the substrate. Though the details on the reaction mechanism is unknown, it might present unique informations for the complete elucidation of the reaction mechanism of D-amino acid oxidase. Several lines of evidence on aerobic and anaerobic reactions of the holoenzyme with β -chloro-D-alanine suggest that some special type of reaction is involved during catalysis. When these results are referred to recent report by WALSH et al.² that both

pyruvate and chloropyruvate are formed as the reaction product and the ratio of the formation is dependent on oxygen tension, it is considered that a certain intermediate state of the enzyme may play an important role for those β -elimination and oxidation reactions. The facts that the aerobic and anaerobic reactions of the holoenzyme with β -chloro-D-alanine had two or three phases, may be related with those elimination and oxidation reactions.

- ¹ Y. MIYAKE, T. ABE, and T. YAMANO, The 2nd International Symposium on Oxidases and Related Redox Systems (1971), ed. T. KING, H. S. MASON, and M. MORRISON, in press.
- ² C. T. WALSH, A. SCHONBRUNN, and R. H. ABELES, J. biol. Chemistry **246**, 6855 [1971].
- ³ H. KUBO, T. YAMANO, M. IWATSUBO, H. WATARI, T. SHIGA, and A. ISOMOTO, Bull. Soc. chim. Biol. **42**, 569 [1960].
- ⁴ V. MASSEY, G. PALMER, and R. BENNETT, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **48**, 1 [1961].

- ⁵ K. YAGI and T. OZAWA, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **56**, 420 [1962].
- ⁶ Y. MIYAKE, K. AKI, S. HASHIMOTO, and T. YAMANO, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **105**, 86 [1965].
- ⁷ A. G. GORNALL, J. BARAWILL, and M. M. DAVID, J. biol. Chemistry **177**, 751 [1949].
- ⁸ L. G. WHITBY, Biochem. J. **54**, 437 [1953].
- ⁹ T. E. FRIEDEMANN and G. E. HAUGEN, J. biol. Chemistry **147**, 415 [1943].
- ¹⁰ H. WADA and E. E. SNELL, J. biol. Chemistry **237**, 127 [1962].

Untersuchungen zur Konfiguration von 4-Nitroimidazol-nucleosiden

Investigations on the Configuration of 4-Nitro Imidazole Nucleosides

HARTMUT VERGIN **, HERMANN BAUER*, GISELA KUHFITTIG *
und WOLFGANG VOELTER *

Chemisches Institut * und Institut für Physiologische Chemie ** der Universität Tübingen

(Z. Naturforsch. **27 b**, 1378—1385 [1972]; eingegangen am 2. Juni/7. August 1972)

Nucleosides, Circular Dichroism, Nuclear Magnetic Resonance, Carbohydrate Copper Complexes

It is demonstrated that the 220—225 nm Cotton effect of 4-nitro imidazole nucleosides can be used for the determination of the configuration of this class of compounds. A more detailed picture about conformation and configuration of the sugar residue is received from the copper-ammonia complexes of these nucleosides.

The pH-dependency of the stability and the complex ratio are discussed for a furanose moiety. Correlation between signs and intensities of the Cotton effects and configurations and conformations of the diol structures are discussed.

4-Nitroimidazolnucleoside bestimmter Struktur hemmen die DNS-abhängige RNS-Polymerase aus *E. coli* und zeigen bakteriostatische Wirkung^{1,2}. Über die Hemmechanismen dieser Nucleoside ist jedoch noch wenig bekannt. Zur Aufklärung dieser Wirkungsmechanismen ist die genaue Kenntnis von Konfiguration und Konformation dieser Nucleosid-Substrate jedoch Voraussetzung.

Die Konfigurationen und Konformationen von Nucleosiden werden heute hauptsächlich durch physikalisch-chemische Strukturanalysen wie Massenspektrometrie³⁻⁶, Protonenresonanz^{7,8}, ¹³C-Resonanz⁹⁻¹¹, Fluorresonanz¹², Circular dichroismus^{13,14} und magnetischen Circular dichroismus untersucht^{15,16}.

In dieser Arbeit wird beschrieben, welche Aussagen der Circular dichroismus über die Stereochemie von 4-Nitroimidazolnucleosiden, potentiellen Cytostatica, zu machen vermag.

Sonderdruckanforderungen an Dozent Dr. WOLFGANG VOELTER, Chemisches Institut der Universität Tübingen, D-7400 Tübingen, Auf der Morgenstelle.

Tab. I. $\epsilon_{\max}$, $[\theta]_{\max}$ -Werte und Wellenlängen der Lichtabsorptionsbanden und Cotton-Effekte von Nucleosid-Kupfertetrammin-Komplexen.

Name	Formel	pH (gemessen)	Lichtabsorption		Circulardichroismus		
			Bande 1 $\lambda_{\max}, \epsilon$	Bande 2 $\lambda_{\max}, \epsilon$	Bande 1 $\lambda_{\max}, [\theta]$	Bande 2 $\lambda_{\max}, [\theta]$	Bande 3 $\lambda_{\max}, [\theta]$
4-nitro-1- β -D-glucopyranosyl-imidazol 1 1-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 11,15	286,4 6360	(S) 220 3670	280 -705	247 +151 315 +233	218 -2460 260 -345
4-Nitro-1- α -D-arabino-pyranosyl-imidazol 2 2-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 10,95	285,8 7700	(S) 220 4930	290 +1410 580 -512	225 +2480 235 +6380	225 +2480 235 -3620
4-Nitro-1- α -L-arabino-pyranosyl-imidazol 3 3-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 11,3	285,6 7580	(S) 220 4450	290 -1350 580 +573	218 -3200 280 -7300	218 -3200 235 +3670
4-Nitro-1- β -D-xylo-pyranosyl-imidazol 4 4-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 11,3	284,2 7700	218 4320	285 -382 585 +262	250 +1020 285 -4360	220 -2160 242 +2180
4-Nitro-1- α -L-rhamno-pyranosyl-imidazol 5 5-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 11,1	285,8 5120	(S) 220 3230	280 -1070 580 +443	220 -2140 280 -6270	220 -2140 242 +7480
4-Nitro-1- β -D-ribo-pyranosyl-imidazol 6 6-[Cu(NH ₃) ₄]-Komplex		7 11,0	284,8 7260	(S) 220 4520	290 -985 580 +127	220 -4230 296 -6050	220 -4230 251 +530
4-Nitro-1- β -D-2'-desoxy-ribo-furanosyl-imidazol 7		7	285 6960	(S) 220 4530	330 +335		
4-Nitro-1- α -D-arabino-furanosyl-imidazol 8		7	286 7220	225 3730	290 +630		225 +4400
4-Nitro-1- α -L-arabino-furanosyl-imidazol 9		7	286 7380	220 440	305 -650		220 -1960
4-Nitro-1- β -D-Xylo-furanosyl-imidazol 10		7	288,5 6500	225 5530	315 -308	259 +2230	217 -3460
Adenosin 11 11 als Komplex		11,1 11,1			266 -4230 600 -560	220 +3840 233 +4430 266 -9200	

J = Nitroimidazol, S = Schulter.

Diskussion der Lichtabsorptionsspektren

In Tab. I sind die Daten der Lichtabsorptionsspektren der hier untersuchten 4-Nitroimidazolnucleoside zusammengestellt. Imidazol selbst zeigt bei Wellenlängen >200 nm nur eine Bande bei 207–208 nm ($\epsilon = 5010$)¹⁷.

Das 4(5)-Nitroimidazol existiert in zwei tautomeren Formen:

Das Hauptmaximum liegt in 0,1 N NaOH bei 350 nm ($\epsilon = 10190$), im schwach sauren (pH 4,7) bei 297 nm ($\epsilon = 6400$) und in 5 M HClO₄ bei 269 nm ($\epsilon = 7040$). Ähnlich wie bei pH 4,7 ist das Spektrum in Äthanol (Neutrale Spezies!). In 5 M HClO₄ liegt die monoprotonierte Spezies vor. Bei der Substitution des mit Stickstoff verknüpften Protons durch eine Methylgruppe (Modell für 4-Nitroimidazolnucleoside) ändern sich die spektralen Eigenschaften nur wenig: die neutrale Spezies von 1-Methyl-4-nitroimidazol zeigt in Wasser ein Absorptionsmaximum bei 300 nm ($\epsilon = 7270$) und in monoprotoniertem Zustand (5 M HClO₄) bei 269 nm ($\epsilon = 7160$)¹⁸.

Aus der pH-Abhängigkeit der Lichtabsorptionsspektren der 4-Nitroimidazolnucleoside geht hervor, daß das langwellige Maximum bei pH 1 um 292 nm, bei pH 7 um 295 nm und bei pH 13 um 297 nm liegt. Die in alkalischer Lösung auftretende starke bathochrome Verschiebung der Absorptionsbanden des 4-Nitroimidazols kann bei den 4-Nitroimidazolnucleosiden nicht beobachtet werden. Die beim 4-Nitroimidazol mögliche Bildung des Anions **12** ist bei dem mit Zucker substituierten Molekül **13** ausgeschlossen, da im Nucleosid der Imidazolrest kein dissoziierendes Proton mehr zur Verfügung hat.

Diskussion der Circular dichroismusspektren

In der Tab. I und den Abbildungen sind die Circular dichroismus-Daten und -Spektren von 4-Nitroimidazolnucleosiden zusammengestellt bzw. abgebildet.

Während das Lichtabsorptionsspektrum im Bereich von 200–350 nm eindeutig zwei Banden zeigt (die kurzwellige Bande ist meist als eindeutige Schulter zu erkennen), sind im Circular dichroismusspektrum in diesem Wellenlängenbereich oft drei Cotton-effekte vorhanden.

Die Maxima der kurzwelligen Absorptionsbanden der 4-Nitroimidazolnucleoside bei 220 nm stimmen weitgehend mit den entsprechenden Cotton-effekt-maxima überein. Weder das Lichtabsorptionsspektrum noch das Circular dichroismusspektrum lassen darauf schließen, daß im Wellenlängenbereich um 220 nm mehrere Elektronenübergänge zur Absorption bzw. zum Dichroismus beitragen. Im Gegensatz dazu wird jedoch die bei 295 nm liegende Absorptionsbande mit größter Wahrscheinlichkeit durch verschiedene Elektronenübergänge, also überlappende Banden verursacht. Wesentliche Hinweise hierfür sind Schultern in der Absorptionsbande und vor allen Dingen das Auftreten von oft zwei Cotton-effekten (z. B. bei **4** oder **10**) in diesem Spektralbereich. Aus den Diskussionen über die Absorption des Nitrochromophors^{19–24} geht hervor, daß wir im Bereich dieser Bande sowohl wenigstens einen $n \rightarrow \pi^*$, als auch $\pi \rightarrow \pi^*$ -Elektronenübergang zu erwarten haben.

Wie die Circular dichroismusspektren der hier untersuchten 4-Nitroimidazolnucleoside erkennen lassen, dürfen wir im Bereich von 250–350 nm wenigstens zwei Cotton-effekte, mit vermutlich alternierenden Vorzeichen, erwarten. Wahrscheinlich ist durch Überlagerung der Banden oft nur ein Cotton-effekt sichtbar.

Zur Konfigurationsbestimmung dieser Nucleosidklasse sollte daher der stets gut separierte Cotton-effekt bei 220–225 nm verwendet werden.

Korrelation zwischen Circular dichroismus und Nucleosidkonfiguration

Durch die Bestimmung der Kopplungskonstanten $J_{1'}$, $J_{2'}$ des anomeren Protons^{1, 2, 7} und Anwendung der Karplusgleichung²⁵ ist eine Bestimmung der Konfiguration der hier beschriebenen Glykopyranosynucleoside möglich. Weniger eindeutig sind die Aussagen der Protonenresonanz der Glykofuranosynucleoside.

In der Tab. II werden die aus den Kopplungskonstanten $J_{1'}$, $J_{2'}$ gefolgerten Konfigurationen und Konformationen von 4-Nitroimidazolnucleosiden mit

Tab. II. Konfiguration und Konformation (bestimmt durch $^1\text{H-NMR}$), Vorzeichen und Intensität der Cottonneffekte bei 220–225 nm von 4-Nitroimidazolnucleosiden.

Verbindung (Konfiguration)	Kon- formation	220–225 nm
4-Nitro-1- β -D-glucopyranosyl- imidazol (1)	C 1	– 2460
4-Nitro-1- α -D-arabino- pyranosyl-imidazol (2)	1 C	+ 2480
4-Nitro-1- α -L-arabino- pyranosyl-imidazol (3)	C 1	– 3200
4-Nitro-1- β -D-xylo-pyranosyl- imidazol (4)	C 1	– 2160
4-Nitro-1- α -L-rhamno- pyranosyl-imidazol (5)	C 1 *	– 2140
4-Nitro-1- β -D-ribo-pyranosyl- imidazol (6)	C 1	– 4230
4-Nitro-1- β -D-2'-desoxy-ribo- furanosyl-imidazol (7)	—	—
4-Nitro-1- α -D-arabino- furanosyl-imidazol (8)	—	+ 4400
4-Nitro-1- α -L-arabino- furanosyl-imidazol (9)	—	– 1960
4-Nitro-1- β -D-xylo-furanosyl- imidazol (10)	—	– 3460

* Die große Kopplungskonstante von $J_{1',2'} = 7,5 \text{ Hz}$ spricht für C 1-Konformation. Nach den Circular dichroismusspektren des Kupfertetraammin-Nucleosid-Komplexes (siehe unten) müßte es sich jedoch um 1C-Konformation handeln.

Vorzeichen und Intensität ihrer Cottonneffekte bei 220–225 nm verglichen.

Aus der Tabelle kann folgende Korrelation zwischen Konfiguration und 220 nm Cottonneffekt gezogen werden:

1. 4-Nitro-1-(β -D-glycopyranosyl)-imidazole zeigen im CD-Spektrum bei 220–225 nm einen negativen Cottonneffekt (vgl. Abbn. 3, 6, 8).
2. 4-Nitro-1-(α -D-glycopyranosyl)-imidazole können durch einen positiven Cottonneffekt bei 220–225 nm erkannt werden (vgl. als Beispiel 2).
3. Die entsprechenden L-Enantiomeren zeigen spiegelbildliche Kurvenbilder (vgl. Abbn. 5 und 7).
4. Die bei den Glycopyranosyl-Imidazolen gefundenen Gesetzmäßigkeiten lassen sich auch auf die Glycofuranosyl-Imidazole anwenden.

Durch die viel größere Zahl von möglichen Konformationen ist die Deutung der Kopplungskonstanten bei Furanosyl-Nucleosiden viel schwieriger als bei Pyranose-Nucleosiden. Aus dem Vorzeichen der Cottonneffekte bei 220 nm von 8, 9 und 10 (vgl. Abb. 9) ist jedoch eine eindeutige Konfigurationszuordnung möglich.

Abb. 1. pH-Abhängigkeit der dichroitischen Amplitude des Adenosin-Kupfertetramminkomplexes. (Bandenmaximum bei 300 nm.)

Abb. 2. Circular dichroitische Bestimmung des Komplexverhältnisses des Adenosin-Kupfertetramminkomplexes nach der Methode von Job. (Bandenmaximum bei 300 nm.)

Abb. 3. Circular dichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- β -D-glucopyranosyl-imidazol (1) und dem 1-Kupfertetramminkomplex.

Abb. 4. Circulardichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- α -D-arabinopyranosyl-imidazol (2) und 2-Kupfertetramminkomplex.

Abb. 5. Circulardichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- α -L-arabinopyranosyl-imidazol (3) und 3-Kupfertetramminkomplex.

Abb. 6. Circulardichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- β -D-xylopyranosyl-imidazol (4) und 4-Kupfertetramminkomplex.

Abb. 7. Circulardichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- α -L-rhamnopyranosyl-imidazol (5) und 5-Kupfertetramminkomplex. Auf Grund der Protonenresonanzmessungen sollte C 1-Konformation vorliegen. Das CD-Spektrum des 7-[Cu(NH₃)₄]-komplexes spricht jedoch für 1 C-Konformation.

Abb. 8. Circulardichroismus und Lichtabsorption von 4-Nitro-1- β -D-ribosepyranosylimidazol (6) und von 6-Kupfertetramminkomplex.

Circulardichroismus von Kupfertetramminkomplexen von 4-Nitro-Imidazalnucleosiden

Zur Bestimmung der Konfiguration benachbarter Hydroxylgruppen hat sich besonders der Circular-dichroismus von Kohlenhydrat-Molybdatkomplexen bewährt²⁶⁻³³. Nur bei freier anomerer Hydroxylgruppe reagiert jedoch ein Zucker mit Molybdat. Daher können Nucleoside mit dieser Methode nicht untersucht werden.

Besonders seit den Untersuchungen von REEVES³⁴⁻³⁷ ist jedoch bekannt, daß Kupfertetramminionen mit benachbarten Hydroxylgruppen von Kohlenhydraten reagieren. In einer Kurzmitteilung wird

Abb. 9. Circulardichroismus von 4-Nitro-1- β -D-2'-desoxy-ribofuranosylimidazol (7), 4-Nitro-1- α -D-arabinofuranosylimidazol (8), 4-Nitro-1- α -L-arabinofuranosylimidazol (9), 4-Nitro-1- β -xylofuranosylimidazol (10) und Lichtabsorption von (10).

der Zusammenhang zwischen den Cottonenffekten von Kupfertetramminkomplexen von Furanosiden und der Struktur dieser Fünfringverbindungen erstmals diskutiert³⁸. Folgende weiterreichende Schlußfolgerungen können wir aus den Circulardichroismusdaten und Spektren der Kupfertetramminkomplexe der hier beschriebenen 4-Nitro-Imidazolnucleoside ziehen:

Abb. 10. Circulardichroismus von Adenosin (11) und Adenosin-Kupfertetramminkomplex.

1. Bei den Furanosederivaten ist mit dem Kupfertetramminion Komplexbildung nur bei Anwesenheit von zwei *cis*-ständigen Hydroxylgruppen möglich. Die *trans*-ständigen Hydroxylgruppen des Arabino- und Xylo-Furanosylrestes (8, 9 und 10) reagieren nicht mit dem Kupfertetram-

minion, auch bei 2'- und 3'-Desoxyzuckern tritt keine Reaktion ein, wie die Circulardichroismusmessungen zeigen. Der Riboserest des Adenosins (11, vgl. Abb. 10), bildet jedoch einen Kupfertetramminkomplex wie die Cottonenffekte bei 600 nm ($[\theta] = -560$), 300 nm ($[\theta] = +4430$), 266 nm ($[\theta] = -9200$) und 233 nm ($[\theta] = +4920$) beweisen.

2. Aus der pH-Abhängigkeit von Kupfertetrammin-Adenosin-Lösungen folgt, daß die Komplexe bei pH 11 maximal stabil sind (vgl. Abb. 1).
3. Bei Adenosin-Kupfertetrammin-Lösungen zeigt der Verlauf der Job-Kurve³⁹, daß es sich im Falle des Adenosins um 1:1-Komplexe handelt (vgl. Abb. 2).
4. Die Kupfertetrammin-Komplexe von 4-Nitro-1-(glycopyranosyl)-imidazolen mit nur einem *cis*-ständigen und evtl. einem *trans*-ständigen äquatorialen Hydroxylgruppenpaar mit gleichsinnigem Diederwinkel nach REEVES³⁴ zeigen im Bereich von 200 bis 600 nm drei besonders intensive und gut getrennte Cottonenffekte (vgl. 2, 3 und 5, Abbn. 4, 5, 7). Sind die Winkel dieser benachbarten *cis*-ständigen Hydroxylgruppen nach der REEVESschen³⁴ Nomenklatur $+60^\circ$, dann wird bei den Kupferkomplexen von höherem nach tieferen Wellenlängen die Zeichenfolge $-(580) + (280) - (235)$ gemessen. Bei Winkeln von -60° ³⁴ tritt Vorzeichenwechsel auf.
5. Besitzt eine Pyranose zwei *trans*-ständige oder zwei *cis*-ständige Hydroxylgruppenpaare mit entgegengesetzten Vorzeichen der Diederwinkel³⁴, dann überlappen sich die Effekte (1, 4 und 6).
6. Wie der Vergleich der CD-Spektren der Kupferkomplexe von Methylglycopyranosiden mit den entsprechenden 4-Nitro-1-(glycopyranosyl)-imidazolen zeigt, verursacht der 4-Nitroimidazolrest bei den beiden kurzwelligen Cottonenffekten eine bis zu vierfache Intensitätssteigerung.

Beschreibung der Versuche

a) Spektroskopische Untersuchungen

Die CD-Spektren wurden mit einem Gerät der Firma Roussel-Juan Dichrograph Modell CD 185, die pH-Werte mit einem Potentiometer E 353 B der Firma Metrohm gemessen. Die Nucleosid-Kupfertetrammin-Lösungen wurden wie folgt hergestellt:

Die Nucleoside wurden in einen Meßkolben eingewogen, in H₂O gelöst, dann wurde Kupfertetrammin-sulfat in doppelter Menge dazugegeben. Mit Ammoniak wurde auf pH 11,1 eingestellt, und die Lösungen wurden sofort gemessen. Der Komplex bleibt über mehrere Tage stabil. Es wurden Meßzellen von $d=0,5$ mm bis 20 mm verwendet.

Zur Bestimmung der pH-Abhängigkeit der dichroitischen Amplituden der Nucleosid-Kupfer-tetrammin-Komplexe (vgl. Abb. 1) wurden Lösungen verwendet, deren Nucleosidkonzentrationen (0,001 M) und deren Kupfertetramminkonzentrationen (0,002 M) ein Verhältnis 1 zu 2 hatten. Unter pH 10 sind die Messungen nicht mehr reproduzierbar, da Kupferhydroxyd ausfällt. Die Schichtdicke der verwendeten Küvette betrug 10 mm.

Bestimmung von Komplexverhältnissen nach der Methode von JOB: Das Komplexverhältnis der Nucleosid-Kupfertetramminkomplexe wurde für Adenosin bestimmt (vgl. Abb. 2). Die Standardlösungen waren jeweils 0,02 M. Auf pH 11,1 wurde mit 1 M NH₃-Lösung eingestellt. Die Meßlösungen enthielten in 10 ccm zusammen 1,0 ccm Nucleosid-Kupfertetrammin-sulfat-Lösung. Die Schichtdicke der Küvette betrug 10 mm.

Die Empfindlichkeit des CD-Apparates betrug bei allen Messungen $1 \cdot 10^{-5}$ Absorptionseinheiten/mm. Die $[\theta]$ -Werte beziehen sich auf die Zuckerkonzentration.

b) Nucleosidsynthesen

4-Nitro-1- β -D-xylopyranosyl-imidazol

15,4 g (0,045 Mol) 4-(5)-Nitroimidazol-Hg(II)-komplex und 4 g Celite wurden in 300 ml abs. Toluol sus-

pendiert. Restliche Wasserspuren wurden durch Kodestillation mit Toluol entfernt. Es wurden 15,25 g (0,045 Mol) 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-xylopyranosyl-1-bromid⁴⁰ hinzugefügt und die Suspension wurde 60 Min. bei 125 °C unter Rückfluß gerührt. Nach dem Erkalten wurde filtriert, eingengt (40°) und in Chloroform aufgenommen. Die Chloroformphase wurde mit einer KJ- und NaHCO₃-Lösung gewaschen und erneut zu einem Sirup eingengt. Dieser wurde durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxid gereinigt. Umkristallisation aus Äthanol/Methanol (50/50) lieferte 4,18 g eines farblosen, kristallinen, triacetylierten Produkts vom Schmp. 152–153 °C.

4 g Tri-O-acetyl-Verbindung wurde in 240 ml mit Ammoniak bei 0 °C gesättigtem abs. Methanol über Nacht bei Kühlschranktemperatur ammonolysiert. Man erhielt nach Umkristallisation aus Isopropanol 2,1 g (20%) farblose Kristalle vom Schmp. 243 °C.

Folgende Analysenwerte wurden gefunden:

C ₈ H ₁₁ N ₃ O ₆ (245,2)			
Ber.	C 39,18	H 4,52	N 17,14,
Gef.	C 39,26	H 4,63	N 17,19.

Die übrigen hier untersuchten Nucleoside wurden analog dargestellt. Die Verbindungen zeigten die in nachstehender Tabelle angegebenen Charakteristika.

Der Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, danken wir für die Messung von Drehwerten mit einem Zeiss-Polarimeter OLD 5.

Substanz	Schmelzpt. [°C]	Spezifische Drehungswinkel ($c = 0,01$ g/ml in H ₂ O)			
		T [°C]	578 nm	546 nm	436 nm 405 nm
4-Nitro-1- β -D-glucopyranosyl-imidazol	207–209	21	+ 12	+ 22	+ 45 + 87
4-Nitro-1- α -D-arabino-pyranosyl-imidazol	231	21	– 37	– 37	– 47 – 50
4-Nitro-1- α -L-arabino-pyranosyl-imidazol	230–231	24	+ 34	+ 40	+ 50 + 55
4-Nitro-1- β -D-xylopyranosyl-imidazol	243	24	– 22	– 30	– 50 – 70
4-Nitro-1- α -L-rhamno-pyranosyl-imidazol	91–101	24	– 50	– 55	– 90 – 110
4-Nitro-1- β -D-ribo-pyranosyl-imidazol	193–194	24	– 20	– 20	– 40 – 50
4-Nitro-1- β -D-2'-desoxy-ribo-furanosyl-imidazol	105–108	23,5	+ 19	+ 30	+ 50 + 60
4-Nitro-1- α -D-arabino-furanosyl-imidazol	152–153	24	+ 67	+ 75	+ 150 + 200
4-Nitro-1- α -L-arabino-furanosyl-imidazol	152–154	22	– 55	– 70	– 135 – 180
4-Nitro-1- β -D-Xylo-furanosyl-imidazol	–	22	+ 65	+ 75	+ 120 + 135

¹ H. VERGIN, Dissertation, Universität Tübingen 1971.

² J. GUGLIEMI u. H. VERGIN, Liebigs Ann. Chem. im Druck.

³ J. A. McCLOSKEY, A. M. LAWSON, K. Tsuboyama, P. M. KRUEGER u. R. N. STILLWELL, J. Amer. chem. Soc. **90**, 4182 [1968].

⁴ S. J. SHAW, D. M. DESIDERIO, K. Tsuboyama u. J. A. McCLOSKEY, J. Amer. chem. Soc. **92**, 2510 [1970].

⁵ J. HEISS, K.-P. ZELLER u. W. VOELTER, Org. Mass Spectrometry **3**, 181 [1970].

⁶ W. A. KÖNIG, K. ZECH, R. UHMANN u. W. VOELTER, Chem. Ber. **105**, 262 [1972].

⁷ R. U. LEMIEUX, R. K. KULLNIG, H. J. BERNSTEIN u. W. G. SCHNEIDER, J. Amer. chem. Soc. **80**, 6098 [1958].

⁸ C. D. JARDETZKY u. O. JARDETZKY, J. Amer. chem. Soc. **81**, 222 [1959].

⁹ A. J. JONES, D. M. GRANT, M. W. WINKLEY u. R. K. ROBINS, J. Amer. chem. Soc. **92**, 4079 [1970].

¹⁰ E. FREITMAIER, G. JUNG u. W. VOELTER, Angew. Chem. **83**, 6659 [1971]; Angew. Chem. internat. Edit. **10**, 673 [1971].

¹¹ W. VOELTER, G. JUNG, E. BREITMAIER u. R. PRICE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **352**, 1034 [1971].

¹² W. VOELTER, G. JUNG u. E. BREITMAIER, Chimica Therapeutica **7**, 29 [1972].

¹³ D. W. MILES, R. K. ROBINS u. H. EYRING, Proc. nat. Acad. Sci. USA **57**, 1138 [1967].

- ¹⁴ D. W. MILES, R. K. ROBINS u. H. EYRING, J. phys. Chem. **71**, 3931 [1967].
- ¹⁵ W. VOELTER, R. RECORDS, E. BUNNENBERG u. C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. **90**, 6163 [1968].
- ¹⁶ W. VOELTER, G. BARTH, R. RECORDS, E. BUNNENBERG u. C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. **91**, 6165 [1969].
- ¹⁷ G. LEANDRI, A. MANGINI, F. MONTANARI u. R. PASSERINI, Gazz. chim. ital. **85**, 769 [1955].
- ¹⁸ A. GRIMISON, J. H. RIDD u. B. V. SMITH, J. chem. Soc. [London] **1960**, 1352.
- ¹⁹ K. L. McEWEN, J. chem. Physics **32**, 1801 [1960].
- ²⁰ H. LABHART, Tetrahedron [London] **19**, 223 [1963].
- ²¹ M. GODFREY u. J. N. MURRELL, Proc. chem. Soc. [London] **1961**, 171.
- ²² M. McCONNELL, J. chem. Physics **20**, 700 [1952].
- ²³ K. L. WOLF u. W. HEROLD, Z. physik. Chemie **B 13**, 201 [1931].
- ²⁴ J. R. PLATT, Radiation Biology III, McGraw Hill, 1956.
- ²⁵ H. S. GUTOWSKY, M. KARPLUS u. D. M. GRANT, J. chem. Physics **31**, 1278 [1959].
- ²⁶ W. VOELTER, E. BAYER, R. RECORDS, E. BUNNENBERG u. C. DJERASSI, Liebigs Ann. Chem. **718**, 238 [1968].
- ²⁷ W. VOELTER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **350**, 15 [1969].
- ²⁸ W. VOELTER, E. BAYER, R. RECORDS, E. BUNNENBERG u. C. DJERASSI, Chem. Ber. **102**, 1005 [1969].
- ²⁹ W. VOELTER, E. BAYER, G. BARTH, E. BUNNENBERG u. C. DJERASSI, Chem. Ber. **102**, 2003 [1969].
- ³⁰ W. VOELTER, G. KUHFITIG, G. SCHNEIDER u. E. BAYER, Liebigs Ann. Chem. **734**, 126 [1970].
- ³¹ W. VOELTER, G. KUHFITIG u. E. BAYER, Angew. Chem. **82**, 985 [1970].
- ³² W. VOELTER, G. KUHFITIG, O. OSTER u. E. BAYER, Chem. Ber. **104**, 1234 [1972].
- ³³ W. VOELTER, Abstracts V International Conference on Organometallic Chemistry, Moskau **1971**, Band II, 248.
- ³⁴ R. E. REEVES, J. Amer. chem. Soc. **71**, 215 [1949].
- ³⁵ R. E. REEVES, J. Amer. chem. Soc. **71**, 1737 [1949].
- ³⁶ R. E. REEVES, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2116 [1949].
- ³⁷ R. E. REEVES, J. Amer. chem. Soc. **72**, 1449 [1950].
- ³⁸ S. T. K. BUKHARI u. R. D. GUTHRIE, Carbohydr. Res. **12**, 469 [1970].
- ³⁹ P. JOB, Ann. Chimie [9], **10**, 113 [1928].
- ⁴⁰ M. BARCAI-MARTOS u. F. KÖRÖSY, Nature [London] **165**, 369 [1950].

Viscometric Studies on the Stability of DNA-Proflavine Complex

G. C. DAS and N. N. DAS GUPTA

Palit Laboratory in Physics, University College of Science, 92, Acharya Prafulla Chandra Road, Calcutta-9

(Z. Naturforsch. **27 b**, 1385—1387 [1972]; received June 27, 1972)

Viscometric technique has been used to estimate the relative contributions of strong and weak binding modes towards thermal stabilization of the Proflavine-DNA complex. Variation of the ratio of the specific viscosity of the dye-bound DNA to that of the DNA solution (η'_{sp}/η_{sp}) with different dye to DNA-phosphate ratios (D/P) shows that the saturation is attained at D/P value of about 0.2. This effect is more pronounced at lower ionic strengths. Heat-induced helix-coil transition curves at different D/P values at a fixed ionic strength of the buffer reveal a gradual shift towards higher temperature with the increase of D/P and levelling off at D/P of about 0.22. It is suggested that only the strong binding mode causes thermal stabilization of the DNA double helix and the double helix having all the possible intercalating sites saturated by the dye molecules attains the most stable configuration.

The study of the interactions between DNA and the cationic acridine dyes is of great interest because some of them possess mutagenic¹ and carcinogenic² properties. Two distinguishable binding processes have so far been observed³. In the "strong" binding mode, occurring at low values of the dye to DNA phosphate ratio (D/P), the dye molecules are intercalated between the base pairs, which is followed by the local untwisting and the lengthening of the double helix^{4,5}. This phenomenon has been investigated by spectrophotometric^{3,6}, electron microscopic⁷, autoradiographic⁸, and X-Ray diffraction studies⁹ as well as by the hydro-

dynamic methods¹⁰⁻¹². In the "weak" binding mode occurring at high D/P values, the dye molecules are stacked on the surface of the DNA molecule^{13,14}. The stability of the proflavine bound DNA (PF-DNA) was studied by optical methods. It was shown that the bound DNA was more stable and that the helix-coil transition temperature was raised¹⁵⁻¹⁸. The present paper reports the results of viscometric studies on the binding of different amounts of proflavine with DNA and its variation with the ionic strength of the solvent. The relative contributions of the strong and the weak binding modes, on the stability of the double helix have also been investigated.

Salmon Sperm DNA (Sigma Chemicals, USA) and proflavine hemisulfate (Imperial Chemicals,

Requests for reprints should be sent to Dr. G. C. DAS, Palit Laboratory in Physics, University College of Science, 92, Acharya Prafulla Chandra Road, Calcutta-9 (India).