

Nucleophile Substitution carcinogener und nichtcarcinogener Kohlenwasserstoffe über Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe *)

von *Manfred Wilk* und *Udo Hoppe*^{1, 2)}

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität, D-6 Frankfurt am Main

Eingegangen am 22. Juli 1968

Bei Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexen *) zwischen polycyclischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen und Tetrachlor-*o*-chinon (**1**) wird beim Ansäuern mit Chlor- oder Bromwasserstoffsäure das Elektron auch im Grundzustand weitgehend zum Acceptor verschoben und das so gebildete, im ESR-Signal nachweisbare Radikal-Kation des Kohlenwasserstoffs glatt durch das nucleophile Halogenid-Ion substituiert. Ein Vervielfachen der äquimolaren Konzentration von **1** liefert mehrfach halogenierte Produkte. Die Reaktionen verlaufen bei Raumtemperatur nahezu quantitativ. Im Vergleich zur direkten Halogenierung werden hierbei andere Substitutionsstellen bevorzugt. Es wird ein wahrscheinlicher Mechanismus dieser Reaktion vorgeschlagen und auf die mögliche Bedeutung von Radikal-Kationen bei den Primärprozessen der chemischen Carcinogenese hingewiesen.

Nucleophilic Substitution of Carcinogenic and Noncarcinogenic Hydrocarbons via Electron Donator/Acceptor Complexes)*

When acidifying electron donator/acceptor complexes of pentacyclic aromatic hydrocarbons and tetrachloro-*o*-benzoquinone (**1**) with hydrochloric or hydrobromic acid, the electron is shifted completely to the acceptor even in the ground state. A radical cation of the aromatic hydrocarbon is being formed and smoothly substituted by the nucleophilic halide ion. Single or multiple halogenated products result, depending on the concentration of **1** (equimolecular or even multiples). At room temperature the yield is nearly quantitative. Substitution takes place on different positions compared to direct halogenation. We suggest a mechanism of this reaction. The formation of radical cations may be of importance as the initial step in chemical carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons and related compounds.

Die im Vergleich zu den sehr reaktiven alkylierenden Agenzien häufig angenommene geringe Reaktionsfähigkeit der carcinogenen, polycyclischen Aromaten³⁾ lenkte die

*) Abkürzung: EDA-Komplexe

¹⁾ Teil der Dissertation *U. Hoppe*, Univ. Frankfurt a. M. 1967.

²⁾ Erste orientierende Versuche wurden in unserem Arbeitskreis von *J. Rochlitz* durchgeführt.

³⁾ *A. C. Allison* und *T. Nash*, *Nature* [London] **197**, 758 (1963).

Aufmerksamkeit mehr auf ihre physikalischen Eigenschaften. Bisher konnte jedoch keine befriedigende Korrelation zur carcinogenen Wirksamkeit gefunden werden⁴⁾.

Für Modellbetrachtungen über die möglichen primären Reaktionsschritte bei der chemischen Carcinogenese zogen zahlreiche Arbeitskreise die leichte Komplexbildung der Onkogene mit verschiedenen Elektronen-Acceptoren heran, wie z. B. mit den Halogenen⁵⁻⁷⁾ und Chinonen^{6,8-10)}, und anderen Substanzen, wie Ag⁺, SbCl₅, Purinen, Acridinen, Indolen, Anhydriden, Imiden und Tetracyanoäthylen¹¹⁻²⁰⁾. Es wurde auch versucht, über diese Komplexbildung Transportphänomene der Carcinogene innerhalb der Zelle zu beschreiben^{21,22)}.

Wir hatten schon früher gefunden, daß in derartigen Komplexen chemische Reaktionen ablaufen²³⁻²⁶⁾ (auch bei Zusatz nucleophiler Partner²⁵⁾), deren Ergebnisse sich deuten lassen, wenn man als Zwischenstufe ein Radikal-Kation des Onkogens annimmt. Danach müßte auch im Grundzustand teilweise ein vollständiger Ladungsübergang vom Donator zum Acceptor erfolgen^{5,10,19,26)} unter Bildung der abfangbaren Stufe der Radikal-Kationen der eingesetzten Kohlenwasserstoffe^{23,25)}.

Nach diesen Befunden lag es für uns nahe, auch andere EDA-Komplexe aromatischer Polycyclen zu untersuchen. — Mit wasserfreiem FeCl₃ ergaben die Aromaten auf Kieselgel Reaktionsprodukte, die mit den früher gewonnenen Resultaten der „Jod-Reaktion“ übereinstimmten^{23,27)}.

Der auf aktiviertem Kieselgel hergestellte grüne Komplex von Benzo[e]pyren (2) mit Tetrachlor-*p*-benzochinon zeigte ebenso wie die analogen Komplexe anderer Aromaten selbst nach kurzzeitigem Erhitzen auf 120° keine Reaktionsprodukte.

- 4) N. P. Buu-Hoi, *Cancer Research* **24**, 1511 (1964).
- 5) A. Szent-Györgyi und I. Isenberg, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **46**, 1334 und 1444 (1960).
- 6) S. S. Epstein, I. Bulon, J. Koplán, M. Small und N. Mantel, *Nature [London]* **204**, 750 (1964).
- 7) L. S. Singer und J. Kommandeur, *J. chem. Physics* **34**, 133 (1961).
- 8) D. E. Laskowski, *Analytic. Chem.* **32**, 1171 (1960).
- 9) J. B. Birks und M. A. Shifkin, *Nature [London]* **191**, 761 (1961).
- 10) G. Gilento und D. L. Sanioto, *Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem.* **67**, 426 (1963).
- 11) R. E. Kofahl und H. J. Lucas, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 3931 (1954).
- 12) J. C. Lewis und L. S. Singer, *J. chem. Physics* **43**, 2712 (1965).
- 13) O. W. Howarth und G. K. Fraenkel, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 4514 (1966).
- 14) H. Weil-Malherbe, *Biochem. J.* **40**, 351 (1946).
- 15) B. Pullman, P. Claverie und J. Claverie, *Science [Washington]* **147**, 1305 (1965).
- 16) B. L. Van Duuren, *J. physic. Chem.* **68**, 2544 (1964).
- 17) E. Boyland, *Brit. J. Cancer* **16**, 347 (1962).
- 18) A. Szent-Györgyi und J. McLaughlin, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **47**, 1397 (1961).
- 19) W. Slough, *Trans. Faraday Soc.* **59**, 2445 (1963).
- 20) N. P. Buu-Hoi und P. Jacquignon, *Experientia [Basel]* **13**, 375 (1957).
- 21) M. Wilk, *Angew. Chem.* **75**, 1128 (1963).
- 22) M. Wilk und H. Schwab, *Z. Naturforsch.* **23b**, 431 (1968).
- 23) M. Wilk, W. Bez und J. Rochlitz, *Tetrahedron [London]* **22**, 2599 (1966).
- 24) M. Wilk, U. Hoppe, W. Taupp und J. Rochlitz, *J. Chromatogr. [Amsterdam]* **27**, 311 (1967).
- 25) J. Rochlitz, *Tetrahedron [London]* **23**, 3043 (1967).
- 26) B. D. Flockhart, J. A. N. Scott und R. C. Pink, *Trans. Faraday Soc.* **62**, 730 (1966).
- 27) U. Hoppe, Diplomarbeit Univ. Frankfurt a. M. 1966.

Bei 2 waren weder die sonst beobachteten Chinone noch das 5.5'-Bis-benzo[e]pyrenyl im Chromatogramm erkennbar²³⁾. Das gleiche negative Ergebnis erhielten wir in Parallelversuchen mit dem stärkeren Acceptor 1. Nach *Fieser*^{28,29)} sind die Oxydationspotentiale in alkoholischer HCl für 1 = 0.876 Volt und für Tetrachlor-*p*-benzochinon = 0.695 Volt. Für den Übergang eines Elektrons von 2 auf 1 reicht auch im adsorbierten Zustand und bei thermischer Aktivierung das Potential von 1 nicht aus.

Man kann aber eine Reaktion in Gang setzen, wenn man die benzolische Lösung von 2 und überschüssigem 1 mit konz. Salzsäure unterschichtet. Bei Raumtemperatur entfärbt sich die Benzolphase nach 30 Min. unter Bildung schwerlöslicher, gelber Flocken, die sich als ein Trichlor-benzo[e]pyren³⁰⁾ erwiesen. Mit einer Reihe von Kohlenwasserstoffen führten wir diese Umsetzung zunächst in kleinem Maßstab durch, um die relativen Reaktivitäten festzustellen (Tab. 1). Mit Ausnahme von Anthracen reagierten die carcinogenen Aromaten besonders leicht.

Tabelle 1. Reaktionszeiten polycyclischer, aromatischer Kohlenwasserstoffe (10 mg) mit Tetrachlor-*o*-chinon (10 mg in 2 ccm Benzol) und Salzsäure (konz., 1 ccm)

Kohlenwasserstoff	Farbe der Benzollösung	Zeit bis zur Entfärbung	Reaktion	carcinogen
Anthracen	braunrot	2.5 Stdn.	+ a)	— a)
Phenanthren	kirschrot	∞	—	—
Perylen	rotbraun	∞	—	—
Benzo[e]pyren (2)	dunkelrotbraun	30 Min.	+	+
Benz[a]anthracen (3)	dunkelrot	∞	—	—
9.10-Dimethylbenz[a]anthracen (4)	dunkelrot	30 Min.	+	+
Benzo[a]fluoren	dunkelrot	∞	—	—
Dibenz[a.c]anthracen (5)	dunkelrot	∞	—	—
Dibenz[a.h]anthracen (6)	dunkelrot	2 Tage	+	+
Dibenz[a.i]anthracen (7)	dunkelrot	2 Tage	+	+
3-Methyl-cholanthren (8)	dunkelrotbraun	30 Min.	+	+
Benzo[a]pyren (9)	dunkelrot	2 Tage	(+)	—
Dibenzo[a.e]-fluoranthen ^{b)} (10)	dunkelrot	30 Min.	+	+

a) Es bedeuten: + = ja; — = nein. —^{b)} Bisher fälschlich als 1.2 : 3.4-Dibenzopyren geführt³¹⁾.

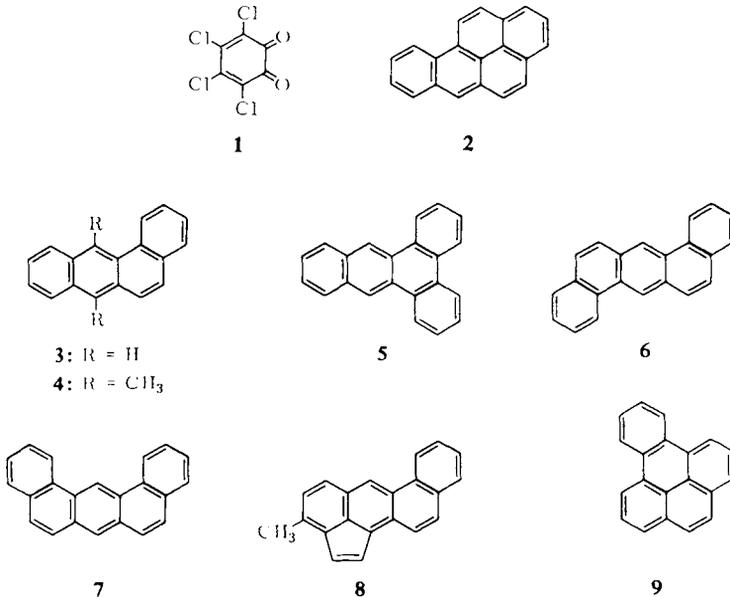
Bei den folgenden Umsetzungen wurden zwei Wege beschritten, um einen eventuellen katalytischen Einfluß von Wasser zu erfassen: 1) Unterschichten der Kohlenwasserstoff-Lösung und 1 mit konz. Salzsäure und 2) Einleiten von extrem getrocknetem HCl-Gas in die benzolische Lösung von 1 und dem Kohlenwasserstoff. Beide Verfahren lieferten identische Produkte.

28) L. F. Fieser, J. Amer. chem. Soc. **46**, 1873 (1924).

29) J. B. Conant und L. F. Fieser, J. Amer. chem. Soc. **45**, 2194, 2207 (1923).

30) J. Berenblum und R. Schoental, J. chem. Soc. [London] **1946**, 1017.

31) D. Lavit-Lamy und N. P. Buu-Hoi, Chem. Commun. **1966**, 92.



Geht man von **2** und **1** aus, so erhält man bei äquimolaren Mengen der Komponenten nach Zusatz von HCl nur das 5-Chlor-benzo[*e*]pyren, während beim Übergang zu konz. Bromwasserstoffsäure nahezu quantitativ reines 5-Brom-benzo[*e*]pyren anfällt, wie durch Vergleich mit authentischem Material bewiesen wurde^{32,33}). Dieses Ergebnis stellt sicher, daß die eingeführten Halogen-Atome aus der zugesetzten Säure stammen und nicht aus **1**. Beim Vervielfachen der äquimolaren Konzentration von **1** entstehen in guter Ausbeute auch mehrfach halogenierte Produkte. So liefert **2** mit **1** beim Einsatz von HCl ein Dichlor-benzo[*e*]pyren^{30,34}).

Die Reaktion verläuft grundsätzlich anders als die direkte Halogenierung. Aus Benzo[*a*]pyren (**9**) entsteht z. B. mit Br₂ das 5,8-Dibrom-benzo[*a*]pyren (reagiert wie ein Pyrenbenzologes), mit **1** und HBr bildet sich dagegen ausschließlich das 6-Brom-benzo[*a*]pyren (reagiert wie ein Triphenylenbenzologes). Spricht man den Sauerstoff-Atomen des Chinons **1** die basischste Funktion im primär gebildeten EDA-Komplex zu, so läßt sich ein plausibler Reaktionsablauf gemäß *Schema 1* (S. 85) formulieren.

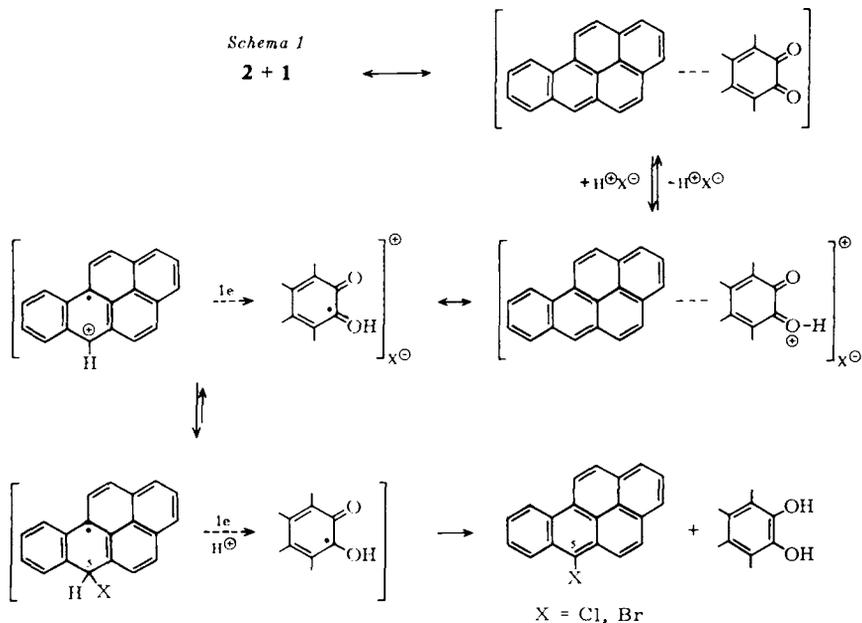
Im protonierten Zustand wird die Acceptoraffinität von **1** so stark erhöht, daß auch im Grundzustand eine Steigerung des Ladungsübergangs vom Kohlenwasserstoff-Donator zum Acceptor **1** erfolgt. Das resonanzstabilisierte, elektrophile Radikal-Kation des Kohlen-

³²) K. F. Lang und M. Zander, Chem. Ber. **97**, 218 (1964).

³³) A. Windaus und K. Raichle, Liebigs Ann. Chem. **537**, 157 (1939).

³⁴) J. W. Cook, R. S. Ludwiczak und R. Schoental, J. chem. Soc. [London] **1950**, 1112.

wasserstoffs lagert ein nucleophiles Halogenid-Ion ein, und im darauf folgenden zweiten Oxydationsschritt wird unter Rearomatisierung ein Wasserstoff eliminiert. Die Lokalisierung der positiven Ladung im Radikal-Kation von **2** in der 5-Stellung zeigt sich in der praktisch ausschließlichen Bildung von Substitutionsprodukten in dieser Position. Berechnungen über nichtbindende Molekülorbitale (NBMO) ergeben für die gleiche Stelle ein ausgeprägtes Minimum für die Lokalisierungsenergie der positiven Ladung.



Der vorgeschlagene Reaktionsverlauf wird durch folgende Tatsachen erhärtet: 1) Das Halogen-Atom stammt aus der zugesetzten Säure. 2) Beim Komplex **2 + 1 + HCl** konnten wir deutliche ESR-Signale beobachten, deren Deutung und Analyse noch ausstehen. An anderen Komplexen konnte der Radikalcharakter ebenfalls bewiesen werden^{3,5, 7, 12, 13, 26, 35}.

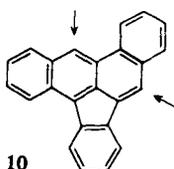
Für den Reaktionsablauf kann eine primäre Anlagerung von Halogenwasserstoff und anschließende Oxydation nicht völlig ausgeschlossen werden. Dagegen spricht jedoch, daß HCl und HBr als zu schwache Protonendonatoren mit aromatischen Kohlenwasserstoffen keine σ -Komplexe bilden, wie z. B. HF oder H₂SO₄, sondern π -Komplexe³⁶.

³⁵) H. Kainer, D. Bijl und A. C. Rose-Innes, *Naturwissenschaften* **41**, 303 (1951).

³⁶) H. C. Brown und J. D. Brady, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 3570 (1952).

Zur Festlegung der Substitutionsstellen eignen sich teilweise die *IR-Spektren* der Halogen-Derivate im Bereich der „out of plane-Schwingungen“ zwischen 714 und 909 cm^{-1} :

Das Benzo[*a*]pyren zeigt bei 829 cm^{-1} eine intensive Bande des 1.2.3.4-tetrasubstituierten Phenyl-Rings (allgemeine Frequenz 810–829 cm^{-1} nach *Dannenberg*³⁷⁾). Diese Bande ist beim Monobrom-Derivat verschwunden, und man findet bei 870 cm^{-1} die Bande einer Pentasubstitution (allgemeine Frequenz 887–867 cm^{-1})³⁷⁾. Im Falle von **2** liegt diese Bande bei 873 cm^{-1} ; sie verschwindet vollständig beim Übergang zum (hexasubstituierten) Monochlor- und Monobrom-Derivat. Die Substitution erfolgt also in der 5-Position, wie sich auch durch Vergleich mit authentischem Material zeigen läßt. Beim Dibenz[*a,h*]anthracen (**6**) deuten die Absorptionsbanden auf eine Monosubstitution in 3'- bzw. 4'-Stellung hin (1.2.4-Trisubstitutionstyp). Für das monohalogenierte Dibenz[*a,e*]fluoranthren (**10**) kann aus dem Verschwinden der Bande einer Pentasubstitution im Vergleich zum Ausgangskohlenwasserstoff keine Entscheidung gefällt werden, weil es hier zwei Möglichkeiten gibt (Pfeile):



Der geschilderten Reaktion, einer nucleophilen Substitution von aromatischen Systemen über deren Radikal-Kationen, schreiben wir nach systematischen Untersuchungen aus folgenden Gründen eine Bedeutung bei den Primärprozessen der chemischen Carcinogenese durch aromatische Onkogene zu: Wie im oben aufgeführten Beispiel über EDA-Komplexe, werden die carcinogenen Kohlenwasserstoffe, Amine, Azofarbstoffe und Heterocyclen unter physiologisch ähnlichen Bedingungen leicht zu den entsprechenden Radikal-Kationen oxidiert^{23–25}). Die elektrophilen Eigenschaften dieser Zwischenoxydationsstufen sind so ausgeprägt, daß eine kovalente Verknüpfung mit nucleophilen Partnern glatt bewerkstelligt wird („arylierende Agenzien“).

Über die Reaktionen des Benzo[*e*]pyrenyl-Radikal-Kations mit Pyridin-, Pyrimidin- und Purinbasen sowie mit DNS wurde schon berichtet³⁸⁾. Untersuchungen über analoge Umsetzungen der Radikal-Kationen von carcinogenen Azofarbstoffen, Aminen und 3-Hydroxy-anthranilsäure stehen vor dem Abschluß³⁹⁾.

Beschreibung der Versuche

*Dichlor-benzo[*e*]pyren*. — 300 mg (1.2 mMol) **2** und 600 mg (2.4 mMol) **1** werden in 25 cm Benzol gelöst. Bei Raumtemperatur wird dann sorgfältig getrocknetes *HCl*-Gas bis zur Entfärbung eingeleitet. Das hierbei in dicken gelben Flocken ausfallende Produkt wird abfil-

³⁷⁾ H. *Dannenberg* und A. *Naerland*, *Z. Naturforsch.* **12b**, 1 (1957).

³⁸⁾ M. *Wilk* und W. *Girke*, *Proc. int. Sympos. physico-chemical mechanism of carcinogenesis* 1968. Jerusalem, Israel 1969.

³⁹⁾ M. *Wilk* und U. *Brill*, in Vorbereitung.

triert, mit Aceton gewaschen und mehrmals aus Toluol umkristallisiert. Durch Chromatographie an 1 cm dicken Kieselgel-P-Dünnschichtplatten (Merck) läßt sich mit Toluol ein einheitliches Hauptprodukt isolieren. Die Ausbeute betrug 103 mg (27%) gelbe Kristalle vom Schmp. 220°.

$C_{20}H_{10}Cl_2$ (322.2) Ber. C 74.8 H 3.12 Cl 22.2 Gef. C 74.9 H 3.30 Cl 21.9
Mol.-Gew. 328 (osmometr. in Benzol)

5-Chlor-benzo[e]pyren. — Je 1 mMol **2** und **1** werden in 50 ccm Benzol gelöst und etwa 1 Stde. lang *HCl*-Gas eingeleitet. Die Lösung färbt sich hellgelb; das Rohprodukt fällt nahezu quantitativ aus. 3maliges Umkristallisieren aus Benzol liefert ein Produkt vom Schmp. 210°³³⁾; Ausbeute 67% d. Th.

$C_{20}H_{11}Cl$ (286.8) Ber. C 83.7 H 3.86 Cl 12.3 Gef. C 83.3 H 3.73 Cl 12.1
Mol.-Gew. 291 (osmometr. in Benzol)

Monochlor-dibenzo[a,e]fluoranthren. — Aus je 1.25 mMol *Dibenzo[a,e]fluoranthren* (**10**) und **1**; mit unterschichteter konz. Salzsäure tritt die Entfärbung plötzlich nach ca. 20 Min. ein. Nach Zugabe von wenig Äthanol scheidet sich das Rohprodukt quantitativ ab. Schmp. 219° (3mal aus Benzol); Ausbeute 71% d. Th.

$C_{24}H_{13}Cl$ (336.8) Ber. C 85.5 H 3.89 Cl 10.4 Gef. C 85.4 H 4.14 Cl 10.1
Mol.-Gew. 342 (osmometr. in Benzol)

Monochlor-dibenz[a,h]anthracen. — Analog aus je 1 mMol *Dibenz[a,h]anthracen* (**6**) und **1**. Schmp. 229° (3mal aus Benzol); Ausbeute 23% d. Th.

$C_{22}H_{13}Cl$ (312.5) Ber. C 84.5 H 4.18 Cl 11.3 Gef. C 84.5 H 4.56 Cl 10.9

5-Brom-benzo[e]pyren. — Aus je 1 mMol **2** und **1** in 30 ccm Benzol, mit 5 ccm 63proz. *Bromwasserstoffsäure* unterschichtet. Die Entfärbung setzt schon nach 5 Min. ein. Schmp. 214.5° (3mal aus Benzol); Ausbeute 73% d. Th.

$C_{20}H_{11}Br$ (331.2) Ber. C 72.5 H 3.35 Br 24.1 Gef. C 71.8 H 3.48 Br 24.2
Mol.-Gew. 335 (osmometr. in Benzol)

Dibrom-benzo[e]pyren. — Analog, aber mit der doppelten Menge **1**. Schmp. 241° (3mal aus Benzol); Ausbeute 65% d. Th., dünn-schichtchromatographisch mit Benzol/Methanol (95:5) einheitlich, doch kann ein Isomerengemisch nicht ausgeschlossen werden.

$C_{20}H_{10}Br_2$ (409.8) Ber. C 58.6 H 2.46 Br 38.9 Gef. C 58.7 H 2.59 Br 38.5

6-Brom-benzo[a]pyren. — Je 1 mMol *Benzo[a]pyren* (**9**) und **1** werden mit *HBr* bis zur Entfärbung unter Rückfluß gekocht. Schmp. 169° (3mal aus Benzol); Ausbeute 64% d. Th.

$C_{20}H_{11}Br$ (331.2) Ber. C 72.5 H 3.35 Br 24.1 Gef. C 71.8 H 3.24 Br 25.2
Mol.-Gew. 337 (osmometr. in Benzol)

Monobrom-dibenzo[a,e]fluoranthren. — Schmp. 202° (3mal aus Benzol); Ausbeute 33% d. Th.

$C_{24}H_{13}Br$ (381.3) Ber. C 75.6 H 3.44 Br 20.9 Gef. C 75.6 H 3.61 Br 20.8
Mol.-Gew. 390 (osmometr. in Benzol)