

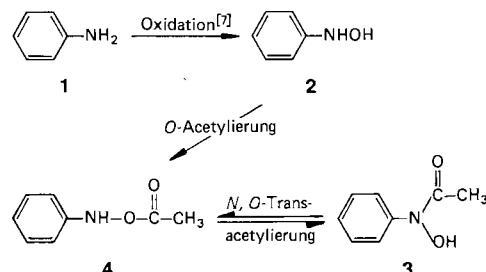
- [5] J. E. Ellis, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 6106; das entsprechende Tantal-Derivat wurde isoliert: G. F. P. Warnock, J. E. Ellis, *ibid.* **106** (1984) 5016.
[6] M. Fajardo, M. P. Gomez-Sal, P. Royo, S. Martinez Carrera, S. Garcia Blanco, *J. Organomet. Chem.* **312** (1986) C44.
[7] a) Strukturbestimmung von **2a**: Enraf-Nonius-CAD4, Graphitmonochromator, Cu_{Kα}-Strahlung ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$); rote Rhomboeder, $R\bar{3}c$, hexagonal Nr. 167 [8]; $a = 14.323(1)$, $c = 44.772(4) \text{ \AA}$, $V = 7954.6 \text{ \AA}^3$, $Z = 6$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.739 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu(\text{Cu}_{K\alpha}) = 162.93 \text{ cm}^{-1}$, $F(000) = 4068$, 20°C . 7946 gemessene, 5091 beobachtete Reflexe, ω -Scan, $\theta_{\text{max.}} = 69^\circ$, empirische Absorptionskorrektur (Ψ -Scan-Methode [9]); 1211 unabhängige Reflexe [$I > 3.5 \sigma(I)$] in der Strukturlösung [10] (Patterson- und Fourier-Methode) und Verfeinerung (volle Matrix) für 84 Parameter; anisotrope Verfeinerung für Nicht-H-Atome, H-Atome wurden bei der Berechnung der Strukturfaktoren berücksichtigt, Korrektur für Sekundärexinktion [11] bei F_c ; $R = 0.044$, $R_w = 0.057$ [$w = 1/\sigma^2(F_0)$]; b) Strukturbestimmung von **2b**: Enraf-Nonius-CAD4, Graphitmonochromator, Mo_{Kα}-Strahlung ($\lambda = 0.7107 \text{ \AA}$); rote Rhomboeder, $R\bar{3}c$, hexagonal, Nr. 167 [8]; $a = 14.274(5)$, $c = 44.55(3) \text{ \AA}$, $V = 7860.6 \text{ \AA}^3$, $Z = 6$, $\rho_{\text{ber.}} = 2.095 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu(\text{Mo}_{K\alpha}) = 78.82 \text{ cm}^{-1}$, $F(000) = 4644$, 20°C . 6411 gemessene, 3372 beobachtete Reflexe, ω -Scan, $\theta_{\text{max.}} = 25^\circ$, empirische Absorptionskorrektur (Ψ -Scan-Methode [9]); 984 unabhängige Reflexe [$I > 3.5 \sigma(I)$] in der Strukturlösung [10] (Atomkoordinaten von **2a** als Modell) und Verfeinerung (volle Matrix) für 84 Parameter; anisotrope Verfeinerung für Nicht-H-Atome, H-Atome wurden bei der Berechnung der Strukturfaktoren berücksichtigt, Korrektur für Sekundärexinktion [11] bei F_c ; $R = 0.029$, $R_w = 0.037$ [$w = 1/\sigma^2(F_0)$]; c) weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Energie, Physik, Mathematik GmbH, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-56631, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.
[8] T. Hahn (Hrsg.): *International Tables for Crystallography, Vol. A*, Reidel, Dordrecht 1983.
[9] A. C. T. North, D. Phillips, F. S. Mathews, *Acta Crystallogr. Sect. A* **24** (1968) 351.
[10] B. A. Frenz: *The ENRAF-NONIUS CAD4 SDP: a Real Time System for Concurrent X-Ray Data Collection and Crystal Structure Determination* in H. Schenck, R. Olthof-Hazekamp, H. von Koningsveld und G. C. Bassi (Hrsg.): *Computing in Crystallography*, Delft University Press 1978; SDP Plus, Version 1.1, 1984 und VAXSDP, Version 2.2, 1985.
[11] W. H. Zachariasen, *Acta Crystallogr.* **16** (1963) 1139.
[12] R. J. Goudsmit, J. G. Jeffrey, B. F. G. Johnson, J. Lewis, R. C. S. McQueen, A. J. Sanders, J. C. Liu, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1986, 24.
[13] G. Longoni, M. Manassero, M. Sansoni, *J. Am. Chem. Soc.* **102** (1980) 7973.
[14] A. F. Wells: *Structural Inorganic Chemistry*, 5. Auflage, Clarendon, Oxford 1984.
[15] P. Feschotte, E. L. Spitz, *J. Less-Common Met.* **138** (1988) 155.
[16] R. Usón, J. Forniés, B. Menjón, F. A. Cotton, R. Falvello, M. Tomás, *Inorg. Chem.* **24** (1985) 4651.
[17] D. G. Evans, D. M. P. Mingos, *Organometallics* **2** (1983) 435.
[18] Die Verbindungen **1** entstehen als rot-orange mikrokristalline Feststoffe bei der UV-Bestrahlung (Hg-Mitteldrucklampe, 150 W; M = Nb: 2 h; M = Ta: 3 h, im leichten Argonstrom) von $\text{NEt}_4[\text{M}(\text{CO})_6]$ und äquimolaren Mengen dmpe in THF. Für sie wurden zufriedenstellende Elementaranalysen erhalten.
[19] G. Brauer: *Handbook of Preparative Inorganic Chemistry*, Vol. 2, Academic Press, New York 1964, S. 1048.
[20] Korrekte C, H-Analysen für **2a** und **2b**. – IR-Spektren (ν in cm^{-1}): **2a** in Nujol: (1935(s), 1840(vs); in THF: 1930(s), 1842(vs); **2b** in Nujol: 1923(s), 1832(vs); in THF: 1928(s), 1843(vs).

*N-(Desoxyguanosin-8-yl)anilin aus der in-vitro-Umsetzung von *N*-Acetoxyanilin mit Desoxyguanosin und DNA ***

Von Michael Famulok und Gernot Boche*

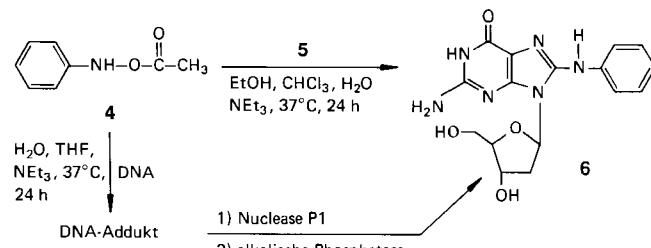
Die akute Toxizität von Anilin **1** ist auf die Bildung von Methämoglobin zurückzuführen, wobei dem Metaboliten Phenylhydroxylamin **2** die entscheidende Rolle zuzukommen scheint^[1, 2]. Im Ames-Test^[3 a] zeigten **1** und **2** nur in

Gegenwart von Norharman (9*H*-Pyrido[3,4-*b*]indol) und Rattenleberhomogenat im Stamm *S. typhimurium* TA 98 Mutagenität^[3 b, c]. Im Tierversuch beobachtete man nach Verfütterung selbst hoher Dosen Anilinhydrochlorid (6000 und 12 000 ppm) über einen längeren Zeitraum (103 Wochen) keine Tumorinduktion bei B6C3F₁-Mäusen, hingegen bildeten Fischer-344-Ratten mit der halben Anilinhydrochlorid-Menge (3000 bzw. 6000 ppm, 103 Wochen) Sarkome in der Milz^[4]. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß ¹⁴C-markiertes Anilin an die Nieren-, Dickdarm- und Milz-DNA von Ratten gebunden wird, während bei Mäusen praktisch keine DNA-Bindung nachgewiesen werden konnte^[5]. Neuere^[6 a] wie auch frühere Untersuchungen^[6 b] haben ferner ergeben, daß *N*-Acetoxyarylamine entscheidende Metaboliten bei der Carcinogenese aromatischer Amine sind. Sie werden durch *O*-Acetylierung aus den Arylhydroxylaminen oder *N,O*-Transacetylierung aus den entsprechenden Hydroxamsäuren gebildet^[6] (Schema 1).



Schema 1.

Wir konnten kürzlich zeigen, daß *O*-Acetyl-*N*-(4-biphenyl)hydroxylamin („*N*-Acetoxy-4-aminobiphenyl“)^[8 a] und *O*-Acetyl-*N*-(2-naphthyl)hydroxylamin („*N*-Acetoxy-2-naphthylamin“)^[8 b] mit Desoxyguanosin **5** zu Addukten reagieren, die von anderen Autoren^[9] aus der DNA des Blasenepitheliums von Hunden isoliert wurden, nachdem die Hunde mit 4-Biphenylamin bzw. 2-Naphthylamin behandelt worden waren. Im folgenden zeigen wir, daß **4**, ein entsprechender Metabolit von **1**, der in vivo aus **2** und **3** entstehen kann^[6], mit **5** zu einem Addukt, *N*-(Desoxyguanosin-8-yl)anilin **6**, reagiert. Außerdem konnten wir **6** bei der in-vitro-Umsetzung von **4** mit DNA nachweisen (Schema 2).



Schema 2.

Das Addukt **6** ist neu; bisherige Versuche, mit „aktivierten Anilinderivaten“ ein Addukt aus Anilin **1** und **5** durch elektrophile Substitution in vitro herzustellen, waren fehlgeschlagen^[10]. Nur Addukte erwiesen sich stark carcinogener aromatischer Amine an **5** waren bisher bekannt^[8, 11].

Um zu zeigen, daß **4** auch mit DNA reagiert, wurde die DNA nach der Umsetzung hydrolytisch gespalten und das DNA-Hydrolysat HPLC-chromatographisch analysiert. Abbildung 1a zeigt das HPLC-Profil des Adduktes **6**, Abbildung 1b dasjenige des Hydrolysats aus der Umsetzung von

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

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

4 mit DNA unter denselben Bedingungen. Eine Konzentrationsbestimmung^[13] ergab, daß 0.26 % der in der DNA enthaltenen Desoxyguanosinmoleküle von 4 zum Desoxyguanosin-C8-Addukt der DNA aminiert worden waren.

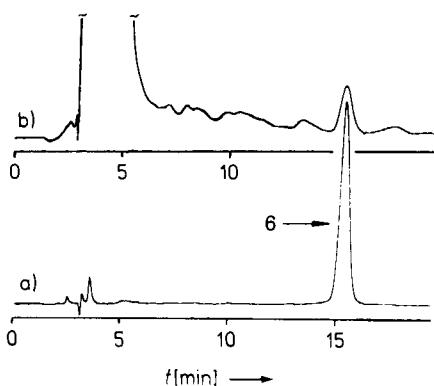


Abb. 1. a) HPLC-Profil von 6. b) HPLC-Profil des Hydrolysat aus der Umsetzung von 4 mit DNA. HPLC-Bedingungen: Nucleosil RP 18, 7 µm, 230 × 6 mm-Säule, UV-Absorption bei 260 nm, 35proz. CH₃OH, Durchfluß 0.7 mL min⁻¹, Retentionszeit von 6 15.4 min [12].

Fazit: 4, ein potentieller Metabolit und möglicherweise entscheidendes Carcinogen von Anilin 1, bindet in vitro kovalent an Desoxyguanosin 5 und DNA zum Desoxyguanosin-C8-Addukt 6.

Experimentelles

Herstellung von 4: 4 wurde erstmals von A. M. Lobo et al. [14] in Lösung hergestellt; wir haben es nun isoliert und vollständig charakterisiert: Zu einer Lösung von 3.27 g (30.0 mmol) 2 und 3.54 g (35.0 mmol) NEt₃ in 50 mL Et₂O wurden 2.07 g (30.0 mmol) AcCN in 20 mL Et₂O gegeben (−40 °C, 20 min). Die Lösung wurde 3 h bei −15 °C gerührt, mit MgSO₄ bei 0 °C getrocknet und filtriert. Das nach dem Entfernen des Lösungsmittels bei 0 °C im Vakuum verbliebene Öl wurde in 10 mL CH₂Cl₂ gelöst und mit 120 mL Petrolether (40–60 °C) versetzt. Die Lösung wurde auf 70 mL konzentriert und 3 h auf −30 °C gekühlt. Die dabei gebildeten gelben Kristalle wurden abgetrennt und bei −20 °C getrocknet. Ausbeute: 2.95 g (65%); Fp = 27–29 °C (unkorr.); korrekte C,H,N-Analyse (die Probe wurde eingewogen und bis unmittelbar vor der Verbrennung bei −78 °C gehalten). – NMR-Spektren (400 MHz-Gerät, CDCl₃, 230 K): δ(¹H) = 2.24 (s, 3H), 7.07 (d, 2H), 7.11 (t, 1H), 7.35 (t, 2H), 8.86 (s, 1H, NH); δ(¹³C) = 19.22, 116.36, 123.89, 129.00, 146.08, 170.78; IR (Nujol): ν[cm^{−1}] = 3253, 1758, 1603, 1494, 1378, 1220, 723.

Umsetzung von 4 mit 5 zu 6: 605 mg (4.00 mmol) 4, 1.07 g (4.00 mmol) 5 und 455 mg (4.50 mmol) N(C₂H₅)₃ in 70 mL eines 7:3:4-Gemisches aus EtOH, CHCl₃ und H₂O wurden unter N₂ 24 h bei 37 °C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 400 mL H₂O aufgenommen und diese Lösung mit 150 mL Et₂O (6 ×) und 100 mL nBuOH (5 ×) ausgeschüttelt. Nach Abziehen des nBuOH wurde der Rückstand in 10 mL 50proz. CH₃OH gelöst und 6 durch HPLC (30proz. CH₃OH, 230 × 20 mm, LiChrosorb RP18, 7 µm, 1400 psi = 98 bar rein erhalten (Ausbeute 6%). – NMR-Spektren (400 MHz-Gerät, [D₆]DMSO): δ(¹H) = 2.02 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 4.43 (m, 1H), 5.36 (s, 1H, OH), 5.98 (s, 1H, OH), 6.33 (q, 1H), 6.45 (s, 2H, NH₂), 6.90 (t, 1H), 7.25 (t, 2H), 7.73 (d, 2H), 8.63 (s, 1H, NH), 10.82 (s, 1H, NH), ein Zucker-H ist von DMSO-Signalen verdeckt; δ(¹³C) = 38.39 (t, 131.28), 61.20 (t, 141.33), 71.14 (d, 150.52), 82.72 (d, 163.03), 87.08 (d, 146.00), 112.14 (s), 117.21 (d, 162.10), 120.44 (d, 160.00), 128.39 (d, 158.10), 140.77 (s), 143.11 (s), 149.39 (s), 153.01 (s), 156.03 (s); IR (KBr): ν[cm^{−1}] = 3343, 3206, 1681, 1600, 1562, 1498, 1355, 1099, 751; UV (CH₃OH): λ_{max}[nm] = 283.0, 204.0; FD-MS: m/z 358 (M⁺, 26.1%), 359 (M⁺ + H, 100), 381 (M⁺ + Na, 33.5).

Umsetzung von 4 mit DNA zu 6: Eine Lösung von 30 mg DNA aus Kalbsthymus, 30 mg (0.2 mmol) 4 und 17 mg (0.17 mmol) NEt₃ in 20 mL H₂O/THF (1/1) wurde 20 h bei 37 °C gehalten. Nach Entfernen des THF, Ausschütteln mit 25 mL Et₂O (3 ×) und Zusatz von 10 mL H₂O wurde die H₂O-Phase mit 2 mL 3 M NaOAc-Lösung und 50 mL EtOH versetzt, die DNA bei −20 °C ausgefällt, 10 min mit 10 000 Umdrehungen pro min zentrifugiert und zweimal mit 70proz. EtOH gewaschen. Nach Zugabe von 30 mL H₂O enthielt 1 mL Lösung 0.95 mg DNA (UV-Konzentrationsbestimmung). Nach Vorschrift [15] wurden 0.95 mg DNA mit Nuclease P1 und alkalischer Phosphatase hydrolysiert und die Enzyme anschließend mit 800 µL 3 M NaOAc-Lösung und 20 mL EtOH bei −20 °C ausgefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in 1 mL 35proz. CH₃OH gelöst und HPLC-chromatographisch analysiert.

Eingegangen am 28. November 1988 [Z 3067]

CAS-Registry-Nummern:
4: 71825-04-2/6: 119878-68-1.

- [1] M. Kiese: *Ferrihemoglobinemia: A Comprehensive Treatise*. CRC Press, Cleveland, OH, USA 1974, S. 3ff.
- [2] D. Henschler (Hrsg.): *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe*, 1.–14. Lieferung, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1987, Anilin (Nachtrag 1983).
- [3] a) D. M. Maron, B. N. Ames, *Mutat. Res.* 113 (1983) 173; b) M. Nagao, M. Yahagi, Y. Honda, T. Senio, T. Matsushima, T. Sugimura, *Proc. Jpn. Acad.* 53 (1977) 34; c) J. Suzuki, N. Takahashi, Y. Kobayashi, R. Miyamae, M. Ohsawa, S. Suzuki, *Mutat. Res.* 178 (1987) 187.
- [4] *Bioassay of Aniline Hydrochloride for Possible Carcinogenicity*, Publication NCI CG TR 130, Washington, DC, National Cancer Institute, NIH, US PHS, Department of Health and Human Services 1978, S. 1–53.
- [5] D. J. McCarthy, W. R. Waud, R. F. Struck, D. L. Hill, *Cancer Res.* 45 (1985) 174.
- [6] a) C.-C. Lai, E. C. Miller, J. A. Miller, *Carcinogenesis (London)* 9 (1988) 1295; b) Übersicht: D. W. Hein, *Biochim. Biophys. Acta* 948 (1988) 37.
- [7] a) J. W. Gorrod, L. A. Damani (Hrsg.): *Biological Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules*, Ellis Horwood, Chichester 1985; b) J. W. Gorrod, D. Manson, *Xenobiotica* 16 (1986) 933.
- [8] a) M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, *Angew. Chem. 101* (1989) 349; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 337, zit. Lit.; b) *Tetrahedron Lett.* 30 (1989) 321, zit. Lit.
- [9] 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, 385; b) F. A. Beland, D. T. Beranek, K. L. Dooley, R. H. Heflich, F. F. Kadlubar, *EHP Environ. Health Perspect.* 49 (1983) 125.
- [10] M. D. Jacobson, R. Shapiro, G. R. Underwood, S. Broyde, L. Verna, B. E. Hingerty, *Chem. Res. Toxicol.* 1 (1988) 152.
- [11] Übersicht: H.-G. Neumann, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 112 (1986) 100.
- [12] Variation der HPLC-Bedingungen (30proz. CH₃OH, Durchfluß 0.7 mL min⁻¹, [Retentionszeit von 6: 26.3 min]) wie auch Beimischung von authentischem 6 zum DNA-Hydrolysat bestätigen das Vorliegen von 6 im DNA-Hydrolysat.
- [13] Die Konzentration von 6 im DNA-Hydrolysat wurde aus den Flächen der HPLC-Profile ermittelt.
- [14] A. M. Lobo, M. M. Marques, S. Prabhakar, H. S. Rzepa, *J. Org. Chem.* 52 (1987) 2925.
- [15] C. Gehrke, R. A. McCune, M. A. Gama-Sosa, M. Ehrlich, K. C. Kuo, *J. Chromatogr.* 301 (1984) 199.

Eine einfache Synthese von Dioxoisobakteriochlorinen aus Hämatoporphyrin **

Von Franz-Peter Montforts*, Frank Romanowski und Jan W. Bats

Sirohydrochlorin 1a, b,^[1] Sirohäm 1c^[2] und Häm d₁ 2^[3] sind porphinoide Naturstoffe mit dem Isobakteriochlorin-Grundgerüst 3. Partiell hydrierte Derivate der metallfreien Makrocyclen 1a, b sind als Biosynthesevorstufen für Vitamin B₁₂ erkannt worden^[1, 4]; die eisenhaltigen Derivate spielen eine zentrale Rolle als Cofaktoren in nitrit- und sulfitreduzierenden Enzymen von Bakterien und Pflanzen. Metallfreie Dioxoisobakteriochlorine könnten möglicherweise auch medizinische Bedeutung als Photosensibilisatoren in der photodynamischen Tumortherapie gewinnen.

[*] Prof. Dr. F.-P. Montforts, Dipl.-Chem. F. Romanowski
Institut für Organische Chemie, Fachbereich 2 der Universität
Leobener Straße/NW2, D-2800 Bremen 33

Dr. J. W. Bats
Institut für Organische Chemie der Universität
Niederurseler Hang, D-6000 Frankfurt am Main 50

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Herrn Dr. H. M. Schiebel (Braunschweig) für die Aufnahme der Massenspektren.