DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT

(12) **Wirtschaftspatent**

(19) **DD** (11) **249 273 A1**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

4(51) C 07 J 7/00
C 07 J 75/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP C 07 J / 290 306 2	(22)	16.05.86	(44)	02.09.87

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, 1080 Berlin, Otto-Nuschke-Straße 22/23, DD
(72) Schwabe, Konrad, Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Weiland, Jürgen, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Hübler, Doris, Dr. vet. med. Dipl.-Vet.; Repke, Kurt R. H., Prof. Dr. sc., DD

(54) Verfahren zur Herstellung von 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-glykosiden

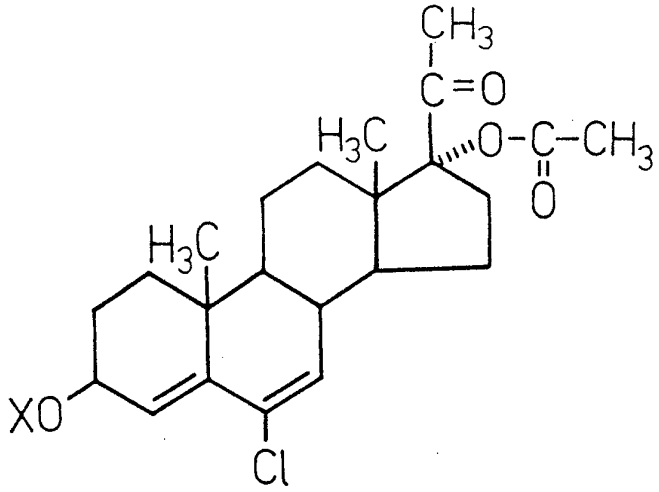
(57) Die Erfindung hat das Ziel, ein Verfahren zur Herstellung von 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-0-glykosiden zu entwickeln. Das erfindungsgemäße Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on (Chlormadinolacetat) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart von Fétizon-Reagens und gegebenenfalls Quecksilber(II)-cyanid sowie Quecksilber(II)-bromid mit acylierten Zuckerhaliden bei Raumtemperatur umgesetzt wird und die erhaltenen 0-Glykosidacylate, gegebenenfalls nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel, entacyliert werden. Anwendungsgebiete sind die pharmazeutische Industrie und die Medizin.

ISSN 0433-6461

7 Seiten

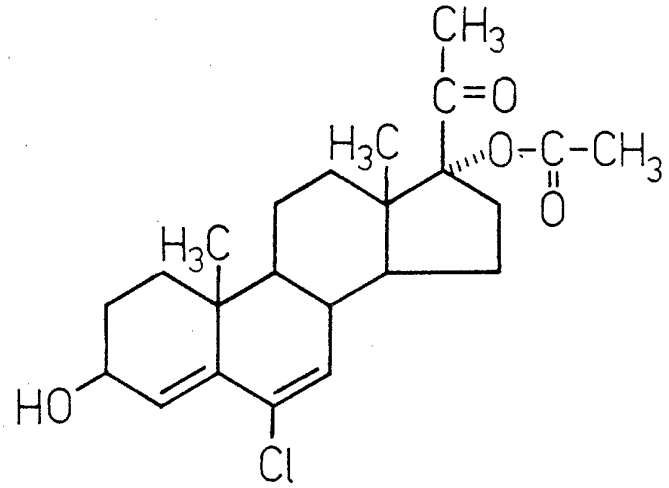
Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-glykosiden der allgemeinen Formel I,



I

in der X = α-L-Arabinofuranosyl, α-L-Rhamnopyranosyl, β-D-Glucopyranosyl, β-D-Xylopyranosyl oder β-D-Cellobiosyl bedeutet, **dadurch gekennzeichnet,** daß 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on (Formel II)



II

in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart von Fétizon-Reagens und gegebenenfalls Quecksilber(II)-cyanid sowie Quecksilber(II)-bromid mit acylierten Zuckerhaliden bei Raumtemperatur umgesetzt und die erhaltenen O-Glykosidacylate der Verbindungen der allgemeinen Formel I, gegebenenfalls nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel, entacyliert werden.

2. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß als Lösungsmittel Benzen, Toluen oder Gemische davon dienen.
3. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß 1 mol 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on mit 10 bis 15 mol Fétizon-Reagens, vorzugsweise 13,4 mol, und gegebenenfalls 0,5 bis 1,5 mol $Hg(CN)_2$, vorzugsweise 1,08 mol, sowie 1 bis 2 mol $HgBr_2$, vorzugsweise 1,54 mol, umgesetzt wird.
4. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß als acylierte Zuckerhalide, beispielsweise 2,3,5-Tri-O-benzoyl-α-L-arabinofuranosylchlorid, 2,3,4-Tri-O-benzoyl-α-L-rhamnopyranosylbromid, 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosylbromid, 2,3,4-Tri-O-acetyl-α-D-xylopyranosylchlorid oder Hepta-O-acetyl-α-D-cellobiosylbromid eingesetzt werden, wobei pro mol Aglykon 1,1 bis 5 mol acyliertes Zuckerhalid zur Anwendung kommen.

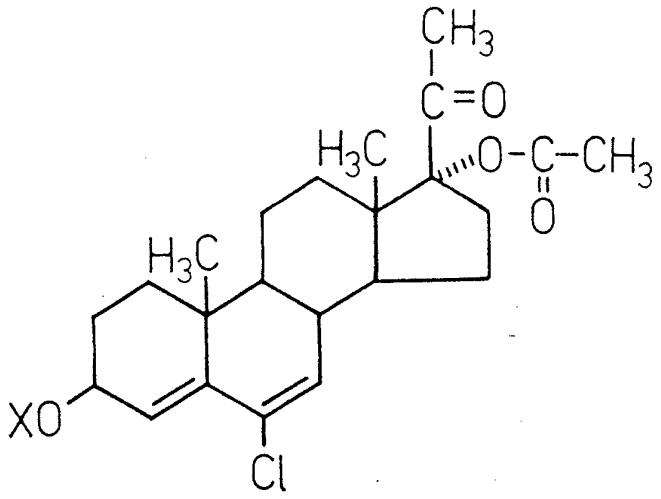
5. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß in Gegenwart eines wasserbindenden Mittels, z. B. Calciumhydrid, Molekularsieb 4 Å oder Wolfen-Zeosorb 4 Å, gearbeitet wird.
6. Verfahren nach Punkt 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Entacylierung der O-Glykosidacylate erfolgt, indem man entweder
   a) das Produkt in Methylenchlorid löst, ammoniakgesättigtes Methanol im Verhältnis 1:9 hinzugibt und die Lösung mehrerer Tage, vorzugsweise 8 Tage, bei niederen Temperaturen, vorzugsweise +2 bis +8 °C, stehenläßt oder
   b) das Produkt in Methanol löst, wäßrige Kaliumhydrogencarbonatlösung hinzufügt und die Reaktionsmischung auf Temperaturen zwischen +40 °C und der Siedetemperatur des Lösungsmittels, vorzugsweise +50 bis +60 °C, erwärmt,

   das vollständig entacylierte Produkt isoliert und säulenchromatographisch an Kieselgel reinigt.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-glykosiden der allgemeinen Formel I,



I

in der X = α-L-Arabinofuranosyl,
α-L-Rhamnopyranosyl,
β-D-Glucopyranosyl,
β-D-Xylopyranosyl,
β-D-Cellobiosyl

bedeutet.
Die Herstellung der Verbindungen der Formel I ist bisher nicht beschrieben worden.
Anwendungsgebiete sind die pharmazeutische Industrie und die Medizin.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

In den letzten Jahren wurde über die Frage des Vorkommens digitalisartig wirkender Faktoren in Blut und Geweben von Tier und Mensch intensiv in der Erwartung geforscht, Verbindungen zu entdecken, die gegenüber den Digitalis-Verbindungen pflanzlicher Herkunft überlegene therapeutische Eigenschaften für die Beherrschung der Herzinsuffiziens aufweisen könnten (F. S. LaBella, Trends Pharmacol. Sci. **3** [1982], 354). Obgleich die Existenz von derartigen Faktoren vielfach nachgewiesen wurde, blieb deren chemische Identität trotz weltweiter Forschung ungeklärt. Der Beweis, daß 5β,14β-Androstan-3β,14-diol die Leitstruktur in Digitalis-Verbindungen ist, begünstigt die Vorstellung, daß das endogene Digitalis ein Steroid ist (K. R. H. Repke, Trends Pharmacol. Sci. **6** [1985], 275).
Tatsächlich weist das Progesteronderivat Chlormadinonacetat (17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-3,20-dion) mit einer allerdings schwerwiegenden Ausnahme alle Eigenschaften von Digitalisverbindungen auf: statt der zu erwartenden positiv-inotropen Wirkung erzeugt das Steroid über einen unbekannten Mechanismus einen negativ-inotropen Effekt, der sogar die Digitaliswirkung aufhebt (F. S. LaBella et al., Fed. Proc. **44** [1985], 2806). Den cardiodepressiven Effekt haben die Autoren mit der Planarität des Molekülgerüsts in Zusammenhang gebracht, so daß sie gegenwärtig Derivate mit gekrümmter Steroidgeometrie (A/B- und C/D-cis-Verknüpfung) zu synthetisieren suchen.
Wir haben diese Interpretation als unzureichend erkannt und vorausgesehen, daß die negativ-inotrope Wirkung von Chlormadinoacetat wie die andere Steroide (R. Thomas et al., Circ. Res. **46** [Suppl. I], 167 [1980]) aus einem Eingriff in intrazelluläre Prozesse resultiert. Daher war es von großem Interesse, die Herzwirksamkeit von Glykosiden des Chlormadinolacetats zu untersuchen, die auf Grund ihrer höheren Polarität nicht oder nur relativ wenig durch die lipoide

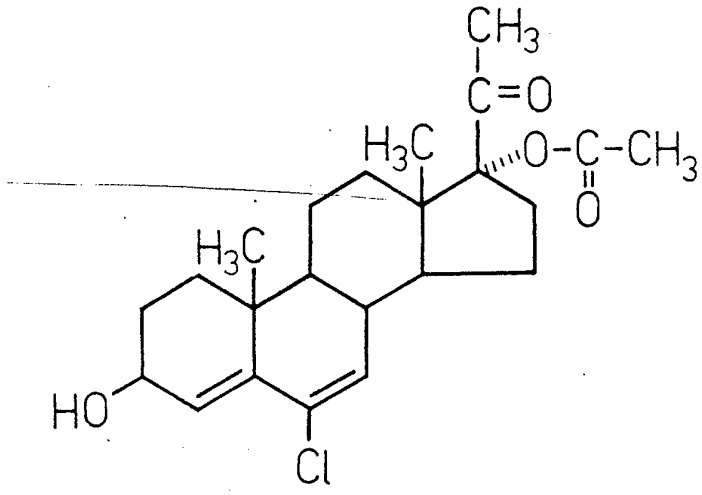
Zellmembran in die Zelle eindringen können. Das ist für die Auslösung der positiv-inotropen (therapeutischen) Wirkung nicht erforderlich, da der molekulare Angriffspunkt am Rezeptorenzym, dessen Besetzung die Wirkung auslöst, auf der Außenseite der Zellmembran lokalisiert ist (P. Hess und P. Müller, J. Physiol. **322** [1982], 197).
Zur erstmaligen Synthese von Verbindungen der allgemeinen Formel I kommen Verfahren in Betracht, wie sie zur Herstellung von Cardenolid-O-glykosiden bekannt sind. So ist die Glykosidierungsmethode von L. Brown et al. (Arzneimittelforsch./Drug Res. **31** [1981], 1059) mit gutem Erfolg eingesetzt worden. Die von denselben Autoren empfohlene Entacylierungsmethode mittels Triethylamin/Methanol/Wasser (20:20:1) ist auf Grund eigener Erfahrungen zur Entacylierung der erfindungsgemäßen Glykosidacylate ungeeignet, da Sekundärreaktionen eintreten. Chlormadinolacetat (Formel II) ist durch Reduktion des Chlormadinonacetats zugänglich.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, Verbindungen der allgemeinen Formel I zu synthetisieren.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, erstmalig ein Herstellungsverfahren für Verbindungen der allgemeinen Formel I zu finden.
Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der allgemeinen Formel I hergestellt, indem man 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on (Formel II)



II

in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart von Fétizon-Reagens und gegebenenfalls Quecksilber(II)-cyanid sowie Quecksilber(II)-bromid mit acylierten Zuckerhaliden bei Raumtemperatur umsetzt und die erhaltenen O-Glykosidacylate der Verbindungen der allgemeinen Formel I, gegebenenfalls nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel, entacyliert. Als Lösungsmittel werden z. B. Benzen oder Toluen oder Gemische davon eingesetzt. Gegebenenfalls kann der Reaktionsmischung ein wasserbindendes Mittel, z. B. Calciumhydrid, Molekularsieb 4 Å oder Wolfen-Zesorb 4 Å, zugesetzt werden.
Die Entacylierung der Verbindungen kann erfolgen, indem man entweder

a) das Produkt in Methylenchlorid löst, ammoniakgesättigtes Methanol im Verhältnis 1:9 hinzugibt und die Lösung mehrere Tage, vorzugsweise 8 Tage, bei niederen Temperaturen, vorzugsweise +2 bis +8°C, stehenläßt oder
b) das Produkt in Methanol löst, wäßrige Kaliumhydrogencarbonatlösung hinzufügt und die Reaktionsmischung auf Temperaturen zwischen +40°C und der Siedetemperatur des Lösungsmittels, vorzugsweise +50 bis +60°C, erwärmt.

Das vollständig entacylierte Produkt wird isoliert und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.
Die so erhaltenen Verbindungen der Formel I zeigen in Bestätigung der oben dargelegten Arbeitshypothese an der Katze in vivo eine dosisabhängige Inotropiesteigerung bis zu 70%. Dabei werden in therapeutischen Dosen bis zu 10^{-7} mol/kg Herzfrequenz und peripherer Blutdruck nur gering gesteigert. Auch bei Dosiserhöhung treten im Gegensatz zu Digitoxin keine Arrhythmien auf. Ein Vergleich mit Digitoxin zeigt, daß beispielsweise das Verhältnis der wirksamen Dosen Digitoxin zu 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-α-L-arabinofuranosid (Formel I, X = α-L-Arabinofuranosyl) etwa 1:10 beträgt.
Das zur Glykosidierung eingesetzte Aglykon (Formel II) weist im Vergleich dazu bei einer Dauerinfusion von $5 \cdot 10^{-7}$ mol/kg · min am Meerschweinchen in vivo eine negativ-inotrope Wirkung auf. Auch an der Katze (narkotisiert) zeigt das zur Glykosidierung eingesetzte Aglykon eine negativ-inotrope Wirkung.
Mit den hier beschriebenen Verbindungen der allgemeinen Formel I werden erstmalig Steroidglykoside bereitgestellt, die potentiell zur Steigerung der Herzmuskelleistung bei Herz-Kreislauf-Insuffizienz geeignet sind und die möglicherweise auf Grund ihrer fehlenden strukturellen Verwandschaft zu den Digitalisverbindungen eine überlegene therapeutische Breite (größeren Dosierungsspielraum) aufweisen.
Das Verfahren wird durch die folgenden Ausführungsbeispiele beschrieben, ohne dadurch eingeschränkt zu werden:

Beispiel 1

1. 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-(2,3,5-tri-O-benzoyl-α-L-arabinofuranosid)

In einem 250-ml-Reaktionskolben werden unter Magnetrührung 407 mg (1 mmol) 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on in 77 ml trocknem Toluen gelöst. Dazu gibt man 7,7 g (13,4 mmol) Fétizon-Reagens (hergestellt nach V. Balogh et al., J. Org. Chem. **36** [1971], 1339), 386 mg (1,08 mmol) $Hg(CN)_2$ und 385 mg (1,54 mmol) $HgBr_2$. Es werden 480,9 mg (3,3 mmol) Tri-O-benzoyl-α-L-arabinofuranosylchlorid (hergestellt nach A. K. B. Bhattacharya et al., J. Org. Chem. **28** [1963], 428; G. Wagner und D. Göbel, Pharmazie 28 [1973], 184) in 15 ml trocknem Toluen gelöst und unter Ausschluß von Feuchtigkeit und Licht sowie unter Magnetrührung innerhalb von 5 min bei Raumtemperatur zugetropft. Danach wird der Ansatz noch 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird über Celite z. Analyse klar filtriert. Das Filtrat wird dreimal mit jeweils 50 ml gesättigter $NaHCO_3$-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird an 80 g Kieselgel H für die Dünnschichtchromatographie (Merck) mit Chloroform als Elutionsmittel säulenchromatographisch gereinigt. Die das Zielprodukt enthaltende Fraktion wird im Vakuum zur Trockne verdampft und aus wenig Methanol umkristallisiert. Das Produkt ist dünnschichtchromatographisch rein (R_f 0,16; Laufmittel Chloroform; DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F_{254}; der Firma Merck).

Ausbeute: 454 mg (53 % d. Th.). Farblose Kristalle vom F. 109–112 °C (unscharf).

Massenspektrum: m/z 850 (M^+), 790 ($M^+ - CH_3COOH$), 775 [$M^+ - (CH_3COOH, CH_3)$], 749, 728 ($M^+ - C_6H_5COOH$), 668 [$M^+ - (CH_3COOH, C_6H_5COOH)$], 445 (Tribenzoylarabinofuranosyl), 405 (Aglykon — H).

2. 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-α-L-arabinofuranosid

453 mg des nach 1. erhaltenen Tribenzoats werden unter Ausschluß von Feuchtigkeit in 9 ml trockenem Methylenchlorid gelöst. Dazu gibt man 90 ml trocknes Methanol, das in der Kälte mit Ammoniak gesättigt wurde. Das Gemisch wird 8 Tage bei +3 bis +6 °C aufbewahrt. Der Verlauf der Entbenzoylierung wird dc (Laufmittel: Chloroform/Methanol = 19:1) kontrolliert. Der R_f-Wert des Zielprodukts beträgt 0,18. Nach vollständiger Entbenzoylierung wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand an 20 g Kieselgel H für die Dünnschichtchromatographie (Merck) mit Chloroform als Laufmittel säulenchromatographisch gereinigt. Nach dc Kontrolle werden die das Zielprodukt enthaltenden Fraktionen zusammengefaßt, im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit sehr wenig trockenem Diethylether behandelt.

Ausbeute: 149 mg (52 % d. Th.).

F. 220–223 °C.

R_f = 0,18 (Laufmittel: Chloroform/Methanol = 19:1).

Strukturbeweis: 0,5 mg Glykosid werden mit 0,013 IE α-L-Arabinofuranosidase (Aspergillus niger K1) (Enzymisolierung nach A. Kaji und K. Tagawa, Biochim. Biophys. Acta **207** [1970], 456) in 0,15 ml Natriumphosphatpuffer (*p*H 6,1) in 60 min bei 37 °C zu 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on (R_f 0,5; Laufmittel: Chloroform/Methanol = 19:1) und L-Arabinose gespalten.

Beispiel 2

1,02 g (2,5 mmol) 17α-Acetoxy-6-chlor-3β-hydroxy-pregna-4,6-dien-20-on werden in 200 ml trockenem Toluen gelöst und bei Raumtemperatur unter Magnetrührung sowie unter Ausschluß von Feuchtigkeit und Licht mit 2 g Calciumhydrid und 19,3 g (33,5 mmol) Fétizon-Reagens versetzt. Innerhalb von 10 min gibt man eine Lösung von 4,45 g (8,25 mmol) 2,3,4-Tri-O-benzoyl-α-L-rhamnopyranosylbromid (hergestellt nach R. K. Ness et al., J. Amer. chem. Soc. **73** [1951], 296) in 80 ml trocknem Toluen tropfenweise zu. Anschließend wird die Reaktionsmischung noch 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingeengt.

Zur Entbenzoylierung wird das Rohprodukt in 180 ml Methanol gelöst, im Wasserbad auf 60 °C erwärmt und mit 20 ml einer 20%igen wäßrigen Kaliumhydrogencarbonatlösung versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 2 h (DC-Kontrolle) wird das Lösungsmittel im Vakuum verdampft, der Rückstand in Essigsäureethylester aufgenommen und mit Wasser neutral gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, eingeengt und an 100 g Kieselgel 60 (70–320 mesh; Merck) chromatographiert. Elution mit Chloroform/Ethanol (9:1) liefert 469 mg (34 % d. Th.) 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-α-L-rhamnopyranosid. Umkristallisation von Aceton/Hexan ergibt farblose Kristalle vom F. 207–209 °C.

R_f = 0,51 (Laufmittel: Chloroform/Methanol = 8:2).

Massenspektrum (Hochauflösung): m/z 534,2389 ($C_{29}H_{39}O_7Cl$; $M^+ - H_2O$), 406,1915 ($C_{23}H_{31}O_4Cl$; Aglykon), 147,0663 ($C_6H_{11}O_4$; Rhamnopyranosyl).

Testung der Verbindungen

Die nach dem erfindungsgemäß beschriebenen Verfahren hergestellten Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigen überraschenderweise an der Katze in vivo kardiotone Wirkungen (Tab. 1–4, Abb. 1).

Beispielsweise steigert 17α-Acetoxy-6-chlor-pregna-4,6-dien-20-on-3β-O-α-L-arabinofuranosid (Formel I, X = α-L-Arabinofuranosyl, Kurzbezeichnung ZIK 343) dosisabhängig signifikant die Herzkontraktilität narkotisierter Katzen bis zu 70% (Tab. 1, Abb. 1). Digitoxin wirkt zwar in 10fach niedrigerer Dosierung positiv inotrop, indem es dp/dt_{max} bis zu ca. 40% steigert, aber schon ab $1{,}12 \cdot 10^{-8}$ mol/kg Digitoxin traten bei 2 von 6 Tieren Arrhythmien auf, die sich bei weiterer Dosiserhöhung verstärkten.

Nach $6{,}32 \cdot 10^{-8}$ mol/kg Digitoxin zeigten schon 5 von 6 Katzen irreversible Arrhythmien, die ad exitum führten. Aus diesen Gründen sind auch die Inotropiesteigerungen von Digitoxin nicht mehr signifikant.

Die Herzfrequenz (Tab. 2) wird von ZIK 343 in den niedrigen Dosierungen, die die Herzkontraktilität schon bis zu 50% steigern, nur gering und der periphere Blutdruck (Tab. 3 und 4) nicht signifikant beeinflußt, was für Kardiotonika sehr vorteilhaft ist, da die Nachlast des Herzens nicht erhöht wird. Bei Dosiserhöhung steigen nur die Herzfrequenz und der systolische Blutdruck signifikant an. Digitoxin hat zwar keinen Einfluß auf die Herzfrequenz, steigert aber in allen Dosierungen den peripheren Blutdruck signifikant höher.

Unter der Behandlung von ZIK 343 wurden auch bei den höchsten Dosierungen keine Arrhythmien beobachtet.

Im Vergleich zu den, nach dem erfindungsgemäß beschriebenen Verfahren hergestellten Verbindungen der Formel I zeigt der zur Glykosidierung eingesetzte Ausgangsstoff (Formel II, Kurzbezeichnung 75–201) bei der Prüfung an narkotisierten Katzen keine kardiotone Wirkung (Tab. 1 bis 4). Sie wirkt sogar mit steigender Dosierung negativ inotrop.

Auch an narkotisierten Meerschweinchen senkt 75–201 bei Dauerinfusion die Herzkontraktilität. Bei einer Dosierung von $5 \cdot 10^{-7}$ mol/kg · min verenden die Meerschweinchen nach 30 min und bei der geringeren Dosierungsgeschwindigkeit von $2{,}5 \cdot 10^{-7}$ mol/kg · min nach ca. 60 min Infusionsdauer. Auch Bolusinjektionen von 75–201 zeigten an Meerschweinchen keine kardiotone Wirkung.

Tabelle 1: Prozentuale Änderung der Herzkontraktilität (dp/dt_{max}) an Katzen nach i.v. Bolusapplikation von ZIK 343 und 75-201 im Vergleich zu Digitoxin

	Digitoxin		ZIK 343		75–201	
	n	$\bar{x} \pm$ s.d.	n	$\bar{x} \pm$ s.d.	n	$\bar{x} \pm$ s.d.
Ausgangswerte (Torr · s^{-1})	6	3300 ± 1530	6	2500 ± 690	3	4800 ± 2080
Dosis (mol/kg)		$\bar{x}$% ± s.d.		$\bar{x}$% ± s.d.		$\bar{x}$% ± s.d.
$2{,}00 \cdot 10^{-9}$	6	$16 \pm 13^{++}$	—	—	—	—
$3{,}56 \cdot 10^{-9}$	6	18 ± 22	—	—	—	—
$6{,}32 \cdot 10^{-9}$	6	$29 \pm 15^{+}$	—	—	—	—
$11{,}24 \cdot 10^{-9}$	6	$40 \pm 26^{+}$	—	—	—	
$2{,}00 \cdot 10^{-8}$	6	$41 \pm 38^{+}$	6	$17 \pm 9^{++}$	3	−2 ± 15
$3{,}56 \cdot 10^{-8}$	5	71 ± 72	6	$29 \pm 18^{+}$	3	6 ± 39
$6{,}32 \cdot 10^{-8}$	3	100 ± 71	5	33 ± 32	3	−8 ± 17
$11{,}24 \cdot 10^{-8}$	—	—	6	$49 \pm 33^{+}$	3	−8 ± 17
$2{,}00 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$72 \pm 48^{+}$	3	$-24 \pm 16^{+}$
$3{,}56 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$57 \pm 40^{+}$	3	$-37 \pm 6^{++}$

Tabelle 2: Prozentuale Änderung der Herzfrequenz (HFR) an Katzen nach i.v. Bolusapplikation von ZIK 343 und 75-201 im Vergleich zu Digitoxin

	Digitoxin		ZIK 343		75-201	
	n	$\bar{x} \pm$ s.d.	n	$\bar{x} \pm$ s.d.	n	$\bar{x} \pm$ s.d.
Ausgangswerte (Schlag · min^{-1})	6	166 ± 41	6	146 ± 23	3	176 ± 29
Dosis (mol/kg)		$\bar{x}$% ± s.d.		$\bar{x}$% £ s.d.		$\bar{x}$% ± s.d.
$2{,}00 \cdot 10^{-9}$	6	$2 \pm 1^{+}$	—	—	—	—
$3{,}56 \cdot 10^{-9}$	6	4 ± 4	—	—	—	—
$6{,}32 \cdot 10^{-9}$	6	3 ± 6	—	—	—	—
$11{,}24 \cdot 10^{-9}$	6	3 ± 9	—	—	—	—
$2{,}00 \cdot 10^{-8}$	6	2 ± 14	6	$4 \pm 2^{+}$	3	2 ± 4
$3{,}56 \cdot 10^{-8}$	5	4 ± 18	6	$7 \pm 5^{+}$	3	8 ±
$6{,}32 \cdot 10^{-8}$	3	13 ± 9	6	$8 \pm 8^{+}$	3	2 ± 4
$11{,}24 \cdot 10^{-8}$	—	—	6	$17 \pm 14^{+}$	3	3 ± 4
$2{,}00 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$21 \pm 19^{+}$	3	0 ± 6
$3{,}56 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$29 \pm 18^{+++}$	3	−9 ± 13

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x} \pm$ s.d. = Mittelwert mit Standardabweichung

$\bar{x}$% ± s.d. = Prozentuale Änderung zum Ausgangswert mit Standardabweichung

t-Test mit $\alpha < 0{,}05$ (+), 0,02 (++), 0,01 (+++)

Tabelle 3: Prozentuale Änderung des systolischen peripheren Blutdruckes (P_s) an Katzen nach i. v. Bolusapplikation von ZIK 343 und 75-201 im Vergleich zu Digitoxin

	Digitoxin		ZIK 343		75-201	
	n	$\bar{x} \pm$ s. d.	n	$\bar{x} \pm$ s. d.	n	$\bar{x} \pm$ s. d.
Ausgangswerte (Torr)	6	139 ± 22	6	126 ± 20	3	142 ± 18
Dosis (mol/kg)		$\bar{x}\% \pm$ s. d.		$\bar{x}\% \pm$ s. d.		$\bar{x}\% \pm$ s. d.
$2{,}00 \cdot 10^{-9}$	6	$6 \pm 5^{+}$	—	—	—	—
$3{,}56 \cdot 10^{-9}$	6	$10 \pm 8^{++}$	—	—	—	—
$6{,}32 \cdot 10^{-9}$	6	$13 \pm 12^{+}$	—	—	—	—
$11{,}24 \cdot 10^{-9}$	6	$19 \pm 11^{+++}$	—	—	—	—
$2{,}00 \cdot 10^{-8}$	6	$22 \pm 12^{+++}$	6	2 ± 12	3	-2 ± 11
$3{,}56 \cdot 10^{-8}$	5	$35 \pm 23^{+++}$	6	4 ± 9	3	3 ± 17
$6{,}32 \cdot 10^{-8}$	3	44 ± 30	6	5 ± 8	3	4 ± 15
$11{,}24 \cdot 10^{-8}$	—	—	6	$11 \pm 10^{+}$	3	1 ± 14
$2{,}00 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$14 \pm 9^{++}$	3	-4 ± 15
$3{,}56 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	$17 \pm 11^{+++}$	3	-13 ± 14

Tabelle 4: Prozentuale Änderung des diastolischen peripheren Blutdruckes (P_d) an Katzen nach i. v. Bolusapplikation von ZIK 343 und 75-201 im Vergleich zu Digitoxin

	Digitoxin		ZIK 343		75-201	
	n	$\bar{x} \pm$ s. d.	n	$\bar{x} \pm$ s. d.	n	$\bar{x} \pm$ s. d.
Ausgangswerte (Torr)	6	102 ± 20	6	94 ± 16	3	87 ± 6
Dosis (mol/kg)		$\bar{x}\% \pm$ s. d.		$\bar{x}\% \pm$ s. d.		$\bar{x}\% \pm$ s. d.
$2{,}00 \cdot 10^{-9}$	6	6 ± 7	—	—	—	—
$3{,}56 \cdot 10^{-9}$	6	$9 \pm 7^{++}$	—	—	—	—
$6{,}32 \cdot 10^{-9}$	6	$14 \pm 10^{+}$	—	—	—	—
$11{,}24 \cdot 10^{-9}$	6	$16 \pm 10^{++}$	—	—	—	—
$2{,}00 \cdot 10^{-8}$	6	$20 \pm 10^{+++}$	6	4 ± 15	3	1 ± 12
$3{,}56 \cdot 10^{-8}$	5	$34 \pm 18^{+++}$	6	2 ± 12	3	8 ± 18
$6{,}32 \cdot 10^{-8}$	3	43 ± 39	6	2 ± 7	3	8 ± 22
$11{,}24 \cdot 10^{-8}$	—	—	6	11 ± 12	3	4 ± 23
$2{,}00 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	14 ± 14	3	4 ± 23
$3{,}56 \cdot 10^{-7}$	—	—	6	15 ± 17	3	-4 ± 17

n = Anzahl der Tiere
$\bar{x} \pm$ s. d. = Mittelwert mit Standardabweichung
$\bar{x}\% \pm$ s. d. = Prozentuale Änderung zum Ausgangswert mit Standardabweichung
t-Test mit $\alpha < 0{,}05$ (+), 0,02 (++), 0,01 (+++)

Abbildung 1: Dosis-Wirkungsbeziehungen an Katzen

Bolus i.v.

