

α - und β -Thymidinthioäther des Imidazolthions-(2)

VON HANS GUGLIELMI UND BERND ATHEN

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen*

(Direktor Prof. Dr. Dr. G. Weitzel)

(Der Schriftleitung zugegangen am 17. April 1969)

Zusammenfassung: Die Synthese der α - und β -2-Desoxy-ribofuranoside des cytostatisch wirksamen 2-[2.4-Dihydroxy-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazols wird beschrieben. Kondensation des Quecksilbersalzes von 5-Benzylloxymethyl-uracil mit 3.5-Bis-[*p*-chlor-benzoyl]-2-desoxy-ribofuranosylchlorid ergab das α - und β -Isomere des 1-[3.5-Bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy-ribofuranosyl]-5-benzylloxymethyl-uracils. Durch Umsetzung mit Salzsäure/Dioxan, Imidazolthion-(2) und Abspaltung der Schutzgruppen erhielt man das α - und β -Iso-

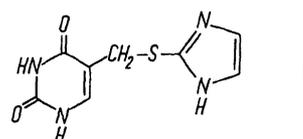
Summary: α - and β -Thymidinethioethers of 2-imidazolethione. The synthesis of α - and β -2-deoxy-ribofuranosides of the cytostatically active 2-[2,4-dihydroxypyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazole is described. Condensation of the mercury salt of 5-benzylloxymethyluracil with 3,5-bis(*p*-chlorobenzoyl)-2-deoxyribofuranosylchloride produced α - and β -1-[3,5-bis(*p*-chlorobenzoyl)-2-deoxyribofuranosyl]-5-benzylloxymethyl-uracil. Treatment with hydrochloric acid/dioxane, 2-imidazolethione and dea-

mere von 2-[2.4-Dihydroxy-1-(2-desoxy-ribofuranosyl)-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (α - und β -Thymidinthioäther des Imidazolthions-(2)). Das β -Nucleosid hemmt spezifisch den *in-vitro*-Einbau von [14 C]Uridin in EHRlich-Asciteszellen. Es wird durch Nucleosidphosphorylasen aus EHRlich-Asciteszellen und aus Rattenleber gespalten. Eine enzymatische Synthese aus der entsprechenden Base und 2-Desoxy-ribose-1-phosphat findet jedoch nicht statt.

ylation afforded the α - and β -anomers of 2-[2,4-dihydroxy-1-(2-deoxy-ribofuranosyl)-5-pyrimidinyl-methylmercapto]-imidazole (α - and β -thymidinethioethers of 2-imidazolethione). The β -nucleoside inhibits the *in-vitro* incorporation of [14 C]-uridine into EHRlich ascites carcinoma cells. The β -nucleoside is cleaved by nucleoside phosphorylases from EHRlich ascites cells and rat liver, however, an enzymatic synthesis from the corresponding base and deoxyribose-1-phosphate failed.

Unsere Untersuchungen¹⁻³ über die cytostatische Wirkung von Imidazolthion-(2) und dessen Derivaten führten u. a. zum 2-[2.4-Dihydroxy-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (I), das eine vollständige Wachstumshemmung des EHRlichen Ascitescarcinoms bewirkt.

Da es sich hier um ein in Position 5 substituiertes Uracil- oder Thyminderivat handelt, ist es möglich, daß diese Substanz *in vivo* in das entsprechende Uridin- oder Thymidinanaloge umgewandelt wird



und als modifiziertes Nucleosid oder Nucleotid seine cytostatische Wirkung entfaltet. Zu dieser Auffassung gelangten wir durch unsere Befunde, wonach eine nur geringfügige Abwandlung der Uracil- bzw. Thyminstruktur des Grundkörpers I

* Postanschrift: Dr. H. GUGLIELMI, D-74 Tübingen, Hoppe-Seyler-Straße 1.

Enzyme:

Uridin-Phosphorylase = Uridin: Orthophosphat-Ribosyltransferase (EC 2.4.2.3)

Thymidin-Phosphorylase = Thymidin: Orthophosphat-Ribosyltransferase (EC 2.4.2.4)

¹ G. WEITZEL, F. SCHNEIDER, H. GUGLIELMI, J. SANDER, J. DURST u. W.-D. HIRSCHMANN, diese Z. 346, 208 [1966].

² G. WEITZEL, F. SCHNEIDER, H. GUGLIELMI, F. SEIF, W.-D. HIRSCHMANN u. J. DURST, diese Z. 348, 1277 [1967].

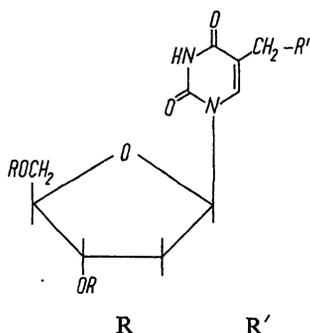
³ H. GUGLIELMI, diese Z. 349, 1733 [1968].

in den Positionen 1, 2, 3 und 4 zu unwirksamen Produkten führt¹. Wir konnten inzwischen nachweisen⁵, daß das 2-[2.4-Dihydroxy-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (I) durch Asciteszellen nicht in das β -D-Ribofuranosid (Uridinderivat) umgewandelt wird. Um eine Entstehung des 2-Desoxy-ribofuranosids des 2-[2.4-Dihydroxy-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazols (Thymidinderivat) zu untersuchen, synthetisierten wir die α - und β -Isomeren des 2-[2.4-Dihydroxy-1-(2-desoxy-ribofuranosyl)-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazols und prüften ihr Verhalten gegenüber EHRLICH-Asciteszellen.

Ergebnisse

a) Synthesen

Als Ausgangsmaterial zur Synthese der 2-Desoxy-ribofuranoside der Base I benutzten wir das 5-Benzyloxymethyl-uracil, dessen Quecksilbersalz sich zur Nucleosidsynthese eignet⁶. In Abänderung dieser von BROSSMER et al. beschriebenen Synthese verwendeten wir als geschützte Vorstufe der 2-Desoxy-ribose das 3.5-Bis-[*p*-chlorbenzoyl]-2-desoxy-ribofuranosylchlorid⁷. Die Verwendung von *p*-Chlor-benzoesäure als Schutzgruppe dieser Vorstufe brachte ein unerwartetes Ergebnis: Das β -Isomere des 1-[3.5-Bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy-ribofuranosyl]-5-benzyloxymethyl-uracils (II β) zeichnet sich durch eine besonders große Kristallisationstendenz aus. Es kristallisiert während der Reaktion nahezu quantitativ aus dem Reaktionsgemisch chromatographisch rein aus. Arbeitet man das aus mehreren



	R	R'
II α u. β :	<i>p</i> -Chlor-benzoyl	Benzyloxy
III α u. β :	<i>p</i> -Chlor-benzoyl	Imidazolyl-(2)-mercapto
IV α u. β :	H	Imidazolyl-(2)-mercapto

⁴ H. GUGLIELMI, unveröffentlicht.

⁵ H. GUGLIELMI u. B. ATHEN, diese Z. **350**, 710 [1969].

⁶ R. BROSSMER u. E. RÖHM, diese Z. **348**, 1431 [1967].

⁷ J. J. FOX, N. C. YUNG, I. WEMPEN, M. HOFFER, J. Amer. chem. Soc **83**, 4068 [1961].

Komponenten bestehende Reaktionsgemisch nach herkömmlichen Methoden auf, so kristallisiert das β -Isomere sofort aus Essigsäure-äthylester aus. Zur chromatographischen Abtrennung des α -Isomeren (II α) aus dem Rest des Reaktionsgemisches verwendeten wir Aluminiumoxydsäulen (s. Abb. 1). II α kristallisiert aus Benzol/Petroläther chromatographisch rein aus. II α und II β wurden nach bereits beschriebenen Methoden⁵ über die 1-[3.5-Bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy- α , β -D-ribofuranosyl]-5-chlormethyl-uracile, die wir nicht isolierten, mit Imidazolthion-(2) zu den α - und β -Isomeren von 2-{2.4-Dihydroxy-1-[3.5-bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy-ribofuranosyl]-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto}-imidazol (III α und β) umgesetzt. Das β -Isomere konnte kristallin erhalten werden. Nach Abspaltung der Schutzgruppen mit äthanol. Natronlauge erhält man die 2-[2.4-Dihydroxy-1- α , β -(2-desoxy-ribofuranosyl)-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazole (IV α und β), die durch Säulenchromatographie an Amberlite IRC 50 gereinigt wurden. Das β -Isomere kristallisiert aus Äthanol. Das α -Isomere wurde durch Fällung mit Äther aus Methanol als Acetat erhalten.

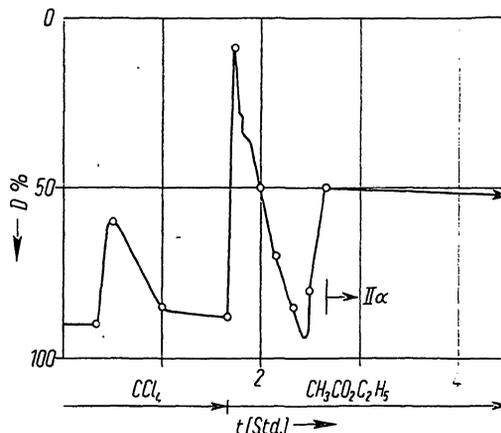


Abb. 1. Abtrennung von Verbindung II α durch Chromatographie auf Aluminiumoxydsäulen. (2 \times 25 cm, Aluminiumoxyd neutral, Woelm) D = Durchlässigkeit in %. Durchflußgeschw.: 380–400 ml/Std.

b) In-vitro-Veränderung der DNA-, RNA- und Proteinbiosynthese von EHRLICH-Asciteszellen und cytostatische Wirkung (Versuchstechnik s. 1.c.⁸)

Ermittelt man die Einbauraten von [¹⁴C]Uridin, [¹⁴C]Leucin und [¹⁴C]Thymidin in Asciteszellen

⁸ G. WEITZEL, F. SCHNEIDER, A.-M. FRETZDORFF, J. DURST u. W.-D. HIRSCHMANN, diese Z. **348**, 433 [1966].

unter dem Einfluß von $IV\beta$ bei einer Dosierung von $10^{-3}M$, so findet man eine starke Hemmung des Uridineinbaues, die bereits nach 30 Min. sichtbar ist. Nach 120 Min. beträgt der Uridineinbau nur noch 30% der Kontrolle. Der Einbau von Leucin und Thymidin wird dagegen nur gering beeinflusst. Das α -Nucleosid zeigt demgegenüber bei der gleichen Dosierung nur eine geringe, unspezifische Wirkung.

Im Ganztierversuch ergab $IV\beta$ bei einer Dosierung von 10 mg pro Maus und Tag ebenfalls wie das α -Isomere ($IV\alpha$) bei einer Dosierung von 5 mg pro Maus und Tag keinerlei Hemmung des EHRlich-schen Ascitescarcinoms. Toxische Erscheinungen konnten nicht beobachtet werden (Versuchstechnik s. 1.c.¹).

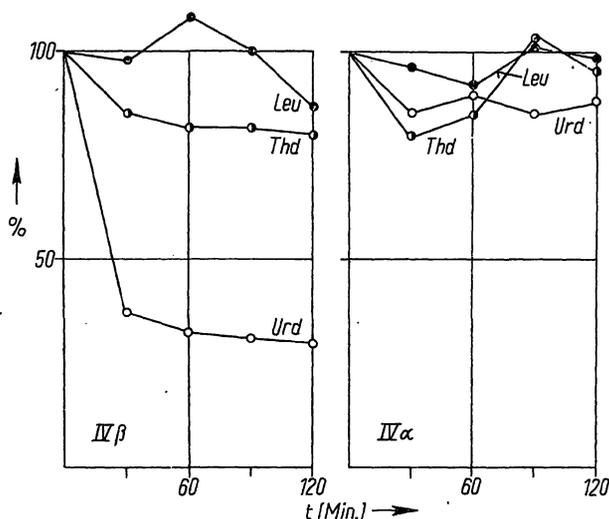


Abb. 2. Einbau von [^{14}C]Leucin (Leu), [^{14}C]Thymidin (Thd) und [^{14}C]Uridin (Urd) in Asciteszellensuspensionen unter dem Einfluß der Verbindungen $IV\alpha$ und $IV\beta$, je $10^{-3}M$. Angaben in % der Kontrolle. Versuchstechnik siehe 1.c.⁸.

c) Spaltung und Synthese von $IV\beta$ durch Nucleosid-Phosphorylasen

Um eine Umwandlung des 2-[2.4-Dihydroxypyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazols (I) in das Thymidinderivat $IV\beta$ sowie dessen Spaltung durch Nucleosid-Phosphorylasen zu untersuchen, verwendeten wir Rohextrakte aus EHRlich-Asciteszellen und Leberhomogenate von Ratten. Wie aus Abb. 3 ersichtlich ist, wird das Thymidinderivat $IV\beta$ durch Nucleosid-Phosphorylasen gespalten. In Extrakten aus EHRlich-Asciteszellen (Abb. 3a) fanden wir eine Aktivität der Nucleosid-Phosphory-

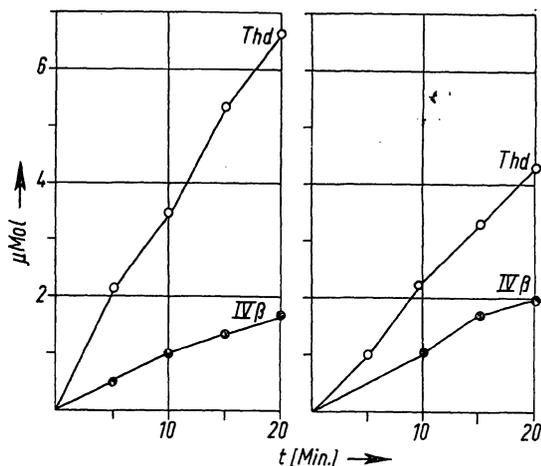


Abb. 3. Spaltung von $IV\beta$ durch Nucleosid-Phosphorylasen. Thymidin diente als Kontrolle. a) Spaltung durch Enzymextrakte aus EHRlich-Asciteszellen, b) Spaltung durch Enzymextrakte aus Rattenleber. Bestimmt wurde die entstandene 2-Desoxy-D-ribose (Ordinate: μ Mol 2-Desoxy-D-ribose).

lasen gegenüber $IV\beta$ von ca. 25%, in Extrakten aus Rattenleber (Abb. 3b) eine Aktivität von ca. 50%, bezogen auf die Aktivität gegenüber Thymidin (= 100%). Das α -Nucleosid $IV\alpha$ wurde nicht gespalten und zeigte die Reinheit der Vorstufe $II\alpha$ an. Eine enzymatische Synthese des Thymidinderivates aus Verbindung I und 2-Desoxy-D-ribose-1-phosphat wurde in Extrakten aus EHRlich-Asciteszellen nicht gefunden.

Diskussion

Nach unserer bisherigen Vermutung könnte das 2-[2.4-Dihydroxypyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol in vivo zu einem Thymidinderivat umgewandelt werden und als Nucleosid seine cytostatische Wirkung entfalten. Da wir eine Synthese von $IV\beta$ aus der Base I und 2-Desoxyribose-1-phosphat durch Nucleosid-Phosphorylasen nicht feststellen konnten, scheidet diese Erklärung der cytostatischen Wirkung der Base I aus. Auf Grund unserer Ergebnisse wird jedoch $IV\beta$ in vitro durch Nucleosid-Phosphorylasen aus EHRlich-Asciteszellen und aus Rattenleber gespalten. Die verstärkte Spaltung durch Extrakte aus Rattenleber deutet darauf hin, daß nicht nur Uridin-Phosphorylasen^{9,10}, sondern

⁹ H. PONTIS, G. DEGERSTEDT u. P. REICHARD, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 51, 138 [1961].

¹⁰ TH. A. KRENITSKY, M. BARCLAY and J. A. JACQUEZ, J. biol. Chemistry. 239, 805 [1964].

auch Thymidin-Phosphorylasen¹¹ diese Wirkung herbeiführen. Durch den Angriff der Nucleosid-Phosphorylasen müßte jedoch die Base I entstehen. Dementsprechend sollte eine cytostatische Wirkung auftreten und der [¹⁴C]Thymidineinbau in EHRlich-Asciteszellen eine deutliche Senkung erfahren. Bei unseren In-vivo-Versuchen mit Verbindung IV β fanden wir jedoch keine cytostatische Wirkung. Der [¹⁴C]Thymidineinbau in Asciteszellen wird ebenfalls nicht gehemmt. Diese unterschiedlichen Befunde erklären wir dadurch, daß IV β durch Nucleosid-Phosphorylasen in vivo nur geringfügig gespalten wird, oder daß es die Zellmembran nicht durchdringen kann.

IV β hemmt den Einbau von [¹⁴C]Uridin in EHRlich-Asciteszellen bis auf 30% gegenüber der Kontrolle. Diese Erscheinung finden wir auch bei 2-[2.4-Dihydroxy-1- β -ribofuranosyl-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol⁵. Da IV α keine Wirkung zeigt, ist die Hemmung des Uridineinbaus von der β -Konfiguration der Nucleoside abhängig. Sie ist unabhängig von der Position 2 der Kohlenhydratkomponente. Als Erklärung dieser Hemmung nehmen wir an, daß der Durchtritt des Uridins durch die Zellmembran gestört wird¹².

Material und Methoden

METHODEN

1. Spaltung von IV β durch Nucleosid-Phosphorylasen aus EHRlich-Asciteszellen und Rattenleber

1 g Acetonpulver von EHRlich-Asciteszellen¹³ oder Rattenleber wurde in jeweils 10 ml Pufferlösung (pH 6,5, 0,02M Tris/Maleat, 0,01M Mercaptoäthanol) suspendiert und 15 Min. bei 10000 \times g zentrifugiert. Der Überstand diente als Enzymrohextrakt.

Reaktionsansatz: 3 ml 0,1M Natriumphosphatpuffer, pH 6,5; 20 μ Mol IV β oder Thymidin als Kontrolle; 2 ml des jeweiligen Enzymrohextraktes.

Nach 0, 5, 10, 15 und 20 Min. Inkubation bei 37°C wurde die Reaktion durch Überführung von 0,5 ml des Gesamtansatzes in 0,5 ml 0,5N NaOH gestoppt. Das freigesetzte 2-Desoxy-ribose-1-phosphat wurde nach l.c.¹⁴ bestimmt.

2. Die Untersuchung der Synthese von IV β aus 2-[2.4-Dihydroxy-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (I) durch Nucleosid-Phosphorylasen aus EHRlich-Ascites-

¹¹ E. W. YAMADA, J. biol. Chemistry **243**, 1649 [1968].

¹² J. A. JACQUEZ, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **61**, 265 [1962].

¹³ P. REICHARD u. O. SKÖLD, Methods in Enzymol. **4**, 190 [1963].

¹⁴ V. S. WARAVDEKAR u. L. D. SASLAW, J. biol. Chemistry **234**, 1945 [1959].

zellen wurde nach l.c.⁵ durchgeführt. Jeder Ansatz mit einem Endvolumen von 0,2 ml enthielt:

2 μ Mol I oder Thymin als Kontrolle; 2,34 μ Mol 2-Desoxy-ribose-1-phosphat; 0,15 ml 0,2M Tris/HCl-Puffer, pH 7,4; 0,05 ml Enzymrohextrakt.

SUBSTANZEN

Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die UV-Spektren wurden mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer der Fa. Zeiss aufgenommen. Die Bestimmung der spezif. Drehung erfolgte mit einem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter LEP A 2 der Fa. Zeiss.

Zur Verfolgung der Synthesen und zur Reinheitskontrolle der Substanzen wurden Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel-Alufolien angefertigt (DC-Karten SI-F der Fa. Riedel de Haen, Seelze-Hannover). Als Laufmittel diente Benzol/Methanol 10:1 oder Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1. Die Substanzen wurden durch ihre Fluoreszenzlösung bei 254 nm erkannt. Die Thioäther des Imidazolthions-(2) (II α und β , IV α und β) reagieren mit PAULY-Reagenz¹⁵ (diazotierte Sulfanilsäure) unter Bildung rotvioletter Farbstoffe. Zur Durchführung der säulenchromatographischen Trennungen wurde ein Fraktionssammler mit Photometer und Schreiber verwendet.

1-[3.5-Bis-(p-chlor-benzoyl)-2-desoxy- α,β -D-ribofuranosyl]-5-benzyloxymethyl-uracil (II α und II β)

8,6 g (0,02 Mol) 5-Benzyloxymethyl-uracil-quecksilbersalz⁶ werden zu 800 ml absol. Toluol gegeben und ca. 100 ml Toluol abdestilliert. Nach dem Erkalten gibt man 17,2 g (0,04 Mol) 3.5-Bis-[p-chlor-benzoyl]-2-desoxy-D-ribofuranosylchlorid⁷ hinzu und rührt 24 Std. (Das β -Nucleosid kristallisiert dabei aus und kann abgetrennt werden.) Die gesamte Suspension wird in ca. 1,5 l Petroläther (Sdp. 60–80°C) eingegossen. Der ausfallende Niederschlag wird nach ca. 5 Std. abfiltriert, mit Petroläther gewaschen und in ca. 300 ml Chloroform gelöst. Die Lösung wird zur Entfernung des Quecksilbers zweimal mit je 150 ml 20proz. Kaliumjodidlösung und zweimal mit ca. 100 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat engt man im Vak. vollständig ein und erhält einen farblosen, z. T. kristallinen Rückstand. Ausbeute: 8–10 g, 65–80% d. Th.

Der aus α - und β -Nucleosid sowie weiteren Substanzen bestehende Rückstand wird mit ca. 100 ml Essigsäureäthylester versetzt, das β -Nucleosid (II β) kristallisiert sofort aus. Ausbeute: 4–5 g, entspr. 32–40% d. Th.

Das Filtrat wird im Vak. vollständig eingeeengt, der Rückstand (5–6 g) in ca. 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und auf eine Aluminiumoxydsäule (2 \times 25 cm) gegeben. Man eluiert mit Tetrachlorkohlenstoff, anschließend mit Essigsäureäthylester. Die entsprechenden Eluate (s. Abb. 1) werden im Vak. vollständig ein-

¹⁵ H. PAULY, diese Z. **42**, 508 [1904].

geengt. Der Rückstand (α -Nucleosid) kristallisiert aus Benzol/Petroläther. Ausbeute: ca. 3 g (24% d. Th.)

β -Nucleosid (nach Umkrist. aus Essigsäure-äthylester): $C_{31}H_{26}N_2O_8Cl_2$ (625,44) Ber. N 4,48 Gef. N 4,53 Schmp. 169°C.

UV-Spektrum (10^{-4} ϵ) in Chloroform: $\lambda_{max} = 246,5$ nm (6,09), $\lambda = 282$ nm (1,11, Schulter), $\lambda = 270$ nm (2,31, Schulter).

$[\alpha]_{1578}^{20} - 49,5^0$, $[\alpha]_{1546}^{20} - 57^0$, $[\alpha]_{1436}^{20} - 102^0$, $[\alpha]_{1405}^{20} - 127^0$, $[\alpha]_{1365}^{20} - 181,5^0$, $c = 2$ in Chloroform.

α -Nucleosid (nach Umkrist. aus Benzol/Petroläther):

Schmp. 79–80°C.

Ber. N 4,48, Gef. N 4,48

UV-Spektrum (10^{-4} ϵ) in Chloroform: $\lambda_{max} = 245$ nm (5,91), $\lambda = 282$ nm (1,09, Schulter), $\lambda = 270$ nm (2,01, Schulter).

$[\alpha]_{1578}^{20} + 10,5^0$, $[\alpha]_{1546}^{20} + 10^0$, $[\alpha]_{1436}^{20} + 8,0^0$, $[\alpha]_{1405}^{20} + 2,5^0$, $[\alpha]_{1365}^{40} - 24^0$, $c = 2$ in Chloroform.

2-{2.4-Dihydroxy-1- β -D-[3.5-bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy-ribofuranosyl]-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto}-imidazol (III β)

2 g ($3,2 \cdot 10^{-3}$ Mol) II β werden in 100 ml absol. Dioxan gelöst, das 12% Salzsäure enthält. Nach ca. 24 Std. Aufbewahren bei Raumtemperatur engt man im Vak. vollständig ein. Der schwach gelb gefärbte, ölige Rückstand wird zweimal in ca. 50 ml absol. Dioxan aufgenommen und erneut im Vak. eingeeengt. Das entstandene 1-[3.5-Bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy- β -D-ribofuranosyl]-5-chlormethyl-uracil wird in 20 ml absol. Dioxan gelöst und mit einer Lösung von 320 mg ($3,2 \cdot 10^{-3}$ Mol) Imidazolthion-(2) in 20 ml Dioxan versetzt. Man erwärmt 30 Min. auf 90°C und entfernt das Dioxan im Vak. Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform aufgenommen und zweimal mit je 100 ml eiskalter 1proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat engt man im Vak. vollständig ein und nimmt den Rückstand in 20 ml Essigsäure-äthylester auf. Nach 1–2 Tagen tritt Kristallisation ein, man erhält eine farblose, voluminöse, krist. Masse. Umkristallisation aus Essigsäure-äthylester oder Chloroform. Ausbeute: 1,7 g (85% d. Th.).

Schmp. 107°C.

UV-Spektrum (10^{-4} ϵ) in Chloroform: $\lambda_{max} = 251$ nm (4,39), $\lambda = 282$ nm (1,77, Schulter), $\lambda = 270$ nm (2,68, Schulter).

$C_{27}H_{22}N_4O_7S$ (617,44) Ber. N 9,08 S 5,19

Gef. N 9,17 S 5,25

$[\alpha]_{1578}^{40} - 33^0$, $[\alpha]_{1546}^{40} - 35^0$, $[\alpha]_{1426}^{40} - 61^0$, $[\alpha]_{1405}^{40} - 75^0$, $[\alpha]_{1365}^{40} - 104^0$, $c = 1$ in Essigsäure-äthylester.

2-{2.4-Dihydroxy-1- α -D-[3.5-bis-(*p*-chlor-benzoyl)-2-desoxy-ribofuranosyl]-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto}-imidazol (III α)

Synthese und Aufarbeitung analog zu III β . Die Substanz konnte nur als amorphes, chromatographisch reines Pulver erhalten werden.

$C_{27}H_{22}N_4O_7S$ (617,44) Ber. N 908 Gef. N 8,88

UV-Spektrum (10^{-4} ϵ) in Chloroform: $\lambda_{max} = 248$ nm (5,43), $\lambda = 282$ nm (1,58, Schulter), $\lambda = 270$ nm (2,24, Schulter).

$[\alpha]_{1578}^{20} + 8,5^0$, $[\alpha]_{1546}^{20} + 7,0^0$, $[\alpha]_{1436}^{20} + 2,5^0$, $[\alpha]_{1405}^{20} - 5,0^0$, $[\alpha]_{1365}^{20} - 27,5^0$, $c = 2$ in Chloroform.

2-[2.4-Dihydroxy-1- β -D-(2-desoxy-ribofuranosyl)-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (IV β)

4,0 g ($6,5 \cdot 10^{-3}$ Mol) III β werden mit 100 ml Äthanol und 100 ml 2N NaOH versetzt und 30 Min. bis zur vollständigen Auflöser gerührt. Man engt im Vak. ein, nimmt den Rückstand in wenig Wasser auf und versetzt die Lösung mit 1N HCl bis pH 4,5. Nach Kühlung wird die ausgefallene *p*-Chlor-benzoesäure abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wird im Vak. vollständig eingeeengt. Der Rückstand wird mit wenig absol. Methanol versetzt und ausgeschiedene anorganische Salze abgetrennt. Das Filtrat wird erneut eingeeengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit 1N NaOH auf pH 8,5 gebracht und auf eine Ionenaustauschersäule gegeben (Amberlite IRC 50, H⁺-Form, 100 \times 4 cm). Nach vollständigem Auswaschen mit Wasser eluiert man mit 0,1N Essigsäure. Die Fraktionen werden im Vak. vollständig eingeeengt. Der Rückstand wird in ca. 20 ml absol. Methanol unter Rückfluß gelöst und langsam mit 1,5 l Äther versetzt. Der flockige Niederschlag wird nach 1–2 Tagen abgesaugt und mit Äther gewaschen. Umkristallisation aus wenig absol. Äthanol. Ausbeute: 2,1 g (80% d. Th.).

Schmp. 187°C.

UV-Spektrum (10^{-4} ϵ) in Phosphatpuffer, pH 7: $\lambda_{max} = 257,6$ nm (1,78), $\lambda_{min} = 239$ nm (1,61).

$C_{13}H_{16}N_4O_5S$ (340,34) Ber. N 16,46 S 9,42

Gef. N 16,24 S 9,53

$[\alpha]_{1578}^{22} - 87^0$, $[\alpha]_{1546}^{22} - 101^0$, $[\alpha]_{1436}^{22} - 197^0$, $[\alpha]_{1405}^{22} - 253^0$, $[\alpha]_{1365}^{22} - 379^0$, $c = 2$ in Methanol.

2-[2.4-Dihydroxy-1- α -D-(2-desoxy-ribofuranosyl)-pyrimidinyl-(5)-methylmercapto]-imidazol (IV α)

Synthese und Aufarbeitung analog zu IV β . Die Substanz fällt aus Methanol mit Äther als farbloser, flockiger Niederschlag aus, der ein einheitliches chromatographisches Verhalten zeigt. Zers. ab 90°C.

$C_{13}H_{16}N_4O_5S \cdot CH_3CO_2H$ (400,39) Ber. N 14,00 S 8,00
Gef. N 13,89 S 7,96

UV-Spektrum (10^{-4} e) in Phosphatpuffer, pH 7: λ_{max} ...
260 nm (1,71), λ_{min} ... 240 nm (1,53).

$[\alpha]_{578}^{22} = -5,5^0$, $[\alpha]_{546}^{22} = -9,0^0$, $[\alpha]_{536}^{22} = -28,5^0$, $[\alpha]_{465}^{22} = -47^0$,
 $[\alpha]_{366}^{22} = -42^0$, $c = 2$ in Wasser.

Die Herstellung der 2-Desoxy-ribose und die Synthesen anderer Vorstufen besorgten Frl. BIRGIT SCHMITZ und Frl. CHRISTINE KASTEN. Für die Ausführung der Analysen danken wir Frau Dr. A.-M. FRETZDORFF und Frau ERIKA STEIMLE. Herrn Prof. Dr. G. WEITZEL danken wir für sein stetes Interesse und für die Förderung dieser Untersuchungen.