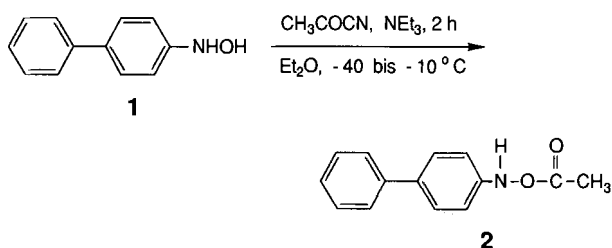


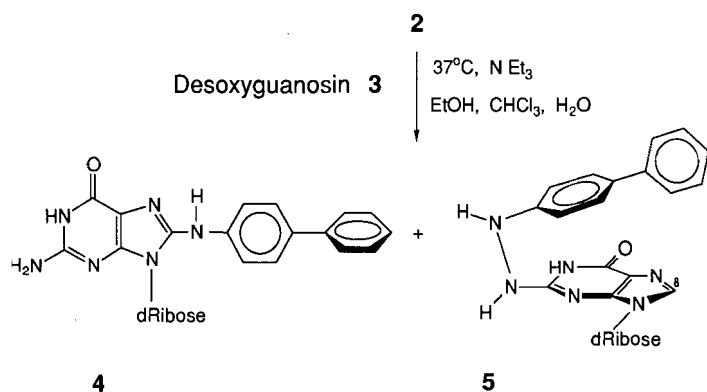
Synthese von *O*-Acetyl-*N*-(4-biphenyl)hydroxylamin („*N*-Acetoxy-4-aminobiphenyl“), einem entscheidenden Metaboliten des carcinogenen 4-Aminobiphenyls, und seine Reaktion mit Desoxyguanosin**

Von Michael Famulok, Ferdinand Bosold und Gernot Boche*

Eine Möglichkeit für die Umwandlung mutagener und carcinogener aromatischer Amine wie 4-Aminobiphenyl^[1] in ein entscheidendes („ultimate“) Carcinogen besteht in der *N*-Oxidation zu *N*-(4-Biphenyl)hydroxylamin („*N*-Hydroxy-4-aminobiphenyl“) **1**^[2], gefolgt von der *O*-Acetylierung zur Titelverbindung **2** („*N*-Acetoxy-4-aminobiphenyl“)^[3]. Obwohl die Carcinogenität aromatischer Amine seit 1895 bekannt ist^[4], konnten wir mit **2** erstmals einen Metaboliten eines mutagenen und carcinogenen aromatischen Amins, der durch eine *N*-Acetoxygruppe aktiviert ist, in Substanz fassen^[5]. Im folgenden berichten wir hierüber und über die Reaktion von **2** mit Desoxyguanosin **3**.



Obwohl **2** thermisch sehr labil ist und sich oberhalb von 10°C innerhalb einer Stunde zersetzt, ließ es sich C₆H₅N-analytisch sowie ¹H- und ¹³C-NMR-spektroskopisch charakterisieren. Den Beweis für die *O*-Acetylstruktur lieferte insbesondere die Carbonylbande bei $\tilde{\nu}$ = 1755 cm⁻¹; die isomere *N*-Acetylverbindung (Hydroxamsäure) absorbiert dagegen bei 1642 cm⁻¹.



Die Umsetzung von **2** mit Desoxyguanosin **3** in Ethanol/Chloroform/Wasser bei 37°C führte zu den beiden Addukten **4** und **5** in 6- bzw. 3proz. Ausbeute^[6]. Die Isolierung von **4** und **5** ist deshalb von Bedeutung, weil beim Füttern von Hunden mit 4-Aminobiphenyl (ABP) und anschließender enzymatischer Spaltung der DNA (aus dem Blasenepithelium) ebenfalls **4** und (sehr wenig) **5** gefun-

den wurden (die Ausbeute an **5** war offensichtlich zu gering, als daß experimentelle Daten angegeben werden konnten, die seine Struktur eindeutig belegen^[7]). Auch bei der Reaktion von *O*-Acetyl-*N*-(4-biphenyl)-*N*-trifluoracetylhydroxylamin mit **3** in Natriumcitrat-Puffer (pH 7.0) und Ethanol bei 50°C hatte man neben zwei nicht identifizierten Produkten **4** erhalten^[8]. Die Annahme, daß **2** bei dieser Reaktion die reaktive Spezies ist, wird durch unsere Befunde bestätigt^[9].

Arbeitsvorschriften

2: Zu einer auf -40°C gekühlten Suspension von 4.00 g (21.6 mmol) **1** in 50 mL Diethylether und 2.9 mL (21.6 mmol) Triethylamin wurden 1.50 g (21.6 mmol) Acetylchlorid [10] in 30 mL Diethylether gegeben und unter starkem Rühren innerhalb von 2 h auf -10°C erwärmt. Nach dem Ausschütteln mit Eiswasser wurde die wäßrige Phase bei 0°C mit 50 mL CH₂Cl₂ extrahiert, die organischen Phasen wurden vereinigt, mit MgSO₄ getrocknet, und das Lösungsmittel wurde bei 0°C im Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde bei Raumtemperatur in 100 mL Ether/Petrolether (1/1) und 20 mL CH₂Cl₂ rasch gelöst und bei -30°C zur Kristallisation gebracht. Die hellgelben Kristalle von **2** wurden bei -20°C getrocknet. Ausbeute 3.98 g (81%); korrekte Elementaranalyse (C₁₅H₁₁N). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 230 K): δ = 2.27 (s, 3 H), 7.15 (d, 2 H), 7.38 (t, 1 H), 7.47 (t, 2 H), 7.58 (2d, 4 H), 8.90 (N-H, 1 H). ¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃, 230 K): δ = 19.3, 116.9, 126.7, 127.0, 127.7, 128.7, 136.7, 140.1, 145.4, 170.8. IR (Nujol): $\tilde{\nu}$ = 3245, 1755, 1223 cm⁻¹.

Umsetzung von **2** mit **3**: 909 mg (4.00 mmol) **2** wurden zu 1.07 g (4.00 mmol) **3** und 455 mg (4.50 mmol) Triethylamin in 70 mL Ethanol/CHCl₃/Wasser (7/3/4) bei 37°C gegeben. Nach 1 h wurde das Lösungsmittel entfernt; die Addukte **4** und **5** wurden zunächst über eine Silicagel-Säule mit CHCl₃/Ethanol (7/3) und dann durch präparative HPLC [11] abgetrennt und gereinigt. Ausbeute (nach der Silicagel-Chromatographie): **4**: 112 mg (6%); ¹H-NMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): Die Daten stimmen mit denen in [7a] überein. ¹³C-NMR: δ = 38.4, 61.2, 71.2, 82.8, 87.2, 112.1, 117.6, 125.9, 126.5, 126.6, 128.7, 132.2, 140.0, 140.3, 143.1, 149.5, 153.0, 155.9. MS (FD): m/z 434 (100%, *M*⁺), 318 (61%, *M*⁺ - dRibose + H). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3329, 2927, 1680, 1562, 1356, 1024, 960, 764, 698 cm⁻¹. **5**: 55 mg (3%); ¹H-NMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ = 2.12 (m, 1 H), 2.42 (m, 1 H), 3.47 (m, 2 H), 3.76 (m, 1 H), 4.28 (m, 1 H), 4.91 (s, OH), 5.21 (s, OH), 5.95 (dd, 1 H), 6.35 (s, 2 H, -NH-NH-), 7.37 (d, 2 H), 7.37 (t, 1 H), 7.40 (s, 1 H), 7.48 (t, 2 H), 7.65, 7.66 (2d, 4 H), 8.24 (s, 1 H, NH); das Singulett von H-8 des Desoxyguanosin-Teils von **5** (δ = 7.40) ist gegenüber dem von **3** ([D₆]DMSO, 300 MHz, δ = 7.94) und anderen Purin-Nucleosiden und -Nucleotiden deutlich hochfeldverschoben (siehe C. J. Pouchert, J. R. Campbell: *The Aldrich Library of NMR Spectra*, Vol. 8, Aldrich Chemical Company, Milwaukee 1974). Dies läßt eine gefaltete Konformation von **5** vermuten, in der der Biphenyl-Teil über dem Guanin-Teil des Moleküls liegt und so für die Abschirmung von H-8 sorgt. Eine ähnlich gefaltete Konformation wurde für Methotrexat in einem unpolaren Lösungsmittel gefunden (P. Faupel, V. Buß, *Angew. Chem.* 100 (1988) 422; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 423). ¹³C-NMR: δ = 61.8 (t, ¹J(C-H) = 140.0 Hz), 70.7 (d, ¹J(C-H) = 149.9 Hz), 82.0 (d, ¹J(C-H) = 163.5 Hz), 87.2 (d, ¹J(C-H) = 147.2 Hz), 125.0 (s), 126.5 (d, ¹J(C-H) = 159.5 Hz), 126.6 (d, ¹J(C-H) = 159.7 Hz), 127.0 (s), 127.4 (d, ¹J(C-H) = 212.6 Hz), 127.4 (d, ¹J(C-H) = 162.6 Hz), 128.3 (d, ¹J(C-H) = 162.4 Hz), 128.9 (d, ¹J(C-H) = 161.7 Hz), 138.3 (s), 139.0 (s), 139.6 (s), 148.8 (s), 155.4 (s), das Signal von C-2 des d-Ribose-Teiles ist von DMSO-Signalen überlagert. MS (FD): m/z 434 (100%, *M*⁺), 318 (78%, *M*⁺ - dRibose + H); IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3334, 2924, 1658, 1522, 1487, 1333, 1086, 1049, 764, 698 cm⁻¹. UV: λ_{\max} = 251, 216 nm.

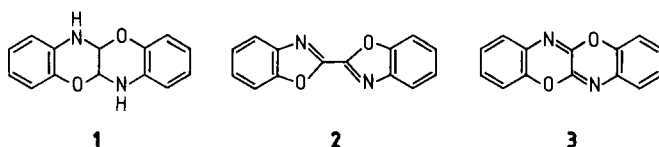
Eingegangen am 14. Oktober, veränderte Fassung am 28. November 1988 [Z 3010]

[*] Prof. Dr. G. Boche, Dipl.-Chem. M. Famulok, F. Bosold
Fachbereich Chemie der Universität
Hans-Meerwein-Straße, D-3550 Marburg

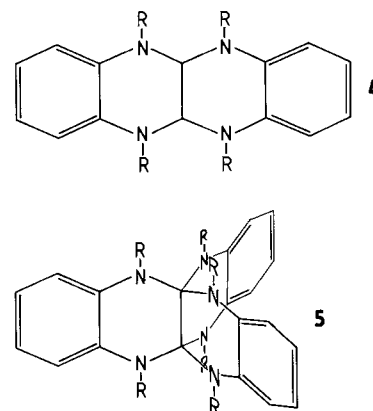
[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und von der BASF AG gefördert.

- [1] T. S. Scott: *Carcinogenic and Chronic Toxic Hazards of Aromatic Amines*, Elsevier, Amsterdam 1962.
- [2] J. W. Gorrod, L. A. Damani: *Biological Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1985.
- [3] a) H. Bartsch, M. Dworkin, J. A. Miller, E. C. Miller, *Biochim. Biophys. Acta* 286 (1972) 272; siehe auch b) E. Kriek, *ibid.* 335 (1974) 177; c) C. M. King, *Cancer Res.* 34 (1974) 1403; d) E. C. Miller, *ibid.* 38 (1978) 1479; e) F. A. Beland, W. T. Allaben, F. E. Evans, *ibid.* 40 (1980) 834; f) E. C. Miller, J. A. Miller, *Cancer (Amsterdam)* 47 (1981) 2327; g) I. B. Glowinski, L. Savage, M.-S. Lee, C. M. King, *Carcinogenesis* 4 (1983) 67; h) S. S. Thorgeirsson in H. Greim, R. Jung, M. Kramer, H. Marquardt, F. Oesch (Hrsg.): *Biochemical Basis of Chemical Carcinogenesis*, Raven Press, New York 1984, S. 47; i) T. J. Flammang, F. F. Kadlubar, *Carcinogenesis* 7 (1986) 919; j) C.-C. Lai, E. C. Miller, J. A. Miller, A. Liem, *ibid.* 9 (1988) 1295.
- [4] L. Rehn, *Arch. Klin. Chir.* 50 (1895) 588.
- [5] *N*-Acetoxyverbindungen anderer mutagener und carcinogener aromatischer Amine, die in Lösung hergestellt, aber nicht isoliert und charakte-

- risiert wurden: a) Y. Hashimoto, K. Shudo, T. Okamoto, *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 7636; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96 (1980) 355; 92 (1980) 971; b) K. B. Deiclos, W. G. Tarpley, E. C. Miller, J. A. Miller, *Cancer Res.* 44 (1984) 2540; c) A. M. Lobo, M. M. Marques, S. Prabhakar, H. S. Rzepa, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1985, 1113; *J. Org. Chem.* 52 (1987) 2925. In Lösung hergestellt, charakterisiert, aber nicht isoliert: 4-(Acetoxiamino)chinolin-1-oxid: d) Y. Kawazoe, O. Ogawa, G.-F. Huang, *Tetrahedron* 36 (1980) 2933; e) M. Demeunynck, N. Thome, M.-F. Lhomme, J. M. Mellon, J. Lhomme, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 3539, zit. Lit. In Substanz erhaltene und charakterisierte *O*-Acetyl-*N*-arylhydroxylamine: f) W. Borsche, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 56 (1923) 1494; g) A. C. Huggett, J. L. Cone, S. S. Thorgeirsson, P. P. Roller, *J. Org. Chem.* 52 (1987) 4933; h) G. Boche, F. Bosold, S. Schröder, *Angew. Chem.* 100 (1988) 965; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 973; i) *O*-Acetyl-*N*-(2-naphthyl)hydroxylamin; M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, *Tetrahedron Lett.*, im Druck; in Analogie zu den in [5h, i] beschriebenen Ergebnissen haben wir **2** auch mit *N*-Methylanilin umgesetzt; M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, unveröffentlicht.
- [6] Analog zu **2** haben wir *N*-(4-Biphenyl)-*O*-pivaloylhydroxylamin hergestellt und charakterisiert und mit **3** umgesetzt, wobei **4** und **5** in gleichen Ausbeuten wie bei **2** erhalten wurden; M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, unveröffentlicht.
- [7] a) F. F. Kadlubar, F. A. Beland, D. T. Beranek, K. L. Dooley, R. H. Heflich, F. E. Evans in T. Sugimura, S. Kondo, H. Takebe (Hrsg.): *Environmental Mutagens and Carcinogens*, A. R. Liss, New York 1982, S. 385; b) F. A. Beland, D. T. Beranek, K. L. Dooley, R. H. Heflich, F. F. Kadlubar, *EHP Environ. Health Perspect.* 49 (1983) 125; als reaktiven Metaboliten nehmen die Autoren das Hydroxylamin **1** an, das im sauren Medium des Harns aus dem *N*-Glucuronid von **1** gebildet wird und nach Protonierung am Sauerstoff weiterreagiert; c) eine Zusammenfassung über „DNA-Addukte aromatischer Amine“ findet man bei H.-G. Neumann, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 111 (1986) 100.
- [8] a) R. Shapiro, G. R. Underwood, H. Zawadzka, S. Broyde, B. E. Hingerty, *Biochemistry* 25 (1986) 2198. Diese Autoren setzten auch *O*-Acetyl-*N*-(4-biphenyl)-*N*-trifluoracetylhydroxylamin mit dem Dinucleotid d(CpG) unter denselben Bedingungen bei 37°C um und erhielten das Addukt d(CpG^{8-ABP}); b) mit dem Tetranucleotid 5'-d(TpGpCpA)-3' wurde das Addukt 5'-d(TpG^{8-ABP}pCpA)-3' gefunden; D. D. Lasko, A. K. Basu, F. F. Kadlubar, F. E. Evans, J. O. Lay, Jr., J. M. Essigmann, *ibid.* 26 (1987) 3072.
- [9] **4** und **5** wurden auch erhalten, als das Hydroxylamin **1** mit DNA bei pH 5 umgesetzt und die DNA anschließend enzymatisch gespalten wurde [7]; beim Füttern von Ratten mit *N*-Acetyl-*N*-(4-biphenyl)hydroxylamin fand man **4** mit einem ³²P-„postlabelling“-Assay: R. C. Gupta, N. R. Dighe, *Carcinogenesis* 5 (1984) 343.
- [10] Zur *O*-Acylierung von *N*-Arylhydroxylaminen wurden Acylcyanide erstmals von S. Prabhakar, A. M. Lobo, M. M. Marques, *Tetrahedron Lett.* 23 (1982) 1391, erfolgreich eingesetzt.
- [11] LiChrosorb RP 18, 7 µm, präparative HPLC-Säule (20 × 230 mm), isokratische Eluierung mit Methanol/Wasser (1/1).



von **1** synthetisiert. Ein Beispiel ist 5,5a,6,11,11a,12-Hexahydro-5,6,11,12-tetramethyl-chinoxalino[2,3-*b*]chinoxalin **4**, das noch nicht beschrieben ist.



Verbindung **4** hat sehr überraschende photochemische Eigenschaften. Beim Belichten einer mit Stickstoff gespülten Lösung von **4** in Cyclohexan mit Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm entsteht mit einer chemischen Ausbeute von 11% neben anderen, noch nicht identifizierten Photoprodukten das Oxalsäure-Orthoamid **5**. Die Verbindung ist stabil, läßt sich aus Ethanol umkristallisieren, absorbiert im UV ähnlich wie **4** und hat ein unstrukturiertes Fluoreszenzspektrum. **5** ist ein [4.4.4]Propellan und liegt mit C-1 und C-10 auf einer kristallographisch exakten dreizähligen Symmetrieachse (Punktlage x,x,x); die Molekülsymmetrie entspricht D_3^{12} . Im Differenzelektronendich-

Photochemische Bildung eines stabilen Oxalsäureorthoamids mit Propellanstruktur

Von Erich Tauer*, Karl-Heinz Grellmann, Mathias Noltemeyer und George M. Sheldrick

Wir haben vor einiger Zeit darüber berichtet^[1], daß bei der Kondensation von 2-Aminophenol und Glyoxal nicht, wie bisher angenommen, 2,2',3,3'-Tetrahydro-2,2'-bibenzoxazol entsteht, sondern 5a,6,11a,12-Tetrahydro[1,4]benzoxazino[3,2-*b*][1,4]benzoxazin **1**. Belichtet man luftgesättigte Lösungen von **1** in einem inerten Lösungsmittel (z. B. Cyclohexan), entsteht mit langwelligem Licht ($\lambda \geq 260$ nm) 2,2'-Bibenzoxazol **2**; bei kurzwelliger Bestrahlung ($\lambda < 260$ nm) bildet sich außerdem noch [1,4]Benzoxazino[3,2-*b*][1,4]benzoxazin **3**.

Um den Mechanismus dieser Photooxidationsreaktion näher zu untersuchen, haben wir Derivate und Analoga

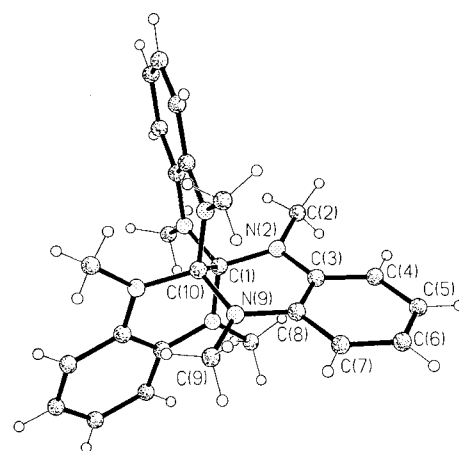


Abb. 1. Molekülstruktur von **5** im Kristall. Ausgewählte Bindungslängen [pm] und -winkel [°]: C1-C10 157.9(7), C1-N2 144.5(3), C10-N9 145.1(3), C2-N2 145.0(5), C3-C4 138.9(5), C4-C5 138.5(7), C5-C6 134.8(8), C6-C7 137.8(6), C3-C8 141.7(5); N2-C1-C10 107.2(2), C1-N2-C2 121.6(3), N2-C3-C8 120.0(3), C1-C10-N9 107.4(2).

[*] Dr. E. Tauer, Dr. K. H. Grellmann
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,
Abt. Spektroskopie
Am Faßberg, D-3400 Göttingen
Dr. M. Noltemeyer, Prof. G. M. Sheldrick
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Tammannstraße 4, D-3400 Göttingen

tediagramm zeigten sich weitere Maxima, die in Übereinstimmung mit der Elementaranalyse einem fehlgeordneten Lösungsmittelmolekül (Ethanol) zugeordnet wurden.