

**Binäre Systeme von Carcinogenen und verwandten Verbindungen in Beziehung zur krebserzeugenden Wirksamkeit: Mehrkernige aromatische Verbindungen, I\*<sup>1, 2</sup>.**

Von

**A. Müller, P. Görlich und L. Kahofer.**

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

*(Eingelangt am 26. April 1954.)*

Mit 10 Abbildungen.

Soweit aus den wenigen in der vorliegenden Arbeit untersuchten Systemen geschlossen werden kann, scheint es, daß eine Hemmung der Wirkung eines starken Carcinogens durch eine beigemischte schwach oder vielleicht auch nicht carcinogene strukturverwandte Verbindung bei Mischkristallbildung als wahrscheinlicher zu erwarten ist als im Falle eines einfachen Eutektikums.

**Einleitung und Allgemeines.**

In den letzten etwa 10 Jahren wurde eine Reihe von binären Gemischen aus mehrkernigen aromatischen Kohlenwasserstoffen und verwandten Verbindungen von verschiedenen Autoren auf carcinogene Eigenschaften im Tierversuch geprüft. Die hierbei öfters beobachtete Hemmung der Wirkung eines starken durch ein schwaches, strukturell ähnliches Carcinogen hat man durch Konkurrenz der beiden Agenzien um Plätze an Rezeptoren zu erklären versucht<sup>3</sup>.

Die Molekeln mehrkerniger aromatischer Verbindungen besitzen in Kristallen, Schmelzen und Lösungen im wesentlichen dieselbe Gestalt.

---

\* Herrn Prof. Dr. L. Ebert zum 60. Geburtstag herzlich gewidmet.

<sup>1</sup> 5. Mitteilung über Carcinogene und strukturverwandte Verbindungen. 4. Mitteilung: Krebsarzt 5, 267 (1950).

<sup>2</sup> Vorgetragen von A. M. auf der Südwestdeutschen Chemie-Dozenten-tagung in Erlangen am 30. April 1954. — Über die ersten Ergebnisse dieser Arbeit wurde auf der Krebs-Tagung in München 1953 berichtet: Krebsarzt 8, 264 (1953).

Daher scheint es zulässig, aus thermischen Analysen solcher binärer Systeme auf das Verhalten der Molekeln in Lösungen, die für die Krebs-erregung in Betracht kommen, zu schließen: in Fällen von Mischkristallbildung ist eine wechselseitige Vertretbarkeit der beiden Molekelarten an Rezeptoren als wahrscheinlicher anzusehen als bei Stoffpaaren, die einfache Eutektika ergeben. Dies wird seit längerer Zeit für biologisch in verschiedener Beziehung ähnlich oder antagonistisch wirksame Verbindungen angenommen<sup>4</sup>.

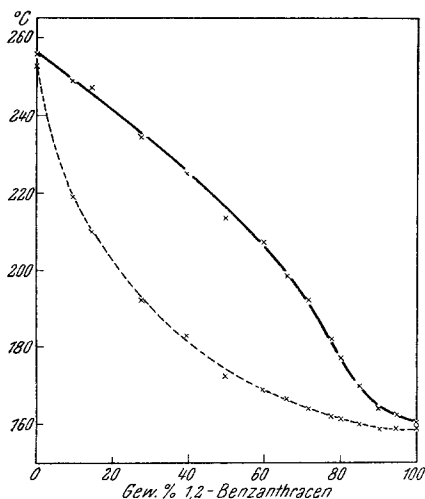


Abb. 1. Chrysen—1,2-Benzanthracen.

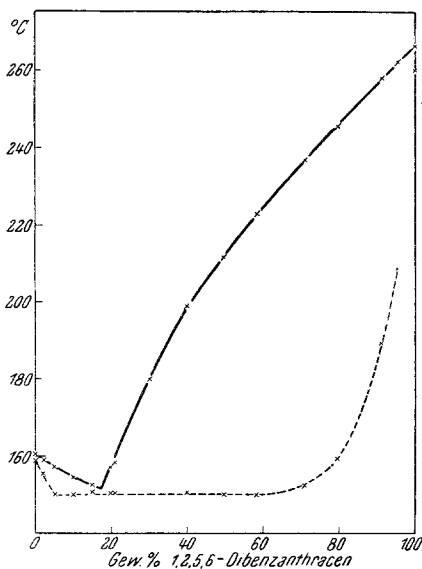


Abb. 2. 1,2-Benzanthracen—1,2,5,6-Dibenzanthracen.

Wir haben eine Reihe von binären Systemen mittels der Mikrothermoanalyse untersucht und die in den Abb. 1 bis 10 veranschaulichten Ergebnisse mit der aus der Literatur bekannten krebserzeugenden Wirksamkeit der entsprechenden Gemische und Komponenten versuchsweise in Beziehung gebracht. Die herangezogenen Tierversuche wurden durchwegs an Mäusen einheitlicher Stämme, wo nicht anders angegeben, durch oft wiederholtes Auftragen der zu prüfenden Gemische bzw. Komponenten in Lösungsmitteln auf die interscapulare Haut ausgeführt.

<sup>3</sup> A. Lacassagne, *Buu-Hoi* und G. Rudali, Brit. J. exp. Pathol. **26**, 5 (1945).

<sup>4</sup> R. Kuhn, Chemie (Angew. Chem.) **55**, 6 (1942). — H. Lettré, Ergebnisse der Enzymforschung, herausgegeben von R. Weidenhagen **9**, S. 9. Leipzig. 1943.

## Biologische und thermoanalytische Ergebnisse.

### Systeme mit lückenloser bzw. beschränkter Mischbarkeit.

P. E. Steiner und H. L. Falk<sup>5</sup> prüften die nachstehenden Verbindungen bzw. deren Gemische (in Tricaprylin) durch einmalige subcutane Injektionen in die interscapulare Gegend. Das Gemisch der schwachen Carcinogene Chrysen und 1,2-Benzanthracen (je 2,5 mg), welches dem

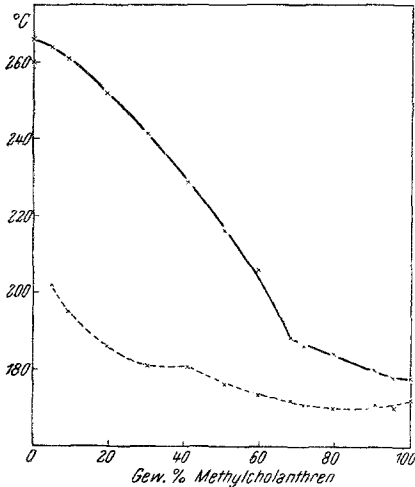


Abb. 3. 1,2,5,6-Dibenzanthracen—Methylcholanthren.

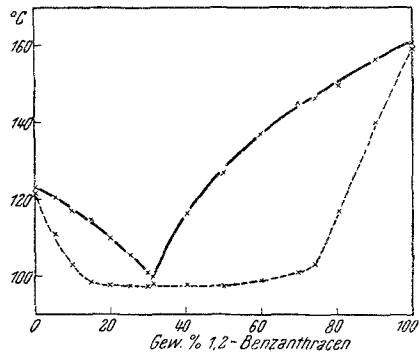


Abb. 4. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—1,2-Benzanthracen.

Typ I *Roozeboom* entspricht (Abb. 1), zeigte einen sehr deutlich überadditiven Effekt, bezogen auf die Komponenten. Das Gemisch 1,2-Benzanthracen (5,0 mg) und 1,2,5,6-Dibenzanthracen (0,02 mg) — Typ V (Abb. 2) — ergab eine ungefähr halb so große Tumorausbeute wie die Summe der Tumorausbeuten der Komponenten. Die starken Carcinogene 1,2,5,6-Dibenzanthracen und Methylcholanthren (je 0,02 mg) — Typ IV (Abb. 3) — verhielten sich nahezu additiv.

Demgegenüber fanden W. B. Wartman<sup>6</sup> und Mitarbeiter bei einer anderen Applikationsart — Auftragen einer Acetonlösung von 1,2,5,6-Dibenzanthracen und Methylcholanthren (Konzentrationsverhältnis 2 : 1) auf die Haut — eine Verlängerung der mittleren Latenzperiode von Methylcholanthren durch das für sich schwächer wirksame 1,2,5,6-Dibenzanthracen.

A. Lacassagne<sup>7</sup> und Mitarbeiter und ebenso W. B. Wartman<sup>8</sup> und Mit-

<sup>5</sup> P. E. Steiner und H. L. Falk, *Cancer Research* 11, 56 (1951).

<sup>6</sup> W. T. Hill, D. W. Stanger, A. Pizzo, B. Riegel und W. B. Wartman, *Cancer Research* 12, 270 (1952).

<sup>7</sup> G. Rudali, Bui-Hoï, A. Lacassagne und J. Lecocq, *C. r. soc. biol. Paris* 140, 234 (1946).

<sup>8</sup> W. T. Hill, D. W. Stanger, A. Pizzo, B. Riegel, Ph. Shubik und W. B. Wartman, *Cancer Research* 11, 892 (1951).

arbeiter stellten eine Hemmung der starken Wirkung von 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen durch das viel schwächer aktive 1,2-Benzanthracen (Konz. 1:1 bzw. 1:2) fest; System mit beschränkter Mischbarkeit nach

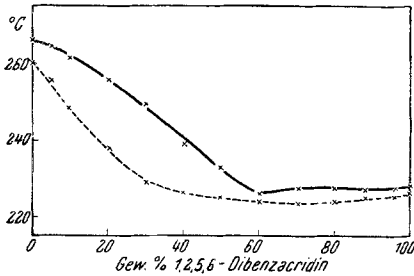


Abb. 5. 1,2,5,6-Dibenzanthracen—  
1,2,5,6-Dibenzacridin.

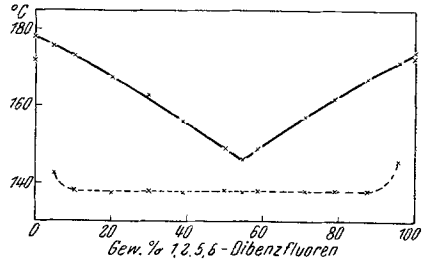


Abb. 6. Methylcholanthren—  
1,2,5,6-Dibenzfluoren.

Typ V (Abb. 4). Nach *A. Lacassagne*<sup>3</sup> und Mitarbeitern verzögert das schwache Carcinogen 1,2,5,6-Dibenzacridin die Krebsерzeugung durch 1,2,5,6-Dibenzanthracen (Konz. 1:1). Dieses Stoffpaar bildet eine lückenlose Reihe von Mischkristallen nach Typ III (Abb. 5).

*Systeme, die einfache Eutektika aufweisen.*

Die krebsерzeugende Wirkung von Methylcholanthren wird nach *A. Lacassagne*<sup>3</sup> und Mitarbeitern durch das wenig wirksame Carcinogen 1,2,5,6-Dibenzfluorene (Konz. 1:1) und schwach, aber deutlich auch durch Chrysen (Konz. 1:1) verzögert (Abb. 6 bzw. 7). Der erstere Befund wurde von *W. B. Wartman*<sup>9</sup> und Mitarbeitern bestätigt, während ein hemmender Einfluß des Chrysens nicht festgestellt werden konnte.

Die genannten Autoren fanden ferner keinen verzögernden, vielmehr anscheinend einen schwach beschleunigenden Einfluß von Fluoren<sup>9</sup> (Konz. 1:1) auf die Krebsерzeugung durch Methylcholanthren (Abb. 8),

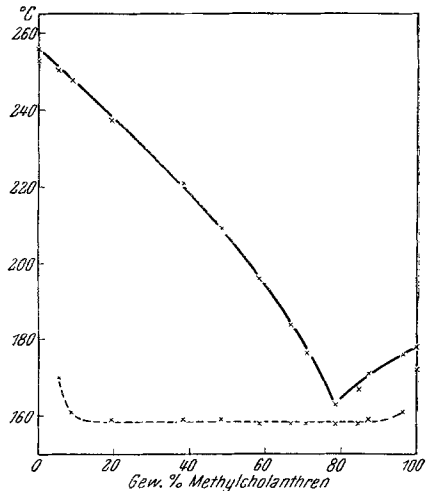


Abb. 7. Chrysen—Methylcholanthren.

<sup>9</sup> *B. Riegel, W. B. Wartman, W. T. Hill, B. B. Reeb, Ph. Shubik und D. W. Stanger, Cancer Research 11, 301 (1951).*

eine hemmende Wirkung von 1,2,5,6-Dibenzfluoren<sup>8</sup> auf 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen (Konz. 2:1) (Abb. 9), aber keinerlei Beeinflussung des letzteren durch Fluoren<sup>8</sup> (Konz. 1:2) (Abb. 10).

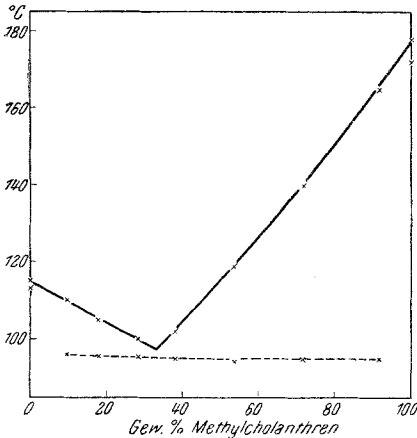


Abb. 8. Fluoren—Methylcholanthren.

die selbst den Charakter eines schwächeren Carcinogens besitzt, in seiner Wirkung gehemmt. Von diesen 6 Fällen zeigen 4 Mischkristallbildung und 2 einfache Eutektika. In 3 weiteren von den 10 Beispielen wird ein starkes Carcinogen durch die zusätzliche Verbindung nicht gehemmt;

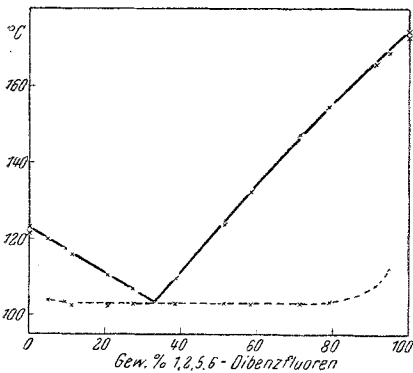


Abb. 9. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—1,2,5,6-Dibenzfluoren.

### Diskussion und Folgerungen.

In der Beurteilung der obigen Tierversuche liegen zweifellos Schwierigkeiten, die in der Applikationsart, der Anwendung verschiedener Mischungsverhältnisse und Lösungsmittel, der Verschiedenheit der Mäusestämme und der einzelnen Tiere, der verschiedenen Anzahl der eingesetzten Tiere und anderen Einflüssen begründet sind.

Unter den 10 besprochenen Beispielen wird in 6 Fällen ein starkes Carcinogen durch eine beigemischte strukturell verwandte Substanz, in allen 3 Fällen liegen einfache Eutektika vor. Das noch übrige Beispiel Chrysen + 1,2-Benzanthra-

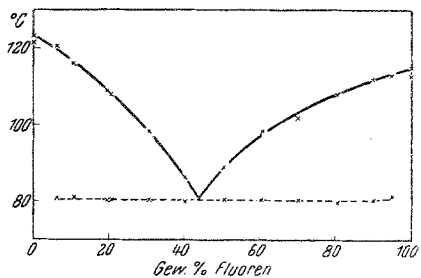


Abb. 10. 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen—Fluoren.

cen (Abb. 1), welches einen sehr deutlich überadditiven Effekt zeigt, weist lückenlose Mischbarkeit auf. (Dieser Effekt ist nach Angabe der Autoren<sup>5</sup> entweder durch Überdosierung oder durch Synergismus zu erklären und bedarf noch weiterer Untersuchung.)

Sofern man aus den wenigen Beispielen Schlüsse ziehen darf, scheint es, daß für die Hemmung eines starken Carcinogens durch eine beigemischte schwach oder vielleicht auch nicht carcinogene strukturverwandte Verbindung eine zur Mischkristallbildung noch nicht ausreichende Ähnlichkeit der Molekeln genügen kann, wie die Hemmung von Methylcholanthren oder 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen durch 1,2,5,6-Dibenzfluoren (Abb. 6 bzw. 9) erkennen läßt. (Eine eventuelle sehr geringe Mischbarkeit nach Typ V kann allerdings durch die Thermoanalyse nicht erfaßt werden<sup>10</sup>.) Ferner scheint es, daß in Fällen von Mischkristallbildung ein hemmender Einfluß einer solchen Beimischung mit mehr Wahrscheinlichkeit erwartet werden kann als in Fällen einfacher Eutektika.

Die Untersuchung weiterer Beispiele von Gemischen aus Carcinogenen und verwandten Verbindungen aus der Literatur mittels der Mikrothermoanalyse ist im Gange.

### Experimenteller Teil.

*Untersuchte Substanzen.* Die starken Carcinogene 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracen, Methylcholanthren und 1,2,5,6-Dibenzanthracen wurden von den Firmen F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, und Eastman Kodak Comp., Rochester N. Y., bezogen. Sie zeigten die Schmelzpunkte der Literatur und konnten ohne weiteres verwendet werden. 1,2-Benzanthracen bereiteten und reinigten wir nach J. W. Cook und G. M. Badger<sup>11</sup>. Chrysen von der Gesellschaft für Teerverwertung, Duisburg, und käufliches Fluoren wurden durch Umkristallisieren aus Toluol bzw. Alkohol gereinigt. Sehr reine Proben von 1,2,5,6-Dibenzfluoren und 1,2,5,6-Dibenzacridin verdanken wir der Freundlichkeit von Prof. J. W. Cook, Glasgow. Eine weitere sehr reine Probe von 1,2,5,6-Dibenzfluoren wurde uns von Prof. E. D. Bergmann, Tel Aviv, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Die Auftau-Schmelzdiagramme der Abb. 1 bis 10 ermittelten wir mit Hilfe der Mikromethoden von A. Kofler<sup>12</sup> (Laboratoriumsmikroskop der Firma C. Reichert, Wien, mit Original-Kofler-Mikroheiztisch; Objektiv 3, 10:1 (Achromat), N. A. 0,25; Huygens-Okular IV, 9×, bzw. II, 5×).

Zur Bestimmung der Endschmelzpunkte bis zum Bereich von etwa 160° (Abb. 4 und 10) bedienten wir uns der von A. Müller und W. Ruzha<sup>13</sup> angegebenen Rührvorrichtung (Zusatzgerät der Firma C. Reichert, Wien, für den Original-Kofler-Mikroheiztisch). Für die Diagramme mit den hochschmelzenden Carcinogenen und bei den fluoreenreichsten Gemischen wurden die Beobachtungen in zugeschmolzenen Röhren im Metallblock nach L. Kofler und M. Brandstätter<sup>14</sup> vorgenommen.

<sup>10</sup> H. Rheinboldt und M. Kircheisen, J. prakt. Chem. (N. F.) **113**, 200 (1926).

<sup>11</sup> J. W. Cook und G. M. Badger, J. Chem. Soc. London **1939**, 804.

<sup>12</sup> A. Kofler, Naturwiss. **31**, 553 (1943). — L. Kofler und A. Kofler, Thermo-Mikro-Methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische, 3. Aufl. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner. 1954.

<sup>13</sup> A. Müller und W. Ruzha, Mikrochem. **40**, 60 (1952).

<sup>14</sup> L. Kofler und M. Brandstätter, Mikrochem. **33**, 20 (1948).

Hierbei benutzten wir als Zusatzgerät eine Schüttelvorrichtung<sup>15</sup>, die eine rasche und sichere Erfassung des Endschmelzpunktes von Gemischen und bei unzersetzt schmelzenden Substanzen auch dessen gute Reproduzierbarkeit ermöglicht.

Methylholanthren weist eine beträchtliche Temperaturspanne zwischen Auftaupunkt und Endschmelzpunkt auf. Es zersetzt sich allmählich ab etwa 150°. Auf diesen Umstand mußte bei der Bestimmung der Auftaupunkte in höheren Temperaturlagen von Gemischen mit Methylholanthren im Röhrchen Rücksicht genommen werden; die Endschmelzpunkte ließen sich dagegen an wiedererstarteten Proben trotz geringer Zersetzung (unter braunroter Verfärbung) gut reproduzieren. Auch 1,2,5,6-Dibenzanthracen schmilzt unter geringer Zersetzung.

Die vorliegende Arbeit wurde von der Österreichischen Akademie der Wissenschaften und der Österreichischen Gesellschaft für Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit in Wien sowie von der *Van 't Hoff*-Stiftung in Amsterdam unterstützt. Hierfür sprechen wir unseren Dank aus.

---

<sup>15</sup> Über die Schüttelvorrichtung soll in einer späteren Mitteilung in den *Mikrochim. Acta* [Wien] berichtet werden.