

## The Oxidation of Some Carcinogenic Arylhydroxylamines to Nitroso Derivatives with Manganese Dioxide

Activated manganese dioxide was reported to convert N-phenylhydroxylamine to nitrosobenzene in 40% yield<sup>1</sup>, and 6-hydroxylaminopurine to 6-nitrosopurine in 21% yield<sup>2</sup>. Water was used as a reaction media in both reports and required reaction times of up to 3 h.

We wish to report that by substituting sufficient chloroform to completely effect solution of the arylhydroxylamines for water, that they are converted to their nitroso derivatives in a few minutes in very high yield with activated manganese dioxide. The rapid rate of the reaction almost completely eliminates the formation of azoxy compounds by further reaction of the unreacted arylhydroxylamine and nitroso product<sup>3</sup> and/or further oxidation to the nitro compounds<sup>4</sup>. Therefore, the yield and purity of the nitroso compound is dependent on the purity of the arylhydroxylamine.

The 'activated' manganese dioxide reagent was prepared according to ATTENBURROW et al.<sup>5</sup>. The arylhydroxylamines<sup>6</sup> were prepared from the corresponding nitro compounds by the general procedure of WILLSTÄTTER and KUBLI<sup>7</sup>: N, 1-naphthylhydroxylamine m.p. 78–79° dec. lit.<sup>7</sup> m.p. 78°, N, 2-naphthylhydroxylamine m.p. 127° dec. lit.<sup>8</sup> m.p. 126°, N, 2-fluorenylhydroxylamine<sup>9</sup>, N, 4-biphenylhydroxylamine m.p. 151–153° dec. lit.<sup>10</sup> m.p. 153°, N, 3-dibenzofuranyhydroxylamine<sup>11</sup> and N, phenylhydroxylamine<sup>12</sup>.

The general experimental procedure is as follows. To freshly prepared arylhydroxylamine in sufficient chloroform to effect complete solution at 0°C was added 2 equivalents of activated manganese dioxide at once. The resulting suspension was stirred vigorously under nitrogen for 15 min. Thin layer chromatography<sup>13</sup> of the reaction mixture at 2 min intervals revealed that all of the arylhydroxylamines studied were completely oxidized in from 5–10 min. The manganese oxide was removed by filtration through a bed of Celite and rinsed with a few ml of chloroform<sup>14</sup>. The filtrate and washings were concentrated under reduced pressure and the compounds purified by column chromatography on silica gel<sup>15</sup> or aluminum oxide<sup>16</sup>. The first bright emerald green band was collected, the solvent removed in vacuo to yield 90–98% nitroso compound homogenous on thin-layer chromatography. The following nitroso compounds were prepared: 1-nitrosonaphthalene m.p. 84–85° lit.<sup>7</sup> m.p. 85–86°, 2-nitrosonaphthalene m.p. 62–63° lit.<sup>14</sup> m.p. 62–64°, 4-nitrosobiphenyl m.p. 74–75° lit.<sup>10</sup> m.p. 73–74°, 2-nitrosofluorene m.p. 77–78° lit.<sup>17</sup> 77–79°, nitrosobenzene m.p. 68° lit.<sup>18</sup> 67° and 3-nitrosodibenzofuran m.p. 111°. The identities of the nitroso compounds were confirmed by comparison of their physical properties, IR- and UV-spectra and R<sub>f</sub> values with those of authentic samples prepared by the oxidation of the corresponding N-arylhydroxylamines in chloroform with a molar equivalent of

diethylazodicarboxylate<sup>15</sup> and by the KMNO<sub>4</sub> oxidation of the ammonium salts of the corresponding N-nitroso-arylhydroxylamines<sup>8,14</sup>. Satisfactory C, H, and N analyses were obtained for the new compound 3-nitrosodibenzofuran<sup>19,20</sup>.

*Zusammenfassung.* Oxidation von N, 1-Naphthyl-, N, 2-Naphthyl-, N, 2-Fluorenyl-, N, 4-Biphenyl-, N, 3-Dibenzofuranyl, und N, Phenylhydroxylamin mit Mangandioxyd ergibt nach kurzer Reaktionszeit entsprechende Nitrosoderivate bei hoher Ausbeute.

EARL BRILL

Department of Pharmacology, University of Miami,  
School of Medicine, Miami (Florida, 33152, USA),  
12 December 1973.

- <sup>1</sup> E. P. PAPADOPOULAS, A. JARRAR and C. H. ISSIDORIDES, J. org. Chem. 31, 615 (1966).
- <sup>2</sup> A. GINER-SOROLLA, J. med. Chem. 7, 75 (1970).
- <sup>3</sup> H. MEISTER, Annen. Chem. 83, 679 (1964).
- <sup>4</sup> J. H. BOYER in *The Chemistry of the Nitro and Nitrose Groups*, (Ed. H. FEUER; Interscience, New York 1969), part 1, p. 264.
- <sup>5</sup> J. ATTENBURROW, A. F. CAMERON, J. H. CHAPMAN, M. R. EVANS, B. A. HEMS, A. B. JANSEN and T. WALKER, J. chem. Soc. 1952, 1094.
- <sup>6</sup> The arylhydroxylamines for which no melting point is listed decomposed with no detectable melting point.
- <sup>7</sup> R. WILLSTÄTTER and H. KUBLI, Chem. Ber. 41, 1936 (1908).
- <sup>8</sup> O. BAUDISCH and R. FÜRST, Chem. Ber. 50, 324 (1917).
- <sup>9</sup> P. D. LOTLIKAR, E. C. MILLER, J. A. MILLER and A. MARGRETH, Cancer Res. 25, 1743 (1965).
- <sup>10</sup> H. UEHLEKE and K. NESTEL, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 151 (1967).
- <sup>11</sup> N, 3-Dibenzofuranyhydroxylamine is a new compound. The white non-crystalline produce had no true melting point and decomposed above 236. It gave titration values with TiCl<sub>4</sub> of 95–96% of theory.
- <sup>12</sup> G. H. COLEMAN, C. M. MCCLASKEY and F. A. STUART, *Organic Syntheses*, (Ed. E. C. HORNING; John Wiley and Sons, New York 1955), vol. 3, p. 668.
- <sup>13</sup> H. BARTSCH, M. DWORKIN, J. A. MILLER and E. C. MILLER, Biochim. biophys. Acta 286, 272 (1972).
- <sup>14</sup> E. BOYLAND and D. MANSON, Biochem. J. 84, 101 (1966).
- <sup>15</sup> E. BRILL, Experientia 25, 680 (1969).
- <sup>16</sup> B. N. AMES, E. G. GURNEY, J. A. MILLER and H. BARTSCH, Proc. natn. Acad. Sci. 69, 3128 (1972).
- <sup>17</sup> L. A. POIRIER, J. A. MILLER and E. C. MILLER, Cancer Res. 23, 790 (1963).
- <sup>18</sup> J. A. MAASSEN and T. J. DEBOER, Recl. Trav. chim. Pays-Bas Belg. 90, 373 (1971).
- <sup>19</sup> E. BOYLAND, C. E. DUKES and P. L. GROVER, Br. J. Cancer 17, 79 (1963).
- <sup>20</sup> This investigation was supported by USPHS research Grant No. 2 RO1 CA 12974.

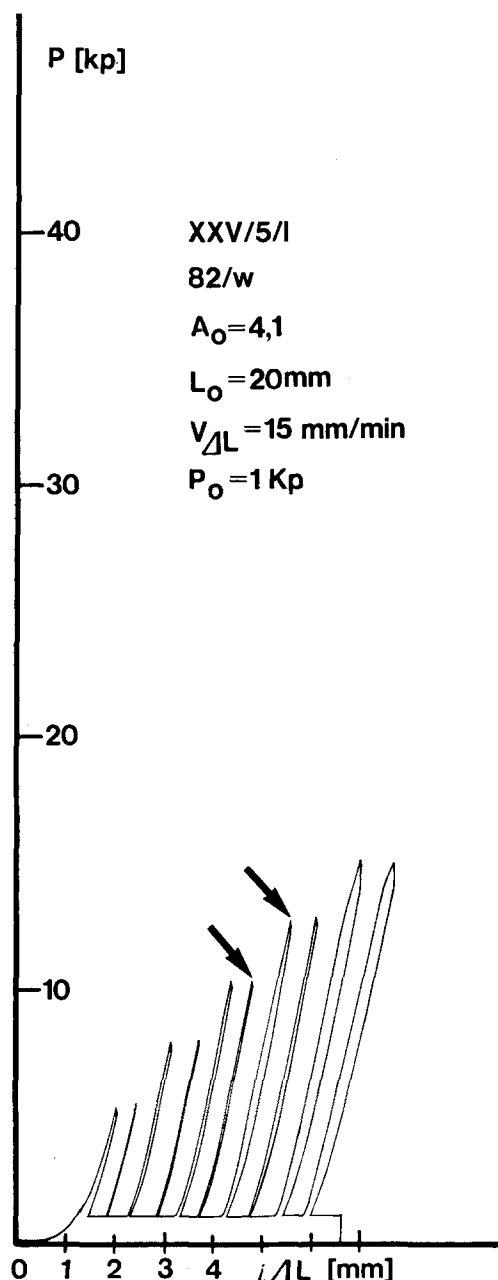
## Zur Bestimmung der Elastizitätsgrenze von Bindegewebsstrukturen in vitro

Ein ideal elastischer Körper verformt sich unter der Einwirkung äusserer Kräfte und gewinnt seine ursprüngliche Gestalt nach Aufhören der einwirkenden Kräfte zurück. Diese Vorgänge sind im vorausgesetzten Idealfall unabhängig von der Zeit. Die Elastizitätsgrenze lässt sich angeben als diejenige Kraft, Spannung, Länge oder Dehnung, um die ein Körper maximal beansprucht oder verformt werden kann, ohne dass eine bleibende Deforma-

tion nach Entlastung zurückbleibt. Da es keine absolute Elastizitätsgrenze gibt, definiert man eine technische Elastizitätsgrenze, indem man bestimmte Vereinbarungen über statthafte prozentuale Restdehnungen trifft. Dieses Verfahren ist bei den meisten biologischen Geweben nicht ohne weiteres anwendbar, da sie elastische, visköse und plastische Anteile kombiniert enthalten, ihre initiale Länge (SMITH<sup>1</sup>, FUNG<sup>2,3</sup>) oft nicht den in vivo

Verhältnissen entsprechend bestimmt werden kann und fast alle einen nichtlinearen Anfangsteil des Kraft-Längenänderungs-Diagrammes aufweisen, der Messungen erschwert. Zudem stehen viele Gewebe am Lebenden unter einer schwer bestimmbaren Vorspannung.

Aus den genannten Gründen halten wir die *in vitro* Bestimmung einer relativen Elastizitätsgrenze biologischer Gewebe, insbesondere von parallelsträhnigen Bindegewebe, für sinnvoll, bei der vorausgehende Belastungen, Vorspannung, Pausen, Be- und Entlastungsgeschwindigkeit sowie Reproduzierbarkeit berücksichtigt werden.



Sehne des M. extensor digitorum longus V vom linken Fuss. Vorlast: 1 kp. Abszisse: Längenänderung mit zwischengeschaltetem Registrierpapiervorschub. Ordinate: Kraft.

Die Figur zeigt das Vorgehen am Beispiel einer in die Klemmen einer elektronischen Zugprüfmaschine eingespannten Sehne. Es handelte sich um die Sehne des M. extensor digitorum longus V sinister vom Fuss einer 82-jährigen seziierten Patientin: Ausgangsquerschnittsfläche  $A_0 = 4,1 \text{ mm}^2$ , freie Einspannlänge  $L_0 = 20 \text{ mm}$ , Längenänderungsgeschwindigkeit  $v_{\Delta L} = 15 \text{ mm/min}$ , Vorlast  $P_0 = 1 \text{ kp}$ . Auf der Abszisse steht die jeweils unterbrochene (intermittierende) Längenzu- und -abnahme (Längenänderung)  $i \Delta L$  in Millimetern, auf der Ordinate ist die Kraft in Kilopond [kp] abgetragen. Zwischen den Längenänderungen wurden konstante Pausen eingeschoben und das Registrierpapier im Original jeweils um 1 cm mit einer Geschwindigkeit von 600 mm/min vorgeschoben, so dass jeder Be- und Entlastungskomplex eindeutig überschaubar ist. Zwischen der ersten Be- und Entlastung ist auf der Figur ein Zwischenraum zu beobachten, unter den angegebenen Bedingungen wurde also die Ausgangslänge auf dem 1 kp Vorlastniveau nicht erreicht, bei der zweiten Be- und Entlastung ist keine Restlängenzunahme auf dem 1 kp Niveau festzustellen. Steigern wir nun auf eine Lastspitze von 7,5 kp, so verbleibt eine geringe Restdehnung, erkenntlich an dem feinen Spalt zwischen auf- und absteigender Kurve des 3. Belastungszyklus. Bei der 4. Be- und Entlastung bleibt keine Residualdehnung auf dem 1 kp Niveau, zwischen auf- und absteigendem Kurvenschenkel liegt kein messbarer Zwischenraum. Das Gleiche wiederholt sich im 10 und 12,5 kp Lastbereich. Jedoch ist festzustellen, dass bei der Steigerung auf 15 kp der dem ersten folgende Be- und Entlastungsvorgang noch eine Restdehnung aufweist, die auch bei den folgenden Belastungen auf demselben Niveau nicht verschwindet, so dass nun unter den genannten Bedingungen die Elastizitätsgrenze offensichtlich überschritten ist. Sie liegt also im vorliegenden Fall zwischen 12,5 und 15 kp. Je geringer die Kraftsteigerungsbeträge gewählt werden, um so genauer lässt sich die Elastizitätsgrenze angeben. Wir sprechen von relativer Elastizitätsgrenze, da bei biologischen Geweben, insbesondere dem parallelsträhnigen Bindegewebe zahlreiche Faktoren in das Ergebnis eingehen, von denen Deformationsgeschwindigkeit, Höhe der Vorlast und Dauer der zwischengeschalteten Pausen am wichtigsten sind<sup>4,5</sup>.

**Summary.** Biological connective tissues are not perfectly elastic. They contain viscous, friction, and elastic elements. Consequently, complex mechanical behaviour can be observed. It is not possible to determine an elastic limit, as in inorganic solids. There are difficulties in measuring a natural state which can serve as a reference for mechanical testing procedures. The method described generates a steady state in the test specimen and allows the determination of a relative elastic limit.

G. ARNOLD

*Abteilung Anatomie der Rhein.-Westfälischen Technischen Hochschule, Melatener Strasse 211, D-5100 Aachen (BR Deutschland), 4. Februar 1974.*

<sup>1</sup> J. W. SMITH, *J. Anat.* (br. edn.) 88, 369 (1954).

<sup>2</sup> Y.-C. B. FUNG, *Am. J. Physiol.* 213, 1532 (1967).

<sup>3</sup> Y.-C. B. FUNG, *Biorheology* 10, 139 (1973).

<sup>4</sup> G. ARNOLD, *Nds. Ärztebl.* 19, 534 (1972).

<sup>5</sup> A. VIIDIK, L. SANDQVIST and M. MÆGI, *Acta orthop. scand. Suppl.* 79, 5 (1965).