

N-Aryl-*O*-(α -aminoacyl)hydroxylamine: Modellreaktionen mit Desoxyguanosin, Guanosin und 5'-Guanosinmonophosphat zur Aktivierung monocyclischer aromatischer Amine (z. B. Phenacetin) zu ultimativen Carcinogenen

Chris Meier und Gernot Boche*

Fachbereich Chemie der Universität Marburg,
Hans-Meerwein-Straße, D-3550 Marburg

Eingegangen am 29. Januar 1990

Key Words: *O*- α -aminoacylation, activation of aromatic amines by, / Bionucleophiles, model reactions with / *N*-[(Deoxy)guanosine-8-yl]arylamine adducts of monocyclic aromatic amines / 8-(4-Methylanilino)-5'-guanosinemonophosphate, in-vitro-formation of / Phenacetin, analog of the ultimate carcinogen

N-Aryl-*O*-(α -aminoacyl)hydroxylamines: Model Reactions with Deoxyguanosine, Guanosine and 5'-Guanosinemonophosphate for the Activation of Monocyclic Aromatic Amines (e.g. Phenacetin) into Ultimate Carcinogens

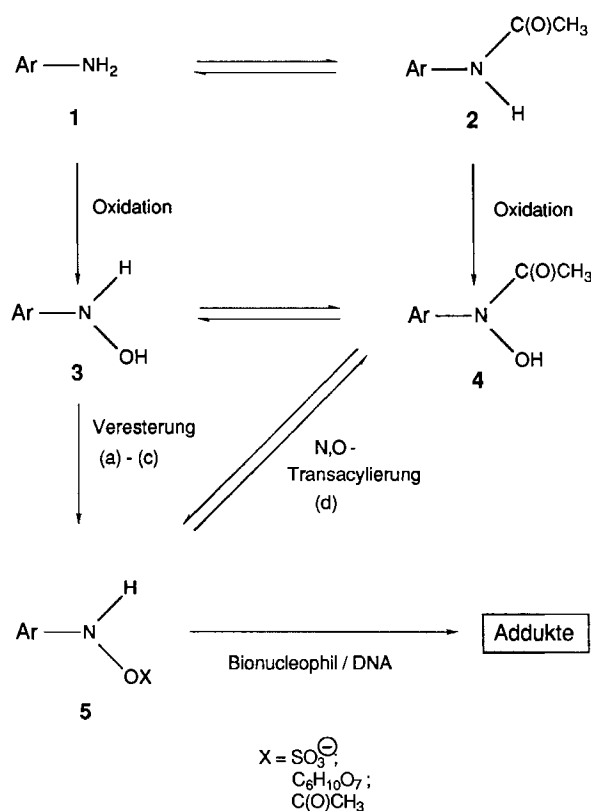
In vitro model reactions of the activation of monocyclic aromatic amines by α -amino acids it is shown that α -amino-hydroxamic acids **8** and **9** rearrange base-catalyzed to *N*-(α -aminoacyloxy)arylamines **10** and **11** which react with bionucleophiles such as deoxyguanosine (dG) (**12**), guanosine (G) (**13**) and 5'-guanosinemonophosphate (5'-GMP) (**14**) to form adducts. We describe the regioselective formation of the C-8 adducts of 4-chloroaniline (**15**), aniline (**16**), 4-methylaniline (**17**), and 4-methoxyaniline (**18**), respectively, [*N*-(deoxyguanosine-8-yl)anilines¹], and also of *N*-(guanosine-8-yl)-4-methylaniline

(**21**) and 8-(4-methylanilino)-5'-guanosinemonophosphate (**22**). Similar reactions of the *N*-(acetoxy)arylamines **20**, which are very likely to be "ultimate" carcinogens of aromatic amines, lead to the same C-8 adducts **15**–**18**, **21**, and **22** in comparable yields. These in vitro reactions thus show that the *N*-(α -aminoacyloxy)arylamines **10** and **11** react like the *N*-(acetoxy)anilines **20** as "ultimate" carcinogens. Therefore, the activation of aromatic hydroxylamines by *O*- α -aminoacylation is of similar quality as by *O*-acetylation.

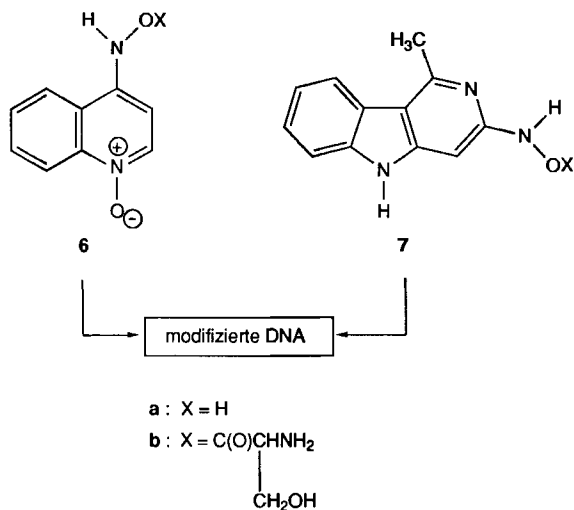
Zur Tumorinduktion durch aromatische Amine **1** und Amide **2** müssen diese im Organismus zuerst metabolisiert werden¹⁾. In vivo sind zwei Schritte nötig, um **1** bzw. **2** in entscheidende („ultimate“) Carcinogene zu überführen: 1) der Initialschritt ist die *N*-Oxidation zum Hydroxylamin **3** bzw. zur Hydroxamsäure **4** durch die Monooxygenase Cytochrom P450^{2a)} oder durch Flavin-haltige Monooxygenasen^{2b)}. 2) Anschließende Veresterung der Hydroxy-Gruppe führt zu Verbindungen des Typs **5** mit einem elektrophilen Stickstoff-Atom. Bisher wurde die *O*-Sulfonylierung^{3a)}, *O*-Glucuronylierung^{3b)} sowie *O*-Acetylierung^{3c)} von **3** intensiv untersucht. *O*-Acyl-*N*-arylhydroxylamine [*N*-(Acyloxy)-arylamine] **5** entstehen aber auch bei der *N,O*-Transacylierung^{3d)} von **4**.

In einem weiteren Schritt reagieren die *N*-(Acyloxy)-arylamine **5** dann mit Bionucleophilen wie den DNA/RNA-Basen Desoxyguanosin (dG) (**12**) bzw. Guanosin (G) (**13**) oder mit Proteinen zu „Addukten“, die für die Krebsentstehung verantwortlich zu sein scheinen⁴⁾.

Zur *O*-Acylierung gehört prinzipiell auch die Veresterung der Hydroxylamin-OH-Gruppe mit α -Aminosäuren. Erste Hinweise auf diese Aktivierungsart lieferten Tada und Tada 1974 im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Aktivierung von 4-(Hydroxyamino)chinolin-1-oxid (**6a**), das in den Hydroxylaminester **6b** umgewandelt werden soll⁵⁾. Weitere Hinweise lieferten Yamazoe et al., wobei das Tryptophan-

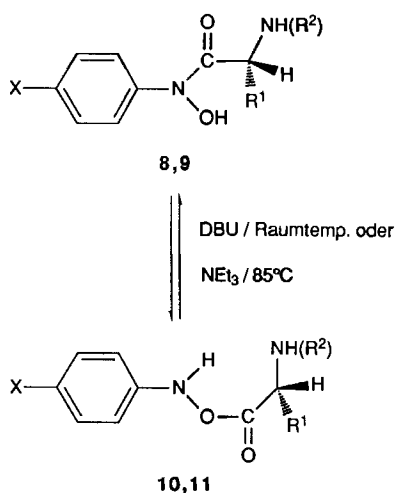


Pyrolysat *N*-OH-Trp-P-2 (**7a**) zur *O*-(α -Aminoacyl)-Verbindung **7b** metabolisiert werden soll⁶. Vergleichbare Befunde stammen von Hashimoto et al. für 4-(Hydroxyamino)azobenzol-Farbstoffe⁷. In allen Fällen konnten jedoch weder die reaktiven Metaboliten isoliert noch Informationen über Art und Struktur der DNA-Modifikationen erhalten werden⁸.



Metabolisierung durch:

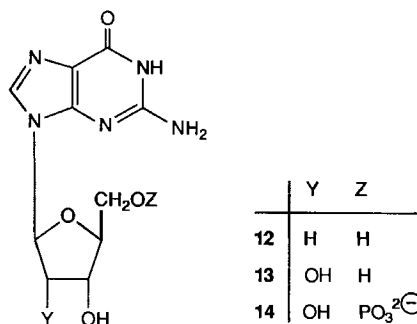
L-Seryl-tRNA - Synthetase, ATP / Mg²⁺, L-Serin



8, 9, 10, 11	X	R ¹	R ²
8a, 10a	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	H
8b, 10b	CH ₃	CH ₂ Ph	H
9aα, 11aα	Cl	H	CH ₂ Ph
9aβ, 11aβ	Cl	CH ₃	CH ₂ Ph
9bα, 11bα	H	H	CH ₂ Ph
9bβ, 11bβ	H	CH ₃	CH ₂ Ph
9cα, 11cα	CH ₃	H	CH ₂ Ph
9cβ, 11cβ	CH ₃	CH ₃	CH ₂ Ph
9dα, 11dα	OCH ₃	H	CH ₂ Ph
9dβ, 11dβ	OCH ₃	CH ₃	CH ₂ Ph

Im folgenden berichten wir über die basenkatalysierten *N,O*-Transacylierungen der α -Aminohydroxamsäuren **8** und **9** zu den *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-aryl-hydroxylaminen **10** und **11**.

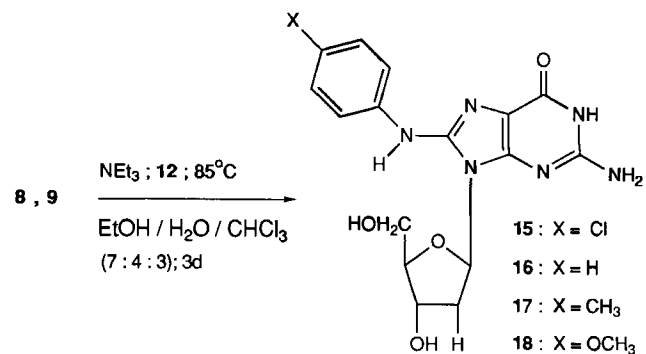
Des weiteren berichten wir über die in-vitro-Reaktionen von **10** und **11** mit den Bionucleophilen Desoxyguanosin (dG) (**12**), Guanosin (G) (**13**) und 5'-Guanosinmonophosphat (5'-GMP) (**14**).



In der voranstehenden Arbeit beschrieben wir die Synthese der bis dahin unbekanntenen „freien“ bzw. *N*^o-benzylierten α -Aminohydroxamsäuren **8** bzw. **9**^{8a}. Wir konnten zeigen, daß sich diese Verbindungen („proximate Carcinogene“) durch Basenkatalyse mit Triethylamin (NEt₃; p*K*_B = 18.46⁹) oder 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU; p*K*_B = 24.36⁹) in die *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-arylhydroxylamine **10** bzw. **11** („ultimate Carcinogene“) umlagern lassen^{8b}.

Damit konnte der in vivo ablaufende, enzymatische *N,O*-Acyl-Transfer in vitro simuliert werden. Diese basenkatalysierte *N,O*-Transacylierung hatten wir erstmals bei Hydroxamsäuren des Typs **4** (*N*-Acyl = *N*-Acetyl, *N*-Pivaloyl, *N*-Benzoyl) beobachtet¹⁰. Nachdem auch der *N,O*-Transfer der α -Aminoacyl-Gruppe bei **8** und **9** mit Hilfe der Modellabfangreaktion mit *N*-Methylanilin bewiesen worden war, wurden **8** und **9** mit dem Bionucleophil Desoxyguanosin (dG) (**12**) umgesetzt.

Die Umsetzungen der α -Aminohydroxamsäuren **8** bzw. **9** mit dG (**12**) wurden mit Triethylamin bei 85°C in einem Lösungsmittelgemisch aus Ethanol/Chloroform/Wasser durchgeführt. In allen Fällen konnten Addukte an dG (**12**) nachgewiesen, durch präparative HPLC isoliert und ¹H- und ¹³C-NMR- und UV/VIS-spektroskopisch sowie massenspektrometrisch aufgeklärt werden. Bei allen Addukten



war die elektrophile Aminierung an der C-8-Position des Guanin-Gerüsts eingetreten, was zu den *N*-(Desoxyguanosin-8-yl)arylaminen **15**–**18** führte (Tab. 1).

Tab. 1. Desoxyguanosin-Addukte aus den α -Aminohydroxamsäuren **8**, **9**; Reaktionen in einem Lösungsmittelgemisch aus EtOH/CHCl₃/H₂O (7:4:3) bei 85°C, 3 d; Umlagerungsbasis: NEt₃

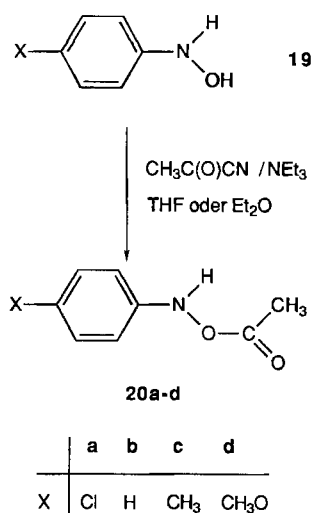
Rkt.	8, 9	Addukt an 12	Reaktionszeit [h]	Ausb. (%)
1	8a	17	70	3.3
2	8b	17	70	3.2
3	9aα	15	85	1.3
4	9aβ	15	85	1.4
5	9bα	16	82	1.2
6	9bβ	16	82	0.9
7	9cα	17	72	2.7
8	9cβ	17	72	2.5
9	9dα	18	70	6.5
10	9dβ	18	70	6.3

Tab. 1 zeigt eine merkbare Abhängigkeit der Addukt- ausbeute von der eingesetzten α -Aminohydroxamsäure. So lieferten die mit dem schwachen Akzeptor 4-Chlor ($\sigma_p = 0.24^{11}$) substituierten Hydroxamsäuren **9a α** , **9a β** nur 1.3 bzw. 1.4% Addukt **15**, während bei den mit dem starken Donor 4-Methoxy ($\sigma_p = -0.24^{11}$) substituierten Verbindungen **9d α** , **9d β** mit 6.3 bzw. 6.5% Addukt **18** etwa die fünffache Menge gebildet wurde. Bei den Modellreaktionen mit *N*-Methylanilin hatte der 4-Substituent einen ähnlichen Einfluß auf die Adduktbildung. *ortho*-Aminierungs-Produkte wie in den Umsetzungen mit *N*-Methylanilin konnten bei den Reaktionen mit dG (**12**) nicht isoliert werden^{8a}.

Die Bedeutung der hier vorgestellten Modellreaktionen und ihrer Produkte liegt darin, daß die *N*-(Desoxyguanosin-8-yl)arylamine **15**–**18** zu demjenigen Addukttyp gehören, der sich bei *in-vivo*-Untersuchungen durch besonders hohe Persistenz am intakten DNA-Strang auszeichnet¹². Deshalb wird diesem Addukttyp eine bedeutende Rolle bei der Auslösung der Carcinogenese durch aromatische Amine zugesprochen.

Wie sieht nun ein Vergleich der dG-Adduktbildung ausgehend von den α -Aminohydroxamsäuren **8** bzw. **9** mit der dG-Adduktbildung ausgehend von den entsprechend substituierten *N*-Acetoxyanilinen **20** aus? Die *N*-Acetoxy-Derivate von carcinogenen aromatischen Aminen des Typs **20** gelten als die entscheidenden ultimativen Metaboliten bei der Tumorerinduktion^{14,13}.

Neben bereits bekanntem *N*-Acetoxy-4-chloranilin¹⁴ (**20a**) und *N*-(Acetoxy)anilin^{15a} (**20b**) konnten wir hier erstmals donorsubstituiertes, thermisch sehr instabiles *N*-(Acetoxy)toluidin (**20c**) und *N*-(Acetoxy)anisidin (**20d**), das ein Modell für das ultimative Carcinogen von Phenacetin ist¹⁶, darstellen und charakterisieren¹⁷. Die Darstellung der *N*-(Acetoxy)arylamine **20** gelang durch Umsetzung der entsprechenden Hydroxylamine **19** mit Acetylcyanid in Diethylether oder Tetrahydrofuran nach der Methode von Lobo et al.¹⁸. Die Reaktionsbedingungen und Ausbeuten sind in Tab. 2 zusammengefaßt.



Tab. 2. Darstellung der *N*-(Acetoxy)arylamine **20a**–**d**

20	Reaktionsbed.	Ausb. (%)
a ^{a)}	–40°C/Et ₂ O/30 min	75
b ^{b)}	–40°C/Et ₂ O/30 min	65
c	–50°C/THF/30 min	90
d	–78°C/THF/ 5 min	95

a) Siehe Lit.^{15a}. – b) Siehe Lit.¹⁴.

Die *N*-(Acetoxy)aniline **20a**–**d** unterscheiden sich deutlich in ihren Stabilitäten. Stellen **20a** und **20b** noch gut handhabbare Verbindungen dar, so zersetzte sich **20c** oberhalb von 0°C innerhalb von 20 Minuten. **20d** war sogar noch instabiler als **20c**, so daß es nicht mehr in Substanz gefaßt werden konnte. Es ließ sich lediglich bei –78°C in [D₈]THF darstellen, um dann sogleich bei –70°C ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht zu werden. Aber selbst unter diesen Bedingungen zersetzte sich die *p*-Methoxy-Verbindung **20d** innerhalb weniger Minuten.

Für die Umsetzungen mit dem DNA-Nucleosid Desoxyguanosin (dG) (**12**) wurden die *N*-(Acetoxy)arylamine **20a**, **c**, **d** in Ether bzw. THF als Lösungsmittel frisch hergestellt und zu dG (**12**) gegeben, das in wäßriger Lösung vorgelegt wurde (Tab. 3).

Tab. 3. Die Desoxyguanosin-Addukte **15**–**18** aus den *N*-(Acetoxy)arylaminen **20a**–**d**; Reaktionen in THF/Wasser (1:1), 2–12 h

Rkt.	20	Addukt an 12	Ausb. (%)
1	a	15	1.9
2 ^{a)}	b	16	2.5
3	c	17	3.3
4	d	18	4.2

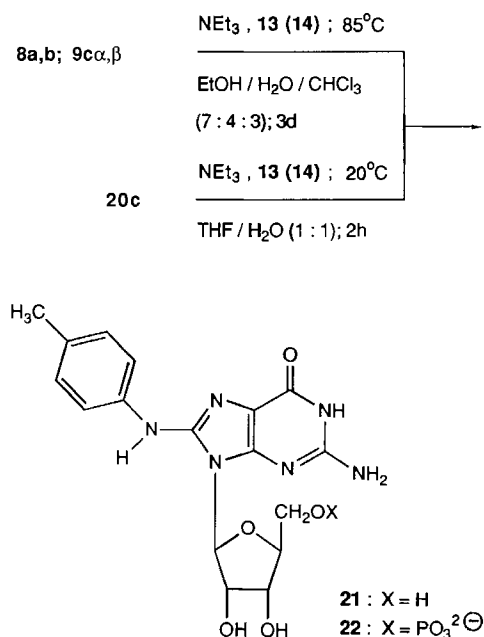
a) Siehe Lit.^{15a}.

Tab. 3 zeigt, daß bei diesen *in-vitro*-Reaktionen die gleichen dG-Addukte **15**, **17** und **18** gefaßt werden konnten, die auch schon bei den Umsetzungen der *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-

arylhydroxylamine **10** bzw. **11** mit dG (**12**) isoliert wurden. Weitere Addukte an dG (**12**) ließen sich nicht nachweisen. In Übereinstimmung mit den hier vorgestellten Ergebnissen steht der Befund, daß auch *N*-(Acetoxy)anilin (**20b**) mit dG (**12**) nur das C-8-Addukt **16** lieferte^{15a}, und 2-(Acetoxyamino)fluoren ausschließlich zu *N*-(Desoxyguanosin-8-yl)-2-aminofluoren führte. Bei dieser *in-vitro*-Reaktion konnte das C-8-Addukt in 13proz. Ausbeute isoliert werden^{19a}.

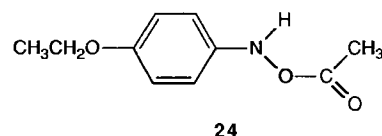
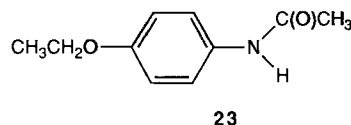
Die Tatsache, daß aus den α -Aminohydroxamsäuren **8** bzw. **9** wie aus den *N*-(Acetoxy)arylaminen **20** die gleichen C-8-Desoxyguanosin-Addukte **15**–**18** gebildet wurden, zeigt, daß **8** und **9** durch Basen-Katalyse in die *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-arylhydroxylamine **10** und **11** übergeführt wurden, die dann – wie die *N*-Acetoxy-Verbindungen **20** – mit dem DNA-Nucleosid dG (**12**) reagierten. Die etwa gleich hohen Ausbeuten deuten an, daß die *O*- α -Aminoacylierung für die Aktivierung etwa von gleicher Qualität ist wie die *O*-Acetylierung. Damit bestätigen die Umsetzungen mit dG (**12**) die bei den Reaktionen mit dem Modellnucleophil *N*-Methylanilin erhaltenen Ergebnisse eindrucksvoll⁸.

Auch das RNA-Nucleosid Guanosin (G) (**13**) und das RNA-Nucleotid 5'-Guanosinmonophosphat (5'-GMP) (**14**) wurden als Bionucleophile eingesetzt, und zwar in den Umsetzungen mit den 4-Methyl-substituierten α -Aminohydroxamsäuren **8a, b** und **9 α, β** sowie mit *N*-(Acetoxy)toluidin (**20c**). Dabei entstanden die bislang unbekanntenen C-8-Addukte **21** und **22**. Die Ausbeuten lagen in derselben Größenordnung wie bei den zuvor beschriebenen Reaktionen der 4-Methyl-substituierten Verbindungen **8a, b** und **9 α, β** sowie **20c** mit dG (**12**) (3.8–3.9%).



Es ist bemerkenswert, daß außer dem erwähnten C-8-Anilin-Addukt **18**¹⁵ bisher keine DNA/RNA-Basen-Addukte von monocyclischen, aromatischen Aminen bekannt waren. Die Bildung der hier beschriebenen Addukte **15**–**18** ist deshalb von Interesse, weil Mutagenität und Carcinogenität

monocyclischer, aromatischer Amine weitaus weniger eindeutig ist als dies bei polycyclischen Arylaminen der Fall ist. 4-Chloranilin^{20a}, Anilin^{20b} und auch *p*-Toluidin^{20c} gelten als Grenzcarcinogene, während 4-Alkoxy-substituierte Aniline zu den schwachen Carcinogenen zu zählen sind^{20d}. Als Beispiel für ein als carcinogen eingestuftes, 4-Alkoxy-substituiertes Anilin sei das 1986 vom Markt entfernte, pharmakologisch wirksame 4-Ethoxyacetanilid („Phenacetin“) (**23**) erwähnt²¹. Sein ultimates Carcinogen *N*-Acetoxy-4-ethoxyanilin („*N*-Acetoxyphenetidin“) (**24**) sollte sich nicht wesentlich von den hier beschriebenen 4-Methoxy-Verbindungen **9 α, β** und **20d** unterscheiden.



Im Zusammenhang mit der Carcinogenität mag auch von Bedeutung sein, daß die Derivate der Grenzcarcinogene 4-Chloranilin und Anilin bei den hier vorgestellten Adduktbildungsreaktionen (Tab. 1 und 2) deutlich geringere Ausbeuten an C-8-Addukt **15** bzw. **16** lieferten (1.0%–2.5%) als die Derivate des schwachen Carcinogens *p*-Anisidin (**18**: 6.5%). Die Derivate des *p*-Toluidins nehmen eine Zwischenstellung ein. Wie erwähnt, erhält man mit *N*-Acetoxy-2-aminofluoren, einem ultimates Metaboliten des starken Carcinogens 2-Aminofluoren, 13% des C-8-dG-Adduktes^{19a}. Eine Antwort auf die Frage, ob das Ausmaß der Bildung der C-8-Addukte mit der Mutagenität bzw. der Carcinogenität der einzelnen Arylamine korreliert, liefern diese Ergebnisse jedoch noch nicht.

Fazit: Diese *in-vitro*-Untersuchungen zeigen, daß α -Aminosäuren in der Lage sind, aromatische Hydroxylamine durch Bildung von *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-arylhydroxylaminen **10, 11** so zu aktivieren, daß sie mit Bionucleophilen wie DNA- und RNA-Basen Addukte bilden. Ein Vergleich der *O*-(α -Aminoacyl)-*N*-arylhydroxylamine **10, 11** mit den *O*-Acetyl-*N*-arylhydroxylaminen **20** zeigt, daß beide Arten elektrophiler Aminierungs-Reagenzien von ungefähr gleicher Qualität für Modellreaktionen zur Carcinogenese durch aromatische Amine sind.

C. M. dankt dem *Fonds der Chemischen Industrie* für ein Stipendium. Diese Arbeit wurde vom *Fonds der Chemischen Industrie*, der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und der *BASF AG* gefördert.

Experimenteller Teil

IR: Bruker FT-IR IFS 88. – UV/VIS: Kontron Instruments Uvikon 860 UV. – NMR: Bruker AC 300, AM 400 (¹H, ¹³C); Standard: TMS (intern). – MS: Varian MAT CH 7a (EI), Varian MAT 711 (FD).

Darstellung der N-(Acetoxy)arylamine 20

20a–c: Die Synthesen dieser Verbindungen wurden bereits veröffentlicht¹⁴⁾.

20d: 19.6 mg (0.14 mmol) *N*-(4-Methoxyphenyl)hydroxylamin²²⁾ **19** und 19.5 μ l (0.14 mmol) Triethylamin wurden in 1 ml [D₆]THF gelöst und auf -78°C abgekühlt. Zu dieser Lösung pipettierte man 10.0 μ l (0.14 mmol) Acetylcyamid und schüttelte schnell um. Dann wurde die Probe sofort bei -70°C spektroskopiert; Ausb. 95%. — ¹H-NMR ([D₆]THF): δ = 2.10 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 6.82 (d, 2H), 6.98 (d, 2H), 9.57 (br. s, 1H). — Die weitere Charakterisierung war nicht möglich, da sich die Verbindung sofort zersetzte.

Umsetzungen mit Desoxyguanosin (dG) (12) und Guanosin (G) (13):

a) **Mit den α -Aminohydroxamsäuren 8, 9⁸⁾.** — **Allgemeine Vorschrift:** 1.07 g (4.00 mmol) Desoxyguanosin (dG) (**12**) bzw. Guanosin (G) (**13**) löste man in 70 ml eines Lösungsmittelgemisches aus Ethanol/Chloroform/Wasser (7:4:3) unter Erwärmung auf, gab 2.66 ml (20.0 mmol) Triethylamin zu und versetzte diese Lösung mit 4.00 mmol α -Aminohydroxamsäure **8** bzw. **9**. Die so entstandene Lösung wurde 3–4 d unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingengt, mit 250 ml Wasser versetzt (schwarzbraune Lösung) und sechsmal mit 150 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die gelbe wäßrige Phase wurde anschließend fünfmal mit Wasser-gesättigtem *n*-Butanol ausgeschüttelt, wobei die wäßrige Phase völlig farblos wurde. Die organische Phase wurde im Rotationsverdampfer i. Vak. bei 40°C bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Methanol (HPLC-Reinheitsgrad) aufgenommen und die Lösung durch einen Membranfilter filtriert. Diese Lösung wurde anschließend durch präparative HPLC gereinigt. Die dabei verwendete Säule enthält als Füllmaterial LiChrosorb RP 18, 7 μm (230 \times 20 mm); als Fließmittel wurden Methanol/Wasser-Gemische (40:60 bzw. 35:65) verwendet.

b) **Mit den N-(Acetoxy)arylaminen 20.** — **Allgemeine Vorschrift:** Eine Lösung von **20a–d** (8.00 mmol) in THF (50 ml) gab man zu einer Lösung aus 8.00 mmol des entsprechenden Bionucleophils in 50 ml Wasser und ließ 12 h rühren. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend wie bei den Umsetzungen von **8** bzw. **9** beschrieben aufgearbeitet.

4-Chlor-N-(desoxyguanosin-8-yl)anilin (15): Retentionszeit: 26.2 min (40proz. Methanol). — Ausb. 21 mg (1.3%). — IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3332 cm^{-1} , 2924, 1682, 1641, 1603, 1493, 1412, 1385, 1090, 824. — UV (CH₃OH): λ_{max} (lg ϵ) = 286 nm (4.365), 203 (4.290); λ_{min} (lg ϵ) = 220 nm (3.857). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.01 (dd, 1H), 2.49 (m_c, 1H), 3.70 (m_c, 1H), 3.74 (m_c, 1H), 3.92 (s, 1H), 4.41 (d, 1H), 5.36 (br. s, 1H*), 6.02 (br. s, 1H*), 6.32 (dd, 1H), 6.46 (br. s, 2H*), 7.29 (d, 2H), 7.78 (d, 2H), 8.81 (s, 1H*), 10.45 (br. s, 1H*); alle mit * gekennzeichneten Signale tauschen in D₂O aus. — ¹³C-NMR ([D₆]DMSO; ¹J_{CH} [Hz]): δ = 38.70 (t, 150.63), 61.51 (t, 142.31), 71.50 (d, 148.87), 83.09 (d, 162.20), 87.42 (d, 147.30), 112.27 (s), 118.99 (d, 163.00), 124.15 (s), 128.48 (d, 165.00), 139.93 (s), 143.11 (s), 149.68 (s), 153.16 (s), 155.91 (s). — MS (FD): m/z (%) = 392 (³⁵Cl) (100) [M⁺], 394 (³⁷Cl) (37.57), 276 (³⁵Cl) (98.40), 278 (³⁷Cl) (23.11).

N-(Desoxyguanosin-8-yl)anilin (16): Siehe Literaturdaten^{15a)}.

N-(Desoxyguanosin-8-yl)-4-methylanilin (17): Retentionszeit: 26.5 min (35proz. Methanol); 18.7 min (40proz. Methanol). — Ausb. 52 mg (3.3%). — IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3299 cm^{-1} , 2925, 1682, 1638, 1600, 1515, 1450, 1100, 1050, 1024, 1004, 830. — UV (CH₃OH): λ_{max} (lg ϵ) = 282 nm (4.305), 207 (4.211); λ_{min} (lg ϵ) = 241 nm (3.794). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 1.92 (dd, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.45 (m_c, 1H), 3.69 (m_c, 1H), 3.73 (m_c, 1H), 3.84 (d, 1H), 4.34 (m_c, 1H), 5.28 (br. s, 1H*), 5.86 (br. s, 1H*), 6.25 (dd, 1H), 6.40 (br. s, 2H*), 6.97

(d, 2H), 7.55 (d, 2H), 8.48 (s, 1H*), 10.70 (br. s, 1H*); alle mit * gekennzeichneten Signale tauschen in D₂O aus. — ¹³C-NMR ([D₆]DMSO; ¹J_{CH} [Hz]): δ = 20.27 (q, 125.70), 38.43 (t, 135.00), 61.26 (t, 142.60), 71.23 (d, 153.90), 82.77 (d, 157.30), 87.14 (d, 145.60), 112.11 (s), 117.39 (d, 162.20), 128.38 (d, 156.17), 129.20 (s), 138.43 (s), 143.51 (s), 149.46 (s), 152.88 (s), 155.81 (s). — MS (FD): m/z (%) = 373 (7.40) [M⁺ + 1], 256 (100); MS (EI): m/z (%) = 256 (81.56), 255 (18.04), 117 (32.65).

N-(Desoxyguanosin-8-yl)-4-methoxyanilin (18): Retentionszeit: 7.7 min (40proz. Methanol). — Ausb. 100 mg (6.5%). — IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3488 cm^{-1} , 3380, 3314, 3128, 2918, 2836, 1676, 1631, 1585, 1563, 1537, 1510, 1357, 1230, 824. — UV [CH₃OH/H₂O (1:1)]: λ_{max} (lg ϵ) = 281 nm (4.398), 203 (4.375); λ_{min} (lg ϵ) = 233 nm (3.903). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 1.98 (dd, 1H), 2.48 (m_c, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.70 (m_c, 1H), 3.74 (m_c, 1H), 3.91 (d, 1H), 4.39 (d, 1H), 5.41 (br. s, 1H*), 5.99 (br. s, 1H*), 6.29 (dd, 1H), 6.38 (br. s, 2H*), 6.82 (s, 2H), 7.58 (d, 2H), 8.58 (s, 1H*), 10.69 (br. s, 1H*); alle mit * gekennzeichneten Signale tauschen in D₂O aus. — ¹³C-NMR ([D₆]DMSO; ¹J_{CH} [Hz]): δ = 38.10 (t, 130.21), 55.17 (q, 126.15), 61.27 (t, 143.05), 71.29 (d, 147.98), 82.81 (d, 162.75), 87.17 (d, 146.98), 112.02 (s), 113.72 (d, 163.75), 118.99 (d, 158.25), 134.13 (s), 144.01 (s), 149.52 (s), 152.75 (s), 153.60 (s), 155.68 (s). — MS (FD): m/z (%) = 388 (100) [M⁺], 272 (96.34); MS (EI): m/z (%) = 123 (53.14), 108 (76.72), 44 (100).

N-(Guanosin-8-yl)-4-methylanilin (21): Retentionszeit: 11.9 min (40proz. Methanol). — Ausb. 239 mg (3.9%). — IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3341 cm^{-1} , 3215, 2923, 1679, 1629, 1603, 1563, 1513, 1120, 1015, 819. — UV [CH₃OH/H₂O (1:1)]: λ_{max} (lg ϵ) = 281 nm (4.243), 200 (4.274); λ_{min} (lg ϵ) = 238 nm (3.716). — ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ = 2.23 (s, 3H), 3.70 (m_c, 1H), 3.72 (m_c, 1H), 3.97 (d, 1H), 4.09 (d, 1H), 4.48 (m_c, 1H), 5.12 (br. s, 1H*), 5.38 (d, 1H*), 5.88 (d, 1H), 6.02 (br. s, 1H*), 6.35 (br. s, 2H*), 7.06 (d, 2H), 7.62 (d, 2H), 8.46 (s, 1H*), 10.53 (br. s, 1H*); alle mit * gekennzeichneten Signale tauschen in D₂O aus. — ¹³C-NMR ([D₆]DMSO; ¹J_{CH} [Hz]): δ = 20.30 (q, 126.00), 60.72 (t, 141.10), 70.81 (d, 148.32), 79.28 (d, 147.82), 85.72 (d, 149.94), 86.28 (d, 160.61), 112.25 (s), 117.39 (d, 160.82), 128.88 (d, 157.32), 129.28 (s), 138.31 (s), 143.34 (s), 150.22 (s), 152.64 (s), 155.69 (s). — MS (FD): m/z (%) = 388 (4.04) [M⁺], 389 (5.81), 390 (3.24), 256 (23.05); MS (EI): m/z (%) = 257 (23.84), 256 (45.46), 255 (6.83), 133 (7.85), 132 (7.25), 107 (22.54), 106 (27.22), 44 (65.32), 43 (100).

Umsetzungen der 4-Methyl-substituierten Hydroxamsäuren 8, 9c sowie von N-(Acetoxy)toluidin (20c) mit 5'-Guanosinmonophosphat (5'-GMP) (14): Die α -Aminohydroxamsäuren **8, 9c** (4 mmol) bzw. *N*-(Acetoxy)toluidin (**20c**) (660 mg, 4 mmol) wurden mit 5'-Guanosinmonophosphat (5'-GMP) (**14**) analog zu den Reaktionen mit dG (**12**) umgesetzt. Die Aufarbeitung wurde jedoch abgeändert: Das Reaktionsgemisch wurde bis zur Trockene eingengt, in 200 ml Wasser aufgenommen und siebenmal mit je 100 ml Diethylether und anschließend fünfmal mit ca. 150 ml *n*-Butanol ausgeschüttelt. Dann wurde die wäßrige Phase erneut unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingengt. Der zurückbleibende Feststoff wurde in heißem Methanol gelöst und der beim Abkühlen ausfallende Feststoff abfiltriert; es handelt sich um nicht umgesetztes Edukt **14** (Identifizierung durch HPLC). Anschließend wurde die methanolische Lösung durch einen Membranfilter filtriert und mittels präparativer HPLC getrennt. Als Fließmittel wurde 13proz. Methanol verwendet.

8-(4-Methylanilino)-5'-guanosinmonophosphat (22): Retentionszeit: 13.1 min (13proz. Methanol); 6.2 min (20proz. Methanol). — Ausb. 165 mg (3.8%). — IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3372 cm^{-1} , 2925, 2854, 1680, 1602, 1567, 1514, 1459, 1377, 1109, 814. — UV (CH₃OH): λ_{max} (lg ϵ) = 279 nm (4.279), 205 (4.312); λ_{min} (lg ϵ) = 249 nm (3.748). —

¹H-NMR (D₂O): δ = 2.23 (s, 3H), 3.90 (m_s, 1H), 3.93 (m_s, 1H), 4.09 (m_s, 1H), 4.36 (dd, 1H), 4.87 (dd, 1H), 5.73 (d, 1H), 7.11 (d, 2H), 7.25 (d, 2H). — ¹³C-NMR (D₂O; ¹J_{CH} [Hz]): δ = 21.45 (q, 124.91), 65.17 (t, 145.74), 71.68 (d, 156.07), 72.05 (d, 153.59), 84.65 (d, 148.74), 88.03 (d, 162.12), 114.12 (s), 121.00 (d, 160.62), 131.24 (d, 158.88), 134.15 (s), 138.82 (s), 148.35 (s), 152.88 (s), 154.66 (s), 159.41 (s). — ³¹P-NMR (D₂O): δ = 4.645. — MS (FD): *m/z* (%) = 372 (6.31), 283 (10.64), 259 (25.79), 257 (80.58), 256 (32.60), 153 (11.83), 152 (13.81), 119 (100).

CAS-Registry-Nummern

8a: 126875-70-5 / 8b: 126875-71-6 / 9a α : 126875-72-7 / 9a β : 126875-73-8 / 9b α : 126875-74-9 / 9b β : 126875-75-0 / 9c α : 126875-76-1 / 9c β : 126875-77-2 / 9d α : 126875-78-3 / 9d β : 126875-79-4 / 12: 961-07-9 / 13: 118-00-3 / 14: 85-32-5 / 15: 126875-80-7 / 16: 119878-68-1 / 17: 126788-73-6 / 18: 126875-81-8 / 19: 4546-20-7 / 20a: 126875-82-9 / 20b: 71825-04-2 / 20c: 126875-83-0 / 20d: 126875-69-2 / 21: 126788-74-7 / 22: 126788-75-8 / Acetylcyanid: 631-57-2

- ¹⁾ ^{1a)} F. F. Kadlubar, F. A. Beland, *EHP, Environ. Health Perspect.* **49** (1983) 1. — ^{1b)} E. C. Miller, *Cancer Res.* **38** (1978) 1479. — ^{1c)} S. S. Thorgeirsson, E. K. Weisburger, C. M. King, J. D. Scribner (eds.), *Natl. Cancer Inst. Monograph* **58** („Carcinogenic and Mutagenic *N*-Substituted Aryl-Compounds“), US Government Printing Office, Washington, DC, 1981. — ^{1d)} E. Kriek, *Biochim. Biophys. Acta* **355** (1974) 177.
- ²⁾ ^{2a)} S. S. Thorgeirsson in *Biochemical Basis of Chemical Carcinogenesis* (H. Greim, R. Jung, M. Kramer, H. Marquardt, F. Oesch, Hrsg.), S. 47, Raven Press, New York, 1984; M. A. Butler, F. P. Guengerich, F. F. Kadlubar, *Cancer Res.* **49** (1989) 25; P. D. Lotlikar in *Biochemical Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules* (J. W. Gorrod, L. A. Damani, Hrsg.), S. 163, VCH Verlagsgesellschaft/Ellis Horwood, Weinheim/Chichester 1985. — ^{2b)} C. B. Frederick, J. B. Mays, D. M. Ziegler, F. P. Guengerich, F. F. Kadlubar, *Cancer Res.* **42** (1982) 2671; D. R. Doerge, M. D. Corbett in *Biochemical Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules* (J. W. Gorrod, L. A. Damani, Hrsg.), S. 107, VCH Verlagsgesellschaft/Ellis Horwood, Weinheim/Chichester 1985.
- ³⁾ ^{3a)} R. D. Sekura, E. S. Lyon, C. J. Marcus, J. L. Wang in *Enzymatic Basis of Detoxification* (W. B. Jacobs, Hrsg.), Bd. 2, S. 199, Academic Press, New York 1980; C. C. Lai, J. A. Miller, E. C. Miller, A. Liem, *Carcinogenesis* **6** (1985) 1037; J. H. N. Meerman, A. B. D. van Doorn, J. J. Mulder, *Cancer Res.* **40** (1980) 3772. — ^{3b)} F. F. Kadlubar, L. E. Unruh, T. J. Flammang, D. Sparks, R. K. Mitchum, G. J. Mulder, *Chem. Biol. Interact.* **33** (1981) 129. — ^{3c)} E. Kriek, J. G. Westra, M. Welling in *Biological Oxidation of Nitrogen in Organic Molecules* (J. W. Gorrod, L. A. Damani, Hrsg.), S. 367, VCH Verlagsgesellschaft/Ellis Horwood, Weinheim/Chichester 1985; T. J. Flammang, F. F. Kadlubar, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **25** (1984) 474; Y. Hashimoto, K. Shudo, T. Okamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 7636; R. Kato, A. Sairo, A. Shinohara, Y. Yamazoe, T. Kamataki, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **25** (1984) 475; K. Saito, Y. Yamazoe, T. Kamataki, R. Kato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **116** (1983) 141. — ^{3d)} C. M. King, W. T. Allaben in *Enzymatic Basis of Detoxification* (W. B. Jacoby, Hrsg.), Bd. 2, S. 187, Academic Press, New York 1980; F. A. Beland, W. T. Allaben, F. E. Evans, *Cancer Res.* **40** (1980) 834; W. T. Allaben, C. M. King, *J. Biol. Chem.* **259** (1984) 12128; W. Lenk, *Lecture at the 2nd European Meeting of the International Soc. for the Study of Xenobiotics (ISSX)*, Frankfurt/Main, 29. März–3. April 1987; D. W. Hein, *Biochim. Biophys. Acta* **948** (1988) 37.
- ⁴⁾ ^{4a)} E. Kriek, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **20** (1965) 793. — ^{4b)} F. A. Beland, D. T. Beranek, K. L. Dooley, R. H. Helflich, F. F. Kadlubar, *EHP, Environ. Health Perspect.* **49** (1983) 125.
- ⁵⁾ ^{5a)} M. Tada, M. Tada, *J. Jpn. Cancer Soc. (Gann)* **65** (1974) 281. — ^{5b)} M. Tada, M. Tada, *Nature* **255** (1975) 510.
- ⁶⁾ ^{6a)} Y. Yamazoe, M. Tada, T. Kamataki, R. Kato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **102** (1981) 432. — ^{6b)} Y. Yamazoe, M. Shimada, T. Kamataki, R. Kato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **107** (1982) 165. — ^{6c)} S. Mita, Y. Yamazoe, T. Kamataki, R. Kato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **105** (1982) 1396. — ^{6d)} Y. Yamazoe, M. Shimada, A. Shinohara, K. Saito, T. Kamataki, R. Kato, *Cancer Res.* **45** (1985) 2495.
- ⁷⁾ Y. Hashimoto, M. Degawa, H. K. Watanabe, M. Tada, *J. Jpn. Cancer Soc. (Gann)* **72** (1981) 937.
- ⁸⁾ ^{8a)} Eine ausführlichere Zusammenfassung findet man bei: C. Meier, G. Boche, *Chem. Ber.* **123** (1990) 1691, voranstehend. — ^{8b)} C. Meier, G. Boche, *Tetrahedron Lett.* **31** (1990) 1685.
- ⁹⁾ Die *p*K_s-Werte von Triethylamin und DBU in Acetonitril wurden bestimmt von: J. F. Coetzee, G. R. Padmanabhan, *J. Am. Chem. Soc.* **87** (1965) 5005; R. Schwesinger, *Angew. Chem.* **89** (1987) 1209; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **26** (1987) 1164.
- ¹⁰⁾ G. Boche, F. Bosold, S. Schröder, *Angew. Chem.* **100** (1988) 965; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27** (1988) 973.
- ¹¹⁾ Die Hammett-Werte σ_p der Cl-, H- und CH₃-Substituenten stammen aus der Publikation von: O. Exner in *Correlation Analysis in Chemistry: Recent Advances* (N. B. Chapman, J. Shorter, Hrsg.), S. 439–540, Plenum, New York 1978. Der σ_p -Wert des CH₃O-Substituenten stammt aus: T. Matsui, H. C. Ko, L. G. Hepler, *Can. J. Chem.* **52** (1974) 2906.
- ¹²⁾ ^{12a)} F. A. Beland, K. L. Dooley, C. D. Jackson, *Cancer Res.* **42** (1982) 1348. — ^{12b)} M. C. Poirier, B. A. True, B. A. Laishes, *Cancer Res.* **42** (1982) 1317. — ^{12c)} M. C. Poirier, J. M. Hunt, B. A. True, B. A. Laishes, J. F. Joung, F. A. Beland, *Carcinogenesis* **5** (1984) 1591. — ^{12d)} W. T. Allaben, C. C. Weis, N. F. Fullerton, F. A. Beland, *Carcinogenesis* **4** (1983) 1067.
- ¹³⁾ ^{13a)} W. W. Weber in *The Acetylators Genes and Drug Response*, Oxford University Press, New York 1987. — ^{13b)} E. C. Miller, J. A. Miller, *Cancer* **47** (1981) 1055, 2327.
- ¹⁴⁾ M. Famulok, F. Bosold, H. George, A. Heimbil, C. Meier, S. Schröder, G. Boche, Publikation in Vorbereitung.
- ¹⁵⁾ ^{15a)} M. Famulok, G. Boche, *Angew. Chem.* **101** (1989) 470; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28** (1989) 468. — ^{15b)} M. D. Jacobson, R. Shapiro, G. R. Underwood, S. Brody, L. Verna, B. E. Hingerty, *Chem. Res. Toxicol.* **1** (1988) 152.
- ¹⁶⁾ C. Meier, G. Boche, *Tetrahedron Lett.* **31** (1990) 1693.
- ¹⁷⁾ Strukturell verwandte Verbindungen von **20** einiger starker Carcinogene sind bereits bekannt: ^{17a)} M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, *Tetrahedron Lett.* **30** (1989) 321. — ^{17b)} M. Famulok, F. Bosold, G. Boche, *Angew. Chem.* **101** (1989) 349; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28** (1989) 337. — ^{17c)} H. George, G. Boche, Publikation in Vorbereitung.
- ¹⁸⁾ ^{18a)} A. M. Lobo, S. Prabhakar, M. M. Marques, *Tetrahedron Lett.* **23** (1982) 1391. — ^{18b)} A. M. Lobo, M. M. Marques, S. Prabhakar, H. S. Rzepa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1113. — ^{18c)} A. M. Lobo, M. M. Marques, S. Prabhakar, H. S. Rzepa, *J. Org. Chem.* **52** (1987) 2925.
- ¹⁹⁾ ^{19a)} F. Bosold, G. Boche, *Angew. Chem.* **102** (1990) 99; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **29** (1990) 63. — ^{19b)} *N*-Acetoxy-Derivate anderer starker Carcinogene wie 2-Naphthylamin und 4-Aminobiphenyl lieferten neben dem auch hier gefundenen C-8-Addukttyp noch weitere Addukte an **12**^{16a,b)}.
- ²⁰⁾ Untersuchungen zur Mutagenität und Carcinogenität substituierter monocyklischer Aniline: ^{20a)} 4-Chloranilin: J. Suzuki, Y. Kabayashi, S. Monden, S. Suzuki, *Mutat. Res.* **162** (1986) 165; R. C. Garner, C. N. Martin, D. B. Clayson in *Chemical Carcinogens* (C. E. Searle, Hrsg.), S. 202, ACS Monograph 182, Washington 1984; National Cancer Institute, *Carcinogenesis Testing Program: Bioassay of p-Chloraniline for Possible Carcinogenicity*, NCI Tech. Rpt. Series No. 189, NHI, US PHS, Department of Health and Human Services 1979. — ^{20b)} Anilin: M. Nagao, M. Yahagi, Y. Honda, T. Sanio, T. Matsushima, T. Sugimura, *Proc. Jpn. Acad.* **53** (1977) 34; J. Suzuki, N. Takahashi, Y. Kobayashi, R. Miyamae, M. Ohsawa, S. Suzuki, *Mutat. Res.* **178** (1987) 187; Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT), *104-Week Chronic Toxicity Study in Rats, Aniline hydrochloride, Final Report*, Research Triangle Park, North Carolina 1982. — ^{20c)} *p*-Toluidin: D. Zimmer, J. Mazurek, G. Petzold, B. K. Bhuyan, *Mutat. Res.* **77** (1980) 317; C. Z. Thompson, L. E. Hill, J. K. Epp, G. S. Probst, *Environ. Mutagenesis* **5** (1983) 803; E. K. Weisburger, A. B. Russfield, F. Homberger, J. H. Weisburger, E. Boger, C. G. van Dongen, K. C. Chu, *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **2** (1978) 325. — ^{20d)} *p*-Anisidin: National Cancer Institute, *Carcinogenesis Testing Program: Bioassay of p-Anisidine Hydrochloride for Possible Carcinogenicity*, NCI Tech. Rpt. Series No. 36, NHI, US PHS, Department of Health and Human Services 1977.

- ²¹⁾ ^{21a)} J. B. Vaught, P. B. McGarvey, M.-S. Lee, C. D. Garner, C. Y. Wang, E. M. Linsmaier-Bednar, C. M. King, *Cancer Res.* **41** (1981) 3424; P. J. Wirth, E. Dybing, C. van Bahr, S. S. Thorgeirsson, *Mol. Pharmacol.* **18** (1980) 117; H. Isaka, H. Yoshii, A. Otsuyi, M. Koike, Y. Nagai, M. Koura, K. Sugiyasu, T. Kana-
bayashi, *Jpn. Cancer Soc. (Gann)* **70** (1979) 29; K. Shudo, T. Ohta, Y. Orihara, T. Okamoto, M. Nagao, Y. Takahashi, T. Sugimura, *Mutat. Res.* **58** (1978) 367.
- ²²⁾ Die Darstellung des Hydroxylamins **19** erfolgte nach: A. Rising, *Chem. Ber.* **37** (1904) 43.

[38/90]