



No. 07-130803- -00007-0000

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COM
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E.

S.

D.

Fecha: 2011-07-19 16:20:57 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 16

Ref.: Expediente No. 07-130.803

Solicitud de Patente de Invención PCT denominada DERIVADOS DE
ESPIRO TRICICLOS CON PROPIEDADES COMO MODULADORES DE
LA ACTIVIDAD DEL RECEPTOR CRTH2, SU PROCESO DE
FABRICACIÓN Y COMPOSICIONES QUELOS CONTIENEN.

Solicitante: Laboratorios Serono S.A.

Darío Cárdenas Navas, identificado como aparece al pie de mi firma, atentamente me dirijo a ese Despacho dando respuesta al Oficio emitido por ese Despacho el pasado día 3 de Junio de 2011 mediante el cual de acuerdo con el Artículo 46 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina requirió al solicitante para presentar el documento titulado así:

KHALIL, O. M. A.; EL-ZANFALLY, S.H. "Synthesis of pharmacologically interesting derivatives of isatinspirohydantoin. Part I". Bulletin of the faculty of pharmacy (cairo university). Vol.; 28, Nr.: 1, Page(s): 39 – 42

Me permito adjuntar copia del mencionado documento junto con su traducción simple al español.

Quedo a disposición del Despacho a quien solicito me notifique en caso de requerir información complementaria ó adicional a la ya radicada.

Atentamente,

Darío Cárdenas Navas
c.c. 17.066.629 de Bogotá
t.p. 1.250 c.s.j.

SYNTHESIS OF PHARMACOLOGICALLY INTERESTING DERIVATIVES OF ISATINSPIROHYDANTOIN

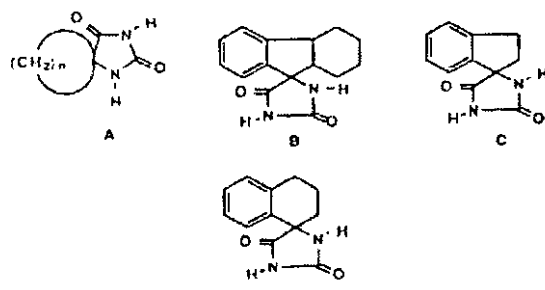
Part I:

O. M. Khalil, N. A. Abdou and S.H.El-Zanfally

Organic Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Cairo University, Cairo, Egypt.

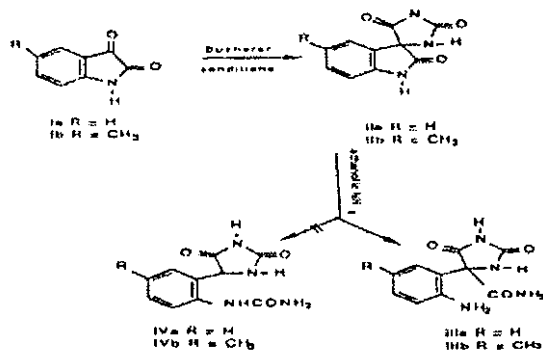
Abstract: Spirohydantoin, (II a & b), combining the hydantoin and isatin moieties, have been prepared and subjected to alkylation or acylation reaction. Consequently, several mono and di-alkylated and acylated spirohydantoin were prepared. In the course of this work, two unexpected non-spirohydantoin, III & IV, were isolated and their structures as well as the structures of all prepared compounds were based on both chemical and spectroscopic evidences.

The search for an ideal anticonvulsant drug has resulted in the synthesis and evaluation of compounds having diverse chemical structures. Among these, the most popular and successful antiepileptic agents are derived from hydantoin and barbiturate ring systems. Reports on spirohydantoin, e.g. cycloalkanespiro (A), fluorenespiro (B), hydrindonespiro (C) and β -tetralonespiro (D) hydantoin, showed that they have interesting anticonvulsant properties.(1,2,3,4).



Meanwhile, a literature survey on potential antiepileptic drugs has revealed that some isatin derivatives exhibit anticonvulsant activity. (5,6,7,8)

Based on these structural characteristics, the idea of synthesising spirohydantoin combining hydantoin and isatin moieties emerged and seemed attractive.



Discussion

The spirohydantoin, namely, isatinspiro-5-hydantoin (IIa) and 5-methyl- isatinspiro-5-hydantoin (IIb) were prepared by reacting isatin (Ia) or its 5-methyl derivative (Ib) with ammonium carbonate and potassium cyanide in aqueous ethanol (chart 1). In the course of isolating the target hydantoin (II a & b) another crystalline products were also obtained, but these proved to be not the expected hydantoin. their microanalytical data were in support of the non-spirohydantoin (III) or (IV) both of which are the result of ammonolysis of the spirohydantoin. This was experimentally confirmed by passing ammonia gas in the alcoholic solution of the spirohydantoin and then refluxing for three hours, when the non-spirohydantoin were obtained.

A choice between the two postulated structures (III) & (IV) was based on: (a) The chemical behaviour of the unexpected products when reacted with nitrous acid and then coupled with phenol to give a dark red azo dye, suggested the presence of a free aromatic amino group and (b) The ¹H-nmr spectrum of the unexpected product from 5-methylisatin did not show the methane proton signal expected for structure (IV). Thus for the unexpected products structure (III) is the accepted one since it is complying with the chemical behaviour as well as microanalytical and ¹H-nmr data. The two unexpected products are not reported in the available literature.

It is of interest to mention that N-alkylation or acylation of many biologically active cyclic imides, (glutarimides, succinimides, barbiturates and hydantoin), either potentiates their activities or decrease their toxicities (9,10,11) Based on this observation, several alkylated and acylated derivatives of I(a)&(b) were prepared (chart 2).

Alkylation was done by either of two methods:

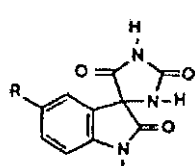
- (I) The use of dimethyl sulphate in aqueous sodium hydroxide, or
- (II) The interaction between the sodium derivative of the spirohydantoin and alkyl iodides.

Monoalkylation occurs with one equivalent of the alkylating agent which attacks one of the three available-NH-groupings in the spirohydantoin. Obviously attack will occur preferentially at the most acidic -NH- namely N⁵-H of the hydantoin moiety. IR data as well as the reported findings (12) concerning alkylation of hydantoin are in support of N⁵-H substitution (V). On the other hand dialkylation occurs with two equivalents of the alkylating agent which attacks two of the three available positions. Structure (VI) for the dialkylated products was again, based on the difference in the acidic character of the three imido -NH- groupings. Disubstitution should occur, therefore at both N⁵ of the hydantoin and N¹ of the oxindole moieties.

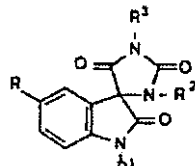
Acylation of spirohydantoin (II a & b) was affected by

heating with acetic anhydride or by reaction with different acid chlorides in dry pyridine. Monoacylation occurs in all cases and since each of the three NH- groups in the starting hydantoin in addition to the -OH of the imidol form are liable to be attacked by the acylating agents, four different structures are therefore, possible for the acylated product. The possibility of -OH acylation is eliminated by the IR analysis of all acylated products. None of them showed the acetate C=O stretch, ca 1200cm⁻¹. With acetic anhydride, the product proved to be N¹- acetyl derivative. The unshared electron pair on the nitrogen of this position are more available than those on the other two nitrogens. Experimentally, the acylated products VII a and VII b were found to be freely soluble in alkali hydroxides indicating that N³-hydrogen is free.

On the other hand acylation with aroyl chlorides in pyridine yielded the corresponding N³-acyl derivatives VII (c-h). Under basic conditions, the most acidic N³- hydrogen is abstracted and, thus this position is the most likely to be substituted. This postulation was experimentally supported by the fact that the acylated products VII c-h were insoluble in alkali hydroxides.



II



V

	R	R ¹	R ²	R ³
V a	H	H	H	CH ₃
b	CH ₃	H	H	CH ₃
VI a	H	CH ₃	H	CH ₃
b	CH ₃	CH ₃	H	CH
VII a	H	H	CH ₃ CO	H
b	CH ₃	H	CH ₃ CO	H
c	H	H	H	C ₆ H ₅ CO
d	CH ₃	H	H	C ₆ H ₅ CO
e	H	H	H	3-No ₂ -C ₆ H ₄ CO
f	CH ₃	H	H	3-No ₂ -C ₆ H ₄ CO
g	H	H	H	4-Cl-C ₆ H ₄ CO
h	CH ₃	H	H	4-Cl-C ₆ H ₄ CO

Experimental

All melting points were determined on a Griffen apparatus and are corrected.

Microanalyses were carried out at the Microanalytical center, Cairo University. IR spectra were determined on a Perkin Elmer 457, Beckmann or Pye Unicam spectrometers.

¹H-nmr were carried out using A-60 MHZ(varian) NMR

spectrometers.

* Isatin and its Methyl derivative I (a) & I(b) were prepared in this work by using Sand Meyer Isonitrosoacetanilide synthesis (13).

Spiro[3H-indole-3,5-imidazolidine] 2,2,4(1 H)-triones Or Isatinspiro-3,5-hydantoin.

A mixture of isatin or its 5-methyl derivative (0.01 mole), potassium cyanide (0.015 mole), and ammonium carbonate (0.03 mole) suspended in 50 percent aqueous ethanol (20 ml) was stirred at 60-65°C for 6 hours. The mixture was cooled, left overnight when cubic crystals of the spirohydantoin separated.

The crystalline product was removed by filtration, washed with alcohol and recrystallized.

Table 1: Isatinspiro- 3,5- hydantoin II

No	R	mp C	Yield %	Solvent Oil Crystallization	Mol Form	Analysis %
a	H	258-260	50	H 0-glacial acetic acid	C ₁₀ H ₇ N ₃ O ₃	Calcd: C55.29 H3.22 N19.25 Found: 55.3 3.2 19.2
b	CH ₃	265	27	ethanol	C ₁₁ H ₉ N ₃ O ₃	Calcd: C57.14 H3.69 N18.18 Found: 57.0 4.0 18.5

* IR spectra showed 3350, 3300, 3200 cm⁻¹ (N-H stretching) 1780, 1750, 1720 cm⁻¹ (C=O stretching)

¹H-nmr

2.2 ppm (s., 3H, CHH₃ protons)

6.9 - 7.4 ppm (m., 3H, aromatic protons)

10.8 ppm (s., 1H, imidic NH. protons)

3-Methyl derivative of isatinspiro- 3,5- hydantoin:- (Va&b)

Method A:-

Solution of spirohydantoin IIa&b (0.06 mole) in water (30 ml) containing sodium hydroxide (0.074 mole) was treated drop wise while stirring with dimethylsulphate (0.08 mole) over 5 minutes. Stirring was continued at room temperature for another 10 minutes, cooled and filtered and crystallised from suitable solvent.

Method B:-

Sodium metal (0.1 mole) was dissolved in excess absolute ethanol (25 ml). To this solution spirohydantoin (0.1 mole) was added. The excess absolute alcohol was distilled under vacuum. The sodium salt was then treated with a solution of methyl iodide (0.1 mole) in DMF (20 ml) and refluxed for one hour. The mixture was filtered from the precipitated sodium iodide and the filtrate was distilled under vacuum. The residue was crystallised from suitable solvent. (see table 2).

1,3-Dimethyl derivative of isatinspiro-3,5- hydantoin:- VI(a&b)

As the procedure B for the preparation of mono-methyl derivatives of spirohydantoin except the use of two equivalent amounts of both sodium metal and methyl iodide (0.2 mole). The reaction mixture was refluxed for 3 hours.

Table 2: Derivatives Of Isatinopiro - 3- 5- hydantoins.

Comp. No.	m . p. c	yield %	Solvent Of crystallisation	Mol. Form.				Analysis		
								Calcd	Found	
V a	279	43	ethanol	C ₁₁	H ₉	N ₃	O ₃	C 57.14 H 3.89 N 18.18	57.4 4 17.9	
V b	250	45	aqueous ethanol	C ₁₂	H ₁₁	N ₃	O ₃	C 58.77 H 4.48 N 17.14	58.7 4.6 17.1	
VI a	315	40	Benzene acetone	C ₁₂	H ₁₁	N ₃	O ₃	C 58.77 H 4.48 N 17.14	58.8 4 17.5	
VI b	310	46	CH ₂ C ₁₂ Pet - ether	C ₁₃	H ₁₃	N ₃	O ₃	C 60.23 H 5.01 N 16.21	60.4 5.5 15.8	
VII a	130	62	ethylacetate	C ₁₂	H ₉	N ₃	O ₄	C 55.39 H 3.47 N 16.21	55.4 3.2 16	
VII b	100	50	ethylacetate	C ₁₃	H ₁₁	N ₃	O ₄	C 57.14 H 4.02 N 15.38	57 3.8 15.6	
VII c	160	50	CH ₂ C ₁₂ Pet - ether	C ₁₇	H ₁₁	N ₃	O ₄	C 63.55 H 3.42 N 13.08	63.1 3.9 13	
VII d	115	49	CH ₂ C ₁₂ Pet - ether	C ₁₈	H ₁₃	N ₃	O ₄	C 64.47 H 3.88 N 12.53	63.8 3.8 12	
VII e	150	52	CH ₂ C ₁₂ Pet - ether	C ₁₇	H ₁₀	N ₄	O ₆	C 55.73 H 2.73 N 15.30	56.1 3.1 15.6	
VII f	203	50	CH ₂ C ₁₂ Pet - ether	C ₁₈	H ₁₂	N ₄	O ₆	C 56.84 H 3.15 N 14.73	56.8 3.5 15	
VII g	163	50	acetone	C ₁₇	H ₁₀	N ₃	O ₄	C 57.38 H 2.81 N 11.80	57.1 3 11.5	
VII h	190	50	aqueous ethanol	C ₁₈	H ₁₂	N ₃	O ₄	C 58.45 H 3.24 N 11.36	58.6 3.6 11	

Common bands in all IR spectra Of Compounds Of Table II were 3400-3300 cm⁻¹ (broad) (N-H stretching), 1780, 1760 and 1690 cm⁻¹ (C=O Stretching)

¹ H- nmr of:

V (b) 2.2 ppm (s, 3H, CH₃ protons)
3 ppm (s, 3H, N- CH₃ protons)
7.1 - 7.7 ppm (m, 3H, aromatic protons)

VIIa 2.5 ppm (s, 3H, CH₃ - C -
6.95 -7.4 ppm (m,4H, aromatic protons)

VI (b) 2.2 ppm (s, 3H, CH₃ protons)
2.7 ppm (s, 3H, CH₃ protons)
3.15 ppm (s, 3H, CH₃ protons)
6.9- 7.3 ppm (m, 3H, aromatic protmatic proton-
VIIc 6.8-7.3 ppm (m, 7H aromatic protmatic protons)
8.4 ppm (s, 2H protmatic protons)

1-Acetyl derivative of isatinspiro-3,5-hydantoin VII(a&b)

The spirohydantoin (0.05 mole) was refluxed with acetic anhydride (40ml) for one hour. The mixture was concentrated in vacuum and the residue was slurried with saturated sodium bicarbonate solution. The residual 1-acetyl derivative was removed by filtration and crystallised from ethylacetate.

3- Benzoyl derivatives of isatinspiro-3,5 hydantoin VII(c-h)

General Procedure:

An equimolecular mixture of the spirohydantoin and benzoyl chloride or substituted benzoylchloride (.01 mole) in dry pyridine (30ml) was refluxed for 3 hours.

The Cold reaction mixture was poured onto ice- cold water and the separated solid was filtered off, washed with cold water till free from pyridine and finally dried. The dried product was crystallised from the suitable solvent.

Pharmacology

For screening anticonvulsant activity of some new compounds. The method adopted was that of Goodman and Swinyard (14) using pentylenetetrazole in a dose of 100 mg/kg in frogs and 75mg/kg in mice for inducing convulsions. Diphenylhydantoin was used as a reference standard. Test Compounds and reference standard were given in different doses and the percentage protection produced by each dose was determined.

The results are given in tables and graphs showing the relation between the dose and the percentage protection.

Table 3 : Anticonvulsant effect Of diphenylhydantoin and test Compounds in mice.

Dose (mg / kg)	Percentage protection after the respective compound.		
	Reference standard	II a	II b
50	25	25	-
100	50	50	25
150	75	-	-
200	-	75	50
Protective dose 50	100	100	200

Reference Standard = Diphenylhydantoin

II a = Isatinspiro - 3,5- hydantoin

II b = 5- MMethylisatinspir - 3,5 - hydantoin

Table 4: Anticonvulsant effect of diphenylhydantoin and test Compounds in frogs.

Dose (mg / kg)	Percentage protection after the respective compound.		
	Reference standard	II a	II
100	33.3	33.3	-
150	50	50	-
200	66.6	66.6	33.3
400	-	-	50
Protective dose 50	150	150	400

Reference Standard = Diphenylhydantoin

IIa = Isatinspiro -3, 5- hydantoin

IIb = 5- Methylisatinspiro - 3,5 - hydantoin

Conclusion : - All test Compounds showed anticonvulsant activity Compond no. 1 Was nearly equal to the reference standard especially in low dose.

References

1. W. Oldfield, . and C.H.; Cashin, J. Med. Chem., 8, 239 (1965).
2. G. Frank, and F.; Morell, Neurology, 8, 529 (1958).
3. T.J. Putnam, and J.; Jacobs, ibid, 7, 784 (1957).
4. S. Carter, and H.H. Meritt; I. Lancet, 70, 103 (1950) through C.A, 44, 6532 (1950).
5. Popp, F.D. and Donigan, B.E.; J. Pharm. Sci, 68, 518 (1979).
6. F.D., Popp, R. Parson, and B.E.; Donigan, ibid, 69, 1235 (1980).
7. F.D. Popp, R. Parson, and B.E.; Donigan, J. Heterocyclic chem.; 17, 1329 (1980).
8. H. Pajouhesh, . R. parson, and F.D. Popp, J. Pharm. Sci., 72, 318 (1983).
9. A Burger, .; Medicinal Chemistry, 3rd ed., Wiley Interscience, (1970), p. 1393.
10. C.O., Wilson, Gisvold O. and K.F. Doerge.; Textbook of organic Medicinal and Pharmaceutical chemistry, 8th ed., J.B. Lippincott Company, Philadelphia-Toronto (1982), p. 344.
11. W.O. ., Foye, Principles of Medicinal Chemistry 3rd ed., Lea & Febiger, Philadelphia, London, (1989) p. 158.
12. D.K. Yung, T.P., Forrest, M.L. Gilroy, and M.M Vohra, .; J. Pharm. Sci, 62 (11), 1765 (1973).
13. T.; Sandmeyer, x Helv. Chim. Acta, 2, 234 (1919).
14. E.A.; Swinyard, W.C. Brown, and L. S.v Goodman, J. Pharmacol. Exptl. Therap., 319 (1952).

تشبيد بعض مركبات الـإيزاتين سبيروهيـدانتوين التي لها بعض الخواص الأقربازينية

أمينة خليل، نادية أحمد عبده، سعد حسن الزنقلى

شيدت بعض مركبات السبيروهيـدانتوين وقد قام الباحثين بتحضير مركبات الألكيل والاسيل سبيروهيـدانتوين وفي هذا البحث تم فصل مركبين غير متوقعين وقد ثبت التركيب البنائي لهذه المركبات بواسطة التحليل الطيفي وقد اختبرت فاعلية بعض المركبات ضد مرض الصرع.

SÍNTESIS DE DERIVADOS DE ISATINESPIROHIDANTOINA

FARMACOLÓGICAMENTE INTERESANTES

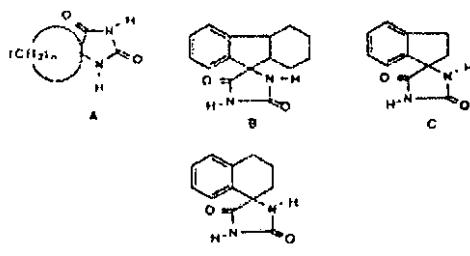
O. M. Khalil, N. A. Abdou y S.H.El-Zanfally

Departamento de Química Orgánica, Facultad de farmacia, Universidad del Cairo, Cair, Egipto.

Resumen

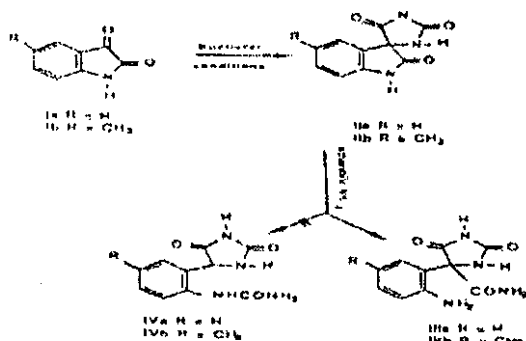
Se han preparado espirohidantoinas (ii a & b), que combinan las partes hidantoína e isatina, y se sometieron a reacción de alquilación o acilación. Por ende, se prepararon diversas espirohidantoinas mono y di-alquiladas y aciladas. En el transcurso de este trabajo, se aislaron dos no-espirohidantoinas inesperadas, III y IV y cuyas estructuras como las estructuras de todos los compuestos preparados, fueron basadas tanto en evidencias químicas como espectroscópicas.

La búsqueda de un fármaco anticonvulsivo ideal ha resultado en la síntesis y evaluación de compuestos que tienen diversas estructuras químicas. Entre ellos, los agentes antiepilépticos más populares y exitosos son derivados de sistemas de anillo de la y de barbiturato. Los reportes sobre espirohidantoinas, por ejemplo, cicloalcaespiro (A), fluorenonespiro (B), hidrindonespiro (C) y β -tetralonespiro (D) hidantoinas, mostraron que éstas tienen propiedades anticonvulsivas interesantes. (1, 2, 3, 4).



En tanto que un sondeo en la literatura sobre los fármacos antiepilépticos potenciales ha revelado que algunos derivados de isatina muestran actividad anticonvulsiva. (5, 6, 7, 8).

Basados en estas características estructurales, surgió la idea de sintetizar espirohidantoínas que combinen las partes hidantoína e isatina, la cual parece atractiva.



DISCUSIÓN

Las espirohidantoínas, especialmente, isatinespiro-5-hidantoína (IIa) y la 5-metil-isatinespiro-5-hidantoína (IIb) fueron preparadas mediante la reacción de isatina (Ia) ó su derivado 5-metilo (Ib) con etanol (esquema I). En el curso de la separación de las hidantoínas objetivo (IIa y b) también se obtuvieron otros productos cristalinos, pero dichos compuestos proporcionados no fueron las hidantoínas esperadas. Sus datos microanalíticos fueron el sustento de las no-espirohidantoínas (III) ó (IV), las cuales son el resultado de amonólisis de las espirohidantoínas. Esto se confirmó experimentalmente mediante el paso de gas de amoníaco en la solución alcohólica de las espirohidantoínas y luego a reflujo durante tres horas, cuando se obtuvieron las no-espirohidantoínas. La escogencia entre las dos estructuras postuladas (III) y (IV) estuvo basada en: (a) el comportamiento químico de los productos inesperados cuando se hicieron reaccionar con ácido nitroso y luego acoplarse con fenol para producir un tinte azo rojo oscuro, sugerido por la presencia de un grupo amino aromático libre y (b) el espectro de RMN-¹H del producto inesperado a partir de la 5-metilización que no mostró la señal del protón del metano esperado para la estructura (V). Por lo tanto, para la estructura de los productos inesperados, la (III) es la aceptada dado que ésta cumple con el comportamiento químico y también con los datos

microanalíticos y de RMN¹H. Los productos inesperados no se encuentran reportados en la literatura disponible.

Es de interés mencionar que la N-alquilación o acilación de muchas imidas cíclicas biológicamente activas (glutarimidas, succinimidas, barbituratos e hidantoínas) potencializan sus actividades ó disminuyen sus toxicidades (9, 10, 11). Con base en esta observación, se prepararon diversos derivados alquilados y acilados de I(a) y (b) (esquema 2).

La alquilación se llevó a cabo mediante cualquiera de los dos métodos:

- (I) El uso de sulfato de dimetilo en hidróxido de sodio acuoso, ó
- (II) La interacción entre el derivado de sodio de las espirohidantoínas y los yoduros alquílicos.

La monoalquilación sucede con un equivalente del agente de alquilación el cual ataca uno de los tres grupos -NH- disponibles en las espirohidantoínas. Obviamente, el ataque ocurrirá preferencialmente en el grupo -NH- más ácido, principalmente en N³-H de la parte de hidantoína. Los datos de IR como los hallazgos reportados (12) en relación con la alquilación de hidantoínas, son el sustento de la sustitución en N³-H (V). De otra parte, la dialquilación sucede con dos equivalentes del agente de alquilación el cual ataca dos de las tres posiciones disponibles.

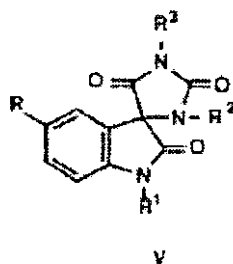
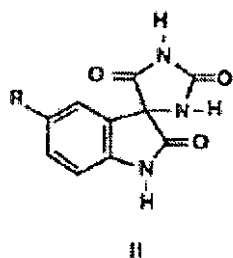
La estructura (VI) para los productos dialquilados, estuvo de nuevo basada en la diferencia del carácter ácido de los tres grupos imido -NH-. La di-sustitución debe suceder por lo tanto, en ambas posiciones de las partes N³ de la hidantoína y en N¹ del oxindol.

La acilación de espirohidantoínas (II a y b) fue afectada por el calentamiento con anhídrido acético o por la reacción con diferentes cloruros de ácido en piridina seca. La monoacilación sucede en todos los casos y dado que cada uno de los tres grupos NH- en la hidantoína de partida además del -OH de la forma imidol son obligados a ser atacados por los agentes de acilación, son entonces, cuatro diferentes estructuras posibles para el producto acilado.

La posibilidad de acilación del -OH es eliminada mediante el análisis IR de todos los productos acilados. Ninguno de ellos mostró estiramiento C=O del acetato, ca 1200 cm^{-1} . Con el anhídrido acético, se comprobó que el producto será el derivado N^1 -acetil. El par de electrones no compartidos sobre el nitrógeno de esta posición se encuentra mucho más disponible que aquellos sobre los otros dos nitrógenos.

De manera experimental se encontró que los productos acilados VIIa y VIIb eran libremente solubles en hidróxidos alcalinos indicando que el hidrógeno del N^3 se encuentra libre.

De otra parte, la acilación con cloruros de aroilo en piridina proporcionó los derivados N^3 acil correspondientes VII(c-h). Bajo condiciones básicas, el hidrógeno del N^3 más ácido es extraído y por ende, esta posición es la que más probablemente ha de ser sustituida. Este postulado se sustentó experimentalmente por el hecho que los productos acilados VII c-h fueron insolubles en hidróxidos alcalinos.



	R	R ¹	R ²	R ³
V a	H	H	H	CH ₃
b	CH ₃	H	H	CH ₃
VI a	H	CH ₃	H	CH ₃
b	CH ₃	CH ₃	H	CH
VII a	H	H	CH ₃ CO	H
b	CH ₃	H	CH ₃ CO	H
c	H	H	H	C ₆ H ₅ CO
d	CH ₃	H	H	C ₆ H ₅ CO
e	H	H	H	3-NO ₂ -C ₆ H ₄ CO
f	CH ₃	H	H	3-NO ₂ -C ₆ H ₄ CO
g	H	H	H	4-Cl-C ₆ H ₄ CO
h	CH ₃	H	H	4-Cl-C ₆ H ₄ CO

Experimental

Todos los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Griffen y fueron corregidos.

Los microanálisis fueron llevados a cabo en un centro de Microanalítica, Universidad del Cairo. Los Espectros IR fueron determinados en un Perkin Elmer 457, Beckmann o espectrómetros Unicam.

Los espectros de RMN¹H fueron realizados mediante el uso de espectrómetros A-60 MHz (varian) NMR.

*La isatina y su derivado de metilo I (a) y I(b) fueron preparados en este trabajo mediante el uso de la síntesis de isonitrosoacetanilida de Sand Meyer (13).

Espiro[3H-indol-3,5-imidazolidina]2,2,4 (1H)trionas ó Isatinespiro-3,5-hidantoina.

Se agitó a 60-65°C por 6 horas una mezcla de isatina ó su derivado de 5-metilo (0.01 mol), cianuro de potasio (0.015 mol) y carbonato de amonio (0.03 mol) suspendida en etanol acuoso al 50% (20 ml). La mezcla se enfrió, se dejó durante la noche cuando se separaron cristales cúbicos de la espirohidantoina. El producto cristalino se retiró mediante filtración, se lavó con alcohol y se recrystalizó.

Tabla 1: Isatinespiro-3,5-hidantoína II

No.	R	p.f°C	Rendimiento %	Solvente de cristalización	Fórm. molecular	Análisis %	
						Calc.	Encont.
A	H	258-260	50	HO-ácido acético glacial	C ₁₀ H ₇ N ₃ O ₃	C55.29	55
						H3.22	3.2
						N19.35	19.2
						C57.14	57.0
B	CH ₃	265	27	Etanol	C ₁₁ H ₇ N ₃ O ₃	H3.89	4.0
						N18.18	18.5

El espectro IR mostró 3350, 3300, 3200 cm⁻¹ (estiramiento N-H), 1780, 1750, 1720 cm⁻¹ (estiramiento C=O)

RMN¹H 2.2 ppm (s., 3H, CHH₃ protones); 6.9 -7.4 ppm (m., protones aromáticos); 10.8 ppm (s., 1H NH imídico, protones).

Derivado 3- metilo de isatinespiro-3,5-hidantoina: (Va y b)

Método A:

Una solución de espirohidantoina IIa y b (0.06 mol) en agua (30 ml) que contenía hidróxido de sodio (0.074 mol) mientras se agitaba, se trató gota a gota con sulfato de dimetilo (0.08

mol) durante 5 minutos. Se continuó la agitación a temperatura ambiente por otros diez minutos, se enfrió, se filtró y cristalizó del solvente adecuado.

Método B:

Se disolvió sodio metálico (0.1 mol) en exceso de etanol absoluto (25 ml). A dicha solución se agregó espirohidantoína (0.1 mol). El exceso de etanol absoluto se destiló mediante vacío. La sal de sodio luego fue tratada con una solución de yoduro de metilo (0.1 mol) en DMF (20 ml) y se dejó a reflujo por una hora. La mezcla se filtró a partir del yoduro de sodio precipitado y el filtrado se destiló mediante vacío. El residuo se cristalizó desde el solvente adecuado. (véase tabla 2).

Derivado 1,3-dimetilo de isatinespiro-3,5-hidantoína VI(a y b)

Como el procedimiento B para la preparación de derivados de mono-metilo de espirohidantoínas, excepto por el uso de dos cantidades de equivalente tanto de metal de sodio como de yoduro de metilo (0.2 mol). La mezcla de reacción se colocó a reflujo por 3 horas.

Tabla 2: Derivados de isatinespiro-3,5-hidantoínas.

No.	p.f°C	Rendimiento %	Solvente de cristalización	Fórm. molecular	Análisis %	
					Calc.	Encont.
Va	279	43	etanol	$C_{11}H_9N_3O_3$	C57.14	57.4
					H3.89	4
					N18.18	17.9
Vb	250	45	Etanol acuoso	$C_{12}H_{11}N_3O_3$	C58.77	58.7
					H4.48	4.6
					N17.14	17.1
Vla	315	40	Benceno acetona	$C_{12}H_{11}N_3O_3$	C58.77	58.8
					H4.48	4
					N17.14	17.5

VIb	310	46	CH ₂ Cl ₂ Éter de pet	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₃	C60.23	60.4
					H5.01	5.5
					N16.21	15.8
VIIa	130	62	Acetato de etilo	C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₃	C55.39	55.4
					H3.47	3.2
					N16.21	16
VIIf	100	50	Acetato de etilo	C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₄	C57.14	57
					H4.02	3.8
					N15.38	15.6
VIIc	160	50	CH ₂ Cl ₂ éter de pet.	C ₁₇ H ₁₁ N ₃ O ₄	C63.55	63.1
					H3.42	3.9
					N13.08	13
VIId	115	49	CH ₂ Cl ₂ éter de pet.	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₄	C64.47	63.8
					H3.88	3.8
					N12.53	12
VIIe	150	52	CH ₂ Cl ₂ éter de pet.	C ₁₇ H ₁₀ N ₄ O ₆	C55.73	56.1
					H2.73	3.1
					N15.30	15.6
VIIf	203	50	CH ₂ Cl ₂ éter de pet.	C ₁₈ H ₁₂ N ₄ O ₆	C56.84	56.8
					H3.15	3.5
					N14.73	15
VIIg	163	50	acetona	C ₁₇ H ₁₀ N ₃ O ₄	C57.38	57.1
					H2.81	3
					N11.80	11.5
VII h	190	50	Etanol acuoso	C ₁₈ H ₁₂ N ₃ O ₄	C58.45	58.5
					H3.24	3.6
					N11.36	11

Las bandas comunes en todos los espectros IR de los compuestos de la Tabla 2 fueron 3400-3300 cm⁻¹ (amplias) (estiramiento N-H). 1780, 1760 y 1690 cm⁻¹ (estiramiento C=O).

RMN¹H de V(b): 2.2 ppm (s., 3H, protones CH₃); 3 ppm (s., 3H, protones N-CH₃); 7.1-7.7 ppm (m., 3H, protones aromáticos).

VI(b): 2.2 ppm (s., 3H, protones CH₃); 2.7 ppm (s., 3H, protones CH₃); 3.15 ppm (s., 3H, protones CH₃); 6.9-7.3 ppm (m., 3H, protones aromáticos).

VIIa: 2.5 ppm (s., 3H, CH₃ -C-); 6.95-7.4 ppm (m., protones aromáticos).

VIIc 6.8-7.3 ppm (m., 7H protones aromáticos); 8.4 ppm (s., protones aromáticos).

Derivado 1-acetil de isatinesperio-3,5-hidantoína VII (a y b)

La espirohidantoína (0.05 mol) fue puesta a reflujo con anhídrido acético (40 ml) por una hora. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se convirtió en lechada con solución saturada de bicarbonato de sodio. El residuo derivado 1-acetil se retiró mediante filtración y se cristalizó desde acetato de etilo.

Derivados 3-benzoil de isatinesperio-3,5-hidantoína VII (c-h)

Procedimiento general:

Se colocó a reflujo por 3 horas una mezcla equimolar de espirohidantoína y cloruro de benzoilo o benzocloruro sustituido (.01 mol) en piridina seca (30 ml).

La mezcla de reacción fría se vertió sobre hielo-agua fría y el sólido separado se filtró exhaustivamente, se lavó con agua fría hasta quedar libre de piridina y finalmente se secó. El producto seco se cristalizó desde el solvente apropiado.

Farmacología

Clasificación de la actividad anticonvulsiva de algunos nuevos compuestos. El método adoptado fue el de Goodman y Swinyard (14) mediante el uso de pentilentetrazol en una dosis de 100 mg/Kg en ranas y de 75 mg/Kg en ratones para inducir convulsiones. Se empleó difenilhidantoína como un estándar de referencia. Los compuestos probados y el estándar de referencia se proporcionaron en diferentes dosis y se determinó el porcentaje de protección producido por cada dosis.

Los resultados se proporcionan en las tablas y gráficos que muestran la relación entre la dosis y el porcentaje de protección.

Tabla 3: Efecto anticonvulsivo de difenilhidantoína y de los compuestos probados en ratones.

Dosis (mg/Kg)	Porcentaje de protección luego del respectivo compuesto		
	Estándar de referencia	Ila	Ilb
50	25	25	-
100	50	50	25
150	75	-	-
200	-	75	50
Dosis protectora 50	100	100	200

Estándar de referencia: Difenilhidantoína

Ila: Isatinespiro-3,5-hidantoína

Ilb: 5-metilisantinespiro-3,5-hidantoina

Tabla 3: Efecto anticonvulsivo de difenilhidantoína y de los compuestos probados en ratones.

Dosis (mg/Kg)	Porcentaje de protección luego del respectivo compuesto		
	Estándar de referencia	Ila	II
100	33.3	33.3	-
150	50	50	-
200	66.6	66.6	33.3
400	-	-	50
Dosis protectora 50	150	150	400

Estándar de referencia: Difenilhidantoína

Ila: Isatinespiro-3,5-hidantoína

Ilb: 5-metilisantinespiro-3,5-hidantoina

Conclusión Todos los compuestos probados mostraron actividad anticonvulsiva. Compuesto no. 1 estuvo aproximadamente igual al estándar de referencia, especialmente en dosis baja.

Referencias

1. W. ,Oldfield, y C.H.; *Cashin, J. Med. Chem.*, 8, 239 (1965).
2. G. Frank, y F.; Morell, *Neurology*, 8,529 (1958).
3. T.J. Putnam, y I.,Jacobs,ibid, 7.784(1957).
4. S. Carter , y H.H. Meritt; *J. Lancet*, 70,1()3(1950), hasta C.A., 44, 6532(1950).
5. Popp, F.D. y Donigan, BE.; *J.Pharm.Sci*, 68, 518 (1979).
6. F.D., Popp, R.Parson, y 13.E.; Donigan, ibid, 69, 1235 (1980).
7. F.D, Popp, R.Parson, y B.E.; Donigan, *J. Heterocyclic chem.*, 17, 1329 (1980).
8. H. Pajouhesh, R. parson, y FD. Popp. *J. Pharm. Sci.*72,318(1983).
9. A Burger,.; *Medicinal Chemistry* , 3ra edición, Wiley Inter-science, (1970), p.1393.
10. C.O., Wilson, Gisvold O. y K.F, Doerge,; *Libro de texto de Medicina orgánica y Farmacéutica*, 8va edición, J.B. Lippincott Company, Philadelphia- Toronto (1982), p, 344.
11. W.O. ,Foye, “*Principios de Química-Médica*” 3ra edición., Lea & Febiger, Philadelphia, Londres, (1989)p. 158.
12. D.K, Yung, T`P., Forrest, M.L. Gilroy, y M.M Vohra,.; *J. Pharm. Sci*, 62 (11), 1765 (1973).
13. T.; Sandmeyer, x *Helv. Chim. Acta*. 2,234 (1919).
14. E..A.; Swinyard, W.C,Brown, y L. S.v Goodman, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 319 (1952).