

- 2 MAY 1970



376173

SECCION TECNICA

CLASIFICACION

CLASE 607 AG1

SUBCLASE C A

No. 376.173

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: ELI LILLY AND COMPANY.

RESIDENCIA: 307 East McCarty Street,

INDIANAPOLIS, Indiana, USA.

ENUNCIADO: "UN METODO PARA LA PREPARACION DE ACI-

DOS 6,7-METILENDIOXI 4(1H)-OXOCINNOLIN-

3-CARBOXILICOS".

Prioridad: Patente estadounidense n.º 796.546 del 4.2.69
" estadounidense " 888.880 " 29.12.69

ML.

-1-

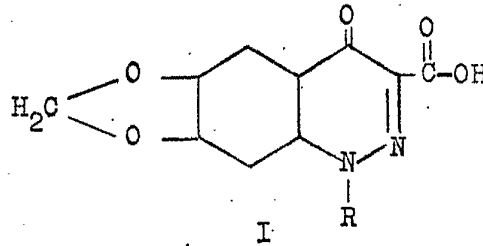
**POOR
QUALITY**

376173

1

Este invento se refiere a procedimientos para la producción de nuevos compuestos antimicrobianos que son ácidos 6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílicos 1-sustituídos con alquilo inferior o alquénilo, de la siguiente estructura:

5

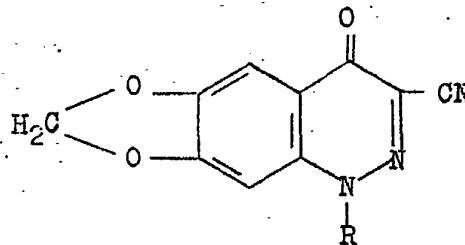


10

donde R es un miembro del grupo formado por metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, vinilo y alilo.

Adicionalmente, este invento también se refiere a la producción de compuestos intermedios empleados en la preparación de estos ácidos carboxílicos, incluido un compuesto de la siguiente fórmula:

15



donde R es metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, β-hidroxi-etilo o alilo.

25

Los nuevos compuestos del presente invento pueden prepararse según una síntesis en varias etapas comenzando con el compuesto conocido, 2'-nitro-4',5'-metilendioxiacetofenona. El material de partida anterior es reducido en un agitador de hidrogenación Parr, utilizando dióxido de platino como catalizador, a unas 50 psi (libras por pulgada cuadrada) (3,5 kg/cm²) y a una temperatura de unos

30

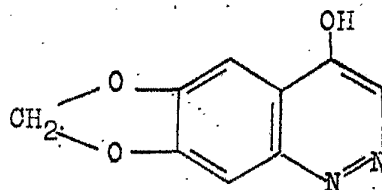


376173

2 MAY 1945

1 30-40°C, para formar el nuevo compuesto, 2'-amino-4',5'-
metilendioxiacetofenona. Los expertos en la técnica obser-
varán que también pueden emplearse otros catalizadores,
5 como paladio sobre carbón o níquel Raney, a presiones y
temperaturas diferentes de las mencionadas; o bien que la
reducción también puede ser efectuada utilizando un proce-
so de reducción química adecuado.

La segunda etapa de la secuencia de reacción con-
siste en diazotar y cerrar el anillo en el compuesto amí-
nico para formar un derivado de cinnolina por diazotación
10 de la aminoacetofenona con una cantidad equivalente de un
nitrito generador de ácido nitroso, en presencia de un ex-
ceso en moles de 5 a 10 veces de una solución de ácido
clorhídrico a una temperatura de 0°C o más baja, cerrando
15 después el anillo durante un periodo de 3 a 24 horas a una
temperatura de 0-80°C, siendo las condiciones de reacción
preferidas de 3-4 horas a 80°C. La reacción da lugar al
6,7-metilendioxicinnolin-4-ol conocido [Schofield and
Simpson, J. Chem. Soc., 519 (1945)] de fórmula:



25 El derivado de cinnolina puede ser bromado con bro-
mo en presencia de una cantidad aproximadamente equimolecu-
lar de acetato potásico empleando un exceso en moles de 5
a 10 veces de ácido acético, a la temperatura de reflujo
de la mezcla de reacción. El nuevo compuesto resultante,
30 3-bromo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol, se convierte en



2 MAY 1972

376173

1
5
10
15
20
25
30

6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo por tratamiento del bromo-derivado con cianuro cuproso en una proporción comprendida entre aproximadamente equimolecular y un exceso en moles del doble. Generalmente la reacción se efectúa con un exceso en moles de 5 a 20 veces de dimetilformamida, a la presión atmosférica, durante 4 a 24 horas y a una temperatura comprendida aproximadamente entre 50°C y la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción, preferiblemente a las temperaturas de reflujo durante 4 a 6 horas. La alquilación del 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con un bromuro, cloruro, yoduro o sulfato de metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo o alilo, puede efectuarse según procedimientos conocidos en un disolvente orgánico polar, por ejemplo un alcohol C₂ a C₈, un alcanodiol C₂ a C₄, dietilenglicol, trietilenglicol, dimetilformamida, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona y similares, en presencia de un reactivo básico, para producir los correspondientes 1-metil, etil, n-propil, isopropil, n-butil o alquil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilos de este invento.

La etapa final de la síntesis comprende la hidrólisis del carbonitrilo al ácido carboxílico correspondiente. La hidrólisis puede efectuarse convenientemente con un ácido o con una base. El procedimiento preferido consiste en hidrolizar con ácido clorhídrico concentrado en un medio de reacción de ácido acético en el que el ácido clorhídrico y el ácido acético se encuentran presentes en una relación molar comprendida entre 1:4 y 4:1 y la concentración del ácido acético con respecto al nitrilo se encuentra en una relación molar comprendida entre 5:1 y 20:1.

376173

1 El ácido 1-vinil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinno-
lin-3-carboxílico se prepara por alquilación de 6,7-meti-
lendioxi-cinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con 1-bromo-2-hidro-
xietano para formar 1-(β -hidroxietil)-6,7-metilendioxi-4(1H)-
5 oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidrólisis del carbonitrilo
alquilado al correspondiente ácido carboxílico, como ya se
ha descrito. El ácido 1-(β -hidroxietil)-6,7-metilendioxi-
4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico es esterificado después
utilizando cloruro de p-toluensulfonilo en piridina para
10 formar el tosilato. Por eliminación del tosilato empleando
una base fuerte, como etóxido sódico en etanol anhidro, se
obtiene el ácido 1-vinil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinno-
lin-3-carboxílico deseado. También se pueden emplear otros
15 métodos adecuados para efectuar la eliminación de los ele-
mentos del agua del sustituyente β -hidroxietilo. Se cono-
cen numerosos métodos de este tipo en la técnica.

También están incluidos dentro de los límites de es-
te invento las sales de los ácidos 1-alkil inferior o
alquenil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílicos
20 antes descritos con los metales alcalinos como litio, sodio
y potasio; las sales de metales alcalino-térreos como mag-
nesio, calcio, estroncio y bario, sales de amonio y sales
de aminas con un pK_a superior a 7,5, por ejemplo trietil-
amina, pirrolidina y similares. Las sales se pueden formar
25 haciendo reaccionar el ácido libre con una base adecuada,
una sal básica o una amina, por ejemplo bicarbonato sódico,
carbonato cálcico, hidróxido amónico, trietilamina y simi-
lares. Entre las sales preferidas se encuentran las de so-
dio, potasio, calcio y amonio.

30 Los ácidos 6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-car-



376173

1

boxílicos 1-sustituídos y sus sales son sólidos cristalinos de elevado punto de fusión, esencialmente blancos. Los ácidos libres son solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos polares, mientras que las sales de un catión monovalente son solubles en los disolventes acuosos.

5

El invento es mejor ilustrado mediante los siguientes ejemplos:

EJEMPLO 1

Preparación de 2'-amino-4',5'-metilendioxiacetofenona

10

Se suspenden alrededor de 90 g (0,43 moles) de 2'-nitro-4',5'-metilendioxiacetofenona en unos 300 ml de etanol absoluto y se agregan 200 mg de dióxido de platino. La mezcla se introduce en un agitador de hidrogenación Parr y se reduce con hidrógeno a 50 psi (3,5 kg/cm²), a una temperatura de 30-40°C, durante 3 ó 4 horas hasta que se observa que ha cesado la absorción de hidrógeno. El disolvente se separa por evaporación a vacío de la mezcla de reacción y el residuo se recoge en 500 ml de cloroformo caliente. Se filtra la mezcla y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo se recrystaliza en una mezcla 80:20 de etanol y agua dando alrededor de 70 g de cristales de color pardo amarillento de 2'-amino-4',5'-metilendioxiacetofenona con un punto de fusión de 167-168°C aproximadamente. El rendimiento es del 90,7 %.

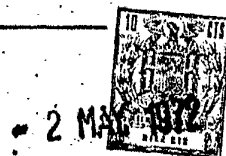
15

20

25

Análisis para C₉H₉NO₃: Peso molecular, 179;
Calculado: C, 60,33; H, 5,06; N, 7,82
Encontrado: C, 60,60; H, 5,33; N, 7,75.

30



376173

EJEMPLO 2

Preparación de 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol

1
5
10
15
20

Se agregan alrededor de 70 g (0,41 moles) de 2'-amino-4',5'-metilendioxiacetofenona sobre 800 ml de ácido clorhídrico concentrado, a la temperatura ambiente. La solución resultante se enfría a 0°C y se añade gota a gota una solución de 35 g (0,5 moles) de nitrito sódico en 100 ml de agua, mientras se mantiene la temperatura a 0°C, con agitación. Se continúa agitando durante 30 minutos después de haber completado la adición de nitrito sódico. La mezcla de reacción resultante se filtra y el filtrado se calienta a 80°C durante 4 horas, se deja enfriar a la temperatura ambiente durante la noche para efectuar la cristalización del producto y se filtra. Los cristales así obtenidos se lavan con agua y después se recrystalizan en 600 ml de una mezcla 80:20 de dimetilsulfóxido y agua. Se obtienen alrededor de 65 g de 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol, en forma de cristales de color castaño claro. El producto funde a unos 338°C con descomposición. El rendimiento es del 83,6%.

Análisis para $C_9H_6N_2O_3$: Peso molecular, 190.

Calculado: C, 56,84; H, 3,18; N, 14,73

Encontrado: C, 56,81; H, 2,93; N, 14,50.

EJEMPLO 3

Preparación de 3-bromo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol

25
30

Se agregan alrededor de 60 g (0,3 moles) de 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol a una solución que contiene 30 g (0,3 moles) de acetato potásico anhidro en 400 ml de ácido acético. La mezcla resultante se calienta a reflujo y se añade gota a gota una solución de 48 g (0,3 moles) de bromo en 100 ml de ácido acético, a lo largo de un periodo de



376173

1 2 horas, con agitación. Una vez completada la adición de
bromo, la mezcla de reacción resultante se agita durante
30 minutos más a reflujo. Se deja enfriar a la temperatura
ambiente la mezcla de reacción y después se vierte sobre
5 1 litro de agua de hielo. El precipitado resultante se re-
cupera por filtración y se lava con 300 ml de solución de
bicarbonato sódico al 5 %. Por recristalización en una mez-
cla 80:20 de dimetilsulfóxido y agua se obtienen 76 g de
10 cristales pardos de 3-bromo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol
que funde a 330°C con descomposición. El rendimiento es del
94,3 %.

Análisis para $C_9H_5BrN_2O_3$: Peso molecular, 269;
Calculado: C, 40,17; H, 1,87; N, 10,41; Br, 29,70
Encontrado: C, 40,31; H, 1,85; N, 10,60; Br, 29,90.

15 EJEMPLO 4

Preparación de 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo

Se agregan alrededor de 100 g (0,37 moles) de 3-bro-
mo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol a una suspensión formada
por 63 g (0,70 moles) de cianuro cuproso en 1100 ml de di-
20 metilformamida seca. La mezcla resultante se calienta a
reflujo durante 4-5 horas, con agitación. Al calentar la
solución se hace homogénea. Una vez completada la reacción,
se forma un precipitado verde denso. La mezcla de reacción
resultante se enfría a la temperatura ambiente y se vierte
25 sobre una solución de 160 g de cloruro férrico, 120 ml de
ácido clorhídrico concentrado y 250 ml de agua. La mezcla
resultante se calienta a 60°C durante 15-20 minutos, se
vierte sobre 2 litros de hielo machacado y se filtra. El
producto amarillo se recristaliza en una mezcla 80:20 de
30 dimetilsulfóxido y agua dando 75 g (93,8 %) de 6,7-metilen-



376173

1 dioxycinnolin-4-ol-3-carbonitrilo en forma de cristales
pardos que funden a 330-340°C con descomposición.

Análisis para $C_{10}H_5N_3O_3$: Peso molecular, 215;

Calculado: C, 55,82; H, 2,34; N, 19,53

5 Encontrado: C, 55,74; H, 3,04; N, 18,63.

EJEMPLO 5

Preparación de 1-etil-6,7-metilendioxi-4-(1H)-oxocinnolin-
3-carbonitrilo

10 Se suspenden unos 70 g (0,36 moles) de 6,7-metilen-
dioxycinnolin-4-ol-3-carbonitrilo en 500 ml de dimetilfor-
mida seca. Se agregan alrededor de 18 g (0,36 moles) de
hidruro sódico seco (preparado por lavado de hidruro sódico
al 50% en aceite mineral con disolvente Skelly B) a la
suspensión antes mencionada, con agitación. La mezcla se
15 vuelve homogénea a medida que se desprende hidrógeno. Cuan-
do cesa el desprendimiento de hidrógeno se añaden gota a
gota unos 63 g (0,40 moles) de yoduro de etilo, a la tempe-
ratura ambiente y con agitación. La agitación se prosigue
durante 1 hora después de haber terminado la adición del
20 yoduro de etilo. La mezcla de reacción resultante se calien-
ta entonces a 100°C durante 2 horas, se enfría a la tempe-
ratura ambiente y se vierte sobre 1 litro de agua de hielo,
acidulando con ácido clorhídrico. El precipitado que se for-
ma se separa por filtración y se recristaliza en una mezcla
25 80:20 de dimetilsulfóxido y agua. Se recuperan 50 g, lo que
supone un rendimiento del 62,5%, de 1-etil-6,7-metilen-
dioxido-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo en forma de crista-
les de color castaño claro que funden a 268-269°C.

Análisis para $C_{12}H_9N_3O_3$: Peso molecular, 243,22;

Calculado: C, 59,26; H, 3,73; N, 17,28

30 Encontrado: C, 59,05; H, 3,74; N, 17,10.



376173-

- 2 MAR 1972

1

Siguiendo el procedimiento anterior y substituyendo el yoduro de etilo allí empleado por bromuro, cloruro, yoduro o sulfato de metilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo o alilo, se obtienen los siguientes compuestos:

5

- 1-metil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo
- 1-n-propil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo
- 1-isopropil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo
- 1-n-butil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo
- 1-alil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo.

10

EJEMPLO 6

Preparación de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico

15

Se agregan unos 23 g (0,095 moles) de 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo a una mezcla de 200 ml. de ácido clorhídrico concentrado y 200 ml de ácido acético. La mezcla de reacción resultante se calienta a reflujo durante 18 horas. Los ácidos en exceso se separan a vacío y el residuo se recoge en 150 ml de una solución de bicarbonato sódico al 5 %. La solución resultante se trata con 5 g de carbón activo y se filtra. El filtrado se acidula mediante la adición de ácido clorhídrico y el precipitado resultante se separa por filtración. Se obtienen 23 g, que representan un rendimiento del 91,6 %, de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico en forma de cristales de color pardo claro que funden a 261-262°C con descomposición.

20

25

Análisis para $C_{12}H_{10}N_2O_5$: Peso molecular, 262;

Calculado: C, 54,96; H, 3,84; N, 10,68

Encontrado: C, 54,77; H, 3,84; N, 10,61.

30

Empleando el procedimiento de hidrólisis anterior

376173

2 MAY 1972



1 con el nitrilo 1-sustituído apropiado, se obtienen los siguientes compuestos:

ácido 1-metil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, p.f. 308°C (desc.).

5 Análisis para $C_{11}H_8N_2O_5$:

Calculado: C, 53,23; H, 3,29; N, 11,29

Encontrado: C, 53,01; H, 3,27; N, 11,59.

ácido 1-n-propil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, p.f. 229-230°C.

10 Análisis para $C_{13}H_{12}N_2O_5$:

Calculado: C, 56,52; H, 4,38; N, 10,14

Encontrado: C, 56,31; H, 4,45; N, 10,36.

ácido 1-isopropil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, p.f. 304-305°C (desc.).

15 Análisis para $C_{13}H_{12}N_2O_5$:

Calculado: C, 56,52; H, 4,38; N, 10,14

Encontrado: C, 56,31; H, 4,29; N, 10,24.

ácido 1-alil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, p.f. 214-215°C.

20 Análisis para $C_{13}H_{10}N_2O_5$:

Calculado: C, 56,93; H, 3,68; N, 10,22

Encontrado: C, 56,68; H, 3,86; N, 10,25.

ácido 1-n-butil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, p.f. 210-211°C.

25 Análisis para $C_{14}H_{14}N_2O_5$:

Calculado: C, 57,93; H, 4,86; N, 9,65

Encontrado: C, 57,71; H, 4,98; N, 9,71.

Los nuevos compuestos de ácido 1-alkil(inferior) o alquilen-6,7-metilendioxi-4(1H)oxocinnolin-3-carboxílico de este invento y sus sales poseen notable actividad anti-

30

376173



1 microbiana. Entre los organismos patógenos para los anima-
 les de sangre caliente contra los que han demostrado una
 importante actividad in vitro se encuentran el Mycoplasma
 5 gallisepticum y las bacterias Gram-negativas Escherichia
coli, Salmonella dublin y Vibrio coli. También se ha en-
 contrado que estos nuevos compuestos son activos contra las
 bacterias patógenas de las plantas Erwinia amylovora, el
 agente causante del añublo de fuego de las manzanas y peras,
 10 Xanthomonas phaseoli, el agente causante del añublo bacte-
 riano común de las judías y Aster yellows, una enfermedad
 de Mycoplasma.

Los nuevos compuestos representativos de este inven-
 to (en forma de sus sales sódicas) tienen las siguientes
 concentraciones mínimas de inhibición (expresadas como mi-
 15 crogramos por mililitro) contra los anteriores organismos
 en el ensayo de dilución en tubo convencional.

TABLA I

Actividad antimicrobiana in vitro

Compuestos	Concentración mínima de inhibición mcg/ml frente a:			
	<u>E. coli</u>	<u>S. dublin</u>	<u>V. coli</u>	<u>M. galli- septicum</u>
Acido 1-etil-6,7-metilen- dioxi-4(1H)-oxocinnolin- 3-carboxílico, sal sódica	12,5	6,25	25,0	3,12
Acido 1-isopropil-6,7-me- tilendioxo-4(1H)-oxocinno- lin-3-carboxílico, sal só- 25 dica	25,0	12,5	50,0	25,0
Acido 1-alil-6,7-metilen- dioxo-4(1H)-oxocinnolin- 3-carboxílico, sal sódica	50,0	12,5	50,0	50,0

También los ácidos 1-alkil(inferior) o alquilen-
 6,7-metilendioxo-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílicos y sus sa-
 30 les son agentes terapéuticos efectivos para las infecciones



1 microbianas en los animales de sangre caliente. Además,
son efectivos por administración oral o parenteral, como
lo demuestran las pruebas realizadas con pollos jóvenes.
Por ejemplo, la sal sódica del ácido 1-etil-6,7-metilen-
5 dioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico se inyecta en el
cuello de pollitos de un día a un nivel de 50 mg por po-
llo aproximadamente. De esta forma se tratan dos grupos
de cinco pollitos. Como controles no tratados se incluyen
dos grupos de cinco pollitos cada uno. Inmediatamente se
10 administran a los cuatro grupos de cinco pollos 0,1 ml
de un cultivo de Salmonella typhimurium por vía intramus-
cular. Al sexto día se determina el número de supervivien-
tes en cada grupo. El número de supervivientes indica la
actividad del compuesto contra el organismo ensayado. Los
15 resultados de este ensayo se encuentran en la Tabla II.
La sal sódica también es administrada por vía oral median-
te la incorporación de 200 g/tonelada de la misma en el
pienso para los pollitos, continuamente desde el momento
de abrirse el huevo. El pienso medicado se proporciona a
20 cuatro grupos de nueve pollitos cada uno. Otros cuatro
grupos de nueve pollitos se alimentan con la misma ración
pero sin el compuesto activo. A cada uno de los ocho gru-
pos de nueve pollitos se administran 50 ml de un caldo de
cultivo de S. typhimurium en lugar de agua para beber,
25 completándose el consumo al cabo de las 24 horas. Al déci-
mo día se determina el número de supervivientes. La acti-
vidad oral del compuesto contra el organismo de ensayo es
indicada por la diferencia en el número de supervivientes
entre los grupos tratados y no tratados. La Tabla III mues-
tra los resultados de este ensayo.

1

5

10

15

20

25

30

2 MAY



376173

TABLA II

Actividad antimicrobiana de la sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, inyectada subcutáneamente en pollitos de un día

Repetición	Tratamiento	Supervivientes (6 días)/Núm. probado
1	Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, 50 mg	4/5
2	"	3/5
Totales		7/10
1a	Controles infectados	0/5
2a	"	0/5
Totales		0/10

TABLA III

Actividad antimicrobiana de la sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, incorporada al pienso de pollos recién nacidos

Repetición	Tratamiento	Supervivientes (10 días)/Núm. probado
1	Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, 200 g/tonelada	6/9
2	"	0/9
3	"	8/9
4	"	5/9
Totales		19/36
1a	Controles infectados	0/9
2a	"	0/9
3a	"	3/9
4a	"	1/9
Totales		4/36

- 2 MAY. 1971



376173

1 Además, mediante la inyección de sal sódica de ácido
2 do 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico
3 en el cuello de pollos para asar de 6 semanas, con un peso
4 de 600 g aproximadamente, se consigue proteger a los pollos
5 tratados contra unas dosis de E. coli. En esta prueba se
6 utilizan 10 grupos de 10 pollos cada uno. Seis de los diez
7 grupos reciben una inyección subcutánea del compuesto acti-
8 vo. Los otros cuatro grupos sirven como controles infecta-
9 dos. Se emplean unas dosis de 50, 100 y 200 mg/kg. Inmedia-
10 tamente después del tratamiento se inyecta el saco de aire
11 de cada pollo con 0,5 ml de una dilución 10^{-1} de un cultivo
12 de caldo de triptosa de 24 horas de una variedad de E. coli,
13 recibiendo la mitad de los grupos la variedad Gross y la
14 otra mitad la variedad Glantz. Siete días después del tra-
15 tamiento, se sacrifican los pollos supervivientes y se les
16 practica la autopsia. En cada uno de los pollos se examinan
17 las lesiones del saco de aire, la presencia de pericardui-
18 tis y la presencia de perihepatitis. Se determina el número
19 medio de lesiones para cada grupo atribuyendo la siguiente
20 escala arbitraria a cada uno de los pollos. 4 = muerte an-
21 tes de la autopsia; 3 = lesión del saco de aire más peri-
22 carditis más perihepatitis; 2 = lesión del saco de aire más
23 pericarditis o perihepatitis; 1 = lesión del saco de aire;
24 0 = ninguna lesión. Se suma el total del grupo y se divide
25 por el número de pollos en cada uno de ellos. Un índice me-
26 dio de lesión de 4,0 significa que todos los pollos murie-
27 ron antes de terminar la prueba, mientras que un índice de
28 0,0 significa que no se produjeron muertes ni se observaron
29 lesiones en la necropsia. La diferencia de magnitud de los
30



376173

1

índices medios de lesión entre los pollos tratados y no tratados indica la actividad del compuesto contra el organismo de ensayo. En la Tabla IV se encuentran los resultados de esta prueba.

5

TABLA IV

Actividad anti-infecciosa de la sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, inyectada subcutáneamente en pollos de 6 semanas

10

<u>Tratamiento</u>	<u>Núm. de pollos en prueba</u>	<u>Variedad de E.coli</u>	<u>Índice medio de lesión</u>
Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, 50 mg/kg	10	Gross	0,9
"	10	Glantz	1,9
Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, 100 mg/kg	10	Gross	1,0
"	10	Glantz	0,6
Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, 200 mg/kg	10	Gross	0,0
"	10	Glantz	0,5
Controles infectados	10	Gross	1,7
"	10	Gross	2,6
"	10	Glantz	1,7
"	10	Glantz	2,3

15

20

25

30

La sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico se disuelve en agua a una concentración de 1000 ppm y a la solución se agrega 0,0175 % en



376173

1 peso/volumen de Toximul R y 0,0175 % en peso/volumen de
 Toximul S (mezclas comerciales de agentes humectantes no
 iónicos y aniónicos suministradas por la Stepan Chemical
 Co., Northfield, Illinois). La solución resultante se pul-
 5 veriza sobre unos perales de 6 años de la variedad Bartlett
 cultivados en huerto, artificialmente inoculados con
Erwinia amylovora (añublo de fuego) hasta que las hojas,
 ramas y troncos están mojados hasta chorrear. La expresión
 de los síntomas de la enfermedad añublo de fuego se detie-
 10 ne.

Puede prepararse un concentrado líquido estable de
 la sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxo-
 cinnolin-3-carboxílico disolviendo de 10 a 50 % en peso/vo-
 lumen, aproximadamente, del agente activo en agua desioni-
 15 zada y agregando a la solución de 1 a 10 % en peso/volumen,
 aproximadamente, de un agente humectante a base de polioxi-
 etilenaalquilfenol (10 moles). Generalmente se incluye en
 la formulación de 1 a 10 % en peso/volumen, aproximadamen-
 te, de una sal de un ligninsulfonato que actúa como agente
 20 de quelatación para los iones de metales pesados encontra-
 dos en el agua utilizada como diluyente en muchas locali-
 dades. Una fórmula representativa está constituida por:

25	Sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilen- dioxo-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico	480 g
	Triton X-100 [polioxietilenoctilfenol, (10 moles), agente humectante]	100 g
	Polyfon H (ligninsulfonato sódico)	100 g
	Agua desionizada, c.s.	1000 ml.

La formulación descrita contiene 4 libras de agente
 activo por galón de concentrado (0,480 kg/litro), una con-
 30



376173

1 centración popular empleada en las formulaciones químicas
agrícolas. Este concentrado líquido se diluye con el agua
disponible hasta una concentración de ingrediente activo
apropiada para el uso pretendido. Por ejemplo, para prepa-
5 rar una solución para pulverización conteniendo alrededor
de 1000 ppm del agente activo, se agrega un cuartillo
(0,946 litros) del concentrado antes descrito a unos 120
galones (454 litros) de agua. La solución resultante se
aplica con un pulverizador a presión a unas 20-100 psi
10 (1,4-7 kg/cm²) a las plantas que han de ser tratadas hasta
que todo el follaje y los tallos están mojados hasta escu-
rrir.

15 Los ácidos 1-alkil(inferior) o alkilen-6,7-metil-
lendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílicos y sus sales pre-
sentan un bajo nivel de toxicidad para los mamíferos. Así,
por ejemplo, no se observan muertes cuando se administra
la sal sódica de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxo-
cinnolin-3-carboxílico, a niveles tan altos como 200 mg/kg
por vía intraperitoneal o de 500 mg/kg por vía oral a rato-
20 nes.

25 Los nuevos compuestos de este invento y sus sales
son efectivos para combatir las infecciones microbianas en
los animales de sangre caliente cuando se administran en
dosis diarias totales comprendidas aproximadamente entre
25 mg y 500 mg/kg de peso corporal.

30 Debido a su mayor solubilidad en agua, estabilidad
química, eficacia sustancial, facilidad de preparación y
adecuación para ser incorporadas a diversas formas de dosi-
ficación farmacéuticas y piensos medicamentosos, se prefie-



376173

1 re en la práctica de este invento el uso de las sales de
metales alcalinos y amónicas de los ácidos 1-alkil(infe-
rior) o alkilen-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-carboxi-
licos.

5 En una realización preferida del presente invento,
el ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-car-
boxílico, en forma de sal, se administra por vía oral en
un pienso adecuado en el que el compuesto se encuentra pre-
sente en una cantidad que oscila aproximadamente entre 25
10 y 2500 g por tonelada de pienso total, dependiendo la con-
centración exacta de la cantidad requerida para proporcio-
nar la ingestión de una dosis efectiva del agente activo
cuando se consumen las cantidades normales de pienso. La
adición de los compuestos de este invento al pienso se rea-
15 liza preferiblemente preparando una mezcla previa apropiada
de pienso e incorporando esta mezcla previa a la ración
completa. Alternativamente, puede mezclarse con el pienso
un concentrado intermedio o un suplemento que contenga el
compuesto.

20 La preparación de una mezcla previa de pienso ade-
cuada puede efectuarse moliendo los compuestos de este in-
vento hasta formar un polvo y mezclándolos con un vehículo
adecuado como alfalfa molida, harina de soja extraída con
25 disolvente, harina de maíz, hidrobiotita exfoliada y vehí-
culos similares. La mezcla previa así preparada se combina
después con cualquier ración de pienso que haya de ser ad-
ministrada al animal en el momento de administrar los com-
puestos de este invento. La mezcla previa de pienso puede
30 ser diluida en primer lugar con un suplemento alimenticio



376173

1 o con un concentrado de pienso hasta la concentración deseada de compuesto activo y el suplemento o concentrado medicamentoso puede ser administrado simultáneamente con el resto de la ración o puede ser mezclado con el pienso final.

5 Otro procedimiento posible para la preparación de la mezcla previa consiste en disolver el compuesto activo en un disolvente adecuado como agua o preparar una suspensión del compuesto en un vehículo apropiado, por ejemplo un aceite vegetal comestible o un glicol comestible y agregar esta solución o suspensión al vehículo de la mezcla previa pulverizando sobre el vehículo y mezclando adecuadamente.

10 Los ácidos 1-alkil(inferior) o alquilen-carboxílicos y sus sales pueden ser administrados como dosis única o en dosis divididas, por vía oral o parenteral. Cuando está indicada una forma de dosis parenteral, el agente activo puede disolverse en un vehículo acuoso a una concentración comprendida aproximadamente entre 25 y 200 mg/ml, siendo la concentración exacta función de la dosis efectiva requerida de agente activo y del volumen de solución total que puede ser inyectado convenientemente al animal.

15 Los nuevos compuestos de este invento también pueden ser administrados por vía oral en una de las formas de dosificación oral habituales; por ejemplo, cápsulas rellenas, líquidos, suspensiones, comprimidos y similares. Estas formas de dosificación oral contienen habitualmente la cantidad deseada del compuesto activo junto con cargas, aglutinantes, disolventes, vehículos, preservativos y otros excipientes apropiados. Ilustrativamente, el ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico puede prepararse en forma de tabletas adecuadas para administración oral.

20
25
30

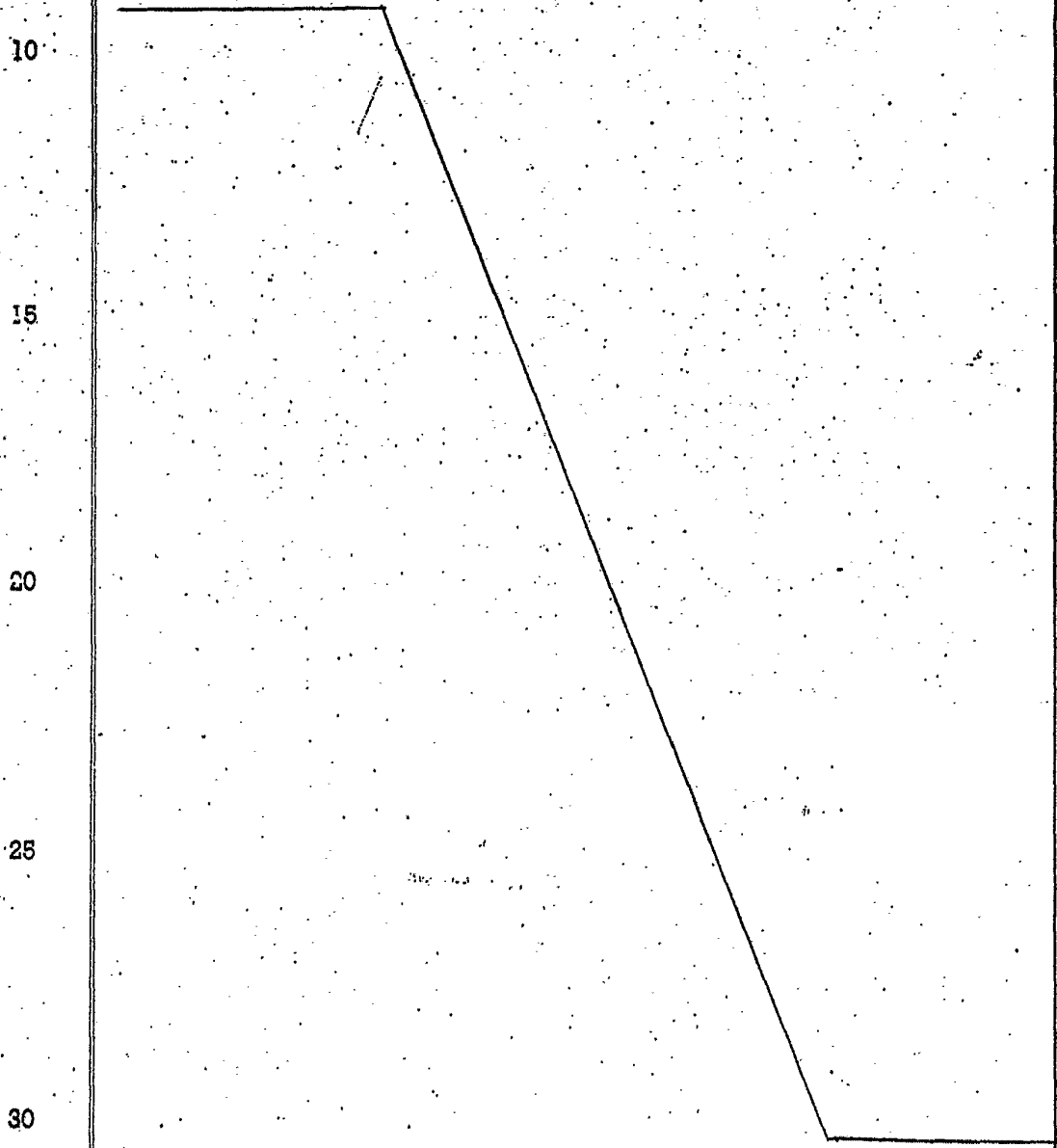
- 2 MAY 1952



376173

1 mediante el siguiente procedimiento: se mezclan 5,0 g de
ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxí-
lico con 22,0 g de lactosa, 2,9 g de almidón y 0,1 g de
5 estearato magnésico y la mezcla se transforma en comprimi-
dos de un tamaño tal que cada uno de ellos contiene 50 mg
de agente activo.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

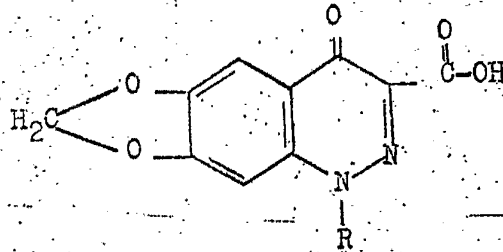




376173

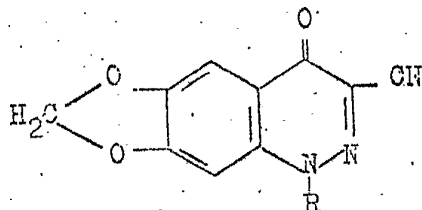
REIVINDICACIONES

1.- Un método para la preparación de ácidos 6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílicos que responden a la siguiente fórmula:



donde R es un miembro del grupo formado por metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, vinilo y alilo, cuyo método consiste en:

- (a) reducir catalíticamente la 2'-nitro-4',5'-metilendioxiacetofenona a 2'-amino-4',5'-metilendioxiacetofenona;
- (b) diazotar la 2'-amino-4',5'-metilendioxiacetofenona con ácido nitroso y ciclar para dar 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol;
- (c) tratar el 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol con bromo para producir 3-bromo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol;
- (d) tratar el 3-bromo-6,7-metilendioxicinnolin-4-ol con cianuro cuproso para formar 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo;
- (e) alquilar el 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con un bromuro, cloruro, yoduro o sulfato de alquilo, alquenilo o β-hidroxietilo para formar un 1-alquil(inferior) o alquilen-6,7-metilendioxi-4-(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo de la siguiente fórmula:



Handwritten signature or scribble in the bottom left corner.

376173



1 donde R es un miembro del grupo formado por metilo, etilo,
n-propilo, isopropilo, n-butilo, β -hidroxietilo y alilo; y
(f) hidrolizar el 1-alquil(inferior) o alquenil-6,7-meti-
lendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo o cuando R
5 es β -hidroxietilo, separar el agua de la porción β -hi-
droxietilo para formar el correspondiente derivado -
1-vinílico, y opcionalmente hacer reaccionar a continua-
ción el compuesto obtenido con un agente seleccionado -
entre el grupo formado por un metal alcalino, un metal
10 alcalino-térreo, amoníaco y aminas con un pK_a superior
a 7,5, para formar las sales catiónicas del compuesto.

2.- Un método según la reivindicación 1, para la pre-
paración de ácido 1-etil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-
-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-metilendioxi-
15 cinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, cloruro, yoduro o
sulfato de etilo para formar un 1-etil-6,7-metilendioxi-
4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidrolizar dicho carboni-
trilo para formar dicho compuesto de ácido carboxílico.

3.- Un método según la Reivindicación 1, para la -
20 preparación de ácido 1-metil-6,7-metilendioxi-4-(1H)oxoci-
nnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-meti-
lendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, cloruro,
yoduro o sulfato de metilo para formar un 1-metil-6,7-me-
tilendioxi-4-(1H)oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidrolizar
25 dicho carbonitrilo para formar el correspondiente compuesto
de ácido carboxílico.

4.- Un método según la Reivindicación 1, para la -
preparación de ácido 1-vinil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxo-
cinnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-me-
tilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, cloru-
30



376173

1 ro, yoduro o sulfato de β -hidroxietilo para formar β -hidro-
xietil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo;
hidrolizar dicho carbonitrilo a ácido 1-(β -hidroxietil)-
6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico; esterifi-
5 car dicho grupo β -hidroxietilo para formar un tosilato con
cloruro de p-toluensulfonilo en piridina y eliminar dicho
grupo tosilato mediante una base fuerte para producir el
compuesto vinílico deseado.

10 5.- Un método según la Reivindicación 1, para la
preparación de ácido 1-(n-propil)-6,7-metilendioxi-4(1H)-
oxocinnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-
metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, clo-
ruro, yoduro o sulfato de n-propilo para formar un n-propil-
6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidro-
15 lizar dicho carbonitrilo para formar el citado compuesto de
ácido carboxílico.

20 6.- Un método según la Reivindicación 1, para la
preparación de ácido 1-alil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxo-
cinnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-
metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, clo-
ruro, yoduro o sulfato de alilo para formar un alil-6,7-
metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidrolizar
dicho carbonitrilo para formar el citado compuesto de ácido
carboxílico.

25 7.- Un método según la Reivindicación 1, para la
preparación de ácido 1-isopropil-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxo-
cinnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-me-
tilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, cloruro,
yoduro o sulfato de isopropilo para formar un isopropil-
30 6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidro-



376173

1 lizar dicho carbonitrilo para formar el citado compuesto de ácido carboxílico.

5 8.- Un método según la Reivindicación 1, para la preparación de ácido 1-(n-butyl)-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxílico, caracterizado por alquilar 6,7-metilendioxicinnolin-4-ol-3-carbonitrilo con bromuro, cloruro, yoduro o sulfato de n-butilo para formar un n-butyl-6,7-metilendioxi-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitrilo e hidrolizar dicho carbonitrilo para formar el citado ácido carboxílico.

10 9.- Se reivindica por último, como objeto sobre el que ha de recaer la patente de invención que se solicita: "UN METODO PARA LA PREPARACION DE ACIDOS 6,7-METILENDIOXI 4(1H)-OXOCINNOLIN-3-CARBOXILICOS".

15 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva, que consta de veinticinco páginas mecanografiadas.

Madrid, 3 de febrero 1.970

BERNARDO UNGRIA

p.p.

20

25

30