



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤① Int. Cl.³: C 07 H 15/24
A 61 K 31/70

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑪

645 387

⑳① Gesuchsnummer:	3644/81	㉔③ Inhaber: Sidney Farber Cancer Institute, Inc., Boston/MA (US)
㉔② Anmeldungsdatum:	03.06.1981	
㉔③ Priorität(en):	09.06.1980 US 157861	㉔⑦ Erfinder: Israel, Mervyn, Needham/MA (US) Potti, Gopalakrishnan, Lexington/KY (US)
㉔④ Patent erteilt:	28.09.1984	
㉔⑤ Patentschrift veröffentlicht:	28.09.1984	㉔⑦④ Vertreter: E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **N-Trifluoracetyladiamycin-14-O-hemiglutarat und -hemiadipat und therapeutische Zusammensetzungen, welche diese enthalten.**

⑤⑦ N-Trifluoracetyladiamycin-14-O-hemiglutarat und -hemiadipat haben eine Antitumoraktivität und eine niedrige Toxizität und sind in Wasser bei einem physiologischen pH im Bereich von 7,2 bis 7,5 löslich.

PATENTANSPRÜCHE

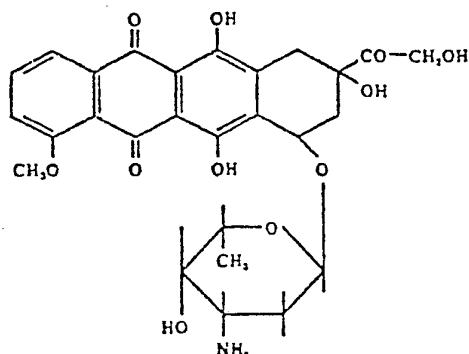
1. N-Trifluoracetyladiamycin-14-0-hemiglutarat.
2. N-Trifluoracetyladiamycin-14-0-hemiadipat.
3. Eine therapeutische Zusammensetzung, aufweisend eine Antitumoraktivität gegenüber murine P388 und murine L 1210 Leukämien in Mäusen, genannte Zusammensetzung bestehend im wesentlichen aus einem pharmazeutisch annehmbaren nichttoxischen Trägermaterial und einer wirksamen Menge einer Verbindung nach Anspruch 1.
4. Eine therapeutische Zusammensetzung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der genannte Träger Wasser ist, welches auf einem pH-Wert von 7,2 – 7,5 gepuffert ist.
5. Eine therapeutische Zusammensetzung, aufweisend eine Antitumoraktivität gegenüber murine P388 und murine L 1210 Leukämien in Mäusen, genannte Zusammensetzung bestehend im wesentlichen aus einem pharmazeutisch annehmbaren nichttoxischen Trägermaterial und einer wirksamen Menge einer Verbindung nach Anspruch 2.
6. Eine therapeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der genannte Träger Wasser ist, welches auf einem pH-Wert von 7,2 – 7,5 gepuffert ist.

Die hierin beschriebene Erfindung wurde gemacht im Verlauf einer Arbeit unter einer Bewilligung oder Entscheidung vom Departement für Gesundheit, Erziehung und Wohlfahrt.

Diese Erfindung bezieht sich auf gewisse neue, wasserlösliche, chemische Verbindungen, welche eine Antitumoraktivität haben gegenüber murine P388 und L 1210 Leukämien verbunden mit niedriger Toxizität; und auf therapeutische Zusammensetzungen, welche diese Verbindungen zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren nichttoxischen, wässrigen Trägermaterial enthalten, welche verwendbar sind für die Verabreichung an Mäuse, welche gewisse Tumore haben, zur Ausdehnung ihrer Lebensspannen.

Adriamycin, ebenfalls bekannt als Doxorubicin, und Daunomycin, ebenfalls bekannt als Daunorubicin, und verwandte Verbindungen, wie etwa gewisse N-Trifluoracetyl-Derivate, sind beschrieben worden in den US-Patenten Nrn. 3 590 028 und 3 803 124. Das letztere Patent beschreibt ebenfalls die Herstellung von N-Trifluoracetyladiamycin-14-acetat, identifiziert durch den Namen 14-Acetoxy-N-trifluoracetyl-daunomycin, aber es gibt nicht an, dass diese Verbindung irgendeine therapeutische oder pharmakologische Aktivität besitzt und darin ist auch keine Verwendbarkeit vorgeschlagen, ausgenommen deren Gebrauch bei der Herstellung von N-Trifluoracetyladiamycin, wovon Adriamycin chemisch abgeleitet werden kann.

Adriamycin unterscheidet sich von Daunomycin dadurch, dass das erstere eine Hydroxylgruppe in der 14-Stellung enthält, währenddem das letztere diese nicht hat und an deren Stelle ein Wasserstoffatom aufweist. Die Strukturformel von Adriamycin ist wie folgt:



In der US-PS Nr. 4 035 566 sind N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-alkanoate, in welchen das Alkanoat von 2-10 Kohlenstoffatomen aufweist, und ebenfalls therapeutische Zusammensetzungen, welche solche Verbindungen enthalten, beschrieben. Von den Verbindungen wird beschrieben, dass sie eine Antitumoraktivität haben.

Obwohl Daunorubicin und Adriamycin von Wichtigkeit sind in der klinischen Handhabung eines Spektrums von neoplastischen Krankheiten, einschliesslich Leukämien, Lymphomen und verschiedenen festen Tumoren, speziell Weichgewebe-Sarkome, ist deren Gebrauch kompromittiert durch die toxischen Nebeneffekte, speziell die akute Myelosuppression und die kumulative Dosis-bezogene kardiale Toxizität, welche beide dosisbegrenzend sind. N-Trifluoracetyladiamycin-14-valerat, eine der in der US-PS 4 035 566 beschriebenen Verbindungen, ist ausführlich getestet worden und es wurde gefunden, dass sie therapeutisch dem Adriamycin und dem Daunomycin überlegen ist. Weiter ist sie im allgemeinen weniger toxisch und im speziellen signifikant weniger kardiotoxisch als die Ursprungsdroge, sowohl in Tieren und im Menschen bei klinischen Prüfungen.

Wie auch immer, diese Verbindung ist hoch lipophil und daher im wesentlichen wasserunlöslich. Für die klinische Verwendung muss die Droge für die intravenöse Verabreichung in ein oberflächenaktives Mittel enthaltendes Trägermaterial formuliert sein. Die gegenwärtig gebräuchliche Formulierung umfasst die gelöste Verbindung in einer schlussendlichen Konzentration von 0,35 mg/ml in 0,5% Emulphor EL-620 (polyethoxyliertes Rizinusöl) – 0,5% Ethanol – 99% Salz. Demgemäss muss ein Patient mit einer Körperoberfläche von 1,0 m², welcher eine 600 mg/m²-Dosis der Droge erhält, wobei die übliche klinische Dosis verabreicht wird während einer 24-stündigen Zeitspanne einmal während 21 Tagen, etwa 1,7 Liter an Infusionsflüssigkeit aufnehmen. Diese grossen Volumina diktiert, dass sie als eine 24-stündige kontinuierliche Infusion gegeben werden. Einige Patienten bei 400 mg/m² haben, etwa 2/3 durch die Infusion, ein offenbar Trägermaterial-assoziiertes Brust-Schmerzsyndrom erfahren. Die Verabreichung von einem Steroid, Hydrocortison-hemisuccinat, eliminierte den Symptomkomplex in diesen Fällen, und eine Routine-Steroidprophylaxis ist eingeführt worden; dieses Verfahren verhindert den Brust-Schmerz symptomologisch mit allen nachfolgenden Läufen der Droge.

Es ist jetzt gefunden worden, dass N-Trifluoracetyladiamycin-14-0-hemiglutarat und -hemiadipat eine Zytotoxizität oder eine Antitumoraktivität aufweisen, welche grösser ist als jene von Adriamycin und ungefähr etwa jener gleich ist von N-Trifluoracetyladiamycin-14-valerat, und diese Verbindungen sind signifikant weniger toxisch gegenüber Mäusen als Adriamycin oder Daunomycin ausgedrückt in pharmakologischen Eigenschaften. Gleichzeitig zeigen diese Verbindungen eine Löslichkeit in Wasser bei einem physiologischen pH-Wert im Bereich von 7,2 – 7,5, welche vielmal grösser ist als jene von N-Trifluoracetyladiamycin-14-valerat unter den gleichen Bedingungen und sie sind löslich sogar in Abwesenheit von Dispersionsmitteln und von Alkohol. Zudem, ungeachtet der viel höheren Wasserlöslichkeit, zeigen das Hemiadipat und Hemiadipat der vorliegenden Erfindung eine hervorragende Widerstandsfähigkeit gegenüber der Hydrolyse und sind daher genügend stabil, um in der Form von wässrigen Lösungen verwendet zu werden, welche für den Versand und für die Lagerung während wesentlichen Zeitspannen bestimmt sind.

Folgerichtig können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung verabreicht werden im gleichen Trägermaterial, wie es gegenwärtig klinisch für das Valerat verwendet wird, verbunden mit viel höheren Konzentrationen, so dass eine

einzelne d.e.m. Dosis von 10 bis 20 ml das 24-stündige Infusionsverfahren ersetzen kann.

Die neuen Verbindungen der vorliegenden Erfindung können hergestellt werden mittels Verfahren, welche analogen jenen sind, welche verwendet werden für die Herstellung der N-Trifluoracetyladiamycin-14-alkanoate, wie es in der US-PS 4 035 566 beschrieben ist, im allgemeinen unter Ersatz des Alkansäurenatriumsalzes durch Glutarsäuremononatriumsalz oder Adipinsäuremononatriumsalz. Ebenfalls können weitere Verfahren verwendet werden.

Die therapeutischen Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung, welche die neuen erfindungsgemässen Verbindungen als aktive Mittel enthalten, können hergestellt werden durch Dispergieren oder durch Auflösen des aktiven Bestandteiles in irgendeinem pharmazeutisch annehmbaren nichttoxischen Trägermaterial, welches geeignet ist für die gewünschte Art der Verabreichung, die parenteral sein kann, d.h. mittels Injektion, die intravenös, intramuskulär oder intraperitoneal ist, oder weiteren herkömmlichen Arten. Vorzugsweise ist das Trägermaterial ein wässriges Medium, welches auf einen pH-Wert von 7,2 – 7,5 gepuffert ist, also im physiologischen Bereich. Jeder geeignete herkömmliche Puffer kann verwendet werden, wie etwa Tris, Phosphate, Bicarbonate oder Citrate. Falls gewünscht, kann eine Salzlösung verwendet werden mit pH-Einstellung und Pufferung. Nichtionische emulgierende Mittel, wie etwa polyethoxyliertes Rizinusöl, polyethoxyliertes Sorbitanmonooleat oder ähnliches können in Mengen bis zu 10 Gew.-% vorhanden sein, wie auch Ethanol, um die Löslichkeit der neuen Verbindungen zu vergrössern, wie bei der klinischen Verabreichung des Valerates, jedoch ist dies im allgemeinen unnötig, weil die Verbindungen löslich sind bis zum Ausmass von ungefähr 60 mg/ml in Wasser, welches gepuffert ist auf einen pH-Wert von 7,2 – 7,5, ohne die Hinzugabe von Emulgierungsmitteln oder einem Alkohol.

Die Toxizität und die therapeutische Wirksamkeit der neuen Verbindungen und der aktiven Mittel der vorliegenden Erfindung werden in Untersuchungen in vitro und mittels in vivo Evaluationen in Mäusen gezeigt. Die Untersuchungen in vitro messen die wachstumshemmende Aktivität der Materialien gegenüber der CCRF-CEM Zelllinie in Kultur. Die Zelllinie wurde abgeleitet vom Peripheralblut eines Kindes, welches lymphoblastische Leukämie hatte, wie es beschrieben ist von Foley et al., Cancer, Band 18, Seiten 522 und folgende (1965), und die Untersuchungen wurden ausgeführt mittels dem Verfahren von Foley und Lazarus, Biochem. Pharmacol., Band 16, Seiten 659 und folgende (1967), die Resultate sind angegeben in Ausdrücken der Dosis in Mikromol pro Liter, erforderlich für die Hemmung des Wachstums der Kulturen für 50%, relativ zur Kontrolle der Kulturen, zu welchen keine Droge hinzugefügt worden ist (ID_{50}). Die in vivo Evaluationen wurden gemacht mittels Herstellung einer 0,2 bis 0,7 Gew.-%igen Lösung des aktiven Mittels in einer Formulierung, bestehend aus je 10 Volumen-% an polyethoxyliertem Rizinusöl und Ethanol in Saline, und mittels intraperitonealer Injektion der Dosis. Die Evaluationen bestanden aus der Antitumoraktivität gegenüber der murine P388 und der murine L 1210 Leukämien in BDF₁ männlichen Mäusen, entsprechend den Standard National Cancer Institut-Protokollen, wie angegeben von Geran et al., Cancer Chemotherap. Rep., Teil 3, Band 3, Seiten 1 und folgende (1972), ausgenommen, dass ein Verfahren nach Tabelle qd 1–4 verwendet wurde anstelle von qd 1–9, um Materialien zu sparen.

Die optimale Dosierung wurde bestimmt durch Prüfen von Dosen, welche einigen mehrfachen von 10 mg/kg Körpergewicht entsprachen. Eine bedeutende Wirksamkeit kann beobachtet werden bei Dosierungen, welche sich von 30–70 mg/kg an Körpergewicht erstrecken, abhängig von der jeweils verwendeten Verbindung.

Die folgenden Beispiele sollen die Herstellung der Verbindungen und deren Wirksamkeit illustrieren, ohne jedoch als eine Begrenzung des Bereiches der Erfindung zu wirken.

Beispiel 1 N-Trifluoracetyladiamycin-14-O-hemiglutarat

Verfahren 1: Rückflussierendes Aceton

Ein Gemisch von 14-Jod-N-trifluoracetyladaunomycin (200 mg, 0,26 mmol) und Glutarsäuremononatriumsalz (1,2 g) wurde in 3 ml Wasser aufgenommen und anschliessend wurde dieses mit 350 ml Aceton verdünnt. Das Reaktionsgemisch wurde während 10 Stunden auf Rückfluss erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch filtriert und der Filterkuchen wurde mit warmem Aceton gewaschen, so lange, bis das Aceton aus den Waschvorgängen nicht mehr gefärbt war. Das Filtrat und das Aceton aus dem Waschvorgang wurde vereint und zur Trockne unter reduziertem Druck eingengt, und der Rückstand wurde in Chloroform (200 ml) gelöst. Die Chloroformlösung wurde dreimal mit 150 ml-Portionen an Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und auf ein Volumen von etwa 2–3 ml eingengt. Dieses Konzentrat wurde an einer Säule aus Kieselsäure chromatographiert unter Verwendung von Chloroform und anschliessend unter Verwendung von 0,5% Methanol in Chloroform als Eluierungsmittel. Eine eingengte Chloroformlösung des eluierten Produktes wurde mit Petroläther behandelt, um 152 mg (76% Ausbeute) des Produktes zu ergeben. Schmelzpunkt 141–144 °C (Zersetzung); $[a]_D^{25} + 228$ (c = 0,046, CH₃OH); UV/VIS $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ nm (ϵ) 233 (29,700), 240 (24,800), 277 (9,900), 478 (8,540), 495 (8,350), 531 (4,270); IR (KBr) cm⁻¹ 3450 breit

$\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ (\text{OH}, \text{HO}-\text{C}-), \end{array}$ 1715, 1705, 1620, 1580 (C = O und Chinon).
Analyse berechnet für C₃₄H₃₄F₃NO₁₅: C, 54,20; H, 4,56; F, 7,56; N, 1,86.

Gefunden: C, 54,06; H, 4,65; F, 7,37; N, 1,86.
Das Produkt wurde ebenfalls erhalten (60% Ausbeute), wenn 14-Brom-N-trifluoracetyladaunomycin verwendet wurde anstelle der Jod-Verbindung als Ausgangsmaterial.

Verfahren 2: In Ethylenglycol

Ein Gemisch von Glutarsäuremononatriumsalz (100 mg) und Ethylenglycol (10 ml) wurde auf eine Temperatur von 65–70 °C in einem Ölbad erwärmt. Zu diesem Gemisch wurde 14-Jod-N-trifluoracetyladaunomycin (50 mg, 0,066 mmol) hinzugefügt und die resultierende Lösung wurde unter heftigem Rühren bei einer Temperatur von 65–70 °C während einer Stunde gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde danach in Eiswasser geleert und das Produkt wurde in Chloroform (3 × 50 ml) extrahiert. Die Chloroformlösung wurde mit Wasser (3 × 100 ml) gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat während zwei Stunden getrocknet und unter Vakuum zu einem kleinen Volumen eingengt. Durch die Hinzugabe von Petroläther fiel ein roter Festkörper aus, welcher mittels Filtration getrennt wurde, mit Petroläther gewaschen und getrocknet wurde. Das Produkt (45 mg, 90% Ausbeute) wurde weiter gereinigt mittels Kristallisation aus Chloroform/Ethylether/Petroläther, um ein Material zu ergeben, welches in allen spektralen und chromatographischen Eigenschaften identisch war mit dem Produkt, welches gemäss dem obigen Verfahren 1 erhalten wurde.

Verfahren 3: In Dimethylformamid (DMF)

Glutarsäuremononatriumsalz (40 mg) wurde in 10 ml DMF gelöst und während 10 Minuten auf eine Temperatur

von 120 °C erwärmt. Die Lösung wurde auf eine Temperatur von 70 °C abgekühlt und 14-Jod-N-trifluoracetyl-daunomycin (25 mg, 0,033 mMol) wurde unter Rühren hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde während einer Stunde bei einer Temperatur von 65–70 °C gehalten, abgekühlt, und das DMF wurde unter Vakuum entfernt. Die Isolation und Reinigung, wie im obigen Verfahren 2, ergab 23 mg an Hemiglutarat-Produkt (92% Ausbeute).

Beispiel 2

N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-O-hemiadipat

Verfahren 1: Rückflussierendes Aceton

Ein Gemisch von 14-Jod-N-trifluoracetyl-daunomycin (150 mg, 0,2 mMol) und 1,09 Adipinsäuremononatriumsalz wurde in 300 ml Aceton aufgenommen, welches 2 ml Wasser enthält. Das Reaktionsgemisch wurde während 12 Stunden auf Rückfluss erwärmt. Das ähnliche Aufarbeiten wie für das Hemiglutarat, Verfahren 1, ergab 133 mg (85% Ausbeute) eines roten Festkörpers. Schmelzpunkt 135–140 °C (Zersetzung); $[\alpha] + 201$ ($c = 0,016$, CH_3OH); IR (KBr) cm^{-1} 3460

breit (OH, $\text{HO}-\text{C}-$), 1720, 1710, 1680, 1650 ($\text{C}=\text{O}$ und Chiron): UV/VIS $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ nm (ϵ) 223 (33,200), 241 (23,800), 276 (9,020), 478 (9,780), 497 (9,590), 532 (4,990).

Analyse berechnet für $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{NO}_{15}$: C, 54,76; H, 4,72; F, 7,46; N, 1,82.

Gefunden: C, 54,59; H, 4,59; F, 7,22; N, 1,77.

Wenn 14-Brom-N-trifluoracetyl-daunomycin verwendet wurde anstelle des Jod-Ausgangsmaterials, wurde das Hemiadipat in einer Ausbeute von 64% erhalten.

Verfahren 2: In Ethylenglycol

Die Behandlung von Adipinsäuremononatriumsalz (100 mg) und 14-Jod-N-trifluoracetyl-daunomycin (40 mg, 0,053 mMol) in 15 ml Ethylenglycol entsprechend den Reaktionsbedingungen und dem Aufarbeitungsverfahren für das Hemiglutarat, Verfahren 2, lieferte 38 mg (93% Ausbeute) an Hemiadipat-Produkt, welches in allen chemischen und physikalischen Charakteristiken identisch war mit dem Material, welches mittels obigem Verfahren 1 erhalten wurde.

Verfahren 3: In Dimethylformamid

Die Reaktion von Adipinsäuremononatriumsalz (200 mg) und 14-Jod-N-trifluoracetyl-daunomycin (200 mg, 0,26 mMol) in DMF, wie für das Hemiglutarat, Verfahren 3, lieferte 182 mg an Hemiadipat-Produkt (89% Ausbeute).

Die Löslichkeit in Wasser, gepuffert auf einen pH-Wert von 7,40 mit Fisher-bescheinigten monobasischem Kalium-

phosphat und Natriumhydroxid, von N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-O-hemiglutarat bei einer Temperatur von 22 °C beträgt 65 mg/ml, jene des -hemiadipates beträgt 60 mg/ml, währenddem jene des -valerates einige wenige Mikrogramme beträgt.

Die Stabilität des Hemiglutarates und des Hemiadipates wurden gemessen durch Auflösen von bekannten Quantitäten in wässrigen Puffern bei ausgewählten pH-Werten. Proben von jeder Lösung wurden während 24 Stunden in der Dunkelheit bei einer Temperatur von 4 °C und 27 °C gelagert, anschliessend wurden diese auf Glas-gepackte Silicagel G TLC-Platten (250 μ dicke Schichten) aufgetragen und die Platten wurden in einem Lösungsgemisch aus Chloroform/Methanol (95:5 mittels Volumen) entwickelt, und die Flecken wurden mittels Fluoreszenz unter einem Licht mit einer Wellenlänge von 350 nm betrachtet. Die Menge an hydrolytischem Produkt, N-Trifluoracetyl-adriamycin (R_f 0,58) wurde ermittelt unter Bezug auf einen gleichzeitigen authentischen Standard-Durchgang. Die Resultate waren wie folgt:

Tabelle I

N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-O-hemiglutarat	R_f	Prozent hydrolysiert	
		4 °C	27 °C
pH 7,40	0,26	0	1
pH 9,00		<0,5	3
-hemiadipat	0,31	0	0,5
pH 7,40		0,3	1
pH 8,00			
pH 9,00		0,5	

Die folgende Tabelle summiert die hemmende Aktivität gegenüber CCRF-CEM-Zellen der erfindungsgemässen Verbindungen wie auch weiterer Materialien, wenn diese in vitro geprüft wurden, wie es weiter oben beschrieben ist.

Tabelle II

Verbindung	ID_{50} , μM
Adriamycin	0,05
N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-valerat	0,24
-hemiglutarat	0,28
-hemiadipat	0,31

Die folgende Tabelle summiert die in vivo Antitumoraktivität der gleichen Verbindungen wie jenen in Tabelle I, evaluiert gegenüber murine P388 Leukämie, wie es weiter oben beschrieben ist. Alle Verbindungen wurden intraperitoneal verabreicht, Adriamycin in klinischer Formulierung, 1 Teil Adriamycin plus 5 Teile Lactose in 0,9% Saline, die andern Verbindungen in 10% Emulphor EL-620, 10% Ethanol, 80% isotonischem Salz.

Tabelle III

Verbindung	Jede Dosis, mg/kg Körpergewicht	Mittlerer Tag des Todes (Bereich)	Überlebende	
			% ILS ⁺	Keine Überlebende nach dem 30. Tag
Null-Dosis	–	11,0 (10–14)		0,22
Kontrollen	–	11,0 (10–14)		0,22
Adriamycin	1,0	20,0 (18–27)	81	0/7
	2,0	21,0 (20–32)	90	2/7
	3,0	31,0 (23–36)	181	4/7
	4,0	18,0 (7–28)	63	0/7
	5,0	9,0 (7–27)	–19	0/7

(Fortsetzung) *Tabelle III*

Verbindung	Jede Dosis, mg/kg Körper- gewicht	Mittlerer Tag des Todes (Bereich)	Überlebende		
			%ILS ⁺	Keine Überlebende nach dem 30. Tag	nach dem 60. Tag.
N-Trifluoracet- yl-adriamycin- 14 -valerat	20,0	42,0 (21–42)	281	5/7	3/7
	30,0	(21–26)		4/7	4/7
	40,0	(30,71)		6/7	6/7
	50,0	95,0 (24–95)	763	5/7	5/7
	60,0	90,0 (9–90)	718	5/7	5/7
-hemiglutarat	30,0	20,0 (20–25)	81	2/7	0/7
	40,0	23,0 (20–35)	109	2/7	1/7
	50,0	30,0 (20–42)	172	3/7	2/7
	60,0	(20,29)		5/7	4/7
	70,0	(25–36)		5/7	4/7
-hemiadipat	40,0	(25)		6/7	6/7
	50,0	(23,45)		6/7	5/7
	60,0	(24,93)		6/7	6/7
	70,0	(61–77)		7/7	7/7

+ prozentuale Zunahme der Lebensspanne relativ zu unbehandelten Kontrollen.

Weiter zeigen Prüfungen von N-Trifluoracetyl-adriamycin-14-hemiadipat, dass diese Verbindung hochwirksam ist für die Verlängerung des Überlebens von Mäusen, welche die L 1210 Leukämie tragen, wie es aus den in der folgenden Tabelle angegebenen Resultaten ersichtlich ist. Alle Verbindungen wurden intraperitoneal verabreicht, in den Tests (1) und

(2) waren die Verbindungen in 10% Emulphor EL-620, 10% Ethanol und 80% isotonischem Salz. Im Test (3) war die Verbindung in einem wässrigen Puffer, welcher monobasisches Kaliumphosphat und Natriumhydroxid enthielt, (0,05M), pH 7,40:

Tabelle IV

Verbindung	Optimale Dosis mg/kg/d × 4*	Mittlerer Über- lebenstag	%ILS ⁺	Keine Überleben- den am 50. Tag
Null-Dosis Kontrolle		9,0		0/15 [§]
(1) N-Trifluoracet- yl-adriamycin- 14-valerat	50,0 60,0		> 456 > 456	5/7 6/7
(2) N-Trifluoracet- yl-adriamycin- 14-hemiadipat	50,0 60,0		> 456 > 456	7/7 6/7
(3) gleich wie (2)	50,0 60,0		> 456 > 456	5/7 7/7

* Behandlung intraperitoneal einmal täglich an den Tagen 1,2,3 und 4.

+ Prozentuale mittlere Zunahme der Lebensspanne relativ zu unbehandelten Kontrollen, berechnet wie beim 50. Tag.

§ Alle Tiere waren zwischen dem Tag 8 und dem Tag 11 tot.