

Nucleoside, XVII^{1a)}

Bildung und Strukturermittlung der 5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose – eine intramolekulare Alkylierung des 1-(2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazins

Kiyotaka Kobayashi^{1b)} und Wolfgang Pfeleiderer*

Fachbereich Chemie der Universität Konstanz,
Postfach 7733, D-7750 Konstanz

Eingegangen am 2. Februar 1976

1-(2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (**2**) geht beim Kochen in Wasser unter intramolekularer Alkylierung am N-8-Atom in die 5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (**5**) über. Deren Konstitution wird durch die Synthese verschiedener Derivate **9**–**13** sowie NMR-, CD- und UV-spektroskopische Untersuchungen gesichert. Die N-8-substituierten Lumazin-Derivate sind photolabil und werden unter Verlust der Seitenkette abgebaut.

Nucleosides, XVII^{1a)}

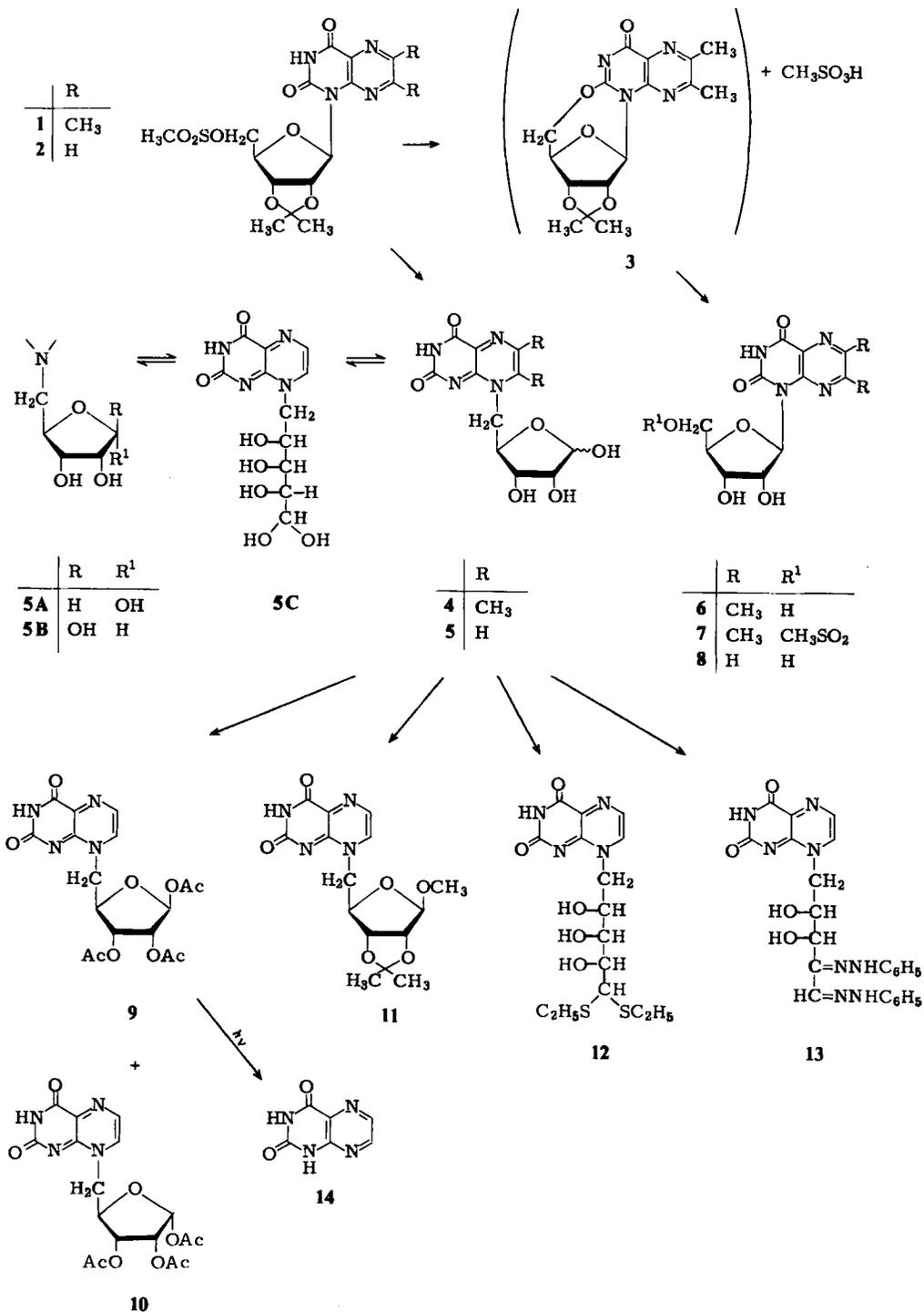
Formation and Structural Elucidation of 5'-Deoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose – An Intramolecular Alkylation Reaction of 1-(2',3'-O-Isopropylidene-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazine 1-(2',3'-O-Isopropylidene-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazine (**2**) is converted by boiling water in an intramolecular alkylation reaction into 5'-deoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (**5**). The constitution **5** has been proven by the synthesis of various derivatives **9**–**13** as well as n. m. r., c. d., and u. v. spectroscopic investigations. The N-8 substituted lumazine derivatives are photolabile and are decomposed by loss of the side-chain.

Beim Studium der chemischen Eigenschaften des 6,7-Dimethyl- (**1**) und 1-(2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazins (**2**) war uns aufgefallen, daß beim Kochen in Wasser **1** eine schwach gelbliche, **2** jedoch eine intensiv gelbgrün fluoreszierende Reaktionslösung liefert. Da sich **1** und **2** lediglich um zwei Methylgruppen unterscheiden, die neben einer sterischen nur noch eine schwache induktive Beeinflussung des Systems bewirken können, waren die Ursachen des verschiedenartigen Reaktionsverhaltens von Interesse.

Die chromatographische Untersuchung der Reaktionslösung von **1** ließ nach 1 h Kochen drei neue Substanzen erkennen, von denen zunächst das im UV-Licht absorbierende Nebenprodukt durch dünnschichtchromatographische Vergleiche als 6,7-Dimethyl-(β-D-ribofuranosyl)lumazin (**6**)^{1a)} identifiziert werden konnte. Das durch präparative Schichtchromatographie isolierte Hauptreaktionsprodukt wurde anhand der Elementaranalyse und des NMR-Spektrums als 1-(5'-O-Mesyl-β-D-ribofuranosyl)-6,7-dimethyl-

^{1) 1a)} XVI. Mitteil.: K. Kobayashi und W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 109, 3159 (1976), vorstehend. –

^{1b)} Alexander-von-Humboldt-Stipendiat 1971–1973.



lumazin (7) erkannt. Die bekannte Verseifung des Isopropylidenrestes mit 80proz. Essigsäure führte bei 1 zur selben Substanz 7 und diente als zusätzlicher Konstitutionsbeweis.

Das dritte Produkt schließlich zeichnet sich durch hellblaue bis gelbliche Fluoreszenz aus und dürfte aufgrund dieser Eigenschaft und ähnlichen chromatographischen Verhaltens strukturell 5, dem Hauptreaktionsprodukt aus 2, entsprechen. Infolge der geringen gebildeten Menge war es allerdings nicht möglich, 4 in Substanz zu isolieren und seine Konstitution eindeutig zu sichern.

Für die mechanistische Deutung dieser Umwandlungsreaktionen bietet sich als erster Schritt ein intramolekularer Angriff auf den Amidsauerstoff des Aglycons zum 2,5'-Anhydro-1-(2',3'-*O*-isopropyliden- β -D-ribofuranosyl)-6,7-dimethylumazin (3)^{1a)} an. Infolge zunehmender Acidität der Reaktionslösung durch die gleichzeitig freigesetzte Methansulfonsäure reagiert 3 weiter zu 6, während 1 einer direkten säurekatalysierten Hydrolyse zu 7 unterliegt. Die relative Stabilität von 7 in saurem Medium kann dabei als Stütze des gewählten Formalismus dienen.

Nach entsprechender Behandlung von 2 in siedendem Wasser ist chromatographisch ein analoges Produktmuster von drei Substanzen erkennbar, jedoch in anderem Mengenverhältnis der Komponenten. Als Hauptprodukt tritt hier die intensiv gelbgrün fluoreszierende Substanz in Erscheinung, während die beiden zusätzlichen Absorptionsflecken, von denen einer durch chromatographischen Vergleich als 1-(β -D-Ribofuranosyl)lumazin (8) identifiziert wurde, unbedeutende Nebenprodukte darstellen.

Für die Isolierung der gelben, überaus lichtempfindlichen Substanz bewährte sich am besten ein Aufarbeitungsprozess im Dunkellabor, der Neutralisation der Reaktionslösung

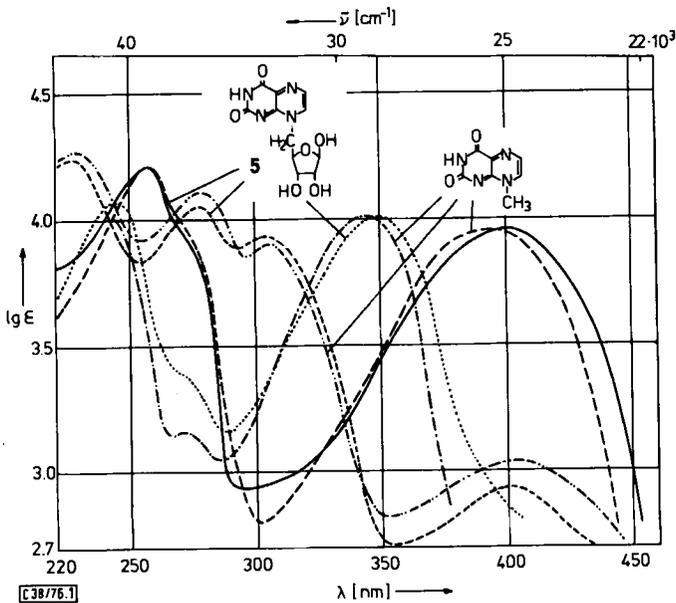
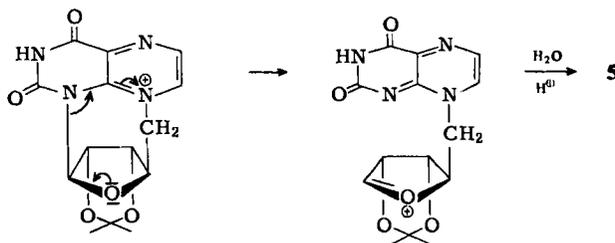


Abb. 1. UV-Absorptionsspektren der 5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (5) (pH 4.0) (pH 6.0) ———, (pH 12.0) - - - - und des 8-Methylumazins²⁾ (pH 2.7) - · - · - ·, (pH 6.0) ———, (pH 13.0) ·····.

mit Ionenaustauscher Dowex 50 (Acetat-Form), Einengen und Umkristallisation des Rückstandes einschließt. Man erhält so zu 55% einheitliche gelbe Nadeln der Summenformel $C_{11}H_{14}N_4O_7$, die allerdings keinen scharfen Schmelzpunkt zeigen. Optimale Ausbeute erbrachte 90min Erhitzen in Wasser, während bei Verwendung anderer Solventien wie Methanol, Aceton, Pyridin und Dimethylformamid im Chromatogramm lediglich das Ausgangsprodukt sichtbar war.

Bei der Konstitutionsermittlung des gelben Reaktionsproduktes **5** kam uns sein spektroskopisches Verhalten, das große Ähnlichkeit zu den *N*-8-substituierten Lumazinen²⁾ aufweist, sehr zu statten (Abb. 1).

Auch die basischen und aciden pK_a -Werte (Tab. 1) unterstreichen die strukturelle Analogie. Für die Bildung von **5** ist ein Angriff der C-5'-Funktion des Kohlenhydratrestes auf das sterisch günstige *peri*-ständige *N*-8-Atom wahrscheinlich. Es entsteht so ein „Amidinium“-Salz, dessen



glycosidische Bindung leicht hydrolysiert, woran sich die säurekatalysierte Abspaltung der Isopropylidengruppe anschließt. Das NMR-Spektrum in $[D_6]DMSO$ steht ebenfalls in Einklang mit einem *N*-8-substituierten Lumazin-Derivat, denn es erscheinen bei $\delta = 11.2$ ein austauschbares $N-H$ und bei 8.0 und 8.3 ppm die beiden aromatischen 6- und 7-H in Form klarer Dubletts während im Ausgangsprodukt **2** die chemische Verschiebung des AB-Quartetts bei 8.71 zentriert ist.

Ferner vermittelt das NMR-Spektrum wertvolle Informationen bezüglich der Feinstruktur des *N*-8-Substituenten. Das breite Dublett bei 6.46 ppm, das sich beim Erwärmen auf 50°C stark verbreitert und mit D_2O analog der $N-H$ - und den im Multipllett bei 5.0 ppm zentrierten beiden 2'- und 3'-OH-Gruppen durch H/D-Austausch verschwindet, ist nach Lage der chemischen Verschiebung eindeutig einer 1'- β -OH-Gruppe zuzuordnen, was dem β -Anomeren **5B** einen strukturellen Vorrang einräumt. Das schwache Signal bei 5.9 ppm deutet auf das gleichzeitige Vorliegen einer kleineren Menge an α -Anomeren **5A** im Gleichgewicht hin, wogegen nennenswerte Mengen des ringoffenen Aldehyds bzw. seiner Hydratform (**5C**) nicht nachweisbar sind.

Die strukturelle Bevorzugung von **5B** wird zusätzlich durch die Tatsache erhärtet, daß im H/D-Austauschspektrum das nunmehr sichtbare Anomerenproton bei 4.99 ppm als scharfes Singulett in Erscheinung tritt und damit eine rechtwinklige Diederbeziehung von 1'- und 2'-H nach Karplus³⁾ aufzeigt, wie sie in einer β -konfigurierten *N*-Typ⁴⁾-Konformation verwirklicht ist.

Zur weiteren Charakterisierung der 5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (**5**) haben wir noch einige Reaktionen mit dieser Substanz durchgeführt. Mit Acetanhydrid in Pyridin wird als Hauptprodukt ein kristallisiertes Triacetyl-Derivat (**9**) erhalten, dem wir aufgrund des Singulett-Signals des Anomerenprotons im NMR-Spektrum wieder eine furanoide β -glycosidische Struktur zuordnen. Das entsprechende α -Anomere (**10**)

²⁾ W. Pfeleiderer, J. W. Bunting, D. D. Perrin und G. Nübel, Chem. Ber. **99**, 3503 (1966).

³⁾ L. D. Hall, Adv. Carbohydr. Chem. **19**, 51 (1964).

⁴⁾ C. Altona und M. Sundaralingam, J. Amer. Chem. Soc. **94**, 8205 (1972); **95**, 2333 (1973).

ist sicher ein weiteres Reaktionsprodukt, das sich anhand des ähnlichen R_F -Wertes chromatographisch nachweisen, infolge der geringen Menge jedoch nicht in Reinsubstanz isolieren ließ. Bei Behandlung von **5** mit Methanol/HCl und 2,2-Dimethoxypropan in Aceton laufen die aus der Kohlenhydratchemie her bekannten Reaktionen unter Bildung der Methyl-5'-desoxy-2',3'-*O*-isopropyliden-5'-(lumazin-8-yl)- β -D-ribofuranosid (**11**) ab. Ihre Strukturermittlung basiert auf der Elementaranalyse, dem Massenspektrum, das das Molekülion mit einer relativen Intensität von 25% anzeigt, und dem NMR-Spektrum.

Letzteres ist insofern wieder bemerkenswert, als das Anomerenproton erneut als scharfes Singulett auftritt und sich die beiden diastereotopen 5'-H_A- und -H_B-Protonen durch ungewöhnlich stark verschiedene chemische Verschiebungen, $\delta = 4.11$ und 4.66 ppm, auszeichnen. Das 5'-H_A zeigt dabei die Kopplungskonstanten $J_{5'A,5'B} = 14$ Hz und $J_{5'A,4'} = 10$ Hz, während das im Multiplett von 4.50–4.80 ppm schwierig lokalisierbare 5-H_B Kopplungen der Größe $J_{5'B,5'A} = 14$ Hz und $J_{5'B,4'} = 5$ Hz erkennen läßt. Strukturell stehen diese Kopplungen mit einer Konformation in Einklang, die als Besonderheit eine eingefrorene C-4'–C-5'-Bindung aufweist. Das 5'-H_A nimmt dabei eine *trans*-diaxiale Lage zum 4'-H ein, wodurch das 5'-H_B zum selben H in eine 60°-Beziehung gelangt, die sich allerdings infolge der internen Spannung nicht in der theoretisch zu erwartenden Kopplungskonstanten ausdrückt.

Abb. 2 soll veranschaulichen, daß in **11** infolge der Starrheit des Kohlenhydratrestes wohl noch eine Rotation um die N-8–C-5', jedoch nicht mehr um die C-5'–C-4'-Bindung gegeben ist.

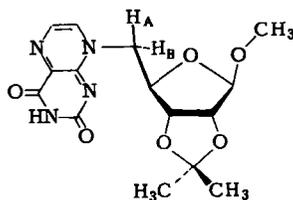


Abb. 2. Angenommene Molekülstruktur des Methyl-5'-desoxy-2',3'-*O*-isopropyliden-5'-(lumazin-8-yl)- β -D-ribofuranosids (**11**)

Das Wegdrehen des Aglycons vom Zuckerteil des Moleküls offenbart sich ferner in den chemischen Verschiebungen der beiden CH₃-Gruppen des Isopropylidenrestes, die sich bei einer engeren Wechselwirkung der Molekülhälften nach *Imbach*⁵⁾ durch eine größere „Shift“-Differenz hätten unterscheiden müssen.

Umsetzung von **5** mit Äthylmercaptan in konz. Salzsäure bei –10 bis 0°C führt zum ringoffenen Thioacetal (**12**), dessen Konstitution zweifelsfrei aus den UV- und NMR-Spektren sowie der Elementaranalyse abgeleitet werden kann. Schließlich geht **5** auch mit Phenylhydrazin in das äußerst schwerlösliche Osazon **13** über.

Die strukturellen Beziehungen zwischen **5** und seinen Derivaten **9**, **11**, **12** und **13** treten in den UV-Spektren der Monokationen, Neutralkomplexe und Monoanionen, die auf den spektrophotometrisch bestimmten pK_a -Werten⁶⁾ beruhen, deutlich in Erscheinung (Tab. 1). Nicht nur die starke hypsochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande bei der Protonierung zum Kation sondern auch der starke Extinktionsabfall derselben Bande bzw. ihr völliges Fehlen als Ausdruck eines hohen Gehaltes an kovalenter Hydratform²⁾ im alkalischen Bereich sind

⁵⁾ B. Rayner, C. Tapiero und J. L. Imbach, *J. Heterocycl. Chem.* **10**, 417 (1973).

⁶⁾ A. Albert und E. P. Serjeant, *The Determination of Ionization Constants*, S. 44, Chapman and Hall Ltd. London 1971.

Tab. 1. Physikalische Daten *N*-8-substituierter Lumazine

	pK-Werte in H ₂ O 20°C		UV-Absorptions-Spektren		pH- Wert	Mole- külar ^{a)}
	λ_{\max} (nm)	$\lg \epsilon$	λ_{\max} (nm)	$\lg \epsilon$		
8-Methylumazin ²⁾	-0.10 ± 0.1 9.89 ± 0.04	241 272	344 392	4.03 3.16 4.21 3.97	-2.7 6.0	+ 0
5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (5)	-1.12 ± 0.1 9.51 ± 0.1	230 280 307 405	350	4.27 4.10 3.90 3.04	13.0	-
1',2',3'-Tri- <i>O</i> -acetyl-5'-desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranose (9)	-2.04 ± 0.1 8.83 ± 0.1	242 273 257 [275] 400 227 279 306 400	349 402	4.06 3.37 4.01 4.18 [3.88] 3.96 4.24 4.06 3.93 2.94	-4.0 6.0 12.0	+ 0 -
Methyl-5'-desoxy-2',3'- <i>O</i> -isopropyliden-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranosid (11)	-1.28 ± 0.1 9.24 ± 0.1	242 270 258 [275] 398	348	4.07 3.22 4.02 4.18 [3.90] 3.94 4.14 4.02 3.90 2.62	-4.9 6.0 11.0	+ 0 +
5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribose-diäthylthioacetal (12)	-0.95 ± 0.07 8.68 ± 0.1	227 278 306 398 243 275 348 257 [275] 398 231 278 313	398	4.25 4.10 3.97 2.84 4.09 3.50 3.98 4.17 [3.92] 3.94 4.23 4.13 3.90	12.0 -3.0 6.0 12.0	- + 0 -
5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribose-phenyllosazon (13)		274 390 457	457	4.55 3.98 3.81	CH ₃ OH	0

[] Schulter. ^{a)} + = Kation, 0 = Neutralmolekül, - = Monoanion.

Tab. 2. CD-Spektren 8-substituierter Lumazine in Methanol

	λ_{\max} (nm)	Θ
6,7-Dimethyl-8-ribitylumazin	228 255 [290] 325 415	+ 5800 - 3150 + 1300 + 3150 - 1400
1,2,3'-Tri- <i>O</i> -acetyl-5'-desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranose (9)	225 258 275 300 320 402	+ 8650 - 4400 + 650 - 100 + 100 - 7600
5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (5)	[220] 248 278 298 328 395	+ 1450 + 6350 - 950 + 500 - 200 + 3000
Methyl-5'-desoxy-2',3'- <i>O</i> -isopropyliden-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranosid (11)	220 250 280 295 323 395	- 4400 + 10200 - 880 ± 0 - 1450 + 9600
5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribose-diäthylthioacetal (12)	215 230 250 [290] 325 405	± 0 - 2400 + 6100 ± 0 - 1900 + 7200

charakteristische Strukturmerkmale, die diese Substanzen zu den eingehend untersuchten 8-alkyl-substituierten Lumazinen²⁾ in Parallele setzen.

Bezieht man die CD-Spektren mit in die Betrachtungen ein und vergleicht mit dem 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin⁷⁾ als Modells substanz, so fällt auf, daß keine grundlegende Übereinstimmung herrscht: lediglich in **9** entsprechen sich die Polarisierungen der einzelnen Übergänge, während die Spektren von **5**, **11** und **12** unter sich ähnlich und durch annähernd spiegelbildlichen Verlauf ausgezeichnet sind (Abb. 3, Tab. 2). Eine Analyse dieser komplizierten Verhältnisse muß künftigen Untersuchungen vorbehalten bleiben.

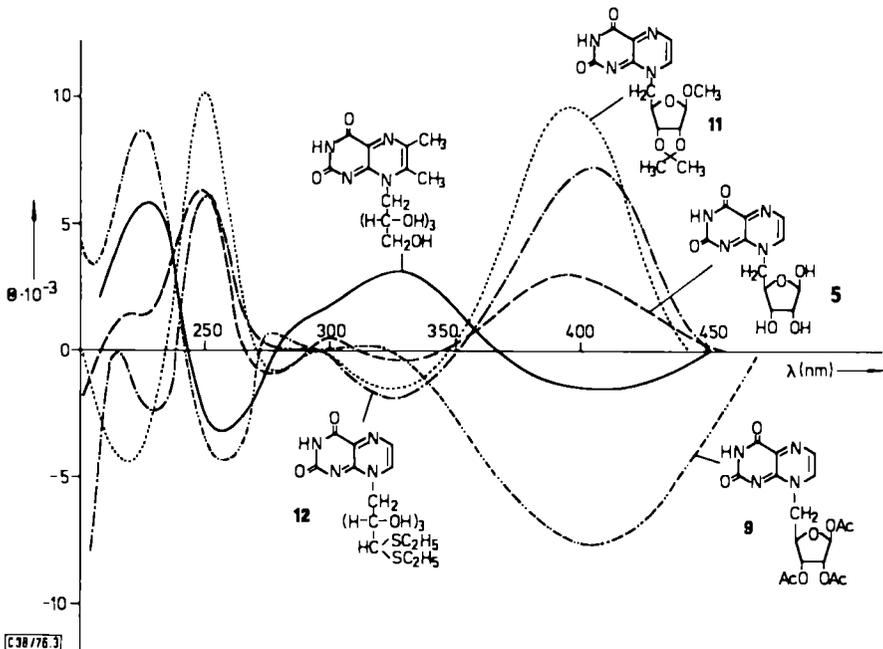


Abb. 3. CD-Spektren von 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin ———, **5** - - - - -, **9** ·····, **11** ····· und **12** - - - - -

In ersten orientierenden Versuchen haben wir uns auch mit der eingangs erwähnten Photolabilität von **5** und seinen Derivaten beschäftigt. Über die extreme Lichtempfindlichkeit, die das Arbeiten mit diesen Substanzen im Dunkellabor erforderlich machte, gaben die zeitlichen Veränderungen der UV-Spektren unter aeroben Bedingungen im Tageslicht bzw. bei Bestrahlung mit einer 250-Watt-Projektorlampe Auskunft. **9** ist noch relativ beständig und wird bei intensiver Bestrahlung mit ungefiltertem Projektorlicht in einheitlicher Reaktion mit einer Halbwertszeit von 5 min innerhalb einer Stunde zum Lumazin (**14**)⁸⁾ abgebaut. Die Identität mit authentischem Material konnte auf chromatographischem und spektroskopischem Wege gesichert werden.

Unter analogen Bedingungen zeigen **5** und **11** photochemische Veränderungen mit Halbwertszeiten von 1 min bzw. 10 s, wobei sich in gegenläufiger Verschiebung der lang-

⁷⁾ W. Pfeleiderer und G. Nübel, Chem. Ber. **93**, 1406 (1960).

⁸⁾ W. Pfeleiderer, Chem. Ber. **90**, 2588 (1957).

und kurzwelligen Absorptionsbande des Ausgangsproduktes ein neuer Verbindungstyp mit Banden im Bereich 275 und 322 nm ausbildet. Ein entsprechendes Bild zeigt die zeitliche Veränderung im normalen Tageslicht, das bei **5** die Photoumwandlung mit einer Halbwertszeit von 6 min innerhalb einer Stunde bewirkt. Obwohl aus der isobestischen Kurvenschar wieder auf einen einheitlichen Reaktionsverlauf geschlossen werden kann, ist uns die Identifizierung der jeweiligen Photolyseprodukte aus **5** und **11** bislang noch nicht gelungen.

Die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* und der *Fonds der Chemischen Industrie* haben diese Arbeit in dankenswerter Weise unterstützt. Unser Dank gilt ferner der *Alexander-von-Humboldt-Stiftung* für die Bereitstellung eines Stipendiums und der chem.-techn. Assistentin Frau *M. Bischler* für die Ermittlung verschiedener physikalischer Daten.

Experimenteller Teil

UV-Absorptions- und CD-Spektren: Cary-Recording-Spectrometer, Modell 1115/15 bzw. 1115/60, der Fa. Applied Physics Corp. NMR-Untersuchungen: Bruker HFX-90-Gerät. Dünnschichtchromatogramme: auf Kieselgel- bzw. Cellulose-Folien der Firmen Macherey-Nagel und Schleicher & Schüll. Präp. Schichtchromatographie: auf Merck Silicagel PF₂₅₄ in 2 mm Schichtdicke. Säulenchromatographie: mit Merck Silicagel 0.05–0.2 mm Korngröße. Die kristallisierten Substanzen wurden meist bei 100°C im Trockenschrank und die festen amorphen Materialien bei Raumtemp. im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose (5): 1.0 g 1-(2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)lumazin (**2**)¹¹ werden in 70 ml Wasser 1.5 h unter Rückfluß im Dunkellabor gekocht. Man läßt abkühlen, behandelt mit Ionenaustauscher Dowex 50, Acetat-Form, und engt das Filtrat auf ein kleines Vol. ein. Die abgeschiedenen gelben Kristalle werden gesammelt, mit wenig kaltem Wasser, Methanol, Aceton und Äther gewaschen (0.47 g). Die Reinigung wird, wie alle vorstehenden Operationen, unter Lichtausschluß durch Umkristallisation aus 8 ml Wasser vorgenommen. Es scheiden sich 0.3 g (40%) gelbe Kristalle ab, die sich ab 160°C braun färben und über 200°C allmählich schwarz werden.

$C_{11}H_{12}N_4O_6 \cdot H_2O$ (314.2) Ber. C 42.04 H 4.49 N 17.38 Gef. C 42.16 H 4.47 N 17.50

1-(5'-O-Mesyl-β-D-ribofuranosyl)-6,7-dimethylumazin (7)

a) 0.39 g 1-(2',3'-O-Isopropyliden-5'-O-mesyl-β-D-ribofuranosyl)-6,7-dimethylumazin (**1**)¹¹ werden in 50 ml Wasser 30 min unter Rückfluß gekocht. Man engt zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in 1 ml Methanol auf, filtriert von wenig Ungelöstem ab und versetzt mit einem Überschuß an Äther. Nach Stehenlassen im Eisschrank wird der Niederschlag gesammelt (0.28 g). Dreimaliges Umkristallisieren liefert 0.064 g (18%) farblose Kristalle vom Schmp. 165–175°C (Zers.).

b) 0.5 g **1** werden in 30 ml 80proz. Essigsäure 1.5 h unter Rückfluß gekocht. Nach Einengen zur Trockne wird im Vakuumexsikkator über festem NaOH getrocknet. Der Rückstand wird in 2–3 ml Methanol gelöst und auf 3 präp. Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) aufgetragen. Man entwickelt mit Chloroform/Methanol (5/1), eluiert die Hauptzone (R_F 0.53) mit Chloroform/Methanol (2/1) und engt erneut ein. Der Rückstand ergibt aus 2 ml Methanol 0.15 g (33%) farblose Kristalle, die sich ab 167°C braun färben und bei 173–174°C unter Zers. schmelzen.

$C_{14}H_{18}N_4O_8S$ (402.3) Ber. C 41.78 H 4.50 N 13.92 S 7.96
Gef. C 41.13 H 4.36 N 13.44 S 7.88

1',2',3'-Tri-O-acetyl-5'-desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranose (9): 0.31 g *5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribofuranose* (5) werden in 10 ml Acetanhydrid/Pyridin (1/1) suspendiert und über Nacht im Dunkeln bei Raumtemp. gerührt. Man zentrifugiert den Niederschlag ab, wäscht mit wenig Äthanol und Äther (0.2 g) und bringt durch partielles Einengen eine zweite Fraktion gelber Kristalle (0.06 g) zur Abscheidung. Aus Methanol 0.21 g (48 %) gelbe, lichtempfindliche Kristalle vom Schmp. 197 – 198°C (Zers.).

$C_{17}H_{18}N_4O_9$ (422.3) Ber. C 48.34 H 4.30 N 13.27 $COCH_3$ 41.70
Gef. C 48.36 H 4.28 N 13.13 $COCH_3$ 41.51

Einengen des Reaktionsfiltrates und Chromatographie des Rückstandes läßt neben 9 eine zweite Komponente mit sehr ähnlichem R_F -Wert erkennen, die als das Anomere 10 angesehen wird, infolge der geringen Menge jedoch nicht isoliert und charakterisiert wurde.

Methyl-5'-desoxy-2',3'-O-isopropyliden-5'-(lumazin-8-yl)-β-D-ribofuranosid (11): Zur Suspension von 0.38 g 5 in 10 ml Methanol gibt man 1 ml gesättigte methanolische HCl und 10 ml 2,2-Dimethoxypropan in 10 ml absol. Aceton. Man rührt 4 h bei Raumtemp., neutralisiert mit Pyridin und engt zur Trockne ein.

a) Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform/Methanol (15/1) gelöst und über eine Kieselgelsäule (30 × 4 cm) im selben Lösungsmittelgemisch chromatographiert. Man fängt 15-ml-Fractionen auf und findet das gesuchte Reaktionsprodukt in den Fractionen 60 – 80. Einengen liefert 0.15 g (34 %) chromatographisch reines Produkt, das aus 5 ml Äthanol/Aceton (4/1) umkristallisiert wird. Sämtliche Operationen wurden im Dunkellabor durchgeführt und ergeben 0.061 g (14 %) gelbe Kristalle, die sich ab 200°C langsam braun färben und bei 258 – 260°C unter Zers. schmelzen.

b) Erfolgt die Aufarbeitung über präp. Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm), so wird der Rückstand in 5 ml Methanol gelöst und auf 5 Platten aufgetragen. Nach Entwickeln mit Chloroform/Methanol (9/1) wird das gelbe Band mit R_F 0.2 mit Chloroform/Methanol (2/1) eluiert, eingengt und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert: 0.12 g (28 %) gelbe Kristalle vom Schmp. 258 – 260°C (Zers.).

$C_{15}H_{18}N_4O_6$ (350.3) Ber. C 51.42 H 5.18 N 15.99 Gef. C 51.57 H 5.14 N 16.06

5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribose-diäthylthioacetal (12): 0.4 g 5 werden in 1 ml konz. Salzsäure bei – 5 bis 0°C gelöst und mit 0.1 ml Äthylmercaptan versetzt. Man rührt 1 h bei 0°C im Dunkeln, gibt 10 ml Methanol und 50 ml Wasser zu und behandelt zur Neutralisation mit Dowex 50 (Acetat-Form). Das Filtrat wird zur Trockne eingengt und der Rückstand nach Lösen in 5 ml Methanol auf 5 präp. Kieselgelplatten (40 × 20 × 0.2 cm) aufgetragen. Es wird mit Chloroform/Methanol (9/1) entwickelt, das stark gelb fluoreszierende Band (R_F 0.2) mit Chloroform/Methanol (2/1) eluiert und auf ein kleines Vol. eingengt. Nachdem sämtliche Operationen im Dunkellabor ausgeführt wurden, erhält man nach Stehenlassen im Eisschrank 0.125 g (25 %) feine gelbe Nadeln, die sich nach Trocknen im Vakuumexsikkator bei 130 – 137°C zersetzen.

$C_{15}H_{22}N_4O_5S_2 \cdot H_2O$ (420.4) Ber. C 42.85 H 5.75 N 13.33 S 15.22
Gef. C 42.91 H 5.78 N 13.20 S 15.04

5'-Desoxy-5'-(lumazin-8-yl)-D-ribose-phenylosazon (13): 0.17 g 5 werden durch leichtes Erwärmen in 3 ml 25proz. wäbr. Essigsäure gelöst und dann mit 0.15 ml frisch dest. Phenylhydrazin versetzt. Es scheidet sich sofort ein gelber Niederschlag ab, der nach 1 h Rühren gesammelt und mit kaltem Wasser, Aceton sowie Methanol gewaschen wird. Nach Trocknen erhält man 0.2 g (75 %) gelbe Kristalle, die ab 225°C langsame Verfärbung, ab 315°C Zers. zeigen.

$C_{23}H_{22}N_8O_4 \cdot 3H_2O$ (528.5) Ber. C 52.37 H 5.30 N 21.21 Gef. C 52.60 H 4.82 N 20.92

[38/76]