

257. Über Pterinchemie

65. Mitteilung [1]

Herstellung von (6*R*, *S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin, 7,8-Dihydro-L-biopterin, L-Sepiapterin, Deoxysepiapterin, (6*R*, *S*)-5,6-Dihydrodeoxysepiapterin und 2'-Deoxybiopterin¹⁾

von Bernhard Schircks, Jost H. Bieri und Max Viscontini

Organisch-chemisches Institut der Universität, Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(1. V. 78)

Preparation of (6*R*, *S*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine, 7,8-dihydro-L-biopterine, L-sepiapterine, deoxysepiapterine, (6*R*, *S*)-5,6-dihydrodeoxysepiapterine and 2'-deoxybiopterine

Summary

We describe the preparation of (6*R*, *S*)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine (II) by catalytic- (reported in our short communication [2]) and natriumdithionite reduction of L-biopterine (I) and a preparation of 7,8-dihydro-L-biopterine (IV) by treatment of L-biopterine (I) with natriumdithionite. Whereas oxidation of tetrahydrobiopterine II in the presence of oxygen leads to L-sepiapterine (III), dihydrobiopterine IV in acetic acid without oxygen gives deoxysepiapterine (VII), 5,6-dihydrodeoxysepiapterine (VI) and 2'-deoxybiopterine (V) by a *disproportionation* reaction.

(6*R*)- oder (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin (II) und 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) sind für die biogenetische Hydroxylierung von Phenylalanin von zentraler Bedeutung [3]. Deshalb wurde vielfach versucht, diese Verbindungen herzustellen. Die Herstellung von II wurde von uns kürzlich [2] beschrieben. Für die Herstellung von IV wurde mit wenig Erfolg die Reduktion von L-Biopterin (I) mit Zink/Natronlauge [4], sowie die partielle Rückoxydation von II mit Sauerstoff versucht [5]. Später gelang es jedoch japanischen Autoren, ausgehend von natürlichem I, durch Reduktion mit Natriumdithionit, kristallines IV zu erhalten [6]. Da synthetisches L-Biopterin (I) heute leicht zugänglich ist [2], können wir in der vorliegenden Mitteilung die Herstellung von (6*R*, *S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin (II) und 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) beschreiben. Dabei kann II aus I einerseits durch katalytische Reduktion, andererseits durch Reduktion mit Natriumdithionit erhalten werden (vgl. *Schema* und exper. Teil).

¹⁾ Teil der geplanten Dissertation von B. Schircks und auszugsweise von ihm anlässlich der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft am 8. Oktober 1977 in Bern vorgetragen.

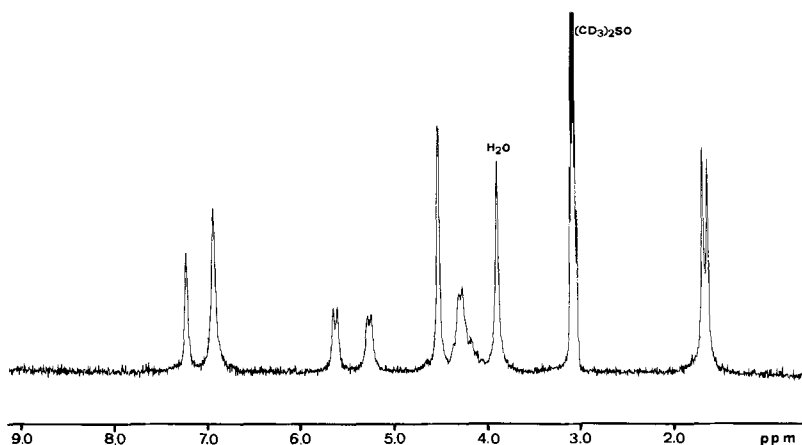


Fig. 1. ^1H -PFT-NMR.-Spektrum von 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

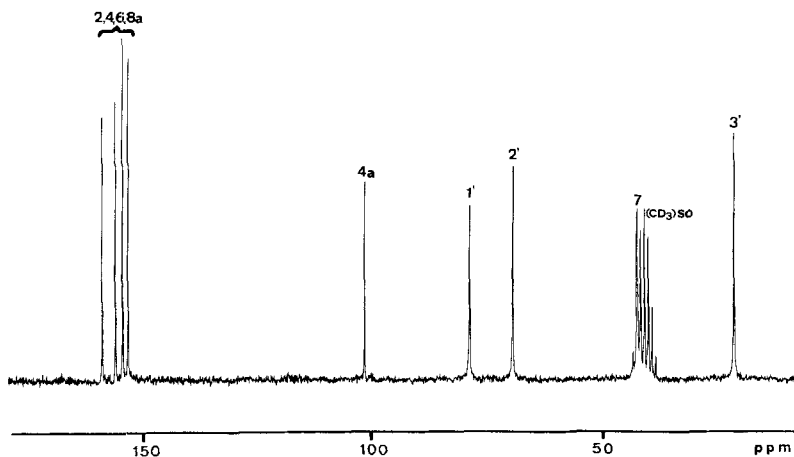
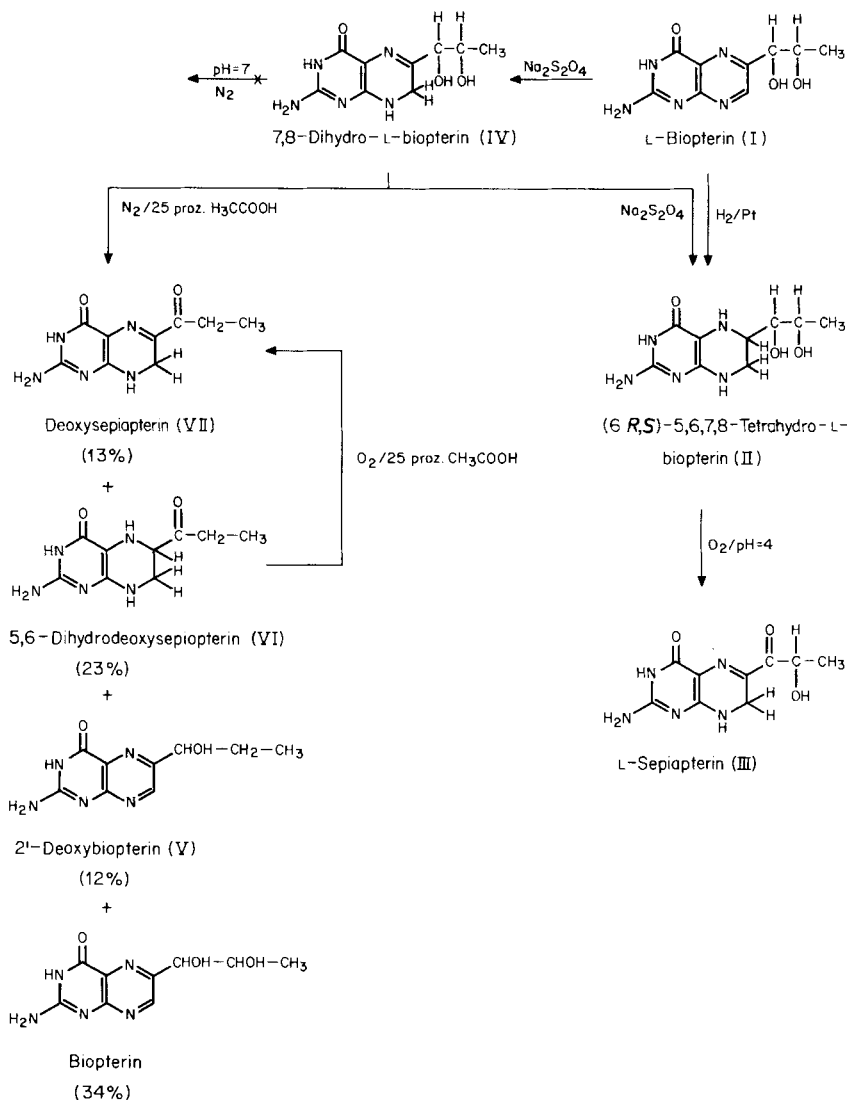


Fig. 2. ^{13}C -PFT-NMR.-Spektrum von 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

Pfleiderer [7] vermutet, dass bei der Oxydation von II als Zwischenprodukt zunächst IV gebildet wird. Dies sowohl bei pH 4, wo dann bei der weiteren Oxydation als Hauptprodukt L-Biopterin (I), als Nebenprodukt L-Sepiapterin (III) und in Spuren Pterin, Pterin-6-carbonsäure und Deoxysepiapterin (VII) gebildet und isoliert werden, als auch bei 7,5, wo das entstehende und isolierte Hauptprodukt das 7,8-Dihydroxanthopterin ist (neben Spuren von L-Biopterin und Pterin) [7].

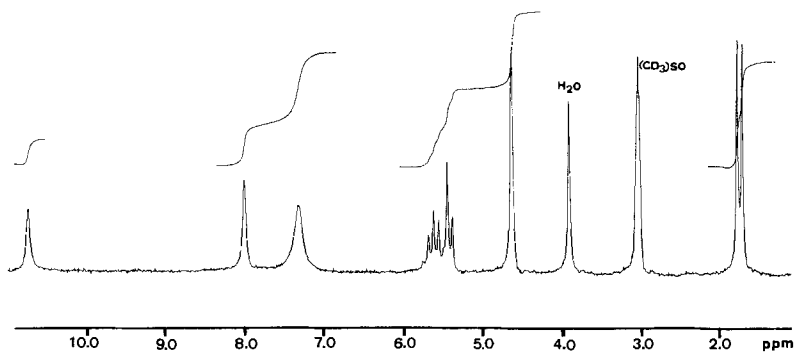
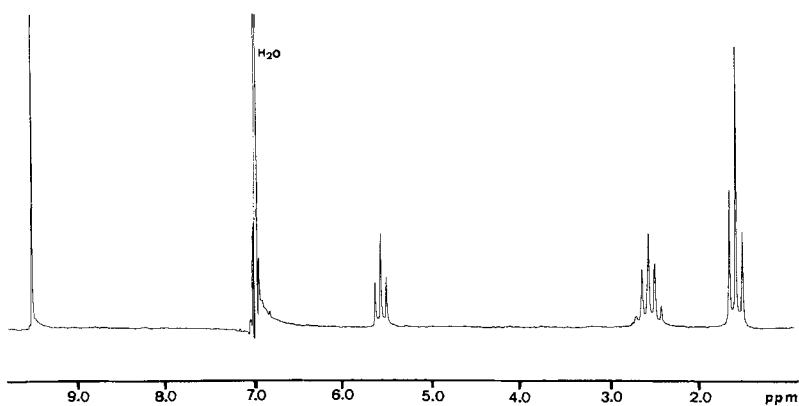
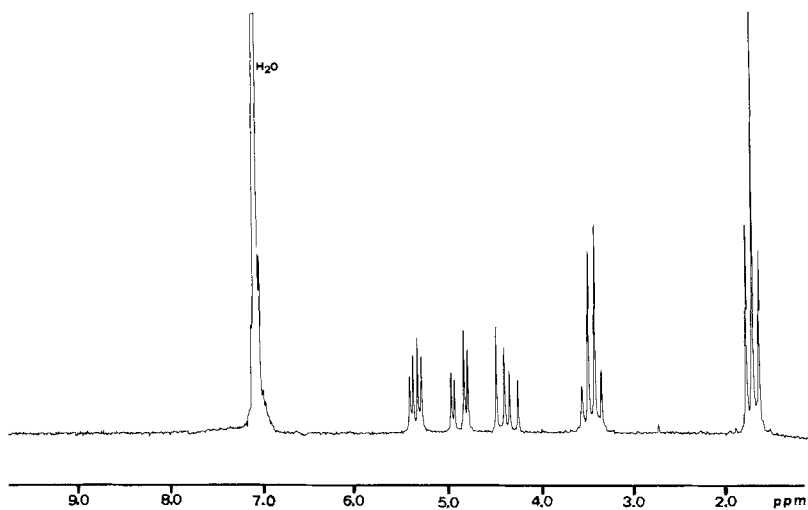
Die Ergebnisse von Pfleiderer (*l.c.*) konnten von uns bestätigt und zur Herstellung von L-Sepiapterin (III) ausgearbeitet werden. Dagegen kann der in [7] postulierte Mechanismus für die Oxydation von II bei pH 4 über das 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) nicht gestützt werden, da aus IV unter diesen Bedingungen signifikant weniger L-Sepiapterin (III) gebildet wird, als wenn man direkt von Tetrahydrobiopterin II ausgeht.

Schema



Bei pH < 7 ist das Tetrahydrobiopterin II unter Licht- und Sauerstoffausschluss beständig. Dagegen geht das Dihydrobiopterin IV in verdünnter Essigsäure unter Stickstoff inter- und intramolekulare Redox-Reaktionen ein, welche zu Biopterin, 2'-Deoxybiopterin (V) (Fig. 4); 5,6-Dihydrodeoxysepiapterin (VI) (Fig. 5) und Deoxysepiapterin (VII) (Fig. 6) führen (vgl. Schema).

Von diesen Feststellungen ausgehend wurden präp. Methoden für die Herstellung von V, VI und VII abgeleitet. Dabei kann die Bildung von Deoxysepiapterin (VII) vom Reaktionstypus her als Pinakol-Umlagerung verstanden werden. Zur Abklärung des

Fig. 3. ^1H -PFT-NMR.-Spektrum von L-Sepiapterin (III) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ Fig. 4. ^1H -PFT-NMR.-Spektrum von 2'-Deoxybiopterin (V) in 3N DClFig. 5. ^1H -PFT-NMR.-Spektrum von 5,6-Dihydrodeoxysepiapterin (VI) in 3N DCl

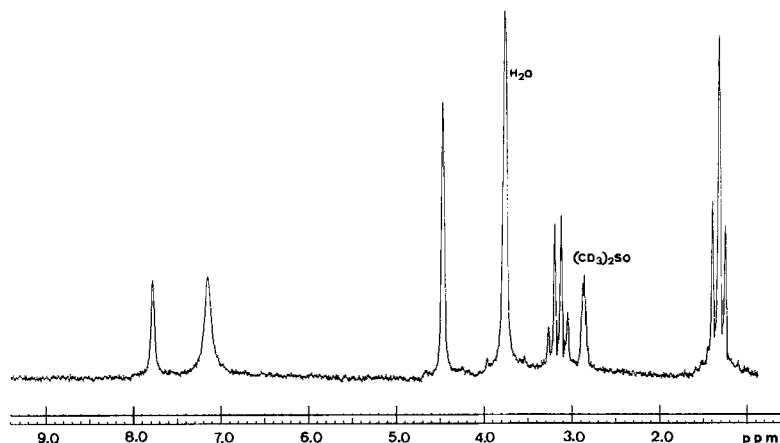


Fig. 6. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Deoxysepiapterin (VII) in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

Bildungsmechanismus von Biopterin, 2'-Deoxybiopterin (V) und 5,6-Dihydrodeoxysepiapterin (VI) bedarf es weiterer Untersuchungen, welche zur Zeit in Ausführung sind.

Die Konformationen der hydrierten Pterine III, IV, VI und VII²⁾ können durch Vergleich ihrer $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (s. Fig. 1, 3, 5 und 6) mit denjenigen analoger Verbindungen, deren Strukturen röntgenkristallographisch gesichert sind, bestimmt werden.

Das 7,8-Dihydropterin-Grundgerüst in 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV), L-Sepiapterin (III) und Deoxysepiapterin (VII) ist planar wie jenes in 6-Methyl-7,8-dihydropterin [1]. Die entsprechenden 2 H-C(7)-Atome absorbieren im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Fig. 1, 3 und 6) als Singulette, so dass sich für sie, wie in [1] beschrieben, eine symmetrische Umgebung ober- und unterhalb des Dihydropyrazinringes ergibt. Der Tetrahydropyrazin-Ring in 5,6-Dihydrodeoxysepiapterin (VI) besitzt eine Halbsessel-Konformation mit ausgeprägter äquatorialer Anordnung der C(6)-Seitenkette. Die $\text{H}_a\text{-C}(6)$ - und $\text{H}_a\text{-C}(7)$ -Atome sind *trans*-diaxial, das $\text{H}_e\text{-C}(7)$ - zum $\text{H}_a\text{-C}(6)$ -Atom *gauche* angeordnet. Dies ergibt für VI eine analoge Konformation, wie sie für 5,6,7,8-Tetrahydropterinsäure und 5,6,7,8-Tetrahydro-L-folsäure ermittelt wurde [8].

Wir danken Herrn Prof. Dr. W. von Philipsborn und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme der ^1H - und ^{13}C -PFT-NMR.-Spektren und Herrn H. Frohofer für die Ausführung der Mikroanalysen. Besonders möchten wir auch Frau H. Schiegg für ihre wertvolle Mitarbeit danken.

Experimenteller Teil

I. Allgemeines. – Die $^1\text{H-PFT-NMR}$ -Spektren wurden auf einem Varian-XL-100-15-Spektrographen aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen wurden den entsprechenden $^1\text{H-NMR}$ -Spektren entnommen, welche auf einem Varian-HA-100-NMR-Spektrographen aufgenommen wurden (Standard: Tetramethylsilan); die spezifische optische Drehung $[\alpha]_{589}^{25}$ wurde an einem LEP-A2-Zeiss-Gerät gemessen; für weitere Daten siehe [9].

²⁾ Die Konformation von II wird in einer späteren Mitteilung beschrieben, da zu deren $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Ermittlung eine Trennung der Diastereomeren erforderlich ist.

2. (6*R*,5*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid (II · 2 HCl). - Nach der Vorhydrierung von 150 mg PtO₂ in 25 ml Trifluoressigsäure (22°) wurden 500 mg (2,11 mmol) L-Biopterin (I)[2] zugegeben. Nach Aufnahme von 2 mol Wasserstoff war die Hydrierung beendet. Anschliessend wurde die unter N₂ filtrierte, farblose Lösung auf 0° gekühlt und mit einer kalten (0°) Lösung von 0,6 ml 14*N* HCl, 10 ml abs. Methanol und 80 ml abs. Äther versetzt, worauf II · 2 HCl ausfiel. Dieses wurde in einem Handschuhkasten (Inertgas: N₂) abgenutscht, mit Äther gewaschen und getrocknet (60°/0,01 Torr, 15 Std.); 643 mg (97%) II · 2 HCl. - ¹H- und ¹³C-PFT-NMR.: Für Fig. s. [2]. - ¹H-NMR. (3*N* DCl): 4,60-4,00 (*m*, H-C(1'), H-C(2'), H-C(6) und 2 H-C(7)); 1,84, 1,80 (2*d*³), *J* = 5,5 und 6,0, 3 H-C(3'). - (0,6*N* NaOD): 4,55-4,20 (*m*, H-C(2')); 4,15-3,45 (*m*, H-C(1'), H-C(6) und 2 H-C(7)); 1,71, 1,67 (2*d*³), *J* = 6,2 und 6,2, 3 H-C(3'). - ¹³C-PFT-NMR. (3*N* NaOD)⁴): 167,21, 166,67, C(4); 157,93, 157,78, C(2); 151,73, 151,29, C(8a); 101,68, 101,39, C(4a); 74,99, 74,65, C(1'); 68,86, 67,89, C(2'); 52,58, 51,86, C(6); 42,84, 42,49, C(7); 17,94, 16,93, C(3').

II · 2 HCl ist hygroskopisch und sehr gut in Wasser löslich (> 20 g/100 ml, 22°).

C₉H₁₅N₅O₃ · 2 HCl Ber. C 34,40 H 5,45 N 22,29 Cl 22,57%
 (314,17) Gef. „ 34,09 „ 5,19 „ 22,20 „ 22,75%

3. 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV). - Biopterin (I) lässt sich mit Natriumdithionit unter geeigneten experimentellen Bedingungen selektiv sowohl zu Dihydrobiopterin IV als auch zu Tetrahydrobiopterin II reduzieren. Z. B. kann aus der folgenden Tabelle die Reduktionsdauer von I zu IV bei 25° mit Natriumdithionit in Abhängigkeit des pH-Wertes entnommen werden. Dabei wurden im Handschuhkasten (Inertgas: N₂) 1 mg (0,0042 mmol) I in 2 ml 0,2*M* Natriumphosphat-Puffer gelöst und mit 3 mg (0,017 mmol) Natriumdithionit versetzt.

Tabelle

pH des Puffers	Reaktionsdauer für die Bildung von IV aus I ^a)
4	4 Sek.
6	20 Min.
7,5	3½ Std.
9	46 Std.
12	11 Tage

a) Diese wurde am Verschwinden der Fluoreszenz bei der Reaktion von I nach IV abgeschätzt.

Zur Herstellung von 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) wurden 200 mg (0,85 mmol) L-Biopterin (I) [2] im Handschuhkasten (Inertgas: N₂) zusammen mit 600 mg (3,45 mmol) Natriumdithionit in 6 ml Wasser aufgeschlämmt und durch Zugabe von 3*N* NaOH in Lösung gebracht (pH *ca.* 10,5). Diese Lösung wurde auf 70° erwärmt, wobei sich die Farbe von Gelb über Braun nach Hellgelb änderte (10-20 Min.). Danach wurde auf 0° gekühlt und 12 Std. stehengelassen (0°), wobei IV ausfiel, da als Folge der Reduktion das pH auf *ca.* 6,5 sank. Unter Luftzutritt wurde IV abgenutscht und mit wenig Eiswasser und Aceton gewaschen. Umkristallisation aus Wasser (80°) im Handschuhkasten (Inertgas: N₂) und Trocknung (40°/0,01 Torr, 10 Std.) ergaben 139 mg (72%) IV. - ¹H-PFT-NMR. ((CD₃)₂SO, Fig. 1): 7,22 (*s*, H-N(8)); 6,96 (*s*, 2 H-N(2')); 5,65 und 5,25 (2*d*, *J* = 4,4 und 4,4, 2 HO-C(1' oder 2')⁵); 4,46 (*s*, 2 H-C(7)); 4,15-4,40 (*m*, H-C(1') und H-C(2')); 1,60 (*d*, *J* = 5,6, 3 H-C(3')). - ¹³C-PFT-NMR. ((CD₃)₂SO, Fig. 2): 158,7, 155,8, 154,2, 153,0, C(2,4,6,8a); 101,2, C(4a); 78,0, C(1'); 68,5, C(2'); 41,2, C(7); 20,0, C(3'). - [α]_D²⁵ = + 35 ± 2° (*c* = 0,4, 0,1*N* NaOH).

IV ist hygroskopisch (5% Wasseraufnahme in 10 Min.), jedoch wenig löslich in Wasser (203 mg/100 ml H₂O, 22°).

C₉H₁₃N₅O₃ · 2 H₂O⁶) (275,27) Ber. C 39,27 H 6,23 N 25,44% Gef. C 38,79 H 6,57 N 25,60%

³) Die 2*d* der Methylprotonen sind auf das Vorhandensein von Diastereomeren zurückzuführen.

⁴) Die Zuordnung der Signallagen der ¹³C-Atome erfolgte durch Vergleich mit den chemischen Verschiebungen in [9]. Aufgrund der deutlich unterscheidbaren Spektren der beiden Diastereomeren kann ihr Mischungsverhältnis auf *ca.* 2:1 abgeschätzt werden.

⁵) Die Zuordnung der beiden Hydroxylgruppen an C(1') bzw. C(2') konnte nicht ermittelt werden.

⁶) Um IV · 2 H₂O zu erhalten, wurde IV bis zur Gewichtskonstanz an der Luft stehengelassen.

4. Herstellung von (6R,S)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid (II · 2 HCl) mit Natriumdithionit. - Im Handschuhkasten (Inertgas: N₂) wurden 50 mg (0,21 mmol) L-Biopterin (I) [2] mit 300 mg (1,72 mmol) Natriumdithionit in 3 ml Wasser aufgeschlämmt und durch Zugabe von 3N NaOH gelöst. Diese Lösung wurde auf 70° erwärmt, wobei sich die Farbe von Gelb über Braun nach Hellgelb änderte. Nach dem Abkühlen wurde das pH der Lösung mit 3N CH₃COOH oder 3N NaOH auf 5,5, 6,5 oder 8 eingestellt. Anschliessend wurde so lange auf 70° gehalten, bis beim Abkühlen keine Fällung mehr entstand. Beim Anfangs-pH 5,5 musste 35 Min., beim pH 6,5 55 Min. und beim pH 8 90 Min. lang erwärmt werden. Die Lösung wurde eingedampft und der Rückstand in 3 ml 12N HCl aufgenommen. Nach Abnutschen der ungelösten Salze fiel durch Zugabe von 40 ml Methanol und 300 ml Äther II · 2 HCl aus, das abgenutscht, mit Äther gewaschen und getrocknet wurde (60°/0,01 Torr, 15 Std.): 45 mg (34%) II · 2 HCl.

5. L-Septiapterin-dihydrat (III · 2 H₂O). - 150 mg (0,48 mmol) 5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid (II · 2 HCl) wurden in 20 ml Natriumacetatpuffer⁷⁾ (pH = 4) gelöst und unter Luftzutritt 6 Tage stehengelassen. Dabei wurden das Volumen und das pH der Lösung konstant gehalten, anschliessend die Lösung eingedampft, der Rückstand in 70 ml Wasser bei 60° gelöst und an einer Cellulosesäule (24 × 35 cm) chromatographiert. Die erste Eluierung geschah mit 20 ml warmem Wasser (60°) und wurde nach dem Erkalten der Säule mit Wasser von 22° fortgesetzt. Die das L-Septiapterin (III) enthaltende Fraktion wurde eingedampft und der Rückstand wieder in 40 ml Wasser (22°) gelöst. Die Lösung wurde auf die gleiche Säule gebracht und das L-Septiapterin (III) mit Wasser erneut eluiert. Die das L-Septiapterin (III) enthaltende Fraktion wurde eingedampft und bis zur Gewichtskonstanz an der Luft stehengelassen. Ausbeute: 27 mg (21%) III · 2 H₂O. Umkristallisation aus Wasser (60°) ergab 20 mg (15%) III · 2 H₂O. - Das ¹H-PFT-NMR.-Spektrum des synthetischen L-Septiapterins (III) in (CD₃)₂SO (Fig. 3) ist mit jenem des natürlichen Produktes identisch [10]: 10,74 (s, H-N(3)); 7,99 (s, H-N(8)); 7,35 (s, 2 H-N(2')); 5,30-5,75 (m, H-O-C(2') und H-C(2')); 4,58 (s, 2 H-C(7)); 1,66 (d, J = 6,4, 3 H-C(3')). - $[\alpha]_{D}^{22} = +363 \pm 6^\circ$ (c = 0,4, 0,1N NaOH)⁸⁾.

C₉H₁₁N₅O₃ · 2 H₂O (273,25) Ber. C 39,56 H 5,53 N 25,63% Gef. C 39,97 H 5,46 N 26,20%

6. Deoxyseptiapterin (VII). - Diese Substanz entsteht neben 5,6-Dihydrodeoxyseptiapterin (VI) während der Oxydoreduktion von 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) unter Sauerstoffausschluss. Das nicht fluoreszierende VI wird aber leicht mit Sauerstoff zu VII oxydiert. Aus dieser Tatsache wurde folgende Methode zur Gewinnung von VII ausgearbeitet: 300 mg (1,26 mmol) 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) wurden in 20 ml 25proz. Essigsäure aufgeschlämmt, während 20 Min. auf 60° gehalten und anschliessend unter Luftzutritt bei 22° stehengelassen, bis auf dem DC. kein VI mehr sichtbar war⁹⁾. Danach wurde die Lösung eingedampft, der Rückstand in 8 ml 7N NaOH aufgenommen und I Std. bei 0° gerührt, wobei das Natriumsalz von VII in Form von dunkelroten Nadeln auskristallisierte. Die Kristalle wurden abzentrifugiert, mit 3 ml 7N NaOH (0°) gewaschen, in 15 ml Wasser gelöst, diese Lösung mit Eisessig auf pH 5-6 gebracht und auf 0° abgekühlt. Das reine Deoxyseptiapterin (VII) wurde abzentrifugiert und mit Wasser gewaschen. Umkristallisation aus Wasser und Trocknung (40°/0,01 Torr, 20 Std.) ergaben 97 mg (35%) VII. - Das so erhaltene Deoxyseptiapterin (VII) ist mit dem aus *Drosophila melanogaster* (Mutante Sepia) isolierten Produkt [11] identisch. - ¹H-NMR. ((CD₃)₂SO, Fig. 6): 7,77 (s, H-N(8)); 7,14 (s, 2 H-N(2')); 4,45 (s, 2 H-C(7)); 3,14 (qa, J = 7,2, 2 H-C(2')); 1,30 (t, 3 H-C(3')).

VII ist hygroscopisch und wenig löslich in Wasser.

C₉H₁₁N₅O₂ (221,22) Ber. C 48,86 H 5,01 N 31,66% Gef. C 49,26 H 5,10 N 31,75%

7. (6R,S)-5,6-Dihydro-deoxyseptiapterin-dihydrochlorid (VI · 2 HCl). - Zu einer im Handschuhkasten (Inertgas: N₂) hergestellten Suspension von 100 mg (0,45 mmol) Deoxyseptiapterin (VII) in 80 ml H₂O wurde langsam eine 0,1M Lösung von Natriumdithionit bis zum Erreichen einer hellorangen Lösung getropft. Anschliessend wurde eingedampft und der Rückstand in 3 ml 12N HCl aufgenommen. Danach wurden die ungelösten Salze abgenutscht und die Lösung zuerst 5 Std. bei 5° und anschliessend 12 Std. bei -5° gehalten, wobei VI in Form von mikrokristallinen, farblosen Nadeln ausfällt. Abzentrifugieren, waschen mit Methanol/Äther (4:1), Äther und Trocknung (40°/0,01 Torr, 15 Std.) ergaben 75 mg (56%)

⁷⁾ Für die Herstellung des Puffers wurden 2,4 g wasserfreies Natriumacetat in 200 ml Wasser gelöst. Zu dieser Lösung wurde Eisessig bis pH = 4 (ca. 7 ml) gegeben.

⁸⁾ Der Wert der optischen Drehung in NaOH-Lösung ist problematisch, da das L-Septiapterin (III) langsam ein achirales Enolat bildet [10].

⁹⁾ Die Entwicklung von VI erfolgte mittels Ammoniakdämpfen.

VI. - ^1H -PFT-NMR. (3N DCl, Fig. 5)¹⁰): 5,30, 4,81 und 4,31 (A-, M- und X-Teil eines AMX-Systems, $J_{AM}=3,7$ Hz, $J_{AX}=8,8$ Hz, $J_{MX}=14,5$ Hz, $H_a\text{-C}(6)$, $H_c\text{-C}(7)$, $H_b\text{-C}(7)$; 3,39 (qa, $J=7$, 2 H-C(2')); 1,68 (t, $J=7$, 3 H-C(3')). - UV. (0,1N HCl): $\lambda_{\text{max}}=266$ nm ($\epsilon=10800$).

VI · 2 HCl ist hygroskopisch und gut in Wasser löslich.

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2 \cdot 2 \text{HCl}$	Ber. C 36,50	H 5,11	N 23,65	Cl 23,94%
(296,07)	Gef. „ 36,37	„ 5,34	„ 23,39	„ 23,46%

8. 2'-Deoxybiopterin (V). - V kann durch katalytische Hydrierung von Deoxysepiapterin (VII) und anschliessender Oxydation mit Jod hergestellt werden. Dabei entstehen jedoch Nebenprodukte, welche nicht abgetrennt werden konnten. V entsteht aber auch bei der Oxydoreduktion von 7,8-Dihydrobiopterin (IV) in verdünnter Essigsäure (siehe *Schema*). Es wird deshalb bei der Deoxysepiapterin-Synthese ebenfalls gebildet (siehe **6**), wobei man V in den alkalischen Mutterlaugen findet. Für die Isolierung wurden die alkalischen Mutterlaugen mit Eisessig neutralisiert, auf 0° gekühlt, der entstandene Niederschlag abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Die Substanz wurde in 150 ml 1proz. Ammoniak gelöst und auf eine Dowex-1 × 8-Säule ($\varnothing 4,5 \times 15$ cm) aufgetragen. Dann wurde mit einem 0,15N Ammoniumformiat-Puffer (pH=8) das Biopterin vollständig eluiert. Darauf wurde mit dem gleichen Puffersystem, jedoch bei einem pH von 7, weiter eluiert. Nach Eluierung des Pterins konnte anschliessend das 2'-Deoxybiopterin (V) erhalten werden. Die V enthaltende Fraktion wurde bis auf ca. 20 ml eingengt und über Nacht bei 0° stehengelassen. V wurde abzentrifugiert, mit wenig Eiswasser gewaschen, aus Wasser umkristallisiert und getrocknet (40°/0,01 Torr, 15 Std.); 12 mg (5%) V. - ^1H -PFT-NMR. (3N DCl, Fig. 4): 9,49, (s, H-C(7)); 5,48 (t, $J=6,5$, H-C(1')); 2,46 (m, 2 H-C(2')); 1,48 (t, $J=7,4$, 3 H-C(3')). - $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 0^\circ$ ($c=0,2$; 0,1N NaOH).

V ist hygroskopisch und wenig löslich in Wasser.

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$ (221,20)	Ber. C 48,86	H 5,01	N 31,66%	Gef. C 48,55	H 4,47	N 31,29%
--	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

9. Oxydoreduktion unter Stickstoff von 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) in saurem Milieu (siehe *Schema*). - Eine Lösung von 100 mg (0,418 mmol) 7,8-Dihydro-L-biopterin (IV) in 15 ml 25proz. Essigsäure wurde im Handschuhkasten (Inertgas: N_2) 20 Min. auf 60° gehalten und anschliessend eingedampft. Der Rückstand wurde 3mal mit je 4 ml Wasser (20°) extrahiert und diese Extrakte eingedampft. Nach Trocknung (40°/0,01 Torr, 5 Std.) wurden 19 mg (23%) VI¹¹) erhalten. Der nach obiger Wasserextraktion verbliebene Rückstand wurde in 80 ml Wasser (60°) gelöst und die entstandene Lösung auf eine Cellulosesäule ($\varnothing 3,8 \times 30$ cm) aufgetragen. Nach einer ersten Eluierung mit 15 ml Wasser (60°) und dem Erkalten der Säule auf 22° wurde die Chromatographie mit Wasser von 22° fortgesetzt. Die erste, blau fluoreszierende, Fraktion wurde eingedampft und getrocknet (40°/0,01 Torr, 5 Std.). Ausbeute: 39 mg (Gemisch aus Biopterin und 2'-Deoxybiopterin (V)). Das ^1H -NMR.-Spektrum¹¹) zeigte ein Verhältnis von Biopterin zu 2'-Deoxybiopterin (V) von 3:1. Dies entspricht einer Ausbeute von 34% an Biopterin und 12% 2'-Deoxybiopterin (V) bezogen auf IV. Die zweite gelb fluoreszierende Fraktion ergab 10,5 mg (13%) VII).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 64. Mitteilung: J. H. Bieri, *Helv.* 60, 2303 (1977).
- [2] B. Schircks, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* 60, 211 (1977).
- [3] S. Kaufman, *Biochemistry* 50, 1085 (1963).
- [4] S. Kaufman, *J. biol. Chemistry* 242, 3934 (1967).
- [5] H. Rembold & H. Metzger, *Z. physiol. Chem.* 348, 194 (1967).
- [6] M. Nagai, *Arch. Biochemistry Biophysics* 126, 426 (1968); T. Fukushima & M. Akino, *Arch. Biochemistry Biophysics* 128, 1 (1968).
- [7] W. Pfeleiderer, 'Chemistry and Biology of Pteridines', Proc. of the 5th International Symposium, Walter de Gruyter, Berlin & New York, 1975, p. 941.
- [8] 69. Mitteilung: H.-J. Furrer, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* 61, 2744 (1978).
- [9] B. Schircks, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv.* 59, 248 (1976).
- [10] Y. Iwanami & M. Akino, *J. Nutri. Sci. Vitaminol.* 21, 143 (1975).
- [11] M. Viscontini & E. Möhlmann, *Helv.* 42, 836 (1959).

¹⁰) Für die Aufnahme des ^1H -NMR.-Spektrums wurde VI nochmals aus 12N HCl umkristallisiert.

¹¹) Die ^1H -NMR.-Spektren (100 MHz) zeigen neben den beschriebenen Produkten wenig Verunreinigungen an (< 10%).