

Basenkatalysierte *N*-Glycosidhydrolyse nach Alkylierung von 2-Thiocytidin mit Iodacetamid*)

Manfred Kröger* und Friedrich Cramer

Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Chemie,
Hermann-Rein-Str. 3, D-3400 Göttingen

Eingegangen am 4. Mai 1976

Die Alkylierung des seltenen Nucleosids 2-Thiocytidin (1) mit Halogenacetamid (2) führt zu einem Produkt der kationischen Struktur 3. Die optimale Alkylierungsgeschwindigkeit wird bei pH 6 erreicht. Isoliertes 3 zersetzt sich in Wasser unabhängig vom pH-Wert: Für den Bereich von pH 3 bis 8 wird eine Hydrolyse der glycosidischen Bindung beobachtet, deren Geschwindigkeit der Konzentration an OH⁻-Ionen nahezu proportional ist. Bei pH 9 findet ein Wechsel im Zersetzungsmechanismus statt, so daß im pH-Bereich oberhalb von 9 Produkte unter Erhaltung der glycosidischen Bindung beobachtet werden. 4-Amino-2-carbamoylmethylthio-1-(β-D-ribofuranosyl)pyrimidinium-chlorid (3a) ist das erste Beispiel für einen basenkatalysierten Hydrolysemechanismus in der Pyrimidin-Nucleosid-Reihe.

Alkaline Hydrolysis of the *N*-Glycosidic Bond of the Product of Alkylation of 2-Thiocytidine by Iodoacetamide*)

The alkylation of the rare nucleoside 2-thiocytidine (1) by halogenoacetamide (2) leads to a product with the cationic structure 3. The optimal rate of the alkylation is at ≈ pH 6. The isolated 3 is not stable in water at any pH: Between pH 3 and 8 a hydrolysis of the glycosidic bond is observed the rate of which is almost directly proportional to the OH⁻-concentration. Above pH 9 a change in the reaction mechanism is observed, and products with intact glycosidic bonds are formed. 4-Amino-2-carbamoylmethylthio-1-(β-D-ribofuranosyl)pyrimidinium chloride (3a) is the first example of a base catalyzed hydrolysis of the glycosidic bond in the pyrimidine nucleoside series.

2-Thiocytidin (1) kommt als seltenes Nucleosid in zwei transfer-Ribonucleinsäuren vor¹⁾ und kann enzymatisch in das allen transfer-Ribonucleinsäuren gemeinsame CpCpA-Ende eingebaut werden²⁾. 1 wird am 2-S-Atom durch Alkylierungsreagenzien wie Methyljodid³⁾ oder Ethylenimin⁴⁾ alkyliert. Mit Iodacetamid (2) gelingt so die Alkylierung der 2-Thiocytidin enthaltenden transfer-Ribonucleinsäure⁵⁾ in wäßriger Lösung zu einem Produkt mit der Teil-Struktur 3. Führt man die Reaktion jedoch mit dem freien Nucleosid 1 durch, so entstehen neben dem gewünschten Alkylierungsprodukt eine Reihe von

*) Teil der Diplom- und Doktorarbeit von M. Kröger, Univ. Hamburg 1974, und Techn. Univ. Braunschweig, in Vorbereitung.

¹⁾ B. G. Barrrell und B. F. C. Clark, Handbook of Nucleic Acid Sequences, Joynson-Bruvvers Ltd., Oxford 1974.

²⁾ M. Sprinzl, K. H. Scheit und F. Cramer, Eur. J. Biochem. **34**, 306 (1973).

³⁾ T. Ueda und H. Ohtsuka, Chem. Pharm. Bull. **21**, 1530 (1973).

⁴⁾ B. R. Reid, Biochemistry **9**, 2852 (1970).

⁵⁾ M. Sprinzl, E. Krämer und D. Stehlik, Eur. J. Biochem. **49**, 595 (1974).

Auftragung in Abb. 2 ermöglicht dann direkt die Bestimmung des Verhältnisses der radioaktiven Produkte zu einem gewissen Zeitpunkt.

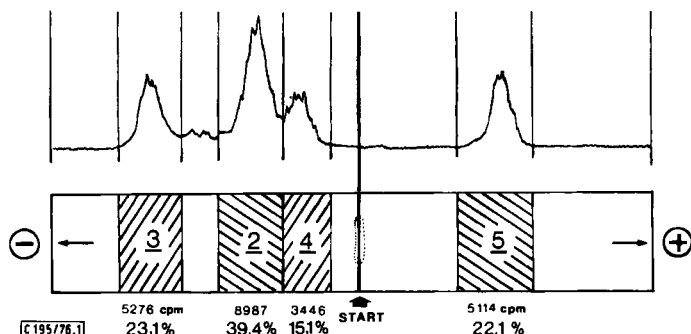


Abb. 1. Beispiel einer dünnschichtchromatographischen Trennung der Reaktions- und Hydrolyseprodukte aus der Reaktion $1 + [^{14}\text{C}]-2 \rightarrow 3 + 4 + 5$ bei pH 5 nach 23,5 h Reaktionszeit. Die Lage der radioaktiven Substanzen wurde mit einem Dünnschichtscanner bestimmt. Die schraffierten Segmente wurden aus der Kieselgelschicht ausgekratzt und daraus die Radioaktivität zu den eingezeichneten Werten bestimmt

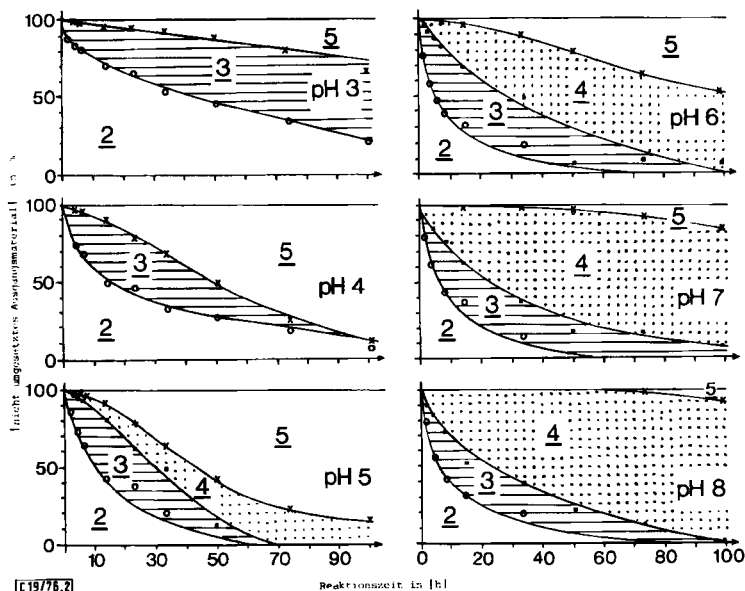


Abb. 2. Verteilung der Radioaktivität auf Ausgangsmaterial und Reaktionsprodukte in Abhängigkeit von der Reaktionszeit bei pH 3 bis pH 8. $\circ \circ \circ = [2]$; $\blacksquare \blacksquare \blacksquare = \{[2] + [3]\}$; $\times \times \times = \{[2] + [3] + [4]\}$

Bei der Auswertung der Daten für die Standardpuffer⁸⁾ pH 9, 10 und 11 fällt jedoch auf, daß die Werte für [2] nicht stetig abnehmen, sondern nach einer gewissen Zeit sogar wieder ansteigen. Da jedoch auszuschließen ist, daß die Reaktion reversibel abläuft, kann nur vermutet werden, daß ein zusätzliches Reaktionsprodukt mit den chromatographischen Eigenschaften von 2 entsteht. Damit ist für die pH-Werte oberhalb von pH 9

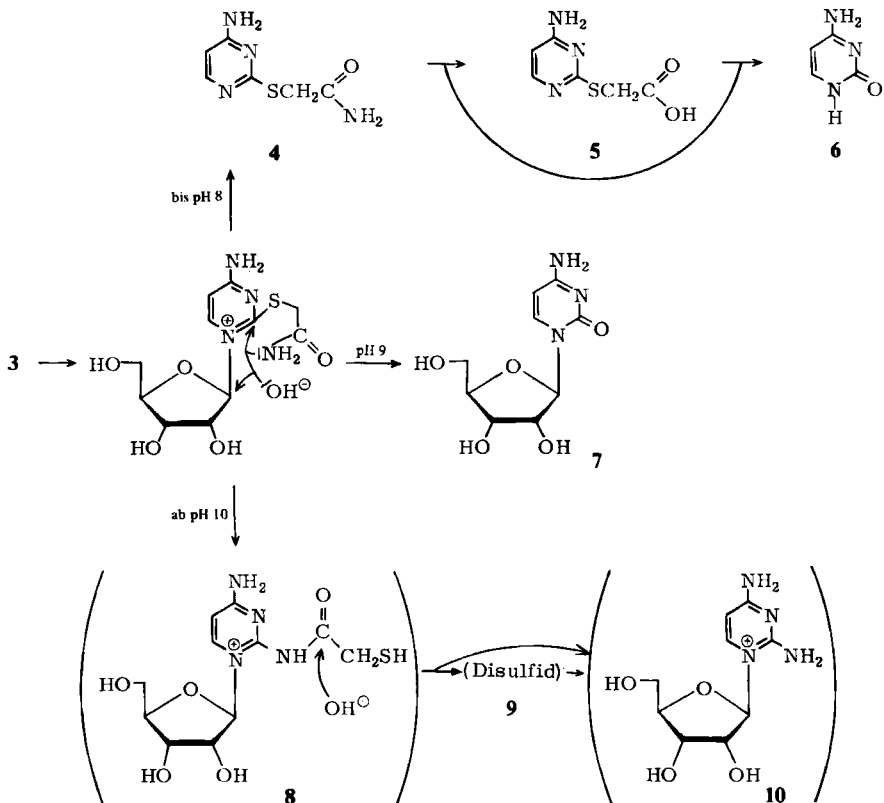
diese Auswertungsmethode nicht anwendbar. Für kinetische Betrachtungen kann zwar die Anfangsabnahmegeschwindigkeit für [2] mit dieser Methode noch ohne größere Fehler bestimmt werden, aber eine Produktanalyse ist nicht möglich.

Will man aber auch die Zerfallsgeschwindigkeit des gebildeten Alkylierungsproduktes 3, also die Geschwindigkeit der Abnahme für [3] bestimmen, so muß eine andere Auswertungsmethode benutzt werden, die als Ausgangsmaterial das Alkylierungsprodukt 3 verwendet.

Zerfall von 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenid 3 in wäßriger Lösung

4-Amino-2-carbamoylmethylthio-1-(β -D-ribofuranosyl)pyrimidinium-chlorid (3a)⁶⁾ wurde mit Standardpufferlösungen⁸⁾ bei verschiedenen pH-Werten bei Raumtemperatur belassen. Nach verschiedenen Zeiten wurde dünnschichtelektrophoretisch untersucht. Mit Hilfe eines Densitometers wurden die Substanzkonzentrationen durch Löschung der Eigenfluoreszenz der verwendeten Kieselgeldünnschichtplatten gemessen. Dabei konnten alle diejenigen Hydrolyseprodukte beobachtet werden, die eine genügend große UV-Absorption besitzen.

Aus 3 entstehen sieben verschiedene Produkte. Abb. 3 zeigt die Trennung der Produkte, die nach 20.5 h Reaktionszeit bei den verschiedenen pH-Werten entstanden sind. Vier



Produkte konnten durch den Vergleich mit authentischen Proben von (4-Aminopyrimidin-2-ylthio)acetamid (4)⁹⁾, (4-Aminopyrimidin-2-ylthio)essigsäure (5)^{9,10)}, Cytosin (6)¹⁰⁾ und Cytidin (7)³⁾ identifiziert werden. Dabei ist 4 das Produkt einer Hydrolyse der glycosidischen Bindung. 5 und 6 entstehen aus 4^{9,10)}. 7 entsteht nur bei pH 9 in nennenswerten Konzentrationen. Bei den pH-Werten 10 und 11 treten nacheinander drei neue Produkte auf, für die kein Vergleichsmaterial zur Verfügung stand. Ihre Konstitution kann jedoch auf Grund ihres Verhaltens in der Dünnschichtelektrophorese und auf Grund der Tatsache, daß diese Produkte nur nacheinander auftreten, als 8, 9 und 10 wahrscheinlich gemacht werden. Modelluntersuchungen mit den 1-Methylpyrimidinen sichern diese Vermutung ab¹¹⁾.

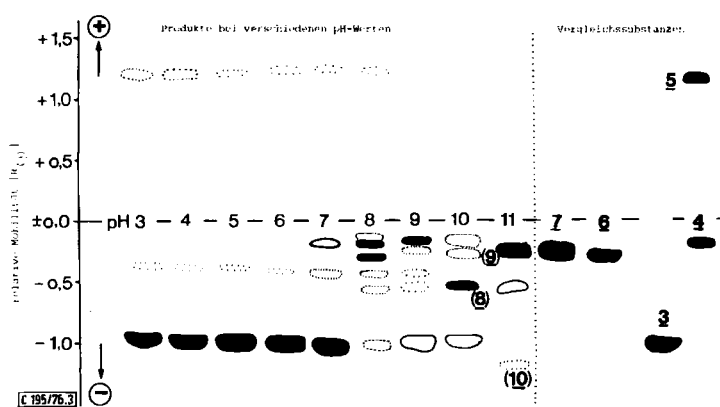


Abb. 3. Die Zersetzungsprodukte des 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenids 3 nach 20.5 h Reaktionszeit bei pH 3 bis pH 11. Die Trennung erfolgte dünnschichtelektrophoretisch, die Identifizierung durch cochromatographierte Vergleichssubstanzen 3, 4, 5, 6 und 7

Reaktionskinetische Auswertungen

Die kinetische Verfolgung der Alkylierungsreaktion $1 + 2 \rightarrow 3$ durch Änderung des UV-Spektrums zeigt, daß bei pH-Werten von 3 bis 8 und bei hohem Überschuß an 2 die Reaktion nach pseudoerster Ordnung abläuft. Bei pH 6 bis 8 gilt die erste Ordnung nur bis ca. 70% Umsatz, da die gebildeten Hydrolyseprodukte die Auswertung mit Hilfe des UV-Spektrums stören. Bei pH 9 wird eine Reaktion erster Ordnung nicht mehr beobachtet.

Trägt man die 50%-Umsatzzeit gegen den pH-Wert auf, so sieht man, daß ungefähr ab pH 6 ein Optimum der Reaktionsgeschwindigkeit erreicht wird (Abb. 4a). Danach ändert sie sich nur noch unwesentlich.

Dasselbe Bild ergibt sich, wenn man die 50%-Umsatzzeit der Umsetzung von $[1-^{14}\text{C}]$ -Iodacetamid mit fünffachem Überschuß an 2-Thiocytidin (1) in Abhängigkeit vom pH-Wert aufträgt. Die Reaktion ist im sauren Medium langsamer und erreicht ab pH 6 das pH-Optimum für die Alkylierungsgeschwindigkeit (Abb. 4b).

¹⁰⁾ G. H. Hitchings, G. B. Elion, E. V. A. Falco und P. B. Russell, J. Biol. Chem. 177, 357 (1949).

¹¹⁾ M. Kröger, M. Sprinzl und F. Cramer, in Vorbereitung.

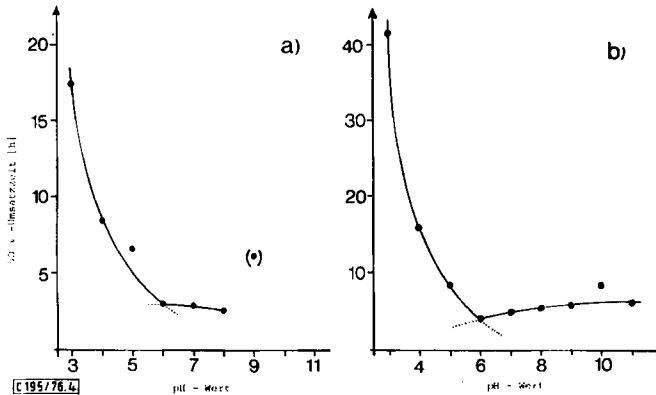


Abb. 4. Vergleich der 50%-Umsatzzeit der Alkylierungsreaktion $1 + 2 \rightarrow 3$,
 a) Aus der Änderung des UV-Spektrums bei 50fachem Iodacetamid-Überschuß.
 b) Aus der Umsetzung mit $[1-^{14}\text{C}]$ Iodacetamid mit 5fachem Überschuß an 2-Thiocytidin (1)

Die Kinetik der Hydrolyse-Reaktion läßt sich sowohl aus den Meßdaten der Alkylierungsreaktion mit $[1-^{14}\text{C}]$ Iodacetamid (Abb. 2) als auch direkt aus der Hydrolyse von 3 bestimmen. In Abb. 5a sind die nach Tab. 2 berechneten Werte als % nicht umgesetztes Ausgangsmaterial 3 logarithmisch gegen die Zeit aufgetragen und man erkennt keine lineare Abhängigkeit. Das zeigt, daß die Reaktion weder nach nullter¹²⁾ noch nach erster Ordnung abläuft.

Wenn man die pH-Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit betrachtet, so ergibt sich aus Abb. 5b und Tab. 1, daß die Hydrolysegeschwindigkeit von pH 3 nach pH 8 stetig steigt. Bei pH 9 wird jedoch eine verlangsamte Reaktion beobachtet, während danach bis pH 11 die Zerfallsgeschwindigkeit wieder deutlich zunimmt. Während Tab. 1 zeigt, daß nahezu dieselben 50%-Umsatzzeiten durch die Alkylierungsreaktion mit $[1-^{14}\text{C}]$ Iodacetamid und aus dem isolierten 3 erhalten werden, zeigt Abb. 5b die pH-Abhängigkeit

Tab. 1. Vergleich der kinetischen Daten der Hydrolyse- und Zersetzungsreaktion. Spalte 1: Berechnete Daten aus der Alkylierungsreaktion mit $[1-^{14}\text{C}]$ Iodacetamid. Spalte 2: Gemessene Daten aus dem isolierten 3

pH	Spalte 1		Spalte 2	
	50% Umsatzzeit	50% Umsatzzeit	20% Umsatzzeit	20% Umsatzzeit
3	120 h	120 h	275 h	
4	36 h	90 h	230 h	
5	23 h	66 h	175 h	
6	20 h	23 h	120 h	
7	16 h	3 h	45 h	
8	11 h	1.5 h	8 h	
9	14.5 h	4 h	36 h	
10	9 h	3 h	18 h	
11	12 h	0.5 h	3 h	

¹²⁾ Dabei herrschen wieder besondere Verhältnisse oberhalb von pH 9¹¹⁾.

der Zeit, nach der noch 20% Ausgangsmaterial vorhanden ist. Hier liegen die deutlichsten Unterschiede vor.

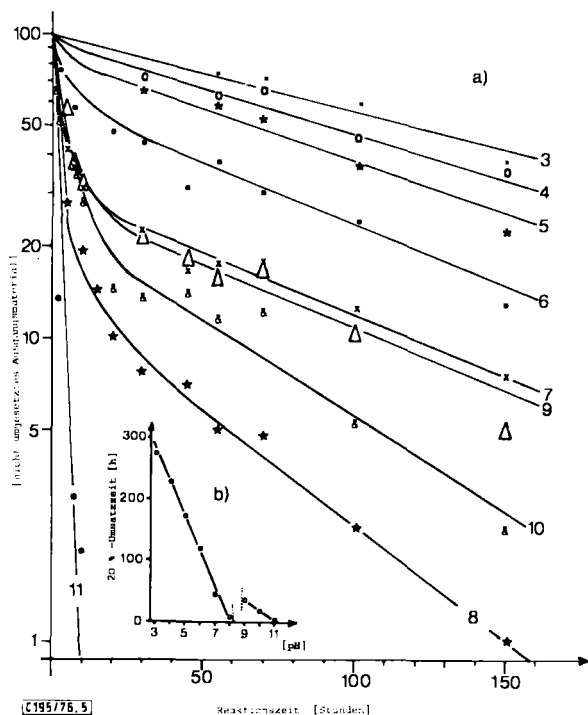


Abb. 5. a) Abnahme der Konzentration an 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenid **3** für verschiedene pH-Werte 3 bis 11. b) Abhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit vom pH-Wert dargestellt durch die 20%-Umsatzzeit – 20% **3** sind noch vorhanden (vgl. Tab. 1)

Läßt man die besonderen Verhältnisse oberhalb von pH 9 außer Betracht¹¹⁾, so können diese ermittelten Daten dazu herangezogen werden, einen Vorschlag für den Mechanismus der Hydrolyse der glycosidischen Bindung zu machen.

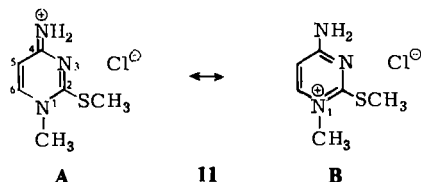
Zum Mechanismus der Glycosidhydrolyse bei 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenid **3**

Pyrimidin-Nucleoside können im Gegensatz zu Purin-Nucleosiden in saurem Medium nur unter äußerst drastischen Bedingungen am glycosidischen Zentrum hydrolysiert werden¹³⁾. Allgemein wird dafür als Begründung angenommen, daß nur dann Protonierung am anomeren Stickstoff als Voraussetzung der Hydrolyse auftritt. Durch Röntgenstrukturanalyse am Modell 4-Amino-1-methyl-2-(methylthio)pyrimidinium-chlorid (**11**) konnten wir kürzlich zeigen¹⁴⁾, daß in diesem S-alkylierten Pyrimidin-System die aroma-

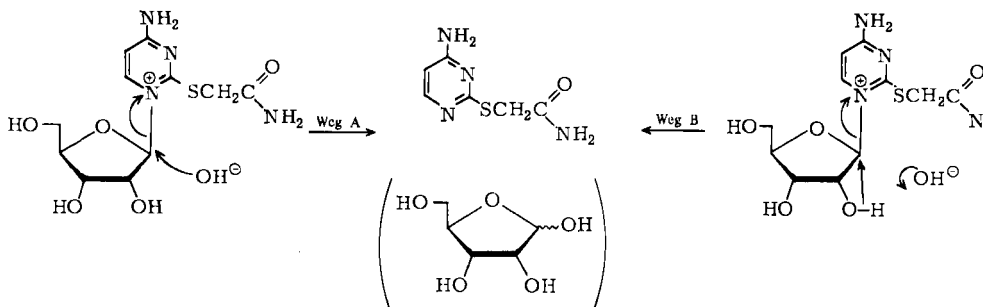
¹³⁾ N. K. Kochetkov und E. I. Budovskii (Herausg.), *Organic Chemistry of Nucleic Acids (Part B, Chapter 8)* Plenum Press, London und New York 1972; B. Capon, *Chem. Rev.* **69**, 407, besonders 448–454 (1969), und die darin aufgeführten Zitate.

¹⁴⁾ J. K. Dattagupta, M. Kröger und W. Saenger, *Chem. Ber.* **110**, 353 (1977), vorstehend.

tische Grenzstruktur **B** mit Ladungsschwerpunkt auf N-1 wesentlich mehr Gewicht hat als die chinoide Form **A** ^{7, 15, 16}).



Da sich die positive Ladung permanent auf dem glycosidischen N-1 befindet, stellt die hier beschriebene Hydrolyse des 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenids **3** insofern einen Sonderfall dar, als man hier untersuchen kann, ob die Glycosidhydrolyse unimolekular oder in einem weiteren Schritt bimolekular pH-abhängig erfolgt. Da die Hydrolyse von **3** einerseits pH-abhängig ihre Geschwindigkeit ändert und andererseits keine Reaktion nullter Ordnung darstellt, kann ein unimolekularer Zerfall des Kations ausgeschlossen werden. Aus Abb. 5 muß dagegen geschlossen werden, daß die OH⁻-Ionen direkt in die Hydrolysereaktion eingreifen, da die Hydrolysegeschwindigkeit bis zum Wechsel im Reaktionsmechanismus mit wachsender OH⁻-Ionen-Konzentration stetig steigt.



Bei oberflächlichem Vergleich dieser Ergebnisse mit denen von *Ueda* und *Ohtsuka*³⁾ sowie denen von *Lee* und *Wigler*¹⁷⁾ ergibt sich nur wenig Übereinstimmung. Doch obwohl keine näheren experimentellen Einzelheiten angegeben sind, lassen sich alle Daten zwanglos in Einklang bringen: *Ueda* erhält bei 2-S-Methylthiocytidin eine Spaltung der glycosidischen Bindung bei erhöhter Temperatur und pH 2.3, weil das Medium noch nicht zu sauer ist, während *Lee* und *Wigler* durch Alkylierung von 2-Thiocytidin (**1**) mit der aciden Chloressigsäure ein so stark saures Medium (ungefähr pH 1.2) erreichen, daß nur noch die Bildung von Cytidin (**7**) analog *Hitchings* und *Mitarbb.*¹⁰⁾ beobachtet wird. Eine basenkatalysierte Hydrolyse für Pyrimidin-Nucleoside wird nur noch von *Vorbrüggen* und *Mitarbb.*¹⁸⁾ unter allerdings sehr viel drastischeren Bedingungen berichtet.

¹⁵⁾ D. J. Brown, *The Pyrimidines*, Interscience Publishers, New York und London 1962, und Suppl. I 1971.

¹⁶⁾ A. F. Russell, M. Prystasz, E. K. Hamamura, J. P. H. Verheyden und J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **39**, 2182 (1974).

¹⁷⁾ H.-J. Lee und P. W. Wigler, *Biochemistry* **7**, 1427 (1968).

¹⁸⁾ H. Vorbrüggen, K. Krolkiewicz und U. Niedballa, *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, 988.

Vergleicht man nun die beschriebenen Hydrolyseeigenschaften des kationischen 2-*S*-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-halogenids **3** mit denen des ebenfalls kationischen Purin-Nucleosids 7-Methylguanosin¹⁹⁾, so findet man eine vergleichbare Labilität der glycosidischen Bindung; auch findet man beim 7-Methylguanosin einen Wechsel im Zerfallsmechanismus bei höheren pH-Werten. Weiterhin wird das kationische „Pyridin-Nucleosid“ NAD enzymatisch unter Bildung von polyADPR so gespalten, daß die 2'-OH-Gruppe der Ribose am anomeren Zentrum angreift²⁰⁾. Ob es sich bei dieser Basenkatalyse um einen generellen Mechanismus handelt, und ob ein direkter Angriff von OH⁻ am glycosidischen Zentrum (Weg A) oder eventuell eine Beteiligung von Nachbargruppen z. B. der 2'-OH-Gruppe (Weg B) vorliegt, muß offen bleiben²¹⁾. Aber mit dem hier beschriebenen Fall kennt man nun aus allen drei Klassen von Nucleosiden – Purin-, Pyrimidin- und Pyridin-Nucleoside – je ein Beispiel für eine basenkatalysierte Glycosidhydrolyse.

Wir sind Herrn Dr. *M. Sprinzl* für wertvolle, kritische Anregungen zu Dank verpflichtet. Den Herren Prof. *F. Seela* und Dr. *D. Gauß* sowie Herrn Dr. *H. Vorbrüggen* danken wir für hilfreiche Diskussionen bei der Abfassung des Manuskriptes.

Experimenteller Teil

UV-Spektren: Zeiss PMQ II bzw. Shimadzu UV 200-Spektrometer. Die analytische Dünnschichtelektrophorese wurde auf Kieselgeldünnschichtplatten mit UV_{254 nm}-Fluoreszenzindikator (ICN-Woelm, Eschwege) in einer DE-Doppelkammer (DESAGA, Heidelberg) ausgeführt. Als Elektrophoresepuffer diente 0.1 M Na-Citrat-Puffer pH 6.5. Quantitative Auswertung mit Hilfe des Berthold-Dünnschichtscanners II LB 2723 (Berthold, Wildbad-Karlsruhe) und mit dem Densitometer Vitatron TCD 100 (Dieren, Niederlande). Die ¹⁴C-Radioaktivität wurde im TriCarb Liquid Scintillation Spectrometer 3385 (Packard-Instruments, Frankfurt) bestimmt.

Als Pufferlösungen dienten die Standardpufferlösungen nach *Sørensen*⁸⁾. 4-Amino-2-carbamoylmethylthio-1-(β-D-ribofuranosyl)pyrimidinium-chlorid (**3a**) wurde nach Lit.⁶⁾, 2-Thiocytidin (**1**) nach Lit.²²⁾, (4-Aminopyrimidin-2-ylthio)acetamid (**4**) und (4-Aminopyrimidin-2-ylthio)essigsäure (**5**) nach Lit.⁹⁾ dargestellt. [¹⁴C]Iodacetamid wurde von Amersham (Braunschweig) bezogen (spezif. Aktivität 56 µCi/mmol). Durch „Verdünnung“ mit unmarkiertem Iodacetamid wurde eine 1 mM Stammlösung mit 0.56 µCi/ml hergestellt.

Umsetzung von 2-Thiocytidin (1) mit Iodacetamid (2): Ein Gemisch aus 5 µl 10 mM **1**, 250 µl 10 mM **2**, 500 µl Standardpuffer und 250 µl Wasser wurde in einer Quarzküvette (Vol. 1 ml) bei Raumtemp. belassen. Nach verschiedenen Zeiten wurde das UV-Spektrum gemessen.

Umsetzung von 2-Thiocytidin (1) mit [¹⁴C]Iodacetamid ([¹⁴C]-2): Das Gemisch aus 25 µl 10 mM **1**, 50 µl 1 mM [¹⁴C]-**2** und 150 µl Standardpuffer wurde bei Raumtemp. belassen. Nach verschiedenen Zeiten wurden 15-µl-Proben entnommen und dünnschichtelektrophoretisch auf Kieselgeldünnschichtplatten aufgetrennt. Wie in Abb. 1 als Beispiel dargestellt, wurde zuerst die Verteilung der Radioaktivität mit Hilfe eines Dünnschichtscanners gemessen. Dann wurden die schraffierten Segmente konstanter Breite ausgekratzt und aus dem Kieselgelpulver im Szintillationszähler die Radioaktivität gemessen. Aus der Auftragung in Abb. 2 wurden die Werte für die pH-Abhängigkeit gemäß Abb. 4 gewonnen.

¹⁹⁾ P. D. Lawley und P. Brookes, *Biochem. J.* **89**, 127 (1963).

²⁰⁾ T. Sugimura, *Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **13**, 127 (1973).

²¹⁾ R. Shapiro und M. Danzig, *Biochemistry* **11**, 23 (1972).

²²⁾ H. Vorbrüggen und P. Strehlke, *Chem. Ber.* **106**, 3039 (1973).

Umsetzung von 2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-chlorid **3a** mit Wasser: Das Gemisch aus 10 µl 5.7 µM **3a**, 50 µl Standardpuffer und 50 µl Wasser wurde bei Raumtemp. belassen. Nach verschiedenen Zeiten wurden Proben entnommen, die dünnschichtelektrophoretisch aufgetrennt wurden. Dabei ergab sich eine Auftrennung, wie in Abb. 3 als Beispiel dargestellt. Durch Verwendung von Kieselgeldünnschichtplatten mit Fluoreszenzindikator war die quantitative Auswertung der Chromatogramme mit Hilfe eines Densitometers möglich. Die automatische Integrationseinheit des Densitometers lieferte Meßwerte, die nach Abzug des Untergrundwertes der 254-nm-Absorption der separierten Substanz entsprechen. Um nun die molaren Verhältnisse der Substanzen zueinander und zum Ausgangsmaterial berechnen zu können, wurden die Meßwerte mit einem Faktor Φ multipliziert:

$$\Phi = \frac{\text{Extinktion (254 nm) für } \mathbf{3a}}{\text{Extinktion (254 nm) für das Hydrolyseprodukt } i}$$

In Tab. 2 ist die Berechnung des Faktors Φ dargestellt.

Tab. 2. UV-Spektroskopische und chromatographische Daten der Produkte

Produkt	Nr. i	Extinktion λ_{\max}	Extinktion 254 nm	Φ	$R_{(3)}$ ^{b)}	R_F ^{c)} LS I ^{d)} LS II ^{e)}
2-Thiocytidin	1					0.81 0.69
2-S-(Carbamoylmethyl)thiocytidin-chlorid	3a	245 nm 18 800	16 658	1	1	0.50 0.03
Amid	4	225 nm 19 100	7 109	2.34	-0.20	0.56 0.77
Carbonsäure	5	225 nm 17 400	7 228	2.30	+1.14	0.69 0.39
Cytosin	6	267 nm 6 164	4 768	3.49	-0.33	
Cytidin	7	271 nm 9 117	6 645	3.51	-0.27	0.75 0.44
„Amido-cytidin“	[8]	216 nm 28 700 ^{a)}	7 590 ^{a)}	2.19 ^{a)}	-0.58	
Disulfid	[9]				-0.19	
„Diamino-cytidin“	[10]	210 nm 25 800	ca. 8 000 ^{a)}	2.08	-1.31	

^{a)} Diese Werte sind Schätzungen aus den Modelluntersuchungen¹⁾ oder aus der Lit.³⁾

^{b)} Elektrophoretische Mobilität relativ zu **3a**.

^{c)} Kieselgeldünnschichtchromatographie.

^{d)} LS I = 0.1 M NaCl.

^{e)} LS II = CHCl₃/CH₃OH (1 : 1).

Die Fehler, mit denen die einzelnen Meßwerte behaftet sind, sind bei dieser Auswertung weniger beeinflussend, da sich die einzelnen Faktoren Φ , nur gegenüber dem Ausgangsmaterial **3** wesentlich, untereinander aber nur unwesentlich unterscheiden.