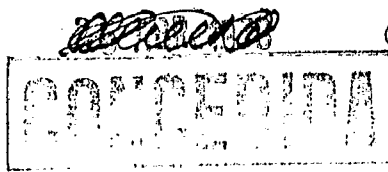




ESPAÑA



PATENTE DE INVENCION

19 ES	11 NUMERO	10 A1
	21 461.637	
	22 FECHA DE PRESENTACION	
	16-8-77	

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
626.014	28:10-75	ESTADOS UNIDOS

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	E07D//A61K	

54 TITULO DE LA INVENCION

"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS TIAZOLINIL CETOBENCIMIDAZOLES".

71 SOLICITANTE (S)

ELI LILLY AND COMPANY.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

307 East McCarty Street, Indianapolis , Indiana 46206 ESTADOS UNIDOS

72 INVENTOR (ES)

73 TITULAR (ES)

D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

74 REPRESENTANTE

UNE A - 4 MOD. 3108

Concedida de acuerdo con los datos que surgen en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta. UTILÍCESE COMO PRIMERA PAGINA DE LA MEMORIA

20. JUN. 1978

1                   La incidencia de enfermedades respiratorias superiores virulentas es inmensa. Se ha estimado que solo en los Estados Unidos aparecen casi mil millones de casos anualmente. Los estudios realizados en Inglaterra (Tyrell y Bynoe Lancet 76, (1966), indicaron que el 74 por ciento de las personas que tuvieron resfriados estuvieron infectadas con rinovirus. Debido a que más de 80 de las cepas de rinovirus ya se han identificado, no es factible el desarrollo de una vacuna de rinovirus práctica. En esto, parece ser la propuesta más deseable la quimioterapia.

5                   La capacidad de los compuestos químicos para suprimir el desarrollo de virus in vitro, se demostró ya utilizando una prueba de supresión de placa de virus similar a aquella descrita por Siminoff, Applied Microbiology, 9 (1), 66 (1961).

10                   Se describen ciertos compuestos de tiazolinilbencimidazol en las siguientes referencias:

15                   La Patente de los Estados Unidos 3,749,717 describe a los 1-tiazolinil-2-(heterocíclico)bencimidazoles útiles como agentes antihelmínticos y antiinflamatorios.

20                   La Patente de los Estados Unidos 3,825,537 describe a los 1-tiazolinil-2-aminobencimidazoles útiles como agentes antihelmínticos y antiinflamatorios.

                  La Patente de los Estados Unidos 3,833,574 describe un método para preparar 1-tiazolinilbencimidazolin-2-onas que son agentes antiinflamatorios.

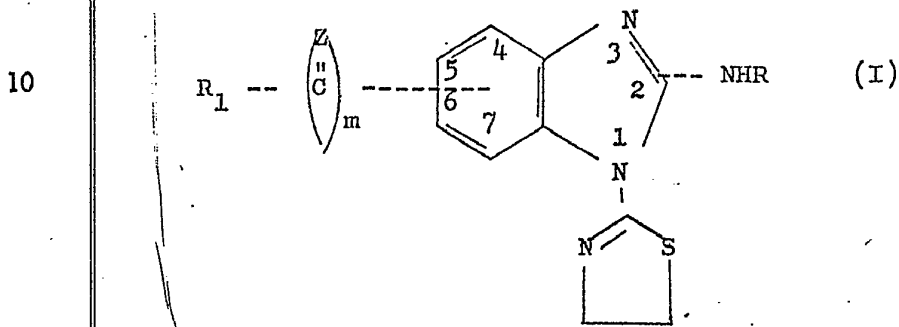
25                   Dewent 26199W/16 describe los 1-tiazolinil-2-fenilbencimidazoles útiles como agentes antihelmínticos.

                  No se conoce una referencia a la técnica anterior con respecto a la actividad antivirulenta de los tiazolinilbencimidazoles.

30                   Es el propósito de esta invención proporcionar un método para suprimir el desarrollo de virus, particularmente

1 rinovirus, virus de polio, virus Coxsackie, virus echo, vi-  
rus Mengo y de influenza. Es un objeto adicional proporci-  
onar nuevos compuestos de tiazolinilbencimidazol que son úti-  
les para suprimir el desarrollo de tales virus.

5 Esta invención se refiere a un procedimiento para  
preparar los compuestos de bencimidazol farmacológicamente  
útiles de fórmula general.



15 en donde

R es hidrógeno;

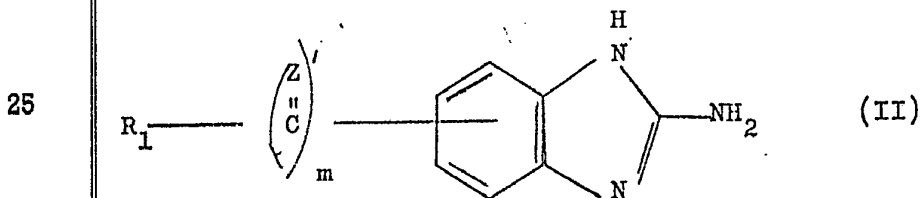
R<sub>1</sub> es 1,3-diololan-2-ilo, o 1-(alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-

Z tetrazol-5-ilo;

20  $R_1 - \left( \begin{array}{c} Z \\ \parallel \\ C \\ \parallel \\ m \end{array} \right) -$  está en la posición 5 ó 6;

m es 0; y

25 que se caracteriza por hacer reaccionar un compuesto de fó-  
mula general,



en donde R<sub>1</sub> y m, se definen como antes, con una base y un  
halogenoetilisotiocianato de fórmula X-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NCS (IV)  
en donde X es cloro o bromo, en presencia de una base y un  
30 disolvente a temperatura ambiente.

1

5

10

15

20

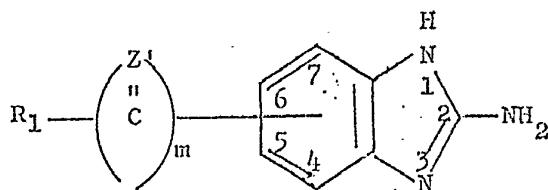
25

30

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar compuestos de tiazolinilbencimidazol y su empleo para suprimir el desarrollo de mamíferos de ciertos virus, incluyendo rinovirus, de polio, Coxsackie, virus echo virus Mengo, y de influenza, Los compuestos útiles en el procedimiento de esta invención se preparan haciendo reaccionar la sal (III) de un compuesto de bencimidazol tautomérico representado por la fórmula (II) con un halogenoetilisotiocianato de fórmula (IV)  $X-(CH_2)_2-NCS$ ,

que puede opcionalmente sustituirse en la cadena de carbonos con grupos metilo, en donde  $R_1$ , Z, y m son como se definió en la presente con anterioridad, y X es cloro o bromo, para producir un compuesto de fórmula (V) (fórmula (I) anterior, en donde R es hidrógeno m es 0 y R, es 1-(alquilo- $C_1-C_3$ )-tetrazol-5-ilo, ó 1,3-ditian-2-ilo).

1

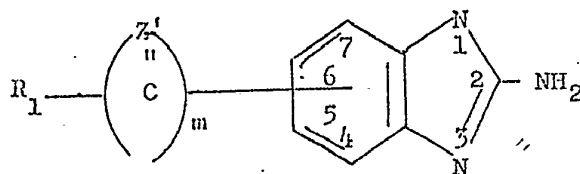


5

(II)

base

10



15

(III)

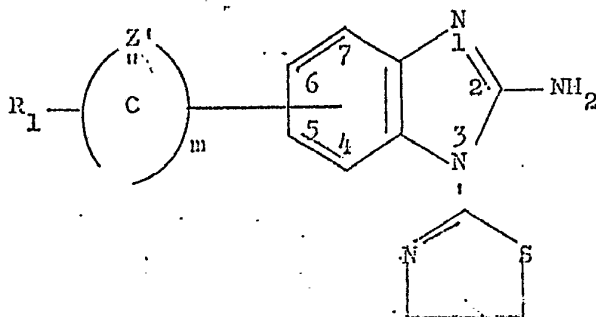
(anión)

20

$X(CH_2)_2NCS$

(IV)

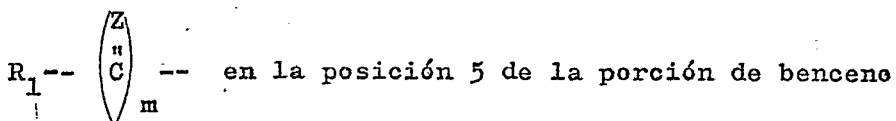
25



30

(V)

1 El término "bencimidazol tautomérico" se refiere  
a un reactivo de bencimidazol de fórmula (II) que puede sus-  
tituirse en cualquier átomo de nitrógeno con un átomo de hi-  
drógeno. El reactivo de bencimidazol, insustituído en nitró-  
5 geno y que lleva un grupo sustituyente.



tiene una forma tautomérica correspondiente con la cual es-  
tá en equilibrio en donde el sustituyente reside alternati-  
vamente en la posición 6. La mezcla isomérica puede indicar-  
se enumerando las posiciones alternativas como 5(6). Como  
consecuencia de dicho tautomerismo, la reacción de una sal  
de bencimidazol (III) 5(6)-sustituída con el halogenoetili-  
sotiocianato (IV) produce mezclas isoméricas de tiazolinil-  
bencimidazoles (V) 5 ó 6-sustituídos, referidos en la pre-  
15 sente como compuestos 5(6)-sustituídos.

Las siguientes definiciones se refieren a los di-  
versos términos utilizados a través de toda esta descripción.

20 El término "tiazolinilo" o "tiazolin-2-ilo" se re-  
fiere a la porción  $N_1$  de la fórmula I e indica un radical  
4,5-dihidrotiazol unido en la posición 2 que puede tener gru-  
pos metilo sustituyentes en las posiciones 4 y/o 5.

25 El anión de bencimidazol (III) se hace reaccionar  
con un halogenoetilisotiocianato alifático (IV) para produ-  
cir una tiourea intermedia in situ que absorbe la alquila-  
ción intramolecular en el átomo de azufre para formar un pro-  
ducto de 1-tiazolinilbencimidazol, representado por la fór-  
mula (V). La relación molar del reactivo de bencimidazol (II)  
al halogenoetilisotiocianato (IV), puede variar de 1:1 a 1:  
1.5, y el tiempo de reacción puede variar de aproximadamen-  
te una a veinticuatro horas, a temperaturas de aproximadamen-  
30 25° C., a aproximadamente 150° C., Los métodos y las condicio-

1 nes para preparar los productos de 1-tiazolinilbencimidazol son análogos a aquellos descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 3,749,717 y 3,825,537.

5 Los productos de tiazolinilbencimidazol, se aislan mediante métodos convencionales tales como filtración y concentración del filtrado para inducir la cristalización. Alternativamente, la mezcla de reacción puede evaporarse a sequedad y el residuo tratarse con un disolvente adecuado tal como acetona o metanol, para separar y eliminar cualquier material insoluble. La solución que contiene el producto se 10 concentra para cristalizar el producto o se evapora para dar un segundo residuo, el cual se recristaliza en metanol, por ejemplo. El compuesto de bencimidazol se recupera mediante filtración o centrifugación:

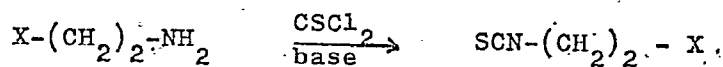
15 La reacción del anión tautomérico (III) con el halogenoetilisotiocianato proporciona generalmente una mezcla de 1:1 de 5(6)-isómeros del producto de tiazolinilbencimidazol. Los 5(6)-isómeros son separables mediante cristalización fraccionada o mediante cromatografía en columna. Usualmente el 6-isómero cristaliza primero en una solución de la 20 mezcla. Los isómeros individuales, excepto los compuestos 5(6)-benzoilo o 5(6)-benzoilo sustituido o sus derivados pueden estar definitivamente caracterizados por sus espectros de resonancia magnética de protones en la región protónica del fenilo (7,0 a 8,3 ppm).

25 Se apreciará por aquellos expertos en la técnica que pueden llevarse a cabo operaciones químicas ventajosas en etapas opcionales de la síntesis del producto. Por ejemplo, el reactivo de bencimidazol puede primero modificarse químicamente para proporcionar sustituyentes deseados y después hacerse reaccionar con el halogenoetilisotiocianato apropiado para proporcionar el producto de tiazolinilbencimidazol. Alternativamente, puede prepararse un compuesto de 30

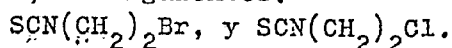
1 1-tiazolinilbencimidazol inicialmente y después modificarse  
químicamente para proporcionar el producto final deseado.  
Ya que la inserción de la porción tiazolinilo, en el reacti  
vo de bencimidazol, requiera la reacción con una base, se  
5 prefieren aquellos reactivos de bencimidazol que tienen gru  
pos sustituyentes que no son susceptibles de ataque por la  
base.

10 Otros reactivos bencimidazol requeridos pueden pre  
pararse ciclizando o-fenilendiaminas sustituidas con 1-(al  
quil de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-tetrazol-5-ilo. Los compuestos de 2-aminoben  
cimimidazol pueden prepararse ciclizando las o-fenilendiaminas  
apropiadas con bromuro de cianógeno como se describe en  
Buttle y otros, Biol, Chem.J.37/1101 (1938) y en la Patente  
Británica 551.524. La preparación de una variedad de bencimi  
15 dazoles está bien documentada en The Chemistry of Heterocy  
clic Compounds, Imidazole and Its Derivatives de Weissberger  
(Interscience Publisher Co. Nueva York, 1953).

Los reactivos de halogenoetilisotiocianato requeri  
des. fórmula (IV) anterior, opcionalmente sustituidos con  
grupo metilo, se preparan fácilmente a partir de sus halo  
20 genoalquilaminas (VI) correspondientes y tiofósgeno:



Las rutas adicionales para la preparación de halogenoetili  
sotiocianatos (IV) se describen en Houben Weyl's Methoden der  
25 (Organischem Chemie, Vol.9 (G. Thieme Verlag Stuttgart 1955)).  
Incluyen ejemplos de halogenoetilisotiocianatos que pueden  
emplearse, los siguientes:



Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente  
la preparación de materiales de partida, de intermediarios  
y de los compuestos de fórmula (I).

EJEMPLO 1

30 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-bencimidazoles  
sustituidos (procedimiento general).

1                    Se lavan con n-pentano 5 ml. 140 mg. de hidruro  
de sodio como una suspensión al 50 por ciento en aceite mi-  
neral, decantando los lavados. El hidruro de sodio lavado  
se suspende en 5 ml. de dimetilformamida bajo condiciones  
anhídras. Se agregan 5 ml. del 2-amino-5(6)-sustituído-ben-  
5                    cimidazol apropiado en 25 ml. de dimetoxietano (glima) o  
una mezcla de glima y dimetilformamida (DMF) (relación 15:1)  
gota a gota a la suspensión de base. La agitación se conti-  
núa durante varias horas a temperatura ambiente para permir  
10                    una formación de aniones sustancialmente completa. Se  
agregan gota a gota 5 ml. 605 mg. de cloroetilisotiocianato  
en dimetilformamida a la solución de anión, y la agitación  
se continúa toda la noche. La mezcla de reacción se evapora  
a sequedad al vacío. El residuo se recupera en acetato de  
15                    etilo y se filtra. El filtrado de acetato de etilo se lava  
con agua y se seca. El producto de 1-(tiazolin-2-il)-2-amino  
5(6)-sustituído-bencimidazol se recupera mediante evapora-  
ción o concentración del disolvente. El producto se purifica  
mediante recristalización de disolventes adecuados tales co-  
mo acetato de etilo, cloroformo, metanol o mezclas de los  
mismos.

20                    El siguiente compuesto se preparó mediante los mé-  
todos descritos anteriormente a partir del 2-aminobencimida-  
zol apropiado sustituido en la posición 5(6) con el grupo  
benzoilo apropiado.

25                    1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-benzoilbencimidazol  
El rendimiento fué de 680 mg. (8,3 por ciento) de 6,4 g. (  
27 mmoles) de 2-amino-5(6)-benzoilbencimidazol.

Análisis  $C_{17}H_{15}N_4OS$     PM 323.

Calculado: C, 63,34; H, 4,38; N, 17,38;

S, 9,93

Encontrado: C, 63,14; H, 4,19; N, 17,08;

S, 9,72.

30

1 El isómero 5 funde a aproximadamente 225-226°C. El isómero 6 funde a aproximadamente 232-234°C.

EJEMPLO 2

5 Se agregaron 300 g. (1,52 moles de 4-aminobenzofenona en porciones a una solución agitada de 250 ml. de anhídrido acético en 250 ml. de benceno. La temperatura de la mezcla se elevó a aproximadamente 70°C. La mezcla de reacción se agitó toda la noche. El producto precipitado se filtró, se lavó con benceno y se secó. El rendimiento de 4-acetamidobenzofenona fué de 333,8 g. (rendimiento del 91,5 por ciento), p.f. 150-152°C. (lit. p.f. 155°C., Chem, Abst. 55, 18651).

10 Se agitaron entre sí 23 g. (0,1 m) de 4-acetamidobenzofenona, 50 ml. de anhídrido acético y 20 ml. de ácido acético. Se agregó gota a gota, una solución de ácido nítrico al 90 por ciento (15 ml), 10 ml. de ácido acético y 0,2 g. de urea a la mezcla de benzofenona. La mezcla de reacción se mantuvo a una temperatura de aproximadamente 50°C. durante la nitración. La mezcla se agitó a temperatura ambiente, después de lo cual la mezcla se hizo muy espesa. La suspensión espesa se vertió sobre hielo y el producto insoluble se filtró para producir 17,7 g. (rendimiento de 62.5 por ciento) de 4-acetamido-3-nitrobenzofenona.

Análisis  $C_{15}H_{12}N_2O_4$  PM 284.27

Calculado: C, 63,38; H, 4,26; N, 9,85;  
O, 22,51

25 Encontrado: C, 63,57; H, 4,03; N, 9,90;  
O, 22,27.

30 Se agregaron en porciones 10 g. de 4-acetamido-3-nitrobenzofenona, a 40 ml. de ácido sulfúrico. La temperatura de reacción se moderó con un baño de agua. Después de agitar sobre aproximadamente 45 minutos, la mezcla de reacción

1 se vertió cuidadosamente sobre hielo. El producto precipita  
do se filtró para producir 4-amino-3-nitrobenzofenona.

Análisis  $C_{13}H_{10}N_2O_3$  PM 243,23

5 Calculado: C, 64,16; H, 4,16; N, 11,56;  
0,19,81.

Encontrado: C, 64,19; H, 4,00; N, 11,37;  
0,19,72.

10 Se hidrogenaron 50 g. de 4-amino-3-nitrobenzofeno  
na, a temperatura ambiente en 945 ml. de tetrahidrofurano  
con 15 g. de níquel Raney a  $2,74 \times 10^6$  dinas/cm<sup>2</sup>. Después  
de 4 horas, se absorbieron tres equivalentes de hidrógeno.  
El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó al vacío  
a un residuo sólido. El residuo se cromatografió sobre gel  
de sílice utilizando acetato de etilo como eluyente. Se com  
binaron las fracciones 5-9 para dar 43,6 g. (rendimiento de  
15 100 por ciento) de 3,4-diaminobenzofenona.

20 Se disolvieron 0,2 moles, 42,4 g. de 3,4-diamino  
benzofenona en 100 ml. de metanol y se mezclaron en un li  
tro de agua. Se agregaron en porciones 0,2 moles, 21,8 g.  
de bromuro de cianógeno a la mezcla de reacción, con agita  
ción. La reacción se continuó toda la noche. La mezcla de  
reacción se filtró y el filtrado se neutralizó (pH=7,00) con  
hidróxido de amonio concentrado. El producto precipitado se  
recogió, se lavó con agua, y se secó en un horno al vacío  
para producir 31 g. (68,5 por ciento) de 2-amino-5(6)-benzoil  
25 bencimidazol.

Análisis  $C_{14}H_{11}N_3O$  PM 237,2

Calculado: C, 70,87; H, 4,67; N, 17,71

Encontrado: C, 70,88; H, 4,60; N, 17,48.

30 El 2-amino-5(6)-benzoilbencimidazol se hizo reac  
cionar después mediante el procedimiento del Ejemplo 1, para

1 producir 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-benzoilbencimidazol idéntico al producto del ejemplo 1. El isómero 5 funde a 225 226°C y el isómero 6 funde a 232-234°C.

EJEMPLO 3

5 A 1,19 g. (5 mmoles) de 2-amino-5(6)-(1,3-ditio-  
lan-2-il) bencimidazol en 10 ml. de dimetoxietano, se agre-  
garon 240 mg. (5 mmoles) de hidruro de sodio (50 por ciento  
en aceite mineral) suspendido en 5 ml. de dimetoxietano. La  
solución anaranjada se agitó a temperatura ambiente durante  
10 45 minutos, después de agregaron 605 mg. (5 mmoles) de clo-  
roetilisotiocianato en dimetoxietano y la solución se agitó  
toda la noche (16 horas), se filtró y se evaporó a sequedad.  
El residuo se disolvió en metanol-cloruro de metileno y se  
crematografió en 60 g. de gel de sílice Woelm en acetato de  
15 etilo. Las fracciones deseadas se recogieron, se lavaron dos  
veces con éter dimetílico y se secaron para producir 78 mg.  
de 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-(1,3-ditiolan-2-il)-benci-  
midazol.

(A) 5-(3-nitro-4-acetamidofenil)tetrazol.

20 Se puso a reflujo durante 16 horas, una solución  
de 10,3 g. (0,05 moles) de 3-nitro-4-acetamidobenzonitrilo,  
3,5 g. de azida de sodio y 3,9 g. de cloruro de amonio en  
100 ml. de dimetilformamida. La mezcla de reacción enfriada  
se vertió en 500 ml. de ácido clorhídrico 1 normal y se dilu-  
yó con 300 ml. de agua. El producto amarillo precipitó y se  
recogió para dar 10 g. (81 por ciento) de 5-(3-nitro-4-aceta-  
25 midofenil)tetrazol. P.f. 210-213°C. (desc.).

(B) 1(2)-metil-5-(3-nitro-4-acetamidofenil)-tetra-  
zol.

30 Se disolvió 5-(3-nitro-4-acetamidofenil)tetrazol  
31,7 g. (0,13 moles) en 200 ml. de acetona. Se agregaron 23  
ml. (0,17 moles) de trietilamina a la mezcla de reacción.

1 La mezcla se agitó hasta que se hizo homogénea. Se agregaron 30 ml. de yoduro de metilo seguidos por la adición de otros 20 ml. de yoduro de metilo después de 12 horas, a temperatura ambiente. La reacción se continuó otras cuatro horas. El producto precipitado se recogió y el filtrado se concentró a la cuarta parte del volumen original al vacío. El rendimiento total fué de 20 g. (59 por ciento) de una mezcla isomérica de 1(2)-metil-5-(3-nitro-4-acetamidofenil) tetrazol.

10 Análisis  $C_{10}H_{10}N_6O_3$  PM 262  
Calculado: C, 45,80; H, 3,84; N, 32,05.  
Encontrado: C, 45,64; H, 3,84; N, 32,18.

(C) 1(2)-metil-5-(3-nitro-4-aminofenil) tetrazol.

15 Se agregaron 2 g. de 1(2)-metil-5-(3-nitro-4-acetamido-fenil) tetrazol a 20 ml. de ácido sulfúrico concentrado, a temperatura ambiente. El tetrazol se llevó lentamente a solución y la mezcla se agitó durante aproximadamente 2 horas. La mezcla ácida se vertió cuidadosamente en 200 ml. de agua fría. El producto precipitado se recogió para producir 1,6 g: (95 por ciento) de 1(2)-metil-5-(3-nitro-4-amino) tetrazol, p.f. aproximadamente 200°C.

20 Análisis  $C_8H_8N_6O_2$  PM 220  
Calculado: C, 43,64; H, 3,66; N, 38,17.  
Encontrado: C, 43,37; H, 3,70; N, 37,89.

(D) 1(2)-metil-5-(3,4-diaminofenil) tetrazol.

25 Se hidrogenaron 14 g. de 1(2)-metil-5(3-nitro-4-aminofenil) tetrazol en  $4,13 \times 10^6$  dinas/cm<sup>2</sup> con 1 g. de paladio sobre carbón en 135 ml. de acetato de etilo y 350 ml. de etanol absoluto. Después de 2 horas, se absorbieron tres equivalentes de hidrógeno. El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para dar 12 g. (98 por ciento) de 1(2)-metil-5-(3,4-diaminofenil) tetrazol.

30

1

Análisis  $C_8H_{10}N_6$  PM 190

Calculado: C, 50,52; H, 5,30; N, 44,18.

Encontrado: C, 50,79; H, 5,57; N, 43,95.

5

(E) 1(2)-metil-5-(2-aminobencimidazol-5(6)-il)tetrazol.

10

Se agregó bromuro de cianógeno, 3,2 g. (0,03 moles) a una suspensión de 5,7 g. (0,03 moles) de 1(2)-metil-5-(3,4-diaminofenil)tetrazol en 300 ml. de agua y 30 ml. de metanol. La mezcla se agitó durante 12 horas y se filtró. El filtrado se neutralizó con carbonato de potasio. El precipitado producido se recogió para dar 5,7 g. (88 por ciento) de 1(2)-metil-5-(2-aminobencimidazol-5(6)-il)tetrazol.

Análisis  $C_9H_9N_7$  PM 215

Calculado: C, 50,23; H, 4,22; N, 45,46.

Encontrado: C, 49,56; H, 4,34; N, 44,06,

15

(F) 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-[1(2)-metiltetrazol-5-il] bencimidazol.

20

Cuando se hizo reaccionar una cantidad equivalente de 1(2)-metil-5-(2-aminobencimidazol-5(6)-il)tetrazol de conformidad con el procedimiento del ejemplo 1, se produjo 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-[1(2)-metiltetrazol-5-il] bencimidazol.

25

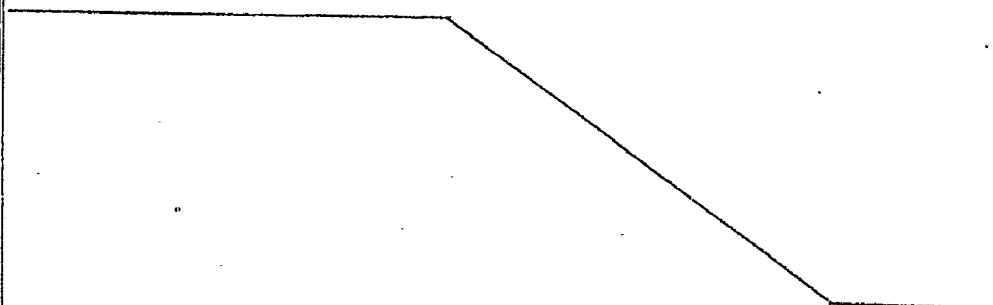
Análisis  $C_{12}H_{12}N_8S$  - PM 300

Calculado: C, 48,00; H, 4,00; N, 37,33.

Encontrado: C, 47,42; H, 4,30; N, 37,41.

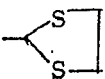
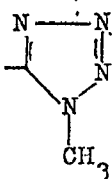
m/e 300; p.f. 243-248°C,

30



1

SUSTITUYENTES EJEMPLIFICADOS

<u>EJEMPLO No.</u>	<u>R</u>	<u>R<sub>1</sub></u>	<u>Z</u>	<u>n</u>	<u>m</u>
1,2	H	fenilo	0	0	1
3	H	H		0	1
4	H		-	0	0

5

10

Los compuestos de la fórmula (I), exhiben un espectro amplio de actividad antivirulenta. No únicamente son especialmente efectivos para inhibir el desarrollo de los virus echo, Mengo, Coxsackie (A9, 21, B5), polio (tipos I,II, III) o rinovirus (25 cepas) sino que también inhiben varios tipos de virus de influenza tales como Ann Arbor, Maryland B, Massachusetts, B, Hong Kong A, Pr-8a y Taylor C (tipos A, B). La capacidad de los compuestos que entran dentro del alcance de la fórmula (I) para suprimir el desarrollo de diferentes virus in vitro, se demuestra fácilmente utilizando una prueba de supresión de placa similar a aquella descrita por Sminoff, Applied Microbiology 9(1), 66-72 (1961). Las pruebas específicas utilizadas se describen con detalle en la presente a continuación.

15

20

METODOS DE PRUEBA

Se desarrollaron células de riñón de mono verde africano (BSC-1) o células Hela (5-3) en matraces Falcon de 25 cc. de 37°C. en un medio 199, con suero de bovino fetal inactivado al 5 por ciento (FBS), penicilina (150 unidades 1 ml.) y estreptomycin (150 mcg/ml.). Cuando se formaron las monocapas confluentes, se separó el medio de desarrollo sobrenadante, y se agregaron a cada matraz 0,3 ml. de una dilución apropiada de virus (echo, Mengo, Coxsackie, de polio o de rinovirus). Después de la absorción durante una ho

25

30

1 ra a temperatura ambiente, la capa de células infectadas  
con el virus se cubrió con un medio que comprende una parte  
de Ionagar No. 2 al 1 por ciento, y una parte de medio 199  
de doble concentración con FBS, penicilina y estreptomicina  
5 que contiene medicamentos a concentraciones de 100, 50, 25,  
12,6, 3 y 0 microgramos por mililitro (mcg.ml). El matraz  
que no contiene medicamento sirvió como control para la  
prueba, Las soluciones de reserva de los compuestos de tiazolínilo-bencimidazol de la fórmula (I), se llevaron en sul-  
fóxido de dimetilo a una concentración de  $10^4$  mcg/ml. Los  
10 matraces se incubaron durante 72 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . para los vi-  
rus polio, Coxsackie, echo, y Mengo y 120 horas a  $32^{\circ}\text{C}$ . pa-  
ra el rinovirus. Los virus de influenza, Ann Arbor, Maryland  
B, Massachusetts B, Hong Kong A, Pr-8a y Taylor C (tipos A,  
B), se incubaron durante 72 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ . utilizando células  
15 MDCK (células de riñón de perro Madin-Darby). Se observaron  
las placas en aquellas áreas en donde los virus se infecta-  
ron y se reprodujeron en las células. Se agregó una solución  
de formalina al 10 por ciento y acetato de sodio al 2 por  
ciento a cada matraz para inactivar el virus y fijar la lá-  
mina de células a la superficie del matraz. Se contaron las  
20 placas de virus, sin tomar el tamaño en cuenta, después de  
teñir las áreas de célula circundante con violeta cristal.  
La cuenta de la placa se comparó con la fuente de control  
en cada concentración del medicamento. La actividad del com-  
puesto de prueba se expresó como el porcentaje de reducción  
de placa o el porcentaje de inhibición. Alternativamente, la  
25 concentración del medicamento indicada por el símbolo  $I_{50}$   
que inhibe la formación de placa en un 50 por ciento, puede  
utilizarse como una medida de la actividad.

Los resultados de la prueba se expresan en términos  
de la inhibición del virus de Polio del tipo I, debido a que  
30 el virus es de fácil desarrollo, y se obtienen resultados de

1 prueba concordantes. Sin embargo, la actividad de los com-  
puestos de la fórmula (I) se confirmó contra otros cultivos  
de virus tales como Coxsackie (A9,A21,B5), virus echo (cepas  
1-4), Mengo, rinovirus (25 cepas) Polio (tipo I,II y III), y  
5 virus de influenza tales como Ann Arbor, Maryland B, Massa-  
chusetts B, Hong Kong A, Pr-8a y Taylor C (tipos A,B). Los  
resultados de la prueba de diversos compuestos de tiazolini-  
lo bencimidazol, se resumen en la tabla I siguiente: En la  
tabla, la columna I da el número del ejemplo de los ejemplos  
químicos previos, la columna 2 da el isómero en la posición  
10 5(6), y las columnas 3 a 10 indican el porcentaje de reduc-  
ción de la placa de virus a diluciones de medicamento de  
0,75-100 microgramos por mililitro (mcg/ml).

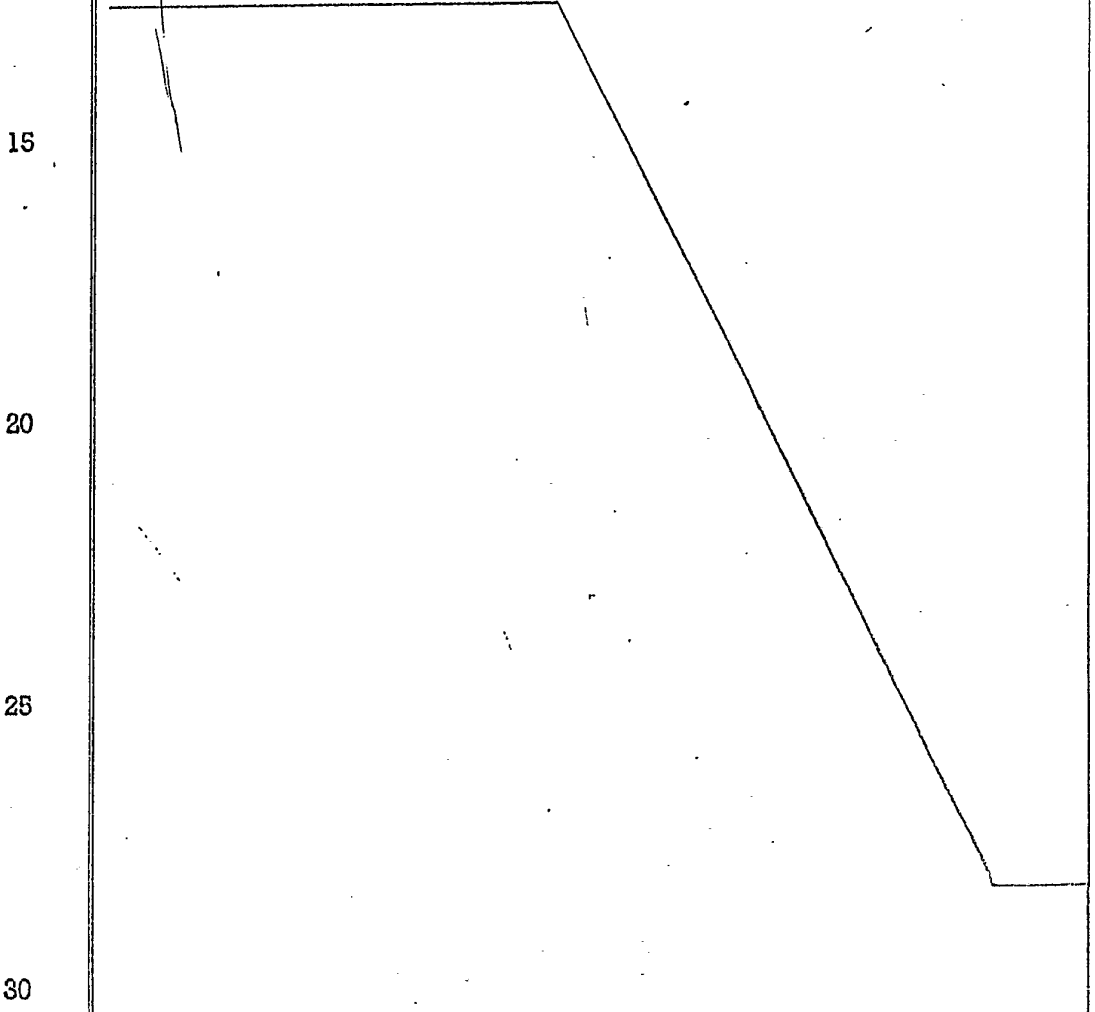


Tabla 1. Reducción de placa de polio I, de 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-sustituido  
-benzimidazoles.

		Concentración del medicamento (mcg/ml.)							% de reducción de placa.
Ejemplo. No.	Isómero	100	50	25	12	6	3	1,5	
1	5(6)	100	100	100	100	100	100	78	20
3	5(6)	95	97	87	56	41	16	9	0

^Concentración del medicamento en microgramos por ml.

^^El número 5 ó 6 indica el isómero respectivo; 5(6)indica mezcla isomérica.

1

Tabla 1. Reducción de placa de polio I, de 1-(tiazolin-2-il)-2-bencimidazoles.

5

Concentración del medicamento (mcg/m

Ejemplo.

10

No.	Isómero^^	100	50	25	12	6	3
1	5(6)	100	100	100	100	100	100
3	5(6)	95	97	87	56	41	16

15

^Concentración del medicamento en microgramos por

^^El número 5 6 6 indica el isómero respectivo; 5(6

20

25

30

de polio I, de 1-(tiazolin-2-il)-2-amino-5(6)-sustituído

Concentración del medicamento (mcg/ml.)

50	25	12	6	3	1,5	0,75
100	100	100	100	100	78	20
97	87	56	41	16	9	0

% de reducción  
de placa.

del medicamento en microgramos por ml.

5 indica el isómero respectivo; 5(6) indica mezcla isomérica

-----

1 Los compuestos de 1-tiazolinilbencimidazol, se probaron tanto como compuestos puros y como mezclas de isómeros. Ambos isómeros inhiben el desarrollo del virus, siendo generalmente el isómero 6 más activo que el isómero 5.

5 Los compuestos que entran dentro del alcance de la fórmula (I) son capaces de suprimir el desarrollo de varios virus cuando se agregan a un medio en donde se desarrolla el virus, los compuestos de la fórmula (I) pueden por lo tanto utilizarse en solución acuosa, preferiblemente con un tensioactivo, para descontaminar superficies sobre las cuales están presentes virus de polio, Coxsackie, rinovirus y de influenza, incluyendo dichas superficies artículos de vidrio para hospital, superficies de trabajo en hospital y áreas similares utilizadas para la preparación de alimento.

10 Además, los compuestos pueden administrarse oralmente a animales de sangre caliente y seres humanos en una dosis de 1 de 300 mg/Kg. de peso del cuerpo del animal. La administración puede repetirse periódicamente según sea necesario. De conformidad con la práctica general, el compuesto antiviral puede administrarse cada cuatro a seis horas.

15 Preferiblemente, los compuestos de la fórmula (I) se utilizan en combinación con uno o más adjuvantes adecuados para la ruta de administración particular. De esta manera, en el caso de la administración oral, el compuesto se modifica con portadores o diluyentes farmacéuticos tales como lactosa, sacarosa, polvo de almidón, celulosa, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sulfato de calcio, polvo de acacia, gelatina, alginato de sodio, benzoato de sodio y ácido esteárico. Dichas composiciones pueden formularse como tabletas o alojarse en cápsulas para una administración conveniente. Además, los compuestos pueden administrarse parenteralmente.

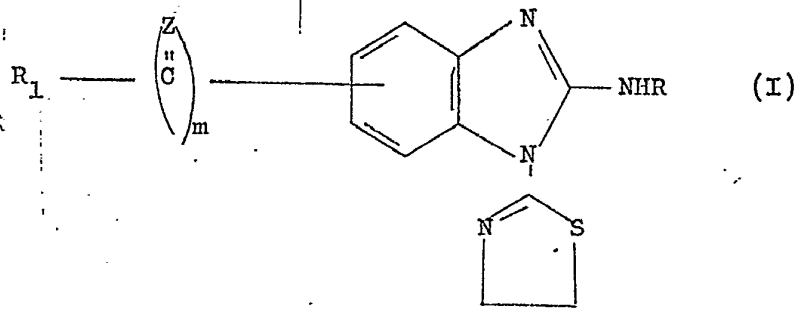
20  
25  
30 Los compuestos pueden también mezclarse con un

líquido y administrarse como gotas nasales o aspersión intranasal.

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

REIVINDICACIONES

1.- Un procedimiento para la preparación de compuestos de tiazolinil-cetobencimidazoles de fórmula general:



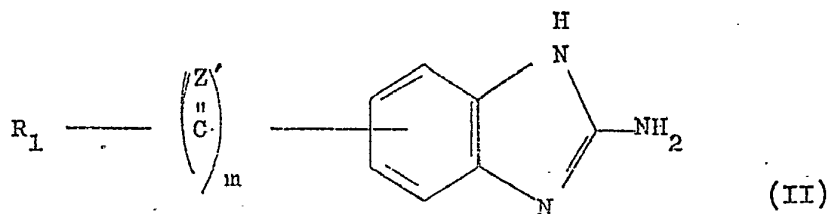
15 en donde

R es hidrógeno,

R<sub>1</sub> es 1,3-d: tiolan-2-il, o 1-(alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-tetrazol-5-ilo;

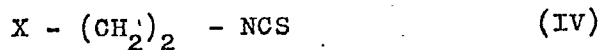
20 R<sub>1</sub> --  $\left( \begin{array}{c} Z \\ \text{"} \\ C \\ \end{array} \right)_m$  -- está en la posición 5 ó 6;

m es 0, caracterizado el procedimiento por hacer reaccionar un compuesto de fórmula general:



30 en donde R<sub>1</sub> y m son como se definió antes. con y un haloge-

1 noetilisotiocianato de fórmula



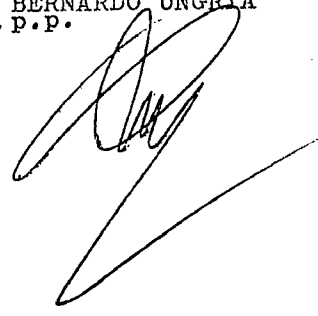
5 en donde X es cloro o bromo, en presencia de una base y un disolvente a temperatura ambiente.

2.- 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 TIAZOLI-  
NIL CETOBENZIMIDAZOLES.

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

Madrid, 16 de Agosto de 1.977

BERNARDO UNGRIA  
P.P.



15

20

25

30

