

## WILHELM FRIEDRICH und KONRAD BERNHAUER

Zur Chemie und Biochemie der „Cobalamine“, VIII<sup>1)</sup>

## Über die 5- und 6-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analoga

Aus dem Biochemischen Forschungslaboratorium  
der Aschaffener Zellstoffwerke AG., Stockstadt a. M.

(Eingegangen am 2. Mai 1958)

*Propionibacterium shermanii* bildet in Gegenwart von Kobalt und 5(6)-Methyl-benzimidazol überwiegend das 5-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogon und daneben wenig von dem stellungsisomeren 6-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogon. Die Struktur der beiden „Cobalamine“ ergibt sich aus ihrem hydrolytischen Abbau zu den Nucleotiden und vor allem aus der Spaltung ihrer *N*-3-Methyl-derivate zu 1.5- bzw. 1.6-Dimethyl-benzimidazol.

Unter den natürlichen sowie biosynthetisch hergestellten „Benzimidazol-cobalaminen“ gibt es eine Anzahl solcher, deren Benzimidazolanteil unsymmetrisch ist. Als Schulbeispiel dieser Gruppe von „Cobalaminen“ kann der Faktor III<sup>2)</sup> gelten, der bisher am eingehendsten untersucht und als 5-Hydroxy-benzimidazol-cobalamin-Analogon erkannt worden ist<sup>3-7)</sup>.

Die Frage, in welcher Weise andere unsymmetrische Benzimidazole in den Nucleotidanteil von Cobalamin-Analoga eingebaut werden mögen, wurde bisher nicht untersucht. Aus theoretischen Überlegungen konnte allerdings erwartet werden, daß 5(6)-monosubstituierte Benzimidazol-derivate zur Bildung von zwei stellungsisomeren Cobalamin-Analoga Anlaß geben mögen<sup>8)</sup>.

Wir prüften diese Frage am Beispiel des 5(6)-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogons, das dem Vitamin B<sub>12</sub> am nächsten verwandt ist und daher am wichtigsten erschien. Dieses „Cobalamin“ wurde bereits in mehreren Laboratorien auf biosynthetischem Weg hergestellt<sup>9-12)</sup> und in krist. Form isoliert<sup>11,12)</sup>. Der Einbau der Base wurde durch Abbau erwiesen<sup>11,12)</sup>, die Stellung der Methylgruppe blieb aber offen.

Zur Klärung der aufgeworfenen Frage wurden die in einem größeren Gäransatz<sup>\*)</sup> mit *Propionibacterium shermanii* unter Zusatz von 5(6)-Methyl-benzimidazol entstan-

1) VII. Mittell.: W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Chem. Ber. 90, 1966 [1957].

2) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 65, 627 [1953].

3) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 67, 619 [1955].

4) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 68, 439 [1956].

5) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Chem. Ber. 89, 2030 [1956].

6) F. M. ROBINSON, I. M. MILLER, J. F. MCPHERSON und K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. 77, 5192 [1955].

7) C. H. SHUNK, F. M. ROBINSON, J. F. MCPHERSON, M. M. GASSER und K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. 78, 3228 [1956].

8) Vgl. hierzu auch A. W. JOHNSON und SIR A. TODD, Vitamins and Hormones 15, 26 [1957].

9) K. BERNHAUER und W. FRIEDRICH, Angew. Chem. 66, 776 [1954].

10) J. E. FORD, E. S. HOLDSWORTH und S. K. KON, Biochem. J. 58, Proc. XXIV [1954]; 59, 86 [1955].

11) H. W. DELLWEG, E. BECHER und K. BERNHAUER, Biochem. Z. 327, 422 [1956].

12) J. PAWELKIEWICZ, Acta biochim. polon. 1, 313 [1954].

\*) Hierüber soll demnächst in anderem Zusammenhang näher berichtet werden.

denen B<sub>12</sub>-Arten als Kieselgur-Präparat<sup>\*, 13)</sup> wie üblich der Cellulose-Säulenchromatographie<sup>14)</sup> unterworfen. Nach der schwachen Vitamin B<sub>12</sub>-Zone ( $R = 0,204$ ) erhielt man zwei Fraktionen (I, schwache Zone,  $R = 0,17$ ; II, starke Zone,  $R = 0,143$ ), aus denen die Stoffe I und II kristallisiert gewonnen wurden.

I und II sind gegenüber *E. coli* 113 3 und *L. leichmanii* 313 aktiv und verhalten sich elektrolytisch neutral.

Im UV-Spektrum unterscheidet sich II nicht vom Vitamin B<sub>12</sub>; in I liegt jedoch die Schleife (in der Monocyanof orm), bzw. die schwache Bande (in der Dicyanof orm) nicht bei 288 m $\mu$  (wie bei II und bei Vitamin B<sub>12</sub>), sondern bei 284 m $\mu$ . Die Schleifen bzw. Maxima bei 284  $\mu$  und 288 m $\mu$  entsprechen den Banden der Nucleotide in alkalischem Milieu (s. Tab. auf S. 1670).

Die Struktur von I und II wurde mit Hilfe der gleichen Methode aufgeklärt, die sich bei der Konstitutionsermittlung des Faktors III bewährt hatte<sup>4, 5)</sup>.

Das betreffende Cobalamin-Analogon wird in schwach alkalischem wässrigem Medium in Gegenwart eines großen Überschusses an Cyanid (also unter Bedingungen, unter denen die Bindung zwischen dem Kobaltatom und dem Benzimidazolring gelöst ist) am zuckerfreien N-Atom des Benzimidazolringes mit Dimethylsulfat methyliert. Die Struktur der aus dem methylierten Cobalamin-Analogon isolierten Base ergibt *eindeutig* die Stellung des 5- bzw. 6-Substituenten und des Zuckerrestes am Benzimidazolring im nativen „Cobalamin“-Molekül. Eine brauchbare, jedoch nicht so eindeutige Methode zur Strukturaufklärung der 5(6)-substituierten Benzimidazol-cobalamin-Analoga ist die Isolierung und spektroskopische Untersuchung der betreffenden Nucleotide (die bei der Hydrolyse der „Cobalamin“ mit konz. Salzsäure oder 70-proz. Perchlorsäure bei Zimmertemperatur entstehen und unter diesen Bedingungen völlig stabil sind)<sup>15)</sup>, verbunden mit der Isolierung und Identifizierung der zugrunde liegenden Basen. Da der Zuckerphosphat-Rest einen ähnlichen Einfluß auf das UV-Absorptionsspektrum der Benzimidazole ausübt wie die Methylgruppe, ist bereits aus dem UV-Spektrum des Nucleotides die Stellung des 5(6)-Substituenten in Bezug auf die Position des Zuckerrestes recht klar ersichtlich.

Das Ergebnis der Anwendung dieser Methoden auf die Cobalamin-Analoga I und II geht aus folgender Übersicht hervor:

I	Perchlorsäure	Nucleotid von I + Faktor B	$\xrightarrow{6 n \text{ HCl, } 150^\circ}$	5(6)-Methyl-benzimidazol
	Dimethylsulfat + Cyanid			
II	Perchlorsäure	Nucleotid von II + Faktor B	$\xrightarrow{6 n \text{ HCl, } 150^\circ}$	5(6)-Methyl-benzimidazol
	Dimethylsulfat + Cyanid			
		$\xrightarrow{6 n \text{ HCl, } 150^\circ}$		1.6-Dimethyl-benzimidazol + Abbauprod. v. Faktor B

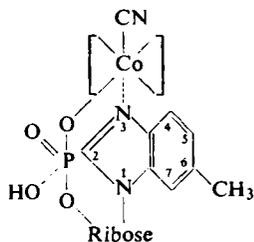
<sup>\*</sup>) Die Chromatographie sowie die weitere Reinigung bis zur Kristallisation wurde von Frl. Dipl.-Chem. G. GROSS und Frl. CHRISTA ERHART ausgeführt.

<sup>13)</sup> W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Z. Naturforsch. **9b**, 755 [1954].

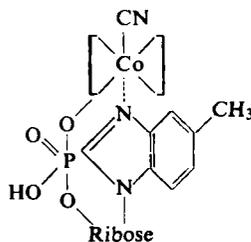
<sup>14)</sup> W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Z. Naturforsch. **10b**, 6 [1955].

<sup>15)</sup> J. B. ARMITAGE, J. R. CANNON, A. W. JOHNSON, L. F. J. PARKER, E. LESTER SMITH, W. H. STAFFORD und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1953, 3849.

Die Nucleotide von I (Abbild. a) bzw. II (Abbild. b) ähneln in ihren UV-Absorptionsspektren dem 1.6-Dimethyl-benzimidazol<sup>\*,16)</sup> bzw. dem 1.5-Dimethyl-benzimidazol<sup>16)</sup> (s. Tab.). Diese Befunde, zusammengenommen, sprechen für die unten stehenden Strukturformeln der beiden Cobalamin-Analoga.



I. 6-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogon



II. 5-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogon

Durch diese Befunde wurde die Erwartung, daß 5(6)-substituierte Benzimidazole zur Bildung von zwei isomeren „Cobalaminen“ Anlaß geben können, im Prinzip erfüllt.

Die Frage, warum das 5-substituierte Isomere so sehr bevorzugt entsteht (I ca. 4 %, II ca. 96 %), kann noch nicht eindeutig beantwortet werden, wenn auch bereits die Methylierung von 5(6)-Methyl-benzimidazol gewisse Hinweise liefert. Nach M. A. PHILLIPS<sup>17)</sup> wird 5(6)-Methyl-benzimidazol in neutralen Medien mit Hilfe von Dimethylsulfat zu 1.6- und 1.5-Dimethyl-benzimidazol im Verhältnis 10:1 methyliert. Bei Benzimidazolen mit stärker polaren 5(6)-Substituenten (wie z. B. mit einer Nitrogruppe) verläuft die Methylierung unter gleichen Bedingungen noch mehr zugunsten der 1.6-Derivate. Wenn man nun annimmt, daß a) im Endstadium der Biosynthese von „Cobalaminen“ zunächst die freie Benzimidazol-Komponente am Kobalt-Atom des Faktors B gebunden und dann erst glykosidiert wird und daß b) bei der Bindung eines 5(6)-substituierten Benzimidazols an Kobalt die 1.6-Substitution überwiegt, so muß vorzugsweise ein 1.5-substituiertes „Benzimidazol-cobalamin“ resultieren. Wenn die Forderungen a) und b) erfüllt sind, so kann erwartet werden, daß bei Verwendung eines Benzimidazols, das an der 5(6)-Stelle eine polare Gruppe (z. B. —OH, —NO<sub>2</sub>) trägt, noch weniger von dem 6-substituierten Benzimidazol-cobalamin-Analogon gebildet wird, als dies bei Verwendung von 5(6)-Methyl-benzimidazol der Fall ist.

Falls die Forderung a) (s. oben) erfüllt ist, so müßte sie auch für die „Purin-cobalamine“ gelten, die als 7-Riboside anzusehen sind<sup>18)</sup>. Man kann sich nun nicht gut vorstellen, daß ein Enzym die Bildung eines 7-Ribosides des Adenins fördert und die 9-Stelle für die notwendige Bindung an Kobalt frei läßt, wenn in der Natur sonst nur 9-Riboside der Purine gebildet werden. Das Zustandekommen der 7-glykosidischen Bindung erscheint aber sofort erklärlich, wenn man annimmt, daß zunächst das N-9-Atom des Adenin-Moleküls am Kobalt-Atom gebunden und dann erst das übrigbleibende N-7-Atom mit der Ribose glykosidisch verknüpft wird.

<sup>\*)</sup> Für die Übermittlung der UV-Absorptionskurven des 1.6-Dimethyl-benzimidazols haben wir Herrn Dr. G. H. BEAVEN, England, zu danken.

<sup>16)</sup> G. H. BEAVEN, E. R. HOLIDAY und E. A. JOHNSON, Spectrochim. Acta [London] 4, 338 [1951].

<sup>17)</sup> J. chem. Soc. [London] 1931, 1143.

<sup>18)</sup> W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 68, 580 [1956]; Chem. Ber. 89, 2507 [1956]; 90, 465, 1966 [1957]; D. C. HODKIN, s. dazu Biochem. Society Symposia No. 13 „The Biochemistry of Vitamin B<sub>12</sub>“, Cambridge, University Press 1955, S. 28, Fußnote.

Bemerkenswert ist der Einfluß des Substituenten in der 5- bzw. 6-Stellung auf die chromatographische Beweglichkeit des betreffenden Vitamin B<sub>12</sub>-Faktors. In I ist die Methylgruppe infolge der größeren Entfernung vom Co-haltigen Grundkomplex weniger „maskiert“ durch die Seitenketten des Moleküls als in II. I ist infolgedessen hydrophober und wandert im System Cellulose/wasserhaltiges Butanol rascher als II.

Die Gewinnung der beiden stellungsisomeren Cobalamin-Analoga erscheint u. a. auch deshalb von Interesse, da nun die Aussicht besteht, durch eingehende Prüfung ihrer biologischen Wirkung die Aufklärung der biochemischen Funktion der beiden in 5- und 6-Stellung befindlichen Methylgruppen im Benzimidazol-Anteil des Vitamin B<sub>12</sub>-Moleküls anzubahnen.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Gewinnung der Methylbenzimidazol-cobalamin-Analoga I und II aus Propionibacterium shermanii:* Die in einem Gäransatz<sup>12,19</sup> mit 85 l Gärmedium unter Zusatz von 2 mg% 5(6)-Methyl-benzimidazol gebildete Bakterienmasse wurde abzentrifugiert, in 5 l Wasser, enthaltend ca. 0.01 % NaCN, suspendiert und 10 Min. auf 110° erhitzt. Das durch Zentrifugieren gewonnene klare Zentrifugat wurde mit 1 % Aktivkohle verrührt, das Adsorbat abgetrennt und mit Isopropylalkohol/Wasser/Benzol (70:25:5 Vol.) in der Siedehitze eluiert. Das Eluat wurde i. Vak. eingeengt, das darin enthaltene Gemisch von B<sub>12</sub>-Faktoren mit Phenol/*o*-Dichlorbenzol extrahiert und nach Überführung in die wäbr. Phase<sup>13</sup> und Einengen auf ein kleines Volumen in Kieselgur aufgenommen. Das getrocknete Kieselgur-Präparat chromatographierte man in einer Cellulosepulver-Säule (Linterspulver Nr. 124 der Fa. Schleicher & Schüll; Säule 5 × 23 cm, Entwickler wassergesättigtes *n*-Butanol, enthaltend 0.001 % HCN). Die etwas langsamer als Vitamin B<sub>12</sub> laufenden Zonen von I und II waren von den übrigen, meist violetten Zonen wie auch von Vitamin B<sub>12</sub> recht gut getrennt. I und II gewann man in mehreren Fraktionen, die dann in kleineren Cellulosepulver-Säulen (2 × 30 cm) unter Verwendung des gleichen Entwicklers getrennt chromatographiert wurden. Nach Zerschneiden der Säulen, Vereinigen der zusammengehörenden Fraktionen, Extraktion der B<sub>12</sub>-Arten mit Wasser, Reinigung durch Phenol-Extraktion, Überführen in Wasser und Kristallisation aus wäbr. Aceton erhielt man I (8 mg) und II (227 mg) in feinen roten Nadeln.

*Hydrolytische Spaltung des 6-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogons (I) zu Faktor B und Nucleotid sowie des letzteren zu 5(6)-Methyl-benzimidazol:* Eine Lösung von 2.2 mg I (enthaltend ca. 10% Wasser) in 0.1 ccm 70-proz. Perchlorsäure wurde 4 Stdn. bei 20° stehen gelassen. Die Lösung wurde dann mit 2.4 ccm 0.5 *n* KOH bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Nach dem Abtrennen von Kaliumperchlorat ließ man die orangerote Lösung durch eine Säule (0.65 × 17 cm) aus Amberlite XE-64-H laufen. Beim Waschen der Säule mit Wasser blieb der rote Farbstoff in den oberen 4 cm der Säule adsorbiert, während ein klares farbloses Eluat durchlief.

Durch Zerschneiden der Säule, Aufschwemmen des rot gefärbten Anteils in einigen ccm Wasser, Zusatz von etwas verd. wäbriger Ammoniaklösung bis zur schwach alkalischen Reaktion und Filtrieren erhielt man eine wäbrige Lösung des Faktors B, der in üblicher Weise durch Papierchromatographie und Papierelektrophorese identifiziert wurde.

Die ersten 12 ccm des Eluats (s. oben) enthielten Perchlorsäure, die weiteren 15 ccm das Nucleotid, das spektrophotometrisch sowie durch Phosphat-Bestimmung nachgewiesen

<sup>19)</sup> K. BERNHAUER, E. BECHER, G. GROSS und G. WILHARM, in Vorbereitung.

wurde. Zur weiteren Reinigung ließ man die Lösung des Nucleotides durch eine Säule (0.4 × 3 cm) aus Dowex-2-Formiat laufen. Nach dem Waschen der Säule mit einigen ccm Wasser eluierte man das Nucleotid mit 0.1 *n* HCl und trocknete die Eluate i. Vak. über Ätznatron. Die Chromatographie über Dowex-2 änderte das UV-Absorptionsspektrum des Nucleotides nicht.

Das in 1 ccm 6 *n* HCl gelöste Nucleotid erhitze man im zugeschmolzenen Glasrohr 4 Stdn. auf 150° und ließ das über Ätznatron getrocknete Hydrolysat nach dem Aufnehmen in einigen ccm Wasser durch eine Säule (0.3 × 1 cm) aus Dowex-50-H laufen. Nach dem Waschen der Säule mit einigen ccm Wasser eluierte man das 5(6)-Methyl-benzimidazol mit 2 *n* HCl. Ausbeute gemäß der spektrophotometrischen Bestimmung 0.13 mg (ca. 65% d. Th.).  $R_F$ -Wert im Entwickler *n*-Butanol/Eisessig/Wasser 0.66, in Übereinstimmung mit dem eines authent. Präparates.

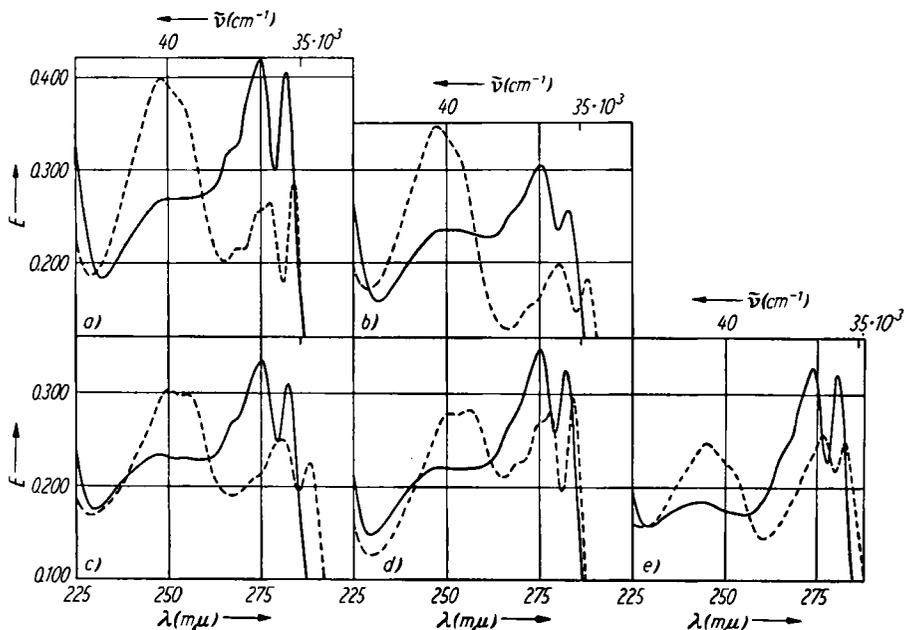
*Hydrolytische Spaltung des 5-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogons (II) zu Faktor B und Nucleotid sowie des letzteren zu 5(6)-Methyl-benzimidazol:* Eine Lösung von 50 mg II (enthaltend ca. 10% Wasser) in 2.5 ccm konz. Salzsäure wurde 16 Stdn. bei 20° stehen gelassen und sodann i. Vak. über Ätznatron getrocknet. Der Rückstand wurde in 2 ccm Wasser gelöst und über eine Säule (1.3 × 28 cm) aus Amberlite XE-64-H chromatographiert. Der beim Entwickeln mit Wasser in den oberen 7 cm der Säule adsorbierte rote Farbstoff wurde in der oben beschriebenen Weise gewonnen und als Faktor B identifiziert. Die ersten 40 ccm des klaren Eluates enthielten etwas Salzsäure, die weiteren 37 ccm bestanden aus reinem Wasser und die darauf folgenden ca. 100 ccm aus einer wäßrigen Lösung des Nucleotides. Dasselbe wurde in der gleichen Weise, wie oben beschrieben, nachgewiesen und zu 5(6)-Methyl-benzimidazol abgebaut. Ausbeute 2.8 mg (ca. 62% d. Th.),  $R_F$ -Wert wie oben.

*Methylierung des 6-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogons (I) und Abbau des N-3-Methyl-derivates zu 1.5-Dimethyl-benzimidazol:* Eine Lösung von 2.4 mg I in 10 ccm Wasser wurde mit 3 g NaHCO<sub>3</sub> und 40 mg KCN versetzt und bei 37° lebhaft gerührt, wobei man alle 15 Min. 0.1 ccm Dimethylsulfat hinzufügte (insgesamt 1.2 ccm). Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 4 ccm 80-proz. wäßriger Phenollösung versetzt und 1 Stde. stehen gelassen. Das N-3-Methylderivat von I wurde in üblicher Weise isoliert<sup>4)</sup>. Es erwies sich als einheitlich, wanderte elektrophoretisch bei  $p_H$  2.7 gegen die Kathode etwas langsamer als Faktor B ( $R_{\text{Faktor B}} = 0.85$ , orange gefärbt) und erwies sich bei  $p_H$  7.2 als neutral. Im Papierchromatogramm mit wassergesättigtem sek. Butanol (+ etwas HCN) als Entwickler lief die Substanz als violetter Fleck zwischen Vitamin B<sub>12</sub> und Faktor B.

Das N-3-Methylderivat von I wurde in 0.7 ccm 6 *n* HCl gelöst und im zugeschmolzenen Glasrohr 5 Stdn. auf 150° erhitze. Das i. Vak. über Ätznatron getrocknete Hydrolysat nahm man in 1.0 ccm Wasser auf und ließ es durch eine Säule (0.6 × 5 cm) aus Dowex-2-Formiat laufen. Beim Nachwaschen mit Wasser blieben die schwarzbraunen Verunreinigungen im oberen Teil der Säule haften, während das farblose Eluat in den ersten 10 ccm praktisch das gesamte Reaktionsprodukt enthielt. Das Eluat wurde ohne vorheriges Einengen über eine Säule (0.6 × 1.2 cm) aus Dowex-50-H chromatographiert. Nach dem Waschen mit etwas Wasser eluierte man die Substanz mit 2 *n* HCl, engte das klare Eluat (ca. 40 ccm) i. Vak. ein und trocknete über Ätznatron. Der Rückstand erwies sich als reines 1.5-Dimethyl-benzimidazol, gemäß der spektrophotometrischen Bestimmung in einer Ausbeute von 0.16 mg (ca. 80% d. Th.).

*Methylierung des 5-Methyl-benzimidazol-cobalamin-Analogons (II) und Abbau des N-3-Methylderivates zu 1.6-Dimethyl-benzimidazol:* Eine Lösung von 50 mg II in 250 ccm Wasser wurde mit 63 g NaHCO<sub>3</sub> und 1.2 g KCN versetzt und bei 37° lebhaft gerührt. Alle 15 Min. setzte man 1.8 ccm Dimethylsulfat zu (insgesamt 24 ccm). Nach beendeter Reaktion fügte man

100 ccm 80-proz. wäßrige Phenollösung und 150 ccm Wasser zu und extrahierte das Reaktionsprodukt in üblicher Weise. Da die papierchromatographische und elektrophoretische Prüfung zeigte, daß die Umsetzung unvollständig war, wurde der nicht umgesetzte Anteil von II (ca. 15%) elektrophoretisch auf einem dicken Karton (Schleicher & Schüll, Nr. 2230) bei  $p_H$  2.7 als neutrale rote Zone abgetrennt. Das *N*-3-Methylderivat von II, das papierchromatographisch und elektrophoretisch dem *N*-3-Methylderivat von I sehr ähnelt, wanderte dabei zur Kathode als orangefarbene Bande, erwies sich nun als völlig einheitlich und wurde ebenso wie oben beschrieben mit 6 *n* HCl abgebaut. Die mit Hilfe von Dowex-2-Formiat sowie Dowex-50 gereinigte Base erwies sich als 1,6-Dimethyl-benzimidazol. Ausbeute (spektrophotometrisch bestimmt) 3.1 mg (ca. 70% d. Th.).



UV-Absorptionsspektren des Nucleotides aus I (a), des Nucleotides aus II (b), der Base aus *N*-3-methyliertem I (c), der Base aus *N*-3-methyliertem II (d) sowie der Base aus I und II (e) in Wasser bei  $p_H$  1.0 (—) und  $p_H$  12.0 (---)

Spektraldaten der aus I und II isolierten Nucleotide und Basen (in Wasser;  $\lambda$  in  $m\mu$ )

Substanz	$p_H$ 1.0		$p_H$ 12.0		
	Abs.-Max.	Abs.-Min.	Abs.-Max	Abs.-Min.	
Nucleotid aus I	281.8	275	232	284 277.5 248	265 229
Base aus <i>N</i> -3-methyliert. II	281.8	275	229	284 277.5 256	265 229
1,6-Dimethyl-benzimidazol <sup>16)</sup>	281.6	275	229	283.8 277.3 256	265 229
Nucleotid aus II	282	275	231.5	288 280 247.5	266.5 228.5
Base aus <i>N</i> -3-methyliert. I	282	275	229.5	288 280 249.5	266.5 228
1,5-Dimethyl-benzimidazol <sup>16)</sup>	281.8	275	228.5	287.9 280 249.5	266.5 227.5
Base aus I und II	280	273.5	229.5	282 276 244.5	260.5 226.5
5(6)-Methyl-benzimidazol <sup>16)</sup>	279.9	273.2	229	282 276 244.5	260.5 226