

358711

PATENTE DE INVENCION

Case No. 22.305.



Memoria Descriptiva

sobre:

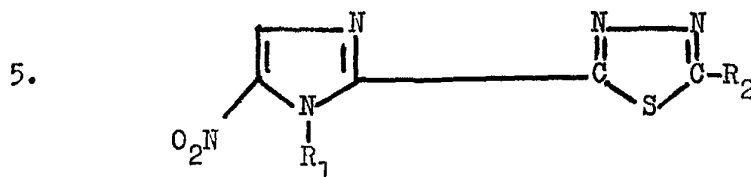
"Procedimiento para la obtención de
derivados imidazólicos"

=====

Solicitante: AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, resi-
dente en Berdan Avenue, Township of Wayne, Estado de New
Jersey, EE.UU. de A.

=====

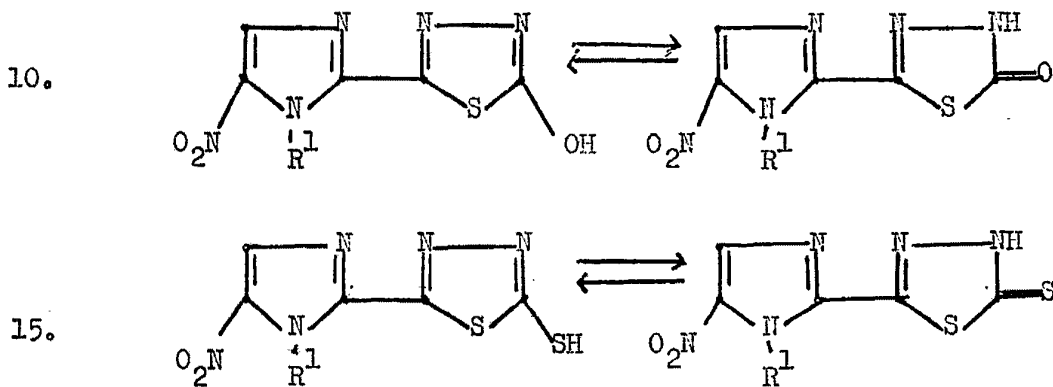
La presente invención se refiere a un procedi-
miento para la obtención de derivados imidazólicos que
responden a la fórmula general



2 OCT. 

en la que R₁ se elige del grupo que consiste en alquilo inferior e hidroxil alquilo inferior; y R₂ se elige del grupo que consiste en halógeno hidroxilo, mercapto y azido.

5. Cuando R₂ en la fórmula precedente es hidroxilo o mercapto, se comprenderá que dichos compuestos pueden existir en formas tautómeras, según se ilustra a continuación:



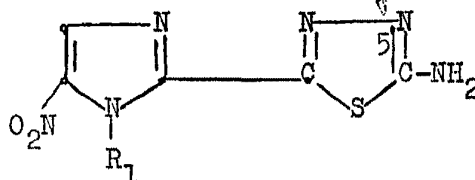
Se comprenderá que la descripción de los compuestos de hidroxilo y mercapto incluye en la presente invención las formas tautómeras.

20. En general, los compuestos de la presente invención son sólidos cristalinos cuyo color se extiende desde el amarillo hasta anaranjado y hasta castaño, de limitada solubilidad en agua, pero solubles en disolventes orgánicos tales como alcoholes alquílicos inferiores, acetona, acetato de etilo y similares.

25. Materiales de partida para los compuestos de la presente invención son correspondientes 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-yl)-1-sustituído-5-nitroimidazoles ilustrados mediante la siguiente fórmula:

30.

2 OCT.

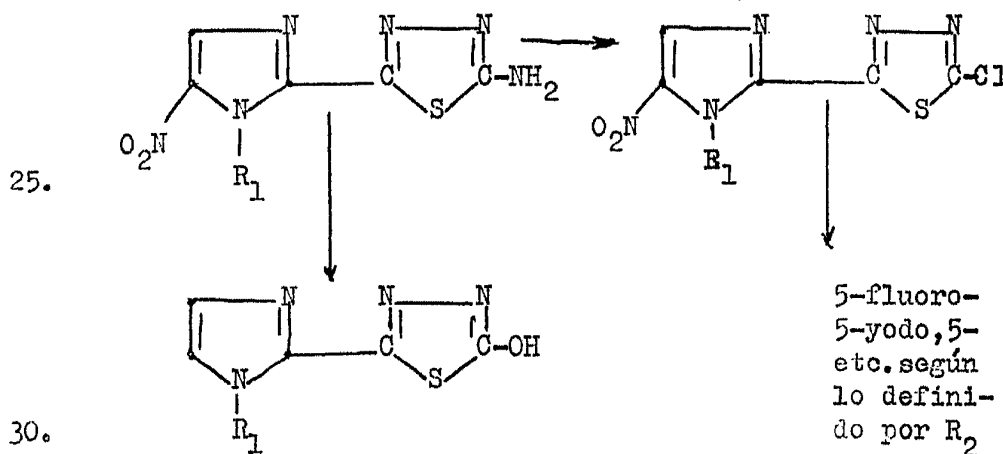


5. donde R₁ está de acuerdo con lo definido más arriba. Más adelante se describen los ejemplos de la preparación de estos materiales de partida.

10. Se convierte los compuestos 5-amino de partida a los compuestos de la presente invención mediante transformaciones químicas que comienzan con diazoación. Por ejemplo, el tratamiento de un compuesto 5-amino de partida con nitrito de sodio en ácido sulfúrico proporciona el correspondiente derivado 5-hidroxilado. El tratamiento de un compuesto 5-amino de partida con nitrito de sodio en ácido clorhídrico proporciona el correspondiente derivado 5-clorado. Otros compuestos de la presente invención pueden por lo general prepararse más convenientemente mediante el uso de los derivados 5-clorados y reacciones químicas ya conocidas, a las cuales se ilustra en la siguiente manera:

15.

20.





OCT. 1966

en la que R_1 está de acuerdo con lo definido más arriba.

5. Los compuestos de la presente invención, tales como 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol han demostrado actividades antibacterianas y antifungales in vitro. Para medir actividades antibacterianas y antifungales se emplea técnicas comunes de dilución en agar.

10. Se producen los compuestos, a los cuales se debe ensayar, en soluciones almacenables que contienen 12,5 mg. del compuesto de ensayo por cada mililitro en dimetil sulfóxido. Observando técnicas estériles, se producen diluciones seriadas a partir de cada solución almacenable del compuesto de ensayo. Se agrega entonces
15. diversos volúmenes de estas soluciones almacenables y cada una de las correspondientes diluciones seriadas a 10 ml, de agar nutritivo estéril normalizado a 45°C para producir concentraciones finales de 250; 125; 62,5; 31; 12,5; 6,2 y 3,1 µg del compuesto
20. de ensayo por cada mililitro del medio. Estas diluciones son suficientes para eliminar la inhibición causada por las cantidades relativamente muy pequeñas del dimetil disolvente, dimetil sulfóxido que todavía está presente. En el caso de las bacterias (organismos No.
25. 1 a No. 11) el agar nutritivo estéril normalizado en un medio acuoso que contiene 1,5% de agar, un agente nutritivo enzimático de caseína, un agente nutritivo enzimático de harina de soya, y los elementos de estos dos últimos. En el caso de los hongos (organismos No.
30. 12 a No. 19 inclusive) el agar nutritivo esteril nor-



- malizado es un medio acuoso que contiene 1,5% de agar, dextrosa, extracto de carne, asparagina y fosfato de potasio. En cada caso, los elementos de base ácida de los medios nutritivos normalizados son más que suficientes, por su concentración y efecto de regulación de pH, para manter el pH del medio cerca del punto neutro frente a cualquier acidez o alcalinidad inherente en las cantidades relativamente muy pequeñas de compuesto de ensayo que se incluyen, de manera que el procedimiento mide actividades a un pH neutro o cerca del mismo, cuando se ensaya dichos compuestos como sales ácidas, compuesto neutros o sales alcalinas. Se deja entonces enfriar en platinillos de Petri, de manera de formar placas de agar solidificado, las soluciones de agar nutritivo estéril normalizadas que contienen las diferentes diluciones de los compuestos de ensayo, juntamente con diluciones testigo apropiadas y comparables que no contienen compuesto de ensayo.
- 5.
 - 10.
 - 15.

- En la siguiente manera se preparan suspensiones de cada uno de los organismos de ensayo. A un caldo nutritivo normalizado se agrega inoculum apropiado de cada micro-organismo de ensayo y se incuba a 37°C durante 24 horas. En el caso de las bacterias y de los hongos, semejantes a levadura (organismos No. 12 y No. 13) se agrega un inoculum apropiado de cada micro-organismo de ensayo a un caldo nutritivo normalizado y se incuba a 37°C durante 24 hr. En el caso de los hongos dermatófitos (organismos No. 14, 15, No. 16, No. 17 y No. 18) y los hongos filamentosos (organismos No. 19), se obtiene suspensiones de esporos por lavado a partir
- 20.
 - 25.
 - 30.



- de la superficie de cultivos de plantas maduras de agar, usando solución salina acuosa al 0,9% que contiene 0,05% de surfactante (Una mezcla de ésteres polioxietilénicos de ésteres oléicos parciales mixtos de anhídridos de sorbitol obtenibles bajo la denominación comercial Tween 80). En cada caso se aplica entonces en forma de bandas, una espira llena de cada una de las suspensiones vivientes resultantes empleando siempre técnicas estériles) sobre la superficie de cada una de las placas de agar, y se incuba entonces las placas resultantes a 37°C durante 24 hr. (28°C durante 48 hr. para los hongos semejantes a levadura y 28°C durante 96 hr. para los otros hongos), después de lo cual se inspecciona visualmente cada
5. una de las bandas de cada una de las placas y se anota la extensión, si la hay, del crecimiento microbiano. El espectro antimicrobiano de cada compuesto se relaciona con la cantidad del compuesto que se necesita para inhibir el crecimiento. Se indica los resultados como concentraciones inhibitorias mínimas del compuesto de ensayo que causan inhibición completa del crecimiento. Los micro-organismos utilizado en el ensayo antibacteriano y antifungal descrito más arriba, son los siguientes:
- 10.
- 15.
- 20.

25.	<u>Organismos Nº</u>	<u>Identificación</u>
	<u>Bacterias</u>	
	1	<u>Mycobacterium smegmatis</u> ATCC 607
	2	<u>Staphylococcus aureus</u> cepa Rose ATCC 15154
30.	3	<u>Staphylococcus aureus</u> cepa Smith ATCC. 13709



- 4 Streptococcus pyogenes C-203
- 5 Salmonella typhosa ATCC 6359
- 6 Proteus vulgaris ATCC 9484
- 7 Escherichia coli U 311
- 5. 8 Escherichia coli DY
- 9 Klebsiella pneumoniae "A" cepa AD
- 10 Aerobacter cloacae 75
- 11 Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145

10. Hongos semejantes a levadura

- 12 Candida albicans
- 13 Cryptococcus neoformans

Dermatófitos

- 14 Trichophyton tonsurans
- 15. 15 Trichophyton mentagrophytes
- 16 Trichophyton rubrum
- 17 Microsporum canis
- 18 Microsporum gypseum

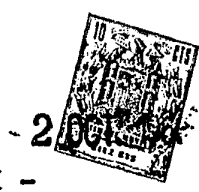
Hongos filamentosos

- 20. 19 Phialophora jeanselmei

Compuestos representativos de la presente invención, como por ejemplo 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol y 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol, han sido ensayados con respecto a sus actividades antibacteriana y antifungal mediante el ensayo in vitro microbiológico descrito más arriba.

En las siguientes Tablas I y II se resumen los resultados.

30.



- T A B L A I -

5. Activiades antibacterianas de 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol (Compuesto A) y 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol (Compuesto B) en microgramos por mililitro, que causa inhibición.

	<u>Organismo</u>	<u>Compuesto A</u>	<u>Compuesto B</u>
	1	250	125
	2	31	125
10.	3	31	125
	4	62	>250
	5	125	31
	6	>250	250
	7	31	125
15.	8	31	125
	9	15	31
	10	125	>250
	11	250	>250

20. Los símbolos > significan "mayor que", y >250 indica que ninguna concentración medida causa inhibición.

T A B L A II

25. Activiades antifungales de 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol (Compuesto A) y 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol (Compuesto B) en microgramos por mililitro que causa inhibición

	<u>Organismo</u>	<u>Compuesto A</u>	<u>Compuesto B</u>
	12	250	125
	13	15	31
	14	125	6,2
30.	15	125	6,2



1963

16	125	15
17	125	6,2
18	250	6,2
19	>250	250

5. El simbolo > significa "mayor de", y >250 indica que ninguna concentración medida causa inhibición.

Los compuestos de la presente invención tales como 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitrotiazol, han demostrado actividad como amebicidas. Se mide las actividades mediante un ensayo descrito por W. R. Jones, "The, Experimental Infection of Rats with Entamoeba Histolytica; with a Method for Evaluating the Anti-amoebic Properties of New Compounds", annals of Tropical Medicine and Parasitology, Volumen 40, pags, 130-140-(1946).

15. El organismo de ensayo es Entamoeba Histolytica NIH 200.

20. Se mantiene los cultivos sobre un medio de infusión de Hígado Cleveland Collier con suero y solución salina 1:1 aplicado sobre placas inclinadas en tubo de ensayo 3 x 5. Se agrega polvo de arroz como factor de crecimiento. Se transfiere cultivos a intervalos de 5 días y se mantiene a 37°C. Se usa un cultivo

25. de 48 hrs. para el inoculum de ensayo y se cosecha en la mañana del ensayo, recogiendo el sedimento, que contiene polvo de arroz y amebas, que se encuentra en la juntura entre el extremo y la sal. Se lleva a cabo un recuento de las amebas y se ajusta la cantidad de inoculum para inyección de manera que contenga

30.



- ga aproximadamente 200.000 a 250.000 amebas. Se usa ratas albino de la variedad Fomale Wistar de las Royal Hart Farms, que pesan 20 a 35 gramos. Se expone el intestino ciego durante la laparatomía y se inyecta elinoculum, rico en amebas, en la sección anterior. Se cierra la incisión con autoclips. Los procedimientos son estériles durante el curso completo de la cirugía.
5. A las ratas infectadas se las divide al azar en grupos de 10. Se comienza el tratamiento el día de la infección.
10. Se premezcla drogas en un alimento normalizado para laboratorio obtenible bajo la denominación Purina Lab. Chow de Ralston Purina Company. Se mantiene las ratas con la dieta con droga durante 5 días, al término de los cuales se las necropsia y se examina el intestino ciego tanto microscópicamente con respecto a particularidades patológicas de infección, como microscópicamente con respecto a la presencia de amebas. Se registra fuentes de cada una con respecto a evidencias de mucosas, tejidos fibrosos o lesiones o inflamación.
15. Se anota una clasificación de uno para una comprobación de 1 a 20 amebas y 1 clasificación de dos para una comprobación de 1 a 20 amebas y 1 clasificación de dos para una comprobación de más de 20 amebas, sobre una preparación común sobre platina. Por lo tanto es posible una clasificación tal de 0, a 5 por taya en la necropsia. Se considera que la media aritmética de las A.D.I. combinadas en un ensayo o grupo testigo de ratas, es el grupo ADI. Se expresan las actividades en porcentaje de supresión del grupo ADI, de un grupo de ensayo con respecto al grupo ADI. o un grupo testigo. Se
- 20.
- 25.
- 30.



determina el consumo de compuesto de ensayo en base al peso de alimento consumido.

- Mediante el ensayo descrito más arriba, el compuesto N-(5-nitro-2-tiazolil)-imidazolidin-2-ona, que es un amebicida reconocido, muestra una supresión del 85% de testigos cuando se ensaya a una concentración de 0,05% en la dieta, consumiendo los animales de ensayo un término medio de 56 mg. por kilogramo de peso del cuerpo por rata por día. El compuesto 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol, de los compuestos de la presente invención, muestra una supresión del 97 de los testigos también a 0,05 % en la dieta, consumiendo los animales de ensayo 65 mg/kg. Valores comparables para dos otros compuestos de la presente invención, 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol y 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitroimidazol son 56% a 0,05% en la dieta y 72 mg. de consumo por kilogramo, y 70% a 0,025% en la dieta y 30 mg. de consumo por kilogramo.

- Compuestos de la presente invención tales como 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol han demostrado actividad como tricomonocidas en ensayos con animales proyectados para detectar esta actividad. Se inocula subcutáneamente ratones hembra (variedad MF-1) con aproximadamente 50,000 *Trichomonas vaginalis* (cepa Thoms) suspendidos en un medio de cisteína-peptona-infusión de hígado-maltosa descrito por Garth Johnson y Ray E. Trussell, "Experimental Basis for the Chemotherapy of Trichomonas vagi-



1968

- nalis Infestations I", Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, Volumen 54, págs. 245-249 (1934). En animales testigos, aproximadamente una semana después de la inoculación, el lugar de la inoculación queda marcado por un absceso subcutáneo que contiene numerosos trichomonas en un menestruo de pus. En los animales eficazmente tratados, los absesos son ya sea indetectables o de tamaño considerablemente reducido, y no se puede detectar trichomonas móviles en el material derivado de la lesión después de exámen microscópico prolongado. La presencia de un solo trichomonas móvil, después del tratamiento, es registrada como resultado negativo.

- El tratamiento mediante drogas de ensayo consiste ya sea en una o más dosis orales suspendidas en agar al 0,2% y administradas por alimentación forzada un día después de la inoculación o mediante administración en la dieta durante 5 días consecutivos comenzando un día después de la inoculación. La dieta es un alimento comercial para laboratorio obtenible bajo la denominación comercial Purina Lab. Chow. de Ralston-Purina Company. Se mezcla íntimamente el compuesto en el vehículo, ya sea el agar al 0,2% o el alimento movido para laboratorio. Se administra cada régimen a un grupo de ensayo que consiste en 5 o 10 ratones. Grupos testigo de 5 o 10 ratones reciben el vehículo solamente. Se estima dosis de alimentación forzada para el peso término medio de los ratones que se obtiene justamente antes de la dosificación. Se estima las ingestiones de droga resultante de la terapia con la dieta, en base a los



pesos término medio de los ratones y las ingestiones totales de alimento del grupo durante el periodo de tratamiento.

- Se compara las actividades en este ensayo
5. con la del 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol, que es un trichomonocida conocido y ampliamente reconocido. En este ensayo, resulta 100% eficaz el 1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-nitroimidazol cuando se le administra a una dosis de 0,1% de la dieta y cuando los ratones
 10. de ensayo consumen un término medio de 270 mg/kg. de peso del cuerpo del compuesto de ensayo por día. El mismo compuesto, cuando se le administra a una dosis de 0,05% de la dieta y cuando los ratones de ensayo consumen un término medio de 75 a 135 mg/kg. de peso del
 15. cuerpo del compuesto de ensayo por día, resulta 95% eficaz.

- Utilizando las mismas condiciones de ensayo, resulta 100% eficaz el compuesto 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol de la presente
20. invención, cuando se le administra a una dosis de 0,1% de la dieta y cuando los ratos de ensayo consumen un término medio de 265 mg/Kg. de peso del cuerpo del compuesto de ensayo por día. Bajo las mismas condiciones de ensayo resulta 20% eficaz el compuesto 2-(5-mercapto
 25. 1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol de la presente invención cuando se le administra a una dosis de 0,1 % de la dieta y cuando los ratones de ensayo consumen un término medio de 215 mg/kg. de peso del cuerpo de ensayo por día. También usando las mismas
 30. condiciones y procedimiento de ensayo, resulta 40%



eficaz el compuesto 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol de la presente invención cuando se le administra a una dosis de 0,5% de la dieta y cuando los ratones de ensayo consumen un término medio de 195 mg/Kg. de peso del cuerpo del compuesto de ensayo por día.

Otros compuestos de la presente invención, como por ejemplo el 2-(5-fluoro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol, tienen actividad anticoccidia na contra Eimeria tenella y Eimeria acervulina en ensayos con animales de acuerdo con lo siguiente: los animales de ensayo son gallipollos de craza Peterson obtenidos de Kerr Hatchery Frenchtown, Nueva Jersey, de un día de edad. A los seis días de edad se pesa individualmente los pollos y se los dispone en grupos del mismo peso en incrementos de 5 g. De estos grupos se selecciona aves al azar para inclusión en grupos del mismo peso de cinco o diez aves cada uno. Los grupos dentro de cada ensayo son uniformes con respecto a la gama de peso de sus pollos. Se presenta entonces apropiadamente dietas medicinales y testigo a los grupos de aves mientras están todavía en alojamientos no contaminados. Durante el periodo completo del ensayo las aves comen y beben ad libitum. Se mantiene grupos testigo con dieta comercial común para pollos no medicinales. Se mantiene grupos de ensayo con la misma dieta común pero a la cual se ha incorporado homogéneamente una concentración medida del compuesto del ensayo. Dentro de cada ensayo se forman grupos que no reciben medicina y grupos testigo que reciben



una droga de referencia común. Como patrón de droga de referencia se usa nitrofenida (que es bis-(3-nitrofenil) bisulfuro) a 0,025% de la dieta, contra Eimeria tenella y se usa N-(p-nitrofenil)-N⁴-acetilsulfanilamida a 0,03% en la dieta como patrón de droga de referencia contra Eimeria acervulina. Dos día después de la presentación de las dietas, se lleva las aves a sus jaulas en los alojamientos infectados donde se los inocula individualmente con oocistos de Eimeria tenella y Eimeria acervulina en la siguiente manera.

Se determina la cantidad de material de Eimeria tenella que se debe inocular, inmediatamente antes de su uso mediante cantidades determinadas de titulación, 1 ml y fracciones de 1 ml., en aves similares a las utilizadas en el ensayo. La cantidad de inoculum que proporciona una mortand de aproximadamente 90% en las aves de titulación, es utilizada en el ensayo usual de selección. Se almacena el inoculum en una heladera. Se prepara el inoculum para conservación inoculando aproximadamente 5000 oocistos esporulados en pollos que tienen una edad de 3 o más semanas. Ocho días después de la inoculación se mata las aves y se retira intacto los intestinos ciegos y se los dispone en un homogeneizador eléctrico. Se agrega suficiente cantidad de bicromato de potasio al 2,5% para hacer flotar al intestino ciego, y se mule entonces hasta que el material resultante tiene una consistencia uniforme. Se introduce el líquido en frascos de Erlenmeyer de 500 ml. hasta una profundidad de aproximadamente 2,54 cm. y se tapa flojamente los frascos. Los oocistos son esporulados mediante sacudimiento en una máquina sa-



cudimiento en una máquina sacudidora para acrea-
ción durante 48 a 72 hr. a la temperatura ambiente.

- En una manera similar se prepara el inocu-
lum de almacenamiento para E. acervulina, con excep-
5. ción de que se recoge el material retirando la por-
ción del intestino delgado comprendida entre la mo-
lleja y la chalaza de la yema, y moliendo para los
occistos. Después de la esporulación, se compara los
occistos de E. acervulina con el lote previo de occis-
10. tos por inoculación de 5.000, 10.000 y 25.000 occis-
tos esporulados en pollos de una semana de edad y exa-
minando con respecto a ganancias de peso, lesiones
y producción de occistos, comparables. Se prepara
entonces el inoculum de ensayo que contiene, por mi-
15. lilitro, la cantidad de inoculum de E. tenella que
proporciona aproximadamente 90% de mortandad por
titulación y 5.000 occistos de E. acervulina esporu-
lados.

- Se lleva a cabo la infección inoculando
20. 1 ml de inoculum, así preparado, directamente en
los buches de las aves mediante un tubo de material
plástico fijado a una jeringa. Se llena una jeringa
de 10 ml. con inoculum que ha sido ajustado de ma-
nera que la cantidad necesaria de occistos que deben
25. ser inoculados (según se determina por titulación pre-
via en pollos) está contenida en 1 ml. de fluido. Se
inocula 5 aves con el material de la jeringa y se re-
torna el resto del inoculum al envase de almacenamien-
to donde se le agita constantemente mediante un agi-
30. tador magnético. Después de la infección, se registra



los pesos del grupo al tercer día después de la inoculación, y en base a los mismos se calcula la ganancia porcentual término medio del peso. Hay relativamente poco efecto de la enfermedad en este tiempo, y las reducidas ganancias de peso, en comparación con los grupos testigo que no reciben medicina, indican la toxicidad de los compuestos. Se toma en este momento los pesos de alimento para los grupos testigo y cualquier grupo que indica toxicidad, y se calcula la ingestión término medio de alimento y droga para el grupo.

El ensayo termina al séptimo día después de la inoculación. Se pesa nuevamente aves en grupos "activos" para determinar la ganancia porcentual de peso. Se matan todas las aves sobrevivientes y las examina con respecto a lesiones debidas a las dos enfermedades. La eficiencia o actividad contra E. tenella se basa en la cantidad de sobrevivimientos entre los grupos de ensayo en comparación con la cantidad de sobrevivimientos entre los grupos testigo no tratados, en base a análisis estadísticos. La moderación de las lesiones y crecimiento de los pollos son otros criterios de eficacia. La actividad contra E. acervulina se basa en la prevención de lesiones y producción de oocistos.

Se ha comprobado que el compuesto 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol de los nuevos compuestos de la presente invención, cuando se le ensaya mediante el mismo procedimiento, resulta activo contra Eimeria tenella a una concentración de 0,0005% de la dieta. Ensayado mediante el mismo método, se comprueba que los compuestos 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-



1-etil-5-nitroimidazol y 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitroimidazol de la presente invención son activos contra Eimeria tenella a concentraciones de 0,0125% de la dieta. Ensayado mediante el mismo método, se comprueba que el compuesto 2-(5-fluoro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol de la presente invención es activo contra Eimeria tenella a una concentración de 0,0178% de la dieta.

10. Como antibacterianos o antifungales, se puede administrar los compuestos de la presente invención ya sea oral o parenteralmente en las formas farmacéuticas usuales, o posiblemente en la dieta, y/o como composiciones de ingrediente activo en un vehículo comestible. Estas composiciones incluyen tabletas, acanaladas o no, 15. o cápsulas de cáscara dura o blanda. Los excipientes pueden incluir lactosa, almidón, reguladores de pH, agentes desintegrantes, lubricantes, agentes homogeneizadores y similares. Las composiciones parenterales pueden incluir agentes similares y también protectores, emulsio- 20. nantes, surfactantes y similares, en soluciones, suspensiones, jarabes, etc. Excipientes adicionales pueden incluir edulcorantes, aromatizantes, colorantes, o perfumes. También pueden resultar útiles preparaciones para tópicos. Estas composiciones estarán proyectadas para 25. administración a sujetos expuestos a bacterias sensibles u hongos, o infectados por los mismos, ya sea para tratamiento o profilaxis.

Además, se puede usar los compuestos de la presente invención bajo la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, lavados, polvos, nieblas, jabones, u 30.



5. otras formas para finalidades de limpieza, desinfección o esterilización de objetos de vidrio o instrumentos de laboratorio, paredes de hospitales u otras superficies, lencería, vajilla o similares, Se puede incorporar estos compuestos a jabones, detergentes, rociados o similares en el hogar, graneros, jaulas, gallineros, granjas u otros lugares en que se persigue la finalidad de impedir o reducir al mínimo la infección o contaminación con bacterias u hongos sensibles.
10. Como amebicidas, trichomonocidas o antiooccidios, se pueden preparar los compuestos de la presente invención en cualquier de las formas indicadas más arriba, aunque se considera que es probable que serán especialmente importantes las preparaciones para administración oral contra infección por organismos sensibles.
15. En resumen, se anticipa que los compuestos de la presente invención demostrarán ser ampliamente útiles en una gran variedad de vehículos, modos o medios de administración o dispersión para los fines de reducir el mínimo, prevenir, controlar, tratar, mejorar o curar la infección o contaminación con organismos sensibles. La amebiasis (disenteria amófica) es una enfermedad parasitaria importante y seria en los animales superiores de sangre caliente y también en caballos, ganado vacuno, perros, ovejas, cabras, conejos, ratas, ratones, ardillas, monos y otros. El Entamoeba más importante es la clase Sarcodina, siendo la especie individual mas importante Entamoeba histolytica. Trichomoniasis es una enfermedad parasitaria de los animales de sangre caliente. La coccidiosis es una enfermedad parasitaria ampliamente difundida.
- 20.
- 25.
- 30.



da en animales, que causa mayor pérdida económica de animales domésticos y de caza en los climas templados, que cualquier otra enfermedad protozoaria. La coccidiosis es la enfermedad parasitaria mas importante de los pollos, siendo los agentes causales más importantes Eimeria tenella y Eimeria necatrix.

Los siguientes ejemplos describen en detalle la preparación de 2-(5-sustituido-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-sustituido-5-nitroimidazoles representativos de la presente invención.

EJEMPLO 1

Preparación de 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol

Mientras se agita magnéticamente, se somete a reflujo durante aproximadamente 18 horas, una mezcla de 4,71 g. (0,03 mol) de 1-metil-2-hidroximetil-5-nitroimidazol y 13,3 g. (0,03 mol) de tetra-acetato de plomo en 200 ml. de benceno, y luego se la enfría y se la filtra. Se lava el filtrado con 50 ml. de solución saturada de carbonato de sodio. Se separa entonces la fase orgánica y se extrae dos veces la fase acuosa con 30 ml. de cloroformo. Se seca entonces la fase combinada sobre sulfato de magnesio. Después de filtrar y evaporar hasta sequedad la fase orgánica, el filtrado proporciona 4,2 g. de 1-metil-5-nitro-2-imidazolcarboxaldehído, de color amarillo claro, al cual se disuelve en 25 ml. de etanol caliente, y se agrega entonces a 2,5 g. de tiosemicarbazida en 20 ml. de etanol caliente que contiene dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se hace hervir entonces la mezcla durante unos pocos minutos con agitación, se la en-



- fría y se recoge cristales de color amarillo brillante de la tiosemicarbazona del precedente aldehído. El proceso suministra 5,3 g., lo cual representa un rendimiento global de 77,4%, teniendo dicho material un punto de fusión de 227°C (descomposición). A 25 ml. de agua caliente que contiene 5,7 g. de dodecahidrato de sulfato de amonio férrico se agrega 2,68 g. de la precedente tiosemicarbazona y se agita magnéticamente la mezcla en un baño de agua hirviente. Después de una hora, se agrega a la precedente mezcla otros 75 ml. de agua caliente que contiene 17,1 g de dodecahidrato de sulfato de amonio férrico. Se calienta entonces la mezcla durante aproximadamente tres horas en un baño de agua hirviente y se filtra mientras todavía está caliente de manera de obtener cristales de color castaño anaranjado a los cuales se lava íntimamente con agua caliente. El rendimiento es 2,7 g, teniendo un punto de fusión de 259 a 260°C (descomposición). Se disuelve este producto en aproximadamente 20 ml. de dimetilformamida caliente, se filtra y se vierte sobre hielo el filtrado caliente. Se lava íntimamente el producto, así precipitado, primeramente con agua y luego con acetona fría, de modo de obtener un producto amarillo cuando se le seca bajo presión reducida a 100°C durante varias horas. El producto purificado, 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol, pesa 1,55 g. y tiene un punto de fusión de 268 a 270°C (descomposición).

- Se enfría a 10°C una solución de 2,26 g (0,01 mol) de 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en 50 ml. de ácido sulfúrico concentrado, se agi-



- ta y se trata con una solución de 2,0 g. (0,029 mol) de nitrito de sodio en 10 ml. de agua durante 15 minutos. Se mantiene la mezcla de reacción entre 10 y 17°C mediante enfriamiento externo. Después de completar la
5. adición del nitrito de sodio, se deja reposar la mezcla a la temperatura ambiente durante 16 horas. Se neutraliza parcialmente la solución de color amarillo claro (pH 4-5), se recoge el precipitado, se le lava con agua, se le seca y se le recrystaliza en acetona de manera
10. de obtener 1,1 g. de sólido de color amarillo que tiene un punto de fusión de 241-242°C.

EJEMPLO 2

Preparación de 1-etil-2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-5-nitroimidazol

15. Se prepara este compuesto en una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1, pero sustituyendo el 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-etil-5-nitroimidazol por 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol. El compuesto es un sólido de color castaño amarillento que tiene un punto de fusión de 228-230,5°C.
- 20.

EJEMPLO 3

Preparación de 2-(5-hidroxi-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxi-etil)-5-nitroimidazol

25. Se prepara el compuesto, descrito más arriba, en una manera similar al Ejemplo 1, pero reemplazando el 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol por 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-hidroxietil-5-nitroimidazol. El producto tiene un punto de fusión de 184-186°C.

30.

EJEMPLO 4



Preparación de 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol

5. Se disuelve una solución de 1,3 g. (0,0058 mol) de 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol (preparado de acuerdo con el Ejemplo 1) en 25 ml. de ácido clorhídrico concentrado, se enfría a 5^oC, se agita, y se trata durante 5 minutos con una solución de 0,50 g. (0,0073 mol) de nitrito de sodio en 2 ml. de agua. Se mantiene la mezcla a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se recoge el precipitado que está presente, se le lava con agua, se le seca y se le extrae entonces en acetona caliente. La separación de la acetona deja un residuo sólido al cual se recristaliza en una mezcla de acetona y éter dietílico de manera de obtener 0,16 g. de cristales amarillos que tienen un punto de fusión de 135 a 137^oC.

EJEMPLO 5

Preparación de 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitroimidazol

20. Se somete a reflujo una porción de 6,27 g. de 1-(2-acetoxietil)-2-hidroximetil-5-nitroimidazol con 13,3 g. de tetra-acetato de plomo, en 200 ml. de benceno durante 18 horas, se enfría y se filtra. Se lava el filtrado con 50 ml. de solución saturada de carbonato de sodio, y se separa de ella la fase orgánica. Se extrae dos veces la fase acuosa restante en 30 ml. de cloroformo y se combina entonces con la fase orgánica separada de acuerdo con lo descrito más arriba. Se secan las fases orgánicas combinadas bajo sulfato de magnesio y se las filtra. Se separa entonces los disolventes orgánicos



- bajo presión reducida de manera de obtener 1-(2-acetoxietil)-5-nitro-2-imidazolcarboxialdehído. Se trata una muestra de 14,25 g. del precedente aldehído con 5,72 g. de tiosemicarbazida en 150 ml. de etanol al 95% que contiene una gota de ácido clorhídrico concentrado y se calienta la mezcla sobre baño de vapor durante 20 minutos. Se filtra la solución caliente para separar los materiales insolubles, se la enfría y se recoge los cristales de color castaño amarillento. El rendimiento de
5. 1-(2-acetoxietil)-5-nitro-2-imidazolcarboxialdehído
10. tiosemicarbazona es 18,8 g. después de secar en un horno bajo presión reducida a 60°C durante 2-1/2 horas. La recristalización del producto proporciona un sólido de color amarillo que tiene un punto de fusión de 161-183,5°C.
15. Se agrega la tiosemicarbazona (12 g.) a 77 g. de dodecahidrato de sulfato de amonio férrico en 500 ml. de agua a 60°C y se calienta la mezcla a 90-100°C durante 4 horas. Se enfría la mezcla, se recoge el sólido y se le lava con agua. Solamente 0,92 g. (punto de fusión 249-251°C del producto) es soluble en un gran volumen de acetona. Se disuelve el producto restante en 150 ml. de dimetilformamida, se filtra y se evapora el filtrado hasta sequedad de manera de obtener un sólido. Se trata
20. este sólido con aproximadamente 20 ml. de acetona, se forma una lechada, se enfría y se recoge de manera de obtener cristales amarillos. Después de secar en una corriente de aire durante la noche, se obtiene 5,5 g. (punto de fusión 253,5-255°C) de 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitroimidazol. Se enfría a
- 25.
- 30.



- 10°C una solución de 3,0 g. de 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-(2-hidroxietil)-5-nitroimidazol en 40 ml. de ácido clorhídrico concentrado y se trata gota a gota con una solución de 4,0 g. de nitrato de sodio en 15 ml. de agua durante 15 minutos. Se agita la mezcla a la temperatura ambiente durante 5 horas y se la almacena entonces a 5°C durante la noche. Se recoge el precipitado, se le lava con agua, se le seca y se le extrae entonces con 3 porciones de 50 ml. de acetato de etilo caliente.
5. Se combina los extractos de acetato de etilo, se los lava con solución de bicarbonato de sodio y se los seca sobre sulfato de magnesio. La separación del acetato de etilo deja un sólido de color amarillo que, por recristalización en 50 ml. de acetato de etilo, proporciona 1,4 g. del compuesto puro que tiene un punto de fusión de 166-168°C.
10. 15.

EJEMPLO 6

Preparación de 2-(5-fluoro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol

20. Se concentra una mezcla de 10 g. de dihidrato de fluoruro de potasio y 350 ml. de dimetilformamida hasta un volumen de 150 ml. por hervor en un vaso abierto. Se enfría entonces la suspensión y se agrega en una sola vez 7,4 g. de 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol. Se somete la mezcla a reflujo durante una hora y se la diluye con 500 ml. de agua fría. Se recoge el sólido, así precipitado, sobre una masa de tierra de diatomeas y se le seca. Se extrae el sólido con 400 ml. de etanol hirviente, y se concentra el extracto etanólico hasta sequedad bajo presión reducida. Se disuel
25. 30.



- ve el sólido residual en una mezcla hirviente de 10 ml. de benceno y 20 ml. de n-hexano, se decolora la solución con carbón activado y se la enfría a -10°C . Se obtiene 1,7 g. de un sólido de color tostado claro que tiene un punto de fusión de $113-115^{\circ}\text{C}$.

5. Se puede preparar también este compuesto tratando 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en ácido fluorobórico al 48% con solución de nitrito de sodio, recogiendo el borofluoruro de diazonio precipitado y descomposición térmica cuidadosa al derivado fluorado.

EJEMPLO 7

Preparación de 2-(5-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol

15. Se agrega 2 g. de tiourea a una solución hirviente de 4,9 g. de 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en 150 ml. de etanol. Pronto se presenta un precipitado de color amarillo brillante. Se somete la mezcla a reflujo durante 90 minutos, se recoge entonces el precipitado, se le lava con etanol y se le seca; el rendimiento es 3,3 g., punto de fusión $236-237^{\circ}\text{C}$ (descomposición).

20. Se puede preparar también este compuesto tratando 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en solución de ácido clorhídrico con una solución acuosa de nitrito de sodio, y agregando entonces la solución resultante de cloruro de diazonio a una solución acuosa de sulfuro ácido de potasio o etil xantato de potasio.

- 30.

EJEMPLO 8



Preparación de 2-(5-azido-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol

Se trata una solución de 5,0 g. de 2-(5-cloro-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en 80 ml. de dimetil sulfoxido con 2,0 g. de azida de sodio en polvo. Se agita la mezcla a la temperatura ambiente durante 2 días y se la agrega entonces a 500 ml. de agua fría. Se recoge el precipitado anaranjado, se le lava con agua y se le seca y se le recristaliza entonces entre 300 ml. de etanol de manera de obtener 1,4 g. de producto que se descompone a 138-139°C con vigoroso desprendimiento de gas.

Se puede preparar también este compuesto tratando 2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1-metil-5-nitroimidazol en solución de ácido clorhídrico con una solución de nitro de sodio, y agregando entonces la solución de sal de diazonio a una solución acuosa de azida de sodio.

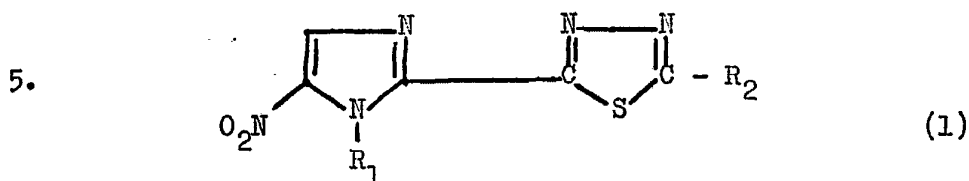
NOTA

Descrita suficientemente la naturaleza del invento así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente presentada en Norteamérica con el nº Ser. No. 672.456 de 3 de Octubre de 1967, acogiendo por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España sobre: "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE DERIVADOS IMIDAZOLICOS", caracterizándose por lo

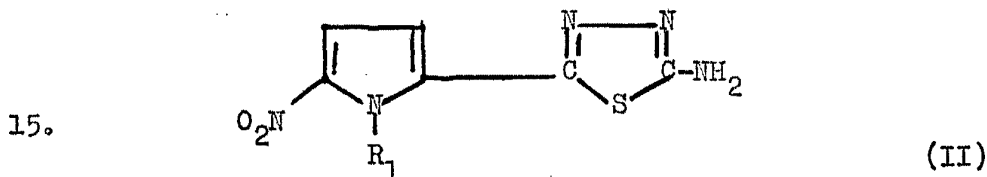


siguiente:

1.- Procedimiento para la obtención de derivados imidazólicos de fórmula general:



10. en la que R₁ se elige del grupo que consiste en alquilo e hidroxialquilo inferior; y R₂ se elige del grupo que consiste en halogeno hidroxilo, mercapto y azido, caracterizado porque se hace reaccionar un compuesto de fórmula:



20. en la que R₁ tiene el significado anteriormente indicado, con nitrito de sodio, en un medio ácido para formar la correspondiente sal de diazonio y transformar la sal de diazonio al correspondiente derivado 5-hidroxilado o 5-halogenado y, en caso dado, se, agrega el derivado 5-hidroxilado o 5-clorado a una solución de etilxantato de potasio o azida de sodio para formar el correspondiente compuesto mercapto o azido.

25. 2.- Procedimiento para la obtención de derivados imidazólicos, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

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

2 OCT. 1968

Madrid,

AMERICAN CYANAMID COMPANY.

GOMEZ ACEBO Y MODER
p. Firmado: F. Hernández Riba