

## İLAÇLARIN NİTROZOLANMASI

Ali Esat KARAKAYA\*

### ÖZET:

Amin grubu içeren bütün ilaçlardan nitrit ile etkileşme sonucu karsinojenik etkili N-nitrozo bileşiklerinin oluşması teorik olarak mümkündür. Bu makalede; nitrozolanma reaksiyonu bu reaksiyonu kataliz ve inhibe edici faktörler, organizmadaki nitritin kaynakları gözden geçirilmiş, bugüne kadar yapılan çalışmalar ile N nitrozo bileşikleri oluşturdukları saptanan ilaçlar tablo halinde özetlenmişlerdir.

### NITROSATION of DRUGS

### SUMMARY :

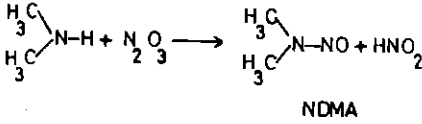
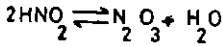
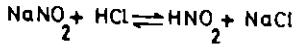
The formation of carcinogenic N-nitroso compounds is theoretically possible with all drugs that contain amino groups. In this article, nitrosation reaction, factors which catalysis or inhibit it, the sources of nitrite in the organism and the previous studies on the subject have been reviewed; and the drugs which have been determined to form N-nitroso compounds have been listed.

### GİRİŞ

İlk olarak 1956 yılında kanser yapıcı etkileri bildirilen (1) N-nitrozo bileşik-leri kimyasal karsinojenler arasında önemli bir grubu teşkil ederler. Uzun süreli karsinogenesite testi yapılan 130 N-nitrozo bileşiği içinden 100 kadarı en

az bir organda tümör meydana getirmişlerdir (2). N-nitrozo bileşikleri amin-nitrit etkileşmesi sonucu oluşabilirler. Örnek olarak N-nitrozodimetilamini (NDMA) alırsak, dimetilamin ve sodyum nitritten NDMA oluşumu aşağıdaki şekilde gerçekleşir (3).

(\* ) G.Ü.Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Etiler-Ankara.



Aminler için aktif nitrozolama ajanı, nitritten sulu asidik ortamda oluşan diazotrioksittir. Serbest, protonize olmamış amin nitrozasyon için uygundur. Bu nedenle reaksiyon verimi pH'ya bağlıdır. Düşük pH'larda diazotrioksit kolay oluşur. Buna karşın amin de kolaylıkla protonize olur. Yüksek pH'larda protonize olmamış serbest amin mevcuttur. Fakat diazotrioksit oluşması azalmıştır. Bunun sonucu olarak zayıf bazik aminler kuvvetli bazik aminlerden daha kolay nitrozolanabilirler. Örneğin zayıf bazik amin olan piperazinin ( $\text{pK}_a = 5.6$ ) nitrozolanma hız sabiti, kuvvetli bazik amin olan dimetilaminin ( $\text{pK}_a = 10.7$ ) nitrozolanma hız sabitinden aynı reaksiyon koşullarında yaklaşık  $5 \times 10^4$  kez daha fazladır (4).

Dimetilamin-nitrit etkileşmesinin optimum pH'sı 3.4 tür. Bu pH'nın altında ve üstünde reaksiyon verimi hızla düşer (4). Nitrozolanma nötral, hatta bazik ortamlarda da bazı katalizörlerin varlığında gerçekleşebilir (5,6).

NDMA oluşması, bir sekonder amin olan dimetilamin ile nitritin etkileşmesi dışındaki etkileşmeler ile de mümkündür. Örneğin trimetilamin gibi tersiyer aminler ve bazı kuvaterner amonyum bileşikleri de daha zor reaksiyon koşullarında olmak üzere, nitrit ile etkileşme sonucu NDMA verebilirler (7-9).

#### In vivo Oluşma

N-nitrozo bileşiklerinin amin-nitrit etkileşmesi ile besin maddelerinde oluşabileceğini bildiren ilk yayın 1964 tarihli (10). Bugün artık N-nitrozo bileşiklerinin çevrede yaygın olarak bulunduğunu çok sayıda araştırmaya dayanarak söyleyebiliyoruz. N-nitrozo

bileşiklerinin amin-nitrit etkileşmesi ile in vivo olarak da oluşabileceği ise, ilk olarak 1969 yılında bildirilmiştir (11). Bu tarihten günümüze kadar yapılan çalışmaların sonuçları N-nitrozo bileşiklerine maruziyette en önemli yolun in vivo oluşma olduğu görüşünü kuvvetlendirmektedir.

Düşük pH'sı nedeni ile mide, in vivo amin-nitrit etkileşmesi için ideal bir ortamdır. Bakteriyel faaliyetin katalizör etkisinden dolayı, ağız boşluğu barsaklar ve vajina gibi mideden daha yüksek pH'lara sahip organlarda da amin, nitrit ve bakteriyel faaliyetin varlığına bağlı olarak N-nitrozo bileşikleri oluşabilir (12). Yapılan çalışmalar ile, enfekte idrar kesesi (13), enfekte vajina (14) ve barsaklarda (15) dimetilamin-nitrit etkileşmesi ile DMNA oluştuğu bildirilmiştir. Ancak mide dışındaki organlar bu etkileşme yönünden ikincil önemdedirler.

Organizmadaki nitrit varlığının anlaşılabilmesi için, doğadaki nitrat, nitrit ilişkine değinmek gerekir. Nitrat ve nitrit, doğadaki azot çemberinin en önemli elemanları arasındadırlar. Gerek bakteriler, gerekse bitkiler vasıtasıyla doğadaki nitrat ve nitrit birbirlerine devamlı dönüşüm halindedirler. Bununla birlikte, doğada daha fazla miktarda bulunan nitrat, örneklemek gerekirse, yüzey suyunda nitrat 50-100 mg/litre gibi yüksek konsantrasyonlarda bulunsun bile, nitrit konsantrasyonu 1 mg /litre'yi pek geçmez (16). Benzer durum bitkiler içinde geçerlidir. Ispanak, marul gibi geniş yapraklı sebzeler ile turp, şalgam gibi kök sebzeleri, azotlu gübre kullanımına bağlı olarak 1000-2000 mg/kg'a kadar nitrat içermelerine karşın (17), taze halde iken içerdikleri nitrit miktarı 3 mg/kg'ı geçmez (18). Ancak, saklama koşullarına bağlı olarak sebzelerdeki nitrat, nitrite indirgenerek nitrit miktarı artar (16,18). Sonuç olarak organizmaya nitrat ve nitrit alınmada iki önemli kaynak sebzeler ve su olmaktadır.

Organizmaya nitrat ve nitrit alınmada diğer önemli kaynak ise, işlenmiş et

ve balık ürünlerine koruyucu olarak katılan nitrat ve nitrittir. Birçok ülkede (19) bu arada Türkiye'de de (20) ilgili yönetmelikler, işlenmiş et ve balık ürünlerine 500 mg/kg'a kadar nitrat ve 200 mg/kg'a kadar nitrit katılmasına izin verir. Ancak özellikle ülkemizde, üretim sırasında bu limitlere uyulduğunu söylemek zordur. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 500 mg/kg nitrat limitini aşan işlenmiş et ürünü oranı % 35-75 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada 18000 mg/kg gibi çok yüksek düzeylerde nitrat içeren örneklerle de rastlandığı bildirilmiştir (21).

Yukarıda belirtilen gıda maddeleri ile organizmaya nitrit girişi söz konusu ise de, organizmada oluşan nitrit, dışardan alınan nitritten yaklaşık 3 kat daha fazla miktardadır (22). Organizmada oluşan nitritin kaynağı dışardan alınan nitrattır. Organizmaya giren nitrat, daha ağız boşluğunda iken ağız florası bakterileri tarafından kısmen nitrite indirgenir. Geri kalan nitrat mide-barsak kanalına ulaşır ve buradan dolaşıma geçer. Dolaşıma karışan nitratin bir bölümü tükürük bezleri aracılığı ile tekrar ağız boşluğuna salgılanır. Burada bakteriler yardımıyla nitratin nitrite indirgenmesi işlemi devam eder. Yukarıda anlatılan mekanizma ile, organizmaya alınan nitratin % 20'sinin nitrite indirgeniği bildirilmektedir (17,23).

### İlaç-Nitrit Etkileşmesi

Amin grubu içeren çok sayıda ilaçtan in vivo koşullarda nitrit varlığında N-nitrozo bileşikleri oluşabilmektedir.

İlaç-nitrit etkileşmesinde ilacın taşıdığı amin grubuna göre çeşitli N-nitrozo bileşikleri oluşabilir. Örneğin dietilamino grubu taşıyan aminopirinin nitrit ile etkileşmesi sonucu NDMA oluşur (24-29). dietilamino grubu taşıyan lukantonun nitrit ile etkileşmesinden oluşan ise N-nitrozodietilamin

(NDEA) dir (26). Tolazamid gibi siklik tersiyer amin grubu taşıyan ilaçlar nitrit ile etkileşme sonucu N-nitrozosiklikaminleri verirler (24,26). Gerek dialkilnitrozaminlerin gerekse N-nitrozosiklikaminlerin oluşumunda, bir nitrozatif parçalanma söz konusudur. Piperazin ve simetidın örneklerinde ise molekülün doğrudan nitrozolanması ile bu ilaçların N-nitrozo bileşikleri oluşur. Molekülün nitrozolanması, piperazinde olduğu gibi siklik halkadan (27,30) veya simetidinde olduğu gibi alifatik zincirden (31-33) olabilir.

Tablo 1'de ağız yolu ile kullanılan ve nitrit ile etkileşerek N-nitrozo bileşiği oluşturan ilaçlar ve oluşturdukları N-nitrozo bileşikleri gösterilmiştir.

Tablo 1'deki ilaçlar arasında nitrozolanma yönünden en fazla reaksiyon verimine sahip olan ilaçlar sırasıyla aminopirin ve fenasetindir (34). Tablo da gösterilen ilaçların bir bölümünden ise nitrit ile etkileşme sonucu N-nitrozo bileşiklerinin oluştuğunun bildirilmesine karşın, bu, zor reaksiyon koşullarında ve çok düşük reaksiyon verimlerinde mümkün olabilmektedir. Klofedianol, tifenamil (27) ve eritromisin, triasetiloleandomisin (40) bu grup ilaçlara örnek gösterilebilir. Bu ilaçlardan in vivo koşullarda N-nitrozo bileşiklerinin oluşması mümkün görünmemektedir.

NDMA ve NDEA gibi karsinojenik etkileri kanıtlanmış dialkilnitrozaminlerin dışında, oluşan diğer N-nitrozo bileşiklerinin karsinojenik etkilerinin araştırılması gerekir. Bu amaçla kemiricilerde yapılan karsinogenesite testleri sonucunda N-nitrozoefedrin (50), N-nitrozopiperidin (51,52), N-nitrozoheksametilimin (52,53), N-nitrozopirolidin (52), N-nitrozopiperazin (54), N,N'-dinitrozopiperazin (55) ve N-nitrozomorfolinin (56) karsinojenik etkileri saptanmıştır. Buna karşın, N-nitrozoklordiazepoksit ve N-nitrozometilfenidatta karsinojenik etki gözlenmemiştir (45).

TABLO I

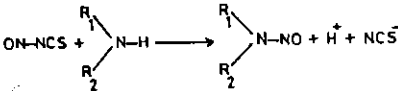
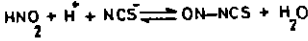
Nitrit ile Etkileşme Sonucu N-Nitrozo Bileşiği Oluşturan  
İlaçlar ve Oluşturdukları N-Nitrozo Bileşikleri

İlaç	Oluşan N-Nitrozo Bileşiği	Kaynak
Amfepramon	NDEA	34
Aminopirin	NDMA	24-29
Butaperazin	N,N'-Dinitrozopiperazin	27
Dekstropropoksifen	NDMA	26
Desipramin	N-Nitrozodesipramin	27,35
Dietazin	NDEA	27
Dipiron	4-Nitrozo-N-metilaminoantipirin	35,36
Disulfiram	NDEA	24,26
Doksisiklin	NDMA	37
Efedrin	N-Nitrozoefedrin	38,39
Eritromisin	NDMA	40
Etambutol	N-Nitrozoetambutol	35,41
Fenadokson	N-Nitrozomorfolin	27
Fenasetin	N-Nitrozo-2-nitro-4-etoksiasetanilid	42
Fenmetrazin	N-nitrozofenmetrazin	43
Fonazin	NDMA	27
İmipramin	N-nitrozoimipramin	27
Kaptodiamin	NDMA	27
Kinakrin	NDEA	26
Klemizol	N-Nitrozopirolidin	27
Klofedianol	NDMA	27
Klordiazepoksit	N-Nitrozoklordiazepoksit	44,45
Klorfeniramin	NDMA	26
Klorpromazin	NDMA ve N-Nitrozodesmetilklorpromazin	26,27
Lukanton	NDEA	26
Metadon	NDMA	26
Metapirilen	NDMA	26,46
Metilfenidat	N-Nitrozometilfenidat	45
Minosiklin	NDMA	37
Niketamid	NDEA	24
Oksitetrasiklin	NDMA	24,26-28,37,40,47
Piperazin	N-Nitrozopiperazin ve N,N'-Dinitrozopiperazin	27,30
Prometazin	NDMA	48
Protriptilin	N-Nitrozoprotriptilin	27
Prozapin	N-Nitrozoheksametilenimin	27
Siklizin	N,N'-Dinitrozopiperazin	26
Sikrimin	N-Nitrozopiperidin	27
Simetidin	N-Nitrozosimetidin	31-33
Tetrasiklin	NDMA	49
Tifenamil	NDEA	27
Tolazamid	N-Nitrozoheksametilenimin	24,26
Triasetiloleandomisin	NDMA	40
Tripelenamin	N-Nitrozodesmetiltripelenamin	26

İlaç-nitrit etkileşmesinin reaksiyon verimini değerlendirirken in vivo koşullarda mevcut katalizör ve inhibitörlerin dikkate alınması gerekir.

#### Kataliz :

Tükürükte bulunan tiyosiyanat, amin-nitrit etkileşmesinde etken bir katalizördür (57-60). Etkisini asit ortamda, nitrit ile nitrozil tiyosiyanat oluşturarak gösterir. Nitrozil tiyosiyanat kuvvetli bir nitrozolama ajanıdır.



İyodür, bromür ve klorür gibi halojenür iyonlarının da nitrozil halojenür oluşturarak nitrozolama reaksiyonunda katalizör etki gösterdikleri bildirilmiştir (58). Klorür yukarıda belirtilen katalizörler içinde en zayıf olmasına karşın, mide suyunun bileşiminde bulunması bakımından önemlidir.

Bazı gıdalarda bulunan ve kolay oksitlenebilen fenolik maddelerin örneğin, klorojenik asit'in katalizör etkisi gösterilmiştir (61). Bakteriyel faaliyetin de amin-nitrit etkileşmesinde katalitik etkisi vardır (62).

#### İnhibisyon:

Askorbik asit, en etken inhibitör olarak bilinmektedir (63-65). Etkisini aminle yarışmalı olarak nitrit ile reaksiyona girerek gösterir. Diğer bir deyişle ortamdaki nitrit'i tüketerek amin-nitrit etkileşmesini engeller.  $\alpha$  - Tokoferol'de bir nitrit tüketicisidir ve amin-nitrit etkileşmesini engeller (65,66).

Amin-nitrit etkileşmesini kataliz ve inhibe edice etkenlerin araştırılması ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir. Bu arada etil alkolün pH 3'te inhibe, pH 5'te ise kataliz edici özellikte olduğu bildirilmiştir (67). Lipidlerin peroksidasyon ürünü malondialdehit de benzer etki göstererek pH 3'te inhibisyon yaparken, pH 4-7 arasında katalizör olarak etkimektedir (68).

#### NAP Test :

Çok sayıda ilacın in vivo koşullarda nitrozolanabileceğinin anlaşılması üzerine Dünya Sağlık Örgütü'ne bağlı bir uzmanlar grubunca ilaç, nitrit konsantrasyonları, pH, sıcaklık ve süre gibi parametreleri içeren bir nitrozolama testi (Nitrosation Assay Procedure - NAP test) önerilmiştir (69). Aşağıdaki koşullarda N-nitrozo bileşiği oluşturabilen ilaçlar, in vivo olarak nitrozolanabilir kabul edilmektedir.

İlaç konsantrasyonu :  $10^{-2}$  mol/litre  
Nitrit konsantrasyonu :  $4 \times 10^{-2}$  mol/litre  
İnkübasyon sıcaklığı :  $37^\circ\text{C}$   
İnkübasyon süresi: 1 ve 4 saat  
pH: 3-4

Farmasötik Preparatlarda Kirlilik Olarak N-Nitrozo Bileşikleri :

Yapılan çalışmalar, amin grubu içeren ilaçların kirlilik olarak N-nitrozo bileşikleri içerebildiğini göstermiştir (70-73). Bu kirliliğin nedeni üretim veya saklama sürecinin herhangi bir kademesinde mevcut olabilecek nitrit veya azot oksitleridir.

#### KAYNAKLAR

1. Magee, P.N., Barnes, J.M.: The Production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. Brit. J. Cancer 10: 114-122 (1956).
2. Ember, L.R.: Nitrosamines: Assessing the relative risk. Chem. Eng. News. March 31.20-26 (1980).
3. Mirvish, S.S.: Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis J. Nat. Cancer Inst. 44: 633-639 (1970).
4. Eisenbrand, G., Schmahl, D.: Nitrosation of drugs. "Topics in Pharmaceutical Sciences" da. Ed. D.D. Breimer, P. Speiser. p.291-305. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam (1981).
5. Keefer, L.K., Roller, P.P.: N-Nitrosation by nitrite ion in neutral

- and basic medium. *Science* 181: 1245-1247 (1973).
6. Challis, B.C. Edwards, A., Hunma, R.R., Kyrtopolus, S.A., Outram, J.R.: Rapid formation of N-nitrosamines from nitrogen oxides under neutral and alkaline conditions. "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds" da. Ed. E.A. Walker, M.Castegnaro, L.Griciute, R.E. Lyle. p. 127-142. IARC scientific Publications No. 19. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1978).
  7. Fiddler, W., Pensabene, J.W., Doerr, R.C., Wasserman, A.E.: Formation of N-nitrosodimethylamine from naturally occurring quaternary ammonium compounds and tertiary amines. *Nature(London)* 236: 307(1972).
  8. Lijinsky, W., Singer, G.M.: Formation of nitrosamines from tertiary amines and nitrous acid. "N-Nitroso Compounds in the Environment" da. Ed. P. Bogovski, E.A. Walker, p. 111-114. IARC Scientific Publications No. 9. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1974).
  9. Ohshima, H., Kawabata, T.: Mechanism of N-nitrosodimethylamine formation from trimethylamine and trimethylaminoxide. "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds" da. Ed. E.A. Walker, M. Castegnaro, L. Griciute, R.E. Lyle. p. 143-154. IARC Scientific Publications No. 19. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1978).
  10. Ender, F., Havre G., Helgebostad, A., Koppang, N., Madsen, R., Ceh, L.: Isolation and identification of a hepatotoxic factor in herring meal produced from sodium nitrite preserved herring. *Naturwissenschaften* 24: 637-638 (1964).
  11. Sander, J., Bürkle, G.: Induktion maligner Tumoren bei Ratten durch gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen. *Z. Krebsforsch.* 13: 54-66 (1969).
  12. Hill, M.J.: Bacterial metabolism and human carcinogenesis. *Brit. Med. Bull.* 36: 89-94 (1980).
  13. Hicks, R.M., Gough, T.A., Walters, C.L.: Demonstration of the presence of nitrosamines in human urine: Preliminary observations on a possible etiology for bladder cancer in association with chronic urinary tract infection. "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds" da. Ed. E. A. Walker, M. Castegnaro, L. Griciute, R.E. Lyle. p. 465-476. IARC Scientific Publications No. 19. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1978).
  14. Harington, J.S., Nunn, J.R. Tiwig, L.: Dimethylnitrosamine in the human vaginal vault. *Nature (London)* 241: 49-50 (1973).
  15. Hashimoto, S., Yokokura, T., Kawai, Y., Mutai, M.: Dimethylnitrosamine formation in the gastrointestinal tract of rats. *Fd Cosmet. Toxicol.* 14: 553-556 (1976).
  16. World Health Organization: Environmental Health Criteria 5. Nitrates, Nitrites and N-Nitroso Compounds. World Health Organization. Geneva (1978).
  17. Spiegelhalder, B., Eisenbrand, G., Preussmann, R.: Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: Possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. *Fd Cosmet. Toxicol* 14: 545-548 (1976).
  18. Lin, J.K., Yen, J.Y.: Changes in the nitrate and nitrite contents of fresh vegetables during cultivation and post-harvest storage. *Fd Cosmet. Toxicol* 18: 597-603 (1980).
  19. Chichester, D.F., Tanner, F.W.: Antimicrobial food additives. "Handbook of Food Additives. 2nd Ed." da. Ed. T.E. Furia, p. 115-

184. CRC Press. Ohio (1972).
20. T.C. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı: Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete. Sayı 18097. Sayfa 2. 4. Temmuz. 1983
21. Alperen, İ., Karaali, A., Kocakuşak S., Konukçu, H., Eke, D.: Marmara Bölgesinde Gıda Maddelerinde Yapılan Taklit ve Tağşiş Üzerine Bazı Araştırmalar. TÜBİTAK Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü Yayınları. No 47. Gebze (1980).
22. White, J.W.: Relative Significance of dietary sources of nitrate and nitrite. *J. Agr. Food. Chem.* 23: 886-891 (1975).
23. International Agency for Research on Cancer: Annual Report 1977. p. 59-62. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1977).
24. Lijinsky, W., Conrad, E., Van De Bogart, R.: Carcinogenic nitrosamines formed by drug/nitrite interactions. *Nature (London)* 239: 165-167 (1972).
25. Lijinsky, W., Greenblatt, M.: Carcinogen dimethylnitrosamine produced in vivo from nitrite and aminopyrine. *Nature (New Biol.)* 236: 177-178 (1972).
26. Lijinsky, W.: Reaction of drugs with nitrous acid as a source of carcinogenic nitrosamines. *Cancer Res.* 34: 255-258 (1974).
27. Rao, G.S., Krishna, G.: Drug-nitrite interactions: Formation of N-nitroso, C-nitroso, and nitro compounds from sodium nitrite and various drugs under physiological conditions. *J. Pharm. Sci.* 64: 1579-1581 (1975).
28. Taylor, H.W., Lijinsky, W.: Tumor induction in rats by feeding aminopyrine or oxytetracycline with nitrite. *Int. J. Cancer* 16:211-215 (1975).
29. Scheuning, G., Ziebarth, D.: Bildung von N-Nitrosoverbindungen aus Arzneimitteln und Nitrit im menschlichen Magensaft in vitro. *Pharmazie* 33: 722-726 (1978).
30. Bellander, T.D., Hagmar, L.E., Österdahl, B.: Nitrosation of piperazine in the stomach. *Lancet* ii: 372 (1981).
31. De Flora, S., Picciotto, A.: Mutagenicity of cimetidine in nitrite-enriched human gastric juice. *Carcinogenesis* 1: 925-930 (1980).
32. Foster, A.B., Jarman, M., Manson, D.: Structure and reactivity of nitrosocimetidine. *Cancer Lett.* 9:47-52 (1980).
33. Jensen, D.E., Magee, P.N.: Methylation of DNA by nitrosocimetidine in vitro. *Cancer Res.* 41: 230-236 (1981).
34. Sarraj, S.A., Roth, H.J.: Nitrosaminbildung aus Arzneistoffen, 2. Mitt.: Nitriteinwirkung auf Amfep-ramon. *Arch. Pharm. (Weinheim)* 311: 441-445 (1978).
35. Ziebarth, D., Teichmann, B.: Nitrosation of orally administered drugs under simulated stomach conditions. "N-Nitroso Compounds: Analysis, Formation and Occurrence" da Ed. E. A. Walker, M. Castegnaro, L. Griçute, M. Börzsönyi. p.231-244. IARC Scientific Publications No. 31. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1980).
36. Kramer, M.: Chronic toxicity of pyrazolones: The problem of nitrosation. *Br. J. clin. Pharmac.* 10:313-317 (1980).
37. Röper, H., Heyns, K.: Zur Frage der Bildung von Dimethylnitrosamin aus Tetracyclin-Derivaten bei der Nitrosierung in saurer Lösung. *Z. Naturforsch. (C).* 32: 696-702 (1977).
38. Wogan, G.N., Paglialonga, S., Archer, M.C., Tannenbaum, S.R.: Carcinogenicity of nitrosation

- products of ephedrine, sarcosine, folic acid and creatinine. *Cancer Res.* 35: 1981-1984 (1975).
39. Kinawi, A., Schuster, T.: Reaktionskinetische Untersuchungen zur Entstehung von N-Nitrosoephedrin in vitro und in vivo. *Arzneim.-Forsch.* 28: 219-225 (1978).
  40. Karakaya, A.E. : Formation of N-nitrosodimethylamine from some antibiotics containing dimethylamino groups with nitrite interaction under simulated stomach conditions. 6 th Symposium on Drug Toxicity. Abstracts, p.32. Cluj-Napoca. Romania (1983).
  41. Montesano, R., Bartsch, H., Brésil, H.: Nitrosation of d-N,N'-bis-(1-hydroxymethylpropyl)ethylenediamine, an antitubercular drug. *J. Nat. Cancer Inst.* 52: 907-910 (1974).
  42. Eisenbrand, G., Preussmann, R.: Nitrosation of phenacetin. Formation of N-nitroso-2-nitro-4-ethoxyacetanilide as an unstable product of the nitrosation in dilute aqueous-acidic solution. *Arzneim.-Forsch.* 25: 1472-1475 (1975).
  43. Greenblatt, J.M., Kommineni, V., Conrad, E., Wallcave, L., Lijinsky, W.: In vivo conversion of phenmetrazine into its N-nitroso derivative. *Nature (New Biol.)* 236: 25-26 (1972).
  44. Walser, A., Fryer, R.I., Sternbach, L.H., Archer, M.C.: Quinazolines and 1,4-benzodiazepines LXV. Some transformations of chlórdiazepoxide. *J. Heterocycl. Chem.* 11:619-621 (1974).
  45. Giner.Sorolla, A., Greenbaum, J., Last-Barney, K., Anderson, L.M., Budinger, J.M.: Lack of carcinogenic effect of nitrosochlórdiazepoxide and of nitrozomethylphenidate given orally to mice. *Fd. Cosmet Toxicol.* 18:81-83 (1980).
  46. Mergens, W.J., Vane, F.M., Tannenbaum, S.R., Green, L., Skipper, P.L.: In vitro nitrosation of methapyrilene. *J. Pharm. Sci.* 68: 827-832 (1979).
  47. Weeb, K.S., Wood, B.J., Gough, T.A.: The effect of the intake of a nitrosatable drug on the nitrosamine levels in human urine. *J. Anal. Toxicol.* 7: 181-184 (1983).
  48. Abdul-Baki, A.,Lauven-Wetje, A.K., Roth, H.J.: Zur Frage der Nitrosaminbildung aus Arzneistoffen, 3. Mitt.: Differential Puls Polarographische Bestimmung von N-Nitrosodimethylamin (NDMA) aus Promethazinhydrochlorid und salpetriger Säure. *Arch. Pharm. (Weinheim)* 311: 775-779 (1978).
  49. Lauven-Wetje, A.K., Abdul-Baki, A.: Zur Frage der Nitrosaminbildung aus Arzneistoffen, 5. Mitt.: Der Katalytische Einfluss von Vitamin B<sub>6</sub> auf die Bildung von N-Nitrosodimethylamin (NDMA) aus Tetracyclin und salpetriger Säure. *Arch. Pharm (Weinheim)* 312: 361-363 (1979)
  50. Eisenbrand, G., Preussmann, R., Schmähl, D.: Carcinogenicity of N-nitrosoephedrine in rats. *Cancer Lett.* 5: 103-106 (1978).
  51. Eisenbrand, G., Habs, M. Schmähl, D., Preussmann, R.: Carcinogenicity of N-nitroso-3-hydroxypyrrolidine and dose-response study with N-nitrosopiperidine in rats. "N-Nitroso Compounds: Analysis, Formation and Occurrence" da. Ed. E. A. Walker, M. Castegnaro, L. Griçute, M. Börzsönyi. p.657-666. IARC Scientific Publications No. 31. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1980).
  52. Lijinsky, W., Reuber, M.D.: Carcinogenic effect of nitrosopyrrolidine, nitrosopiperidine and nitrosohexamethyleneimine in Fischer rats. *Cancer Lett.* 12: 99-103 (1981).
  53. Goodall, C.M., Lijinsky, W., Toma-



- tis, L.: Tumorigenicity of N-nitrosohexamethyleneimine. *Cancer Res.* 28: 1217-1222. (1968).
54. Garcia, H., Keefer, L., Lijinsky, W., Wenyon, C.E.M.: Carcinogenicity of nitrosothiomorpholine and 1-nitrosopiperazin in rats. *Z. Krebsforsch.* 74:179-184 (1970).
  55. Weisburger, J.H., Weisburger, E.K., Mantel, N., Hadidian, Z., Fredrickson, T.: New carcinogenic nitrosamines in rats. *Naturwissenschaften* 53: 508 (1966).
  56. Bannasch, P., Mueller, H.A.: Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratten und Maus. *Arzneim.-Forsch.* 14:805-814 (1964).
  57. Boyland, E., Nice, E., Williams, K.: The catalysis of nitrosation by thiocyanate from saliva. *Fd Cosmet. Toxicol.* 9:639-643 (1971).
  58. Fan, T.Y., Tannenbaum, S.R.: Factors influencing the rate of formation of nitrosomorpholine from morpholine and nitrite: Acceleration by thiocyanate and other anions. *J. Agric. Food Chem.* 21: 237-240 (1973).
  59. Boyland, E., Walker, S.A.: Catalysis of the reaction of aminopyrine and nitrite by thiocyanate. *Arzneim.-Forsch.* 24:1181-1184 (1974).
  60. Boyland, E., Walker, S.A.: Effect of thiocyanate on nitrosation of amines. *Nature (London)* 248: 601-602 (1974).
  61. Challis, B.C., Barlett, C.D.: Possible cocarcinogenic effects of coffee constituents. *Nature (London)* 254: 532-533 (1975).
  62. Archer, M.C., Yang, H.S., Okun, J.D.: Acceleration of nitrosamine formation at pH 3.5 by microorganisms. "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds" da. Ed. E.A. Walker, M. Castegnaro, M. Griçute, R.E. Lyle. p. 239-246. IARC Scientific Publications No. 19. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1978).
  63. Mirvish, S., Wallcave, L., Eagen, M., Shubik, P.: Ascorbate-nitrite reaction: Possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Science* 177: 65-68 (1972).
  64. Archer, M.C., Tannenbaum, S.R., Fan, T.Y., Weisman, M.: Reaction of nitrite with ascorbate and its relation to nitrosamine formation. *J. Nat. Cancer Inst.* 54: 1203-1205 (1975).
  65. Mergens, W.J., Chau, J., Newmark H.L.: The influence of ascorbic acid and dl- $\alpha$ -tocopherol on the formation of nitrosamines in an in vitro gastrointestinal model system. "N-Nitroso Compounds: Analysis, Formation and Occurrence" da. Ed. E.A. Walker, M. Castegnaro, L. Griçute, M. Börzsönyi. p. 259-269. IARC Scientific Publications No. 31. International Agency for Research on Cancer, Lyon (1980).
  66. Mergens, W.J., Kamm, J.J., Newmark, H.L., Fiddler, W., Pensabene, J.: Alpha-tocopherol: Uses in preventing nitrosamine formation. "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds" da. Ed. E.A. Walker, M. Castegnaro, M. Griçute, R.E. Lyle. p. 199-212. IARC Scientific Publications No. 19. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1978).
  67. Kurechi, T., Kikugawa, K., Kato, T.: Effects of alcohols on nitrosamine formations. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 18: 591-595 (1980).
  68. Kurechi, T., Kikugawa, K., Ozawa, M.: Effect of malondialdehyde on nitrosamine formation. *Fd Cosmet. Toxicol.* 18: 119-122 (1980).
  69. Coulston, F., Olajos, E.J.: Toxicology of N-nitroso compounds. "Safety Evaluation of Nitrosatable

- Drugs and Chemicals" da. Ed. G.G. Gibson, C. Ioannides, p. 104-113. Taylor and Francis LTD. London (1981).
70. Krull, I.S., Goff, U., Silvergleid, A., Fine, D.H.: N-Nitroso compound contaminants in prescription and nonprescription drugs. *Arzneim.-Forsch.* 29:870-874 (1979).
  71. Eisenbrand, G., Spiegelhalter, B., Kann, J., Klein, R., Preussmann, R.: Carcinogenic N-nitrosodimethylamine as a contamination in drugs containing 4-dimethylamino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one (amidopyrine, aminophenazone). *Arzneim.-Forsch.* 29: 867-869 (1979).
  72. Taylor, P., Braddock, P., Carter, D.: The analysis of N-nitrosodimethylamine in antihistamines and cough-cold preparations "N-Nitroso Compounds, Analysis, Formation and Occurrence" da. Ed. E.A. Walker, M. Castegnaro, L. Gričič, M. Börzsönyi, p.575-587. IARC Scientific Publications No. 31. International Agency for Research on Cancer. Lyon (1980).
  73. Castegnaro, M., Pignatelli, B., Walker E.A.: Analysis of volatile N-nitrosamines in commercial drugs. *Fd Cosmet. Toxicol.* 19: 489-491 (1981).