

## Die Synthese von Purinnucleosid-6-sulfonaten<sup>1)</sup>

Hans-Richard Rackwitz und Karl-Heinz Scheit \*

Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Abteilung Molekulare Biologie,  
D-3400 Göttingen, Postfach 968

Eingegangen am 19. Februar 1974

6(1*H*)-Purinthion-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (**1**), das entsprechende 5'-Monophosphat (**7**) und 5'-Triphosphat (**8**) sowie 2-Amino-6(1*H*)-purinthion-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (**2**) und 2-Amino-6(1*H*)-purinthion-9-( $\beta$ -D-2'-desoxyribofuranosid) (**3**) wurden durch Reaktion mit Sulfit-Ionen in Gegenwart von Sauerstoff quantitativ in die entsprechenden Sulfonsäurederivate **4**, **9**, **10**, **5**, **6** übergeführt. Die Sulfonate **4** und **5** ließen sich bei Raumtemperatur mit wäßrigem Ammoniak in guten Ausbeuten zu Adenosin bzw. 2,6-Diaminopurin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) umsetzen. **4** und **9** reagierten mit Aziridin zu 6-(1-Aziridinyl)purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (**15**) bzw. dem 5'-Monophosphat **16**. **5** und **6** fluoreszieren mit hoher Quantenausbeute im langwelligen ultravioletten Licht. Mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie, Absorptionsspektroskopie und durch Vergleich mit authentischem Material konnte die Bildung der Purinnucleosid-6-sulfonate **4**, **5** und **6** auch bei der Bestrahlung von **1**, **2** und **3** mit Licht der Wellenlänge 325 nm in Gegenwart von Sauerstoff nachgewiesen werden.

### The Synthesis of Purinucleoside-6-sulfonates<sup>1)</sup>

6(1*H*)-Purinethione-9-( $\beta$ -D-ribofuranoside) (**1**), the corresponding 5'-monophosphate **7**, and the 5'-triphosphate **8** as well as 2-amino-6(1*H*)-purinethione-9-( $\beta$ -D-ribofuranoside) (**2**) and 2-amino-6(1*H*)-purinethione-9-( $\beta$ -D-2'-deoxyribofuranoside) (**3**) have been converted to the sulfonates **4**, **9**, **10**, **5**, and **6** by reaction with sulfite ions in the presence of oxygen. The sulfonates **4** and **5** reacted in aqueous ammonia with good yields to give adenosine and 2,6-diaminopurine-9-( $\beta$ -D-ribofuranoside), respectively. **4** and **9** react with aziridine to form 6-(1-aziridinyl)purine-9-( $\beta$ -D-ribofuranoside) (**15**) and the corresponding 5'-monophosphate **16**. **5** and **6** fluoresce with high quantum yields on excitation in the near u.v. It was shown by means of fluorescence spectroscopy, absorption spectroscopy, and comparison with authentic material that irradiation of **1**, **2**, and **3** by light of the wavelength 235 nm in the presence of oxygen affords the purinucleoside-6-sulfonates **4**, **5**, and **6**.

4-Thiopyrimidinnucleoside können sowohl durch chemische Oxidation als auch durch Einwirkung von Sulfit-Ionen in Gegenwart von Sauerstoff in die 2(1*H*)-Pyrimidinon-1-( $\beta$ -D-ribosid)-4-sulfonate übergeführt werden<sup>2-6)</sup>. Diese Verbindungen erwiesen sich als sehr reaktiv gegenüber Nucleophilen. Pyrimidin-4-sulfonate reagieren leicht mit primären oder sekundären Aminen zu den entsprechenden Cytosinderivaten.

1) Vorgetragen auf dem 24. IUPAC-Kongreß, Hamburg 1973.

2) H. Hayatsu und T. Ukita, Biochem. Biophys. Res. Commun. **29**, 556 (1967).

3) H. Hayatsu und S. Iida, Tetrahedron Lett. **1969**, 1031.

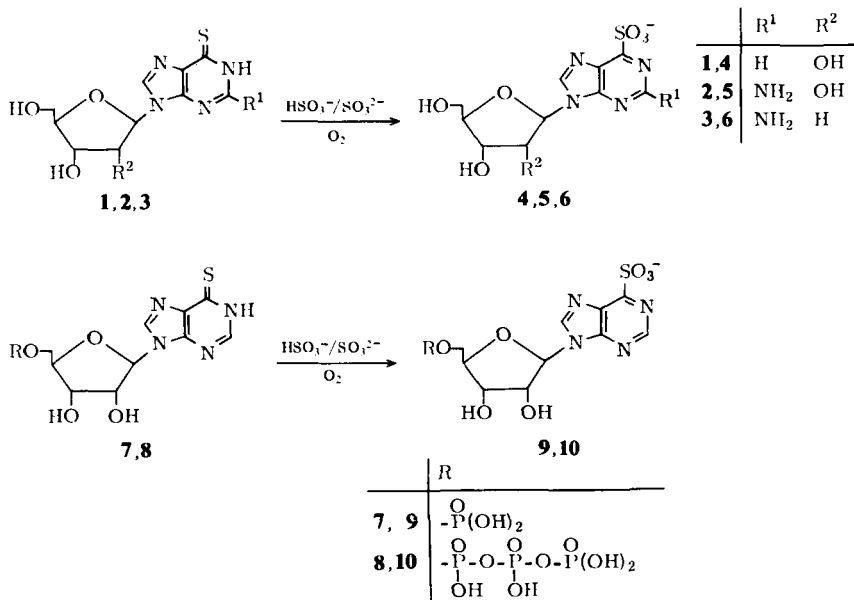
4) H. Hayatsu und M. Yano, Tetrahedron Lett. **1969**, 755.

5) E. B. Ziff und J. R. Fresco, J. Amer. Chem. Soc. **90**, 7338 (1968).

6) H. Hayatsu, J. Amer. Chem. Soc. **91**, 5693 (1969).

Bei der Bestrahlung von Thiouridin mit Licht der Wellenlänge 330 nm in Gegenwart von Sauerstoff sowie primären bzw. sekundären Aminen wurde ebenfalls die Bildung entsprechender Cytidinderivate in hohen Ausbeuten beobachtet<sup>7,8)</sup>. Der Mechanismus dieser Photooxidation ist nicht bekannt, da bisher keine Möglichkeit bestand, die Zwischenprodukte der Photoreaktion zu identifizieren<sup>9)</sup>. Es erscheint jedoch wahrscheinlich, daß bei der Photooxidation von 4-Thiouracilderivaten die entsprechenden 2(1*H*)-Pyrimidinon-4-sulfonate als Zwischenstufen durchlaufen werden, aber aufgrund zu großer Labilität nicht nachweisbar waren. Nachdem wir kürzlich diese Photoreaktion für die Affinitätsmarkierung von RNA-Polymerase aus *Escherichia coli* durch 4-Thiouridin-5'-triphosphat und Polydesoxy-4-thiothymidylsäure verwendet hatten<sup>10)</sup>, war es für uns von Interesse, diese photochemische Oxidation genauer zu untersuchen.

Seit langem war bekannt, daß Purin-6-sulfonate relativ stabil sind<sup>11)</sup>. Sollten 6-Thiopurin-Derivate, was anzunehmen war, ebenfalls eine photochemische Oxidation eingehen, so würden die als Zwischenprodukte auftretenden entsprechenden Purin-6-sulfonate mit Sicherheit nachweisbar sein. In dieser Arbeit wird zunächst über die chemische Synthese von Purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)-6-sulfonaten und entsprechender Derivate berichtet. Weiterhin wird gezeigt, daß bei der photochemischen Oxidation von 6-Thiopurinribosiden als Produkte Purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)-6-sulfonate erhalten werden.



7) A. Favre und A. M. Michelson, *J. Mol. Biol.* **58**, 367 (1971).

8) M. Pleiss und P. A. Cerutti, *Biochemistry* **10**, 3093 (1971).

9) M. Pleiss, H. Ochai und P. A. Cerutti, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **34**, 70 (1969).

10) A. M. Frischauf und K. H. Scheit, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **53**, 1227 (1973).

11) I. L. Doerr, I. Wempfen, D. A. Clark und J. J. Fox, *J. Org. Chem.* **26**, 3401 (1961).

6-Thioinosin (1), 6-Thioguanosin (2) und 2'-Desoxy-6-thioguanosin (3) reagierten mit Sulfit-Ionen in Gegenwart von Sauerstoff quantitativ zu den entsprechenden Purin-9-( $\beta$ -D-ribosid)-6-sulfonaten 4, 5 und 6. Unter den gleichen Bedingungen wurden aus 6-Thioinosin-5'-phosphat (7) und 6-Thioinosin-5'-triphosphat (8) die entsprechenden Sulfonsäurederivate 9 und 10 erhalten. Die Umwandlung der 6-Thiopurin-Derivate in die entsprechenden Purin-6-sulfonate konnte bequem absorptionspektrophotometrisch verfolgt werden, da eine starke Abnahme der Absorption bei 322 nm auftrat. Die Verbindungen 5 und 6 zeigten ein Fluoreszenz-Emissions-Spektrum mit einer Quantenausbeute von  $Q = 0.47$  (natürliche Abklingdauer der Fluoreszenz 11 ns). Die Identität der Fluoreszenz-Excitationspektren mit den Absorptionsspektren erlaubte einen eindeutigen Nachweis dieser Verbindungen selbst im Gemisch mit anderen absorbierenden Substanzen.

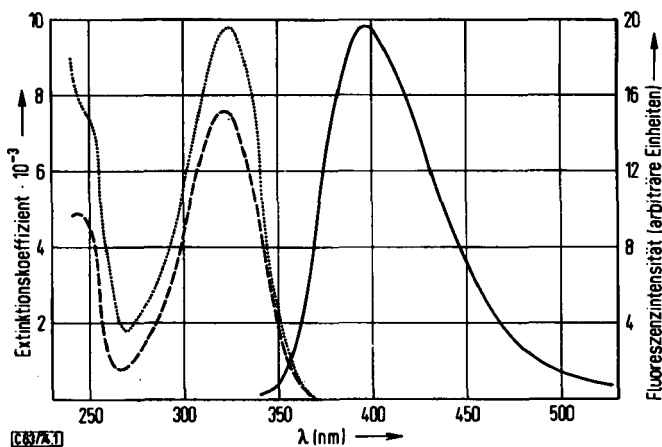
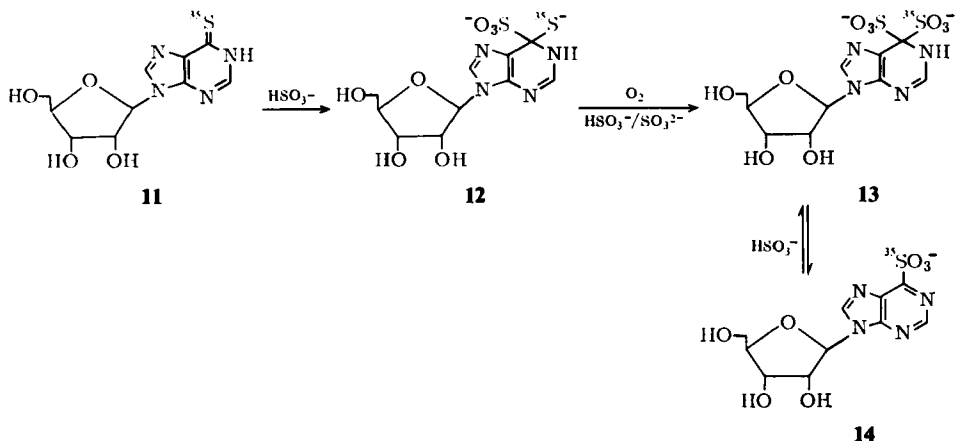


Abb. 1. Spektroskopische Eigenschaften von 2-Aminopurinribosid-6-sulfonat (5).

(— — —) UV-Spektrum in Wasser pH 6; (· · · · ·) Fluoreszenz-Excitations-Spektrum (Emissionswellenlänge 400 nm); (—) Fluoreszenz-Emissions-Spektrum (Anregungswellenlänge 325 nm)

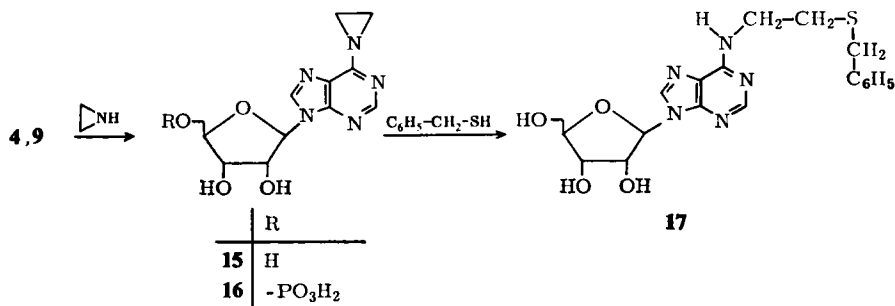
Die Isolierung der Substanzen 4, 5, 6, 9 und 10 erfolgte durch Anionen-Austauscherchromatographie an DEAE-Cellulose in Ausbeuten von 87–96%. Die Umsetzung von 6(1*H*)-Purin-[ $^{35}$ S]thion-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (11) mit Sulfit-Ionen führte zu Purin-6-[ $^{35}$ S]sulfonat-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (14) mit einer spezifischen Radioaktivität von 50% verglichen mit 11. Die Reaktion kann also nicht nach einem einfachen Additions-Eliminierungsmechanismus verlaufen, da sonst die Verbindung 14 kein  $^{35}$ S mehr enthalten dürfte.

In Analogie zum 4-Thiouridin<sup>6)</sup> führt die Addition eines Sulfit-Ions an die Thiooxygruppe von 11 zur Bildung einer den Sulfit-Additionsverbindungen von Ketonen analogen Zwischenstufe 12. Wir nehmen an, daß das gebildete Thioanion 12 zu einer Verbindung 13 oxidiert wird, aus welcher sowohl Sulfit als auch [ $^{35}$ S]Sulfit eliminiert werden kann.



In 0.1 N HCl hydrolysierten die Verbindungen **4** und **5** innerhalb von 9 Stunden bei Raumtemperatur zu Inosin bzw. Guanosin, die durch ihre Absorptionsspektren und dünn-schichtchromatographisch identifiziert werden konnten. In wäßrigem Ammoniak von pH 10 setzten sich **4** und **5** zu Adenosin bzw. 2,6-Diaminopurin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) um.

Die Purinnucleosid-6-sulfonate könnten sich als nützliche Zwischenstufen bei der Synthese von C-6-substituierten Purinnucleosid-Derivaten erweisen. Als Beispiel wird hier die Synthese eines Purinnucleosids gegeben, welches in C-6-Position durch einen Aziridinring substituiert ist. Bei der Reaktion von **4** oder **9** mit Aziridin bei Raumtemperatur entstanden die Verbindungen **15** und **16**, die sich durch alkylierende Eigenschaften auszeichneten. **15** reagierte mit einem hundertfachen Überschuß an Phenylmethanthiol in Gegenwart von Triäthylamin bei Raumtemperatur zu 6-[2-(Benzylthio)äthylamino]purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid) (**17**).



Die Kenntnis der spektroskopischen und chemischen Eigenschaften der Purinnucleosid-6-sulfonate ermöglichte es uns, die Produkte der Photooxidation von 6-Thiouridine (**1**), 6-Thioguanosin (**2**) bzw. 2'-Desoxy-6-thioguanosin (**3**) zu identifizieren. **1**, **2** und **3** wurden in luftgesättigtem Phosphat-Puffer von pH 8.5 bei Raumtemperatur mit Licht der Wellenlänge 325 nm bestrahlt. Der Verlauf der Photoreaktion wurde für **1**, **2** sowie **3** absorptionsphotospektrometrisch, für **2** und **3** darüber hinaus fluoreszenzspektrophotometrisch verfolgt.

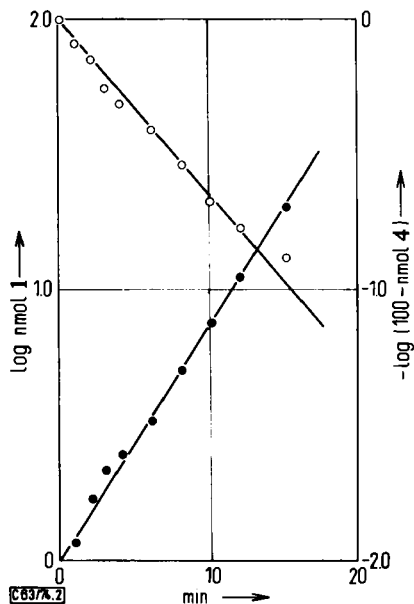


Abb. 2. Kinetik der Photoreaktion von 6-Thioinosin (1).  
 (—●—●) Bildung von 4; (—○—○) Abnahme von 1. Reaktionsgeschwindigkeitskonstante  
 $k = 0.08 \text{ min}^{-1}$

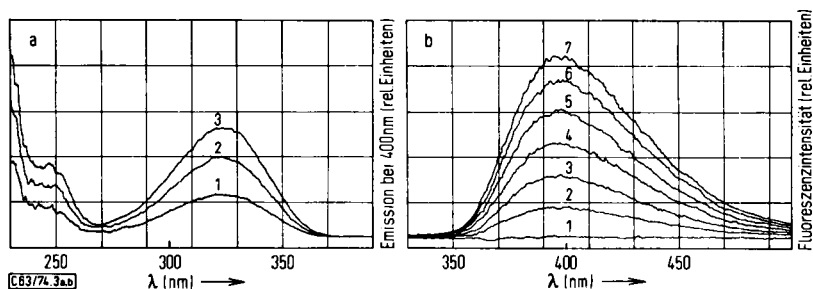


Abb. 3. Photoreaktion von 6-Thioguanosin (2).  
 a) Fluoreszenz-Excitations-Spektren der Reaktionsmischung während der Photoreaktion. Die Spektren wurden in zeitlichen Abständen von 10 min aufgenommen  
 b) Fluoreszenz-Emissions-Spektren der Reaktionsmischung während der Photoreaktion. Die Spektren wurden in zeitlichen Abständen von 5 min aufgenommen. Anregungswellenlänge 325 nm

Die Absorptionsspektren der Reaktionslösungen ergaben, daß bei der Bestrahlung der 6-Thiopurinnucleoside 1, 2 und 3 in Gegenwart von Sauerstoff die entsprechenden Sulfonate 4, 5 sowie 6 gebildet wurden. Bei der Photooxidation von 2 bzw. 3 zeigten die Fluoreszenzspektren der Reaktionsmischungen ebenfalls eindeutig die Bildung eines fluoreszierenden Produkts an, dessen Excitationsspektrum mit dem Absorptionsspektrum von 5 bzw. 6 identisch war. Aus den absorptionspektrophotometrischen

Daten ließ sich ein Reaktionsgeschwindigkeitsgesetz pseudo-erster Ordnung für die Bildung von **4** ermitteln. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante der Photoreaktion beträgt  $0.08 \text{ min}^{-1}$ .

## Experimenteller Teil

Absorptionsspektren wurden mit den Geräten Zeiss PMQ II und Cary 16 aufgenommen. Korrigierte Fluoreszenzspektren wurden mit dem Fluoreszenzspektralphotometer ARL-Fica Modell 55 gemessen. Die natürliche Abklingdauer der Fluoreszenz wurde mit dem nsec-Fluoreszenzspektrometer Modell 9200 in Verbindung mit einem Vielkanalanalysator Modell 6220 der Firma Ortec bestimmt. Schmelzpunkte wurden mit einem Diaskop (Fa. Reichert, Österreich) erhalten und sind nicht korrigiert. Für Photoreaktionen wurde ein He/Cd-Ionenlaser Modell 185 der Firma Spectraphysics (USA) (ca.  $2.5 \text{ mW/mm}^2$  bei 325 nm) benutzt.

Papierchromatographie: Erfolgte absteigend an Papier 2043 b gewaschen (Firma Schleicher & Schüll, Deutschland). Für präparative Zwecke wurde Whatman 3 MM Papier verwendet. Lösungsmittel: Isopropylalkohol/konz.  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O} = 7:1:3$  (1), Äthanol/1 M Ammoniumacetat = 5:2 (2), Äthanol/1 M Ammoniumacetat = 1:1 (3).

Dünnschichtchromatographie: Erfolgte an a) DC-Fertigplatten Kieselgel F<sub>254</sub> (Fa. Merck), b) DC-Mikrokarten Si-F (Fa. Riedel de Haen), c) Polygram CeL 300 PEI/UV<sub>254</sub>, Polyäthylenimin-imprägnierte Cellulose-Dünnschichtplatten (Fa. Macherey & Nagel).

Lösungsmittel: Chloroform/Methanol = 7:3 (4), Chloroform/Methanol = 85:15 (5), n-Butanol/Wasser = 86:14 (6), Isopropylalkohol/Wasser = 9:1 (7), 0.1 M NaCl (8), 0.25 M NaCl (9), 0.5 M NaCl (10), 1 M NaCl (11).

Papierelektrophorese: Es wurde Papier 2043 b gewaschen (Fa. Schleicher & Schüll) verwendet.

Puffer: 0.1 M Borsäure pH 7 (A), 0.05 M Ammoniumformiat pH 3.5 (B), 0.05 M Dikaliumhydrogenphosphat pH 8.5 (C).

6-Thioinosin (1) und 6-Thioguanosin (2) waren Produkte der Fa. Waldhof (Mannheim, Deutschland).

2'-Desoxy-6-thioguanosin (3) wurde von der Fa. PL-Biochemicals (Milwaukee, USA) bezogen. 6-Thioinosin-5'-monophosphat (7) und 6-Thioinosin-5'-triphosphat (8) wurde nach einer früher berichteten Methode<sup>12,13</sup> hergestellt.

*Allgemeine Darstellungsmethode von Derivaten des Purin-6-sulfonats:* Zu einer  $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$  wäßrigen Lösung der 6-Thiopurinderivate wurde 1/100 Volumenanteil eines Gemisches von 1 M  $\text{Na}_2\text{SO}_3/1 \text{ M NaHSO}_3 = 3:1$  (v/v) gegeben. Durch die Mischung wurde Luft gesaugt. Die Zugabe des Sulfit-Gemisches wurde sechsmal in Abständen von 30 min wiederholt. Danach wurde das Reaktionsgemisch zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit wasserfreiem DMF extrahiert. Das Eluat wurde eingeeengt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und auf eine DEAE-Cellulosesäule gegeben. Die Elution der DEAE-Säule erfolgte mit einem linearen Gradienten an Triäthylammoniumhydrogencarbonat. Fraktionen, welche die gewünschte Substanz enthielten, wurden eingeeengt und mit einer 1proz.  $\text{NaClO}_4$ -Lösung in Aceton die Natriumsalze ausgefällt. Die amorphen Niederschläge wurden abzentrifugiert, mit Aceton gewaschen und i. Vak. getrocknet (Tab. 1).

*Adenosin:* 355 mg (1 mmol) **4** wurden in 10 ml 0.15 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  gelöst und das pH der Lösung mit  $\text{NH}_4\text{OH}$  auf 10 eingestellt. Nach 12 h bei Raumtemp. wurde die Lösung eingedampft und

<sup>12)</sup> P. Faerber und K.-H. Scheit, Chem. Ber. **104**, 456 (1971).

<sup>13)</sup> A. J. Murphy, J. A. Duke und L. Stowring, Arch. Biochem. **137**, 297 (1970).

Tab. 1. Darstellung von Derivaten des Purin-6-sulfonats

Synthese- produkt	Ansatz	Ausb.	Summenformel (Mol.-Masse)	Analyse	UV-Spektrum ( $\lambda$ in nm) Wasser, pH 6,0
<b>4</b>	1.42 g (5 mmol) <b>1</b>	1.7 g (96%)	$C_{10}H_{11}N_4O_7SNa$ (354.3)	Ber. C 33.9 H 3.14 N 15.8 S 9.03 Gef. C 34.0 H 3.44 N 15.6 S 8.90	$\lambda_{max}$ 272 ( $\epsilon$ 7.9 · 10 <sup>3</sup> ) $\lambda_{min}$ 229 ( $\epsilon$ 1.7 · 10 <sup>3</sup> )
<b>5</b>	748 mg (2.5 mmol) <b>2</b>	800 mg (87%)	$C_{10}H_{12}N_4O_7SNa$ (369.3)	Ber. C 32.6 H 3.35 N 19.0 S 8.63 Gef. C 33.0 H 3.76 N 18.5 S 8.70	$\lambda_{max}$ 322 ( $\epsilon$ 7.6 · 10 <sup>3</sup> ) 246 ( $\epsilon$ 4.8 · 10 <sup>3</sup> ) $\lambda_{min}$ 265 ( $\epsilon$ 0.8 · 10 <sup>3</sup> )
<b>6</b>	78 mg (0.25 mmol) <b>3</b>	1750 OD-Einh. (322 nm) (92%)	$C_{10}H_{12}N_4O_6SNa$ (353.3)		$\lambda_{max}$ 322 246 $\lambda_{min}$ 265
<b>9</b>	26 · 10 <sup>3</sup> OD-Einh. (322 nm) (1 mmol) <b>7</b>	7268 OD-Einh. (272 nm) (92%)	$C_{10}H_{10}N_4O_{10}P_3SNa_3$ (478.2)	Ber. P 6.48 Gef. P 6.35	$\lambda_{max}$ 272 ( $\epsilon$ 7.8 · 10 <sup>3</sup> ) $\lambda_{min}$ 229 ( $\epsilon$ 1.8 · 10 <sup>3</sup> )
<b>10</b>	13 · 10 <sup>3</sup> OD-Einh. (322 nm) (0.5 mmol) <b>8</b>	3412 OD-Einh. (272 nm) (298 mg) (87%)	$C_{10}H_{10}N_4O_{16}P_3SNa_5$ (682.2)	Ber. P 13.6 Gef. P 13.1	$\lambda_{max}$ 272 ( $\epsilon$ 7.8 · 10 <sup>3</sup> ) $\lambda_{min}$ 229 ( $\epsilon$ 1.7 · 10 <sup>3</sup> )

der Rückstand der präparativen Schichtchromatographie an Kieselgel im Lösungsmittel 4 unterworfen. Der Inhaltsstoff der am stärksten UV-absorbierenden Zone wurde mit Methanol eluiert, das Eluat eingedampft und der Rückstand aus Wasser umkristallisiert. Es wurden 198 mg (74%) farbloser Kristalle vom Schmp. 230°C (Lit.: 229°C<sup>14</sup>) erhalten.

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  259 nm ( $\epsilon$  15.3 · 10<sup>3</sup>),  $\lambda_{\min}$  226 nm.

C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (267.4) Ber. N 26.21 Gef. N 25.7

*2,6-Diaminopurin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)*: 200 mg (0.54 mmol) **5** wurden in 1 ml Wasser gelöst und mit NH<sub>4</sub>OH ein pH von 10 eingestellt. Die Reaktionslösung wurde 3 d bei Raumtemp. belassen. Die ausgefallenen Kristalle wurden abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und i. Vak. bei 40°C getrocknet. Ausb. 110 mg (72%) farbloser Kristalle vom Schmp. 250°C (Lit. 240°C<sup>15</sup>).

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  280 nm ( $\epsilon$  10<sup>4</sup>), 255 ( $\epsilon$  9 · 10<sup>3</sup>),  $\lambda_{\min}$  265 nm. — Fluoreszenzspektren (Wasser, pH 6): Emissionsmaximum 355 nm (Quantenausbeute  $Q = 0.01$ )<sup>16</sup>; Excitationspektrum  $\lambda_{\max}$  280 nm, 255;  $\lambda_{\min}$  265 nm.

C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (282.3) Ber. N 29.78 Gef. N 29.10

*6-(1-Aziridinyl)purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)* (**15**): 354 mg (1 mmol) **4** wurden in 5 ml Wasser mit 430 mg (10 mmol) Aziridin versetzt. Nach 15 h bei Raumtemp. wurde das Reaktionsgemisch eingedampft, der Rückstand der präparativen Schichtchromatographie an Kieselgel im Lösungsmittel 4 unterworfen und das Produkt mit Methanol eluiert. Das Eluat wurde zur Trockne eingedampft, in wenig Methanol aufgenommen und mit Petroläther ein amorpher Niederschlag ausgefällt; Ausb. 172 mg (59%).

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  267 nm ( $\epsilon$  10.4 · 10<sup>3</sup>), 275;  $\lambda_{\min}$  229 nm ( $\epsilon$  1.8 · 10<sup>3</sup>).

C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (293.3) Ber. N 23.9 Gef. N 23.0

*6-[2-(Benzylthio)äthylamino]purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)* (**17**): 100 mg (0.3 mmol) **15** wurden in 2 ml wasserfreiem DMF gelöst und mit 3.5 ml (30 mmol) Phenylmethanthiol versetzt. Nach Zugabe von 0.2 ml Triäthylamin beließ man das Reaktionsgemisch 12 h bei Raumtemp. Die Lösung wurde eingedampft und der Rückstand durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel im Lösungsmittel 5 aufgetrennt. Das Produkt wurde mit Methanol vom Kieselgel eluiert, das Eluat eingedampft und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 90 mg (63%) farbloser Nadeln vom Schmp. 123°C.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  268 nm ( $\epsilon$  16.5 · 10<sup>3</sup>),  $\lambda_{\min}$  223 nm ( $\epsilon$  4.7 · 10<sup>3</sup>).

C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S · C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (463.6) Ber. C 54.3 H 6.3 N 15.25 S 6.92

Gef. C 53.71 H 6.0 N 15.95 S 7.07

*6-(1-Aziridinyl)purin-9-( $\beta$ -D-ribofuranosid-5-monophosphat)* (**16**): 1000 OD-Einheiten (272 nm) (0.128 mmol) **9** wurden in 2.5 ml Wasser mit 0.1 ml Aziridin versetzt. Nach 4 h bei Raumtemp. wurde das Reaktionsgemisch papierchromatographisch im Lösungsmittel 1 aufgetrennt. **16** wurde aufgrund seines UV-Spektrums identifiziert und vom Papier mit Methanol/Wasser (1:1, v/v) eluiert, Ausb. 1225 OD-Einheiten (267 nm) (0.118 mmol, 92%).

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  267 nm ( $\epsilon$  10.4 · 10<sup>3</sup>), 275;  $\lambda_{\min}$  229 nm ( $\epsilon$  1.8 · 10<sup>3</sup>).

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>PNa<sub>2</sub> (417.2) Ber. P 7.42 Gef. P 7.84

<sup>14</sup>) *D'Ans-Lax*, Taschenbuch für Chemiker und Physiker, Bd. II, Springer Verlag, Heidelberg 1964.

<sup>15</sup>) *K. Imai, A. Nohara und M. Honjo*, Chem. Pharm. Bull. **14**, 1377 (1966).

<sup>16</sup>) *D. C. Ward, E. Reich und L. Styler*, J. Biol. Chem. **244**, 1228 (1969).



Tab. 2. Die photochemische Oxidation von Derivaten des 6-Thiopurins ( $\lambda$  in nm)

Synthese- produkt	Ansatz	UV-Spektrum Phosphat-Puffer pH 8,5	Fluoreszenz	Ammonolyse- produkt	UV-Spektrum	A <sub>250</sub> /A <sub>260</sub>
4	0.098 $\mu$ mol 1 in 2 ml Puffer	$\lambda_{\max}$ 272 $\lambda_{\min}$ 229	—	Adenosin	$\lambda_{\max}$ 259 $\lambda_{\min}$ 227	0.82
5	0.1 $\mu$ mol 2 in 2 ml Puffer	$\lambda_{\max}$ 320, 245 $\lambda_{\min}$ 270	—	2,6-Diaminopurin- 9-( $\beta$ -D-ribofuranosid)	$\lambda_{\max}$ 280, 255 $\lambda_{\min}$ 265	1.0
5	0.045 $\mu$ mol 2 in 3 ml Puffer	—	Emission $\lambda_{\max}$ 396 Excitation $\lambda_{\max}$ 322, 245 $\lambda_{\min}$ 270	—	—	—
6	0.0187 $\mu$ mol 3 in 3 ml Puffer	—	Emission $\lambda_{\max}$ 396 Excitation $\lambda_{\max}$ 322, 245 $\lambda_{\min}$ 270	—	—	—

Tab. 3. Papierchromatographie, Dünnschichtchromatographie und Elektrophorese ( $R_F$ -Werte)

Substanz	Papierchromatographie			Elektrophorese			Dünnschichtchromatographie			PEI-Cellulose				
	1	2	3	A	B	C	4	5	6	7	8	9	10	11
Adenosin	0.55	0.60	—	1.0	—	—	0.47	0.26	0.30	—	0.62	—	—	—
Guanosin	—	0.48	—	—	—	—	—	—	—	—	0.64	—	—	—
Inosin	0.47	0.49	0.69	1.1	—	—	0.39	—	—	—	—	—	—	—
1	0.33	0.48	—	0.33	—	—	0.51	0.29	0.50	0.73	—	—	0.61	—
2	0.41	—	—	0.00	—	—	0.38	0.10	0.46	—	—	0.50	—	—
3	0.49	0.43	—	2.8	—	—	—	—	—	—	—	0.60	—	—
4	0.40	0.30	—	3.0	—	0.80	0.00	—	—	—	0.35	0.60	0.77	—
5	0.46	—	—	1.2	—	0.66	—	—	—	—	0.24	0.50	—	—
6	—	0.08	0.31	—	1.85	1.06	—	—	—	—	—	—	0.15	0.28
7	—	—	0.18	—	3.48	1.45	—	—	—	—	—	—	—	0.06
8	—	0.07	0.41	—	3.42	1.44	—	—	—	—	—	0.08	0.15	0.44
9	—	—	0.31	—	3.90	1.54	—	—	—	—	—	—	—	0.10
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.49	0.45	—	—	—
Diaminopurin-nucleosid	0.70	—	—	—	—	—	0.65	0.51	—	—	—	—	—	—
15	0.44	0.20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.49	—
16	—	—	—	—	—	—	0.73	0.60	—	—	—	—	—	—
17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AMP	0.29	0.12	—	—	1.00	1.00	—	—	—	—	—	—	0.28	—

*Inosin*: Eine Probe **4** wurde in 0.1 N HCl gelöst und 9 h bei Raumtemp. belassen. Das pH der Lösung wurde mit 0.1 N NaOH auf pH 6 gebracht und von der Lösung ein Absorptionsspektrum aufgenommen:  $\lambda_{\max}$  248 nm,  $\lambda_{\min}$  223 nm; Verhältnis der Absorptionen 250 nm/260 nm = 1.71, 280 nm/260 nm = 0.23, 290 nm/260 nm = 0.02.

In der Dünnschichtchromatographie an Kieselgel im Lösungsmittel **4** erwies sich das Reaktionsprodukt als einheitlich und identisch mit Inosin.

*Guanosin*: Eine Probe **5** wurde analog zu **4** hydrolysiert. Dünnschichtchromatographie der Mischung an PEI-Cellulose im Lösungsmittel **8** ergab Guanosin als einziges Reaktionsprodukt.

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  253 nm,  $\lambda_{\min}$  223 nm; Verhältnis der Absorptionen 250 nm/260 nm = 1.15, 280 nm/260 nm = 0.66, 290 nm/260 nm = 0.25.

6- $^{35}\text{S}$ ]Thioinosin (**11**): 14.9 mg (0.05 mmol) **1** wurden in 1 ml einer  $0.2 \cdot 10^{-3}$  M Lösung von Schwefel in DMF bei 60°C gelöst. Dazu gab man 5  $\mu\text{l}$  2 M Triäthylammoniumhydrogencarbonat-Puffer pH 7.5, sowie 10  $\mu\text{l}$  einer Lösung von  $^{35}\text{S}$  in Benzol (0.026 mCi/ $\mu\text{l}$ ) und hielt das Gemisch 2 h bei 60°C. Die Lösung wurde auf ca. 0.2 ml eingeeengt, von ausgefallenem Schwefel abzentrifugiert und der Überstand an Kieselgel dünn-schichtchromatographisch zunächst im Lösungsmittel **5** und anschließend im Lösungsmittel **7** getrennt. Das Produkt wurde vom Kieselgel mit Methanol/Wasser (1:1) eluiert und das Eluat eingedampft. Man erhielt 580 OD-Einheiten (320 nm) (48 %) 6- $^{35}\text{S}$ ]Thioinosin mit einer spezif. Radioaktivität von 0.5 mCi/mmol.

UV (Wasser, pH 6):  $\lambda_{\max}$  322 nm,  $\lambda_{\min}$  250 nm.

*Durchführung der photochemischen Oxidationen*: Alle Reaktionen wurden in einer Quarzküvette (Volumen 3 ml, Schichtdicke 1 cm) in 0.1 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Puffer pH 8.5, der mit Luftsauerstoff gesättigt war, durchgeführt. Die Reaktionslösungen wurden bei 25°C in der Küvette mit Licht der Wellenlänge 325 nm bestrahlt. Zu bestimmten Zeiten wurde die Bestrahlung unterbrochen und vom Reaktionsgemisch Absorptions- bzw. Fluoreszenzspektren aufgenommen, sowie Proben für die Dünnschichtchromatographie entnommen. Nach beendeter Photooxidation wurde zu den Reaktionslösungen 0.1 ml konz.  $\text{NH}_4\text{OH}$  hinzugegeben und die stattfindende Ammonolyse absorptionsspektrophotometrisch verfolgt (Tab. 2).