

- [6] *A. Albert*, J. chem. Soc. [London] 1955, 2690.
[7] *A. Albert & H. Rokos*, in Chemistry and Biology of Pteridines, S. 95, Internat. Acad. Printing Co. Ltd., Tokyo 1970.
[8] *C. Djerassi* in Optical Rotatory Dispersion, S. 165, McGraw-Hill Book Comp., New York 1960.
[9] *M. Viscontini*, Helv. 41, 1299 (1958).
[10] *A. Albert & E. P. Serjeant*, The Determination of Ionization Constants, S. 44, Chapman and Hall Ltd. London 1971.
[11] *D. D. Perrin*, Austral. J. Chemistry 16, 572 (1963).

252. Synthese und Reaktionen von Droso- und Isodrosopterin

Pteridine, LIV¹⁾

von **Heinrich Schlobach**²⁾ und **Wolfgang Pfeleiderer**

Aus dem Fachbereich Chemie der Universität Konstanz

(25. VIII. 72)

Summary. The synthesis of the *Drosophila* pigments droso- and isodrosopterin (**7**) from 7,8-dihydropterin (**3**) and 2-hydroxy-3-oxobutyric acid (**4**) is described. A reaction mechanism is discussed and proven by isotope experiments. Droso- and isodrosopterin form in weak acidic medium in the presence of NH_4^{\oplus} ions two red reaction products each one of which seems to be identical with neodrosopterin.

Die ausserordentlich schwierige Zugänglichkeit von Droso- und Isodrosopterin aus natürlichem Material [2] stellt einen limitierenden Faktor für sämtliche Untersuchungen dieser interessanten Pigmente dar. Zurückgreifend auf eine Beobachtung von *Forrest & Nawa* [3] [4], welche bei der Umsetzung von partiell oxydiertem 5,6,7,8-Tetrahydropterin mit 3-Hydroxy-2-oxo-buttersäure die Bildung geringer Mengen der Drosopterine feststellen und ihre Identität mit den roten Augenpigmenten von *Drosophila melanogaster* wahrscheinlich machen konnten, bemühten wir uns um einen besseren synthetischen Zugang zu diesen Substanzen.

Als Ausgangskomponenten verwendeten wir das durch sein hohes elektrophiles Potential ausgezeichnete 7,8-Dihydropterin (**3**) [5] und die 2-Hydroxy-3-oxo-buttersäure (**4**). **3** kann dabei entweder in Form seines Hydrogensulfitadditionsproduktes **1** [5] oder besser als Dinatriumsalz des kovalenten 5,6-Hydrates **2** eingesetzt werden, da beide Addukte in Lösung mit freiem **3** im Gleichgewicht stehen. **4** wird ebenfalls direkt in Lösung durch alkalische Verseifung des durch Bleitetraacetat-Oxydation von Acetessigester in Eisessig/Acetanhydrid erhältlichen 2-Acetoxy-3-oxo-buttersäure-äthylesters [6] hergestellt.

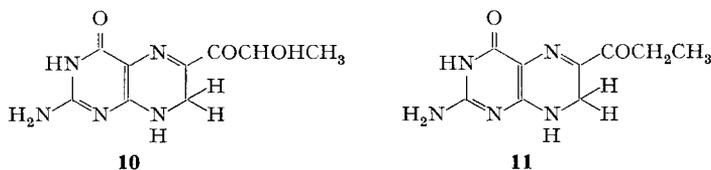
Die Drosopterine **7** bilden sich nur dann in relativ guten Ausbeuten, wenn man spezifische Reaktionsbedingungen einhält. Als günstig erwies sich die Umsetzung der zunächst neutralen wässrigen Lösung von **4**, wie sie bei der Verseifung des 2-Acetoxy-3-oxo-buttersäureesters anfällt, mit dem basischen **2** unter Stickstoff, da sich hierdurch der pH-Wert auf 11,5 erhöht und jetzt die basenkatalysierte *Michael*-Addition

¹⁾ LIII. Mitteilung: s. [1].

²⁾ Teil der Dissertation *H. Schlobach*, Univ. Konstanz. 1971.

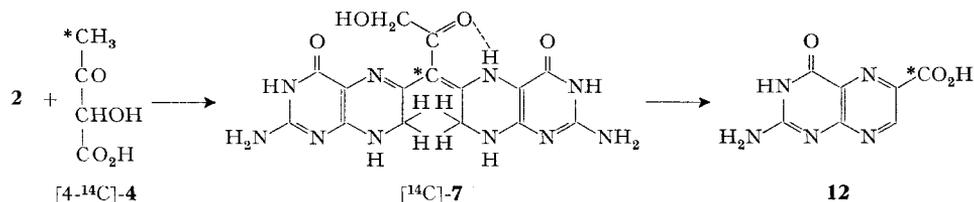
zum Stillstand kommt. Durch das schwache Ansäuern wird Decarboxylierung der β -Ketosäurefunktion der Seitenkette sowie Dehydrierung zur 7,8-Dihydropterin-Stufe bewirkt. Da unter N_2 -Atmosphäre gearbeitet wird, fungiert sehr wahrscheinlich der Überschuss an **4** als Wasserstoffacceptor, zumal die Tetrahydropterine recht starke Reduktionsmittel sind. Nach beendeter Reaktion wird mit Salzsäure weiter bis pH 4 angesäuert und dann durch Kühlen das Droso-/Isodrosopterin-Gemisch in Form des Dihydrates bis zu einer 70proz. Ausbeute isoliert. Die Trennung der Isomeren in die beiden Enantiomeren an Cellulose im präparativen Maßstab ist überaus mühsam, da mehrere Trennungen vor allem zur Reindarstellung des langsamer laufenden Drosopterins erforderlich sind. Reines Isodrosopterin kann durch seine grössere Laufgeschwindigkeit bei der Säulenchromatographie relativ leicht aus dem vorderen Teil der ersten Fraktion gewonnen werden.

Die interessante Bildungsweise der Drosopterine aus **3** und **4** veranlasste uns, noch eine Reihe weiterer CH-acider Ketoverbindungen auf ihr Reaktionsverhalten gegenüber 7,8-Dihydropterin (**3**) zu untersuchen. Unter den Bedingungen der Drosopterinsynthese werden jedoch mit Hydroxyaceton, Brenztraubensäure, Acetessigsäure, Oxalessigsäure und Dihydroxyfumarsäure keine Dipterinylmethan-Derivate, sondern lediglich gelbe bzw. gelb fluoreszierende Verbindungen gebildet. Die grösseren Rf-Werte sowie die langwelligen Absorptionen im Bereich von 420–450 nm sprechen für 6-substituierte 7,8-Dihydropterin-Derivate und stellen die Reaktionsprodukte somit in eine strukturverwandte Beziehung zu den gelben Augenpigmenten Sepia- (**10**) [8] und Iseosepiapterin (**11**) [9] [10] [11] von *Drosophila melanogaster*.



Da sich auf dieser Basis ein neuer Zugang zu den biologisch interessanten 7,8-Dihydropterinen eröffnet, werden wir nach Aufklärung der Strukturen der genannten gelben Reaktionsprodukte über Einzelheiten zu einem späteren Zeitpunkt berichten.

Bei der Formulierung der Drosopterinsynthese gingen wir zunächst davon aus, dass in **4** die endständige Methylgruppe das nucleophilste Zentrum der Molekel darstellt und nicht etwa das α -C-Atom der Endiol-Form in Reaktion tritt. Um diesen Tatbestand, der auch bezüglich der Natur der Seitenkette in den Drosopterinen von Bedeutung ist, zu beweisen, haben wir 4- ^{14}C -markierte 2-Hydroxy-3-oxo-buttersäure hergestellt und mit 7,8-Dihydropterin umgesetzt. Das radioaktiv markierte Droso-/Isodrosopterin-Gemisch wurde oxydativ in 1N NaOH mit H_2O_2 zur Pterin-6-carbon-

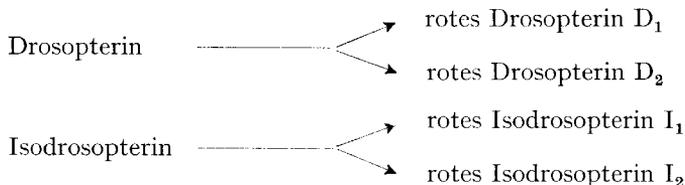


säure (**12**) abgebaut, die über Cellulosekarton aus dem Reaktionsgemisch isoliert und durch Chromatographie und Elektrophorese identifiziert wurde. Nochmalige zweidimensionale Dünnschichtchromatographie auf Cellulose und Auswertung mit einem Dünnschichtscanner zeigte eindeutig, dass die Radioaktivität in **12** lokalisiert ist.

Obwohl Messungen der spezifischen Aktivität aufgrund der zu geringen Mengen noch ausstehen, darf dieser experimentelle Befund als Stütze des vorgeschlagenen Synthesemechanismus und als weiterer Beweis für die Konstitution der Drosopterine gewertet werden.

Aus den früheren Arbeiten über die Isolierung und Charakterisierung der roten Augenpigmente von *Drosophila melanogaster* [12]–[16] geht hervor, dass neben dem Droso- und Isodrosopterin noch eine dritte, Neodrosopterin genannte Komponente in geringer Konzentration vorhanden ist. Da seine Isolierung die grössten Schwierigkeiten bereitet, ist diese Substanz am wenigsten untersucht. Sie unterscheidet sich von den beiden ersteren durch eine etwas bathochrom verschobene langwellige Absorption und noch kleinere Rf-Werte bei der Papierchromatographie.

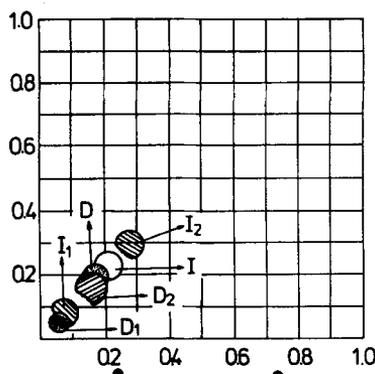
Da wir bei der Synthese des Droso-/Isodrosopterin-Gemischs im Rohprodukt kein Neodrosopterin nachweisen konnten, sondern sein Auftreten erst bei der säulenchromatographischen Auftrennung der Enantiomeren in Form einer schwach rötlichen, verschmierten breiten Bande beobachteten, ist es denkbar, dass es sich bei diesem dritten Augenpigment um ein Artefakt handelt. Dies würde auch erklären, wieso das Neodrosopterin nicht nur im *Drosophila*-Auge, sondern auch andernorts in natürlichem Material, wie etwa der Hautfalte verschiedener *Anolis*-Arten [17]–[20], mit Droso- und Isodrosopterin vergesellschaftet ist. Die relative Instabilität der Drosopterine vor allem in Lösung würde dieser Deutung sehr entgegenkommen. So entstehen beim Stehenlassen des Droso- und Isodrosopterins in wässriger Ammoniumformiat- bzw. Ammoniumchlorid-Lösung jeweils zwei neue rote Produkte, die wir aufgrund ihrer Farbe «rotes Drosopterin» D_1 und D_2 und «rotes Isodrosopterin» I_1 und I_2 nennen. Zwei dieser roten Pigmente zeigen gleiche UV.-/VIS.-Spektren und übereinstimmendes chromatographisches Verhalten wie Neodrosopterin. Wir vermuten daher, in diesen Umwandlungsreaktionen möglicherweise einen synthetischen Zugang zu dem bislang in seiner Struktur noch nicht aufgeklärten Neodrosopterin gefunden zu haben. Schematisch lassen sich die Verhältnisse folgendermassen darstellen:



Die Umwandlungsprodukte D_1 , D_2 und I_1 konnten mittels Chromatographie an Cellulose in kleinen Mengen isoliert und durch Aufnahme qualitativer UV.-/VIS.-Spektren charakterisiert werden (Tab.).

Von I_1 und D_2 gelang es ferner, CD.-Spektren in Wasser aufzunehmen, welche wiederum die diesem Verbindungstyp eigene, ungewöhnlich starke optische Aktivität zu erkennen gaben. I_1 zeigt dabei grosse Ähnlichkeit im Kurvenlauf mit Isodroso-

pterin, abgesehen von der durch die Absorption bedingte bathochrome Verschiebung der langwelligen Bande, während der Charakter des CD.-Spektrums von D₂ doch so



Chromatographisches Verhalten der Drosopterine auf Merck-Dünnschichtcelluloseplatten (0,2 mm).
Laufmittel 3proz. Ammoniumchlorid (zweidimensional)

Physikalische Daten der «roten» Droso- und Isodrosopterine

Substanz	UV./VIS.-Spektrn λ_{\max} (nm)				pH	CD.-Spektrn in Wasser λ_{\max} (nm)			
Neodrosopterin	268	310	499		1,0				
	268		514		13,0				
D ₁	215	268	309	499	4,5				
	215	264		512	13,0				
D ₂	217	263	320	487	4,5	270	315	400	490
	217	271		500	13,0				
I ₁	215	268	309	499	4,5	222	271	330	502
	215	264		512	13,0				
Drosopterin						222	270	318	478
Isodrosopterin						222	271	318	478

verschieden von dem des Drosopterin ist, dass hier wohl eine grössere Veränderung der Molekel stattgefunden hat.

Die optische Aktivität natürlichen Neodrosopterin wurde bereits früher untersucht [13] und aufgrund negativer Befunde im Bereich 550–600 nm auf optische Inaktivität der Molekel geschlossen. Es ist zu vermuten, dass damals die Isomeren D₁ und I₁ entweder nicht getrennt wurden, oder aber die Konzentration an Neodrosopterin zu gering war, um die im untersuchten Wellenlängenbereich nur äusserst schwache Aktivität nachzuweisen.

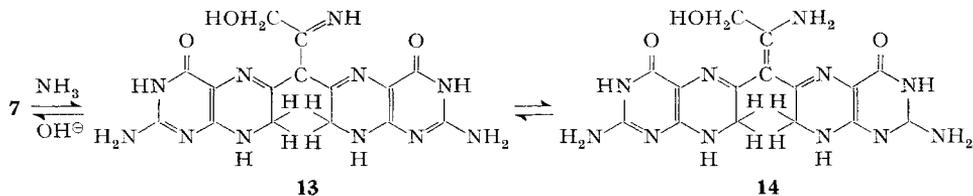
Obwohl die weiteren Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind, möchten wir die vorliegenden experimentellen Ergebnisse dahingehend interpretieren, dass sowohl Droso- als auch Isodrosopterin unter dem Einfluss saurer Ammoniumsalze in zwei Gruppen von Verbindungen umgewandelt werden, welche möglicherweise jeweils

Isomere darstellen. Dabei gehören D_1 und I_1 sowie D_2 und I_2 konfigurationsmässig zusammen.

Beide Gruppen unterscheiden sich auch in ihrem chemischen Verhalten. D_1 und I_1 werden schon bei der Chromatographie mit alkalischen Laufmitteln verändert, und unter dem Einfluss von 0,1N KOH verschiebt sich die langwellige Absorption nach kurzer Zeit von 512 auf 502 nm. Chromatographisch lassen sich dann jeweils zwei Substanzen nachweisen, von denen die bei 502 nm absorbierenden Komponenten sich praktisch nicht von Droso- bzw. Isodrosopterin unterscheiden, während sich die zweite weiterlaufende Verbindung durch eine gelbgrüne Fluoreszenz auszeichnet. Unter den alkalischen Bedingungen findet somit offenbar in erster Linie Hydrolyse zu den Ausgangsverbindungen statt.

D_2 und I_2 sind im Gegensatz dazu gegenüber 0,1N KOH im wesentlichen stabil und zersetzen sich auch nicht, wenn man im alkalischen Medium chromatographiert.

Das Verhalten und die Entstehungsweise von D_1 und I_1 erinnern in mancher Hinsicht an die Umwandlung von Erythropterin in Lepidopterin [21] in Gegenwart von Ammoniak. Da auch das Lepidopterin alkalilabil ist und sich leicht wieder zurückverwandelt, wäre eine plausible Erklärung der experimentellen Befunde die primäre Ketimin-Bildung (**13**) in der Seitenkette mit nachfolgender Prototropie zur stabilen Aminofunktion (**14**).



Bei den beiden anderen Verbindungen D_2 und I_2 handelt es sich im Einklang mit der grösseren Alkalistabilität wahrscheinlich um Oxydationsprodukte. Da die Entstehung von D_2 auch bei der Einwirkung von Essigsäure und Salzsäure auf Drosopterin beobachtet werden kann, scheinen für seine Bildung Ammonium-Ionen nicht unbedingt erforderlich zu sein.

Diese Befunde zeigen aber schon jetzt vor Abschluss dieser Untersuchungen ganz deutlich, dass die bei der chromatographischen Auftrennung von natürlichen Drosoppterinen mit Erfolg angewandten Laufmittel wie Ammoniumchlorid, Ammoniumformiat, Ammoniumacetat, Essigsäure oder Ameisensäure alle Veränderungen am genuinen Material bewirken und damit Anlass zu falschen Schlüssen bezüglich weiterer natürlicher *Drosophila*-Pigmente geben können.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die grosszügige Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

2-Acetoxy-3-oxo-buttersäure-äthylester [6]. 13,0 g frisch dest. Acetessigester und 40 ccm Eisessig werden unter kräftigem Rühren mit 45,0 g frisch hergestelltem Bleitetraacetat in kleinen Portionen versetzt. Die Temp. wird durch Wasserkühlung auf 45° gehalten. Kurz vor der letzten Zugabe wird die Kühlung entfernt und durch leichtes Erwärmen alles Bleitetraacetat in Lösung gebracht. Nach 2 Std. wird die abgekühlte Lösung mit 150 ccm Wasser versetzt, der Ester 3mal mit je 175 ccm Äther ausgeschüttelt und die ätherische Phase mit 1proz. Na_2CO_3 -Lösung so lange ge-

schüttelt, bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet wird. Anschliessend wird über Na_2SO_4 getrocknet, der Äther abgezogen und der Rückstand destilliert: 5,2 g (28%) farblose Flüssigkeit vom Sdp. 120–122°/15 Torr und n_D^{25} 1,4280.

6-Hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropterin-dinatriumsalz (2). 7,5 g 5,6,7,8-Tetrahydropterin-6-sulfonsäure (1) [5] werden in 75 ml mit N_2 anaerobisierte 2N NaOH eingetragen und unter Stickstoff leicht erwärmt, bis klare rötliche Lösung eingetreten ist. Bei Abkühlen im Eisbad scheidet sich ein fast farbloser Niederschlag ab, welcher nach einiger Zeit unter Stickstoff abgesaugt, mit sehr wenig Eiswasser gewaschen und nach Behandlung mit Äthanol und Äther über P_2O_5 im Vakuum-exsiccator getrocknet wird: 4,6 g (69%) farbloses Kristallpulver vom Smp. > 350°.

$\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_2$ (221,3) Ber. C 32,50 H 3,17 N 31,70% Gef. C 32,85 H 3,21 N 31,36%

Droso- und Isodrosopterin (7): 250 ml 0,1N NaOH werden 1,5 Std. mit Stickstoff begast und dann in 3 Portionen insgesamt 5 g (0,026 Mol) 2-Acetoxy-3-oxo-buttersäureäthylester im Laufe von 10 Min. zugegeben. Innerhalb 1 Std. geht der Ester unter Verseifung und leichter Gelbfärbung in Lösung bei gleichzeitigem Absinken des pH auf 7. Nach Zugabe von 4,5 g (0,02 Mol) **2** und 150 ml O_2 -freiem Wasser zur Erzielung einer klaren Lösung steigt der pH-Wert auf 11,5 an. Die zunächst gelbe Reaktionslösung verfärbt sich langsam nach orange. Nach 1 Std. Reaktionsdauer wird mit konz. Salzsäure auf pH 6 abgestumpft. Unter ständigem Durchleiten von Reinstickstoff hält man die Reaktionslösung 30 Std. bei 30°, lässt dann abkühlen und fügt bis pH ca. 4 verd. Salzsäure zu. Nach mehrstdg. Stehenlassen im Eisbad wird der intensiv rote Niederschlag gesammelt, mit etwas Eiswasser, dann Äthanol und Äther gewaschen und über P_2O_5 im Vakuum-exsiccator getrocknet. Es wird so ein chromatographisch fast reines Droso-/Isodrosopterin-Gemisch (2,5 g) in Form des Dihydrates gewonnen. Aus dem Filtrat lässt sich durch vorsichtiges Einengen bei 30° auf 100 ccm und nachfolgende Eiskühlung noch eine zweite Fraktion (0,6 g) gewinnen: 3,1 g (71%) rotes Kristallpulver, das erst oberhalb 350° schmilzt (Zers.).

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_{10}\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (436,5) Ber. C 41,30 H 4,62 N 32,10 Gef. C 42,25 H 4,68 N 32,24%

Isomerentrennung. 50 mg rohes Droso-/Isodrosopterin-Gemisch werden in 50 ml Wasser durch leichtes Erwärmen in Lösung gebracht. Man lässt abkühlen und filtriert gegebenenfalls von wenig abgeschiedenem Niederschlag ab. Das Filtrat wird auf eine Cellulosesäule (25 × 9,5 cm) aus *Whatman*-Cellulose CF 11 aufgetragen und mit 0,3proz. Ammoniumformiat-Lösung aufgetrennt. Erst im unteren Drittel der Säule erfolgt Auftrennung der Isomeren, und man erhält zuerst Isodrosopterin, dann eine Mischfraktion und zuletzt das Drosopterin. Die Fraktionen werden im RV. bei 30° auf ein kleines Volumen eingengt und durch Chromatographie an Sephadex G 10 (20 × 3,5 cm Säule) mit Wasser entsalzt. Sowohl Droso- als auch Isodrosopterin werden zunächst im oberen Drittel der Säule festgehalten und können dann mit verd. Ammoniak (konz. Ammoniak/Wasser 1:1000) desorbiert werden. Durch Einengen erhält man so in einem Trennungsgang 15,1 mg reines Isodrosopterin und 3,7 mg reines Drosopterin als Neutral-Molekel in Form der Dihydrate. Die Mischfraktion wird nach dem gleichen Verfahren erneut aufgetrennt, so dass nach zwei Stufen insgesamt 30 mg des ursprünglichen Gemisches als reine Komponenten vorliegen.

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_{10}\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (436,5)	Ber. C 41,30	H 4,62	N 32,10%
Drosopterin	Gef. ,, 42,25	,, 4,68	,, 32,02%
Isodrosopterin	Gef. ,, 41,12	,, 4,61	,, 30,50%

Synthese von ^{14}C -markiertem Droso- und Isodrosopterin (^{14}C -7). 2,6 g Acetessigsäure-äthylester werden mit 3,2 mg [$4\text{-}^{14}\text{C}$] Acetessigester (Aktivität 4,0 mC/mMol, entspr. 0,1 mC) vermischt und dann wie oben beschrieben zum 2-Acetoxy-3-oxo-[$4\text{-}^{14}\text{C}$]buttersäure-äthylester umgesetzt. Das Reaktionsprodukt besitzt eine spez. Aktivität von 0,025 $\mu\text{C}/\text{mg}$. Die Umsetzung von 0,39 g davon mit 0,35 g **2** entsprechend vorstehender Vorschrift führt zu 0,155 g [^{14}C]Droso-/Isodrosopterin-dihydrat-Gemisch mit einer spez. Aktivität von 0,025 $\mu\text{C}/\text{mg}$.

Oxydativer Abbau der ^{14}C -markierten Drosopterine. 13,6 mg des vorstehenden Isomerengemisches werden mit 0,4 ccm 1N NaOH versetzt und dann zur dunkelroten Lösung 0,2 ml 10proz. H_2O_2 hinzugefügt. Unter Erwärmung tritt Farbumschlag nach gelblich ein. Nach wenigen Min. werden 0,3 ml 1N HCl zugegeben, nötigenfalls bei Abscheidung eines Niederschlages erwärmt und dann die Lösung als Streifen auf einen Cellulosekarton *Schleicher & Schüll* 2727 zur Chromatographie mit 3proz. Ammoniumchlorid-Lösung aufgetragen. Das die Pterin-6-[^{14}C]carbonsäure (**12**) enthaltende Band wird ausgeschnitten, mit Wasser eluiert und das Eluat auf wenige μl eingengt.

Man trägt dann auf eine *Merck*-Dünnschichtcelluloseplatte auf und entwickelt zweidimensiona¹ jeweils mit 3proz. Ammoniumchlorid-Lösung. Parallel hierzu wird mit authentischer Pterin-6-carbonsäure verfahren.

Die radiographische Auswertung des Chromatogramms erfolgte einmal auf photographischem Wege mit einem *Kodak*-Film Kodirex (13 × 18 cm) durch 30tägiges Auflegen und nachfolgendem Entwickeln sowie zum andern durch Messung mit einem Dünnschichtscanner II LB 2722 von *Berthold*. Zur Registrierung diente der Dual Ratemeter Integrator LB 242.

Bildungsweisen der «roten» Drosopterine. Synthetisches Droso- bzw. Isodrosoprotein wird in einer 5proz. Ammoniumformiat-Lösung mehrere Tage bei Raumtemp. an der Luft stehengelassen. In dieser Zeit haben sich kleine Mengen an rotem Drosoprotein D_1 bzw. rotem Isodrosoprotein I_1 und sehr wenig I_2 gebildet. Durch Säulenchromatographie an *Whatman*-Cellulose CF 11 (1 × 35 cm) mit 0,01 M Ammoniumformiat lassen sich D_1 bzw. I_1 abtrennen, während I_2 bislang nur chromatographisch nachgewiesen werden konnte.

Mehrmonatiges Stehenlassen von synthetischem Drosoprotein in gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung liefert das Umwandlungsprodukt D_2 , wogegen D_1 unter diesen Bedingungen nicht beobachtet wird. Die Abtrennung und Isolierung von D_2 erfolgen wieder durch Säulenchromatographie an *Whatman*-Cellulose CF 11 mit 0,01 M Ammoniumformiat als Laufmittel. Nach Einengen erhält man chromatographisch einheitliches rotes D_2 im Gemisch mit Ammoniumsalzen. Im zweidimensionalen Dünnschichtchromatogramm auf Cellulose mit 0,1 N NaOH verschwinden in den Gemischen D_1 und D_2 bzw. I_1 und I_2 jeweils die Komponenten D_1 bzw. I_1 quantitativ.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, *Helv.* **55**, 2525 (1972).
- [2] *H. Schlobach & W. Pfeleiderer*, *Helv.* **55**, 2518 (1972).
- [3] *S. Nawa & H. S. Forrest*, *Natl. Inst. Genetics Ann. Rep.* **13**, 23 (1962).
- [4] *H. S. Forrest & S. Nawa* in *Pteridine Chemistry*, *W. Pfeleiderer und E. C. Taylor* (Edit.), S. 286, Pergamon Press Ltd., Oxford 1964.
- [5] *A. Stuart, H. C. S. Wood & D. Duncan*, *J. chem. Soc. C* **1966**, 285.
- [6] *G. Weil-Malherbe*, *Biochem. J.* **32**, 1033 (1938).
- [7] *K. Sugiura, M. Goto & S. Nawa*, *Tetrahedron Letters* **1969**, 2963.
- [8] *S. Nawa*, *Bull. chem. Soc. Japan* **33**, 1555 (1960).
- [9] *H. S. Forrest, C. van Baalen & J. Myers*, *Arch. Biochem. Biophysics* **83**, 508 (1959).
- [10] *S. Nawa & H. S. Forrest*, *Nature* **196**, 169 (1962).
- [11] *M. Viscontini & E. Möhlmann*, *Helv.* **42**, 836 (1959).
- [12] *M. Viscontini, E. Hadorn & P. Karrer*, *Helv.* **40**, 579 (1957).
- [13] *M. Viscontini & P. Karrer*, *Helv.* **40**, 968 (1957).
- [14] *M. Viscontini*, *Helv.* **41**, 922 (1958).
- [15] *M. Viscontini*, *Helv.* **41**, 1299 (1958).
- [16] *M. Viscontini & E. Möhlmann*, *Helv.* **42**, 1679 (1958).
- [17] *E. Ortiz, L. H. Throckmorton & H. G. Williams-Ashman*, *Nature* **196**, 595 (1962).
- [18] *E. Ortiz & H. G. Williams-Ashman*, *Comparat. Biochem. Physiol.* **10**, 181 (1963).
- [19] *E. Ortiz, E. Bächli, D. Price & H. G. Williams-Ashman*, *Physiol. Zool.* **36**, 97 (1963).
- [20] *E. Ortiz & A. A. Maldonado*, *Carib. J. Sci.* **6**, 9 (1966).
- [21] *M. Viscontini & H. Stierlin*, *Helv.* **46**, 51 (1963).