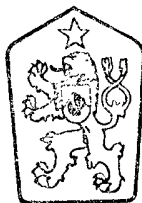


POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

202558
(11) (B2)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 24 08 76
(21) (PV 476-78)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 28 08 75
(608415) Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 30 04 80

(45) Vydáno 15 10 83

(51) Int. Cl.³
C 07 D 235/04 //
A 61 K 31/495

(72)
Autor vynálezu

PAGET CHARLES JOHNSON,
CHAMBERLIN JAMES WESLEY, INDIANAPOLIS a
WIKEL JAMES HOWARD, GREENWOOD (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu

ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby 1-sulfonylbenzimidazolů, substituovaných na karbonylové skupině

1

Výskyt virových onemocnění horních dýchacích cest je v současné době veliký; bylo stanoveno, že jen ve Spojených státech dochází téměř k bilionu onemocnění ročně. Statistiky prováděné ve Velké Británii (Tyrell a Bynoe, Lancet 1, 16, 1966) ukazují, že 74 % osob s infekcí horních cest dýchacích bylo infikováno rhinoviry. Přestože je známo již více než 80 kmenů rhinovirů, je téměř neproveditelné očkování vakcínou, takže chemoterapie bude pravděpodobně jediným možným řešením.

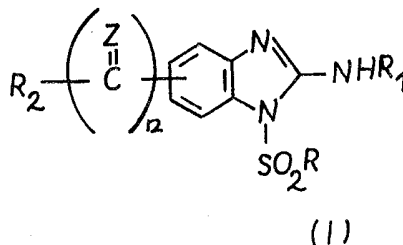
Schopnost chemických látek potlačovat růst virů in vitro je možno prokazovat použitím tkáňových kultur, na nichž při použití účinných látek nedochází ke tvorbě plaků vyvolaných virem, tak jak bylo popsáno v publikaci Siminoff, Applied Microbiology, 9(1), 66 (1961).

Některé 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-benzimidazoly s antifungálním účinkem byly popsány v US patentu č. 3 853 908.

Vynález se týká způsobu výroby nových benzimidazolových sloučenin, které inhibují růst virů, zejména rhinovirů, poliovirů, virů Cocksackie, echo a Mengo.

Předmětem vynálezu je způsob výroby nových 1-sulfonylbenzimidazolů, substituovaných na karbonylové skupině obecného vzorce I

2



kde

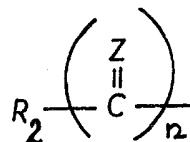
R znamená alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo skupinu —NR₃R₄, v níž R₃ a R₄ stejné nebo různé, znamenají alkyl o 1 až 3 atomech uhlíku,

R₁ znamená atom vodíku,

R₂ znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo fenyl,

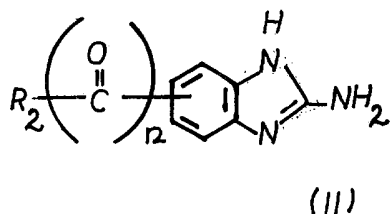
Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu,

skupina



je v poloze 5 nebo 6 a

n znamená 1, vyznačující se tím, že se uvede v reakci sloučenina obecného vzorce II



kde R₂ a n mají shora uvedený význam, se sulfonfylchloridem obecného vzorce III



kde R má shora uvedený význam, za vzniku meziproductů odpovídajících vzorci I, kde znamená R₁ atom vodíku a na místě substituentu Z je atom kyslíku s následnou reakcí s hydroxylaminem, alkoxyaminem o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyaminem za vzniku sloučenin obecného vzorce I, kde Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu, nebo za vzniku meziproductů odpovídajících obecnému vzorci I, v němž na místě substituentu Z je hydroxyiminoskupina s následnou alkylací za vzniku sloučenin obecného vzorce I, v němž Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu za přítomnosti organického rozpouštědla při teplotě varu pod zpětným chladičem.

Termín „tautomerní benzimidazol“ se vztahuje na benzimidazol, který může být substituován na kterémkoli atomu dusíku atomem vodíku. Benzimidazol nesubstituovaný na atomu dusíku a substituovaný v poloze 5 benzenového jádra má odpovídající tautomerní formu, v níž je též substituent v poloze 6. Směs těchto isomerů je možno označit 5(6). V důsledku této tautomerie vede reakce 5(6)-substituovaného benzimidazolu se sulfonfylchloridem obecného vzorce III ke vzniku isomerní směsi 5(6)-substituovaných sulfonfylbenzimidazolů.

Termín „alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku“ se vztahuje na alifatické zbytky o 1 až 4 atomech uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem, a to na methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sek.butyl a terc.butyl. Termín „alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku“ v sobě zahrnuje termín „alkyl o 1 až 3 atomech uhlíku“.

Termín „alkylkarbinol o 1 až 4 atomech uhlíku“ se vztahuje na alifatický alkohol o 1 až 4 atomech uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem, odvozený od alkylové skupiny o 1 až 4 atomech uhlíku ve shora uvedeném významu.

Termín „alkoxykupina o 1 až 4 atomech uhlíku“ zahrnuje alifatické zbytky s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 4 atomech uhlíku, a to methoxykupinu, ethoxykupinu, propoxykupinu, isopropoxykupinu, butoxykupinu, isobutoxykupinu a sek.butoxykupinu. Termín „alkylaminoskupina o 1 až 4 atomech uhlíku“ se vztahuje na alifatickou aminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku, odvozenou od methylaminu, ethylaminu, propylaminu, isopropylaminu, butylaminu a sek.butylaminu. Termín „alkoxyamin o 1 až 4 atomech uhlíku“ se vztahuje na O-alifatický hydroxylaminový zbytek o 1 až 4 atomech uhlíku, odvozený od hydroxylaminu. Methoxyaminhydrochlorid se obchodně dodává. Další hydroxylaminové zbytky je možno získat A) alkylací acetoximu alkyhalogenidem o 1 až 4 atomech uhlíku s následnou hydrolýzou v kyselém prostředí, B) alkylací N-hydroxyftalimidu s následnou hydrazinolýzou nebo C) alkylací kyseliny benzo-hydroxamové s následnou hydrolýzou v kyselém prostředí.

Výhodnými reakčními složkami jsou benzimidazolové deriváty s 5(6)-substituenty, které za reakčních podmínek nereagují se sulfonfylchloridem. Benzimidazolové deriváty a sulfonfylchlorid se obvykle užívají v přibližně ekvimolárním množství, přestože je možno užít malého přebytku kterékoli z těchto látek. Reakci je možno provádět v celé řadě nereaktivních rozpouštědel, jako jsou aceton, tetrahydrofuran, terciární amidy, jako N,N-dimethylformamid a chlorované uhlovodíky, jako dichlormethan, dichlorethan, a chloroform. Reakční prostředí může také obsahovat zásadu jako činidlo, které váže kyselinu. Příkladem vhodné zásady pro toto použití je pyridin, triethylamin, N-methylmorfolin, hydrogenuhlíčan sodný a hydrid sodíku. Výhodným rozpouštědlem je aceton s obsahem triethylaminu nebo tetrahydrofuran s dimethylformamidem a s obsahem hydridu sodíku jako zásady.

Reakce se provádí při teplotě místnosti až při teplotě varu užitého rozpouštědla pod zpětným chladičem. S výhodou se reakce provádí při teplotě varu pod zpětným chladičem, protože v tomto případě trvá pouze 1 až 48 hodin.

Produktem reakce je 1-sulfonfylbenzimidazolový derivát, který bude dále nazýván pouze sulfonfylbenzimidazolový derivát. Produkt je možno izolovat filtrací reakční směsi a zahuštěním filtrátu k dosažení krystalizace. Reakční směs je možno také odpařit do sucha a odparek rozpustit ve vhodném rozpouštědle, jako acetonu nebo methanolu, k oddělení a odstranění nerozpustného materiálu. Roztok s obsahem sulfonfylbenzimidazolového derivátu se zahustí k dosažení krystalizace nebo se znovu odpaří do sucha a tento druhý odparek se pak rozpustí, například v methanolu, z něhož se výsledný produkt získá krystalizací.

Reakcí tautomerního benzimidazolového

derivátu a sulfonylchloridu vzniká obvykle směs 5- a 6-substituovaného sulfonylbenzimidazolu, přičemž poměr isomerů je obvykle 1 : 1. Isomery je možno oddělit frakční krystalizací nebo sloupcovou chromatografií. Nejprve krystalizuje obvykle 6-isomer. Například v případě, že se uvede v reakci 2-amino-5-benzimidazolkarboxylát s dimethylsulfamoylchloridem v acetonu s obsahem triethylaminu, krystalizuje jako první z reakční směsi ethyl-1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-6-benzimidazolkarboxylát. Acetonový roztok pak obsahuje převážně ethyl-1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5-benzimidazolkarboxylát a zbytek 6-isomery. Isomery je možno identifikovat NMR spektrem v oblasti protonu fenylové skupiny (7,0 až 8,3 ppm).

Některé sloučeniny vzorce I je možno vyrobít chemickými postupy, jako jsou oxidace nebo redukce příslušného sulfonylbenzimidazolového prekursoru. V případě, že se reakce provádí na prekursoru, který je isomerní směsí sulfonylbenzimidazolů, je možno isomerní produkty od sebe oddělit frakční krystalizací nebo chromatografií.

Je zřejmé, že jednotlivé chemické postupy je možno s výhodou provádět v určitém stupni syntézy výsledných látek. Benzimidazolová reakční složka může být chemicky pozměněna a pak teprve uvedena v reakci s příslušným sulfonylchloridem za vzniku výsledného sulfonylbenzimidazolu. Je rovněž možno sulfonylbenzimidazolový meziprodukt chemicky modifikovat na žádaný výsledný produkt. Vhodné benzimidazolové reakční složky jsou zejména ty látky, jejichž substituenty je možno převést na žádané 5(6)-substituenty před reakcí s příslušným sulfonylchloridem nebo po této reakci. Zvláště vhodnými reakčními složkami jsou ethylester kyselin 2-substituovaných-5(6)-benzimidazolkarboxylových, protože je možno esterovou funkci užít k výrobě dalších meziproduktů, které je pak možno snadno převést na konečné produkty.

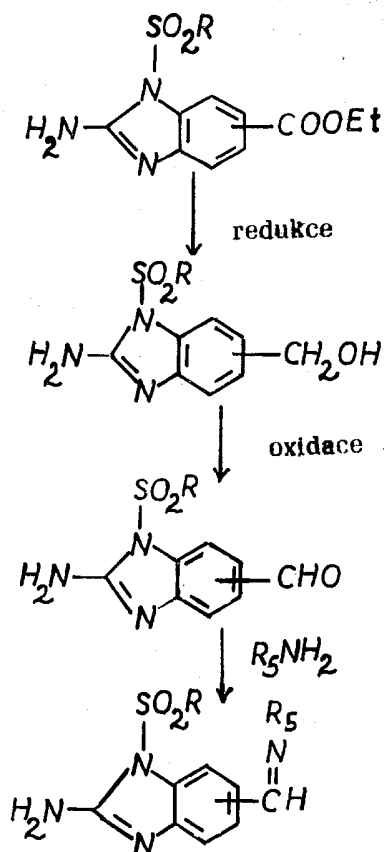
Ethylestery kyselin 1-sulfonyl-2-substituovaných-5(6)-benzimidazolkarboxylových je možno chemicky redukovat za vzniku odpovídajících hydroxymethylovaných meziproduktů. Je například možno redukovat ethyl-1-dimethylaminosulfonyl-2-acetamido-5(6)-benzimidazolkarboxylát bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydridem sodným v tetrahydrofuranu za vzniku 1-dimethylaminosulfonyl-2-aceta-

mido-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu. Výhodnějším postupem je reakce sulfonylchloridu RSO_2Cl s příslušným substituovaným 2-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolem. Žádaný 5(6)-hydroxymethylbenzimidazol je možno získat z odpovídající kyseliny ethyl-2-substituované-5(6)-benzimidazolkarboxylové redukcí bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydridem sodíku v aprotickém rozpouštědle svrchu popsaným způsobem. Při výhodném způsobu výroby velkých množství hydroxymethylsulfonylbenzimidazolových meziproduktů se vychází z 4-chlor-3-nitrobenzylalkoholu. Benzylalkohol se podrobí reakci s amoniakem za vzniku 4-amino-3-nitrobenzylalkoholu a tento nitroalkohol se katalyticky hydrogenuje za vzniku 4-hydroxymethyl-o-fenylendiaminu. Fenylendiamin se uzavře na kruh za vzniku žádaného 2-substituovaného-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolového meziproduktu známým způsobem.

Obvykle je možno 5(6)-hydroxymethylsulfonylbenzimidazolové deriváty převést na odpovídající 5(6)-formylové deriváty. Oxidace hydroxymethylkarbinolové funkce za vzniku karboxaldehydového derivátu s inhibičními vlastnostmi pro viry je zcela neočekávané. Mimoto zvyšuje protivirovou účinnost takto vzniklé sloučeniny do určité míry ještě přeměna karboxaldehydové funkce za vzniku dvojně vazby mezi uhlíkovým a dusíkovým atomem.

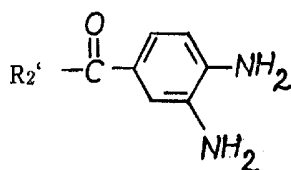
Sulfonylbenzimidazolkarboxaldehydy, v nichž R_2 znamená atom vodíku, je možno vyrobit z odpovídajícího 1-sulfonyl-2-substituovaného-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu oxidací hydroxymethylové skupiny Jonesovým činidlem, tj. roztokem kyseliny chromové a sírové ve vodě, například při použití 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu se oxidací Jonesovým činidlem získá 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-formylbenzimidazol. Sulfonylbenzimidazolkarboxaldehydy je možno převést na jejich 5(6)-benzyloxyiminomethylenové nebo 5(6)- $[\text{C}_1\text{-C}_4]$ -alkyloxyiminomethylenové deriváty tak, že se provádí reakce s benzyloxyaminem nebo alkoxyaminem o 1 až 4 atomech uhlíku běžným způsobem, protože karboxaldehydová funkce je reaktivní. Tyto reakce karbonylové skupiny jsou znázorněny v reakčním schématu I.

Reakční schéma I



kde $R_5 = \text{OH}, \text{O}(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{alkyl}$.

5(6)-Ketosulfonylbenzimidazolové sloučeniny, v nichž Z znamená atom kyslíku, je možno vyrobit z odpovídajících 5(6)-keto-benzimidazolů reakcí se sulfonylchloridem RSO_2Cl . Tyto benzimidazoly je možno vyrobit z odpovídajícího keto-o-fenylendiaminu známým způsobem. V belgické vložené přihlášce č. 93 791 je popsán způsob výroby keto-o-fenylendiaminů obecného vzorce



kde R_2' znamená nižší alkyl, cykloalkyl, fenyl, popřípadě substituovaný atomem halogenu, nižším alkylem nebo nižším alkylem.

Způsob výroby spočívá v amonolýze a redukci 4-halogen-3-nitrofenylketonu, který se připravuje Friedel-Craftsovou reakcí 1) 4-halogen-3-nitrobenzoylchloridu s příslušným uhlovodíkem nebo 2) halogenbenzenu s příslušným chloridem kyseliny s následnou aromatickou nitrací. Ketobenzimidazoly je možno vyrobit také z acetanilidu Friedel-Craftsovou acylací příslušným derivátem alkan-

kyseliny o 2 až 8 atomech uhlíku. Výsledný 4-ketoacetanilid se nitruje za vzniku 2-nitro-4-ketoacetanilidu.

Tento acetanilid se pak hydrolyzuje na 2-nitro-4-ketoanilin. Nitroanilin se katalyticky hydrogenuje na 4-keto-o-fenylendiamin, který se podrobí uzavření kruhu za vzniku 2-substituovaného 5(6)-ketobenzimidazolu.

Stejně jako v případě sulfonylbenzimidazolkarboxaldehydu je možno uvést v reakci 5(6)-ketosulfonylbenzimidazol s alkoxyaminem za vzniku odpovídajícího alkoxyaminu o 1 až 4 atomech uhlíku a dalších derivátů. Ketokarboxylové funkce je však méně reaktivní než karboxaldehydová funkce. Ketofunkci je možno aktivovat protonací sulfonylbenzimidazolové sloučeniny za kyselých podmínek, čímž je možno snadno vytvořit dvojnou vazbu mezi uhlíkovým a dusíkovým atomem.

Dusíková funkce má název podle karboxylové reakční složky, z níž byla odvozena, a to například následujícím způsobem:

reakční složka	název
methoxyamin	methoxyiminoskupina
ethoxyamin	ethoxyiminoskupina
propoxyamin	propoxyiminoskupina
butoxyamin	butoxyiminoskupina
benzyloxyamin	benzyloxyiminoskupina

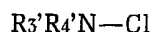
Benzimidazolové sloučeniny, které jsou výchozími látkami při provádění způsobu podle vynálezu, je možno získat celou řadou známých způsobů. Příprava celé řady benzimidazolů je dobře popsána ve Weissbergových publikaci The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Imidazole and Its Derivatives, Interscience Publishers Co., New York, 1953.

2-Aminobenzimidazolové deriváty je možno získat cyklizací příslušného o-fenylendiaminu bromkyanem, jak bylo popsáno v publikaci Buttle a další, Bio. Chem. J. **32**, 1101 (1938) a v britském patentu č. 551 524.

Příprava ethyl-2-amino-5(6)-benzimidazolkarboxylátu je popsána v publikaci Paget a další, J. Med. Chem. **12**, 1010 (1969).

Ze sulfonylchloridů, které jsou výhodnými reakčními složkami, se běžně dodává methansulfonylchlorid (mesylchlorid), isopropylsulfonylchlorid a dimethylsulfamoylchlorid. Další alkylsulfonylchloridy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové části je možno získat chlorací příslušného alkylthiolu nebo reakcí sulfurychloridu s alkylsulfonátem sodíku, odvozeným od odpovídajícího karbinolu a kyseliny sírové.

N,N-Dialkylsulfamoylchloridy je možno získat způsobem podle publikace Bindely a další, J. Am. Chem. Soc. **61**, 3250 (1939) reakcí soli sekundárního aminu se sulfurylchloridem. Jinak je možno tyto látky získat reakcí chloraminu vzorce



s kyslíčkem siřičitým při teplotě -5 až 30 °C. Chloraminové deriváty se získávají reakcí odpovídajícího sekundárního aminu s chloridem antimoničným, chlornanem sodným nebo sulfurylchloridem.

Dalším příkladem sulfonylchloridů, jichž je možno užít k reakci s benzimidazolovými látkami, jsou ethyl-, propyl-, isopropyl-, butyl-, isobutyl-, sek.butyl-, a terc.butylsulfonylchlorid.

Další použitelné sulfamoylchloridy jsou diethyl-, dipropyl-, N-methyl-N-ethyl-, N-methyl-N-propyl-, N-ethyl-N-propyl-, N-methyl-N-isopropyl-, N-ethyl-N-isopropyl-, N-propyl-N-isopropyl- a diisopropylsulfamoylchloridy.

Pro jednotnost názvosloví budou sulfonylbenzimidazoly nazývány sulfonylovými deriváty. Například produkt reakce mezi dimethylsulfamoylchloridem a 2-amino-5-benzoylbenzimidazolem je nazýván 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-benzoylbenzimidazolem, a nikoli 1-dimethylsulfamoyl-2-amino-5(6)-benzoylbenzimidazolem.

Výhodnými sulfonylbenzimidazoly jsou ty látky vzorce I, v nichž R je isopropyl nebo dimethylaminoskupina, R_1 znamená atom vodíku, R_2 znamená fenyl, atom vodíku nebo propyl, $n = 1$ a Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku. Příkladem může být následující látka:

1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-
-(α -methoxyiminobenzyl)benzimidazol,

Příkladem esterů, hydrazidů a hydroxymethylových meziproduktů pro výrobu sloučenin vzorce I mohou být tyto látky:

ethyl-1-isopropansulfonyl-2-amino-
-5(6)-benzimidazolkarboxylát,

ethyl-1-(N-ethyl-N-propylaminosulfonyl)-
-2-amino-5(6)-benzimidazolkarboxylát,

1-diethylaminosulfonyl-2-amino-
-5(6)-hydroxymethylbenzimidazol.

Příkladem 5(6)-formylsulfonylbenzimidazolů vzorce I může být následující látka:

1-diethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-
-(methoxyiminomethyl)benzimidazol.

Příkladem 5(6)-ketosulfonylbenzimidazolových derivátů vzorce I mohou být následující látky:

1-isopropansulfonyl-2-propionamido-
-5(6)-(1-methoxyiminoisopropyl)benzimidazol,

1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-
-(1-ethoxyiminobutyl)benzimidazol,

1-benzensulfonyl-2-acetamido-5(6)-
-(1-butoxyiminohexyl)benzimidazol.

Příkladem 5(6)-hydroxysulfonylbenzimidazolů a jejich esterů vzorce I může být následující sloučenina:

1-ethansulfonyl-2-amino-5(6)-hydroxy-
benzimidazol.

V následujících příkladech je popsáno praktické provedení způsobu podle vynálezu, výchozí látky, meziprodukty a produkty obecného vzorce I. Termín „M/e“, užitý při charakteristice produktu, znamená poměr iontů, tak jak se objevují ve hmotovém spektru produktu vzhledem k použité výchozí látce. Obvykle tyto hodnoty odpovídají molekulovým hmotnostem hlavních vrcholů.

Příklad 1

140 g (0,68 molu) ethyl-2-amino-5(6)-benzimidazolkarboxylátu se míchá v 500 ml acetonu a 77 ml triethylaminu. Přidá se 100 gramů dimethylsulfamoylchloridu v roztoku ve 100 ml acetonu kapací nálevkou za stálého míchání reakční směsi. Reakční směs se pak zahřívá na bod varu pod zpětným chladičem 100 hodin, načež se za horka zfiltruje, čímž se získá pevná látka A. Filtrát se nechá zchladnout, čímž se získá v krystalickém stavu pevná látka B. Pevné látky A a B se smísí, promyjí se vodou k odstranění triethylaminhydrochloridu a pak se rozpustí v 1,5 litru horkého absolutního ethanolu. Horký ethanolový roztok se zfiltruje k odstranění nerozpustného podílu. Ethanolový filtrát se nechá zchladnout, čímž dojde ke krystalizaci produktu. Tímto způsobem se získá 23 g ethyl-1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-6-benzimidazolkarboxylátu o teplotě tání 215 až 217 °C.

Pro $C_{12}H_{16}N_4O_4S$

vypočteno: 46,14 % C, 5,16 % H, 17,94 % x;

nalezeno: 47,87 % C, 5,05 % H, 18,21 % N.

Ethanolový filtrát se odpaří ve vakuu na malý objem, čímž se získá 15 g ethyl-1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5-benzimidazolkarboxylátu o teplotě tání 167 až 168 °C. Tento 5-isomer byl charakterisován NMR spektrem a elementární analýzou. Celkový výtěžek produktu byl 38 g (18 %).

Způsobem podle příkladu 1 je možno připravit ještě další deriváty, uvedené v příkladech 2 až 8 shrnutých v následující tabulce.

Příklady 2 až 8

Způsobem podle příkladu 1 byly připraveny následující ethyl-1-1-(substituované sulfonyl)-2-amino-5(6)-benzimidazolkarboxyláty

Příklad číslo	Sulfonylový substituent	Teplota tání °C	Analýza (%)			nalezeno	
			C	H	vypočteno N	H	N
2	isopropyl **	166 až 168	55,15	5,50	13,50	5,48	13,24
3	isopropyl **	165 až 167	50,15	5,50	13,50	5,26	13,44
4	benzen		55,64	4,38	12,17	4,48	12,22
5	N-methyl-N-ethylaminoskupina		47,84	5,56	17,17	5,49	16,97
6	diethylaminoskupina	142 až 143	49,40	5,92	16,46	5,90	16,18
7	N-methyl-N-propylaminoskupina	140 až 148	49,40	5,92	16,46	6,13	16,37
8	2-thiofen		47,85	3,73	11,96	3,84	11,76

** 5-isomer, ** 6-isomer, ostatní estery jsou směsí 5(6)-isomerů

Estery z příkladů 1 až 8 je možno chemicky regulovat způsobem podle příkladu 9 za vzniku odpovídajících 5(6)-hydroxymethyl-sulfonylbenzimidazolových derivátů.

Příklad 9

A) 2-Amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazol

24,6 g ethyl-2-amino-5(6)-benzimidazolcarboxylátu se uvede v suspenzi v 600 ml tetrahydrofuranu v dusíkové atmosféře. Pak se k reakční směsi za stálého míchání po kapkách přidá 96 ml (0,36 molu) bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydridu sodíku (RED-AL) ve 400 ml tetrahydrofuranu tak, aby teplota reakční směsi nepřekročila 35 °C. Pak se reakční směs zahřívá na teplotu varu pod zpětným chladičem 20 hodin. Přebytek hydridu se rozloží přidáním 30 ml vody. Směs se zfiltruje a filtrát se odpaří do sucha ve vakuu. Pěnovitý odparek se smísí se 150 mililitry ethylacetátu a 200 ml vody. Oddělí se vodná emulze, vodná fáze se zfiltruje, čímž se získá žlutá pevná látka. Filtrát se odpaří ve vakuu, čímž se získá další podíl pevné látky. Celkem se získá ve výtěžku 65 % 12,3 g surového 2-amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu. Byl připraven analytický vzorek isomerní směsi produktu.

Pro $C_8H_9N_3O$ (163)

vypočteno: 58,88 % C, 5,56 % H, 25,75 % N;

nalezeno: 58,65 % C, 5,48 % H, 25,54 % N.

B) 1-Dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazol

30 mmolů, 4,9 g, 2-amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu se rozpustí ve 40 ml acetonu a 30 mmolech, 3,03 g, triethylaminu. K acetonovému roztoku se přidá 4,32 g (30 mmolů) dimethylsulfamoylchloridu.

Směs se zahřívá 17 hodin na teplotu varu pod zpětným chladičem, načež se vlije do 25 ml vody. Vodná směs se extrahuje chloroformem. Chloroformový extrakt se postupně promyje vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného. Chloroformový roztok se zfiltruje a zbaví vody, chloroform se odpaří do sucha ve vakuu, čímž se v množství 5,5 g a ve výtěžku 66 % získá surový produkt ve formě směsi isomerů.

7 g surového isomerního produktu se chromatografuje na kysličníku křemičitém (Woelm silikagel) při použití ethylacetátu jako elučního činidla. 6-Isomer se oddělí po průchodu 6 litrů elučního činidla. Výtěžek je 1,02 g 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-6-hydroxymethylbenzimidazolu o teplotě tání 182 až 183 °C po překrystalování ze směsi ethylacetátu a methanolu.

Pro $C_{10}H_{14}N_4O_3S$ (270)

vypočteno: 44,43 % C, 5,52 % H, 20,73 % N;

nalezeno: 44,37 % C, 5,18 % H, 20,44 % N.

Příklad 10

A) 4-Amino-4-nitrobenzylalkohol

50 g (0,27 molu) 4-chlor-3-nitrobenzylalkoholu, 250 ml methanolu a 200 ml kapalného amoniaku se vloží do studeného autoklávu. Autokláv se uzavře a zahřeje na teplotu 150 °C. Reakce probíhá 6 hodin. Po zchlazení autoklávu se autokláv otevře a reakční směs se odpaří ve vakuu. Odparek se smísí s etherem a etherický roztok se zfiltruje k oddělení chloridu amonného. Filtrát se odpaří ve vakuu, čímž se získá pevný produkt, který se nechá překrystalovat ze směsi absolutního ethanolu a ethylacetátu, čímž se v množství 23,6 g ve výtěžku 52 % získá 4-amino-3-nitrobenzylalkoholu o teplotě tání 100 až 101 °C.

Pro $C_7H_8N_2O_3$ (168)

vypočteno: 50,0 % C, 4,80 % H, 16,66 % N;

nalezeno: 49,72 % C, 4,56 % H, 16,44 % N.

B) 3,4-Diaminobenzylalkohol

6 g (0,035 molu) 4-amino-3-nitrobenzylalkoholu, 95 ml tetrahydrofuranu a 0,5 g Raneyova niklu se hydrogenuje při tlaku 274 kPa při teplotě místnosti tak dlouho, až se absorbují 3 moly vodíku. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu, čímž se v množství 4,83 g a ve výtěžku 82 procent získá 3,4-diaminobenzylalkohol o teplotě tání 74 až 75 °C.

Pro $C_7H_{10}N_2O$ (138)

vypočteno: 60,85 % C, 7,30 % H, 20,28 % N;

nalezeno: 60,90 % C, 7,15 % H, 19,99 % N.

C) 2-Amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazol

2 g (0,014 molu) 3,4-diaminobenzylalkoholu se rozpustí ve 40 ml methanolu. Ke vzniklému roztoku se přidá roztok 1,6 g (0,014 molu) bromkyanu v 10 ml methanolu. Směs se nechá stát přes noc při teplotě místnosti, reakční směs se pak odpaří do sucha ve vakuu, čímž se v množství 3,4 g a ve výtěžku 97 % získá hydrobromid-2-amino-5(6)-hydroxymethylbenzimidazolu.

Stejný produkt je možno získat také z 4-amino-3-nitrobenzylalkoholu bez izolace diaminu jako meziproductu po hydrogenaci. Získaný filtrát po odstranění katalyzátoru hydrogenace se v tomto případě smísí s roztokem bromkyanu v methanolu. Výsledný produkt se pak izoluje svrchu uvedeným způsobem.

Příklad 11

Roztok 135 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-formylbenzimidazolu a methoxyaminhydrochloridu ve 20 ml methanolu se zahřívá na teplotu varu pod zpětným chladičem 17 hodin. Barva roztoku se změní z červené na žlutou. Reakční směs se zahustí na polovinu svého objemu a pak se přidá 9 mililitrů pufru o pH 7,0. Směs se zahustí odpařením, zfiltruje, promyje vodou a znovu odpaří, čímž se získá 42 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(methoxyiminomethyl)benzimidazolu. M/e 297.

Příklad 12

Roztok 141 mg (0,5 mmolu) 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-acetylbenzimidazolu a 120 mg (1,45 mmolu) methoxyaminhydrochloridu ve 20 ml methanolu se zahřívá na teplotu varu pod zpětným chladičem 19 hodin. Roztok se zahustí na parní lázni na polovinu svého objemu a přidá se stejně velké množství vody. Roztok se pak odpaří na pevnou látku, k níž se přidá 5 ml pufru o pH 7,0, čímž dojde ke krystalizaci. Roztok se pak zfiltruje, dvakrát promyje vodou, načež se pevná látka usuší, čímž se získá 75 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-methoxyiminoethyl)benzimidazolu o teplotě tání 183 až 185 °C.

Pro $C_{12}H_{17}N_5O_3S$ (311)

vypočteno: 46,29 % C, 5,50 % H, 22,49 % N;

nalezeno: 46,50 % C, 5,43 % H, 22,22 % N.

Příklad 13

688 mg (2 mmoly) 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-benzylbenzimidazolu, 500 miligramů methoxyaminhydrochloridu a 80 mililitrů methanolu se uvede v reakci způsobem podle příkladu 12, čímž se získá 530 miligramů 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-methoxyiminobenzyl)benzimidazolu. Teplota tání je 210 až 213 °C.

Pro $C_{17}H_{19}N_5O_3S$ (373)

vypočteno: 54,68 % C, 5,13 % H, 18,75 % N;

nalezeno: 54,66 % C, 5,06 % H, 18,92 % N.

Příklad 14

1,7 g 1-isopropylsulfonyl-2-amino-5(6)-benzoylbenzimidazolu, 1,2 g methoxyaminhydrochloridu a 200 ml methanolu se uvede v reakci způsobem podle příkladu 12, čímž se získá olejovitá kapalina, která se smísí s nasyceným roztokem chloridu sodného, extrahuje ethylacetátem a vysuší. Po několikanásobné extrakci benzenem se tímto způsobem získá 1 g 1-isopropylsulfonyl-2-amino-

no-5(6)-(α-methoxyiminobenzyl)benzimidazolu ve formě pěnovité pevné látky.

Pro $C_{18}H_{20}N_4O_3S$ (372)

vypočteno: 58,05 % C, 5,41 % H, 15,04 % N;

nalezeno: 57,98 % C, 5,72 % H, 14,99 % N.

Příklad 15

K 15 ml 95% ethanolu se přidá 718 mg (2 mmoly) 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-hydroxyiminobenzyl)benzimidazolu za stálého míchání, pak se k roztoku přidá ještě 120 mg, (2,2 mmolu) methoxidu sodíku, 552 mg (3,54 mmolu) ethyljodidu a roztok se zahřívá 2,5 hodiny na bod varu pod zpětným chladičem, pak se zchladí a odpaří na polovinu původního objemu. Pak se roztok vlije do vody, dvakrát extrahuje chloroformem, dvakrát promyje nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší a zfiltruje, čímž se získá 227 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-ethoxyiminobenzyl)benzimidazolu ve formě pěnovité bílé pevné látky, takže teplota tání nebyla stanovena.

Pro $C_{18}H_{21}N_5O_3S$ (387)

vypočteno: 55,80 % C, 5,46 % H, 18,08 % N;

nalezeno: 56,03 % C, 5,33 % H, 18,27 % N.

Příklad 16

718 mg (2 mmoly) 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-hydroxyiminobenzyl)benzimidazolu, 15 ml methanolu, 120 mg (2,2 mmolu) methoxidu sodíku a 600 mg (3,54 mmolu) 1-jodpropanu se uvede v reakci způsobem popsaným v příkladu 15, čímž se získá 248 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-propoxyiminobenzyl)benzimidazolu ve formě pěnovité bílé látky, takže teplota tání nebyla stanovena.

Pro $C_{19}H_{23}N_5O_3S$ (401)

vypočteno: 56,84 % C, 5,77 % H, 17,44 % N;

nalezeno: 56,63 % C, 5,54 % H, 17,60 % N.

Příklad 17

Roztok 172 mg (0,5 mmolu) 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-benzoylbenzimidazolu, 230 mg (1,45 mmolu) benzoyloxyaminhydrochloridu a 20 ml methanolu se zahřívá na bod varu pod zpětným chladičem 19,5 hodiny. Z roztoku se pak získá 161 mg 1-dimethylaminosulfonyl-2-amino-5(6)-(α-benzoyloxyiminobenzyl)benzimidazolu.

Pro $C_{23}H_{23}N_5O_3S$ (449)

vypočteno: 61,45 % C, 5,16 % H, 15,58 % N;

nalezeno: 61,51 % C, 5,20 % H, 15,37 % N.

Sloučeniny obecného vzorce I mají široké spektrum protivirové účinnosti. Jsou zvláště účinné při inhibici růstu virů echo, Mengo, Coxsackie (A9, 21, B5), poliovirů (typ I, II, III) nebo rhinovirů (25 kmenů), ale inhibují také různé typy chřipkových virů, například Ann Arbor, Maryland B, Massachusetts B, Hong Kong A, Pr-8a a Taylor C (typy A, B). Schopnost sloučenin obecného vzorce I potlačovat růst různých virů in vitro je možno prokázat použitím testů obdobných, těm, které byly popsány v publikaci Siminoff, *Applied Microbiology* **9**(1), 66-72 (1961). Specifické zkoušky budou dále podrobně popsány.

Pokusné metody

Buňky opičích ledvin (NSC-1) nebo Hela-buňky (5-3) se pěstují ve Falkonových láhvích o obsahu 25 ml při teplotě 37 °C v živném prostředí 199 a 5 % inaktivovaného fetálního séra skotu (FBS), s přísadou penicilinu v množství 150 jednotek na 1 ml a streptomycinu v množství 150 mikrogramů v 1 ml. Jakmile se vytvoří jedna souvislá vrstva buněk, odstraní se živné prostředí a do každé láhve se přidá 0,3 ml příslušného ředění zvoleného viru (echo, Mengo, Coxsackie, polioviru nebo rhinoviru). Po absorpci, která trvá hodinu při teplotě místnosti, se infikovaná vrstva buněk převrství prostředím, které se skládá z 1 dílu 1% přípravku Ionagar č. 2 a 1 dílu dvojnásobně koncentrovaného prostředí 199 s přísadou FBS, penicilinu a streptomycinu a s obsahem účinné látky v koncentraci 100, 50, 25, 12, 6, 3 a 0 mikrogramů v ml. Láhev, která neobsahuje účinnou látku, je kontrolní. Zásobní roztoky thiazolinbenzimidazolových sloučenin nebo thiazinylbenzimidazolových sloučenin

vzorce I byly připraveny v dimethylsulfoxidu v koncentraci 10^4 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Láhve byly inkubovány 72 hodin při teplotě 37 °C pro poliovirus a viry Coxsackie, echo a Mengo a 120 hodin při teplotě 32 °C pro rhinovirus. Chřipkový virus Ann Arbor, Maryland B, Massachusetts B, Hong Kong A, Pr-8a a Taylor C (typ A, B) se inkubují 72 hodin při teplotě 37 °C při použití buněk MDCK (buňky psích ledvin Madin-Darby). V oblasti, kde došlo k pomnožení virů v buňkách, bylo možno pozorovat plaky. Ke každé láhvi byl přidán roztok 10 % formaldehydu a 2 % octanu sodného k inaktivaci viru a k fixaci vrstvy buněk na povrch látek. Plaky tvořené virem byly bez ohledu na svou velikost spočítány po zbarvení okolních oblastí krystalovou violetí. Počet plaků byl srovnáván s počtem plaků v kontrolní láhvi pro každou koncentraci účinné látky. Účinnost zkoumané látky byla vyjádřena jako snížení počtu plaků v procentech. To znamená, že označení koncentrace účinné látky I_{50} znamená tu koncentraci, která inhibuje tvorbu plaků na 50 %. Tato koncentrace je obecnou mírou účinnosti jednotlivých látek.

Výsledky pokusů jsou vyjádřeny převedením na poliovirus typ I, protože tento virus se snadno pěstuje a při jeho použití je možno získat reprodukovatelné výsledky. Účinnost sloučenin obecného vzorce I však byla dokázána i pro další kultury virů, například pro viry Coxsackie (A9, A21, B5), echovirus (kmeny 1 až 4), virus Mengo, rhinovirus (25 kmenů), poliovirus (typ I, II, III) a chřipkové viry, jako Ann Arbor, Maryland B, Massachusetts B, Hong Kong A, Pr-8a a Taylor C (typ A, B). Výsledky pro různé benzimidazolové sloučeniny obecného vzorce I jsou shrnuty v tabulce I. V prvním sloupci je uvedeno číslo příkladu, ve druhém sloupci typ isomeru, sloupce 3 až 10 uvádějí snížení počtu plaků při různém ředění účinných látek v rozmezí 0,75 až 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

T a b u l k a 1

Redukce plaků polioviru 1-substituovanými sulfonyl-2-amino-5(6)-substituovanými benzimidazoly

Příklad č.	Isomer	100	50	25	12	Koncentrace účinné látky v $\mu\text{g/ml}$				
						6	3	1,5	0,75	
12	6	100	100	100	100	94	46	15	2	
11	5(6)	100	100	100	100	99	64	25	0	
13	6	100	100	100	100	100	100	97	81	
14	5(6)	toxický	středně toxický	slabě toxický	slabě toxický	100	95	40	0	
15	6	toxický	toxický	středně toxický	středně toxický	100	100	100	100	
16	6	toxický	slabě toxický	100	100	100	88	64	43	
17	6	36	17	6	8	10	3	0	0	

1-Thiazolinylnbenzimidazolové sloučeniny byly zkoumány v čistém stavu i jako směs isomerů. Oba isomery inhibují růst viru, přičemž 6-isomer je obvykle účinnější než 5-isomer.

Sloučeniny vzorce I potlačují růst řady virů při přidání do prostředí, v němž virus roste. Je proto možno je užít ve vodných roztocích, s výhodou s přísadou povrchově účinné látky k dekontaminaci povrchů, na nichž je přítomen poliovirus, virus Coxsackie, rhinovirus nebo chřipkový virus, včetně skla užívaného v nemocnicích, všech ostatních povrchů a zvláště prostředí užívaného k přípravě potravy.

Mimoto je sloučeniny vyrobené způsobem podle vynálezu možno podávat perorálně teplokrevným živočichům, včetně člověka, v dávce 1 až 300 mg/kg hmotnosti. Toto po-

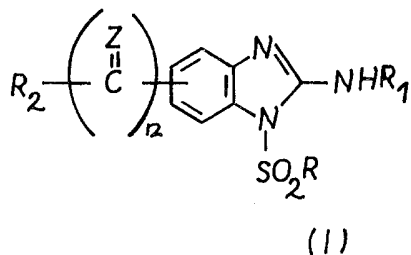
dání je možno periodicky opakovat v případě potřeby. Obvykle se účinná látka aplikuje každé 4 až 6 hodin.

Sloučeniny vzorce I se s výhodou užívají spolu s jedním nebo větším počtem pomocných látek podle zvolené cesty podání. V případě perorálního podání se sloučeniny mísí s netoxickými ředidly nebo nosiči, jako jsou laktóza, sacharóza, škrobový prášek, celulóza, mastek, stearan hořečnatý, kysličník hořečnatý, síran vápenatý, akáciový prášek, želatina, alginát sodný, benzoát sodný a kyselina stearová. Tyto lékové formy se zpracovávají na tablety nebo kapsle. Mimoto je možno sloučeniny podle vynálezu podávat parenterálně.

Účinné látky vzorce I je možno také mísit s kapalinami a podávat jako nosní kapky nebo intranazální spraye.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby 1-sulfonylbenzimidazolů, substituovaných na karbonylové skupině obecného vzorce I



kde

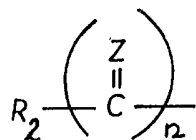
R znamená alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo skupinu $\text{—NR}_3\text{R}_4$, v níž R_3 a R_4 , stejné nebo různé, znamenají alkyl o 1 až 3 atomech uhlíku,

R_1 znamená atom vodíku,

R_2 znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo fenyl,

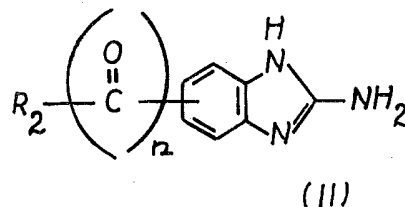
Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu,

skupina



je v poloze 5 nebo 6 a

n znamená 1, vyznačující se tím, že se uvede v reakci sloučenina obecného vzorce II



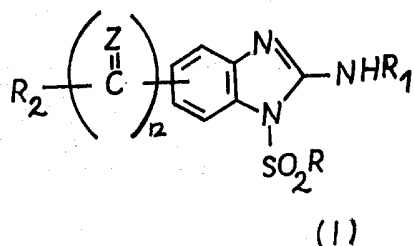
kde R_2 a n mají shora uvedený význam, se sulfonylchloridem obecného vzorce III



(III),

kde R má shora uvedený význam za vzniku meziproduktů odpovídajících vzorci I, v nichž R_1 znamená atom vodíku a substituent Z je nahrazen atomem kyslíku s následnou reakcí a hydroxylaminem, alkoxyaminem o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyaminem za vzniku sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu, nebo za vzniku meziproduktů odpovídajících obecnému vzorci I, v němž je substituent Z nahrazen hydroxyiminoskupinou s následnou alkylací za vzniku sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo benzyloxyiminoskupinu za přítomnosti organického rozpouštědla při teplotě varu pod zpětným chladičem.

2. Způsob podle bodu 1, pro výrobu 1-sulfonylbenzimidazolů, substituovaných na karbonylové skupině obecného vzorce I'



kde

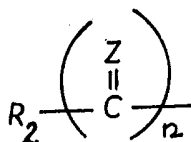
R znamená alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo skupinu $\text{—NR}_3\text{R}_4$, v níž R_3 a R_4 , stejné nebo různé, znamenají alkyl o 1 až 3 atomech uhlíku,

R_1 znamená atom vodíku,

R_2 znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku nebo fenyl,

Z' znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku,

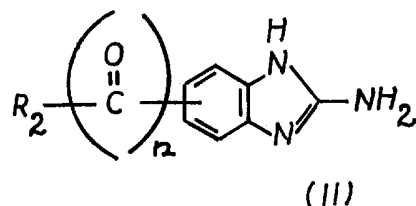
skupina



je v poloze 5 nebo 6 a

n znamená 1, vyznačující se tím, že se u-

vede v reakci sloučenina obecného vzorce II



kde R_2 a n mají shora uvedený význam, se sulfonylchloridem obecného vzorce III



(III),

kde R má shora uvedený význam, za vzniku meziproduktů odpovídajících vzorci I', v nichž R_1 znamená atom vodíku a substituent Z' je nahrazen atomem kyslíku s následnou reakcí s hydroxylaminem nebo alkoxyaminem o 1 až 4 atomech uhlíku za vzniku sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku nebo za vzniku meziproduktů odpovídajících obecnému vzorci I', v němž je substituent Z' nahrazen hydroxyiminoskupinou s následnou alkylací za vzniku sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z znamená alkoxyiminoskupinu o 1 až 4 atomech uhlíku za přítomnosti organického rozpouštědla při teplotě varu pod zpětným chladičem.