : d 7,02 ppm, J = 16 Hz, 1 H
	C(2')-H: 4 Signale mit Koppelungskonstanten von 16 Hz und 6,8 Hz bei 7,94 ppm, 1 H
	C(2)-NH <sub>2</sub> : s 8,02 ppm, 2 H
	N(3)-H: s 8,13 ppm, 1 H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 219 (64%)	193 (23%)	164 (28%)	152 (44%)
	43 (100%)			

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	263 (744), 420 (408)
	90% Ameisensäure	297 (298), 392 (504)
	konz. Schwefelsäure	$\lambda_{\text{Max}}$ 314

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,23	0,37	0,48		0,86
Fluoreszenz: gelb						

#### 4.4.12. Dehydroekapterin

150 mg 7-Methylxanthopterin [8] wurden mit einem Überschuss von 2 g Glyoxylsäure in 70 mL konz. Salzsäure bei 80° C gelöst und 5 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Aus der ursprünglich klaren Lösung fiel ein gelbbrauner Niederschlag aus. Nach Abkühlen wurde abfiltriert und mit Wasser, Ethanol und Ether gewaschen. Im Hochvacuum wurde getrocknet. Auf diese Weise wurden 130 mg Dehydroekapterin erhalten.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	In TFS:	AB System von C(1') -H und C(2')-H bei 7,41 ppm und 8,15 ppm, J = 16 Hz, 2 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : 8,22 ppm, 2 H
	In FSA:	AB System von C(1')-H und C(2')-H bei 8,03 ppm und 8,99 ppm, J = 16 Hz, 2 H
		C(2)-NH <sub>2</sub> : s 8,74 ppm, 2 H
		N(3)-H: s 10,38 ppm, 1 H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)					
	M <sup>+</sup> : 247 (2%)	231 (3%)	217(4%)	207 (20%)	193 (13%)
	178 (6%)	154 (20%)	124 (8%)	44 (100%)	

<u>Elektronenspektren:</u> λ <sub>Max</sub> [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	245 (808), 452 (376)
	90% Ameisensäure	407 (360)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,08	0,27	0,31	-	0,70

#### 4.4.13. Ekapterin

---

Als alternative Ekapterinsynthese zu der von Viscontini und Stierlin entwickelten Synthese (209) erwies sich eine Modifikation der Dehydroekapterinsynthese. Analog einer Vorschrift von M. Debono, R. M. Malloy und L. E. Patterson (206), die durch Kondensation von Glyoxylsäure an 5- $\alpha$ -Androstanolon eine  $\alpha$ -Hydroxyessigsäure erhielten, wurde auch das Ekapterin [9] durch Kondensation von Glyoxylsäure mit 7-Methylxanthopterin [8] erhalten.

100 mg 7-Methylxanthopterin [8] wurden in 50 mL Ameisensäure gelöst und bei 50° C 100 mg Glyoxylsäure zugegeben. Nach 5 Minuten wurde die Reaktionslösung im Rotationsverdampfer eingengt, mit konz. Ammoniak versetzt und auf eine Sephadexsäule (LH-2, Höhe 27 cm, Durchmesser d 5,5 cm) auf getragen und mit 1% Ammoniak eluiert. Die Ekapterinfraktion wurde eingengt, bis das Produkt ausfiel. Durch Zugabe von Aceton konnte weiteres Produkt ausgefällt werden. Nach Abzentrifugieren und Waschen mit Ethanol und Ether wurde in Hochvacuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 10 mg, im Dünnschichtchromatogramm einheitliches und mit authentischem Ekapterin [9] identisches Produkt.

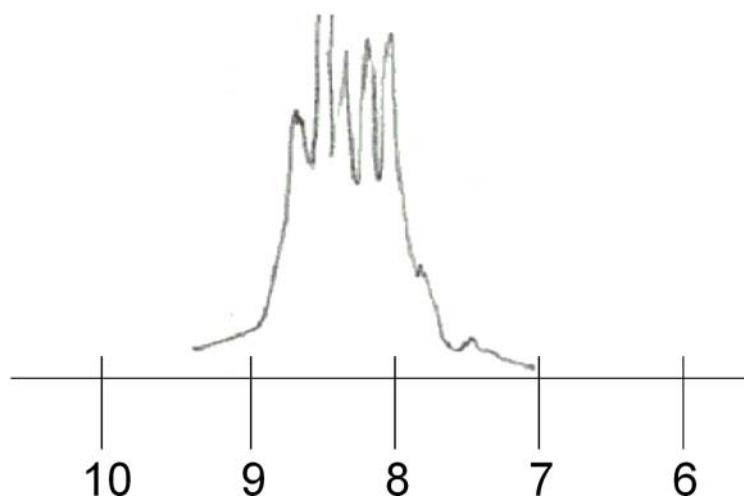
<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert eigene Synthese	0,51	0,18	0,18	-	0.74
	Rf-Wert authentisches Produkt	0,51	0,18	0,18	-	0.74

#### 4.4.14. 7-Styrylxanthopterin

250 mg 7-Methylxanthopterin [8] wurden in 20 mL Ameisensäure bei 80° C gelöst. Dazu wurde ein Ueberschuss von 2 mL Benzaldehyd gegeben. Es wurde auf 100° C während 2 Stunden erwärmt. Im Verlaufe dieser Zeit wurde alles Ausgangsprodukt in ein Produkt mit intensiver gelber Fluoreszenz umgewandelt. Bei 60° C wurde in Rotationsverdampfer eingengt, in wenig Natronlauge gelöst und auf eine Sephadexsäule (LH 20, Höhe 27 cm, Durchmesser 5.5 cm) aufgetragen. Mit 1% Ammoniak wurde eluiert. Einige fluoreszierende Produkte wurden schnell eluiert, während das Hauptprodukt langsam durch die Säule wanderte. Es wurde im Rotationsverdampfer auf 100 mL eingengt und mit Ameisensäure auf pH = 3,5 gebracht und stehen gelassen. Ein helloranges Produkt fiel aus, welches abfiltriert wurde und mit Ethanol und Ether gewaschen wurde.

Bei 80° C wurde im Hochvacuum während 5 Stunden getrocknet. Die Ausbeute betrug 348 mg.

#### <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:



In FSA: im Bereich von 7,8-8,5 ppm mehrere Signale die nicht zugeordnet wurden.

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 281 (41%)	280 (59%)	235 (15%)	44 (100%)

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ )		
	0,1 M Natronlauge	273 (678), 313 (448), 452 (544)
	90% Ameisensäure	430 (660)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,00	0,35	0,34	-	0,72
Fluoreszenz: gelb						

Als Kontrollsynthese wurde das 7-Styrylxanthopterin noch synthetisiert, indem 150 mg 7-Phenacylxanthopterin in 100 mL verd. Natronlauge gelöst wurde und mit 300 mg Natriumborhydrid versetzt wurde. Das überschüssige Natriumborhydrid wurde durch Zugabe von Aceton unter Kühlen mit flüssigem Stickstoff zerstört. Nach Ansäuern mit Ameisensäure fiel Produkt aus, welches abfiltriert wurde und über eine Sephadexsäule (LH-20, Höhe 25 cm, Durchmesser 5,5 cm) mit 1% Ammoniak eluiert wurde. Eine schnell laufende xanthopterinfarbig fluoreszierende Fraktion wurde eingengt und mit einem Tropfen Ameisensäure angesäuert. Das ausfallende Produkt wurde nach abfiltrieren gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug 26 mg an reduziertem 7-Phenacylxanthopterin.

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,21	0,65	0,62		0,86
Fluoreszenz: grünblau						

50 mg reduziertes 7-Phenacylxanthopterin wurden in ca. 50 mL Ameisensäure kurz gekocht und anschliessend über eine Sephadexsäule chromatographiert. Ein gelb fluoreszierendes Produkt wurde eingengt, in einem kleinen Volumen Ameisensäure gelöst und mit Wasser verdünnt. Das ausfallende Produkt wurde abzentrifugiert, in Ethanol und Ether gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug 9 mg. Dieses Produkt war identisch (identische IR-Spektren und Rf-Werte) mit dem durch Kondensation von 7-Methylxanthopterin [8] mit Benzaldehyd erhaltenen 7-Styrylxanthopterin.



#### 4.4.15. 7-Phenacylxanthopterin

Dieses Produkt wurde von Y. Iwanami und T. Seki (207) synthetisiert, indem sie THP-Sulphat mit dem Ethylester der Benzoylbrenztraubensäure in Essigsäure kondensierten. Durch Umkristallisieren in DMSO erhielten sie orange Kristalle. Weil wir in den Elektronenspektren Unterschiede zu den Spektren von Y. Iwanami und T. Seki (207) erhielten, sind die Werte aus (207) angegeben:

Elektronenspektrum: $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E mol)		
	0,1 M Natronlauge	228 (34500), 345 (11000), 422 (11500)

Wir synthetisierten dieses Produkt durch Kondensation von 340 mg Xanthopterin [6] mit 1 mL Acetophenon in 10 mL DMSO, dem 2 Tropfen konz. Schwefelsäure zugegeben worden war. Nach Erwärmen auf 100° C während einer Stunde hatte sich die Lösung dunkelorange gefärbt.

Nach Abkühlen wurde unter Rühren 50 mL Ether zugegeben und der entstehende Niederschlag abfiltriert und gewaschen mit Wasser, Ethanol und Ether. Im Hochvacuum wurde 4 Stunden bei 0,05 Torr getrocknet. Die Ausbeute betrug 395 mg rohes 7-Phenacylxanthopterin.

Zur weiteren Reinigung wurden 150 mg des rohen Produktes auf einer Sephadexsäule (LH-20, Höhe 28 cm, Durchmesser 6,5 cm), nach Lösen in wenig verdünnter Natronlauge, aufgetragen und mit 1% Ammoniak eluiert. Nach mehreren schnell laufenden, fluoreszierenden Produkten wurde ein langsam laufendes orangefarbenes Produkt eluiert. Diese Fraktion wurde auf dem Rotationsverdampfer eingengt bis Produkt ausfiel. Mit 2 Tropfen Ameisensäure wurde angesäuert, der Niederschlag abfiltriert und mit Wasser, Ethanol und Ether gewaschen. Über Nacht wurde im Hochvacuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 32 mg.

Massenspektrum: (wichtigste Paks)				
	M <sup>+</sup> : 297 (42%)	268 (43%)	192 (1%)	179 (29%)
	135 (75%)	105 (100%)	77(100%)	

Elektronenspektren: $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	240 (736), 324 (392), 479, (1040)
	90% Ameisensäure	311 (268), 324 (240), 426 (624), Schulter bei 476 (568) und 475 (328)
	konz. Schwefelsäure	473, 501

D-Chromatogramme:						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,00	0,24	0,43	-	0,49
Fluoreszenz: gelb						

#### 4.4.16. 7-Xanthopterincarbonsäure

---

Nach Vorschrift von R. Purmann (208) wurde die Xanthopterincarbonsäure [41] aus 2,4,5-Triamino-6-oxopyrimidinsulphat mit Mesoxalester synthetisiert. Das so erhaltene Produkt enthielt noch das isomere Produkt und wurde mit Wasser als Elutionsmittel über Sephadex chromatographiert.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	In FSA:	C(2)-NH <sub>2</sub> : b s 7,71 ppm

<u>Elektronenspektren:</u>		
$\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ )		
	0,1 M Natronlauge	254 (648), 394(280)
	90% Ameisensäure	377 (220), 421(Schulter 80)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,31*	0,02	0,03	-	0,75
*0,25 al Na-Salz; Fluoreszenz: gelbgrün						

#### 4.4.17. Erythropterin [10]

---

Erythropterin [10] wurde nach der Vorschrift von M. Viscontini und H. Stierlin (209) synthetisiert.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u>		
	InTFS:	C(7')-H: s 7,44 ppm

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 265 (fehlt)	247 (4%)	245 (5%)	219 (13%)
	193 (74%)	152 (56%)	44(100%)	

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )		
	0,1 M Natronlauge	235 (544), 464 (490)
	90% Ameisensäure	320 (288), 428 (332)
	konz. Schwefelsäure	232 (488), 417 (456), 437 (480)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,25	0,04	0,06		0,60

#### 4.4.18. Lepidopterin [11]

Dieses Produkt wurde aus Erythropterin [10] durch Behandeln mit Ammoniak nach einer Arbeitsvorschrift von M. Viscontini und H. Stierlin synthetisiert (209). Zur weiteren Reinigung wurde das Lepidopterin [11] über Sephadexsäulen eluiert.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (TFS)	
	C(7')-H: s 7,01 ppm, 1 H
	C(2)- NH <sub>2</sub> : s 7,90 ppm, 2 H
	Daneben die für -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> charakteristischen drei Signale von je 1 H bei 6,04 ppm, 6,58 ppm und 7,12 ppm.

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M+: 264 (fehlt)	246 (2%)	217(5%)	203 (23%)
	193 (9%)	152 (9%)	44 (100%)	

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] ( $E^{1\%}_{1\text{ cm}}$ )		
	0,1 M Natronlauge	246 (520), 460 (536)
	90% Ameisensäure	453 (600), 478 (600)
	konz. Schwefelsäure	234 (496), 435 (412), 455 (416)

<u>D-Chromatogramme:</u>						
	E-Mittel	1	2	3	4	5
	Rf-Wert	0,02	0,04	0,03		0,86
Fluoreszenz: gelb						

#### 4.4.19. 7-Aminoxanthopterin [42]

a) 80 mg Xanthopterincarbonsäure [41] wurde in 100 mL konz. Ammoniak während 2 Tagen stehen lassen. Darauf wurde das Produkt im Rotationsverdampfer zur Trockene eingeeengt. Das Produkt wurde in 10 mL konz. Ameisensäure gelöst und mit 20 mL Wasser verdünnt. Ein wenig gelbes Produkt (nicht umgesetztes Ausgangsprodukt) wurde dadurch ausgefällt und abfiltriert. Das Filtrat wurde zur Trockene eingeeengt. Beim Abkühlen einer heissen wässrigen (einige Tropfen konz. Ammoniak wurden zugegeben, damit die Lösung leicht basisch reagierte) Lösung des Filtrats fiel ein cremefarbiges Produkt aus, welches abfiltriert und getrocknet wurde. Die Ausbeute betrug 34 mg.

b) 600 mg Xanthopterincarbonsäure [41] wurden in 300 mL konz. Ammoniak gelöst. Unlösliches wurde durch einen Faltenfilter abfiltriert und das Filtrat in einer grösseren Kristallisierschale während 2 Tagen offen stehen gelassen. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks fiel ein cremefarbiges Produkt aus welches abfiltriert wurde. Dieses Verfahren wurde 4-mal wiederholt, bis die Ausbeute an 7-Aminoxanthopterin [42] aus den einzelnen Aufarbeitungen ca. 400 mg betrug.

Zur Reinigung des rohen 7-Aminoxanthopterin [42] wurde entweder aus heissem Wasser umkristallisiert oder über eine Sephadexsäule gereinigt.

Umkristallisieren:

100 mg rohes 7-Aminoxanthopterin [42] wurden in 80 mL siedendem Wasser gelöst, dem beim Abkühlen einige Tropfen konz. Ammoniak zugegeben wurden. Als Produkt wurde nach Abfiltrieren und Trocknen 61 mg 7-Aminoxanthopterin [42] erhalten.

Chromatographieren:

140 mg 7-Aminoxanthopterincarbonsäure [42] wurden in möglichst wenig 50% Ammoniak gelöst und auf eine mit 10% Ammoniak klimatisierte Sephadexsäule aufgetragen (LH-20, 200 g, Höhe 25 cm, Durchmesser 8 cm). Das stark blau fluoreszierende Produkt wurde aufgenommen und nach Abziehen des Ammoniaks im Rotationsverdampfer stehengelassen. Der sich bildende Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Die Ausbeute betrug 51 mg.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (TFS)	
	C(2)- NH <sub>2</sub> und C(7)- NH <sub>2</sub> : bei 7,91 ppm, s.
	Daneben Verunreinigungen bei 8,18 ppm, s (1:10)

Massenspektrum: (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 194 (30%)	166 (9%)	152 (5%)	124 (10%)
	44 (100%)			

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )	
	0,1 M Natronlauge 242 (536), 279 (200), 352 (312)
	90% Ameisensäure 290 (384), 330 (504), 345 (540), 361 (Schulter 340)

<u>CHN-Analyse:</u>					
$(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_6\text{O}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O})$		m% C	m% H	m% N	m% O
	berechnet	31,30	4,38	36,50	6,88%
	gefunden	31,30	3,78	37,08	

#### 4.4.20. Xanthopteryl-3-methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-(2)-on [125]

a) 320 mg Xanthopterin [6] wurde in 20 mL DMSO mit 6 g 3-Methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-(2)-on versetzt. Es wurde auf 140° C erwärmt und während 10 Minuten Luft durch die Lösung geblasen. Nach Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit 200 mL Ether geschüttelt. Im Scheidetrichter wurde ein dunkles Öl als untere Schicht abgelassen und mit Essigester in einem Becherglas umgerührt. Ein Produkt fiel aus, welches in konz. Ammoniak gelöst wurde. Nach Entfernen von Ammoniak wurde das Produkt auf einer Sephadexsäule (LH-20, Höhe 26 cm, Durchmesser 6,5 cm) mit 1% Ammoniak eluiert. Xanthopterin [6] und weitere Nebenprodukte wurden schnell eluiert, das gesuchte orangefarbene Produkt wurde nur langsam eluiert. Im Rotationsverdampfer wurde das eluierte Produkt eingengt und in 50 mL heisser Ameisensäure gelöst. Mit 100 mL Wasser wurde verdünnt, so dass ein orangefarbenes Produkt ausfiel. Nach Abfiltrieren und Waschen mit Wasser, Ethanol und Ether wurde im Hochvacuum bei 40° C während 5 Stunden getrocknet. Die Ausbeute betrug 106 mg.

b) Dasselbe Produkt wurde auch erhalten, durch Versetzen von Erythropterin [10] mit Überschuss an Ethylendiamin in ameisenaurer Lösung. Die Ausbeute war jedoch wesentlich geringer.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (FSA)	
	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -: b s 4,48 ppm, 4 H
	C(7')-H: s 7,32 ppm., 1 H
	N(?) -H: b s 9,50 ppm, 1 H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 289 (fehlt)	193 (68%)	152 (73%)	124 (37%)
	96 (79%)	78(100%)		

<u>Elektronenspektren:</u> $\lambda_{\text{Max}}$ [nm] (E <sup>1%</sup> <sub>1 cm</sub> )	
	0,1 M Natronlauge 253 (344), 362 (144), 380 (128), 468 (468)
	90% Ameisensäure 471 (796), 495 (800)

#### 4.4.21. 3-Methyl-5,6-dihydro-(1H)-pyrazin-(2)-on [126]

---

In einen 200 mL Rundkolben wurden 30 g Ethylendiamin und 11,6 g Brenztraubensäureethylester gegeben. Es trat starke Erwärmung auf. Nach Abklingen der Reaktion wurde während 30 Minuten auf 100° C erwärmt. Im Rotationsverdampfer wurde bei 60° C eingeeengt und das zurückbleibende Öl im Vakuum (0,01 mm Hg) bei 130° C destilliert. Das Destillat kristallisierte in farblosen Nadeln aus. Die Ausbeute betrug 15 g. Der Schmelzpunkt betrug 99,1° C.

<u><sup>1</sup>H-NMR-Spektrum:</u> (CDCl <sub>3</sub> )	
	C(3)- CH <sub>3</sub> : d 22,21 ppm, 1,8 Hz, 3H
	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -: m 3,55 ppm, 4 H

<u>Massenspektrum:</u> (wichtigste Piks)				
	M <sup>+</sup> : 112 (37%)	84 (22%)	55 (100%)	42 (53%)



5. *Literaturverzeichnis*

- (1) F. G. Hopkins, *Nature (London)* 40, 335 (1889)
- (2) R. Purrmann, *Liebigs Ann. Chem.* 546, 98 (1940)
- (3) S. Wright, *Amer. Nat.* 66, 282 (1932)
- (4) H. Wieland und Ch. Schöpf, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 58, 2178 (1925)
- (5) R. Purrmann, *Liebigs Ann. Chem.* 544, 182 (1940)
- (6) R. Purrmann, *Liebigs Ann. Chem.* 548, 284 (1941)
- (7) G. Wald und G. Allen, *J. Gen. Physiol.* 30, 41 (1946)
- (8) K. W. Maas, *Genetics* 33, 177 (1948)
- (9) H. Heymann, F. L. Chan und C. W. Clancy, *J. Amer. Chem. Soc.* 73, 1112 (1950)
- (10) H. S. Forrest und H. K. Mitchell, *J. Amer. Chem. Soc.* 76, 5658 (1954)
- (11) H. S. Forrest und S. Nawa in W. Pfeleiderer und V. C. Taylor:  
"Pteridine Chemistry", Pergamon Press, New York 1964, S. 281
- (12) M. Viscontini in W. Pfeleiderer und V. C. Taylor: *ibid.*, S. 267
- (13) W. Pfeleiderer in W. Pfeleiderer:  
"Chemistry and Biology of Pteridines", Walter de Gruyter, Berlin, New York 1975
- (14) K. Sugiura, S. Takikawa, M. Tsusue, M. Goto, *Bulletin Chem. Soc. Japan* 46, 3312 (1973)
- (15) K. Rokos und W. Pfeleiderer, *Chem. Ber.* 108, 2728 (1975)
- (16) K. Sugiura, M. Goto und S. Nawa, *Tetrahedron Letters* 1969, 2963
- (17) M. Viscontini und T. Möhlmann, *Helv. Chim. Acta* 42, 1679 (1959)
- (18) W. Pfeleiderer in W. Pfeleiderer:  
"Chemistry and Biology of Pteridines", Intern. Acad. Printing, Tokyo 1970, S. 7
- (19) H. Schlobach und W. Pfeleiderer, *Helv. Chim. Acta* 55, 2518 (1972)
- (20) N. Theobald und W. Pfeleiderer, *Tetrahedron Letters* 1977, 841
- (21) M. Goto, M. Konishi, M. Tsusue, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 38, 503 (1965)
- (22) H. S. Forrest und C. Van Baalen, *Annu. Rev. Microbiol.* 24, 91-108 (1970)  
(Zusammenfassung)
- (23) I. Ziegler, *Adv. in Insect Physiol.* 6, 139-203 (1963) (Zusammenfassung)
- (24) J. Matsumoto, *Exp. in Physiol. and Biochem.* 4, 289-363 (1971) (Zusammenfassung)
- (25) G. Guroff, C. A. Rhoads, *J. Biol. Chem.* 244, 142 (1969)
- (26) R. Tschesche und H. Vester, *Chem. Ber.* 86, 454 (1953)
- (27) K. Ramakrishna Rao, S. Meenakshisundaram und E. R. B. Shanmugasundaram, *Nature* 213, 503 (1967)
- (28) S. Ohdate, Y. Takebe und T. Hama, *Proc. Japan. Acad.* 35, 567 (1959)
- (29) J. A. Blair, *Nature, London* 180, 1371 (1957)
- (30) T. Hama und M. Obika, *Nature, London* 187, 326 (1960)
- (31) T. J. Bagnara und M. Obika, *Nature. Comp. Biochem. Physiol.* 15, 33 (1965)
- (32) J. Matsumoto, *J. Cell. Biol.* 27, 493 (1965)
- (33) M. Polonovski und E. Fournier, *Compt. Rend. Soc. Biol.* 138, 357 (1944)
- (34) E. Ortiz, H. L. Throckmorton und G. H. Williams-Ashman, *Nature, London* 196, 595 (1962)
- (35) E. Hadorn und A. Kühn, *Zeitschrift für Naturforschung* 8b, 582 (1953)
- (36) C. Van Baalen und H. S. Forrest, *J. Amer. Chem. Soc.* 81, 1770 (1959)
- (37) B. Linzen, *Adv. Insect. Physiol.* 10, 117 (1974)
- (38) W. Rüdiger, W. Klose, M. Vuillaume und M. Barbier, *Experientia* 24, 1000 (1968)
- (39) J. Feltwell und L. R. G. Valadon, *Nature, London* 225, 969 (1970)
- (40) H. Descimon, *J. Microscopie* 4, 130 (1965)
- (41) H. Descimon in W. Pfeleiderer:

- "Chemistry and Biology of Pteridines", Walter de Gruyter Berlin, New York 1975
- (42) H. Langer, *Zeitschr. vergl. Physiologie* 55, 354 (1967)
- (43) I. Ziegler, *Zeitschr. Vererbungslehre* 92, 239 (1961)
- (44) J. Matsumoto, *J. Cell. Biol.* 27, 493 (1965)
- (45) J. Matsumoto, M. Obika, J. D. Taylor, *Amer. Zool.* 8, 757 (1968)
- (46) J.T. Bagnara, M. E. Hadley, J. D. Taylor, *Comp. Endocrinol. Suppl.* 2, 425 (1969)
- (47) H. Rembold und W. L. Gyure, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 84, 1088 (1972)  
(Zusammenfassung)
- (48) K. Buff und W. Dairmann, *Molekular Pharmacology* 11, 87 (1975)
- (49) A. Suzuki und M. Goto, *Biochimica et Biophysica Acta* 304, 222 (1973)
- (50) J. Cone und G. Guffoff, *Jour. Biol. Chem.* 246, 979 (1971)
- (51) H. Rembold und W. Gutensohn, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 31, 837 (1968)
- (52) H. S. Forrest, M. McNater und J. Alexander, *J. Insect. Physiol.* 12, 1411 (1966)
- (53) Ch. Kitayama und M. Tsusue, *Agr. Biol. Chem.* 39 (4), 905 (1975)
- (54) P. Hemmerich in "Fortschritte der Chemie Org. Naturstoffe" Bd. 33, 29  
(Zusammenfassung)
- (55) G. Y. Kennedy, in *Chemical Zoology Vol. IV*, M. Florkin und B. T. Scheer (edit.), Academic Press, New York und London (1969)
- (56) A. Fischer und J. Brökelmann, *Zeitschrift für Zellforschung* 71,15 (1965)
- (57) A. Fischer, *Molec. Gen. Genetics* 104, 360 (1969)
- (58) A. Fischer, *Wilhelm Roux' Archiv* 168, 226 (1971)
- (59) (A. Fischer neue Publikation)
- (60) A. Fischer, *Cell Tiss. Res.* 160, 327 (1975)
- (61) M. Viscontini, W. P. Hummel, A. Fischer, *Helv. Chim. Acta* 53 (5),1207 (1970)
- (62) U. C. Elderfield und A. C. Metha in: „Heterocyclic Compounds" Vol.9
- (63) O. Isay, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 39, 250 (1906)
- (64) W. Koschara, *Zeitschr. Physiol. Chem.* 277, 159 (1943)
- (65) G. B. Elien und G. H. Hitchings, *Jour. Amer. Chem. Soc.* 69, 2553 (1947)
- (66) F. Weygand und B. Spiess, *Chem. Ber.* 97, 3456 (1964)
- (67) R. Tschesche und F. Korte, *Chem. Ber.* 84, 77 (1951)
- (68) R. Tschesche und H. Schäfer, *Chem. Ber.* 88, 81 (1955)
- (69) Y. Iwanami T. Seki, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 45 (9), 2829 (1972)
- (70) R. Tschesche, H. Barkmeyer, G. Heuschkel, *Chem. Ber.* 88, 1258 (1955)
- (71) S. Matsuura, S. Nawa, H. Kakizawa, Y. Hirata, *Jour. Amer. Chem. Soc.* 75, 4446 (1953)
- (72) H. S. Forrest, R. Hull, H. J. Rodda, A. R. Todd, *Jour. Chem. Soc.* 1951, 3
- (73) W. R. Boon und T. Leigh, *Jour. Chem. Soc.* 1951, 1497
- (74) W. Pfeleiderer, *Chem. Ber.* 107, 785 (1974)
- (75) A. Stuart, D. W. West, H. C. S. Wood, *Jour. Chem. Soc.* 1964, 4769
- (76) M. Viscontini und M. Piraux, *Helv. Chim. Acta* 45, 1000 (1962)
- (77) C. Schöpf und K. H. Gänshirt, *Angew. Chem.* 74, 153 (1962)
- (78) M. Viscontini und H. Stierlin, *Helv. Chim. Acta* 46, 51 (1963)
- (79) P. B. Russell, R. Purrmann, W. Schmitt, G.H. Hitchings, *Jour. Amer. Chem. Soc.* 71, 3412 (1949)
- (80) E. C. Taylor, R. F. Abdulla, K. Tanaka, P. A. Jacobi, *Jour. Org. Chem.* 40, 2341 (1975)
- (81) K. Sugiura und M. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 46, 939 (1973)
- (82) K. Sugiura und M. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jap.* 42, 2662 (1969)
- (102) Fage und R Legendre, *Archives de Zoologie experimentale et general* 67, 23 (1927)
- (103) S. Nawa, *Bull. Chem. Soc. Japan* 33, 1553 (1960)

- (104) K. Sugiura und M. Goto, Letters No 47, 4059, (1970)
- (105) P. B. Russel et alt. Jacs (1949)
- (106) Hinsberg, Annalen d. Chemie, 292, 249, (1896)
- (107) G. Scheibe in "Optische Anregung organischer Systeme", Seite 111, 2. Int. Farbensymposium, Verlag Chemie, (1966) (108) R. Purrmann und F. Eulitz, Ann. 559, 169, ((1948)
- (109) G. Scheibe, W. Seiffert, H. Wengenmayer und C. Jutz, Berichte der Bunsengesellschaft 67,560, (1963)
- (110) W. Pfeleiderer, Chem. Ber., 95, 2195, (1962)
- (111) L. Merlini, W. Von Philipsborn und M. Viscontini, Helv. chim. acta, 46, 2597, (1963)
- (112) A. Dieffenbacher, Dissertation 1969: "Protonenresonanzspektren von Pteridinen".
- (113) Y. Iwanami und T. Seki, Bulletin of the chem. Soc. Of Japan, 45, 2829 (1972)
- (114) Y. Iwanami und M. Akino, Tetrahedron Letters No 31, 3219,1972
- (115) P. Haug, Analytical Biochemistry, 37, 285, (1970)
- (116) R. Tschesche und H. Schäfer, Chem. Ber., 88, 81, 1955
- (117) W. v. Philipsborn, H. Stierlin und W. Traber, Helv. Chim. Acta, 56, 2592, (1963)
- (118) L. Merlini, W. v. Philipsborn und M. Viscontini, 56, 2597, (1963)
- (119) M. Viscontini, Helv. Chim. Acta, 40, 587, (1957).
- (120) F. G. Hopkins, Proc. Roy. Soc. (London) B, 130; 359, (1942)
- (121) C. Schöpf und E. Becker, Liebigs Ann. Chem. 507, 266, (1933)
- (122) M. Viscontini und T. Möhlmann, Helv. Chim. Acta 42, 1679 (1959)
- (124) W. L. Cairus und D. E. Metzler, JACS 93:11, p 2772, (1971)
- (125) P. Hemmerich in „The present status of Flavin and Flavocoemzyme Chemistry“ in Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Bd. 33, (1976)
- (126) W. Pfeleiderer, Chem. Ber., 2195, (1962)
- 
- (200) F. Kavanagh und R. H. Goodwin,., Archs biochem., 20, 315, (1949) (201) P. B. Russell, R. Purrmann, W. Schmitt, G.H. Hitchings, Jour. Amer. Chem. Soc. 71, 3412 (1949)
- (202) A. Albert und H. C. S. Wood, Journal of appl. Chemisrty, 2, 591, (1952)
- (203) J. H. Bieri, W.-P. Hummel und M. Viscontini, Helv. Chim. Acta Vol. 59, Fasc. 7, p. 2374-2379 (1976)
- (204) G. B. Elion und G. H. Hitchings, Jour. Of Amer. Chem. Soc., 69, 2553, (1947)
- (205) R. Tschesche und F. Korte, Chem. Ber.84, 77 (1951)
- (206) M. Debono, R. M. Malloy und L. E. Patterson, Jour. of org. Chemistry, 34, 3032, 1969
- (207) Y. Iwanami T. Seki, Bull. Chem. Soc. Jap. 45 (9), 2829 (1972)
- (208) R. Purrmann, Liebigs Ann. Chem..548, 284 (1941)
- (209) M. Viscontini und H. Stierlin, Helv. Chim. Acta 46, 51 (1963)