

(19) DANMARK



(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **154084 B**

PATENTDIREKTORATET  
KØBENHAVN

(21) Patentansøgning nr.: 0517/70

(51) Int.Cl.<sup>4</sup> C 07 D 491/056

(22) Indleveringsdag: 03 feb 1970

(41) Alm. tilgængelig: 05 aug 1970

(44) Fremlagt: 10 okt 1988

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 04 feb 1969 US 796546 29 dec 1969 US 888880

(71) Ansøger: ELI \*LILLY AND COMPANY; 307 East McCarty Street; Indianapolis; Indiana, US

(72) Opfinder: William Ansley \*White; US

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) **Analogifremgangsmåde til fremstilling af 1-substituerede 6,7-methyendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre eller salte deraf samt mellemprodukt til brug ved fremgangsmåden**

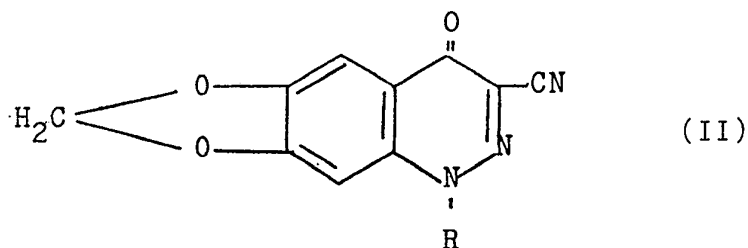
(56) Fremdragne publikationer

US pat. nr. 3287458

**DK 154084 B**

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangs-  
 måde til fremstilling af antimikrobielle, hidtil ukendte  
 1-substituerede 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-  
 3-carboxylsyrer med den i krav 1's indledning anførte  
 5 almene formel I, eller salte deraf med alkalimetal-  
 eller jordalkalimetalforbindelser, ammoniak eller amin-  
 er med pKa-værdier over 7,5. Opfindelsen angår endvidere  
 et mellemprodukt til brug ved fremgangsmåden.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved  
 10 det i krav 1's kendetegnende del anførte. De omhandlede  
 forbindelser fremstilles således ved at hydrolysere et  
 carbonitril-mellemprodukt med den almene formel



hvor i R har den i krav 1 angivne betydning, til den til-  
 svarende carboxylsyre med formel I. Hydrolysen kan enten  
 15 udføres med en syre eller en base. Det foretrækkes at  
 foretage hydrolysen med koncentreret saltsyre i et reak-  
 tionsmedium bestående af eddikesyre, hvor i det molære  
 forhold mellem saltsyre og eddikesyre er mellem 1:4 og  
 4:1, og hvor det molære koncentrationsforhold mellem  
 20 eddikesyre og nitril er mellem 5:1 og 20:1.

Mellemproduktet med formel II kan fremstilles ved en fler-  
 trinssyntese ud fra den kendte forbindelse 2'-nitro-4',5'-  
 methylenedioxyacetophenon. Denne forbindelse kan reduceres  
 under anvendelse af platin som katalysator i et Parr hy-  
 25 drogeneringsapparat ved ca. 3,5 atm ved en temperatur på  
 30 - 40° C, hvorved der dannes 2'-amino-4',5'-methylen-  
 dioxyacetophenon. Det er indlysende for fagfolk, at andre

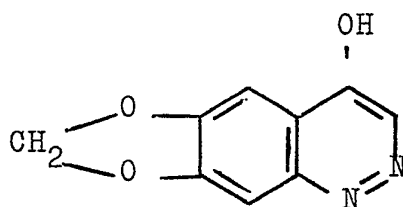
katalysatorer, som f.eks. palladium på carbon eller Raney-nikkel også kan anvendes, og at der kan anvendes tryk og temperaturer ud over de angivne, eller at reduktionen kan udføres ved en egnet kemisk reduktionsproces.

5

Det andet reaktionstrin består i en diazotering og ringslutning af aminoforbindelsen til et cinnolinderivat, idet man diazoterer aminoacetophenonen med en ækvivalent mængde af et salpetersyredannende nitrit under nærværelse af et overskud på 5 - 10 molækvivalenter af en saltsyreopløsning ved en temperatur på 0° C eller derunder, hvorefter man ringslutter over en periode på 3 - 24 timer ved en temperatur på 0 - 80° C, hvor det foretrukne er 3 - 4 timer ved 80° C. Ved reaktionen dannes den kendte forbindelse 6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol [Schofield og Simpson, J. Chem. Soc., 519 (1945)] med formlen:

10

15



Dette cinnolin-derivat kan bromeres med brom under nærværelse af tilnærmelsesvis ækvimolære mængder kaliumacetat i et overskud på 5 - 10 molækvivalenter eddikesyre ved reaktionsblandingsens tilbagesvalingstemperatur. Den fremkomne forbindelse, 3-brom-6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol, omdannes til 6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol-3-carbonitril ved eksempelvis at omsætte bromderivatet med en ækvimolær mængde eller med et overskud på op til 2 molækvivalenter kobber(I)cyanid. Reaktionen udføres normalt i et overskud på 5 - 20 molækvivalenter dimethylformamid ved atmosfæretryk i 4 - 24 timer ved

20

25

en temperatur på mellem ca. 50° C og op til reaktionsblandingens tilbagesvalingstemperatur, og det foretrækkes at udføre reaktionen på 4 - 6 timer ved tilbagesvalingstemperaturen.

5 Forbindelsen 6,7-methylenedioxcinnolin-4-ol-3-carbonitril kan herefter omsættes med methyl-, ethyl-, n-propyl-, isopropyl-, n-butyl- eller allylbromid, -chlorid, -iodid eller -sulfat på sædvanlig måde i et polært organisk opløsningsmiddel, som f.eks. i C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-alkanol, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-alkandiol, diethylenglycol, triethylenglycol, dimethylformamid, dimethylacetamid eller N-methylpyrrolidon i nærværelse af et basisk reagens, hvorved man opnår de tilsvarende 1-methyl-, ethyl-, n-propyl-, isopropyl-, n-butyl- eller allyl-6,7-methylen-  
10 dioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitril-forbindelser med formel II, som er mellemprodukterne ifølge opfindelsen.  
15

Opfindelsen angår også fremstillingen af saltene af de omhandlede 1-substituerede 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyrer med alkalimetaller, som f.eks. lithium, natrium og kalium; jordalkalimetaller, som f.eks. magnesium, calcium, stronthium og barium, ammonium og  
20 aminer, der har en pKa større end 7,5, som f.eks. triethylamin og pyrrolidin.

Saltene kan dannes ved omsætning af den frie syre med en base, et basisk salt eller en amin, som f.eks. natriumhydrogencarbonat, calciumcarbonat, ammoniumhydroxid  
25 og triethylamin. Af de foretrukne salte kan nævnes natrium-, kalium-, calcium- og ammoniumsaltene.

De 1-substituerede 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyrer og deres salte er i det væsentlige  
30 hvide, højtsmeltende krystallinske forbindelser. De frie syrer er opløselige i de fleste polære organiske opløsningsmidler, hvorimod de monovalente kationiske

salte er opløselige i vandige opløsningsmidler.

Forbindelserne, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, og saltene heraf er virksomme mod mikrobielle infektioner i varmblodede dyr, når forbindelserne indgives i daglige mængder på 25 - 500 mg/kg legemsvægt.

Anvendelse af alkalimetal- og ammoniumsaltene af de omhandlede 1-substituerede 6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-carboxylsyrer foretrækkes på grund af disse større vandopløselighed, kemiske stabilitet og effektivitet, og fordi saltene er lette at fremstille og egnede til at blande i forskellige fødeemner.

Det foretrækkes at indgive 1-ethyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre oralt som et salt via egnede fødeemner, hvori forbindelsen findes i mængder på 25 - 2500 g pr. ton totalføde, idet den nøjagtige koncentration afhænger af den mængde føde, der kræves, for at der indgives en virksom dosis af den aktive forbindelse, når der fortæres en normal mængde føde. Tilsætningen af de aktive forbindelser til føden foretages normalt på den måde, at der fremstilles en passende fødeforblanding, som så blandes i resten af føden. Man kan imidlertid også sætte den ønskede mængde af forbindelsen til føden på én gang.

Man kan fremstille en egnet fødeforblanding ved at formale de aktive forbindelser til et pulver og blande dette med en egnet bærer som f.eks. lucerne Korn, opløsningsmiddelekstraherede sojabønner, majs mel og afskallet hydrobiotit. Forblandingen blandes derpå med den ønskede føde, når indgivelse af den aktive forbindelse ønskes. Fødeforblandingen kan først fortyndes med et fødesupplement eller fødekoncentrat, indtil den øn-

skede koncentration af den aktive forbindelse er opnået, og det behandlede fødemiddel eller koncentrat kan enten gives samtidig med resten af rationen eller blandes i den endelige føde.

- 5 En alternativ fremgangsmåde til fremstilling af forblandingen kan bestå i at opløse den aktive forbindelse i et opløsningsmiddel som f.eks. vand eller fremstille en opslemning af forbindelsen i et egnet middel som f.eks. en spiselig vegetabilsk olie eller en spiselig glycol
- 10 og derpå sætte en sådan opløsning eller opslemning til den forblandede bærer under omrøring.

- De omhandlede 1-substituerede carboxylsyrer og deres salte kan indgives på én gang eller i flere doser enten parenteralt eller oralt. Ved parenteral dosering kan
- 15 den aktive forbindelse opløses i et vandigt middel i en koncentration på 25 - 200 mg/ml, hvor den nøjagtige koncentration afhænger af den krævede virksomme dosis af den aktive forbindelse og det volumen af opløsningen, som på passende måde kan injiceres i dyret.

- 20 Forbindelserne kan også indgives oralt på normal måde, f.eks. i form af fyldte kapsler, væsker, suspensioner og pressede tabletter. Sådanne orale dosisformer indeholder sædvanligvis den ønskede mængde af den aktive forbindelse sammen med egnede fyldmaterialer, bindemidler,
- 25 opløsningsmidler og beskyttelsesmidler.

- 1-ethyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre kan f.eks. presses i tabletter til oral indgivelse på følgende måde: 5,0 g 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre blandes med 22,0 g lactose,
- 30 2,9 g stivelse og 0,1 g magnesiumstearat, og blandingen presses til tabletter af en sådan størrelse, at hver tablet indeholder 50 mg af den aktive forbindelse.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen illustreres nærmere ved det følgende eksempel.

EKSEMPEL

Fremstilling af udgangsmateriale

(a) 2'-amino-4',5'-methylendioxyacetophenon

5 90 g (0,43 mol) 2'-nitro-4',5'-methylendioxyacetophenon  
suspenderedes i ca. 300 ml absolut ethanol, og der til-  
sattes 200 mg platindioxid. Blandingen anbragtes i et  
Parr hydrogeneringsapparat og reduceredes med hydrogen  
ved 3,5 atm. ved en temperatur på 30 - 40° C i 3 - 4  
10 timer, indtil der ikke længere observeredes optagelse  
af hydrogen. Opløsningsmidlet afdestilleredes under  
vakuum, og inddampningsresten opløstes i 500 ml varm  
chloroform. Blandingen filtreredes, og filtratet inddam-  
pedes til tørhed. Inddampningsresten omkrystallisere-  
15 des i en 80:20 blanding af ethanol og vand, hvorved der  
opnåedes ca. 70 g gulbrune krystaller af 2'-amino-4',5'-  
methylendioxyacetophenon med et smeltepunkt på ca. 167 -  
168° C. Udbyttet var på 90,7%.

20 Analyse:  $C_9H_9NO_3$ , molvægt: 179;  
Beregnet: C 60,33, H 5,06, N 7,82.  
Fundet: C 60,60, H 5,33, N 7,75.

(b) 6,7-methylendioxycinnolin-4-ol

25 70 g (0,41 mol) 2'-amino-4',5'-methylendioxyacetophenon  
sattes til 800 ml koncentreret saltsyre ved stuetempera-  
tur. Den fremkomne blanding afkølede til 0° C, og en  
opløsning af 35 g (0,5 mol) natriumnitrit i 100 ml vand  
tilsattes dråbevis, idet temperaturen holdtes på 0° C

under omrøring. Omrøringen fortsattes i 30 minutter, efter at alt natriumnitrit var tilsat. Den fremkomne reaktionsblanding filtreredes, og filtratet opvarmedes til 80° C i 4 timer og henstod derpå natten over ved 5 stuetemperatur, hvorved produktet fældede ud, og dette omkrystalliseredes i 600 ml af en 80:20-blanding af dimethylsulfoxid og vand. Der opnåedes 65 g 6,7-methylen-  
dioxycinnolin-4-ol i form af lysebrune krystaller. Produktet smeltede ved ca. 338° C under dekomponering.  
10 Udbyttet var 83,6%.

Analyse:  $C_9H_6N_2O_3$ ; molvægt: 190.  
Beregnet: C 56,84, H 3,18, N 14,73.  
Fundet: C 56,81, H 2,93, N 14,50.

(c) 3-brom-6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol

15 60 g (0,3 mol) 6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol sættes til en opløsning, der bestod af 30 g (0,3 mol) vandfrit kaliumacetat i 400 ml eddikesyre. Den fremkomne blanding opvarmedes til tilbagesvaling, hvorefter en opløsning af 48 g (0,3 mol) brom i 100 ml eddikesyre tilsattes  
20 dråbevis under omrøring i løbet af 2 timer. Derefter omrørtes den fremkomne reaktionsblanding i yderligere 30 minutter under tilbagesvaling. Reaktionsblandingen henstod nu til afkøling til stuetemperatur og hældtes derpå ud i 1 l isvand. Det fremkomne bundfald isoleredes ved filtrering og vaskedes med 300 ml af en 5%  
25 natriumhydrogencarbonatopløsning. Ved omkrystallisation i en 80:20-blanding af dimethylsulfoxid og vand vandtes 76 g brune krystaller af 3-brom-6,7-methylen-dioxycinnolin-4-ol, der smeltede ved 330° C under dekomponering.  
30 Udbyttet var 94,3%.

Analyse:  $C_9H_5BrN_2O_3$ ; molvægt: 269.  
Beregnet: C 40,17, H 1,87, N 10,41, Br. 29,70.



Fundet: C 40,31, H 1,85, N 10,60, Br. 29,90.

(d) 6,7-methylendioxycinnolin-4-ol-3-carbonitril

100 g (0,37 mol) 3-brom-6,7-methylendioxycinnolin-4-ol  
sattes til en opslemning af 63 g (0,70 mol) kobber(I)-  
5 cyanid i 1100 ml tørt dimethylformamid. Den fremkomne  
blanding kogtes under tilbagesvaling i 4 - 5 timer un-  
der samtidig omrøring. Opløsningen blev homogen ved kog-  
ningen. Efter endt reaktion dannedes et tungt, grønt  
bundfald. Den fremkomne reaktionsblanding afkøledes  
10 til stuetemperatur og udhældtes i en opløsning, der  
bestod af 160 g jern(III)chlorid, 120 ml koncentreret  
saltsyre og 250 ml vand. Den fremkomne blanding op-  
varmedes til 60° C i 15 - 20 minutter, hældtes ud over  
2 l knust is og filtreredes. Det gule produkt omkrystal-  
15 liseredes fra en 80:20 blanding af dimethylsulfoxid og  
vand, hvorved der opnåedes 75 g (93,8%) 6,7-methylen-  
dioxycinnolin-4-ol-3-carbonitril i form af brune kry-  
staller, der smeltede ved 330 - 340° C under dekomponering.

20 Analyse:  $C_{10}H_5N_3O_3$ , molvægt: 215.  
Beregnet: C 55,82, H 2,34, N 19,53.  
Fundet: C 55,74, H 3,04, N 18,63.

(e) 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-  
carbonitril

25 70 g (0,36 mol) 6,7-methylendioxycinnolin-4-ol-3-carbo-  
nitril suspenderedes i 500 ml tørt dimethylformamid. 18  
g (0,36 mol) tørt natriumhydrid (fremstillet ved at vas-  
ke 50% natriumhydrid i mineralolie med n-hexan) sattes  
under omrøring til ovennævnte opslemning. Blandingen  
30 blev homogen, efterhånden som der udvikledes hydrogen.

Efter hydrogenudviklingens ophør tilsattes dråbevis under omrøring 63 g (0,40 mol) ethyliodid ved stuetemperatur. Efter endt tilsætning fortsattes omrøringen i 1 time. Den fremkomne reaktionsblanding blev derpå opvarmet til 100° C. i 2 timer, afkølet til stuetemperatur, hældt ud i 1 l isvand og gjort sur med saltsyre. Det dannede bundfald frafiltreredes og omkrystalliseredes i en 80:20-blanding af dimethylsulfoxid og vand. Der opnåedes 50 g (et udbytte på 62,5%) 1-ethyl-6,7-methylen-dioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carbonitril i form af lysebrune krystaller, der smeltede ved 268 - 269° C.

Analyse:  $C_{12}H_9N_3O_3$ ; molvægt: 243,22.

Beregnet: C 59,26, H 3,73, N 17,28.

Fundet: C 59,05, H 3,74, N 17,10.

15 Fremstilling af 1-ethyl-6,7-methylen-dioxy-4(1H)-oxo-cinnolin-3-carboxylsyre (slutprodukt)

23 g (0,095 mol) 1-ethyl-6,7-methylen-dioxy-4(1H)-oxo-cinnolin-3-carbonitril sættes til en blanding af 200 ml koncentreret saltsyre og 200 ml eddikesyre. Den fremkomne reaktionsblanding kogtes under tilbagesvaling i 18 timer. Overskud af syre fjernedes under vakuum, og inddampningsresten opløstes i 150 ml af en 5% natriumhydrogencarbonatopløsning. Den fremkomne opløsning behandlede med 5 g trækul og filtreredes. Filtratet blev gjort surt ved tilsætning af saltsyre, og det fremkomne bundfald blev frafiltreret. Der opnåedes 23 g (hvilket svarer til 91,6%) 1-ethyl-6,7-methylen-dioxy-4(1H)-oxo-cinnolin-3-carboxylsyre i form af lysebrune krystaller, der smeltede ved 261 - 262° C under dekomponering.

Analyse:  $C_{12}H_{10}N_2O_5$ ; molvægt: 262.

Beregnet: C 54,96, H 3,84, N 10,68.

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

5 Ved at anvende den ovenfor beskrevne procedure til  
hydrolyse af tilsvarende 1-substituerede nitriler opnå-  
ede man følgende forbindelser:

1-methyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxyl-  
syre, smp. 308° C (dekomponering).

10 Analyse beregnet for  $C_{11}H_8N_2O_5$ : C 53,23, H 3,29, N 11,29.  
Fundet : C 53,01, H 3,27, N 11,59.

1-n-propyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxyl-  
syre, smp. 229 - 230° C.

Analyse beregnet for  $C_{13}H_{12}N_2O_5$ : C 56,52, H 4,38, N 10,14.  
Fundet : C 56,31, H 4,45, N 10,36.

15 1-isopropyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxyl-  
syre, smp. 304 - 305° C (dekomponering).

Analyse beregnet for  $C_{13}H_{12}N_2O_5$ : C 56,52, H 4,38, N 10,14.  
Fundet : C 56,31, H 4,29, N 10,24.

20 1-allyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxyl-  
syre, smp. 214 - 215° C.

Analyse beregnet for  $C_{13}H_{10}N_2O_5$ : C 56,93, H 3,68, N 10,22.  
Fundet : C 56,68, H 3,86, N 10,25

1-n-butyl-6,7-methyldioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxyl-  
syre, smp. 210 - 211° C.

Analyse beregnet for  $C_{14}H_{14}N_2O_5$ : C 57,93, H 4,86, N 9,65  
 Fundet : C 57,71, H 4,98, N 9,71

De omhandlede 1-substituerede 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, og disses salte besidder en udpræget antimikrobiel aktivitet. Af de organismer, der er patogene over for varmblodede dyr, og hvor der er vist væsentlig aktivitet in vitro, kan nævnes Mycoplasma gallisepticum samt de gram-negative bakterier Escherichia coli, Salmonella dublin og Vibriocoli.

Repræsentative forbindelser (som natriumsalte), der fremstilles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, har følgende minimale hæmningskoncentrationer (udtrykt som  $\mu\text{g pr. ml}$ ) over for de ovenfor anførte organismer i de sædvanlige rørfortyndingsforsøg.

TABEL I

In vitro antimikrobiel aktivitet

<u>Forbindelse</u>	Minimal hæmningskoncentration $\mu\text{g/ml}$ overfor:			
	<u>E. coli</u>	<u>S. dublin</u>	<u>V. coli</u>	<u>M. galli-septicum</u>
20 1-ethyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt	12,5	6,25	25,0	3,12
25 1-isopropyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt	25,0	12,5	50,0	25,0
1-allyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt	50,0	12,5	50,0	50,0

De omhandlede 1-substituerede 6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre og deres salte er virksomme terapeutiske midler ved mikrobielle infektioner hos varmblodede dyr. De er både virksomme ved parenteral og oral indgivelse, hvilket fremgår af forsøg med kyllinger. F.eks. injiceres natriumsaltet af 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre i halsen på daggamle kyllinger i mængder på ca. 50 mg pr. kylling. To grupper à 5 kyllinger behandlede på denne måde. Endvidere anvendtes to grupper à 5 kyllinger som kontrol-  
10 dyr. De fire grupper à 5 kyllinger indgaves intramuskulært 0,1 ml af en Salmonella typhimurium kultur. På den 6. dag taltes antallet af overlevende dyr i hver gruppe. Antallet af overlevende dyr indicerer forbindelsens aktivitet over for testorganismen. Resultaterne fremgår af tabel II. Natriumsaltet blev også indgivet ad oral vej ved at blande 200 g/ton af saltet i kyllingefoder, der hele tiden anvendtes til fodring efter udrugningen. Fire grupper à 9 kyllinger fik den angivne føde. Fire  
20 grupper à 9 kyllinger fik samme ration, men uden den aktive forbindelse. De 8 grupper à 9 kyllinger fik mikroorganismen ved, at man gav hver kyllingegruppe 50 ml af en kødsuppekultur af S. typhimurium i stedet for drikkevand, idet indtagelsen foregik i løbet af 24 timer. Antallet af overlevende dyr taltes den 10. dag. Forbindelsens orale aktivitet over for testorganismen indiceredes af forskellen i antallet af overlevende dyr i de behandlede og ubehandlede grupper. Tabel III viser resultaterne fra disse forsøg.

TABEL II

30 Antimikrobiel aktivitet af 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt, injiceret subcutant i daggamle kyllinger

---

	<u>Nr.</u>	<u>Behandling</u>	<u>Antal overlevende dyr (6 dage)/ samlet antal dyr</u>
5	1	1-ethyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt, 50 mg	4/5
	2	"	<u>3/5</u>
		Total	7/10
	1a	Inficerede kontroldyr	0/5
10	2a	" "	<u>0/5</u>
		Total	0/10

TABEL III

Antimikrobiel aktivitet af 1-ethyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt, blandet i føden til udrugede kyllinger

	<u>Nr.</u>	<u>Behandling</u>	<u>Antal overlevende dyr (10 dage)/ samlet antal dyr</u>
15	1	1-ethyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt, 200 g/ton	6/9
	2	"	0/9
	3	"	8/9
	4	"	Total <u>5/9</u>
			19/36
25	1a	Inficerede kontroldyr	0/9
	2a	" "	0/9
	3a	" "	3/9
	4a	" "	<u>1/9</u>
		Total	4/36
30		Endvidere beskyttede en injektion af 1-ethyl-6,7-methy-	

lendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt i halsen på 6 uger gamle stegekyllinger, der vejede ca. 600 g, de behandlede dyr mod indgivne doser af E. coli. Der anvendtes ti grupper à 10 dyr til forsøget. Seks af de 10 grupper injiceredes subcutant med den aktive forbindelse. De sidste fire grupper tjente som inficerede kontroldyr. Der indgaves doser på 50, 100 og 200 mg/kg. Hver kyllings luftrør injiceredes straks efter behandlingen med 0,5 ml af et 10 gange fortyndet 24 timer gammelt tryptose-næringsmedium af en E. coli stamme, idet halvdelen af grupperne indgaves Gross-stammen, og den anden halvdel Glantz-stammen. Syv dage efter behandlingen slagtedes de overlevende kyllinger og obduceredes. Hver kylling undersøgtes for luftrørsskader, pericarditis og periheptatitis. Middelskadeantallet for hver gruppe bestemtes ved at tildele hver kylling tal efter følgende skala: 4 = død før dagen, hvor de overlevende dyr slagtedes; 3 = luftrørsskader plus pericarditis plus periheptatitis; 2 = luftrørsskader plus enten pericarditis eller periheptatitis; 1 = luftrørsskader; 0 = ingen skader. Alle tallene for en gruppe lagdes sammen, og summen divideredes med antallet af kyllinger i gruppen. Et middelskadeantal på 4,0 betyder, at alle kyllingerne døde før forsøgets afslutning, medens 0,0 betyder, at ingen af kyllingerne døde før slagtningen eller viste nogen form for skade. Taldifferencen mellem de behandlede og ubehandlede kyllinger indicerer forbindelsens aktivitet over for testorganismen. Resultaterne af disse forsøg er anført i tabel IV.

#### TABEL IV

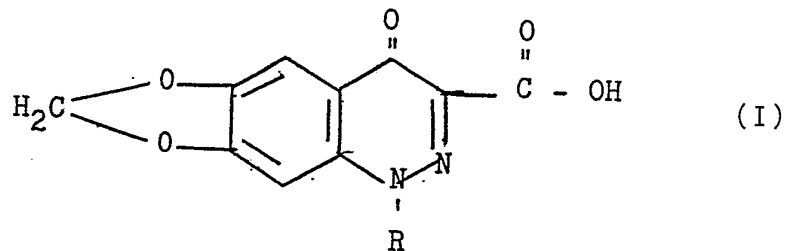
Antiinfektiv aktivitet af 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyre, natriumsalt, injiceret subcutant i 6 uger gamle kyllinger

	<u>Behandling</u>	<u>Antal kyl-</u> <u>linger i</u>	<u>E. Coli</u>	<u>Middel-</u> <u>skade-</u> <u>antallet</u>
		<u>forsøget</u>	<u>stamme</u>	
5	1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)- oxocinnolin-3-carboxylsyre, na- triumsalt, 50 mg/kg	10	Gross	0,9
	"	10	Glantz	1,9
10	1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)- oxocinnolin-3-carboxylsyre, na- triumsalt, 100 mg/kg	10	Gross	1,0
	"	10	Glantz	0,6
15	1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)- oxocinnolin-3-carboxylsyre, na- triumsalt, 200 mg/kg	10	Gross	0,0
	"	10	Glantz	0,5
	Inficerede kontroldyr	10	Gross	1,7
	" "	10	Gross	2,6
	" "	10	Glantz	1,7
	" "	10	Glantz	2,3
20	De omhandlede 1-substituerede 6,7-methylendioxy-4(1H)- oxocinnolin-3-carboxylsyrer og deres salte har ringe toxicitet over for pattedyr. Eksempelvis kan nævnes, at hvis natriumsaltet af 1-ethyl-6,7-methylendioxy-4(1H)- oxocinnolin-3-carboxylsyre indgives mus i så store doser			
25	som 200 mg/kg intraperitonealt eller 500 mg/kg oralt, dør ingen af musene.			

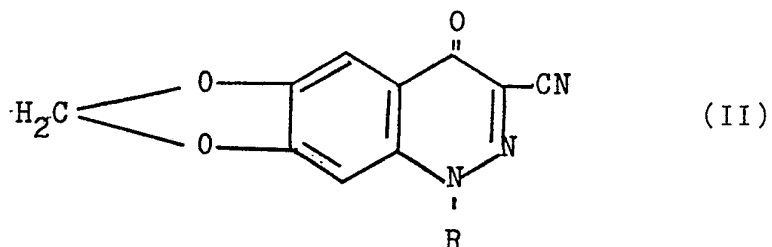


P a t e n t k r a v :

1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af 1-substituerede 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-carboxylsyrer med den almene formel



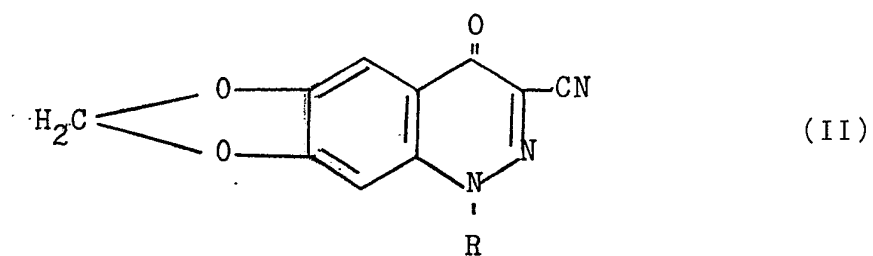
5 hvori R betegner methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl eller allyl, eller salte deraf med alkalimetaller eller jordalkalimetallerforbindelser, ammoniak eller aminer med pKa-værdier over 7,5, k e n d e t e g n e t ved, at man hydrolyserer et nitril med formlen



10 hvori R har den ovenfor anførte betydning, hvorefter man om ønsket overfører en dannet forbindelse med formel I i et salt ved omsætning med en alkalimetaller eller jordalkalimetallerforbindelse med ammoniak eller med en amin med en pKa-værdi over 7,5.

15 2. Analogifremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at R er ethyl.

3. 1-substitueret 6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxocinnolin-3-nitril til anvendelse som udgangsmateriale ved fremgangsmåden ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at det har den almene formel



hvor R betegner methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl,  
n-butyl eller allyl.