

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

19 ABR. 1978

10 ES 11 21 22

NUMERO	457.383	10 A1
FECHA DE PRESENTACION		

PATENTE DE INVENCION

60 PRIORIDADES:		63 PAIS
61 NUMERO	62 FECHA	
672.089	31.3.76	EE.UU. de A.
772.863	28.2.77	EE.UU. de A.

67 FECHA DE PUBLICIDAD	61 CLASIFICACION INTERNACIONAL G07D / A61K	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	---	--------------------------------------

64 TITULO DE LA INVENCION
PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE QUINOXALINAS SUSTITUIDAS.

71 SOLICITANTE (S)
INSTITUTO CHEMIOTERAPICO ITALIANO.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Via Crocefisso, N.12 20122 Milan, Italia.

72 INVENTOR (ES)
Robert Dee Williams., Aldo Garzia.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE
D. JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO.

Esta invención se refiere a un procedimiento de obtención de quinoxalinas sustituidas útiles para combatir la disentería en los cerdos.

5 La disentería en los cerdos (también conocida como disentería vibriónica, diarrea con sangrado o disentería hemorrágica), es una enfermedad entérica caracterizada primariamente por una diarrea muco-hemorrágica con lesiones usualmente restringidas al intestino grueso. La enfermedad es mundial y rápidamente se ha transformado en el problema de enfermedad
10 fundamental entre los productores de cerdos en los Estados Unidos.

El consenso inicial fué que el *Vibrio coli* fué el agente causante primario. La evidencia reciente sugiere sin embargo, que la espiroqueta *Treponema hyodysenteriae* está involucrada con la enfermedad y de hecho puede ser el agente
15 etiológico primario.

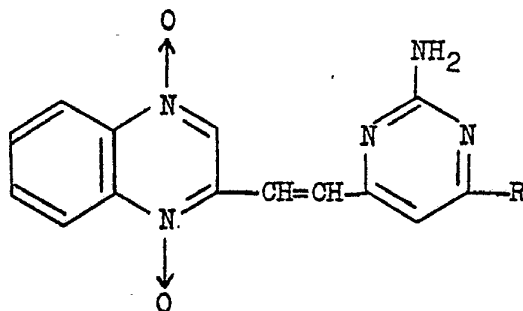
Consecuentemente, las medidas de control están basadas en una alimentación constante de agentes antibacterianos con una terapia basada en el empleo de niveles más elevados de estos medicamentos. Dichos medicamentos incluyen furozolidona, neomicina, oxitetraciclina, tilosina, carbadox, virginiamicina y ácido arsanílico. Desafortunadamente, estos medicamentos dan resultados erráticos aun cuando se utilicen en niveles anormalmente elevados.
20

Consecuentemente, existe una necesidad continuada de nuevos medicamentos de baja toxicidad y de potencia elevada para combatir la disentería en los cerdos.
25

El objeto de esta invención es proporcionar un procedimiento de obtención de quinoxalinas sustituidas útiles para combatir la disentería en los cerdos.
30

Los compuestos obtenidos por el procedimiento de la invención son útiles para incorporarse en composiciones para combatir la disentería en los cerdos, mediante la administración profiláctica o terapéutica de dicha composición a base de quinoxalinas sustituidas, que combate selectivamente los organismos que provocan la disentería en los cerdos, sin afectar dañinamente el resto de los otros organismos deseados en un ambiente, v.gr. en el sistema biológico interno del cerdo, v. gr. la flora intestinal.

El procedimiento de esta invención tiene como fin proporcionar un dióxido de quinoxalina sustituida (denominado a continuación "Compuestos C") representado por la fórmula:



en donde R es hidrógeno o alquilo inferior de 1 a 5 átomos de carbono, v.gr. metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, y similares.

Los compuestos son especialmente útiles para administración profiláctica antes del desarrollo de los síntomas de la disentería.

La administración de uno o varios Compuestos C a los cerdos, en cantidades efectivas, resulta útil para combatir la disentería. Los compuestos C pueden incorporarse ventajosamente

5 te en una ración para el cerdo, para proporcionar una composición de alimento para el cerdo para combatir la disentería. En este aspecto puede incorporarse en las raciones del cerdo, generalmente en un nivel de aproximadamente 25 g/ton a aproximadamente 500 g/ton. El nivel preferido, sin embargo, particularmente en ausencia de la enfermedad es de aproximadamente 100 a 200 g/ton para la profilaxis, ventajosamente durante un periodo de 3 a 21 días. Sin embargo, si existe un ataque de la enfermedad, o si se han introducido a la piara nuevos animales cuya historia no se conoce, se prefiere el nivel más elevado de 200 a 500 g/ton hasta que asegure la salud del cerdo. En términos generales, sin embargo, el tratamiento profiláctico se continua hasta que los animales están listos para el mercado. Los Compuestos C pueden también administrarse mediante la incorporación al agua de bebida que se les da al cerdo.

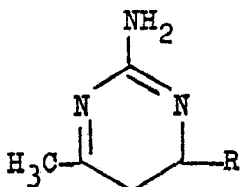
15 Compuestos útiles obtenidos por el procedimiento de la invención, incluyen, pero no se limitan, a:

20 CO-1 1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-4-pirimidinil)etenil]-quinoxalina (este mismo compuesto se ha designado como

1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-3-pirimidinil)etenil]-quinoxalina, y

25 CO-2 1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-6-metil-4-pirimidinil)etenil]-quinoxalina (este mismo compuesto se había designado en la solicitud original como 1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-3-metil-5-pirimidinil)etenil]-quinoxalina.

30 El procedimiento de la invención para preparar dichos compuestos, comprende reaccionar, ventajosamente en una relación de aproximadamente 1: 1, quinoxalina-di-N-óxido-2-carboxialdehído-dimetil acetal y un compuesto representado por la fórmula:



en donde R tiene el mismo significado que se definió anteriormente.

10 La reacción se conduce ventajosamente en presencia de un catalizador de ácido fuerte y un solvente adecuado, v. gr. un ácido alcanóico inferior tal como ácido fórmico o ácido acético. La reacción tiene lugar a temperaturas de reacción suficientes para efectuar la reacción y estas temperaturas pueden variar de la ambiente, v.vr. a 0°C, a temperaturas elevadas, v.gr. a 80°C o más, y preferiblemente v.gr. a de
15 aproximadamente 25° a 50°C o más. Cuando la reacción es completa, v.gr. después de aproximadamente 10 a 24 horas, el producto se recupera ventajosamente recristalizándolo en agua.

20 Los catalizadores adecuados para la práctica de esta invención se conocen generalmente como ácidos fuertes y puede utilizarse cualquier ácido fuerte conocido en la técnica. Incluyen ácidos fuertes adecuados pero no están limitados a los mismos, el ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, ní
25 trico, arilsulfónico, v.gr. ácido toluensulfónico, ácido tricloroacético, etc. Los ácidos generalmente se utilizan en una relación de aproximadamente 0,5-2 moles de ácido por mol de compuesto de quinoxalina de partida.

30 El quinoxalin di-N-óxido de 2-carboxialdehido dimetilacetal utilizado como material de partida para preparar los

compuestos de la presente invención, es conocido en la técnica. Este puede prepararse de conformidad con el procedimiento de Haddadin y otros, Patente Británica 1.305.138, Ejemplo XIII, que se incorpora por referencia a la presente.

5 Los compuestos de pirimidina utilizados como materiales de partida son similarmente conocidos en la técnica. Son comercialmente disponibles y es adecuado el grado comercial usual. Preferiblemente deben ser de buena calidad y deben estar exentos de material dañino.

10 Los Compuestos C son útiles para combatir los organismos que provocan la disentería en los cerdos, v.gr. la disentería causada por los organismos Vibrio o Treponema, o ambos. Los Compuestos C son de un orden inferior de toxicidad y son adecuados para emplearse mediante administración oral para el tratamiento profiláctico o terapéutica de la disentería.

15 Puede prepararse fácilmente una ración para alimento de cerdo para la administración oral de los Compuestos C de conformidad con la invención, mezclando íntimamente un compuesto C sólo o como una premezcla con una composición de alimento para cerdo convencional, para proporcionar un producto alimenticio homogéneo.

20 El término relaciones alimenticias se pretende que signifique el alimento que se le da al cerdo, y no se pretende que la invención se limite en este sentido. Preferiblemente, se mezcla concienzudamente un compuesto C con la ración alimenticia de manera que se dispersa uniformemente a través de la misma. Sin embargo, se contempla también que podría rociarse sobre los suministros de alimento diario en la forma de un polvo o como píldora. De esta manera, no se pretende que la invención se limite a alguna forma de administración particular.

30

La invención se entenderá mejor con referencia a los siguientes ejemplos. Se sobreentiende sin embargo, que los ejemplos están dirigidos únicamente a fines ilustrativos y no se pretende que la invención se limite a los mismos.

5

Ejemplo 1

A un recipiente de reacción se agregaron 15 ml de ácido fórmico al 99 %, 1,15 g de ácido sulfúrico al 96 %, 1,09 g (0,01 moles) de 2-amino-4-metil-pirimidina, y 2,36 g (0,01 moles) de quinoxalin-di-N-óxido-2-carboxialdehído-dimetilacetil. La mezcla se calentó a 45-50°C, y se mantuvo en esa temperatura durante 10 horas, se enfrió entonces, se diluyó con 35 ml de agua fría y el pH se ajustó a aproximadamente 5 con bicarbonato de sodio. Se formó un precipitado cristalino, amarillo. Este se filtró y se lavó con agua. Se obtuvieron en un rendimiento de 64 % 1,8 g de 1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-4-pirimidinil)-etenil]-quinoxalina, p.f. 237-239°C, con descomposición (este mismo compuesto había sido designado en la solicitud original como 1,4-dióxido de 2-[2-amino-3-pirimidinil)-etenil]-quinoxalina.

10

15

20

El producto, designado CO-1 por conveniencia, se probó contra cinco cepas de *Vibrio cholerae* a concentraciones de 10, 30 y 100 microgramos por mililitro. Los resultados se dan en el cuadro 1.

25

Se operaron también pruebas para ver si el compuesto fué efectivo contra *Vibrio Cholerae* El Tor Ogawa 6 en presencia de aguas de albañal. Las muestras de aguas de albañal se obtuvieron del sistema de drenaje de la ciudad de Modena, Italia. Se centrifugaron para separar los sólidos y el líquido sobrenadante se utilizó en las pruebas. Los resultados se dan en el cuadro 2.

30

C U A D R O 1

Efecto sobre Diversas Cepas de Vibrio Cholerae

Compues <u>g</u> to	Concentra- ción / μ g/ml	Inaba 35 Clásica	Ogawa 41 Clásica	El Tor Ogawa 6	El Tor Ogawa 8	El Tor Oga- wa 4
CO-1	100	-	-	±	-	±
	30	-	-	-	-	++
	10	-	-	++	-	++
CO-2	100	-	-	±	-	±
	30	-	-	-	-	++
	10	-	-	++	-	++

- : No hubo desarrollo después de 48 horas a 37°C.

± : Desarrollo notable.

+ : Desarrollo evidente pero en un grado más pequeño que en los experimentos de control sin tratar.

++ : El mismo grado de desarrollo que en los experimentos de control sin tratar.

CUADRO 2

Muestra	Concentración de CO-1	Efectos después de		
		24 horas	48 horas	5 días
Control/+ Vibrion	-	+++	+++	+++
Aguas de albañal + Vibrion	-	---	---	---
Aguas de albañal + Vibrion	-	+++	+++	+++
Aguas de albañal + Vibrion	5 gamma/ml	---	---	---
Aguas de albañal + Vibrion	10 gamma/ml	---	---	---
Aguas de albañal + Vibrion	20 gamma/ml	---	---	---
Aguas de albañal + Vibrion	30 gamma/ml	---	---	---

20 En 10 $\mu\text{g/ml}$ de CO-1 no hubo desarrollo de 3 de los organismos después de 48 horas, y únicamente hubo un desarrollo marginal de los dos restantes en 100 $\mu\text{g/ml}$.

25 El CO-1 se probó en in vitro contra *Treponema hyodysenteriae* mediante un método conocido. La concentración inhibitoria mínima (la concentración más baja del compuesto en la serie de dilución en donde se inhibe el desarrollo) fué de 0,1 $\mu\text{g/ml}$. La concentración bactericida mínima (la concentración inferior extrema del compuesto en donde no se observan treponemas viables por dilución y subcultivo del caldo en placas de agar con sangre) fué mayor que 0,1 $\mu\text{g/ml}$ pero menos que 1 $\mu\text{g/ml}$.

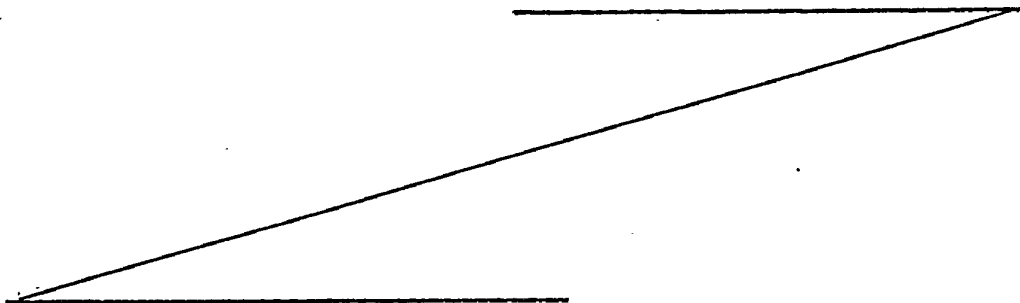
ml.

El compuesto se probó en cuanto a toxicidad aguda mediante varios modos de administración en cuatro especies, a saber ratones, ratas, cobayos y conejos. Se encontró que el compuesto era de un orden de toxicidad bajo. Los resultados de la prueba se dan a continuación en los cuadros 3, 4, 5 y 6.

C U A D R O 3

Dosis mg/kg	Toxicidad aguda del CO-1 en Ratones Hembra			
	Mortandad/ 1 día	Animales Tratados 2 días	Después de 4 días	de 7 días
	Administración Endoperitoneal			
2000	6/6			6/6
1000		6/6		6/6
500				6/12
250				0/18
	Administración Esofaguica			
0 (X)				0/6
4000			1/12	1/12
2000				0/12
1000				0/12

(x) Mediante introducción gástrica y recibiendo únicamente el vehículo.



C U A D R O 4

Toxicidad aguda de CO-1 en la rta

a. Primer Experimento

Sexo	Vía de Administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el Transcurso de 21 días	Peso del cuerpo en g inicial	(m±SEM) Terminación	Significado estadístico (°)
M	Esofagica	4000	0/4	234,5 ± 13,8	288,7 ± 13,8	t 0,05
M	Esofagica	0 (x)	1/4	233,7 ± 8,7	331,0 ± 0,5	
F	Esofagica	4000	0/4	201,2 ± 4,2	238,2 ± 12,1	t 0,05
F	Esofagica	0 (x)	1/4	189,2 ± 3,9	230,0 ± 10,5	
M	Endoperitoneal	500	1/4	234,0 ± 6,2	314,8 ± 10,3	t 0,05
M	Endoperitoneal	0 (x)	0/4	230,0 ± 5,7	824,0 ± 8,7	
F	Endoperitoneal	500	2/4	206,2 ± 8,7	286,0 - 272,0	t 0,05
F	Endoperitoneal	0 (x)	0/4	207,5 ± 4,3	253,5 ± 7,7	

(x) Se administró únicamente el vehículo por la misma ruta.

(o) Prueba de estudiante t

b. Segundo Experimento

Sexo	Vía de administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el transcurso de 7 días	Peso del cuerpo en g. Inicial	(± SE) Terminación
M	Esofagica	4000	0/4	222,5 ± 6,2	231,7 ± 15,7
F	Esofagica	4000	0/4	252,0 ± 16,6	253,5 ± 12,1
M	Intraperitoneal	500	2/4	226,2 ± 6,8	225,0 - 212
F	Intraperitoneal	500	0/4	232,5 ± 5,9	218,2 ± 7,0

c. Datos acumulativos independientemente del sexo del animal

Vía de administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el transcurso de 7 días
Esofagica	0 (x)	0/8
Esofagica	4000	0/16
Intraperitoneal	0 (x)	0/8
Intraperitoneal	500	4/16

(x) Únicamente se administró el vehículo.

C U A D R O 4

Toxicidad aguda de CO-1 en la rata

a. Primer Experimento

Sexo	Vía de Administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el Transcurso de 21 días	Peso del animal en g. ini
M	Esogaguica	4000	0/4	234,5 :
M	Esofaguica	0 (x)	1/4	233,7 :
F	Esofaguica	4000	0/4	201,2 :
F	Esofaguica	0 (x)	1/4	189,2 :
M	Endoperitoneal	500	1/4	234,0 :
M	Endoperitoneal	0 (x)	0/4	230,0 :
F	Endoperitoneal	500	2/4	206,2 :
F	Endoperitoneal	0 (x)	0/4	207,5 :

(x) Se administró únicamente el vehículo por la misma ruta.

(o) Prueba de estudiante t

b. Segundo Experimento

Sexo	Vía de administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el transcurso de 7 días	Peso del animal en g.
M	Esofaguica	4000	0/4	222,5 :
F	Esofaguica	4000	0/4	252,0 :
M	Intraperitoneal	500	2/4	226,2 :
F	Intraperitoneal	500	0/4	232,5 :

c. Datos acumulativos independientemente del sexo del animal

Vía de administración	mg/kg	Mortandad/tratados en el transcurso de 7 días
Esofaguica	0 (x)	0/8
Esofaguica	4000	0/16
Intraperitoneal	0 (x)	0/8
Intraperitoneal	500	4/16

(x) Únicamente se administró el vehículo.

n la uta

n el s	Peso del cuerpo en g inicial	(m±SEM) Terminación	Significado es- tadístico (°)
	234,5 ± 13,8	288,7 ± 13,8	t 0,05
	233,7 ± 8,7	331,0 ± 0,5	
	201,2 ± 4,2	238,2 ± 12,1	t 0,05
	189,2 ± 3,9	230,0 ± 10,5	
	234,0 ± 6,2	314,8 ± 10,3	t 0,05
	230,0 ± 5,7	824,0 ± 8,7	
	206,2 ± 8,7	286,0 - 272,0	t 0,05
	207,5 ± 4,3	253,5 ± 7,7	

el	Peso del cuerpo en g. Inicial	(± SE) Terminación
	222,5 ± 6,2	231,7 ± 15,7
	252,0 ± 16,6	253,5 ± 12,1
	226,2 ± 6,8	225,0 - 212
	232,5 ± 5,9	218,2 ± 7,0

1
fas

C U A D R O 5

Toxicidad aguda de CO-1 en el Cobayo mediante administración
Esofagica

5

Dosis. mg/kg.	Mortandad/Tratados en el transcurso de 21 días
500	0/4
1000	1/4
2000	5/6
4000	6/6
0(x)	0/13

10

(x) Unicamente se administró el vehículo.

C U A D R O 6

Toxicidad aguda de CO-1 en el Conejo mediante Administración
Esofagica

15

Dosis mg/kg	Mortandad/trata- dos en el transcur- so de 7 días	Peso del cuer- po en g. Ini- cial	(m±SE) Terminación
2000	0/2+	2250/2150	2180-2140
1000	0/4	2037±104,3	1922,5±71,5
0(x)	0/4	2135±75	2262±215
500	0/2	2000/2100	1650-1550

20

(x) Unicamente se administró el vehículo.

25

+ Hubieron dos muertes de siete animales tratados en el
transcurso de 4 días.

En vista de los datos de toxicidad aguda favorables,
el compuesto se administró oralmente en dosis subagudas pero
relativamente grandes a ratones y ratas durante 15 días. Se
recolectaron datos sobre los efectos de la mortandad, el peso,

30

el hígado y los riñones. Los datos se dan en los cuadros 7 y 8.

C U A D R O 7

Toxicidad subaguda de CO-1 en los Ratones

Dosis diaria: 500 mg de CO-1 mediante introducción gástrica durante 15 días.

Tratamiento oral	Mortandad/ tratados	% de Cambio de Peso del cuerpo (M±SE)	Relación en Peso de Organos nuevo a cuerpo	
			Hígado	Riñones
Vehículo	0/10	20,4±4,2	5,2±0,2	1,4±0,1
CO-1, 500 mg/ kg/día	0/10	-8,1±3,9	5,9±0,3	1,5±0,1

a. Mortandad y Peso del Cuerpo

Dosis Diaria: 1 g/kg/día durante 15 días

Tratamiento Oral	Mortandad/ tratamiento	% de Cambio del peso del cuerpo
Vehículo (H ₂ O)	0/12	24,54±0,64
CO-1 en H ₂ O, 1 g/kg/día	2/12	18,5±0,74
Vehículo (goma de tragacanto)	(x) 0/12	25,04±1,18
CO-1 en goma de tragacanto	3/12	16,27±1,31

b. SGOT y SGPT (24 horas después de la última dosis)

Tratamiento oral	Unidades / ml	
	SGOT	SGPT
Vehículo		
Agua	110	4
Goma de tragacanto	119	6
CO-1 en agua	124	9
CO-1 en goma de tragacanto	132	10

CUADRO 8

Toxicidad subaguda de CO-1 en Ratas Hembra

Dosis diaria: 2 g/kg/día de CO-1 mediante introducción gástrica durante 21 días.

5

Tratamiento oral	Mortandad/ tratados	Peso del cuerpo en g ($m \pm SE$)	
		Inicial	A la terminación
Vehículo	2/6(x)	200,0 \pm 4,1	233,2 \pm 5,1
CO-1, 2 g/kg/día	1/6(x)	204,1 \pm 2,0	210,6 \pm 9,6

10

(x) Mortandad provocada por un error en la canalización esofágica. Este diagnóstico se confirmó en el examen post-mortem.

15

Dosis diaria: 2 g/kg/día de CO-1 mediante introducción gástrica durante 21 días.

20

Tratamiento Oral	Porcentaje de Peso Promedio de Organos Nuevos ($m \pm SE$)		
	Pulmón	Hígado	Riñones
Vehículo (3 animales)	0,85 \pm 0,06	3,45 \pm 0,07	0,95 \pm 0,04
CO-1 (5 animales)	1,07 \pm 0,09 NS	4,54 \pm 0,10 NS(x)	1,04 \pm 0,3NS

25

(x) Mortandad provocada por un error en la canalización esofágica. Este diagnóstico se confirmó en el examen post-mortem.

30

En vista de la toxicidad subaguda favorable, se es-

tudió la toxicidad crónica en ratones hembra. Los resultados se dan en el cuadro 9.

C U A D R O 9

Toxicidad crónica en los Ratones Hembra

5 Tratamiento diario mediante introducción gástrica durante 18 semanas (4,5 meses)

a. Mortandad y Peso del Cuerpo

10

Tratamiento oral	Mortandad/ tratados	Peso del Cuerpo en g ($\bar{m} \pm SE$)	
		Inicial	A la termina- ción
Vehículo	3/10	28,2 \pm 1	33,0 \pm 1,1
CO-1, 500 mg/kg/día	2/10	30,4 \pm 0,9	30,0 \pm 0,7
15 CO-1, 250 mg/kg/día	0/10	27,3 \pm 0,5	26,7 \pm 0,7

b. Secreción de orina. Cantidad de orina secretada por 6 animales en 6 horas.

20

<u>Tratamiento Oral</u>	<u>Cantidad de orina (ml)</u>
Controles	6
CO-1, 500 mg/kg/día	7
CO-1, 250 mg/kg/día	6,5

c. Glucosa en la sangre. Valores promedio para 6 animales.

Se tomaron muestras de sangre 24 horas después de la última dosis.

25

30

<u>Tratamiento Oral</u>	<u>Glucosa en la Sangre</u>
Controles	1,14
CO-1, 500 mg/kg/día	1,06
CO-1, 250 mg/kg/día	1,10

CUADRO 9 (Continuación)

d. SGPT y SGOT. Valores promedio para 6 animales. Se tomaron muestras de sangre 24 horas después de la última dosis.

<u>Tratamiento Oral</u>	Unidades/ml	
	<u>SGOT</u>	<u>SGPT</u>
Controles	125	5
CO-1, 500 mg/kg/día	159	6
CO-1, 250 mg/kg/día	118	5

Toxicidad crónica de CO-1 en los ratones hembra

e. Pesos de Organos, Frescos

<u>Tratamiento Oral</u>	Relación en peso de órgano fresco a cuerpo (m±SE, 4 animales)			
	Riñones	Corazón	Hígado	Pulmones
Controles	0,938±0,044	0,481±0,055	4,57±0,15	0,674±0,044
CO-1, 500mg/kg/día	1,07 ±0,04	0,47 ±0,02	4,66±0,91	1,011±0,110
CO-1, 250mg/kg/día	0,87 ±0,08	0,60 ±0,08	4,57±0,25	0,731±0,035

En vista de los Resultados favorables en la toxicidad crónica, se condujo un estudio teratogenético con ratones y ratas hembra y macho. El número de ratones vivos en el alumbramiento fué comparable con los controles. No se observaron malformaciones en ningún grupo. Los datos se dan en el cuadro 10.

C U A D R O 10

Estudio Teratogénico

a. Especie de Animal: Ratón: Ratones macho y hembra alojados conjuntamente durante 10 días.

5 Tratamiento oral del 3^{er} día hasta el 13 día.

10

Tratamiento Oral	Preñez/Animales tratados	No. de Fetos vivos por su ministro (m±SE)	Peso del Cuerpo de los fetos en g. (m±SE)	No. de fetos con malformaciones
CO-1, 250 mg/kg/día	3/10 (x)	10,3±0,6	1,42±0,05	0
Controles	9/10	9,0±0,9	1,46±0,07	0

15 x. Con base en una amplia experiencia, los resultados anteriores pudieron ser casuales. El estudio debe repetirse para determinar si realmente el CO-1 evita la preñez.

b. Especie de Animal: Rata. Las mismas condiciones experimentales que con los ratones.

20

25

Tratamiento Oral	Preñez/Animales tratados	No. de Fetos vivos por suministro (m±SE)	Peso del cuerpo de los fetos en g. (m±SE)	No. de fetos con malformaciones
CO-1, 250 mg/kg/día	7/10	10,8±0,86	7,08±0,19	0
Controles	6/10	11,3±1,12	6,32±0,40	0

Ejemplo 2

30 Se mezcla el compuesto CO-1 con raciones para cerdo, en un nivel de 200 g/ton y se le proporciona al cerdo alojado en un área en donde ha habido previamente un brote de disente-

ría de cerdos. Los miembros de la piara permanecen exentos de los síntomas durante el tiempo de su permanencia. Se aloja otra piara en un área similar en donde había habido previamente un brote de disentería. Ellos se alimentan con las mismas raciones que la primera piara pero sin CO-1 u otro medicamento. Muchos miembros de la piara desarrollan síntomas de disentería. EL CO-1 se mezcla entonces con las raciones a un nivel de 400 g/ton. La diseminación de la enfermedad se detiene y los miembros enfermos se liberan de los síntomas.

Ejemplo 3

A un recipiente de reacción se suministró una solución de 1,15 g de ácido sulfúrico al 96 % disuelto en 25 ml de ácido acético, 1,23 g (0,01 moles) de 2-amino-4,6-dimetilpirimidina y 1,9 g (0,01 moles) de di-N-óxido de 2-formilquinoxalina. La mezcla se calentó a 40°C durante 16 horas, después se enfrió, se diluyó con agua y se ajustó a un pH de 5 con solución de bicarbonato de sodio. El precipitado cristalino amarillo resultante, se filtró y se lavó para dar, en un rendimiento de 71 %, 2,1 g de 1,4-dióxido de 2-[2-(2-amino-6-metil-4-pirimidinil)-etenil]-quinoxalina (este mismo compuesto había sido designado en la solicitud original como 1,4-dióxido de 2-[2-(amino-3-metil-5-pirimidinil)etenil]-quinoxalina) designado CO-2 por conveniencia. Este fundió con descomposición a 240°C.

El producto se probó contra cinco cepas de *Vibrio cholerae* según se describió en el ejemplo 1. Los resultados se dan en el cuadro 1. No hubo desarrollo después de 48 horas de 3 de los organismos a 10 µg/ml de CO-2, únicamente desarrollo marginal de los dos restantes a 100 µg/ml.

El compuesto CO-2 se prueba contra *Treponema hyodysenteriae* según se describió en el ejemplo 1. La concentración

inhibitoria mínima es de aproximadamente 0,1 $\mu\text{g/ml}$, y la concentración bactericida mínima es menor que 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

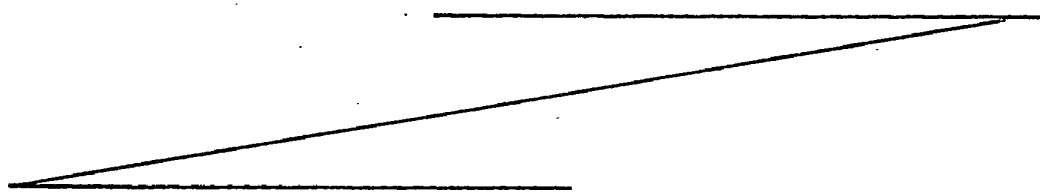
El compuesto CO-2 se prueba en cuanto a toxicidad en la misma forma que se describió para el CO-1 en el ejemplo 1. Se obtienen resultados comparables que muestran que el compuesto es adecuado para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la disentería en los cerdos.

Ejemplo 4

Se mezcla el compuesto CO-2 con raciones para cerdo a un nivel de 200 g/ton y se alimenta a cerdos alojados en un área en donde había habido previamente un brote de disentería de cerdos. Los miembros de la piara permanecen exentos de los síntomas durante el tiempo de su permanencia. Se deja otra piara en un área similar en donde había habido un brote previo de disentería. Se les proporcionan las mismas raciones que a la primera piara pero sin CO-2 u otro medicamento. Muchos miembros de la piara desarrollan síntomas de disentería. El CO-2 se mezcla entonces con las raciones a un nivel de 400 g/ton. La diseminación de la enfermedad se detiene y los miembros enfermos se liberan de los síntomas.

Ejemplo 5

Las raciones para cerdo contienen típicamente un contenido de proteína que varía de aproximadamente 12 a 18 por ciento de proteína en una base en peso. El cuadro 11 establece ejemplos de raciones para cerdos iniciales, de desarrollo y finales.



CUADRO 11

	Iniciales (13,6-34,0 kg) ¹	Desarrollo (34,0-58,9 kg) ¹	Finales (58,9-99,8kg) ¹
5	Maíz molido #2	671,0 kg	734,8 kg
	SBOM, 44 %	205,9	146,9
	Fosfato Dicalcico	9,0	8,1
	Piedra caliza molido	10,4	7,7
10	Sal yodada	4,5	3,6
	Premezcla de vitamina ²	4,5	3,6
	Mezcla de minerales en huellas ³	2,2	2,2
15	¹ Peso del cerdo		
	² <u>Premezcla de vitamina</u>		
	Vitamina A (30.000 UI/gm)	1000	gm
	Vitamina D ₃ (200.000 IU/gm)	20	gm
	BY-24 (Riboflavina)	300	gm
20	Pantotenato de calcio, 45 %	150	gm
	Niacina, 98 %	200	gm
	Colina 25	4600	gm
	Proferm 20 (Vit. B ₁₂)	3600	gm
	Perma E (20.000 IU/0,45 kg/de vitamina E)	2270	gm
25	Biotina	<u>1</u>	<u>gm</u>
	Maíz molido	33129	gm
	TOTAL	45360	gm
	³ <u>Premezcla de Minerales en Huellas</u>		
	Minerales en Huellas CCC	4536	gm
30	Oxido de zinc	<u>600</u>	<u>gm</u>

Maíz molido	<u>17544 gm</u>
TOTAL	22680 gm

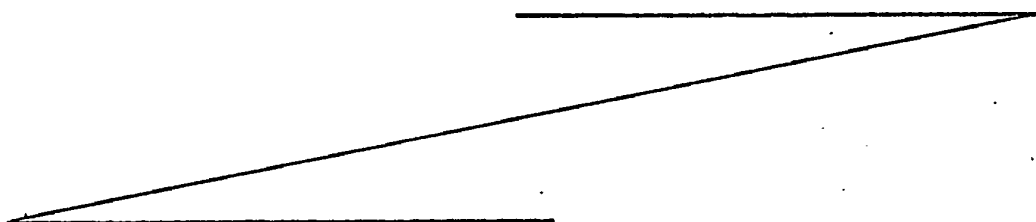
5 A una tonelada de la ración de desarrollo precedente-
mente se agregan 200 g del compuesto CO-2 mediante el siguien-
te procedimiento: Se mezclan 200 g de CO-2 con una alicuota de
2,27 kg de la ración, que a su vez se mezcla sucesivamente en
o con alicuotas mayores hasta que el CO-2 se mezcla esencial-
mente en forma uniforme con la ración total que es una composi-
10 ción alimenticia. La composición alimenticia así preparada
suministra 200 g de compuesto de CO-2 por tonelada de ración
terminada.

Se sigue esencialmente el mismo procedimiento para
proporcionar raciones iniciales y finales que contienen CO-2.

Ejemplo 6

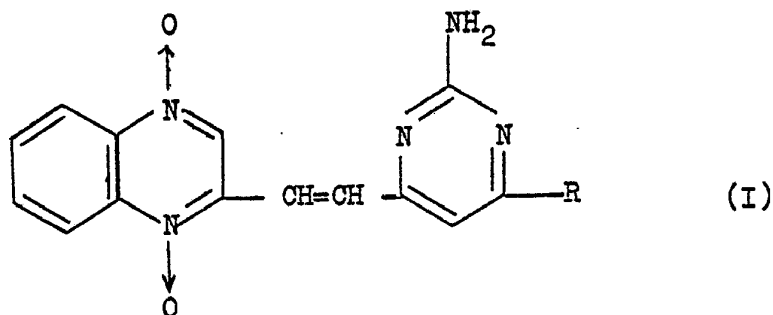
15 El compuesto CO-1 se administra centajosamente a los
cerdos incorporándolo en el agua de bebida que se les da a los
cerdos en cantidades que inhiben la disentería en los cerdos,
generalmente siendo estas cantidades de aproximadamente 25 a
500 partes por millón de agua, por ejemplo de 25 a 200 partes
20 de millón para profilaxis y de 200 a 500 partes por millón pa-
ra terapia.

Descrita suficientemente la naturaleza del invento,
así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse
constar que las disposiciones anteriormente indicadas son sus-
25 ceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su
principio fundamental.

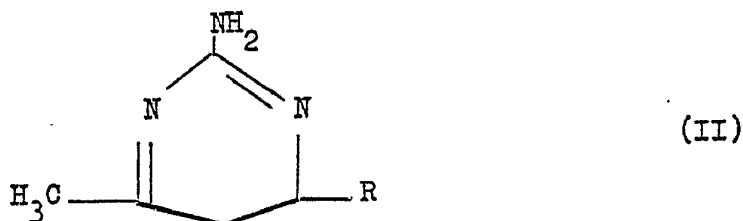


REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento de obtención de quinoxalinas sustituidas, de fórmula:



5 en la que R es hidrógeno o alquilo inferior; caracterizado por que comprende hacer reaccionar quinoxalina-di-N-óxido-2-carboxialdehído-dimetilacetal con un compuesto de fórmula:



10 en la que R se define como anteriormente, convenientemente en presencia de un catalizador de ácido fuerte y de un disolvente, a temperaturas comprendidas entre 0 y 80°C o más aproximadamente, con preferencia a temperaturas entre 25 y 50°C ó más aproximadamente.

15 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la relación molar entre el dimetilacetal y el compuesto de fórmula (II) es de 1 : 1 aproximadamente.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el disolvente es con preferencia un ácido alcanoico inferior.

20 4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el catalizador de ácido fuerte se emplea en

una relación de 0,5 a 2 moles de ácido por mol de quinoxalina de partida.

5.- Procedimiento de obtención de quinoxalinas sustituidas, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

5

Esta Memoria consta de 23 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 15 MAR. 1978

ISTITUTO CHEMIOTERAPICO ITALIANO

[Handwritten signature]
SECRETARIO

[Handwritten mark]