

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] W. MARCKWALD, Ber. deutsch. chem. Ges. 29, 43 (1896).
[2] W. THEILACKER & H. G. WINKLER, Chem. Ber. 87, 690 (1954).
[3] A. ADDISON, J. chem. Educ. 42, 262 (1965).
[4] D. PITRÈ & E. B. GRABITZ, Z. physiol. Chem. 333, 105 (1963); D. PITRÈ, S. BOVERI & N. BUSER, Il Farmaco (Ed. sci.) 23, 244, 945 (1968); D. PITRÈ & S. BOVERI, J. med. Chemistry 11, 406 (1968).
[5] A. STOLL, I. PEYER & A. HOFMANN, Helv. 26, 929 (1943).
[6] F. H. RADKE, R. B. FEARING & S. W. FOX, J. Amer. chem. Soc. 76, 2801 (1954).
[7] S. CONTROULIS, M. C. REBSTOCK & H. M. CROOKS JR., J. Amer. chem. Soc. 71, 2463 (1949).
[8] O. YU. MAGIDSON & G. A. GAKUSHA, Ž. obšč. Chim. 11, 339 (1941).
[9] A. W. SCHRECKER, J. org. Chemistry 22, 33 (1957).

38. Notiz zur Veröffentlichung von M. VISCONTINI und R. PROVENZALE: «Herstellung von reinem (—)-L-Neopterin und (—)-D-Monapterin [1]»

von H. Rembold

Max-Planck-Institut für Biochemie, München

(7. XI. 68)

Zusammenfassung. Es wird auf vier massgebende, voneinander unabhängige Methoden zur Reinheitsprüfung von Polyhydroxyalkylpterinen hingewiesen. Die von REMBOLD *et al.* dargestellten Verbindungen genügen diesen Kriterien.

Die in der zitierten Arbeit enthaltene Aussage «Zahlreiche Autoren haben versucht, diese Mischungen (von 6- und 7-(Polyhydroxyalkyl)-pterinen) in die einzelnen Komponenten aufzutrennen, doch waren die gewonnenen Produkte nie ganz rein» bedarf einer Richtigstellung: Die von uns gewonnenen Produkte waren ganz rein! Die breit angelegten Untersuchungen über biologisch aktive Pterine vom Typus des Biopterins [2] haben wir erst begonnen, als uns isotopenmarkierte Verbindungen zur Verfügung standen, die sich auch bei sorgfältigster Prüfung als rein erwiesen. Wir haben uns schon bald nach der Isolierung des Biopterins aus dem Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene [3] um eine Isomerentrennung der Syntheseprodukte bemüht und in der phosphorylierten Cellulose einen geeigneten Träger gefunden, der eine Reindarstellung von Biopterin und 7-Biopterin in präparativem Masse erlaubt [4]. Das einfache und effektive chromatographische Verfahren hat sich bei der Synthese von [8a-¹⁴C]-Biopterin bewährt [5]. Es erlaubte erstmals die Reindarstellung und damit die Charakterisierung des Neopterins und seiner drei optischen Isomeren [6] und später auch der drei optischen Isomeren des Biopterins [7]. Es wurde auch bei der Darstellung von Aminobiopterin und Aminoneopterin erfolgreich angewandt [8]. Die weitgehenden Schlüsse, die wir heute aus dem Verhalten der hydrierten Cofaktoren sowohl *in vivo* [9] als auch *in vitro* [10] ziehen können, stützen sich alle auf Experimente mit den reinen 6-(Polyhydroxyalkyl)-pterinen.

Die Reinheit der stellungsisomeren Polyhydroxyalkylpterinene haben wir durch folgende Kriterien geprüft:

1. Konstanz der Ultraviolett-Absorptionsspektren. Die UV.-Spektren der isomeren 6- und 7-(Polyhydroxyalkyl)-pterinene unterscheiden sich deutlich. Man kann deshalb in einem Gemisch den Anteil der beiden Isomeren bestimmen, indem man den Quotienten aus zwei Wellenlängen bildet

(z. B. E_{272}/E_{252} , H_2O). Dieser hängt linear vom Mischungsverhältnis ab mit den reinen Isomeren als Extremwerten [5]. Ein weiteres Reinheitskriterium liefern die auch bei mehrfacher Chromatographie und Kristallisation konstanten molaren UV.-Extinktionen.

2. *Konstanz bei chromatographischer Isomerentrennung.* Selbst geringste Verunreinigungen des 6- durch das 7-Isomere lassen sich feststellen, wenn man das obige spektroskopische Verfahren mit einer chromatographischen Fraktionierung auf phosphorylierter Cellulose koppelt. Das 7-Isomere reichert sich am Ende der Substanzzone an, was zu einer Änderung des UV.-Quotienten [5] führt. Mit diesem Verfahren lassen sich noch Verunreinigungen durch wenige Promille des 7-Isomeren oder anderer UV.-absorbierender Stoffe nachweisen.

3. *Wachstoffsverhalten im mikrobiologischen Crithidia-Test.* Dieser biologische Test hat sich bei der Charakterisierung optisch isomerer Polyhydroxyalkylpterine bewährt [4–7]. Dabei werden auch Verunreinigungen nachgewiesen, die sich durch den oxydativen Abbau nicht erfassen lassen [11].

4. *Oxydativer Abbau der gereinigten Polyhydroxyalkylpterine.* In alkalischer Permanganatlösung werden Polyhydroxyalkylpterine zu ihren entsprechenden Pterincarbonensäuren abgebaut, die papier- oder dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden. Diese als Routineverfahren einfache Methode ist wenig empfindlich. Im Chromatogramm können nur geringe Substanzmengen aufgetrennt werden. Die Nachweisgrenze für die im Unterschuss vorhandene Pterincarbonensäure liegt deshalb im Bereich von 1–5 Prozent.

Im Gegensatz zu dieser Serie von Prüfungen haben sich die Autoren der angeführten Arbeit [1] mit dem oxydativen Abbau ihrer chromatographisch gereinigten Produkte begnügt und kein weiteres Reinheitskriterium angegeben. Warum sie im eingangs zitierten Satz die Reinheit der von uns synthetisierten Pterine bezweifeln, bleibt deshalb unverständlich. Bei einer Diskussion der *Ausbeuten* sollte man berücksichtigen, dass die von den Autoren erhaltenen Substanzmengen durchaus im Bereich der Ausbeuten bei der von uns bevorzugten Kondensation in wässriger Essigsäure liegen. Der Vorteil des von uns beschriebenen Syntheseverfahrens wird aber sofort evident, wenn isotoopenmarkierte Produkte gewonnen werden sollen. Diese lassen sich durch eine einfache Chromatographie des Rohprodukts auf phosphorylierter Cellulose und damit bei geringer Kontaminationsgefahr reinigen.

Wir stimmen im übrigen mit den Autoren darin überein, dass bereits bei der Synthese die Bildung von isomerenfreien 6-(Polyhydroxyalkyl)-pterinen angestrebt werden sollte, um eine nachträgliche Isomerentrennung zu vermeiden. Hoffnungsvolle Ansätze zu einer solchen gerichteten Synthese sind bereits beschrieben worden [12].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. VISCONTINI & R. PROVENZALE, *Helv.* **51**, 1495 (1968).
- [2] H. REMBOLD, *Chimia* **20**, 406 (1966).
- [3] A. BUTENANDT & H. REMBOLD, *Z. physiol. Chem.* **311**, 79 (1958).
- [4] H. REMBOLD & H. METZGER, *Z. physiol. Chem.* **329**, 291 (1962).
- [5] H. REMBOLD & H. METZGER, *Chem. Ber.* **96**, 1395 (1963).
- [6] H. REMBOLD & L. BUSCHMANN, *Chem. Ber.* **96**, 1406 (1963).
- [7] B. GREEN & H. REMBOLD, *Chem. Ber.* **99**, 2162 (1966).
- [8] H. REMBOLD & J. EDER, *Tetrahedron* **23**, 1387 (1967).
- [9] W. PABST & H. REMBOLD, *Z. physiol. Chem.* **344**, 107 (1966); H. REMBOLD & H. METZGER, *Z. Naturforsch.* **22b**, 827 (1967); G. W. KIDDER, V. C. DEWEY & H. REMBOLD, *Arch. Mikrobiol.* **59**, 180 (1967); G. HANSER & H. REMBOLD, *Z. Naturforsch.* **23b**, 666 (1968); J. EDER & H. REMBOLD, *Z. analyt. Chem.* **237**, 50 (1968).
- [10] H. REMBOLD & H. METZGER, *Z. klin. Chem.* **3**, 208 (1965); H. REMBOLD & W. GUTENSOHN, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **31**, 837 (1968); H. REMBOLD *et al.*, in Vorbereitung.
- [11] I. ZIEGLER, *Z. Naturforsch.* **18b**, 1130 (1963).
- [12] K. J. M. ANDREWS, W. E. BARBER & B. P. TONG, *Chem. Commun.* **1968**, 120.