



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① CH 647 227 A5

⑤ Int. Cl. 4: C 07 C 97/10

// A 61 K 31/135

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

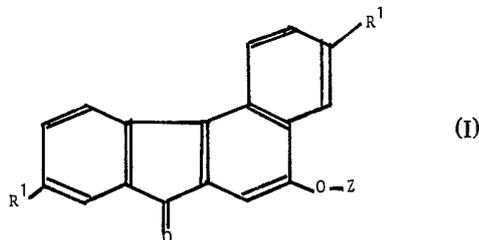
⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 669/81	㉓ Inhaber: SPOFA Spojené Podniky pro Zdravotnickou Výrobu, Prag 3 (CS)
㉑ Anmeldungsdatum: 02.02.1981	
㉒ Priorität(en): 04.02.1980 CS 753-80	㉔ Erfinder: Krepelka, Jiri, Prag 10 (CS) Vancurova, Iva, Prag 4 (CS) Rezabek, Karel, Prag 4 (CS) Melka, Milan, Hradec Kralové (CS) Pujman, Vojtech, Prag 5 (CS) Pokorna, Stanislava, Prag 10 (CS) Reichlova, Ruzena, Prag 6 (CS) Cernochova, Slavjanka, Prag 2 (CS)
㉓ Patent erteilt: 15.01.1985	
㉔ Patentschrift veröffentlicht: 15.01.1985	㉕ Vertreter: Patentanwalts-Bureau Isler AG, Zürich

⑤④ **Basische Aether von 7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren und Verfahren zu deren Herstellung.**

⑤⑦ Die Erfindung betrifft basische Äther von 7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren der allgemeinen Formel I:

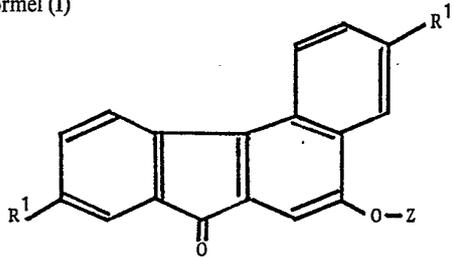
Die Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigten einen stark ausgeprägten Antitumoreffekt bei Tieren mit soliden und ascitischen transplantierbaren Tumoren und mit Leukämien von zwei Arten.



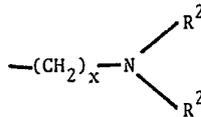
in welcher  $R^1$  ein Wasserstoffatom oder eine Methyl- oder Äthylgruppe und Z einen  $\omega$ -(N,N-Dialkylamino)-alkylrest bedeutet, sowie deren Additionssalze mit pharmazeutisch brauchbaren anorganischen und organischen Säuren. Daneben betrifft die Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung der oben genannten Verbindungen der allgemeinen Formel I durch Aminoalkylierung von 5-Hydroxy-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren und dessen entsprechend kernsubstituierten Derivaten am Sauerstoff der Hydroxylgruppe in der 5-Stellung.

## PATENTANSPRÜCHE

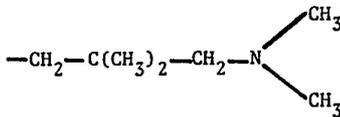
1. Basische Äther von 7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren der allgemeinen Formel (I)



in welcher R¹ ein Wasserstoffatom oder eine Methyl- oder Äthylgruppe und Z eine Gruppierung der allgemeinen Formel (II)



in welcher R² eine Methyl- oder Äthylgruppe und x entweder 2 oder 3 ist, oder eine Gruppierung der Formel (III)



bedeutet,

sowie deren Additionssalze mit pharmazeutisch annehmbaren anorganischen oder organischen Säuren.

2. 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

3. 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid als Verbindung nach Patentanspruch 1.

4. 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorennapsilat als Verbindung nach Patentanspruch 1.

5. 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrogenmaleinat als Verbindung nach Patentanspruch 1.

6. 5-[2-(Diäthylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

7. 5-[3-(Dimethylamino)propoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

8. 5-[3-(Dimethylamino)-2,2-dimethylpropoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

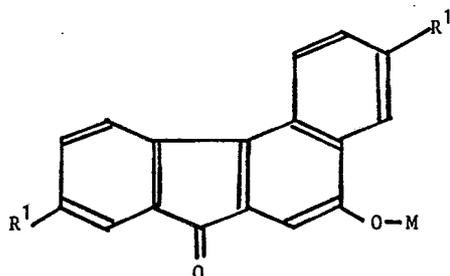
9. 3,9-Dimethyl-5-[2-(dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

10. 3,9-Dimethyl-5-[2-(diäthylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

11. 3,9-Diäthyl-5-[2-(dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

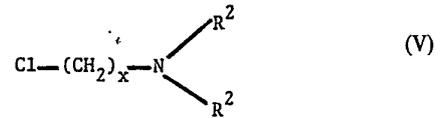
12. 3,9-Diäthyl-5-[2-(diäthylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren als Verbindung nach Patentanspruch 1.

13. Verfahren zur Herstellung von basischen Äthern von 7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren der allgemeinen Formel (I) und deren Additionssalzen mit pharmazeutisch annehmbaren anorganischen oder organischen Säuren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel (IV)

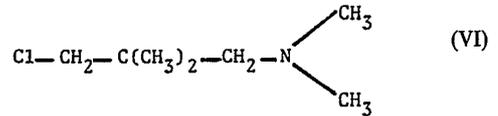


2

in welcher R¹ dieselbe Bedeutung wie in Formel (I) hat und M ein Natrium- oder Kaliumatom bedeutet, mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (V)



(I) in welcher R² und x dieselbe Bedeutung wie in Formel (II) haben, oder mit der Verbindung der Formel (VI)



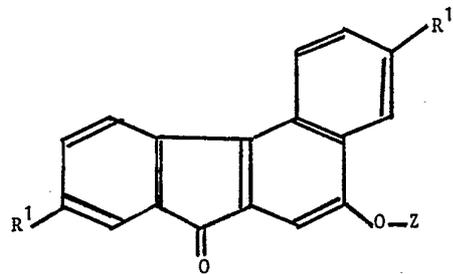
15

umsetzt, worauf man das entstandene Produkt, in Form der Base isoliert, durch Neutralisation mit einer pharmazeutisch annehmbaren anorganischen oder organischen Säure in das entsprechende Additionssalz überführt.

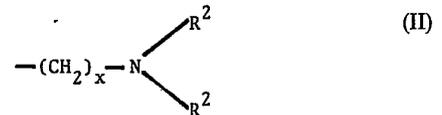
14. Verfahren nach Patentanspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man die Umsetzung einer Verbindung der allgemeinen Formel (IV), mit der oben angeführten Bedeutung für R¹ und M mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (V) oder der Formel (VI) in einer Menge von 1 bis 3 Mol-Eq verwendet, in einem Zweiphasensystem aus einer wässrigen Natriumhydroxid- und Kaliumhydroxidlösung und einem inerten, mit Wasser nichtmischbaren organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Toluol, bei Siedetemperatur des Reaktionsgemisches durchführt.

30

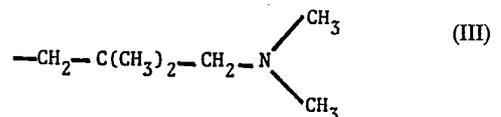
Die Erfindung betrifft basische Äther von 7-Oxo-7H-benzo-(c)-fluoren der allgemeinen Formel I



in welcher R¹ ein Wasserstoffatom oder eine Methyl- oder Äthylgruppe und Z eine Gruppierung der allgemeinen Formel II



in welcher R² eine Methyl- oder Äthylgruppe ist und x entweder 2 oder 3 ist, oder eine Gruppierung der Formel III



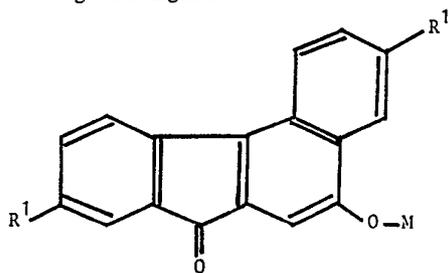
(IV)

bedeutet, und deren Additionssalze mit pharmazeutisch brauchbaren anorganischen oder organischen Säuren. Die Erfindung betrifft ebenso ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Die neuen Verbindungen wirken gegen Tumoren und Leukämien.

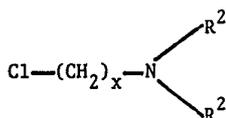
Die Verbindungen der allgemeinen Formel I, in welcher R¹ und

Z die oben angeführte Bedeutung haben, sind gemäss der Erfindung aus Verbindungen der allgemeinen Formel IV



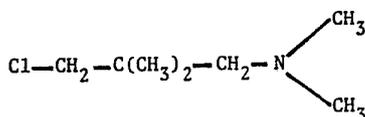
(IV)

in welcher R<sup>1</sup> die oben angeführte Bedeutung hat und M ein Natrium- oder Kaliumatom bedeutet, durch Umsetzung einer Verbindung der allgemeinen Formel V



(V)

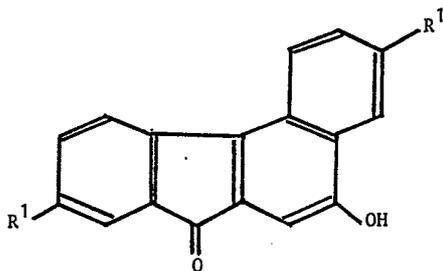
in welcher R<sup>2</sup> und x dieselbe Bedeutung wie in Formel II haben, oder mit einer Verbindung der Formel VI



(VI)

zugänglich, wobei man die Verbindungen der Formel V bzw. VI im allgemeinen in einer Menge von 1 bis 3 Mol-Eq verwendet und die Umsetzung selbst entweder in wasserfreiem Medium, in einem wasserfreien inerten Lösungsmittel, vorzugsweise einem chlorierten aromatischen Kohlenwasserstoff, bei der Siedetemperatur des Lösungsmittels, oder in einem Zweiphasensystem aus einem inerten wasserunlöslichen Lösungsmittel, wie einem aromatischen Kohlenwasserstoff, und einer wässrigen Natriumhydroxid- oder Kaliumhydroxidlösung bei der Siedetemperatur des Reaktionsgemisches, durchführt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel IV, in welcher R<sup>1</sup> und M die oben angeführte Bedeutung haben, erhält man z.B. aus Verbindungen der allgemeinen Formel VII



(VII)

in welcher R<sup>1</sup> die oben angeführte Bedeutung hat, durch Ersatz des Wasserstoffatoms in der kerngebundenen Hydroxylgruppe durch ein Alkalimetall unter Verwendung bekannter Methoden, in einem wässrigen oder wasserfreien Medium.

Die Umsetzung von Verbindungen der allgemeinen Formel IV mit Verbindungen der Formel V oder VI führt man im allgemeinen auch entweder in einem wasserfreien inerten Lösungsmittel oder in einem Zweiphasensystem aus einer wässrigen Natriumhydroxid- oder Kaliumhydroxidlösung und einem inerten, mit Wasser nichtmischbaren organischen Lösungsmittel durch.

Als inerte Lösungsmittel lassen sich in beiden genannten Alternativen aromatische Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Benzol, Toluol und Xylole, oder chlorierte Lösungsmittel, wie z.B. Dichloräthan oder Tetrachloräthan, verwenden; besonders geeignet erscheint aber, aus der Sicht der Produktausbeute, die Verwendung von Toluol oder Chlorbenzol.

Die Umsetzung im Zweiphasensystem lässt sich ebenso unter Verwendung von Phasenübertragungskatalysatoren durchführen, jedoch bietet solche Arbeitsweise keinen wesentlichen Vorteil dar.

Nach erfolgter Umsetzung verarbeitet man die Reaktionsgemische durch die für die angeführten Alkylierungsreaktionen üblichen Methoden, abhängig von der gewählten Durchführungsform der Umsetzung. Ein geeignetes Verfahren beruht z.B. auf der Methode von Andrews E. R. und Mitarbeitern, „J. Med. Chem.“, 17, 882 (1974). Das rohe Reaktionsprodukt reinigt man durch Kristallisation aus einem geeigneten einheitlichen Lösungsmittel oder einem Lösungsmittelgemisch; man charakterisiert es in Form der Base oder überführt man es durch Einwirkung von einem 10%igen Überschuss einer pharmazeutisch brauchbaren anorganischen oder organischen Säure im Medium eines niederen Alkohols, vorzugsweise von Methanol oder Äthanol, in das entsprechende Säureadditionssalz, die man zuletzt durch Kristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel reinigt.

Als Säuren für die Zubereitung der Additionssalze sind aus der pharmazeutischen Sicht einige typische anorganische Säuren, wie z.B. Chlorwasserstoffsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure, sowie organische Carbon- oder Sulfonsäure, wie z.B. Malein-, Wein-, Methan- und Äthansulfon-, Napsil-, Fumar- und Zitronensäure, besonders geeignet.

Die für die oben angeführten Reaktionstypen benötigten Ausgangsstoffe, d.h. die Verbindungen der allgemeinen Formel VII, sind bereits bekannt (C. F. Koelsch, „J. Org. Chem.“, 26, 2590 [1961], Krepelka J. und Mitarbeiter, CSSR-Patente Nrn. 200094, 202213, 204211) und präparativ leicht zugänglich.

Nähere Angaben über die Herstellungsweise von Verbindungen der allgemeinen Formel I und deren Additionssalzen mit organischen und anorganischen Säuren sind in den nachfolgenden Ausführungsbeispielen enthalten, die aber den Erfindungsumfang in keiner Weise begrenzen sollen. In den Beispielen angegebene Schmelzpunkte der Verbindungen wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind unkorrigiert. Die Temperaturwerte sind in Celsius-Graden angeführt.

#### Beispiel 1:

##### 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren

Eine Natriummethylatlösung, durch Auflösen von 2,76 g (0,12 mol) Natrium in 45 ml Methanol zubereitet, versetzt man mit 150 ml Chlorbenzol und 14,8 g (0,06 mol) 5-Hydroxy-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren und das Reaktionsgemisch erwärmt man allmählich bis zur Siedetemperatur von Chlorbenzol, unter gleichzeitigem Abdestillieren von Methanol, wonach man eine Lösung von 13,0 g (0,12 mol) 2-(Dimethylamino)äthylchlorid in 30 ml Chlorbenzol zugibt und das Reaktionsgemisch 5 h zum Sieden unter Rückfluss erwärmt. Nach dem Abkühlen und Zerlegen des Reaktionsgemisches mit Wasser trennt man die organische Schicht ab, extrahiert sie mit einer 10%igen wässrigen Kaliumhydroxidlösung, trocknet über wasserfreiem Natriumsulfat und verdampft man sie zur Trockne. Den kristallinen Rückstand kristallisiert man aus einem Tetrachlormethan/Hexan (1:1)-Gemisch um; so erhält man 14,8 g (78,3%) des obigen Produktes, das bei 91-93° schmilzt.

#### Beispiel 2:

##### 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrogenmaleinat

Eine Lösung von 318 mg (1 mol) 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren, nach Beispiel 1 hergestellt, in 5 ml Methanol versetzt man mit 127 mg (1,1 mol) Maleinsäure. Nach dem Abkühlen auf -5° scheidet sich aus der Lösung ein Feststoff aus, den man absaugt und aus Äthanol umkristallisiert. Man erhält das obige Produkt vom Smp. 119-124°.

In analoger Weise werden erhalten 5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorennapsilat, Smp. 85-87° (Äthanol),

5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 268-269° (Äthanol).

**Beispiel 3:**

3,9-Diäthyl-5-[2-(dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid

Eine Natriummethylatlösung, durch Auflösen von 0,92 g (0,04 mol) Natrium in 15 ml Methanol zubereitet, versetzt man mit 50 ml Chlorbenzol und 6,04 g (0,02 mol) 3,9-Diäthyl-5-hydroxy-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren und die Reaktion führt man weiter in analoger Weise durch wie im Beispiel 1, unter Verwendung von 4,3 g 2-(Dimethylamino)äthylchlorid. Die Produktbase (Smp. 88-90°) löst man in Äthanol, säuert sie mit einer äthanolischen Chlorwasserstoffsäurelösung an und den nach dem Abkühlen ausgeschiedenen kristallinen Niederschlag saugt man ab und kristallisiert ihn aus Äthanol. Man erhält 6,2 g (76%) des obigen Produktes vom Smp. 241-243°.

In analoger Weise wird 3,9-Dimethyl-5-[2-(dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid erhalten, Smp. 250-252° (Äthanol/Hexan).

**Beispiel 4:**

5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid

Ein Gemisch von 320 ml Toluol und 80 ml Wasser, 13,2 g (0,24 mol) Kaliumhydroxid enthaltend, versetzt man mit 9,84 g (0,04 mol) 5-Hydroxy-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluoren und 14,9 g (0,088 mol) 2-(Diäthylamino)äthylchloridhydrochlorid. Das Reaktionsgemisch erwärmt man am Rückfluss 12 h; nach dem Abkühlen trennt man die Toluolschicht von der wässrigen Schicht ab und verarbeitet man sie auf dieselbe Weise wie in den Beispielen 1 und 3 beschrieben. Durch Kristallisation aus Äthanol erhält man 13,6 g (89,5%) des obigen Produktes vom Smp. 248-250°.

In analoger Weise wurden erhalten  
3,9-Dimethyl-1-5-[2-(diäthylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 251-253° (Äthanol/Hexan),  
5-[3-(Dimethylamino)propoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 242-244° (Äthanol/Tetrachlormethan),  
3,9-Diäthyl-5-[2-(diäthylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 190-192° (Äthanol/Hexan),  
5-[3-(Dimethylamino)-2,2-dimethylpropoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 216-218° (Methanol/Aceton),  
5-[2-(Dimethylamino)äthoxy]-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid, Smp. 268-269° (Äthanol).

**Pharmakologische Ergebnisse**

Die Stoffe mit der allgemeinen Formel I, mit den oben angeführten

Bedeutungen von R<sup>1</sup> and Z, wiesen in biologischen Testen eine wachstumshemmende Wirkung auf implantierte Geschwülste bei Laboratoriumstieren und eine die Überlebenszeit verlängernde Wirkung bei den geschwulsttragenden Tieren auf. Beispiele solcher Wirkungen sind in den Tabellen 1 bis 3 angeführt.

Der Stoff 13468 hemmte ausserdem markant in Testen *in vitro* die Radioaktivitätsinkorporierung von <sup>14</sup>C-Adenin und <sup>14</sup>C-Valin in die Trichloressigsäure unlösliche Zellenfraktion (d.h. überwiegend Eiweissstoffe) des Ehrlichschen aszitischen Tumors. In dieser Hinsicht war er mehr als zehnmal wirksamer als Tiloron (NSC 143969; 2,7-Bis-[2-(diäthylamino)äthoxy]fluoren-9-on). Ein Beispiel der Resultate eines solchen Tests ist in der Tabelle 4 angeführt. Man betrachtet die Hemmung der Adenin- und Valininkorporation in das benützte Geschwulstzellensystem als in Zeichen der Nukleinsäuren- und Proteinsynthesenhemmung in diesen Zellen und so als ein Zeichen einer antitumoralen zytostatischen Wirkung. Diese biologische Aktivität des Stoffes 13468 ist viel grösser als die der nahestehenden Verbindung Tiloron.

Der Stoff 13468 wies ausserdem bei Mäusen immunosuppressive Wirkungen auf die Antikörperbildung auf. Ein Beispiel einer solchen Wirkung ist in der Tabelle 5 angeführt. (Dieselbe Methode wie in der Mitteilung von M. Švorcová, K. Řežábek und M. Semonsky in der „Arzneimittelforschung“, 30 [I], 6, 978-980, [1980].) Eine Hemmung der Serumantikörperbildung durch den Stoff 13468 ist von der Tabelle sichtbar.

Auf Grund der erwähnten Ergebnisse kann eine geschwulsthemmende und immunosuppressive Wirkung der genannten Stoffe auch beim Menschen erwartet werden.

**Erklärungen zu Tabellen 1 bis 3**

& : statistisch signifikante Differenz gegenüber Kontrolle bei P=0,05

K : Kontrolle

La: Leukämie LA bei C57B1-Mäusen

L 1210: Leukämie, in der Form eines aszitischen Tumors bei hybriden DBA/H-Mäusen wachsend

Sa 37: Aszitischer Tumor bei H-Mäusen

Kr 2: Krebscher aszitischer Tumor bei H-Mäusen

HK: Solider Tumor, ursprünglich als Milchdrüsenadenokarzinom bei H-Mäusen spontan gebildet

EST: Ehrlichscher solider Tumor bei H-Mäusen

Y: Yoshidascher aszitischer Tumor bei Wistar-Ratten

13466: 5-(3-Dimethylaminopropoxy)-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid

13467: 5-(3-Dimethylamino-2,2-dimethylpropoxy)benzo-(c)-

fluorenhydrochlorid

13468: 5-(2-Dimethylaminoäthoxy)-7-oxo-7H-benzo-(c)-fluorenhydrochlorid

**Tabelle 1**

*Beeinflussung des Verlaufs transplantiertter Tumoren bei Versuchstieren durch Stoff 13466*

Tierart	Tumor	Verabreichung	Dosenanzahl	Einzel-dosis (mg/kg)	Gesamt-dosis (mg/kg)	Applikationstage (nach Transplantation)	Tag der Tumorgrosse Bestimmung	Relative Tumorgrosse (% des Kontrollwerts)	Überlebensdauer der Tiere nach Transplantation	
									nach geom. Mittelwert (%)	nach Median (%)
Maus	LA	s.c.	1 ×	200	200	3	—	—		113
	HK	s.c.	8 ×	50	400	5-10, 12, 13	14	6	121	
		p.o.	8 ×	50	400	5-10, 12, 13	14	82	131	
		p.o.	8 ×	100	800	5-10, 12, 13	14	76	112	
Ratte	Y	s.c.	5 ×	50	250	1-5	—	—	177	
		p.o.	5 ×	100	500	1-5	—	—	135	

Tabelle 2

Beeinflussung des Verlaufs transplantiert Tumoren bei Versuchstieren durch Stoff 13 467

Tierart	Tumor	Verabreichung	Dosenanzahl	Einzel-dosis (mg/kg)	Gesamt-dosis (mg/kg)	Applikationstage (nach Transplantation)	Tag der Tumor-grösse Bestimmung	Relative Tumor-grösse (% des Kontroll-werts)	Überlebensdauer der Tiere nach Transplantation	
									nach geom. Mittelwert (%)	nach Median (%)
Maus	LA	s.c.	1 ×	300	300	3	—	—		186
	L 1210	s.c.	1 ×	250	250	1	—	—		136
	HK	s.c.	8 ×	25	200	5-10, 12, 13	14	45	89	
Ratte	Y	s.c.	5 ×	50	250	1-5	—	—	232	
		p.o.	5 ×	100	500	1-5	—	—	256	

Tabelle 3

Beeinflussung des Verlaufs transplantiert Tumoren bei Versuchstieren durch Stoff 13 468

Tierart	Tumor	Verabreichung	Dosenanzahl	Einzel-dosis (mg/kg)	Gesamt-dosis (mg/kg)	Applika-tionstage (nach Trans-plantation)	Tag der Tumor-grösse Bestimmung	Relative Tumor-grösse (% des Kontroll-werts)	Überlebensdauer der Tiere nach Transplantation		% der den 35. Tag nach Transplant. überlebenden Tiere
									nach geom. Mittelwert (%)	nach Median (%)	
Maus	LA	s.c.	1 ×	250	250	3	—	—		500	
	L 1210	s.c.	6 ×	50	300	1, 5, 8, 12, 15, 19	—	—		117	
		s.c.	6 ×	75	450		—	—		142	
		s.c.	6 ×	100	600		—	—		142	
		s.c.	6 ×	125	750		—	—		168	
	Sa 37	p.o.	3 ×	75	225	1, 4, 7	10	92	123		
	Kr 2	p.o.	2 ×	150	300	1, 8	10	62	128		
	HK	s.c.	8 ×	50	400	5-10, 12, 13	14	58	107		
		p.o.	8 ×	50	400	5-10, 12, 13	14	73	102		
		p.o.	4 ×	100	400	5, 7, 9, 12	14	48	125		
p.o.		2 ×	150	300	5, 12	14	66	123			
EST	p.o.	4 ×	50	200	5, 7, 9, 12	14	77	135			
	p.o.	4 ×	100	400	5, 7, 9, 12	14	70	134			
Ratte	Y	s.c.	5 ×	50	250	1-5	—	—	103		
		p.o.	3 ×	50	150	1, 4, 8	—	—	152		50 (K = 0)
		p.o.	3 ×	75	225	1, 4, 8	—	—	140		40 (K = 0)
		p.o.	5 ×	100	500	1-5	—	—	135		

Tabelle 4

Wirkungen von Tiloron und Stoff 13 468 auf Inkorporierung von  $^{14}\text{C}$ -Adenin und  $^{14}\text{C}$ -Valin in die in Trichloressigsäure unlösliche Zellenfraktion des Ehrlichschen aszitischen Karzinoms in vitro. Radioaktivitätsinkorporierung in cpm ausgedrückt  
 $IC_{50}$  = Konzentration, die Inkorporierung um 50% senkt

Konzentration ( $\mu\text{M}$ )		0	18,75	37,5	75	150	300	600	
Stoff	Inkorporiert								
Tiloron	Adenin	1060 (100%)	—	1160 (109%)	1252 (118%)	1096 (103%)	979 (92%)	563 (53%)	600 $\mu\text{M}$
	Valin	2455 (100%)	—	2395 (98%)	2374 (97%)	2247 (92%)	2443 (100%)	1944 (79%)	600 $\mu\text{M}$
13 468 HCl	Adenin	1060 (100%)	757 (71%)	714 (67%)	266 (25%)	59 (6%)	—	—	53 $\mu\text{M}$
	Valin	2455 (100%)	2394 (98%)	2253 (92%)	887 (36%)	349 (14%)	—	—	65 $\mu\text{M}$

Tabelle 5

Hämagglutinin- und Hämolyse-titerwerte im Mausserum am 9. Tage nach Hammelerythrozytenimmunisierung unter dem Einfluss des Stoffes 13 468. Der Stoff wurde subkutan eingespritzt einmal täglich entweder 5 d lang (2 d vor, am Tage, und 2 d nach der Immunisierung) oder 11 d lang (2 d vor, am Tage, und 8 d nach der Immunisierung). 12 Tiere je Gruppe. Als Titerwert gilt der Mittelwert der höchsten Serumverdünnung, die eine vollkommene Agglutination bzw. vollkommene Hämolyse hervorrief

Dosenanzahl	Einzeldosis (mg/kg)	Gesamtdosis (mg/kg)	Hämagglutinine		Hämolyse	
			Titer	(%)	Titer	(%)
0	0	0	343	100	37	100
5 × 5 ×	8 40	40 200	243 12	71 3,5	49 Unterdrückt (unter 10)	132 (unter 27)
11 × 11 ×	8 40	88 440	243 Unterdrückt (unter 10)	71 (unter 2,9)	Unterdrückt (unter 10) Unterdrückt (unter 10)	(unter 27) (unter 27)