

COMO DIVISIONAL DE LA SOLIC. DE PAT. 440,584 DEL 29 DE AGOSTO 1975.

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

ES	11	NUMERO	455512	A 1
	21	FECHA DE PRESENTACION	31-1-1977	

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
51	NUMERO				
	502,130		30-8-1974		Estados Unidos

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			C07D//A61K		

64	TITULO DE LA INVENCION
	UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS N-2-(6-HIDROXI BENZOTIAZOLIL)-N'-FENIL (6 FENILO SUSTITUIDO)-UREAS.

71	SOLICITANTE (S)
	ELI LILLY AND COMPANY

	DOMICILIO DEL SOLICITANTE
	P.O. Box 618, Indianapolis, Indiana 46206, Estados Unidos

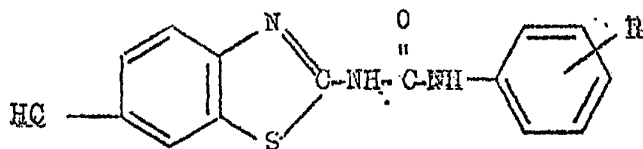
72	INVENTOR (ES)
	Charles Johnson Paget; Jr; James Howard Wikel y Edward Ralph Lavagnino. Todos ellos de nacionalidad estadounidense, los cuales han cedido sus derechos a la Cia. solicitante.

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE
	D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

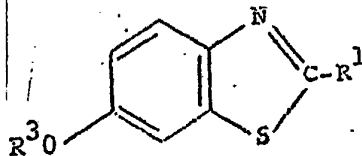
1 La invención se relaciona con un procedimiento para la preparación de nuevas N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenil (o fenilo sustituido)-ureas. Las ureas son útiles como inmuno-reguladores.

5 La invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula



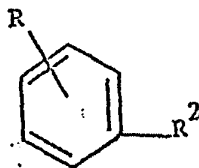
Fórmula I

en donde R es hidrogeno, alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3) o halo, caracterizado por hacer reaccionar un benzotiazol de fórmula



Fórmula V

con un compuesto de fenilo sustituido de fórmula



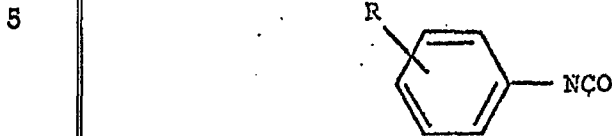
Fórmula VI

25 en donde R es hidrogeno, alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3) o halo; R^1 y R^2 son $-N=C=O$ ó $-NH_2$, R^2 es $-NH_2$ cuando R^1 es $-NCO$ y R^2 es $-NCO$ cuando R^1 es $-NH_2$; y R^3 es un grupo protector seleccionado entre el grupo que consiste en $-Si(CH_3)_3$

30 y R e hidrolizar el compuesto resultante.

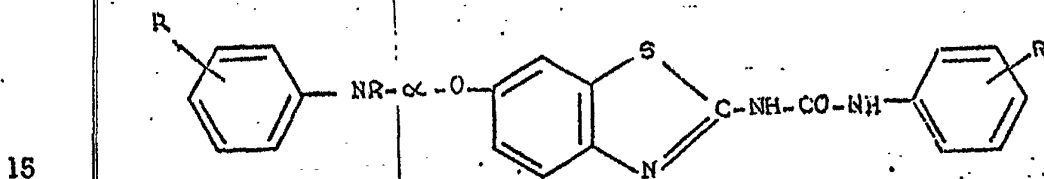
En una modalidad de la invención un compues-

1 to de Fórmula I se prepara haciendo reaccionar 2-amino-6-
hidroxibenzotiazol con 1-2 moles de un isocianato de feni-
lo de fórmula



Fórmula II

10 en donde R es hidrógeno, alquilo (C₁-C₃), alcoxi (C₁-C₃) o
halo; hidrolizando cualquier compuesto de 6-carbamoiloxi -
así obtenido de fórmula



Fórmula III

20 en donde R tiene el mismo significado que se dió anterior-
mente; con una base del grupo que comprende hidróxidos y
carbonatos de metal alcalino, alcoholatos de metal alcali-
no hidróxido de amonio e hidróxidos de amonio sustituidos -
con alquilo (C₁-C₂), en un disolvente inerte a una tempera-
tura no mayor de aproximadamente 100° C.

25 Los 2-sustituído-bencimidazoles, benzotiazoles y
benzoxazoles han sido propuestos recientemente para una va-
riedad de usos, principalmente en el campo agrícola. Por
ejemplo, los 2-trifluormetilbencimidazoles son referidos co
mo herbicidas extremadamente activos de acuerdo con la Pa-
tente de la Gran Bretaña No. 1.087.561. Los compuestos des-
critos en la misma también son referidos como que tienen -
30 propiedades moluscocidas, insecticidas y fungicidas. Otros

1 2-sustituído-bencimidazoles se han encontrado que son cocci
diostatas activos. En particular, el 2-(4-tiazolil)-bencimi
dazol (tiabendazol) está siendo actualmente como antihelmín
5 do dados a conocer como teniendo propiedades antivirales -
(véase la Patente de los Estados Unidos No. 3.331.739). Aun
que el uso de los benzoxales y benzotiazoles en las áreas -
anteriores no ha sido explorado muy a fondo como el de los
bencimidazoles, sin embargo, existe interés considerable en
10 los compuestos de su estructura, particularmente como cocci
diostatas.

Los derivados de urea de las clases de compuestos
anteriores, se describen poco en la técnica. La N-(2-benzo
15 tiazolil)-N'-fenil-urea está descrita en Chem. Abs., 29, -
2660; 55, 8389; 57, 801; el compuesto de 4-metilo correspon
diente está descrito en Chem. Abs., 25, 104; 50, 1776-1777;
y el derivado de 5-metoxi correspondiente está descrito en
Chem. Abs., 52, 20673. La N-(2-bencimidazolil)N'-fenil-urea
20 está descrita en Leilstein, 24 (II), 62 y Chem. Abs., 15, -
3077. Además, la Patente de los Estados Unidos No. 3.299.085
describe las N-(2-benzotiazolil) o N-(2-benzoxazolil)-N'-
ureas alifáticas de C₁-C₅ como intermediarios en la prepara
ción de ciertos herbicidas y la Patente de los Estados Uni
dos No. 3.162.644, describe las 2-benzoxazolil-ureas, úti
25 les como reguladores del crecimiento de las plantas y rela
jantes musculares. Las Patentes de los Estados Unidos Nos.
3.399.212; 3.336.191; y 3.401.171, describen las bencimida
zolil-ureas mencionando que son antihelmínticos. Finalmente,
30 la Patente Sudafricana 68/4748 (Derwent Pharmdoc número bá
sico 36565) describe las benzotiazolil-ureas como antiapti-

1 cos en composiciones detergentes.

5 Recientemente, los agentes inmunosupresores es-
tán teniendo prominencia debido a su empleo durante tras-
plantes de órganos de un ser humano a otro, tales como en -
10 los trasplantes de corazón y, en particular, en los tras-
plantes de riñón. Es parte de la defensa del mecanismo de -
los seres humanos intentar eliminar los antígenos extraños
(en este caso, el órgano trasplantado) por medio de la reac-
ción inmunológica. De ésta manera, en todas las operaciones
de trasplante de órganos, ha sido necesario administrar --
grandes dosis de inmunosupresores antes de la operación y -
continuarla posteriormente con objeto de evitar que el hués-
ped rechace el órgano del donador. El inmunosupresor que se
15 selecciona es la azatioprina, IMURAN[®] (Patente de los Esta-
dos Unidos No. 3.056.785).

20 La Patente Belga No. 744.970 concedida el 27 de
julio de 1970 (véase también la Patente del Reino Unido No.
1.296.561, publicada el 15 de noviembre de 1972) describe -
el uso de un número de 6-sustituído-benzotiazolil-fenilureas
incluyendo la N-2-(6-metoxibenzotiazolil)-N' - fenilurea. Los
compuestos se mencionan como útiles como inmunosupresores e
25 inmunoreguladores.

30 La respuesta inmune está compuesta de una secuen-
cia de transformaciones celulares y acontecimientos bioquími-
cos que conducen a una respuesta bimodal a las sustancias -
extrañas (antígenos). Las células que están para participar
en la respuesta se desarrollan de las células base que se -
originan en la médula ósea y están sembradas fuera de los -
órganos linfoides periféricos. De estos últimos sitios, des-
pués del estímulo antigénico, la respuesta del cuerpo es ele

1 vada en la forma de células plasmáticas (que producen el -
anticuerpo) y linfocitos inmunes específicos. El anticuer-
po es liberado en el sistema circulatorio y por lo tanto -
puede actuar a distancia de la célula productora (inmunidad
5 humoral). Los linfocitos inmunes específicos también entran
en el sistema circulatorio y actúan en el sitio de la le-
sión (inmunidad celular). La reacción del anticuerpo con -
el antígeno provoca la liberación de histamina de los leu-
cocitos basofílicos; la histamina, a su vez, altera la per-
meabilidad de los vasos sanguíneos, acelerando el flujo o -
10 afluencia tanto del anticuerpo como de los linfocitos inmu-
nes específicos en los sitios de la lesión. Por lo tanto, -
la respuesta inmune está compuesta de una serie de eventos
bioquímicos en una secuencia de células en diversos sitios
15 del cuerpo. Puede alterarse -suprimirse, en el caso de los
compuestos que se discuten en la presente- en un número de
sitios de desarrollo bioquímico o celular.

Las antihistaminas solamente afectan una reac-
ción secundaria en la respuesta inmune, no teniendo efecto
20 directo sobre las células productoras del anticuerpo o los
linfocitos inmunes específicos. Un número de agentes, gene-
ralmente en uso como drogas inmunosupresoras, actúan adicio-
nalmente de nuevo en la cadena de eventos denominada en la
presente respuesta inmune. Ciertos esteroides antiinflamato-
25 rios, por ejemplo, la cortisona, suprimen la producción del
anticuerpo y de los linfocitos inmunes específicos, pero -
también reducen el tejido linfoide normal y tienen otros -
efectos secundarios indeseables. Varias drogas antineoplás-
ticas, por ejemplo, la azatioprina, la ciclofosfamida y el
30 metotrexato, son empleadas como inmunosupresores, pero tam-

1 bién reducen el tejido linfoide normal y disminuyen radical
mente otras células derivadas de la médula ósea. La citoto-
xicidad general de las últimas drogas es esperada en vista
de haber sido seleccionadas sobre la base de toxicidad con-
5 tra un espectro de tipos de células.

En la fórmula I anterior el término alquilo —
(C₁-C₃) incluye metilo, etilo, n-propilo e isopropilo. Por
lo tanto, el término alcoxi (C₁-C₃) incluye metoxi, etoxi,
n-propoxi e isopropoxi. El término "halo", incluye flúor, -
10 cloro, bromo y yodo.

Los compuestos ilustrativos del alcance de la fórm
mula I incluyen:

- 15 la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(3-metoxife-
nil)-urea
- la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(2-etilfenil)-
urea
- la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-propoxife-
nil)-urea
- 20 la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(2-clorofenil)-
urea
- la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-bromofenil)-
urea
- la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(3-fluorofenil)-
urea
- 25 la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-yodofenil)-
urea
- la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(2-etoxifenil)-
urea
- 30 la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-isopropoxi-
fenil)-urea

1 la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-isopropilfe
nil)-urea

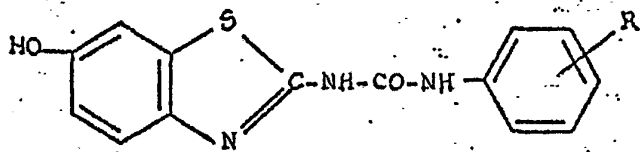
la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(3-tolil)-urea

la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-tolil)-urea

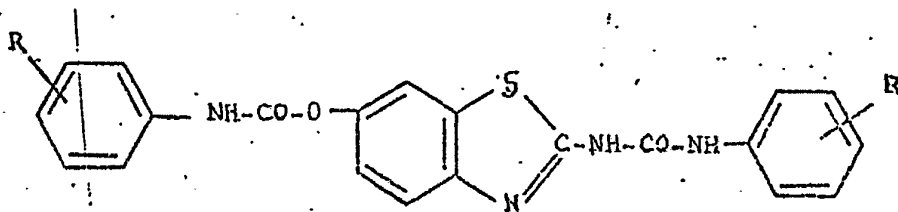
5 y compuestos similares.

Los compuestos representados por la fórmula I son
sólidos cristalinos, blancos, con punto de fusión elevado -
y pueden prepararse por medio del procedimiento sintético -
siguiente. El material de partida es el 2-amino-6-hidroxiben
10 zotiazol que se prepara condensando quinona y tiourea de -
acuerdo con el procedimiento de J. Org. Chem. 35, 4103 (1970)
o desmetilando el 2-amino-6-metoxi-benzotiazol por medio -
del procedimiento de J. Hetero. Chem. 10, 769 (1973).

15 El procedimiento para la preparación de los com-
puestos de la Fórmula I anterior requiere la reacción de -
1-2-moles (hasta un exceso molar de 100 por ciento) de un -
isocianato de fenilo ($R-C_6H_4-NCO$) con 2-amino-6-hidroxiben-
zotiazol para producir una mezcla de reacción que contiene -
un derivado de 6-carbamoiloxi (Fórmula III) y permisiblemen-
20 te, un poco del compuesto de la Fórmula I siguiente



25 Fórmula I



30 Fórmula III

1 La N-2-(6-fenilcarbamoiloxibenzotiazolil)-N'-fenilurea (III)
producida de esta forma se trata con una base en un disol-
vente inerte a una temperatura inferior a aproximadamente -
5 100° C. Hasta que ha sido hidrolizado todo el grupo 6-fenil
carbamoiloxi de la benzotiazolilurea para proporcionar un -
compuesto de fórmula I. El compuesto de 6-fenilcarbamoilo -
producido en la reacción del isocianato puede hidrolizarse
al derivado de 6-hidroxi ya sea en la mezcla de reacción -
original o durante una etapa de separación inicial en donde
10 se toma ventaja del carácter fenólico del grupo 6-hidroxi -
para disolverlo en la base. El compuesto insoluble en la ba
se se separa y después se hidroliza mediante el procedimien
to. Desde luego, es preferible llevar a cabo la etapa de -
hidrólisis en la mezcla de reacción sin separar. La 6-hidro
15 xi-urea (I) ya presente o producida por la reacción hidrolí
tica no es afectada adversamente bajo las condiciones de -
reacción de la hidrólisis especificadas.

En la reacción entre el isocianato de fenilo --
(R-C₆H₄-HCO) y el 2-amino-6-hidroxibenzotiazol, el grupo -
20 2-amino del benzotiazolilo reacciona mucho más rápidamente
que lo que lo hace el grupo 6-hidroxi. Por lo tanto, con un
solo mol de isocianato de fenilo, el producto de reacción -
predominante será la N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenil-
25 urea. La reacción entre el grupo hidroxi y el isocianato -
de fenilo, sin embargo, avanza a un régimen de reacción me-
surable. Por lo tanto, utilizando solamente un sólo mol de
isocianato, el producto de reacción principal será la urea
de la Fórmula I, como se manifiesta anteriormente pero tam
30 bién estará presente el 2-amino-6-carbamoiloxibenzotiazol,
la N-2-(6-carbamoiloxibenzotiazolil)-N'-fenil-urea y el --

1 material de partida de 2-amino-6-hidroxibenzotiazol sin reac
cionar. Debe emplearse una cantidad suficiente de isociana-
to de fenilo o de isocianato de fenilo sustituido para garan-
tizar que reaccione todo el grupo 2-amino del benzotiazol -
5 para formar la urea correspondiente y de preferencia, se em-
plea un exceso estequiométrico de aproximadamente 25-100 por
ciento del isocianato. Desde luego no es necesario un exce-
so estequiométrico mayor de 100 por ciento (2 moles por mol
de amino-benzotiazol) puesto que con 2 moles de isocianato -
10 de fenilo (o fenilo sustituido presentes, todo el benzotia-
zol se convertirá en la 6-carbamoiloxi-urea (Fórmula III an-
terior). Si se utiliza menos de 2 moles, pero más de 1 mol,
de isocianato por mol de benzotiazol, la mezcla de reacción
15 contendrá los derivados tanto de 6-hidroxi como de 6-carba-
moiloxi. En cualquier caso, con objeto de obtener un rendi-
miento sustancialmente cuantitativo del compuesto 6-hidroxi
deseado, es necesario hidrolizar cualquier derivado de 6-car-
bamoiloxi producido en la reacción del isocianato utilizando
20 una base de un disolvente inerte a una temperatura inferior
a aproximadamente 100° C., hasta que se hidrolice sustancial-
mente todo el grupo 6-carbamoiloxi al compuesto 6-hidroxi de-
seado de la fórmula I anterior. Los disolventes inertes úti-
les incluyen el agua y los alcoholes inferiores incluyendo -
25 metanol y etanol. Las bases adecuadas para usarse en el pro-
cedimiento incluyen los hidróxidos de metal alcalino tales -
como el hidróxido de potasio o de sodio; los alcoholatos de
metal alcalino tales como el etilato de potasio, metilato de
sodio y similares; los carbonatos de metal alcalino incluyen
30 do el carbonato de potasio y de sodio; y el hidróxido de amo-
nio y los hidróxidos de amonio sustituido tales como hidróxi-

1 do de trietilamonio, hidróxido de trimetilamonio y simila-
res. La temperatura de la reacción comúnmente es llevada a
la temperatura de reflujo del disolvente; es decir, de 65º
5 C., para el metanol a 100º C., para el agua. Como será apa-
rente a los expertos en la técnica, cuanto mayor sea la -
temperatura de reflujo, más corto será el tiempo necesario
para que la hidrólisis prosiga hasta completarse. Igualmen-
te, la solubilidad de la base en el disolvente inerte es -
una consideración importante con los hidróxidos de metal al
10 calino, por ejemplo, siendo más soluble que los carbonatos.
Por lo tanto, el uso de los hidróxidos requiere menos tiem-
po de reacción que el uso de los carbonatos. La hidrólisis
completa del compuesto de 6-fenilcarbamoiloxi usualmente re-
quiere de 1 a aproximadamente 18 horas, dependiendo del di-
15 solvente, la base y la temperatura empleados, y de la natu-
raleza del grupo 6-fenil (o fenilo sustituido)-carbamoilo-
xi.

El carácter del isocianato ($R-C_6H_4-NCO$) afecta -
no solamente el régimen de la hidrólisis del grupo 6-fenil
20 (o fenilo sustituido)-carbamoiloxi como se indicó antes, -
sino que también afecta las proporciones de los diversos -
productos de la reacción del isocianato particular con el -
2-amino-6-hidroxibenzotiazol, especialmente el régimen de
la formación de la urea en comparación con el régimen de la
25 reacción con el grupo 6-hidroxi.

La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenilurea y -
otras ureas fenilo sustituido representadas por la fórmula
I anterior, son útiles como agentes antivirales y como inmu-
30 nosupresores.

El método obvio para preparar los compuestos de

1 la Fórmula I anterior sería desmetilar el éter de 6-metoxi
correspondiente, como con ácido bromhídrico al 48 por cien-
to. Este procedimiento se ha encontrado que es inoperante -
5 en nuestras manos y, en particular, no es adecuado en abso-
luto para la preparación de los compuestos de acuerdo con la
Fórmula I anterior en donde R es un grupo metoxi, ya que el
procedimiento de desmetilación presumiblemente rendiría gru-
pos hidroxí en ambos anillos. Sin embargo, los compuestos -
de acuerdo con la Fórmula I anterior pueden desmetilarse por
10 medio de sistemas enzimicos ya que se encuentran que son pro-
ductos metabólicos del compuesto 6-metoxi correspondiente -
cuando el último compuesto se administra a ratas.

15 Los compuestos son útiles para alterar la reac-
ción inmunológica en los mamíferos. Por lo tanto, los com-
puestos pueden clasificarse como "agentes immuno-regulado-
res" mediante lo cual se quiere dar a entender un agente que
puede disminuir la formación de anticuerpos a proteína ex-
traña. Esta actividad puede, por lo tanto, también ser carac-
20 terizada como antialérgica ya que la reacción alérgica es
parte del mecanismo de defensa del cuerpo (el mecanismo in-
mune) contra los antígenos extraños. (Esta actividad es muy
diferente de la actividad de la antihistamina que afecta so-
lamente los efectos de la histamina liberada por una reac-
25 ción de anticuerpo-antigenol. Aunque la actividad immunore-
guladora se determina en ratones utilizando eritrocitos de -
oveja como el antígeno, debe entenderse que el mismo tipo -
de actividad se mostraría contra cualquier proteína extraña
(antígeno) en cualquier especie de mamífero.

30 La capacidad de los compuestos de acuerdo con la
fórmula anterior de alterar los mecanismos inmunes en un ani

1 mal huésped se mide por su actividad de acuerdo con el si-
guiente ensayo. Grupos de cinco ratones suizos de 20 gra-
5 mos se inyectaron intraperitonealmente con suspensiones -
normalizadas de un antígeno -en este caso células sangui-
neas de oveja. Los compuestos activos también se inyecta-
ron por la vía intraperitoneal a diversos tiempos antes y/o
después de la inyección de los glóbulos rojos. Ocho días -
después de la inyección del antígeno, los ratones se hicie-
ron sangrar y los sueros de cada uno se combinaron. Las de-
10 terminaciones del anticuerpo se hicieron sobre las combina-
ciones de suero por medio de un procedimiento de patrón de
hemaglutinación y se hicieron comparaciones entre los ani-
males tratados y los de control. En la Tabla I que sigue la
actividad de los compuestos que se enumeran en la misma, se
15 da en términos de la dosis de droga necesaria para suprimir
la titulación de hemaglutinación en los ratones tratados en
comparación con las titulaciones de control.

En la tabla, en la columna 1 se proporciona el -
nombre del compuesto; en la columna 2, la vía de administra-
20 ción; en la columna 3, la dosis; y en la columna 4, el ni-
vel de supresión. En general, una supresión de cuatro veces
mayor o más de la titulación de hemaglutinación se toma co-
mo la medida de una actividad inmuno-reguladora significati-
va.

25

TABLA I

<u>Nombre del Compuesto</u>	<u>Vía de Administración</u>	<u>Dosis mg/kg x días</u>	<u>Nivel de supresión</u>
N-2-(6-hidroxi-	oral	50 x 10	8 x
benzotiazolil)-	oral	25 x 10	8 x
30 N'-fenilurea	oral	12,5x 10	4 x

1

TABLA I (Cont.)

<u>Nombre del Compuesto</u>	<u>Vía de Administración</u>	<u>Dosis mg/kg x días</u>	<u>Nivel de supresión</u>
	subcutánea	3,1x 10	completo
5	subcutánea	1,6x 10	16 x
	subcutánea	0,8x 10	sin efecto

10

15

20

25

30

En una modificación del procedimiento anterior utilizando un procedimiento de análisis de suero individual, otros compuestos fueron probados con respecto a su actividad inmunosupresora. En este último procedimiento, grupos de diez ratones suizos de 20 gramos recibieron inyecciones intraperitoneales de glóbulos rojos de oveja a 5×10^7 . A cada ratón en el grupo de diez después se le administró la droga bajo ensayo, utilizando diversos niveles de dosis experimentales, por tres días sucesivos comenzando tres días antes de la administración de las células sanguíneas rojas (Glóbulos rojos). Un grupo de control no tratado de diez ratones recibieron solamente el vehículo de administración y las células sanguíneas de la oveja. Siete días después de la administración de los antígenos de células sanguíneas rojas de oveja, todos los ratones se hicieron sangrar individualmente y se determinó el contenido de anticuerpo del suero. Se llevó a cabo un experimento similar en el cual grupos de diez ratones cada uno recibieron inyecciones intravenosas de glóbulos rojos de oveja a 5×10^7 y después se les administraron dosis predeterminadas de la droga bajo ensayo por la vía oral en diez días sucesivos comenzando tres días antes de la administración de los glóbulos rojos de oveja antigénica. Los resultados se incorporan en la Tabla 2 siguiente. En la Tabla 2, en la columna,

1 se proporciona el nombre del compuesto; en la columna 2, la
 dosis en miligramos por kilogramo por la vía intraperito-
 neal u oral; y en la columna 3, el logaritmo a la base 2 -
 de hemaglutinina más o menos el error típico.

5

TABLA 2

Vía Intraperitoneal

	<u>Nombre del Compuesto</u>	<u>Dosis (Mg/kg)</u>	<u>Log de Hemaglutinina (Medio + el error típico) *</u>
	N-2-(6-hidroxi-	50	< 3,90 ± 0,53 * *
10	benzotiazolil)-N'-	25	< 3,11 ± 0,11 * *
	(p-metoxifenil)-	12,5	< 3,60 ± 0,34 * *
	urea		
	N-2-(6-hidroxi-	50	< 3,30 ± 0,15 * *
	benzotiazolil)-N'-	25	< 3,33 ± 0,24 * *
15	(o-fluorofenil)-	12,5	< 3,22 ± 0,15 * *
	urea		
	N-2-(6-hidroxi-	50	< 3,22 ± 0,22 * *
	benzotiazolil)-	25	< 3,00 ± 0,00 * *
20	N'-(o-tolil)-urea	12,5	< 3,70 ± 0,15 * *
	Control	--	6,60 ± 0,48

* "<" indica uno o más sueros en el grupo que no mostró he-
 maglutinina detectable en la dilución más baja probada.

** p < 0,01 - Nivel de Confianza.

25

30

1

TABLA 2 (Cont.)

Vía Oral

	<u>Nombre del Compuesto</u>	<u>Dosis (mg./kg.)</u>	<u>Log₂ de Hemaglutinina (Medio + el error típico)</u> ⁶
5	N-2-(6-hidroxibenzo tiazolil-N'-(p-metoxifenil)-urea	25 12,5 6,2	7,00 ± 0,26 7,62 ± 0,18 6,78 ± 0,22
10	N-2-(6-hidroxi-benzotiazolil)-N'-(o-fluorofenil)-urea	25 12,5 6,2	< 4,22 ± 0,32 ⊕ ⊕ < 4,40 ± 0,43 ⊕ ⊕ < 6,00 ± 0,44 ⊕ ⊕
15	N-2-(6-hidroxi-benzotiazolil)-N'-(o-tolil)-urea	25 12,5 6,2	< 5,78 ± 0,49 ⊕ ⊕ 6,60 ± 0,30 ⊕ ⊕ 7,40 ± 0,22
	Control	- -	7,50 ± 0,17

20

⁶ "<" indica uno o más sueros en el grupo que no mostró hemaglutinina detectable en la dilución más baja probada.

⁶ * p < 0,01 - Nivel de Confianza.

25

Los compuestos son útiles en operaciones de trasplante de órganos en donde pueden utilizarse para evitar que el huésped rechace el órgano del donador. Además de su uso en las operaciones de trasplante de órganos, los agentes inmuno-reguladores también son útiles en varias enfermedades de etiología poco entendida, denominadas genéricamente como enfermedades "autoinmunes". Estas enfermedades incluyen: anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocito

30

1 néica idiopática, lupus eritematoso, lupus nefritis, hepa-
titis lupoide, glomerulonefritis, el síndrome nefrótico, -
el síndrome de Goodpasture, granulomatosis de Wegener, es-
cleroderma, enfermedad de Sezary, psoriasis, uveítis, ar-
5 trítis, reumatoide, colitis ulcerativa, tiroiditis, paroti-
ditis contagiosa y orquitis. Los agentes inmuno-supresores
pueden ser más o menos útiles en el tratamiento de las en-
fermedades anteriores dependiendo del grado al cual depende
la enfermedad del mecanismo autoinmune.

10 Las vías de administración incluyen las vías -
oral, intraperitoneal, tópica y subcutánea. Para la adminis-
tración oral, el inmuno-regulador puede disolverse o sus-
penderse en polietilenglicol y mezclarse con aceite de maiz,
a un régimen de 1-200 mg/ml. Un medio particularmente útil
15 para la administración oral contiene 50 por ciento de poli-
etilenglicol 200, 40 por ciento de aceite de maiz y 10 por
ciento de monoestearato de polioxietileno-sorbitol. Los -
vehículos acuosos, a los cuales pueden agregarse los agen-
tes tensioactivos, también son útiles. Para la aplicación -
20 tópica, el compuesto de preferencia se administra en etanol
o en la composición de polietilenglicol-aceite de maiz-agen-
te tensioactivo mientras que para una inyección subcutánea
se utiliza una solución isotónica. El inmuno-regulador es-
25 tá presente en el vehículo particular en la proporción de
1 a 200 mg/ml.

30 Las ureas heterocíclicas útiles para alterar la
respuesta inmune, como puede verse difieren de una mayoría
de los inmuno-reguladores conocidos y de los inmunosupreso-
res conocidos en el mecanismo de su acción sobre el huésped
mamífero. No actúan antagonizando directamente la acción -

1 de la histamina como lo hacen las drogas antihistamínicas.
Por otra parte, no reducen la función de la médula ósea co-
mo lo hacen las drogas antineoplásticas que se utilizan fre-
cuentemente con los trasplantes de tejido. Los compuestos -
5 de urea heterocíclicos se asemejan estrechamente a los cor-
ticoides en sus efectos sobre la respuesta inmune, pero aún
hay una diferencia fundamental ya que los corticoides dismi-
nuyen el tejido linfoide y los compuestos de urea heterocí-
clicos no. Por lo tanto, es aparente que estos agentes fun-
cionan a través de un mecanismo que ni disminuye la masa -
10 linfoide normal ni reduce la médula ósea, evitando de esta
manera las desventajas principales de las drogas inmunosu-
presoras ordinariamente utilizadas - los corticoesteroides
y las drogas antineoplásticas.

15 En los siguientes ejemplos específicos se ilustra
la preparación y uso de los compuestos. (Todos los valores
pKa que se mencionan se determinaron en un sistema de dime-
tilformamida al 66 por ciento/agua).

20 EJEMPLO I

PREPARACION DE LA N-2-(6-HIDROXIBENZOTIAZOLIL)-N'-
FENILUREA

25 Se prepara una suspensión de 152 gramos de 2-am-
no-6-hidroxibenzotiazol en 3 litros de acetona. Una solu-
ción de 109 gramos de isocianato de fenilo y 150 ml. de -
acetona se agrega a la misma en forma de gotas. Después de
que se ha completado la adición, la mezcla de reacción se -
calienta a temperatura de reflujo durante la noche. La mez-
cla de reacción se enfría a una temperatura de aproximada-
mente 50° C, y se agrega carbón descolorizante. La mezcla -
30 se filtra y se agrega al filtrado una segunda partida de -

1 109 gramos de isocianato de fenilo. La mezcla de reacción
se calienta nuevamente a la temperatura de reflujo durante
aproximadamente 2 horas. La mezcla de reacción se enfría y
se precipita un sólido blanco que comprende la N-2-(6-fenil
5 carbamoiloxibenzotiazolil)-N'-fenilurea. El precipitado se
separa mediante filtración y la torta del filtro se lava -
con acetona. Rendimiento = 73 por ciento.

Análisis calculado para $C_{21}H_{16}N_4O_3S$

Calculado: C, 62,52; H, 3,75; N, 13,89; S, 7,95

10 Encontrado: C, 62,30; H, 3,97; N, 13,69; S, 7,76.

Punto de fusión superior a 250° C.

15 Cuatro gramos de la N-2-(6-carbamoiloxibenzotiazolil)-N'-fenilurea anterior se disuelven en 150 ml. de metanol anhidro. Se agrega con agitación una suspensión al 10 por ciento de 0,5 gramos de metilato de sodio en metanol. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. La cromatografía en capa delgada muestra que - el 50 por ciento del grupo carbamoiloxi ha sido eliminado -
20 mediante hidrólisis. La mezcla de reacción después se calienta lentamente y continuamente se verifica el avance de la reacción mediante cromatografía en capa delgada. Después de dos horas de calentarse a temperatura de aproximadamente 45°C, la hidrólisis está completa sustancialmente al 100 -
25 por ciento. La mezcla de reacción después se enfría y se acidifica cuidadosamente a un pH = 4 con ácido clorhídrico acuoso al 10 por ciento. La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenilurea que se forma en la reacción anterior se separa mediante filtración. La torta del filtro se lava con metanol y después con éter. El examen de sus espectros de resonancia magnética nuclear indica que ya no está presente más
30

1 en la molécula un grupo fenil-carbamoiloxi. Este hecho se
comprueba adicionalmente mediante desplazamientos en el es-
pectro ultravioleta de la solución del compuesto en ácido -
y una base. La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenilurea -
5 que se prepara de esta manera tiene las siguientes caracte-
rísticas: punto de fusión superior a 250°C; fragmentos es-
pectrales de masa a 285, 212, 192 y 166; pKa = 10,9 (DMF al
66%).

Análisis calculado para $C_{14}H_{11}N_3O_2S$:

10 Calculado: C, 58,93; H, 3,89; N, 14,73

Encontrado: C, 58,34; H, 3,76; N, 13,76.

EJEMPLO 2

15 Se prepara una mezcla de reacción conteniendo 100
mg. de N-2-(6-fenilcarbamoiloxibenzotiazolil)-N'-fenilurea,
100 mg. de metilato de sodio y 25 ml. de metanol. La mezcla
de reacción se somete a reflujo durante media hora, al tér-
mino de cuyo tiempo la cromatografía en capa delgada indi-
ca que no esta presente nada del material de partida y que
el producto de la reacción es el compuesto 6-hidroxi corres-
20 pondiente. El reflujo adicional de la mezcla de reacción -
durante 18 horas no muestra descomposición de la N-2-(6-hi-
droxibenzotiazolil)-N'-fenilurea formada en la reacción.

EJEMPLO 3

25 Se repite el Ejemplo 2 excepto que el metilato de
sodio de ese ejemplo se sustituye con 20 mg. de hidróxido de
potasio. Un examen de la mezcla de reacción mediante cromatografía en capa delgada después de 6 horas indica que la -
hidrólisis del grupo 6-fenil-carbamoiloxi está incompleta.
30 El reflujo se continua durante otras 12 horas, al término
de cuyo tiempo se descubre que la hidrólisis está completa

1 y que el material de partida se ha convertido completamente
en el compuesto 6-hidroxi correspondiente.

EJEMPLO 4

5 Se repite el procedimiento del Ejemplo 2, excepto
que se emplean aproximadamente 35 mg. del carbonato de pota-
sio en lugar del metilato de sodio de ese ejemplo. El exa-
men de la mezcla de reacción a intervalos indica que se re-
quieren 18 horas para hidrolizar completamente el grupo-6-
fenil-carbamoiloxi.

10

EJEMPLO 5

Se repite el procedimiento del Ejemplo 2, excepto
que se emplean 25 ml. de agua en lugar del metanol de ese -
ejemplo. La mezcla de reacción se calienta lentamente y el
material de partida sólido entra en solución a aproximada-
mente 80°C. El reflujo durante una hora proporciona la hi-
drólisis completa del grupo 6-fenilcarbamoiloxi.

15

EJEMPLO 6

Se repite el procedimiento del Ejemplo 2 excepto -
que se utilizan 0,35 ml. de trietilamina en lugar del metila-
to de sodio de ese ejemplo. El examen mediante cromatogra-
fia en capa delgada indica que la hidrólisis está completa -
después de un reflujo de 6 horas. Los siguientes compuestos
se preparan por medio del procedimiento anterior:

20

25 La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(4-metoxifenil)-
urea; pKa = 11,1; Fragmentos espectrales de masa característi-
cos a 315, 192 y 166. Punto de fusión superior a 250°C.

Análisis calculado para $C_{15}H_{13}N_3 O_3 S \cdot \frac{3}{4} H_2O$

Calculado: C, 57,88; H, 4,82; N, 13,50;

Encontrado: C, 57,42; H, 4,27; N, 13,18;

30

La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(2-fluorofenil)-

1 urea. Punto de fusión superior a 250°C. Material de una man-
cha mediante cromatografía en capa delgada. pKa = 10,3; -
Fragmentos espectrales de masa característicos a 30,3 192 y
166.

5 Análisis calculado para $C_{14}H_{10}FN_3O_2S$
Calculado: C, 55,44; H, 3,32; N, 13,85;
Encontrado: C, 55,28; H, 3,47; N, 13,31;

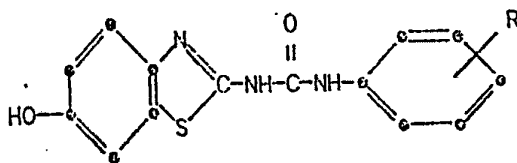
La N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-(2-tolil)-
10 urea. Punto de fusión superior a 250°C. Material de una man-
cha mediante cromatografía en capa delgada; pKa = 10,6.

Análisis calculado para $C_{15}H_{13}N_3O_2S$
Calculado: C, 57,13; H, 4,16; N, 13,33;
Encontrado: C, 56,90; H, 4,40; N, 13,37.

15 En resumen, la Patente de Invención que se solici-
tá deberá recaer sobre las siguientes

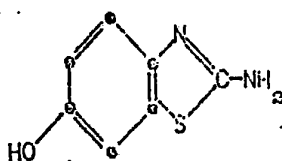
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de compues-
20 tos N-2-(6-hidroxibenzotiazolil)-N'-fenil (o fenilo susti-
tuído)-ureas de fórmula:



Formula I

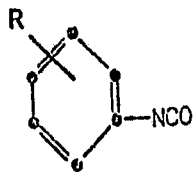
25 donde R es hidrógeno, alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3) o ha-
lo, caracterizado por hacer reaccionar un benzotiazol de la
fórmula



Formula V

30

1 con un compuesto fenilo sustituido de la fórmula

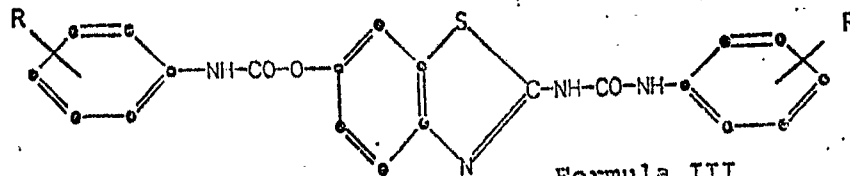


Formula VI

5

donde R es hidrógeno, alquilo (C_1-C_3) o halo; para obtener una mezcla de un compuesto de Fórmula I y un compuesto de fórmula

10



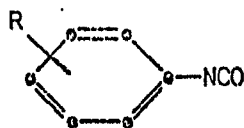
Formula III

15

donde R es como se define en la Fórmula I; e hidrolizar el compuesto de Fórmula III.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por hacer reaccionar 2-amino-6-hidroxi-benzotiazol con desde 1 a 2 moles de un isocianato de fenilo de fórmula

20

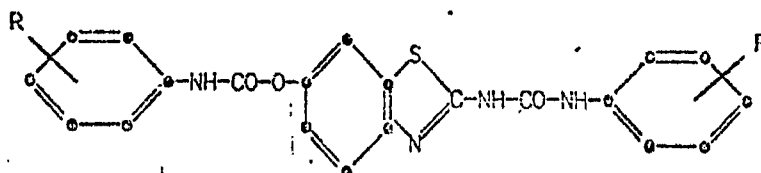


Formula II

25

donde R es hidrógeno, alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3) o halo; hidrolizar cualquiera de los compuestos 6-carbamiloxi así obtenidos de fórmula:

30



Formula III

1 donde R tiene el mismo significado anterior con una base -
del grupo formado por hidróxidos de metal alcalino y carbo-
natos, alcoholatos de metal alcalino, hidróxido de amonio -
5 e hidróxidos de amonio sustituidos con alquilo (C₁-C₂) en -
un disolvente inerte a una temperatura no superior a alrede-
dor de 100°C.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado por hacer reaccionar 2-amino-6-hidroxibenzotia-
zol con fenilisocianato seguido de hidrólisis.

10 4. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado por hacer reaccionar 2-amino-6-hidroxibenzotia-
zol con 4-metoxifenilisocianato seguido por hidrólisis.

15 5. Un procedimiento según la reivindicación 1, -
caracterizado por hacer reaccionar 2-amino-6-hidroxibenzotia-
zol con 2-fluorfenilisocianato seguido por hidrólisis.

6. Un procedimiento según la reivindicación 1, ca-
racterizado por hacer reaccionar 2-amino-6-hidroxibenzotia-
zol con 2-metilfenilisocianato seguido por hidrólisis.

20 7. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS N-2-(6-HI-
DROXIBENZOTIAZOLIL)-N'-FENIL(ó FENILO SUSTITUIDO)-UREAS.

25

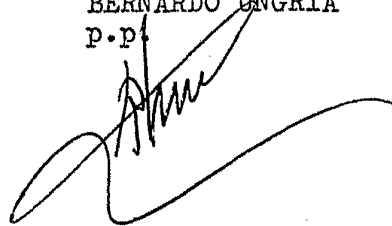
30

1

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

5

Madrid, 31 Enero 1.977
BERNARDO UNGRIA
P.p.



10

15

20

25

30