

179. Fluoreszierende Stoffe aus *Drosophila melanogaster*

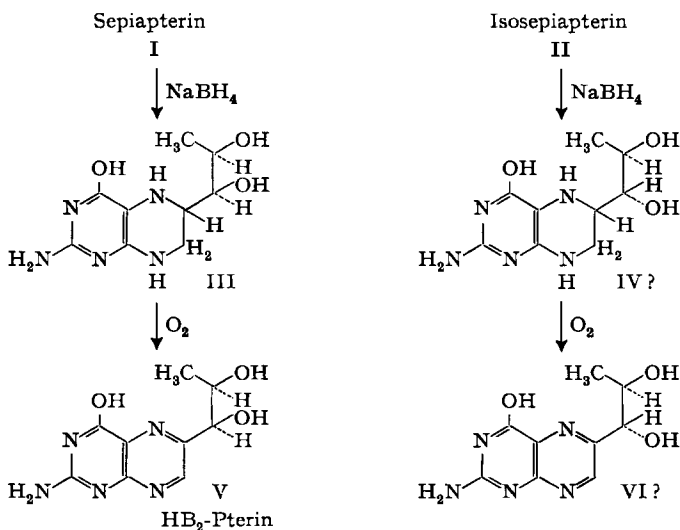
13. Mitteilung

Weitere Beiträge zur Konstitutionsaufklärung  
der Sepiapterine und der Drosopterine

von M. Viscontini und E. Möhlmann

(13. VI. 59)

In unserer 12. Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir die Hypothese aufgestellt, dass das Sepiapterin ein HB<sub>2</sub>-Pterin-Gerüst besitzt. Wir kamen zu dieser Auffassung dadurch, dass bei der Rückoxydation der mit NaBH<sub>4</sub> erhaltenen Reduktionsprodukte III und IV von Sepia- und Iosepiapterin die Stoffe V und VI entstanden, die dem HB<sub>2</sub>-Pterin sehr ähnlich waren. Inzwischen haben wir grössere Mengen dieser dem HB<sub>2</sub>-Pterin ähnlichen Stoffe V und VI gewonnen und auf ihre biologische Aktivität untersuchen lassen. Dr. KIDDER, Department of Biology, Amherst College, Mass., besass die Freundlichkeit, diese Versuche für uns durchzuführen. Das Produkt V, das aus Sepiapterin entsteht, besitzt beim Wachstumtest an *Crithidia fasciculata* die gleiche biologische Aktivität wie das synthetische Biopterin und ist mit dem HB<sub>2</sub>-Pterin identisch. Das Produkt VI dagegen ist wohl noch aktiv, jedoch nur halb so stark wie V. Die strukturelle Verwandtschaft zwischen Sepiapterin und HB<sub>2</sub>-Pterin kann hier nach als bewiesen gelten. Ferner müssen Sepiapterin I und Iosepiapterin II zur L-Reihe (nach FISCHER) gerechnet werden.



Nicht nur in der biologischen Aktivität, sondern auch im chemischen Verhalten konnten wir einen Unterschied zwischen Sepiapterin und Iosepiapterin feststellen,

<sup>1)</sup> M. VISCONTINI & E. MÖHLMANN, Helv. 42, 836 (1959).

und zwar entsteht aus Sepiapterin bei der Photolyse nur Pteridin-8-carbonsäure, während aus Iosepiapterin hauptsächlich Xanthopterin gebildet wird, neben Spuren von Pteridin-8-carbonsäure. Wir können noch nicht sagen, worauf dieses unterschiedliche Verhalten beruht. Wahrscheinlich hängt es von der stereochemischen Struktur der Seitenkette der beiden Pteridine ab.

Die pK-Wert-Bestimmungen (Fig. 1 und 2) von Sepiapterin und Drosopterin haben zu interessanten Ergebnissen geführt. Sepiapterin besitzt 2 pK-Werte von 1,45 bzw. 10,06 und Drosopterin 3 pK-Werte von 1,42, 1,73 und 9,95. Zum Vergleich seien die pK-Werte von 2-Amino-6-hydroxy-pteridin (2,51 und 8,02) und  $\text{HB}_2$ -

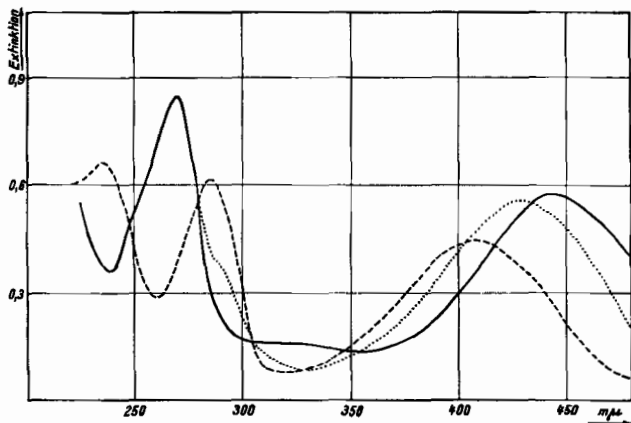


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektrum von Sepiapterin

----- Pufferlösung pH 0,9  
 ..... von pH 2 bis pH 8,5  
 ————— pH 11,9

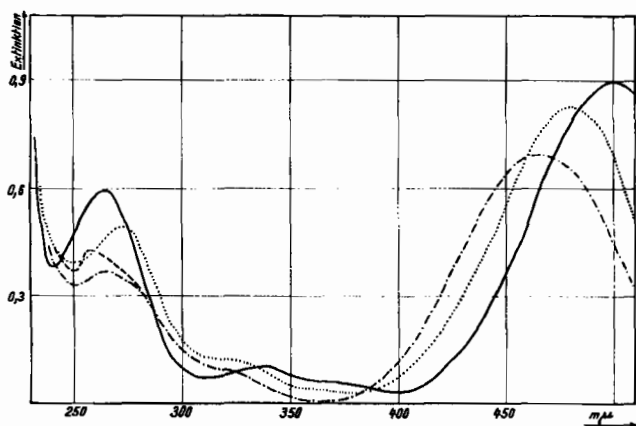
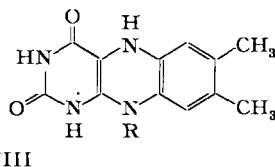
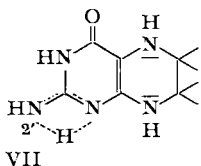


Fig. 2. UV.-Absorptionsspektrum von Drosopterin

----- Pufferlösung pH 0,79  
 - · - · - pH 1,65  
 ..... von pH 1,98 bis pH 8,5  
 ————— pH 11,96

Pterin (2,43 und 7,7) mit angegeben. Hieraus ersieht man, dass die Acidität und die Basizität von Sepiapterin und Drosopterin stark vermindert sind gegenüber denjenigen der beiden letztgenannten Pteridine. Dieses Ergebnis könnte zu folgender Interpretation führen: der Pyrimidinkern eines hydrierten Pteridins liegt als 6-Pyrimidon vor, während die Stickstoffatome in 2'- und 3-Stellung an dem Resonanzsystem VII teilhaben, wodurch ihre Basizität vermindert wird. Ausserdem ist bekannt, dass die partiell hydrierten stickstoffhaltigen Heterocyklen ihre Basizität verlieren, weil die freien Elektronenpaare der Stickstoffatome ebenfalls mit den vorhandenen Doppelbindungen Resonanzsysteme bilden. Ein klassisches Beispiel dieser Art sind die HANTZSCH'schen Basen, die keine beständigen Salze mit starken Säuren bilden können.



Schliesslich konnten wir zeigen, dass Drosopterin und Isodrosopterin in ihrer Molekel je zwei Gruppen enthalten, die sich unabhängig voneinander reduzieren lassen. Eine davon, nämlich die Carbonylgruppe der Seitenkette, wurde bereits erwähnt<sup>2)</sup>. Sie lässt sich leicht mit  $\text{NaBH}_4$  reduzieren. Die zweite Gruppe liegt wahrscheinlich im Pteridin-Kern selbst. Sie wird mit Dithionit reduziert, und zwar unter den gleichen Bedingungen, wie dies auch bei Riboflavin möglich ist.

Sowohl Droso- als auch Isodrosopterin werden bei der Reduktion mit Dithionit farblos und zeigen ein UV.-Spektrum (Fig. 3), das mit keinem Spektrum der bis jetzt bekannten Pteridine vergleichbar und auch von dem des Leukoflavins (VIII) ver-

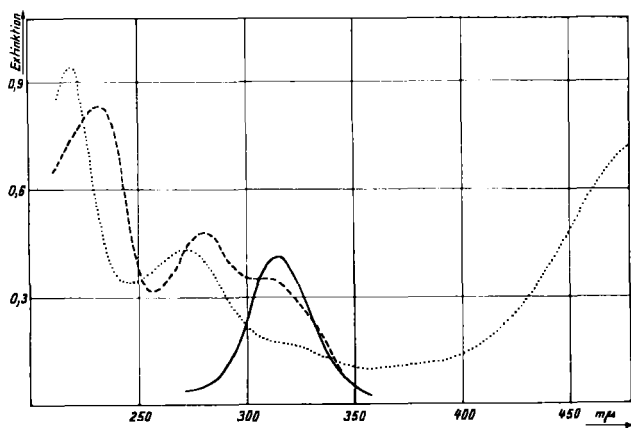


Fig. 3. UV.-Absorptionsspektren von Drosopterin (und Isodrosopterin) nach Reduktion

- ..... Drosopterin in wässriger Lösung
- nach der Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$
- nach der Reduktion mit Dithionit

<sup>2)</sup> M. VISCONTINI, Helv. 41, 1299 (1958).

schieden ist (Fig. 4). Die Rückoxydation an der Luft geht leicht vonstatten. Es bildet sich dabei das Ausgangsmaterial zurück. Neodrosopterin, das bei der Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  und Rückoxydation nachweisbar ist, entsteht nicht. Mit Neodrosopterin konnte aus Materialmangel die Reduktion mit Dithionit noch nicht durchgeführt werden.

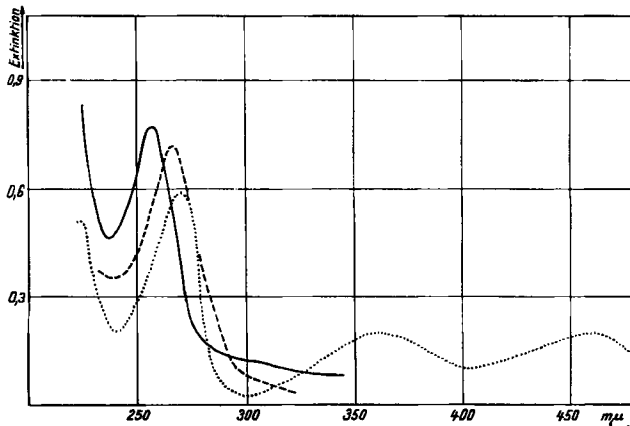
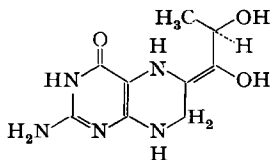


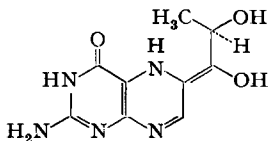
Fig. 4. UV.-Absorptionsspektren von Riboflavin

..... Riboflavin in wässriger Lösung  
 ----- nach der Reduktion mit Dithionit, pH 1,0  
 ————— nach der Reduktion mit Dithionit, pH 13,0  
 (Riboflavin lässt sich mit  $\text{NaBH}_4$  nicht reduzieren)

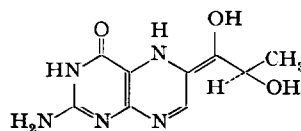
Wenn man alle bis jetzt erhaltenen Ergebnisse in je einer Strukturformel vereinigen würde, könnten diese vielleicht folgendermassen aussehen:



Sepiapterin



Drosopterin



Isodrosopterin

Den Herren Proff. P. KARRER, Chemisches Institut der Universität, und E. HADORN, Zoologisches Institut der Universität, danken wir bestens für ihr ständiges Interesse an unserer Arbeit. Ferner danken wir auch Herrn Dr. KIDDER, Amherst College, Mass. (USA.), für die Ausführung der *Crithidia-fasciculata*-Teste und dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die finanzielle Unterstützung.

**Experimentelles.** — Darstellung der Produkte V und VI. Die schon beschriebene Methode<sup>1)</sup> wurde verwendet. Wir erhielten 0,5 mg Produkt V und 1,5 mg Produkt VI aus einigen mg von entsprechendem Sepiapterin und Isepiapterin.

**Photolyse.** Sepiapterin und Isepiapterin wurden 1. in  $\text{NH}_3$ -, 2. in  $\text{NaOH}$ -enthaltender und 3. in neutraler wässriger Lösung je 30 Min. mit UV.-Lampe belichtet. Die Lösungen wurden daraufhin auf einer kleinen Papierpulversäule mit 3-proz.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung und dann mit Wasser chromatographiert. Die einzelnen Fraktionen wurden papierchromatographisch und spektrophotometrisch mit den entsprechenden synthetischen Produkten identifiziert.

Die *pK*-Werte wurden spektrophotometrisch bestimmt.

### Zusammenfassung

Weitere chemische Eigenschaften von Sepiapterinen und Drosopterinen werden beschrieben. Die biologische Aktivität der nach der  $\text{NaBH}_4$ -Reduktion zurückoxydierten Produkte aus Sepiapterinen wurde bestimmt. Dadurch ist zum ersten Mal der eindeutige Beweis erbracht, dass Sepiapterin und  $\text{HB}_2$ -Pterin dasselbe Gerüst besitzen und ineinander chemisch umgewandelt werden können. Vorläufige Formeln für Sepiapterin, Drosopterin und Isodrosopterin werden diskutiert.

Zürich, Chemisches Institut der Universität

## 180. Temperaturabhängigkeit der Wirkung verschiedener Katalase-Inhibitoren

von R. Gressly und H. Aebi

(11. VI. 59)

Katalase zeigt bei Variation der Versuchstemperatur insofern ein ungewöhnliches Verhalten, als bei Abwesenheit von Inhibitoren nur eine sehr geringe Temperaturabhängigkeit zu beobachten ist. Bei einer Versuchsdauer von 5 Min. und bei Verwendung von Perborat als Substrat verhalten sich die bei  $0^\circ$  und  $37^\circ$  für kristallisierte Leberkatalase bestimmten Aktivitäten wie 1,0:1,07, was einer (scheinbaren) Aktivierungsenergie von 1 100 Cal/Mol entspricht<sup>1)</sup>. Wie BEERS & SIZER<sup>2)</sup> festgestellt haben, resultiert bei Gegenwart von Azid eine starke Erhöhung der Temperaturabhängigkeit. Dies hat jene Autoren zur allgemeinen Feststellung veranlasst, dass die Restaktivität der «gehemmten Katalase» eine Temperaturabhängigkeit aufweist, wie sie in der Regel bei enzymatischen Umsetzungen besteht.

Wie bereits kurz erwähnt worden ist<sup>1)</sup>, verhalten sich verschiedene Katalase-Inhibitoren in dieser Hinsicht recht unterschiedlich. Sofern zur Aktivitätsbestimmung die Methode nach FEINSTEIN<sup>3)</sup> verwendet wird, lassen sich unter den hier getesteten Katalase-Inhibitoren 3 Gruppen unterscheiden, und zwar 1. Substanzen, welche in der Kälte viel stärker hemmen als bei  $37^\circ$ ; 2. Substanzen, die nur eine geringe Temperaturabhängigkeit der Inhibitorwirkung erkennen lassen, und 3. solche, die bei  $37^\circ$  eine stärkere Aktivitätsabnahme bewirken als bei  $0^\circ$ . Zur 1. Gruppe gehören Azid und Formiat, zur 2. Gruppe Dichlorphenol und Hydroxylamin, während Amino-triazol – welches unter den Katalase-Inhibitoren ohnehin eine Sonderstellung einnimmt – der 3. Gruppe zuzuordnen ist.

Die am Reinzym erhobenen Befunde unterstreichen die Tatsache, dass die Aktivität biologischer Objekte (z. B. Organhomogenate) nicht nur von der Enzym-

<sup>1)</sup> R. GRESSLY, H. ERLNMEYER & H. AEBI, *Helv.* **42**, 204 (1959).

<sup>2)</sup> R. F. BEERS & T. W. SIZER, *J. biol. Chemistry* **195**, 133 (1952).

<sup>3)</sup> R. N. FEINSTEIN, *J. biol. Chemistry* **180**, 1197 (1949).