Chem. Listy 92, 689 - 697 (1998)

PTERINY

JOSEF TOMANDL

Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Komenského nám. 2, 662 43 Brno
e-mail: tomandl@med.muni.cz

Došlo dne 14.X.1997

Obsah

1. Úvod
2. Chemická charakteristika
   2.1. Struktura a rozdělení
   2.2. Chemické vlastnosti
3. Biosyntéza pterinů
4. Funkce pterinů v metabolismu
5. Metody stanovení
6. Závěr

1. Úvod

Historie pterinů se začíná podle dostupných pramenů psát v roce 1889, kdy Hopkins izoloval žlutý pigment z křídel *lepidoptera*[1]. Později skupina těchto pigmentů dostává název pteridiny (*pteron* = řecky křídlo)[2] a je zjištěna jejich struktura[3,4].

Poměrně vysoké koncentrace pterinů se nacházejí pouze jako pigmenty u hmyzu, obojživelníků, plazů a ryb[5-6]. U člověka byly pteriny nejprve zjištěny v moči jednak pro snadnou dostupnost výchozího materiálu a jednak pro relativně vysoké koncentrace. Jedná se především o xanthopterin[7], biopterin[8] a neopterin[9].

Z velkého počtu pterinů, jen u několika byla popsána jejich biologická funkce. Biopterin stimuluje mitosu u trypanosomy *Crithidia flagellata*[10], jeho redukovaná forma 5,6,7,8-tetrahydrobiopterin slouží jako kofaktor monooxygenas aromatických aminokyselin[11] a NO-synthasy[12,13]. Funkce neopterinu v organismu je doposud neobjasněna. Sledování jeho koncentrace v tělesných tekutinách napomáhá předvídat vývoj patologického stavu spojeného s aktivací buněčného imunitního systému[14,15]. Molybdopterin tvoří základní strukturu molybdenových kofaktorů[16] oxidoreduktas, např. nitrátreduktasy, sulfitoxidasy a xanthinoxidasy.

2. Chemická charakteristika

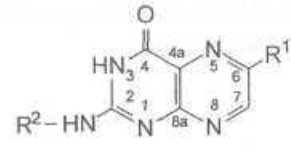
2.1. Struktura a rozdělení

Základní struktura pterinů je odvozena od pyrazino-[2,3-*d*]-pyrimidinového bicyklického systému zvaného pteridin. Deriváty pteridinu se podle substituce pyrimidinového cyklu dělí na pteriny (deriváty 2-amino-4-oxo-3,4-dihydropteridinu) a lumaziny (deriváty 2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropteridinu). Podle velikosti substituentů lze deriváty pteridinu rozdělit na nekonjugované (pteridiny s relativně malými substituenty, jako např. neopterin, biopterin, molybdopterin, onkopterin) a konjugované, které obsahují větší substituenty vázané na pteridinový cyklus (např. kyselina listová, riboflavin, methanopterin[17]).

Pteriny (obr. 1) lze odlišit jednak podle postranního řetězce v pozici 6, jednak podle oxidačního stavu pteridinového cyklu. Přehled hlavních pterinů zjištěných u člověka je uveden v tabulce I. V přírodě se vyskytují rovněž isopteriny, které mají postranní řetězec z pozice 6 přemístěn do pozice 7. Vznikají pravděpodobně neenzymaticky přesmykem z mateřských pterinů. U člověka byly zjištěny isosepiapterin[18], isoxanthopterin, isobiopterin[19,20]. Molybdopterin obsahuje dithiolenovou skupinu, která váže molybden (Mo^{4+}) (cit.[21]). V některých enzymech se vyskytuje molybdopterin jako dinukleotid[16].

2.2. Chemické vlastnosti

Pteriny jsou fotosenzitivní sloučeniny a na světle se rozkládají na různé deriváty pteridinu. Vyskytují se ve třech



Obr. 1. **Strukturní vzorec pterinů v oxidované formě**

Tabulka I
Přehled hlavních pterinů zjištěných v lidských buňkách a tělesných tekutinách

Sloučenina	R^1	R^2
Pterin	H	H
Xanthopterin	OH	H
6-Formylpterin	CHO	H
6-Karboxypterin	COOH	H
6-Hydroxymethylpterin	CH_2OH	H
Sepiapterin	(2'*S*)-CO-CHOH-CH_3	H
Biopterin	(1'*R*,2'*S*)-CHOH-CHOH-CH_3	H
Orinapterin (*threo*-Biopterin)	(1'*S*,2'*S*)-CHOH-CHOH-CH_3	H
Onkopterin	(1'*R*,2'*S*)-CHOH-CHOH-CH_3	CH_2-CH_2-CH_2-NH_2
Neopterin	(1'*S*,2'*R*)-CHOH-CHOH-CH_2OH	H
Monapterin (*threo*-Neopterin)	(1'*S*,2'*S*)-CHOH-CHOH-CH_2OH	H
Umanopterin	(1'*R*,2'*R*)-CHOH-CHOH-CH_2OH	H
Molybdopterin	CSH=CSH-CHOH-CH_2O-PO_3^{2-}	H

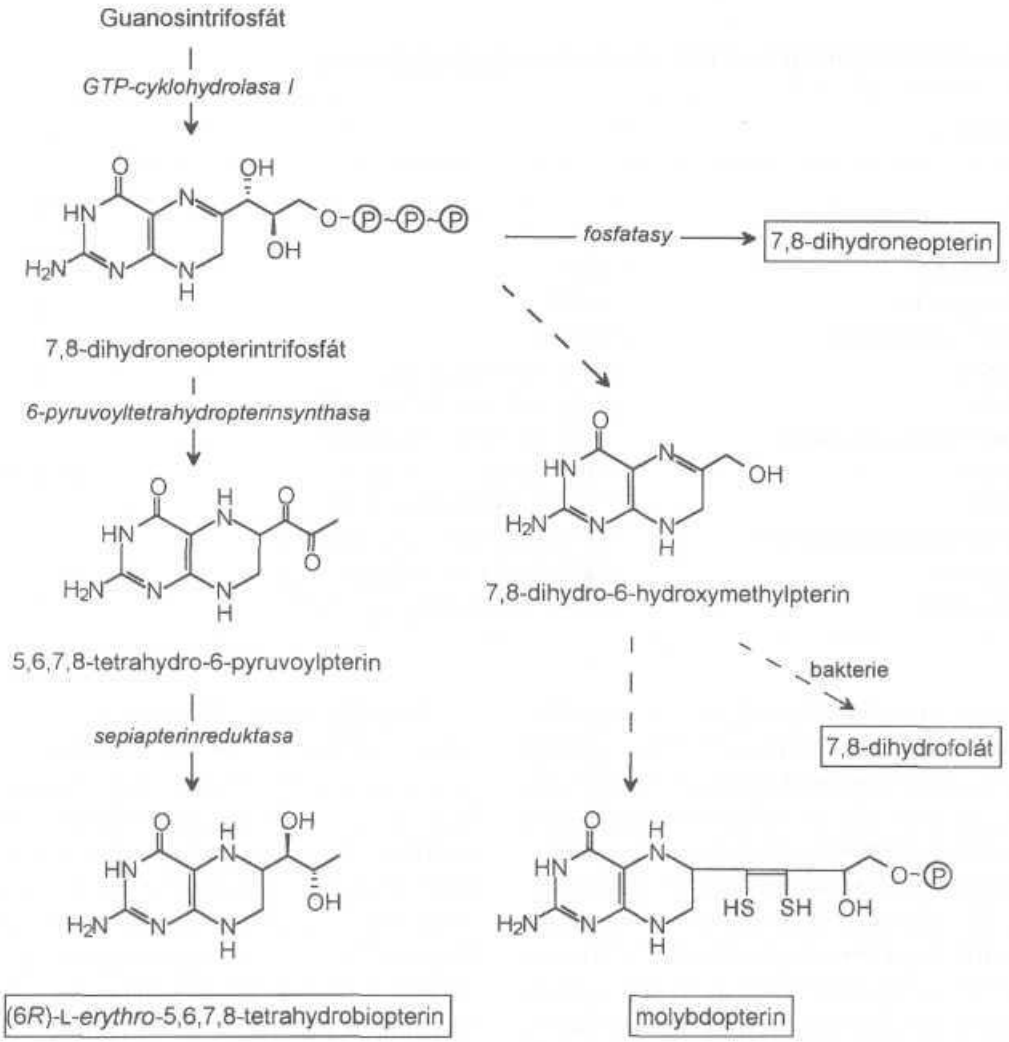
oxidačních formách, v 5,6,7,8-tetrahydro-, 7,8-dihydro- nebo v plně oxidované (aromatické) formě. Dihydropteriny existují rovněž v méně stabilní chinoidní struktuře. Redukované formy pterinů snadno podléhají oxidaci vzdušným kyslíkem, zvláště v přítomnosti iontů kovů[22]. Touto oxidací nevznikají pouze plně oxidované formy mateřské sloučeniny, ale v důsledku různých přesmyků během oxidace dochází ke vzniku jiných derivátů pteridinu[23]. Redukované formy pterinů mají velmi silné antioxidační účinky a mohou *in vivo* působitjako lapače reaktivních forem kyslíku[24]. Biopterin a neopterin lze získat z jejich redukovaných forem oxidací jodem[25,26]. Při oxidaci tetrahydropterinů dochází současně ke štěpení postranního řetězce. Pouze oxidované formy pterinů vykazují silnou modrou fluorescenci. Biopterin a neopterin včetně svých různých oxidačních stavů mají podobná UV spektra[25]. Volný molybdopterin je velmi labilní, může být stabilizován ve spojení se specifickým proteiny u nichž plní roli kofaktoru[27].

3. Biosyntéza pterinů

Biosyntéza všech pterinů a pteridinů začíná hydrolytickým štěpením GTP pomocí GTP cyklohydrolas. První reakční krok biosyntézy většiny známých pteridinů katalyzuje GTP cyklohydrolasa I (EC 3.5.4.16), vyjímku tvoří biosyntéza riboflavinu u bakterií a rostlin, které obsahují GTP cyklohydrolasu 11 (cit.[28,29]).

Biosyntéza tetrahydrobiopterinu z GTP probíhá ve třech enzymových krocích (obr. 2)[30]. Nejdříve se molekula GTP štěpí pomocí GTP cyklohydrolasy I na D-*erythro*-7,8-dihydroneopterintrifosfát. Tato sloučenina je klíčovým intermediátem v biosyntéze většiny ostatních pteridinů. V dalším stupni je 7,8-dihydroneopterintrifosfát oxidačně defosforylován Mg^{2+}-dependentní 6-pyruvoyltetrahydropterinsynthasou (EC 4.6.1.10) na 6-pyruvoyltetrahydropterin. V posledním stupni jsou dvě oxoskupiny v postranním řetězci 6-pyruvoyltetrahydropterinu redukovány NADPH-dependentní sepiapterinreduktasou (EC 1.1.1.153) na *6R*-L-*erythro*-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin (BH4). Tato poslední přeměna může být rovněž katalyzována karbonylreduktasou (EC 1.1.1.184) a aldehydreduktasou (EC 1.1.1.21)[31], což se zdá být významné v případě inhibice nebo funkční nedostatečnosti sepiapterinreduktasy.

Biosyntéza tetrahydrobiopterinu probíhá především v hepatocytech, v lymfocytech a v dopaminergních a serotoninergních synaptosomech. V lidských hepatocytech je aktivita 6-pyruvoyltetrahydropterinsynthasy[32] asi o dva řády nižší než u ostatních savců a daný enzym chybí v lidských monocytech/makrofázích[33,34]. Následkem je akumulace 7,8-dihydroneopterintrifosfátu v buňkách, který je po hydrolýze uvolňován jako 7,8-dihydroneopterin a neopterin. Zvýšená biosyntéza neopterinu probíhá ve větším měřítku v monocytech/makrofázích aktivovaných cytokiny, především interferonem-γ (cit.[35,36]). U aktivovaných makrofágů je poměr celkového neopterinu k celkovému



Obr. **2. Schéma biosyntézy 5,6,7,8-tetrahydrobiopterinu a dalších pteridinů z guanosintrifosfátu**

biopterinu přibližně 50:1 (cit.[33-37]). Vyššíkoncentrace neopterinu byla rovněž nalezena u primátů[28].

Dalším společným intermediátem biosyntézy některých pterinů je 7,8-dihydro-6-hydroxymeťhylpterin, z kterého u kvasinek vzniká molybdopterin[39], u bakterií kyselina listová[28], u methanogenních bakterií pterinová složka methanopterin[40]. Zůstává stále otázkou, zda molybdopterin u ostatních druhů vzniká stejnou cestou jako u kvasinek.

Biosyntéza monapterinu byla popsána zatím u *E. coli*, kdy z 7,8-dihydroneopterintrifosfátu enzymatickou přeměnou vzniká 7,8-dihydromonapterintrifosfát[41]. Umanopterin je tvořen u člověka pravděpodobně neenzymaticky z 7,8-dihydroneopterinu(trifosfátu)[42], zatímco u *Tetrahymena pyriformis* za podpory enzymů[43].

*R*egulace biosyntézy. Biosyntéza BH4 je regulována různými mechanismy[44], které většinou výhradně ovlivňují první a klíčový enzym, GTP cyklohydrolasu I. Kladný kooperativní efekt na enzym má substrát GTP. zatímco konečné produkty di- a tetrahydropteriny působí inhibičně[45]. Fenylalanin stimuluje aktivitu GTP cyklohydrolasy I v hepatocytech u krys zprostředkovaně pomocí regulačního proteinu[46].

Prozánětlivé cytokiny stimulují biosyntézu pteridinů zvýšenou transkripcí a následnou *de novo* syntézou GTP cyklohydrolasy I (cit.[47-50]). Exprese následných dvou enzymů je konstituční[33]. Nejúčinnějším stimulátorem je interferon-γ, velmi silným kostimulátorem je TNF-α, který však sám o sobě nevykazuje stimulační efekt[33]. Některé hormony jako inzulín, reserpin[51] a glukokortikoidy[52] stimulují biosyntézu BH4 rovněž indukcí GTP cyklohydrolasy I. Inhibičně na indukci působí protizánětlivé cytokiny jako např. transformující růstový faktor beta[53-54], interleukiny 4 a 10 (cit.[54]).

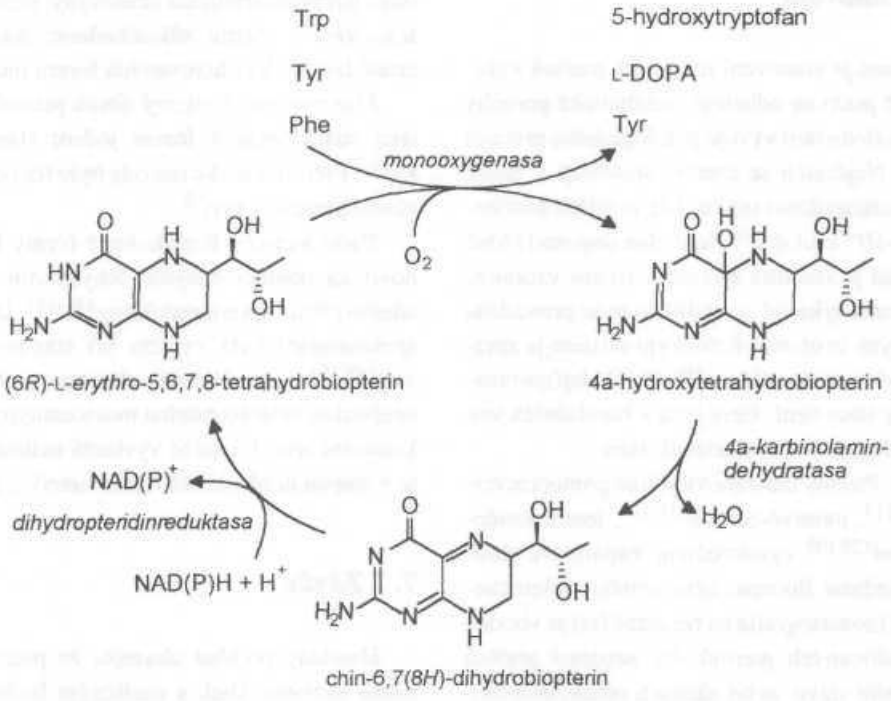
4. Funkce pterinů v metabolismu

Tetrahydrobiopterin. Úloha BH4 v metabolismu byla do podrobností studována u monooxygenas aromatických aminokyselin[55]. Zatím bylo zjištěno pět enzymů, jejichž aktivita závisí na BH4: fenylalanin-4-monooxygenasa (EC 1.14.16.1)[11], tyrosin-3-monooxygenasa (EC 1.14.16.2)[56], tryptofan-5-monooxygenasa (EC 1.14.16.4)[57], alkylglykol-ether-monooxygenasa (EC 1.14.16.5)[58] a NO-synthasa (EC 1.14.13.39)[12]. U monooxygenas aromatických aminokyselin je BH4 po hydroxylaci substrátu zpět recyklován na aktivní kofaktor pomocí dvou enzymů: 4a-karbinolamindehydratasou (EC 4.2.1.96) a dihydropteridinreduktasou (NADH: EC 1.6.99.7, NADPH: EC 1.6.99.10) (obr. 3)[55]. V nepřítomnosti 4a-karbinoldehydratasy, 4a-hydroxytetrahydrobiopterin je dehydratován spontánně nižší rychlostí, přičemž dochází částečně k přesmyku postranního řetězce v pteridinovém cyklu z C6 na C7 za vzniku isobiopterinu[20]. Při reakci vzniká vedle 4a-hydroxyderivátu též O2',4a-cyklický-tetrahydrobiopterin[59].

Mechanismus působení BH4 jako kofaktoru u NO-synthasy (NOS) se odlišuje od uvedených monooxygenas. Zatím byly popsány tři rozdílné izoenzymy NOS, mozkový, endoteliální a inducibilní[44]. Tyto izoenzymy katalyzují NADPH-dependentní 5elektronovou oxidaci L-argininu za vzniku oxidu dusnatého. BH4 má vlastnosti prostetické skupiny[44,60-61], která interakcí s dalším kofaktorem NOS hemem[62] udržuje enzym v redukovaném aktivním stavu[63-65]. BH4 se přímo nepodílí na redukci molekulového kyslíku[66,67], ale bylo zjištěno, že reduktázová doména NOS dokáže redukovat chinoidní dihydrobiopterin na BH4 (cit.[68]). Volný BH4 inaktivuje NO za tvorby peroxynitrátu[69] a chrání tak enzym před inhibicí produktem reakce[70]. Tvorbu NO inducibilní NOS je možné *in vivo* velmi účinně snížit inhibicí biosyntézy BH4 (cit.[71]).

Bylo zjištěno, že BH4, který je ve zvýšené míře produkován aktivovanými T lymfocyty, zvyšuje jejich afinitu k interleukinu-2, což vede k jejich zvýšené proliferaci[72,73]. Další funkcí BH4 je účast na řízení buněčného cyklu[74,75] nebo v regulaci melanogeneze[76].

Neopterin. Stanovení koncentrace neopterinu v tělesných tekutinách u lidí a primátů je možné použít ke sledování stimulace GTP cyklohydrolasy I cytokiny[14,77], především interferonem-γ. Dosud není vyřešeno, jestli vyšší koncentrace neopterinu v lidských buňkách a tělesných tekutinách plní nějakou funkci nebo pouze indikuje částečnou degeneraci biosyntetické cesty[78-79]. Nicméně, neopterin a jeho redukovaná forma se podílejí u člověka na modulaci cytotoxicity reaktivních forem kyslíku a chloru[80-84] a nezávisle na kyslíkových radikálech a NO vyvolávají apoptózu buněk[85,86]. Dihydroneopterin je schopen aktivovat transkripční faktory a indukovat expresi HIV-1



Obr. 3. **Recyklace 5,6,7,8-tetrahydrobiopterinu při hydroxylaci aromatických aminokyselin**

genu[83], zatímco neopterin stimuluje expresi inducibilní NOS v endotelu cév[87].

Molybdopterin. Molybdopterin je komponentou pterinových molybdenových kofaktorů[16]. Pteridinový cyklus je zde v redukované formě a účastní se pravděpodobně v procesech přenosu elektronů[88]. Je známá řada bakteriálních enzymů obsahujících molybdopterin[16,89-92]. Všechny enzymy obsahující molybden kromě nitrátreduktasy katalyzují oxidační hydroxylace nebo redukční dehydroxylace[93]. U člověka již byly zjištěny dědičné poruchy biosyntézy molybdopterinu, jež je kofaktorem sulfitoxidasy a xanthinoxidasy[94,95].

Xanthopterin v různé míře ovlivňuje růst a diferenciaci buněk[75,96-98].

Onkopterin. Poměrně nedávno byl v moči nemocných maligním lymfomem izolován N^2-(3-aminopropyl)biopterin, onkopterin[99]. Tato sloučenina by mohla v budoucnu sloužit jako citlivý tumorový marker[100].

6-Formylpterin a *6-hydroxymethylpterin* jsou ve větším množství tvořeny v nádorových buňkách jako degradační produkt kyseliny listové[101-104].

Methanopterin. Podobnou funkci jako kyselina listová v metabolismu jednouhlíkatých zbytků má u meťhanogenních bakterií methanopterin[105].

6. Metody stanovení

Kromě výzkumu je stanovení některých pterinů vyžadováno v klinické praxi na odhalení metabolické poruchy nebo předvídání a sledování vývoje patologického procesu resp. jeho léčby. Nejčastěji se pteriny stanovují v moči, plazmě, séru a mozkomíšním moku, kde je jejich koncentrace řádově 10^{-9}–10^{-6} mol.dm^{-3}. Není však doposud řádně prozkoumáno, jaká je stabilita pterinů v těchto vzorcích, poněvadž řada studií týkající se stability byla prováděna pouze v modelových vzorcích. Kritickým místem je zpracování vzorků před vlastní analýzou[106]. Převládajíchromatografické metody stanovení, které jsou v korelačních studiích postupně nahrazovány imunoanalýzami.

HPLC metody. Pteriny lze stanovit přímo pomocí reverzně-fázové[25,107-117], iontově-párové[118-124], iontoměničové[125-127] a chirální[128,129] vysokoúčinné kapalinové chromatografie s následnou fluorescenční a/nebo elektrochemickou detekcí. Chromatografie na reverzní fázi je vhodná na stanovení oxidovaných pterinů. Na separaci pterinů v různém oxidačním stavu, nebo různých tetrahydropterinů, nebo na separaci mono-, di- a trifosfátů pterinů je výhodné použít iontově-párovou nebo iontoměničovou chromatografii. Biologický vzorek se většinou aplikuje přímo, pouze při obsahu proteinů je nutné provést deproteinaci[111,113,118,130,131]. Předseparací vzorku[25-103-132,133] nebo gradientovou elucí s přepínáním kolon[130] lze zabránit kontaminaci analytické kolony a ztrátě citlivosti. Jako interní standard se používá 6-methylpterin[126] nebo 6,7-dimethylpterin[103,109].

Díky silné fluorescenci oxidovaných forem pterinů je možná jejich poměrně specifická a citlivá detekce bez předchozího zakoncentrování[109,111]. Redukované formy je nutno před vlastní analýzou oxidovat chemicky[19,25,111,123,134,135] nebo elektrochemicky[111,120]. Všechny oxidační formy biopterinu lze stanovit fluorimetricky, jestliže se oxidace provádí jodem v prostředí o různém pH (cit.[25]).

Endogenní oxidované a redukované pteriny v biologickém materiálu je možné přímo stanovit elektrochemickou detekcí. Byly použity amperometrické elektrody[136,137] a coulometrické elektrody z porézního grafitu v sériovém zapojení před fluorescenčním detektorem[111,118,120]. Modifikovanou metodou lze detegovat rovněž chinoidní formu dihydrobiopterinu[138].

Bioanalýza. Celkový biopterin lze stanovit nepřímo pomocí citlivé bioanalýzy s použitím *Crithidia fasciculata*[139-142]. Metoda není specifická, poněvadž jako růstový faktor *Crithidia f.* mohou sloužit i jiné pteriny[140]. Vzorky musí být před sterilizací oxidovány, poněvadž během autoklávování a vlastní několikadenní inkubace dochází ke ztrátě labilních redukovaných forem biopterinu[143].

Fluorimetrie. Celkový obsah pterinů je možné po oxidaci redukovaných forem jodem stanovit fluorimetricky[144]. Fluorimetrické metody bylo též použito na stanovení xanthopterinu v krvi[97].

Další metody. Redukované formy biopterinu lze stanovit za pomoci enzymů fenylalanin-4-monooxygenasy a/nebo dihydropterinreduktasy[145-147]. Detekce hmotnostní spektrometrií byla využita při stanovení pterinů plynovou[148-151] a kapalinovou chromatografií[20]. Ke stanovení neopterinu nebo biopterinu imunoanalýzou jsou již dostupné komerční sety. Původně vyvinutá radioimunoanalýza[152,153] je v dnešní době nahrazována metodou ELISA[154-156].

7. Závěr

Uvedený přehled ukazuje, že pteriny představují širokou skupinu látek s rozličným biologickým účinkem. Zatímco úloha tetrahydrobiopterinu v metabolismu je již

poměrně podrobně popsána, funkce ostatních pterinů zůstává předmětem dalšího výzkumu. Lze očekávat, že objasnění jejich role v živých organismech přispěje k dalšímu rozšíření poznatků o procesech probíhajících na molekulární úrovni a následně k pokroku v léčbě a diagnostice některých chorob.

LITERATURA

1. Hopkins F. G.: Nature *40*, 335 (1889).
2. Schöpf C., Becker E.: Justus Liebigs Ann. Chem. *524,* 49(1936).
3. Purrmann R.: Justus Liebigs Ann. Chem. *546,* 98 (1940).
4. Purrmann R.: Justus Liebigs Ann. Chem. *548,* 284 (1941).
5. Blakley R. L., v knize: *The Biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines* (Pfeiderer W., Taylor E. C, ed.), str. 8. North-Holland Publ., Amsterdam 1969.
6. Forrest H., Van Baalen C: Annu. Rev. Microbiol *24,* 91 (1970).
7. Koschara W.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. *240,* 127(1936).
8. Paterson E. L., Saltza M. H., Stokstad E. L. R.: J. Am. Chem. Soc. *78,* 5871 (1956).
9. Sakurai A., Goto M.: J. Biochem. *61,* 142 (1967).
10. Broquist H. P., Albrecht A. M.: Proc. Soc. Biol. Med. *89,* 178(1955).
11. Kaufman S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *50,* 1085 (1963).
12. Tayeh M. A., Marletta M. A.: J. Biol. Chem. *264,* 19654(1989).
13. Kwon N. S., Nathan C. F., Stuehr D. J.: J. Biol. Chem. 264,20496(1989).
14. Wachter H., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Weiss G., Werner G., Werner-Felmayer G.: *Neopterin. Biochemistry-Methods-Clinical Application,* str. 55. Walter de Gruyter & Co., Berlin 1991.
15. Miiller M. M., Curtius H. C, Herold M., Huber C. H.: Clin. Chim. Acta 207, 1 (1996).
16. Rajagopalan K. V., Johnson J. L.: J. Biol. Chem. *267,* 10199(1992).
17. White R. H.: Biochemistry *35,* 3447 (1996).
18. Fukushima T., Shiota T.: J. Biol. Chem. *247,* 4549 (1972).
19. Katoh S., Sueoka T., Matsuura S., Sugimoto T.: Life Sci. *45,* 2561 (1989).
20. Davis M. D., Kaufman S., Milstien S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *88,* 385 (1991).
21. Johnson J. L., Hainline B. E., Rajagopalan K. V., Arison B. H.: J. Biol. Chem. *259,* 5414 (1984).
22. Armarego W. L. F., Randles D., v knize: *Chemistry and Biology of Pteridines* (Blair J. A., ed.), str. 423. Walter de Gruyter, Berlin, New York 1983.
23. Howells D. W., Hyland K.: Clin. Chim. Acta *167,* 23 (1987).
24. Shen R.: Arch. Biochem. Biophys. *310,* 60 (1994).
25. Fukushima T., Kobayashi K., Eto I., Shiota T.: Anal. Biochem. *89,* 71 (1978).
26. Fukushima T., Nixon J. C: Anal. Biochem. *102,* 176 (1980).
27. Johnson J. L., Jones H. P., Rajagopalan K. V.: J. Biol. Chem. *252,* 4994(1977).
28. Brown G. M., Williamson J. M.: Adv. Enzymol. *53,* 345(1982).
29. Richter G., Ritz H., Katzenmeier G., Volk R., Kohnle A., Lottspeich F., Allendorf D., Bacher A.: J. Bacteriol. *175,* 4045 (1993).
30. Nichol C. A., Smith G. K. Duch D. S.: Annu. Rev. Biochem. *54,* 729(1985).
31. Park Y. S., Heizmann C. W., Wermuth B., Levine R. A., Steinerstauch P., Guzman J., Blau N.: Biochem. Biophys. Res. Commun. *175,* 738 (1991).
32. Werner E. R., Werner-Felmayer G., Wachter H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *203,* 1 (1993).
33. Schoedon G., Troppmair J., Fontana A., Huber C, Curtius C, Niederwieser A.: Eur. J. Biochem. *166,* 303(1987).
34. Werner E. R., Werner-Felmayer G., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Yim J. J., Pfeiderer W., Wachter H.: J. Biol. Chem. *265,* 3189 (1990).
35. Blau N., Schoedon G., Curtius H. C: Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 25, 603 (1989).
36. Andert S.E., Griesmacher A., Zuckermann A., Müller M.M.: Clin. Exp. Immunol. *88,* 555 (1992).
37. Werner-Felmayer G., Werner E. R., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Wachter H.: Cancer Res. 50, 2863 (1990).
38. Duch D. S., Bowers S. W., Woolf J. H., Nichol C. A.: Life Sci. *35,* 1895(1984).
39. Irby R. B., Adair W. L.: J. Biol. Chem. 269, 23981 (1994).
40. White R. H.: Biochemistry *29,* 5397 (1990).
41. Heine M. C, Brown G. M.: Biochim. Biophys. Acta 477,236(1975).

42. Ogiwara S., Nagatsu T., Teradaira R., Fujita K., Sugimoto T.: Biol. Chem. Hoppe-Seyler *373*, 1061 (1992).
43. Klein R., Tatischeff I., Tham G., Groliére C. A.: Biochimie *73,* 1281 (1991).
44. Werner E. R., Werner-Felmayer G., Wachter H., Mayer B.: Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. *127,* 97 (1995).
45. Shen R. S., Alam A., Zhang Y. X.: Biochem. Biophys. Acta *965,* 9(1988).
46. Harada T., Kagamiyama H., Hatakeyama K.: Science *206,* 1507(1993).
47. Blau N., Joller P., Atares M., Cardera-Garcia J., Niederwieser A.: Clin. Chim. Acta *148,* 47 (1985).
48. Schoedon G., Troppmair J., Adolf G., Huber C, Niederwieser A.: J. Interferon Res. *6,* 697 (1986).
49. Werner E. R., Werner-Felmayer G., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Wachter H.: Biochem. J. *262,* 861 (1989).
50. Werner E. R., Werner-Felmayer G., Wachter H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *203,* 1 (1993).
51. Viveros O.H., Lee C.L., Abou-Donia H.M., Nixon J.C., Nichol CA.: Science *213,* 349 (1981).
52. Parniak M. A., Pilkington J.: Biochem. Cell. Biol. *67,* 293(1989).
53. Scott-BurdenT.,ElizondoE.,GeT.,BoulangerC. M, Vanhoutte P. M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. *196,* 1261 (1993).
54. Schoedon G., Schneemann M., Blau N., Edgell C. J. S., Schaffner A.: Biochem. Biophys. Res. Commun. *196,* 1343 (1993).
55. Kaufman S.: Annu. Rev. Nutr. *13,* 261 (1993).
56. Shiman R., Akino M., Kaufman S.: J. Biol. Chem. *246,* 1330 (1971).
57. Friedman P. A., Kappelman A. H., Kaufman S.: J. Biol. Chem. *247,* 4165 (1972).
58. Tietz A., Lindberg M., Kennedy E. P.: J. Biol. Chem. 239,4081 (1964).
59. Almas B., Haavik J., Flatmark T.: Biochem. J. *319,* 947 (1996).
60. Mayer B., John M., Böhme E.: FEBS Lett. *277,* 215 (1990).
61. Mayer B., John M., Heinzel B., Werner E. R., Wachter H., SchultzG., Böhme E.: FEBS Lett. *288,* 187(1991).
62. Marletta M. A.: J. Med. Chem. *37,* 1899 (1994).
63. Giovanelli J., Campos K. L., Kaufman S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *88,* 7091 (1991).
64. Baek K. J., Thiel B. A., Lucas S., Stuehr D. J.: J. Biol. Chem. *268,* 21120 (1993).
65. Rodriquez-Crespo I., Gerber N. C, Ortiz de Montellano P.R.: J. Biol. Chem. *271,* 11462 (1996).
66. Mayer B., Heinzel B., Klatt P., John M, Schmidt K., Böhme E.: J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, S54 (1992).
67. Mayer B., Werner E. R.: Adv. Pharmacol. *34,* 251 (1995).
68. Witteveen C. F., Giovanelli J., Kaufman S.: J. Biol. Chem. *271,* 4143 (1996).
69. Mayer B., Klatt P., Werner E. R., Schmidt K.: J. Biol. Chem. *270,* 655(1995).
70. Stuehr D. J.: Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. *37,* 339 (1997).
71. Bune A. J., Brand M. P., Heales S. J., Shegill J. K., Cammack R., Cook H. T.: Biochem. Biophys. Res. Commun. *220,* 13(1996).
72. Ziegler I., Schwulera U.: J. Cell. Biochem. *41,* 103 (1989).
73. Ziegler I., Borchert M., Heaney F., Davis A.P., Boyle H.: Biochim. Biophys. Acta 7735, 330 (1992).
74. Tanaka K., Kaufman S., Milstien S.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *86,* 5864(1989).
75. Rubenstein M., Muchnik S., Garber S.L., Arruda J.A., Dunea G.: Int. J. Biochem. *25,* 1873 (1993).
76. Wood J. M., Schallreuter-Wood K. U., Lindsey N. J., Callaghan S., Gardner M. L. G.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 206, 480 (1995).
77. Wachter H., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Werner E.R.: Adv. Clin. Chem. *27,* 81 (1989).
78. Wöll E., Weiss G., Fuchs D., Lang F., Wachter H.: FEBS Lett. *318,* 249(1993).
79. Úberall F,, Werner-Felmayer G., Schubert C, Grunicke H. H., Wachter H., Fuchs D.: FEBS Lett. *352,* 11 (1994).
80. Weiss G., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Werner E. R., Werner-Felmayer G., Semenitz E., Dierich M. P., Wachter H.: FEBS Lett. 327, 89 (1993).
81. Murr C, Fuchs D., Gössler W., Hausen A., Reibnegger G., Werner E. R., Werner-Felmayer G., Esterbauer H., Wachter H.: FEBS Lett. *338,* 223 (1994).
82. Baier-Bitterlich G., Fuchs D., Murr C., Reibnegger G., Werner-Felmayer G., Sgonc R., Böck G., Dierich M. P., Wachter H.: FEBS Lett. *364,* 234 (1995).
83. Mori H., Arai T., Mori K., Suzuki T., Makino K.: **Biochem.** Mol. Biol. Int. *40,* 799 (1996).
84. Baier-Bitterlich G., Fuchs D., Zangerle R., Baeuerle P. A., Werner E. R., Fresser F., Überall F., Baier G., Wachter H.: AIDS Res. Human Retrovir. 73, 173 (1997).

85. Schobersberger W., Hoffmann G., Hobischhagen P., Bock G., Volkl H., Baier-Bitterlich G., Wirleitner B., Wachter H., Fuchs D.: FEBS Lett. *397,* 263 (1996).
86. Baier-Bitterlich G., Fuchs D., Wachter H.: Biochem. Pharmacol. *53,* 755 (1997).
87. Schobersberger W., Hoffmann G., Grote J., Wachter H., Fuchs D.: FEBS Lett. *377,* 461 (1995).
88. Gardlik S., Rajagopalan K. V.: J. Biol. Chem *266,* 16627(1991).
89. Johnson J. L., Chaudhury M., Rajagopalan K. V.: Biofactors *3,* 103(1991).
90. Johnson J. L., Rajagopalan K. V., Mukund S., Adams M. W.: J. Biol. Chem. *268,* 4848 (1993).
91. Pitterle D. M., Rajagopalan K. V.: J. Biol. Chem. *268,* 13499(1993).
92. Gladyshev V. N., Lecchi P.: Biofactors *5,* 93 (1995–96).
93. Rajagopalan K. V.: Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. *64,* 215(1991).
94. Roesel R. A., Bowyer F., Blankenship P. R., Hommes F. A.: J. Inherit. Metab. Dis. *9,* 343 (1986).
95. Mize C, Johnson J. L., Rajagopalan K. V.: J. Inherit. Metab. Dis. *18,* 283 (1995).
96. Ziegler I.: Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. *365,* 667 (1984).
97. Bakir A.A., Shaykh M., Williams R.H., Ahmed S., Dunea G.: Amer. J. Nephrol. *12,* 224 (1992).
98. Garber S. L., Salmassi J., Arruda J. A., Dunea G.: Nephron *69,* 71 (1995).
99. Sugimoto T., Ogiwara S., Teradaira R., Fujita K., Nagatsu T.: Biogenic Amines *9,11* (1992).
100. Tomandl J.: Vnitř. Lék. *43,* 404 (1997).
101. Halpern R.M., Halpern B.C., Stea B., Dunlap A., Conklin K., Clark B., Ashe H., Sperling L., Halpern J. A., Hardy D., Smith R. A.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74,587(1977).
102. Stea B., Backlund P. S., Berkey P. B., Cho A. K.,Halpern B. C, Halpern R. M., Smith R. A.: Cancer Res. *38,* 2378(1978).
103. Stea B., Halpern R. M., Halpern B. C, Smith R. A.: Clin. Chim. Acta *113,* 231 (1981).
104. Manjula S., Aroor A. R., Raja A., Rao S., Rao A.: Acta Oncol. *32,* 29(1993).
105. Jones W. J., Nagle D. P., Jr., Whitman W. B.: Microbiol.Rev. 57, 135(1987).
106. Hyland K., Howells D. W.: J. Chromatogr. *429,* 95 (1988).
107. Rokos H., Rokos K., Frisius H., Kirstaedter H. J.: Clin. Chim. Acta 705, 275(1980).
108. Hausen A., Fuchs D., König K., Wachter H.: J. Chromatogr. *227,* 61 (1982).
109. Woolf F. H., Nichol C. A., Duch D. S.: J. Chromatogr. *274,* 398 (1983).
110. Matsubara Y., Heininger J. A., Lin Y. Y.: Clin. Chem. *30,* 278 (1984).
111. Niederwieser A., Staudenmann W., Wetzel E.: J. Chromatogr. *290,* 237 (1984).
112. Howells D. W., Smith I., Hyland J.: J. Chromatogr. *381,* 285 (1986).
113. Tani Y., Ishihara T.: Life Sci *46,* 373 (1990).
114. Rippin J. J.: Clin. Chem. *38,* 1722 (1992).
115. Ogiwara S., Hidaka H., Sugimoto T., Teradaira R., Fujita K., Nagatsu T.: J. Biochem. *113,* 1 (1993).
116. Hibiya M., Teradaira R., Sugimoto T., Fujita K., Nagatsu T.: J. Chromatogr. B *672,* 143 (1995).
117. Tomandl J., Palyza V.: Chem. Listy *90,* 731 (1996).
118. Blau N., Niederwieser A.: Anal. Biochem. *128,* 446 (1983).
119. Lunte C. E., Kissinger P. T.: Anal. Chem. *55,* 1458 (1983).
120. Hyland K.: J. Chromatogr. *343,* 35 (1985).
121. Powers A. G., Young J. H., Clayton B. E.: J. Chromatogr. *432,* 321 (1988).
122. Montalvo B. C, Villar C. I., Hornillos R. C, Diez L. P.: J. Chromatogr. *458,* 217 (1988).
123. Tani Y., Ohno T.: J. Chromatogr. 677, 249 (1993).
124. Huber J. F. K., Lamprecht G.: J. Chromatogr. B *666,* 223(1995).
125. Stea B., Halpern R. M., Smith R. A.: J. Chromatogr. *168,* 385 (1979).
126. Dhondt J. L., Largilliere C, Ardouin P., Farriaux J. P., Dautrevaux M.: Clin. Chim. Acta 770, 205 (1981).
127. Stea B., Halpern R. M., Halpern B. C, Smith R. A.: J. Chromatogr. *188,* 363 (1983).
128. Ziegler T. R., Benfell K., Smith R. J., Young L. S., Brown E., Ferrari-Baliviera E., Lowe D.K., Wilmore D. W.: J. Parenteral and Enteral Nutrition 74, 137s (1990).
129. Klein R.: Anal. Biochem.: *203,* 134 (1992).
130. Werner E. R., Fuchs D., Hausen A., Reibnegger G., Wachter H.: Clin. Chem. *33,* 2028 (1987).
131. Candito M., Cavenel C, Gugenheim J., Mouiel J., Parisot F., Jacomet Y., Sudaka P., Chambon P.: J. Chromatogr. *614,* 164 (1993).
132. Ferre J., Jacobson K. B.: J. Chromatogr. *350,* 389(1985).
133. Slazyk W. E., Spierto F. W.: Clin. Chem. *36,* 1364 (1990).

134. Niederwieser A., Staudenmann W., Wetzel E., v knize: *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines* (Wachter H., Curtius H. C, Pfeiderer W., ed.), sv. 1, str. 81. Walter de Gruyter, Berlin 1982.
135. Haavik J., Flatmark T.: J. Chromatogr. *257,* 361 (1983).
136. Lunte C. L., Kissinger P. T.: Anal. Biochem. *129,* 377 (1983).
137. Lunte C. L., Kissinger P. T.: Methods Enzymol. *122,* 300 (1986).
138. Heales S., Hyland K.: J. Chromatogr. *494,* 77(1989).
139. Dewey V. C, Kidder G. W.: Methods Enzymol. *18B,* 618(1971).
140. Leeming R. J., Blair J. A.: Biochem. Med. *11,* 122 (1974).
141. Baker H., Frank O., Shapiro A., Hutner S. H.: Methods Enzymol. 66,490 (1980).
142. Leeming R. J., Hall S. K., Friday H., Hurley P., Green A.: Adv. Exp. Med. Biol. *338,* 267 (1993).
143. Milstien S., Kaufman S., v knize: *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines* (Curtius H. C, Pfeiderer W., Wachter H., ed.), sv. 2, str 65. Walter de Gruyter, Berlin, New York 1983
144. Trehan S., Noronha J. M.: J. Clin. Biochem. Nutr. *14,* 195(1992).
145. Kaufman S.: J. Biol. Chem. *230,* 931 (1958).
146. Guroff G.: Methods Enzymol. *18,* 600 (1971).
147. Craine J. E., Hall E. S., Kaufman S.: J. Biol. Chem. 247,6082(1972).
148. Lloyd T., Markey S., Weiner N.: Anal. Biochem. *42* 108(1971).
149. Rothler F., Karobath M.: Clin. Chim. Acta *69,* 457 (1976).
150. Kuster T., Matasovic A., Niederwieser A.: J. Chromatogr. *290,* 303 (1984).
151. Curtius H. C, Kuster T., Matasovic A., Blau N., Dhondt J. L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. *153,* 715(1988).
152. Nagatsu T., Sawada M., Yamaguchi T., Sugimoto T., Matsuura S., Akino M., Nakazawa N., Ogawa H.: Anal. Biochem. *141,* 472 (1984).
153. Hey H., Rokos H.: Bio. Chem. Hoppe-Seyler *370,* 385 (1989).
154. Barak M., Merzbach D., Gruener N.: Clin. Chem. 55, 1467(1989).
155. Ogiwara S., Kiuchi K., Nagatsu T., Teradaira R., Nagatsu I., Fujita K., Sugimoto T.: Clin. Chem. *38,* 1954(1992).
156. Mayersbach P., Augustin R., Schennach H., Schonitzer D., Werner E. R., Wachter H., Reibnegger G.: Clin. Chem. *40,* 265 (1994).

J. Tomandl *(Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno):* **Pterins**

The review summarizes the recent knowledge on the group of biologically active compounds called pterins. Biosynthesis of all known pterins starts from quanosine triphosphate and it is in vivo stimulated by cytokines, mainly by interferon gamma. Pterins can exist in three oxidation states, the reduced forms of which are relatively unstable. More details on the biological f unction are known only for some pterins. Tetrahydrobiopterin is an essential cofactor of aromatic amino acid monooxygenases and its role in the synthesis of nitric oxide has been recently studied. Neopterin is a sensitive marker of activated cell-mediated immunity and may be involved in processes mediated by oxygen radical. Molybdopterin is a component of molybdenum cofactors that participate in redox reactions. Oncopterin was found in urine of patients with malignant lymphoma and is expected to be a promising biochemical marker of some cancers. The HPLC with fluorescence or electrochemical detection are the predominating analytical methods for the determination of pterins.