



136
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE DERIVADOS DEL BENCIMIDAZOL CON
ACCION FASCIOLICIDA POTENCIAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
(TECNOLOGIA DE ALIMENTOS)

P R E S E N T A :
ESTELA VERA MONTENEGRO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION-----	1
GENERALIDADES-----	5
DISCUSION-----	9
ENSAYOS PRELIMINARES DE ACTIVIDAD	
BIOLOGICA-----	23
CONCLUSIONES-----	25
PARTE EXPERIMENTAL-----	28
ESPECTROS-----	34
BIBLIOGRAFIA-----	52

INTRODUCCION

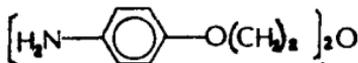
La fascioliasis, causada por el trematodo del higado, *Fasciola hepática* o *Fasciola gigantica*, es responsable de grandes pérdidas económicas en la cria de ganado vacuno y ovino en todo el mundo. Estas pérdidas se manifiestan en casos de muerte, en disminuciones en la producción de carne, leche y lana, en efectos adversos secundarios sobre la fertilidad, en pérdidas de animales jóvenes y en hígados confiscados. La fascioliasis puede afectar a cabras, búfalos, camellos, cerdos, caballos, ruminantes salvajes (inclusive ciervos, venados, gamos), otras especies animales y también el hombre.

Planificar el tratamiento quimioterapéutico de los hospederos definitivos de las fasciolas es un factor fundamental en el control de fascioliasis (Boray, 1971; Armour y Bogen, 1982; Booh y Supperer, 1983).

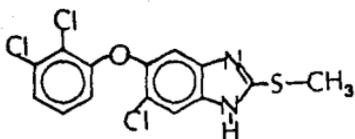
Los fasciolicidas disponibles actualmente, administrados en las dosis recomendadas, son satisfactoriamente eficaces contra las formas adultas de *F. hepática* y *F. gigantica*, pero son ineficaces o solo parcialmente eficaces contra los estadios inmaduros de las fasciolas.

Por lo tanto existe la necesidad de mejorar el nivel de eficacia simultánea, tanto contra el estadio inmaduro como el estadio adulto de las fasciolas. Asimismo hay que optimizar la tolerabilidad y reducir la persistencia de los residuos.⁴

Un fasciolicida ideal sería aquel que además de tener un amplio margen de seguridad, fácil aplicación y bajo costo, eliminara a todos aquellos estados evolutivos de Fasciola hepática dentro del huésped. Sin embargo, la realidad dista de este ideal en virtud de que la mayoría de fasciolicidas (disofenol, hexaclorostano, meniclofolan, oxyclozanida, tribomsalan, hexaclorofeno, albendazol, etc.), son eficaces contra los estadios adultos del parásito²⁴ y solo unos cuantos, han demostrado tener eficacia contra estadios jóvenes del parásito de 6 semanas de edad en adelante. Por otra parte se han reportado dos nuevos productos, Dianfenetide (1) (Coriban), y Triclabendazol (2) (Fasinex), que han demostrado ser altamente eficaces contra los estados inmaduros tempranos del parásito, desde una semana de edad en adelante, en el caso de Dianfenetide se ha reportado que su eficacia decrece a medida que el parásito alcanza su madurez.²⁵



(1)



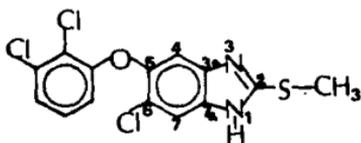
(2)

En el caso del triclabendazol (Boray y cols.) se ha demostrado que en dosis de 5 mg/Kg este producto tiene una eficacia de 92-98% contra fasciolas cuya edad oscila entre 4 y 6 semanas y de 100% de 12 semanas en adelante. Aumentando la dosis a 10 mg/Kg se reporta que la eficacia es de 93-98% contra fasciolas de una semana de edad, de 99 a 100% de 2 a 4 semanas y 100% contra aquellas de 6 o mas semanas de edad. La dosis máxima tolerada es de 200 mg/Kg. Por lo que este nuevo derivado de los benzimidazoles promete ser una excelente alternativa en el tratamiento de la fasciolosis, tanto aguda como crónica. ^{BO, SA, 22}

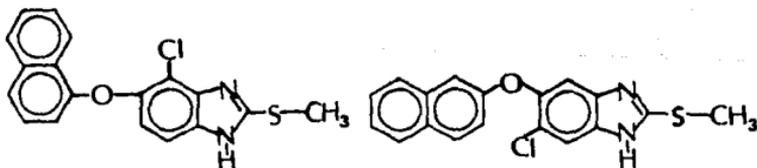
Los experimentos preliminares indicaron también una acción fasciolocida satisfactoria en los vacunos (Boray y cols., 1983). ²⁶

En varias pruebas, el triclabendazol no mostró efectos mutagénicos y tampoco se observaron embriotoxicidad ni teratogenicidad en ratas, ovejas y vacunos (Anon, 1983).^p

Dadas las características de este último compuesto y el alto costo que implica para México su importación, el presente trabajo tiene como objetivo el diseño y síntesis de dos análogos del triclabendazol. En estos compuestos, se sustituye el cloro de la posición 5, por alfa y beta naftol (Esquema (1)), utilizando materias primas de origen nacional.



(2)



(3)

(4)

ESQUEMA (1)

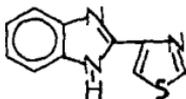
GENERALIDADES

Los espectros de actividad de los antihelmínticos, cuyos principios activos están incluidos en el grupo de los benzimidazoles, se han hecho más amplios en la medida que se han sintetizado nuevos compuestos.

Desde la aparición de los nuevos compuestos, los cuales fueron esencialmente nematocidas, se han descubierto principios activos que matan céstodos, así como las fasciolas adultas del hígado.⁴

La polifuncionalidad asociada con el núcleo de benzimidazol, la facilidad para llevar a cabo varias reacciones orgánicas y su asociación con biomoléculas, han estimulado a algunos laboratorios del mundo a explorar diversas rutas sintéticas de este tipo de compuestos.⁵

Fue así como en el año de 1961, investigadores de los laboratorios Merck⁶ introdujeron el 2-(4-tiazolil)-benzimidazol, (tiabendazol, tibenzol, nintezol) (5), como los primeros trematocidas gastrointestinales modernos de amplio espectro.



(5)

El descubrimiento del tiabendazol estimuló la investigación en una variedad de compañías farmacéuticas dentro de un área novedosa, la química del bencimidazol, con resultados, como la introducción del parbendazol (B) (Smith, Kline y French), como un potente agente antihelmíntico de amplio espectro⁷, el cual ha sido alterado reemplazando en la posición 4 el anillo del tiazolil por un metil carbanato.

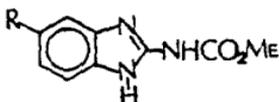
De igual manera en el tiabendazol la presencia de un sustituyente en la posición 5, parece prevenir la inactivación metabólica, si bien, el correspondiente derivado sin alquil sustituyente es activo.

El parbendazol representa el primer agente antihelmíntico derivado del bencimidazol, que contiene un metil carbanato en la posición 2.

Después de la introducción de estos compuestos, Janssen Farmacéutica⁸, produjo el mebendazol (B₁) el cual fue confirmado como un antihelmíntico de amplio espectro marcadamente seguro y además útil en el tratamiento de infecciones humanas, por helmintos.

Posterior al descubrimiento del mebendazol, otros bencimidazoles fueron desarrollados como agentes antihelmínticos veterinarios. Esto incluye el oxiabendazol (B₂), en donde el

grupo 5-butil del parbendazol ha sido reemplazado por n-propoxi, el 5-feniltio, análogo del febendazol (6.3) (Hoescht), el oxbendazol (6.4) (Systemax), el cual es el sulfóxido del febendazol y albendazol (6.5) el n-propiltio, congénere del oxbendazol. Estos tres últimos benzimidazoles en particular caracterizados por su potente actividad antihelmíntica de amplio espectro.°



(6)

- 6.0 R = n-Bu (PARBENDAZOL)
- 6.1 R = PhCO (MEBENDAZOL)
- 6.2 R = n-PhCO (OXIBENDAZOL)
- 6.3 R = PhS (FEBENDAZOL)
- 6.4 R = PhSO (OXFENDAZOL)
- 6.5 R = n-PhS (ALBENDAZOL)

Entre los bencimidazoles antihelmínticos más recientes, se encuentra el triclabendazol (2), 6-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-metiltiobencimidazol, el cual mostró una alta eficiencia contra *Fasciola hepática*, en borregos tanto en edad adulta como en fase larvaria y con un amplio margen de seguridad (Boray et al 1981).^{27,28}

DISCUSION

Como se ha mencionado en la introducción de esta tesis, el objetivo principal es efectuar modificaciones sobre la molécula del bencimidazol con el propósito de conseguir nuevos compuestos con una actividad potencial antihelmíntica, utilizando para ello materias primas de origen nacional. El derivado del bencimidazol conocido como triclabendazol (2), es un fármaco que exhibe buena actividad farmacológica,²⁹ pero desafortunadamente su costo es demasiado elevado.

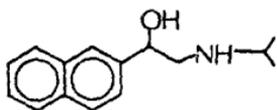
Se penso entonces en realizar algunas modificaciones estructurales sobre la molécula del triclabendazol que permitieran conservar una actividad biológica similar a un menor costo. Con esta idea en mente se decidió preparar las moléculas (3 y 4).

En éstas, uno de los cloros adyacentes en el fenilo del triclabendazol ha sido reemplazado por un grupo fenilo, el cual probablemente contribuirá con una mayor densidad electrónica.

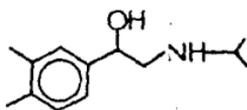
Un antecedente para este tipo de isosterismo se encuentra en la actividad beta adrenérgica mostrada por el pronetanolol (2) y el dicloroisoprotenerol (2).³⁰

En este caso, la sustitución de los dos cloros en el compuesto (2) por un grupo fenilo modificó ostensiblemente la actividad biológica

Para la preparación de estas dos moléculas se tomó como modelo sintético, la obtención del propio triclabendazol (Diagrama (1))¹⁸.



(2)



(3)

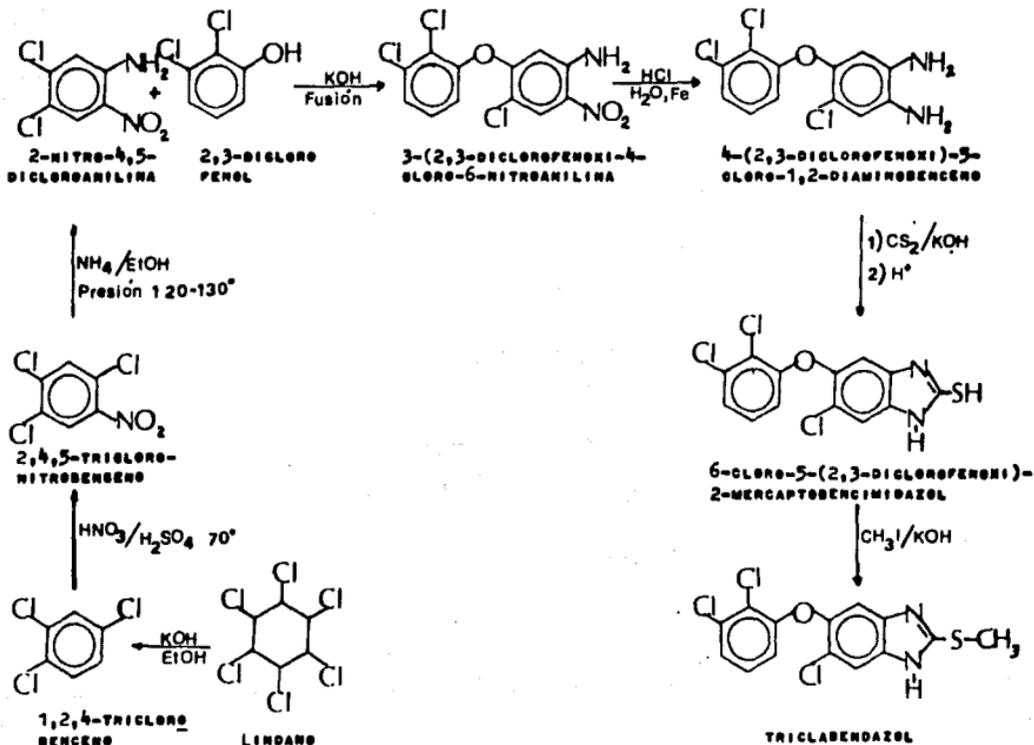


DIAGRAMA 1. METODO DE OBTENCION DEL TRICLABENDAZOL (2).

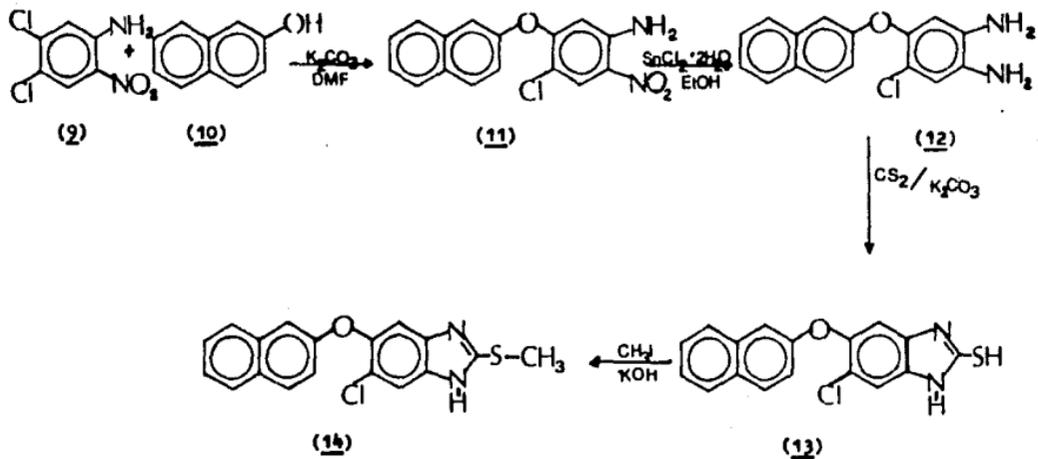


DIAGRAMA 2. METODO DE OBTENCION DEL 6-CLORO-5-(2-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL. (14)

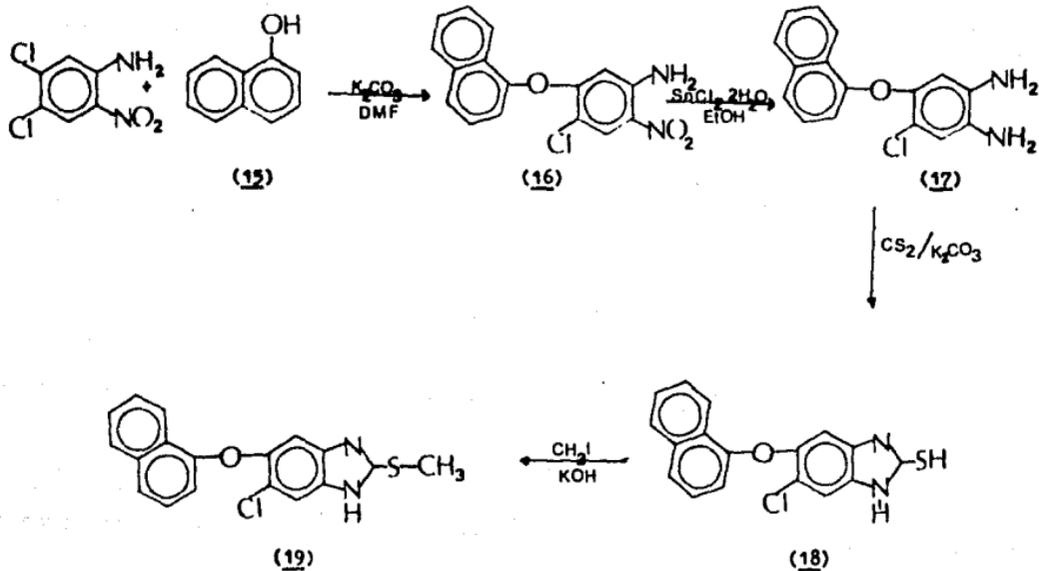


DIAGRAMA 3. METODO DE OBTENCIÓN DEL 6-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-METILTIOBENZIMIDAZOL (19)

PREPARACION DEL ETER (11).

En un primer intento de preparación del 4-cloro-5-(2-naftoxi)-2-nitroanilina, (11), se procedió a fundir la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (8) y el beta naftol (10). Posteriormente la fusión se efectuó en presencia de KOH al 50%, hirviendo a reflujo en atmósfera de N_2 durante 1 h, siguiendo el procedimiento indicado en la patente alemana No. 462847¹². Sin embargo, después de este tiempo se observó adhesión de la materia prima en las paredes del matraz y la formación de un precipitado negro duro, el cual no fue posible purificar.

Se hicieron algunas modificaciones en las condiciones de reacción que incluyeron cambios en la temperatura, tiempo de reacción y concentración de KOH, sin obtener resultados positivos. Posteriormente se decidió seguir la técnica de preparación de éteres y tioéteres descrita por Colin C. Beard et al ¹³ en la cual se utiliza Dimetil Formamida (DMF) como disolvente y carbonato de potasio como base.

Así, la dicloronitroanilina (8), beta naftol y carbonato de potasio se disolvieron en DMF y la solución se calentó a una temperatura de 100-110°C durante 2 h, en atmósfera inerte

Una vez frío y a temperatura ambiente se agregó agua y se agitó hasta la formación de un polvo de color anaranjado, el cual se identificó como el éter (11). El producto fue purificado por recristalización de tolueno dando un polvo de color naranja con un punto de fusión de 165-187°C y en un rendimiento de 88.5%.

En el espectro (No. 1) de IR el compuesto (11) presentó la banda correspondiente al éter aromático en 1210 y 1230 cm^{-1} . En el espectro (No. 2) de RMN el éter presentó un multiplete entre 7.10-7.95 ppm. que integró para 7H debido a los protones aromáticos del grupo naftilo. Los protones del grupo amino dieron una banda ancha a 6.70 ppm.

PREPARACION DEL COMPUESTO DIAMINADO (12).

La reducción del grupo nitro, con el objeto de preparar el 5-cloro-4-(2-naftoxi)-1,2-diaminobenceno, se logró después de varios intentos.

En la primer reacción se uso el Zn como agente reductor, NaOH como base y EtOH como disolvente¹⁰. Sin embargo después de aproximadamente 12 h de reacción se obtuvo una mezcla de difícil separación.

En un segundo intento para la formación del compuesto diaminado (12) se utilizó Fe y HCl. Después de 5 h de reacción, la cromatografía en capa fina de la mezcla de reacción indicó que ésta no se había llevado a cabo, recuperandose la materia prima.

Finalmente, se obtuvieron resultados positivos cuando se hizo reaccionar la 2-nitro-4-cloro-5-(2-naftoxi)anilina disuelta en etanol y cloruro estanoso dihidratado como agente reductor¹⁸, calentando a reflujo bajo atmósfera de nitrógeno. Al cabo de tres horas de reacción, se observó la desaparición de materia prima por cromatografía en placa fina.

Después de evaporar el etanol, se dejó enfriar la mezcla y se ajustó el pH a 8 con NaOH al 20%, y se hicieron extracciones con acetato de etilo. Al evaporar el disolvente, se obtuvo un producto de aspecto viscoso, difícil de cristalizar.

Al cambiar el hidróxido de sodio por una base débil como el K_2CO_3 se produjo el compuesto diaminado (12) en forma de un polvo café claro en un rendimiento crudo de 88.42%. El producto se purificó por recristalización de benceno, dando un polvo con un punto de fusión de 175-177°C.

En virtud de la inestabilidad del producto se decidió convertirlo en su correspondiente clorhidrato. El producto se disolvió en una mezcla benceno-éter (1:2) y se le hizo pasar una

corriente de HCl seco hasta saturación.

En el espectro de IR (No. 3), el producto (12) mostró una banda ancha entre 2300 y 3400, correspondiente al grupo NH_2HCl y se observó la desaparición de las bandas en 1560 y 1310, atribuidas al grupo nitro.

En el espectro de RMN (No.4), los protones aromáticos del producto (12) se presentan como un multiplete en la región 7.15-8.08 ppm. Los hidrógenos del grupo amino aparecieron como un multiplete ancho entre 3.28 y 3.80 ppm (3 H). Los otros hidrógenos del amino se traslaparon en la región de los aromáticos.

FORMACION DEL TIOL (13).

Siguiendo la secuencia del diagrama (2), para la obtención del mercaptobencimidazol (13), se hizo reaccionar el compuesto (12) con potasa etanólica y disulfuro de carbono en caliente. El progreso de esta reacción fué seguido por cromatografía de capa fina determinandose que después de 11 hs la reacción no se había realizado.

Se hicieron varios intentos con diferentes variaciones en temperatura y concentración del disulfuro de carbono sin obtener

resultados positivos. Se optó entonces por cambiar a una base débil como el Na_2CO_3 , obteniéndose así el producto deseado.

El mecanismo de la reacción probablemente involucre liberación de la base, seguido de la adición de ésta al disulfuro de carbono para cerrar el anillo, formando la sal correspondiente.

Tratamiento de la mezcla de reacción con ácido acético produjo el tiol (13) en forma de un polvo de color amarillo claro, con un punto de fusión de 153-155°C y en rendimiento de 85.8%.

En el espectro de IR (No. 5), el producto mostró una banda en 2840 para SH-. En el espectro de RMN (No. 6) del tiol, los protones aromáticos se localizaron entre 6.88-7.95 ppm, mientras que el grupo amino y el tiol aparecieron como un singulete ancho en 3.35 ppm, señal que intercambia con D_2O .

PREPARACION DEL 2-METILTIOBENCIMIDAZOL (14).

Como producto final de esta secuencia sintética se obtuvo 6-oloro-5-(2-naftoxi)-2-metiltiobencimidazol (14).

A una mezcla del mercaptobencimidazol (13), EtOH y KOH previamente enfriada (baño de hielo-sal) se adicionó yodometano²⁴, gota a gota. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl al 10%, obteniéndose un precipitado de color café y consistencia resinosa.

Este producto se maceró con agua fría hasta la formación de un sólido café pardo, el cual fue identificado como el producto deseado (14). El producto fue purificado por recristalización de benceno y dió un punto de fusión de 197-198°C en un rendimiento de 15%.

La presencia del grupo metilo en el producto (14) se comprobó por espectroscopía de RMN (espectro No. 7) observándose un singulete (3H) en 2.8 ppm.

El espectro de IR (No. 8) del metiltiobencimidazol mostró una banda en 2800 y en 1430 correspondiente a $(S-CH_3)$.

En el espectro de masas (No. 9), el metiltiobencimidazol dió el ión molecular esperado en m/z 340 (78%) y $M + 2$ (m/z 342 (25%)). Asimismo se observó pérdida de cloro ($M-35.5$) a m/z 305 y el pico padre apareció a m/z 128.85, que probablemente corresponde a la estructura (14).

Para la obtención del metil tiobencimidazol (18) a partir del alfa naftol se utilizaron practicamente las mismas técnicas que para el correspondiente tiobencimidazol (14).

Así, la 4-cloro-3-(1-naftoxi)-6-nitroanilina (16), se preparó a partir de la 4,5-dicloro-2-nitroanilina, alfa naftol y carbonato de potasio en DMF. Al término de la reacción el producto fue

obtenido primero como un precipitado en forma de sólido resinoso, que hubo necesidad de refrigerar para lograr su endurecimiento. Posterior maceración del sólido en agua y hielo, produjo un polvo de color café oscuro, el cual se identificó como el producto deseado, punto de fusión 135-136°C y rendimiento de 87.41%.

En el espectro de IR (No. 10) el producto (17) mostró una banda en 1210-1250 cm^{-1} comprobándose así la formación del éter.

La reducción del grupo nitro del producto (18) se logró aplicando el mismo procedimiento seguido en la obtención del compuesto (12). El producto fue obtenido como un aceite color café oscuro que al ser tratado con benceno-éter (2:1) y burbujeada con HCl, se transformó en un polvo café. Este, al ser lavado con benceno frío se tornó rosa. El punto de fusión fue de 128-130°C y el rendimiento obtenido de 88%.

En el espectro de IR (No. 12), del compuesto (17), la banda entre 1580 y 1390 que pertenece al grupo nitro desaparece. El espectro de RMN (No.13) ppm mostró en 4.88-4.90 (s amplio 2H, NH_2).

La reacción para la obtención del mercaptobencimidazol (18) no presentó mayores problemas formándose la sal correspondiente en

un promedio de 2 hs de reacción. Al ser neutralizada con Ac. acético dió un producto como una sola mancha en cromatografía por placa fina. El producto obtenido se obtuvo como un sólido de color amarillo pálido con un punto de fusión de 127-130°C y en un rendimiento de 68%.

En el espectro de IR (No. 14) de (18) aparece una banda en 2860 para (SH-). En el espectro de RMN (No. 15) se observó un singlete amplio en 5.15 ppm que desaparece con agua deuterada atribuido al grupo SH-.

Por último, para completar la síntesis del diagrama (3), con el alfa naftol se hizo la reacción de metilación (18).

En esta reacción se observó que la adición del CH_3I a la mezcla del mercaptobencimidazol con la potasa etanólica a una temperatura de -3 a -5°C, favorece la formación del tiometil, (una sola mancha en cromatografía en placa fina), evitando así la formación de un compuesto dimetilado, como fué el caso cuando la temperatura de adición fué entre 5 a 10°C.

Una vez obtenido el producto se neutralizó con HCl y al adicionar agua se formó un sólido de aspecto resinoso el cual al nacerarse en hielo y agua se transformó en un polvo café oscuro, que se separó por filtración al vacío se lavó con agua y se secó. El producto se purificó pasándolo por una columna de gel de

sílice, utilizando un sistema $\text{CH}_2\text{Cl}/\text{Hexano}$ (1:1) como eluyente.

El producto puro dió un punto de fusión de $175-177^\circ\text{C}$, en un rendimiento de 32% .

En el espectro de RMN (No. 17), el producto (18) mostró un singulete en 2.72 que corresponde al metilo, en el espectro de IR (No. 18), el compuesto (18), mostró bandas en 2840 y 1420 para S-CH_3 . En el espectro de masas (No. 18), el pico padre coincidió con el ión molecular y apareció en m/z 340 (100%). Asimismo se observó el fragmento $M + 2$ (m/z 342 (35%)), característico de los derivados con azufre. La pérdida de cloro ($M - 35.5$) se observó a m/z 304.5, así como el ión m/z 127 (9.4%), que fué el pico padre para el derivado (18) con el alfa naftol como sustituyente.

ENSAYOS PRELIMINARES DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

Los compuestos sintetizados se sometieron a estudios de actividad biológica "in vitro", contra Fasciola hepática. Estas pruebas se realizaron en el INIFAP, bajo la dirección del Dr. Froylan Ibarra. Para la realización del estudio se cultivaron previamente metacercarias por el método de Jenkins¹⁴.

Una prueba preliminar "in vitro", a concentraciones de 50 mg/ml, mostró que los compuestos fueron activos, por lo que se decidió bajar la dosis.

La técnica empleada para esta prueba, fue la modificación hecha por Sánchez-Ibarra¹⁵ al método de Dixon. La dosis empleada fue de 8 mg/ml.

Los resultados de esta prueba se muestran en la siguiente tabla, en la cual se puede observar que los compuestos fueron activos en un 100%. Es importante señalar que el compuesto (18), no solamente mató a las fasciolas sino que las desintegró, cosa que no ocurrió con el fármaco patrón, que en este caso fue el dianfenetide acetilado, ampliamente usado como fasciolicida y también como antihelmíntico en general.

Es importante señalar que con estos datos, si bien no se puede obtener información precisa dado que son ensayos

preliminares donde la forma farmacéutica ideal no se tiene, son importantes desde el punto de vista de actividad biológica, ya que sugiere un posible camino en el diseño de antihelmínticos.

ACTIVIDAD FASCIOLICIDA "in vitro"

compuesto ^a	% de eficacia	solubilidad en agua
14	100	+
19 ^b	100	+
Dianfenetide acetilado	100	-
Acetona	20	-
Metanol	10	+
Bianco	10	+

a) Las dosis empleadas fueron de 8.08 mg/ml.

b) Desintegró a las fasciolas.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron dos nuevos compuestos, análogos al triclabendazol el (14) y el (18) en donde el cloro de la posición 6, fue sustituido por alfa y beta naftol respectivamente.

La ruta sintética que se eligió fué similar a aquella utilizada en la preparación del triclabendazol. Se encontró que los compuestos (11, 12, 13, 16, 17, 18) eran susceptibles de descomposición a la presencia de una base fuerte (KOH), obteniéndose mejores resultados al cambiar esta por una base débil (K_2CO_3).

En la reacción de obtención de los compuestos (14) y (18), se observó que la adición de Yodometano a (13) y (18) respectivamente, a temperaturas entre 10-12°C ocasionaba la formación de un compuesto dimetilado. Este problema se solucionó efectuando la reacción de alquilación a temperaturas bajo cero (-3, -5°C).

La estructura de los productos terminales así como la de los intermedios se elucidaron por técnicas espectroscópicas.

Los compuestos obtenidos se sometieron a pruebas biológicas "in vitro", resultando activos con un 100% de eficacia, como fasciolicidas.

PARTE EXPERIMENTAL.

Instrumentación. Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Mod. 337, en película o en pastilla de bromuro de potasio. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron en un espectrómetro Varian EM 380 usando deuterocloroformo, dimetilsulfóxido hexadeuterado como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Buchi Mod. 530, y no están corregidos.

Para la cromatografía en placa fina se usaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice GF₂₅₄ de la casa Merck. Los compuestos orgánicos se revelaron con luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo. Como eluyentes se usaron los siguientes sistemas.

Cloroformo-Hexano-Acetato de etilo, 50:35:15

Cloroformo-Metanol, 80:20

Cloroformo-Metanol, 83:7

Hexano-Acetato de etilo, 70:30

La cromatografía en columna se hizo sobre gel de sílice 60 (0.063-08 mm) de la casa Merck.

OBTENCION DEL 4-CLORO-3-(2-NAFTOXI)-6-NITROANILINA (11).

Una mezcla de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (2g, 8.6 mmol), beta naftol (1.4623 g, 9.7 mmol) y carbonato de potasio (1.386 g, 9.6 mmol), se disolvió en DMF (15 ML) a una temperatura de 100-110°C (baño de aceite) en atmósfera de nitrógeno y con reflujo constante durante 2 h.

La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le adicionó agua (50 ml). El crudo de reacción se colocó en un vaso de pp. y se agitó hasta la formación de un precipitado color naranja, el cual se separó por filtración, se lavó con agua y se secó al vacío. Posterior recristalización de tolueno, dió 1.38 g. (68.5%), de un polvo color naranja, con p.f. 185-187°C.

IR espectro (1) (cm^{-1}) 3450 y 3330 (NH_2 -); 1580 y 1310 (NO_2 -); 1210-1230 (-C-O-C-). H-RMN espectro (2) (ppm) 8.25 (s, 1H); 6.70 (s, 2H, NH_2); 7.10-7.95 (m, 7H, naftilo).

5-CLORO-4-(2-NAFTOXI)-1,2-DIANIMOBENCENO (12).

Una mezcla de 4-cloro-3-(2-naftoxi)-6-nitroanilina (3.15 g, 10 mmol), etanol absoluto (20 ml) y $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (11.275 g, 50 mmol) se calentó suavemente en atmósfera de N_2 , hasta llegar a un reflujo suave (78°C), manteniendo esta temperatura por 3 h, se

dejó enfriar a 25°C y se le adicionó 20 g de hielo y 20 ml de agua helada. La suspensión formada se neutralizó a pH=7, con bicarbonato de sodio (12.28 g, 146.2 mmol) y se hicieron extracciones con acetato de etilo (4 x 50 ml). Los extractos se lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 50 ml) y secaron con Na₂SO₄ anhidro. La solución se filtró y concentró en rotavapor secándose al vacío durante 1 h, obteniéndose 2.52 g (88.42%) de un polvo café claro. El producto crudo se recristalizó de benceno (10 ml) en caliente, se filtró y lavó con benceno recién descongelado obteniéndose 1.75 g (80%), de un polvo cristalino color café con un p.f de 175-177°C.

Debido a la inestabilidad del compuesto, el producto se disuelve en benceno-éter (1:2) y se pasa por una corriente de HCL gas seco hasta saturación. IR espectro (3) (cm⁻¹) 2300-3400 (NH-); 1210-1220 (C-O-C). RMN espectro (4) (ppm) 3.28-3.80 (m, 2H, NH₃); 7.15-8.08 (m, 7H, naftol).

6-CLORO-5-(2-NAFTOXI)-2-MERCAPTOBENZIMIDAZOL (13).

A una solución de 5-cloro-4-(2-naftoxi)-1-2-diaminobenceno (3.47 g, 12.198 mmol) en etanol (35 ml), se le agregó bicarbonato de sodio hasta desaparición de burbujas y formación de un

precipitado café oscuro, al cual se le adicionó KOH (0.6830 g, 12.19 mmol) disueltos en H₂O (3ml) y CS₂ (1.466 ml, 24.39 mmol) calentando la mezcla en baño de aceite a 70°C, durante 3.5 h. Terminada la reacción se agregó H₂O caliente (32 ml) y se dejó enfriar. Se agregó ácido acético (gota a gota) (2.5 ml en 5 ml de H₂O) en baño de hielo, formándose un precipitado que se filtró y secó obteniéndose un polvo color amarillo claro 3.83 g (85.88%, p.f. 153-155°C. IR espectro (5) (cm⁻¹) 2640 (SH-); 1210 (C-O-C); RMN espectro (6) (ppm) 3.35 (s, 2H), 7.25-7.85 (m, 7H, naftol).

6-CLORO-5-(2-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL (14).

Una mezcla de 6-cloro-5-(2-naftoxi)-2-mercaptobencimidazol (1.85 g, 5.874 mmol) y KOH (0.85 g, 17 mmol) se disolvieron en baño de hielo, en EtOH (15 ml). A la solución se le agregó CH₃I (0.382 ml, 5.87 mmol), gota a gota y con agitación constante; posteriormente, se dejó reaccionar en las mismas condiciones durante 4 h. Terminada la reacción se agregó HCl (5.5 ml al 10%) hasta pH=7 formándose un precipitado color café oscuro, de consistencia resinosa, al cuál se le agregó agua de hielo y naceró hasta la formación de un sólido (café pardo) que se filtró y lavó

con agua varias veces. El producto crudo se recrystalizó de benceno obteniéndose 0.28 g (15.13%) de un polvo amarillo claro con un p.f. de 197-198°C.

IR espectro (7) (cm⁻¹) 2800 y 1430 (S-CH₃); 1220-1250 (C-O-C).
H-RMN espectro (8) (ppm) 2.8 (s, 3 H); 7.1-7.8 (m, 7H, naftilo).
EM espectro (8), m/z (int. relativa): 342 (25%), 340 (78%), 305 (52%), 128.95 (100%).

4-CLORO-3-(1-NAFTOXI)-6-NITROANILINA (18).

Una mezcla de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (1 g, 4.8 mmol), alfa naftol (0.8983 g, 5.1 mmol) y carbonato de potasio (0.8685 g, 5.1 mmol), se disolvió en DMF (7.5 ml) a una temperatura de 100-110°C (baño de aceite) en atmósfera de nitrógeno y con reflujo constante durante 2.5 h.

La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le adicionó agua (25 ml). El crudo de reacción se colocó en un vaso de pp. adicionándole agua hasta la formación de un sólido café claro resinoso, dejándose en el refrigerador toda la noche.

Una vez endurecido el sólido se macero con agua y hielo hasta la formación de un polvo café oscuro, el cual se filtró, lavó con

agua y secó al vacío, obteniéndose 1.32 g (87.41%), de producto crudo sin recrystalizar que presenta una sola mancha en cromatografía en capa fina con p.p. 135-137°C.

5-CLORO-4-(1-NAFTOXI)-1,2-DIAMINOBENCENO (17).

Una mezcla de 4-cloro-3-(1-naftoxi)-6-nitroanilina, (1 g, 3.3 mmol), etanol absoluto (6.34 ml) y $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.57 g, 14 mmol) se calentó suavemente en atmósfera de N_2 , hasta llegar a un reflujo suave (76°C), manteniendo esta temperatura por 3 h, se dejó enfriar a 25°C y se le adicionó 8 g de hielo y 8 ml de agua helada. La suspensión formada se neutralizó a pH=7, con bicarbonato de sodio (4 g, 42.5 mmol) y se hicieron extracciones con acetato de etilo (5 x 50 ml). Los extractos se lavaron con solución saturada de NaCl (3 x 50 ml) y secaron con Na_2SO_4 anhidro. La solución se filtró y concentró en rotavapor hasta sequedad, obteniéndose un aceite oscuro que se disolvió en benceno-éter (2:1) pasándolo por una corriente de HCl gas seco hasta saturación formándose un polvo café oscuro el cual se filtró y lavó con benceno frío, obteniéndose 0.88 g, (88%) de un polvo rosa con p.f. 128-130°C.

IR espectro (12) (cm^{-1}) 2300 y 3400 (NH_2^-); 1210-1280 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$).
H-RMN espectro (13) (ppm) 8.42 (s, 1H); 4.68-4.90 (s, 2H, NH_2);
6.33-8.20 (m, 7H, naftilo).

5-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-MERCAPTOBENZIMIDAZOL (18).

A una solución de 5-cloro-4-(1-naftoxi)-1,2-diamino benceno (0.5 g, 1.75 mmol) en etanol (8 ml), se le agregó bicarbonato de sodio, hasta desaparición de burbujas y formación de un precipitado, al cual se le adicionó KOH (0.0984 g, 1.8 mmol) disueltos en H_2O (1 ml) y CS_2 (0.15 ml, 200.6 mmol), calentando la mezcla en baño de aceite a 70°C , durante 2 h. Terminada la reacción se agregó H_2O caliente (5 ml) y se dejó enfriar. Se agregó Ac. acético (gota a gota) (0.4 ml en 0.8 ml de H_2O) en baño de hielo, formándose un precipitado, que se filtró y secó obteniéndose un polvo color amarillo pálido 0.39 g (88%) con p.f. $128-130^\circ\text{C}$.

IR espectro (14) (cm^{-1}) 2860 (SH-); 1230 y 1280 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$).
H-RMN espectro (15) (ppm) 5.15 (s, 2H); 6.49-8.18 (m, 7H, naftol).

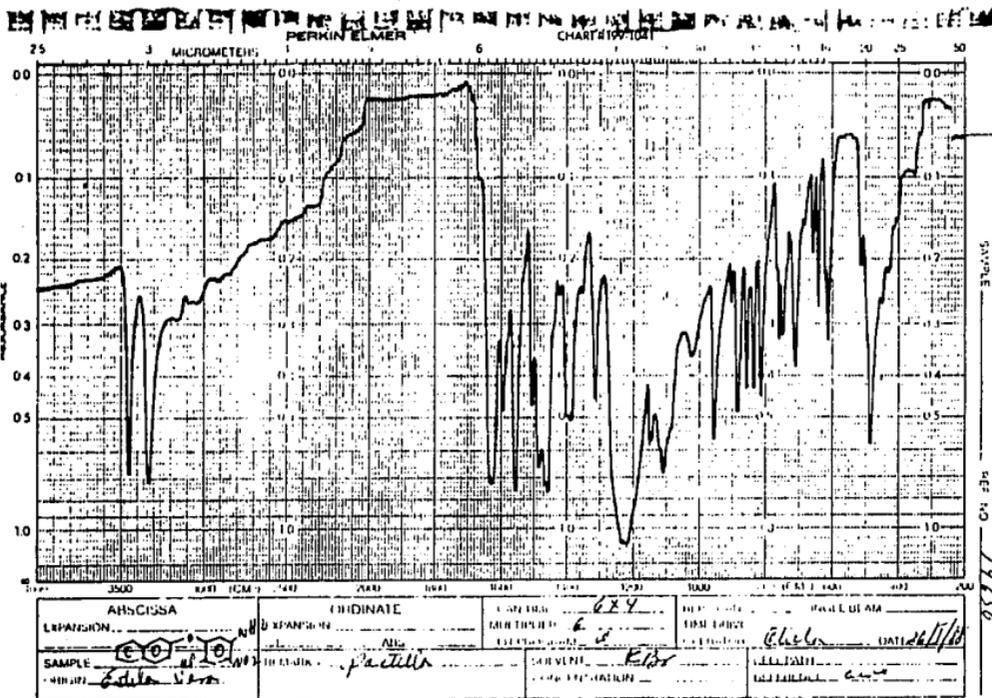
6-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL (18).

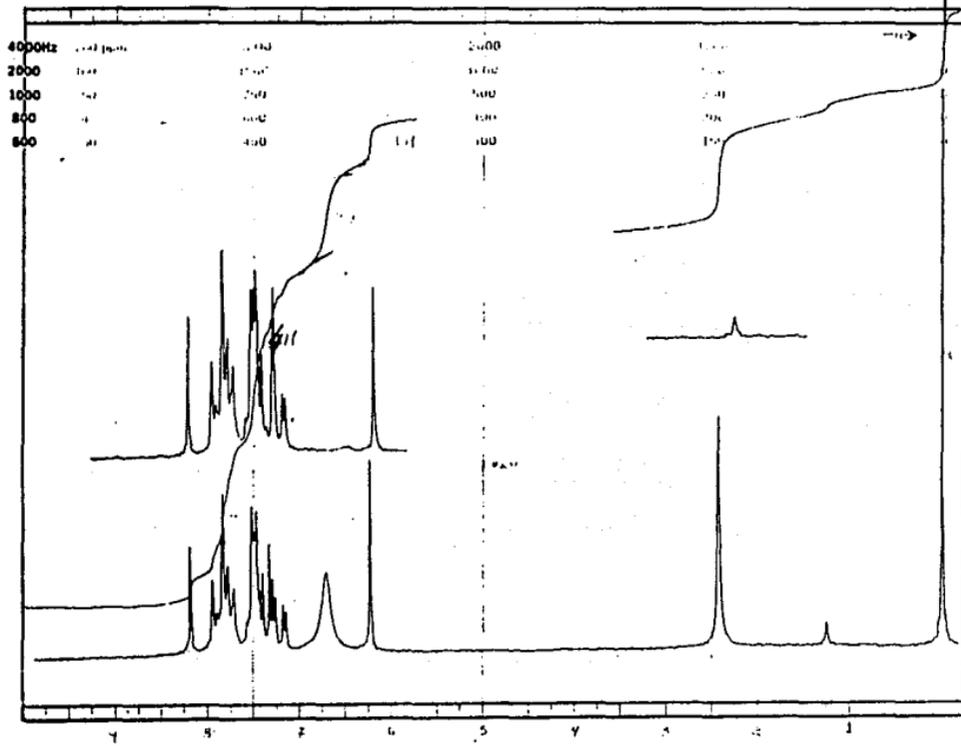
Una mezcla de 6-cloro-5-(1-naftoxi)-2-mercaptobencimidazol (0.5 g, 1.5 mmol) y KOH (0.085 g, 1.5 mmol) se disolvieron, en baño de hielo-sal (-3,-5°C) en EtOH (10 ml). A la solución se le agregó CH₃I (0.08 ml, 1.53 mmol) (gota a gota), con agitación constante durante 3 h. Terminada la reacción se agregó HCl al 10% hasta pH=7-8 y se le agregó H₂O (20 ml) formándose un precipitado color café claro, con consistencia resinosa al cual se le agregó agua de hielo y maceró hasta la formación de un sólido café claro que se filtró y lavó con agua varias veces. El producto crudo se purificó por columna, obteniéndose 0.160 g (32%) de un polvo amarillo claro con un p. f. 175-177°C.

IR espectro (18) (cm⁻¹) 2840 y 1420 (S-CH₃); 1225-1260 (-C-O-C-).

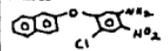
H-RMN espectro (17) (ppm) 2.72 (s; 3H); 6.6-8.32 (m, 7H, naftol).

EM espectro (18) m/z (intensidad relativa): 342 (35%), 340 (100%), 304.5 (53%), 127 (58%).





T-80 CTRU
 OPERATOR _____ DATE _____
 NUCLEUS _____ FREQUENCY _____
 SYNTHESIZER SETTING _____
 EXPERIMENT NAME _____
 FILE NAME _____
 SAMPLE _____



LOCK SIGNAL _____
 SPIN RATE _____ rps
 INSERT _____
 TEMP _____ mm

ACQUISITION
 SPECTRAL WIDTH (W) _____
 NO. OF TRANSIENTS (NT) _____
 ACQUISITION TIME (AT) _____
 PULSE WIDTH (PW) _____
 PULSE DELAY (PD) _____
 DATA POINTS (DP) _____

TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
 HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
 REFERENCE GAIN (RG) _____

DEAMPLIFIER MODE (DM) _____
 DEQUIPPER OF FSET (DF) _____
 NOISE BANDWIDTH (NB) _____
 ACQUISITION MODE (AM) _____

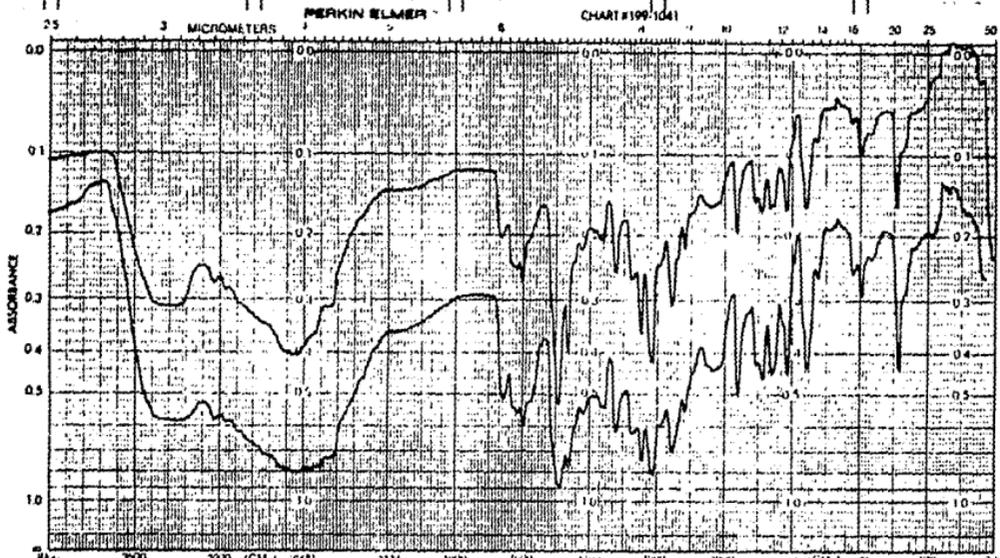
DISPLAY
 SENS ENHANCEMENT (SE) _____
 WIDTH OF PLOT (WP) _____
 END OF PLOT (EP) _____
 WIDTH OF CHART (WC) _____
 END OF CHART (EC) _____
 VERTICAL SCALE (VS) _____
 REFERENCE LINE (RL) _____



35

ESPECTRO No. 2

4-CLORO-3-(2-NAFTOXI)-6-NITROANILINA.



SAMPLE F.V.H. REF NO. 10713

ABSCISSA		ORDINATE		SCAN TIME <u>6.5 V</u>		SINGLE BEAM	
EXPANSION		EXPANSION		MULTIPLIER		DUAL DRIVE	
SAMPLE <u>00</u>		REMARKS <u>F. & C. cell with reference</u>		SOLVENT		DATE <u>6/2/44</u>	
ORIGIN <u>Perkin Elmer</u>				CONCENTRATION		WELL MATCH	
						WELL MATCH	

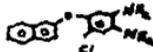
26

ESPECTRO No. 3

5-CLORO-4-(2-NAFTOXI)-1,2-DIAMINO BENZENO.



DA _____ RUN # _____
 OPERATOR _____ DATE _____
 NUCLEUS _____ FREQUENCY _____
 SYNTHESIZER SETTING _____
 EXPERIMENT NAME _____
 FILE NAME _____
 SAMPLE _____



LOCK INTERNAL EXTERNAL
 LOCK SIGNAL _____
 SPIN RATE _____ rpm TEMP _____ °C
 INSERT _____

ACQUISITION
 SPECTRAL WIDTH (kHz) _____ Hz
 NO. OF TRANSMITS (NT) _____
 ACQUISITION TIME (AT) _____ sec
 PULSE WIDTH (PW) _____ sec
 PULSE DELAY (PD) _____ sec
 DATA POINTS (DP) _____

TRANSMITTER OFFSET (TO) _____
 HIGH FIELD _____ LOW FIELD _____
 RECEIVER GAIN (RG) _____

DECOUPLER MODE (DM) _____
 DECOUPLER OFFSET (DO) _____
 NOISE BANDWIDTH (NB) _____ MHz
 ACQUISITION MODE (AM) _____

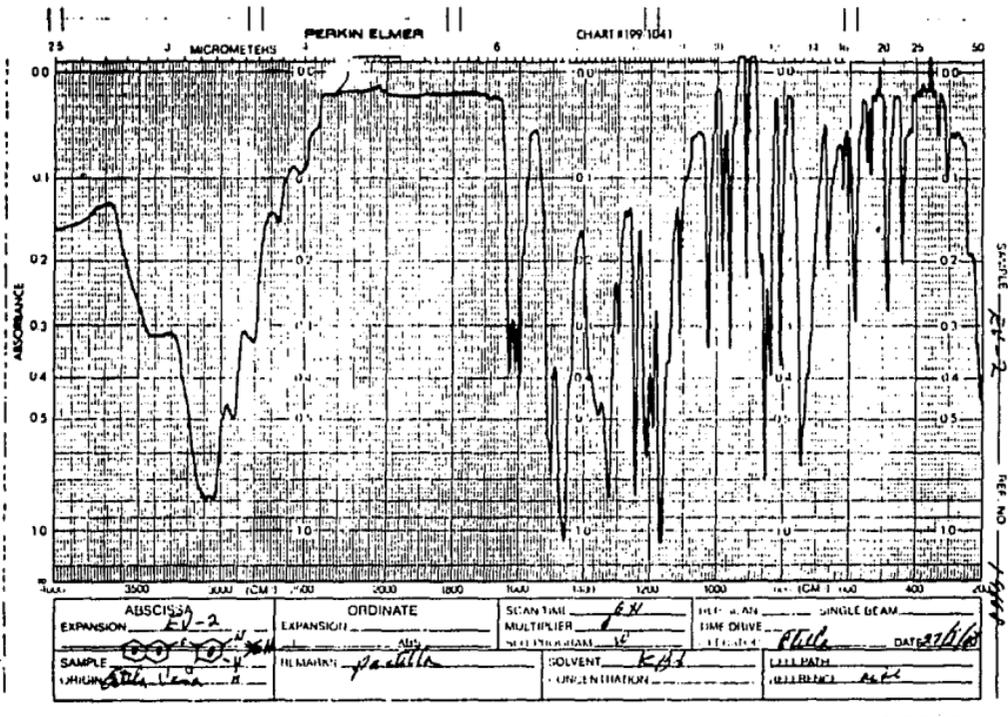
DISPLAY
 SENC (ENHANCEMENT) (SE) _____ sec
 WIDTH OF PLOT (WP) _____ Hz
 END OF PLOT (EP) _____ Hz
 WIDTH OF CHART (WC) _____ Hz
 END OF CHART (EC) _____ Hz
 VERTICAL SCALE (VS) _____
 REFERENCE LINE (RL) _____

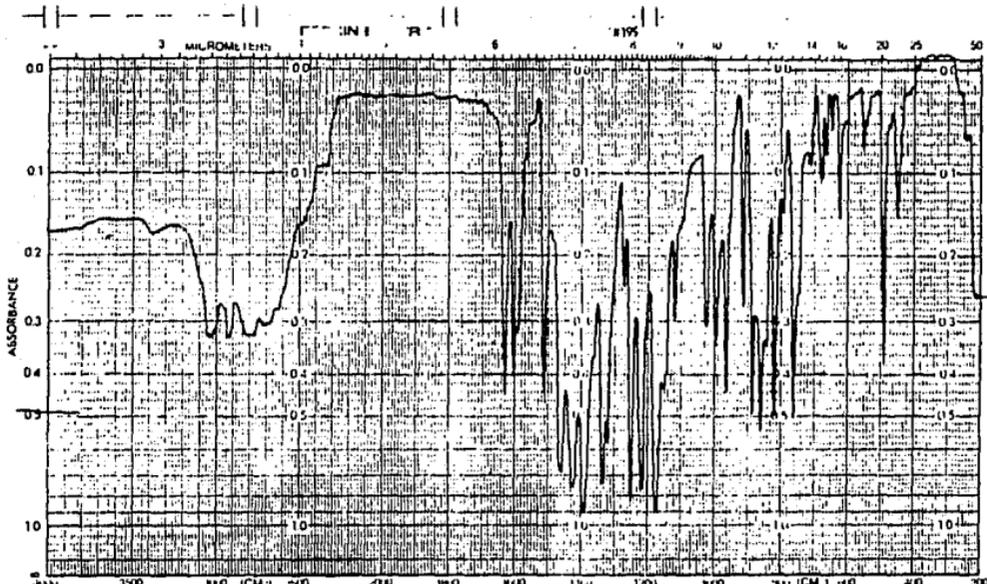


37

ESPECTRO No. 4

5-CLORO-4-(2-NAFTOXIL)-1,2-DIAMINOBENCENO.



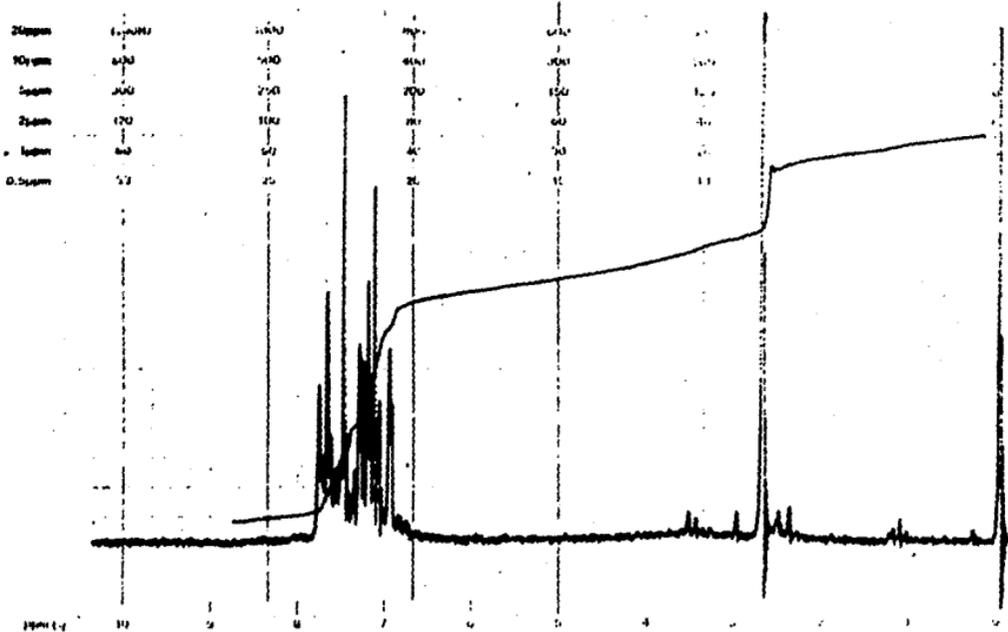


SAMPLE FR-5
 RUN NO 1971

ABSCISSA	ORDINATE	SCAN RATE <u>6K V</u>	MIRAC BEAM
EXPANSION	EXPANSION	MULTIPLIER <u>2</u>	TIME DRIVE
SAMPLE <u>600-9-2</u>	MARKS <u>sample level</u>	SOLVENT	DATE <u>8/1/71</u>
CELL NO. <u>600-9-2</u>	CELL PATH	CELL IDENTIFICATION	CELL DATE

ESPECTRO No. 7

6-CLORO-9-(2-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL.



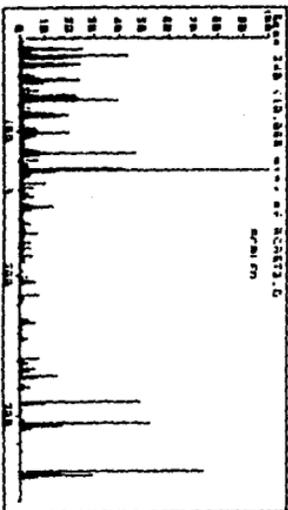
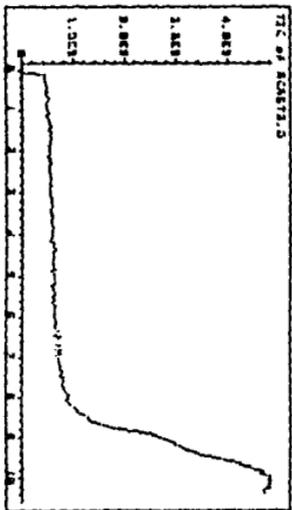
LOCK POS: 1000 MHz TUNING AMPL: 50% SWEEP TIME: 5
 LOCK POWER: 100 W FILTER: D1 AC SWEEP WIDTH: 1000 Hz
 DECOUPLE POS: 1000 MHz RF POWER: 20 W END OF SWEEP: 1000 MHz SAMPLE TEMP: 100°C

MTA
 T1A2
 11-2-77
 2004
 01/12

EM-300 60 MHz NMR SPECTROMETER

ESPECTRO No. 8

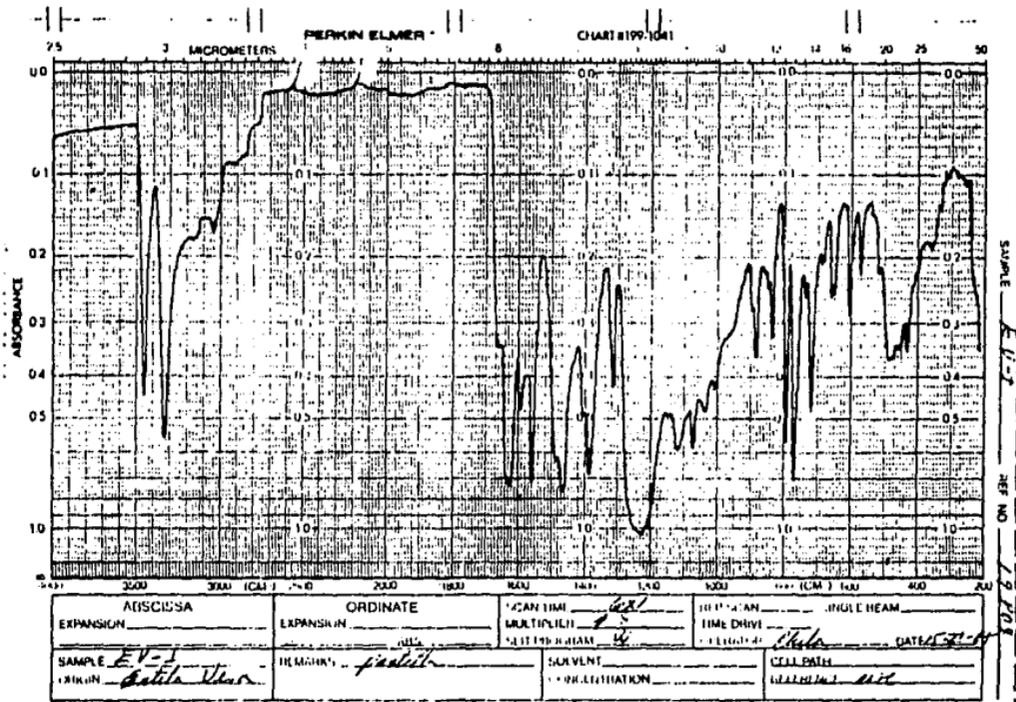
6-CLORO-5-(2-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL.



ESPECTRO No. 9

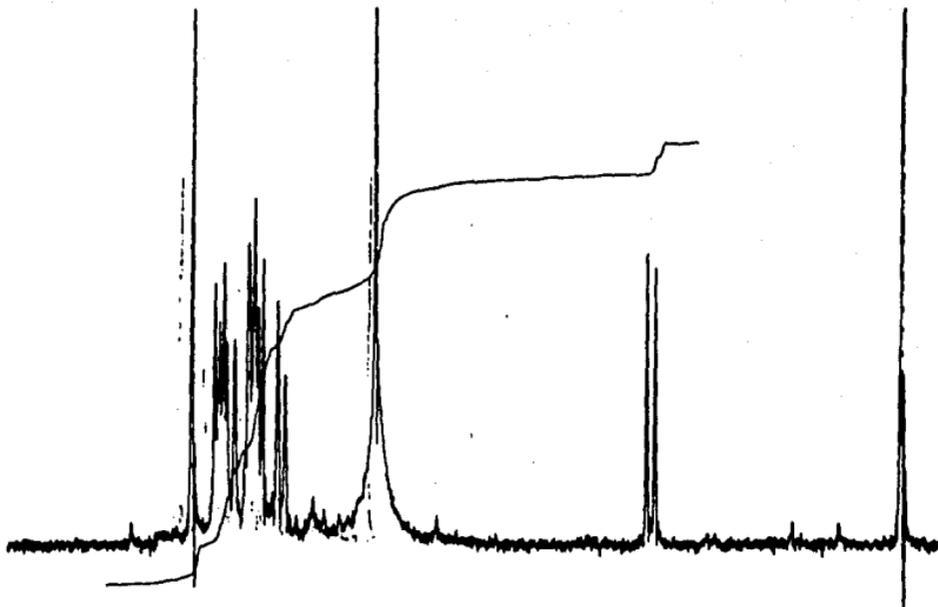
6-CLORO-5-(2-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL.

Scan 248 (18.088 min) of R0A572.D
Muestra 82

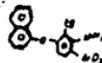


Varian Instrument Division

10000
1000
100



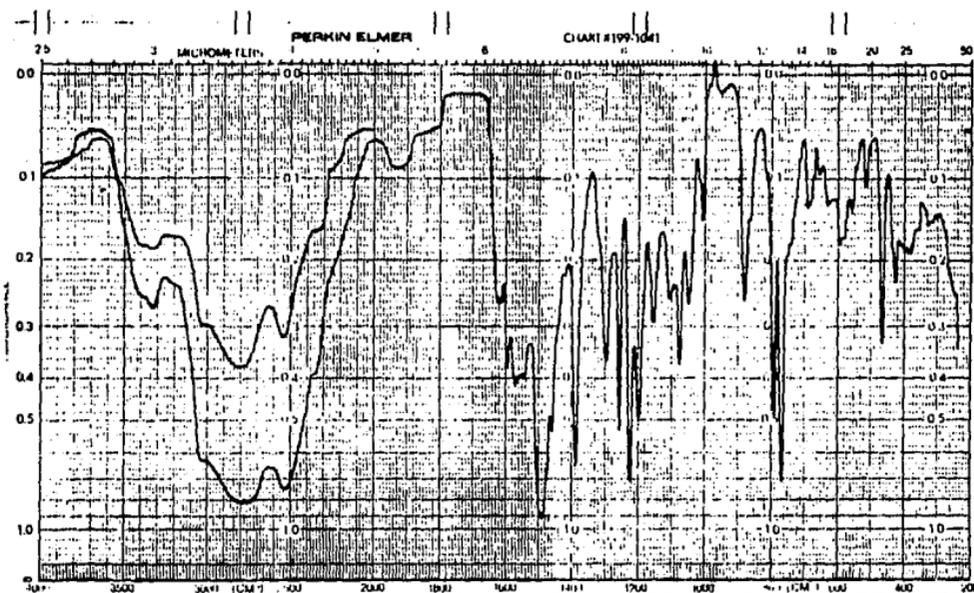
Chemical shift (ppm) 8.5 8.0 7.5 7.0 6.5 6.0 5.5 5.0 4.5 4.0 3.5 3.0 2.5 2.0 1.5 1.0 0.5 0



44

ESPECTRO No. 11

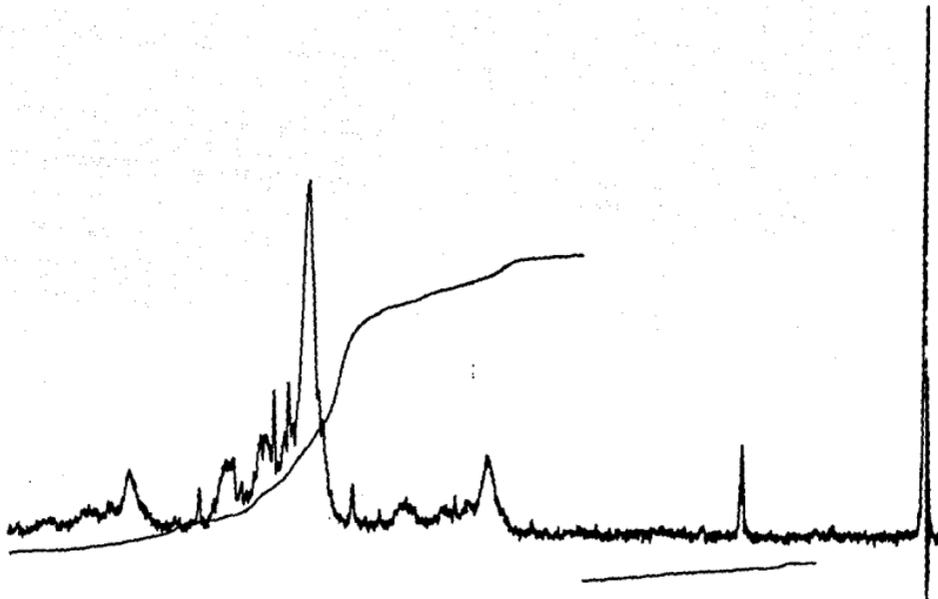
4-CLORO-3-(1-NAFTOXI)-6-NITROANILINA.



SAMPLE # 11-91
 REF. NO. 1-003

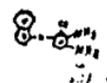
AUSCISSE		ORDINATE		SCAN TIME	ANGLE BEAM
EXPANSION		EXPANSION		MULTIPLIER	TILT DRIVE
SAMPLE <i>FV-II</i>		IDENTIFY <i>pastilla</i>		SOLVENT	CELL PATH
CATION <i>Soln. Na</i>		CAPILLATION		SPECTRUM	DATE <i>15-71</i>

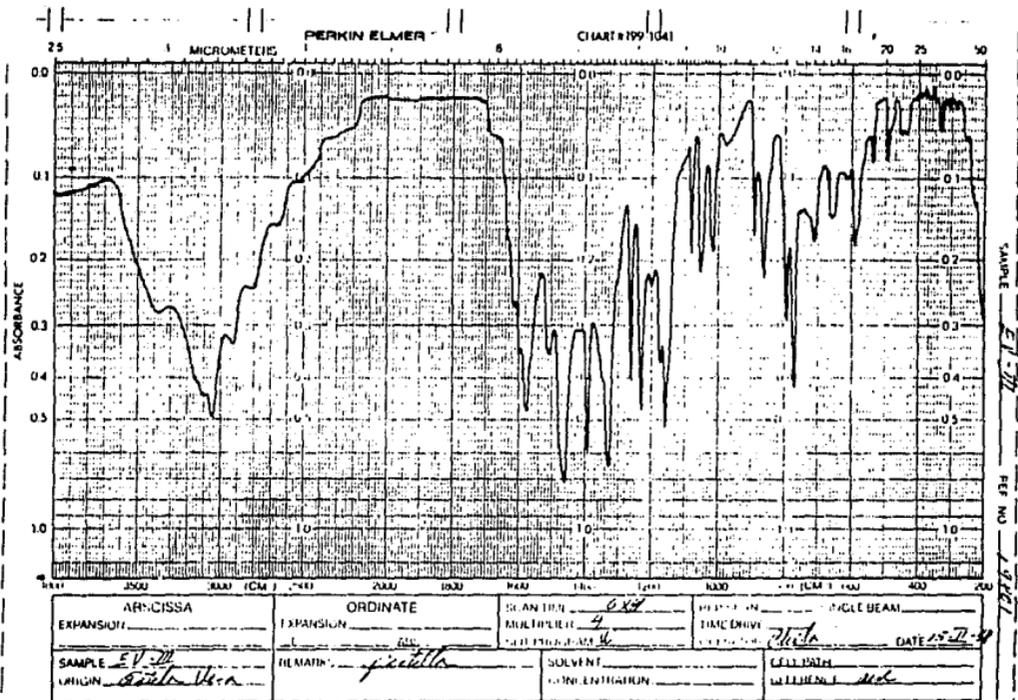
4 S ESPECTRO No. 12 5-CLORO-4-(1-NAFTOXI)-1,2-DIAMINOBENCENO.

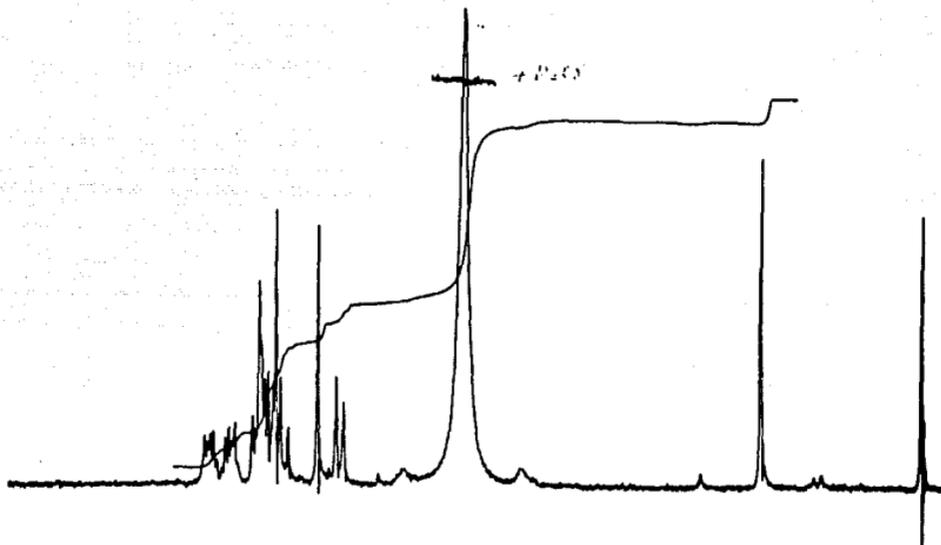


1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.

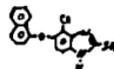
1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.
 1. 1. 1. 1.

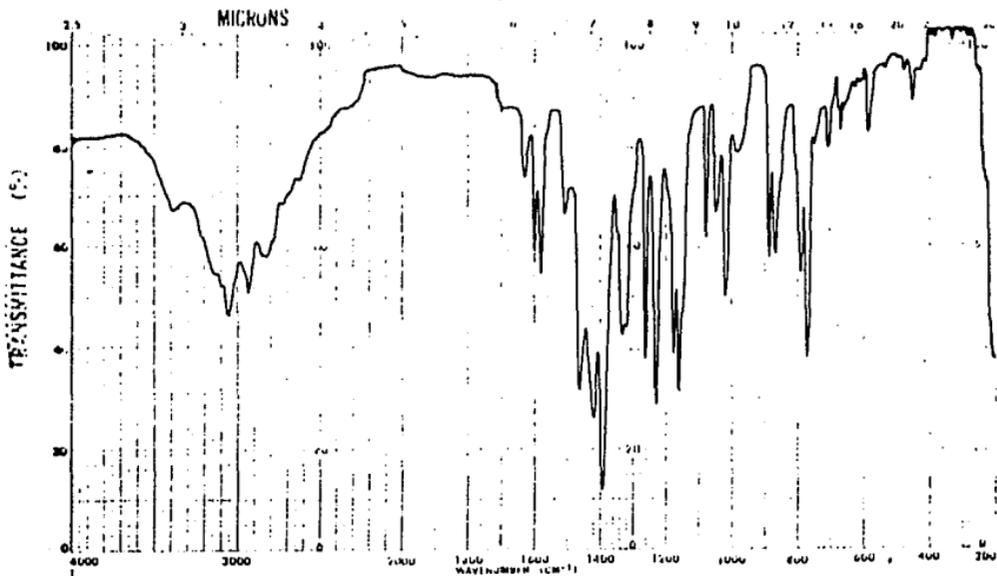






48
 ESPECTRO No. 15
 6-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-MERCAPTOBENCIMI DAZOL.



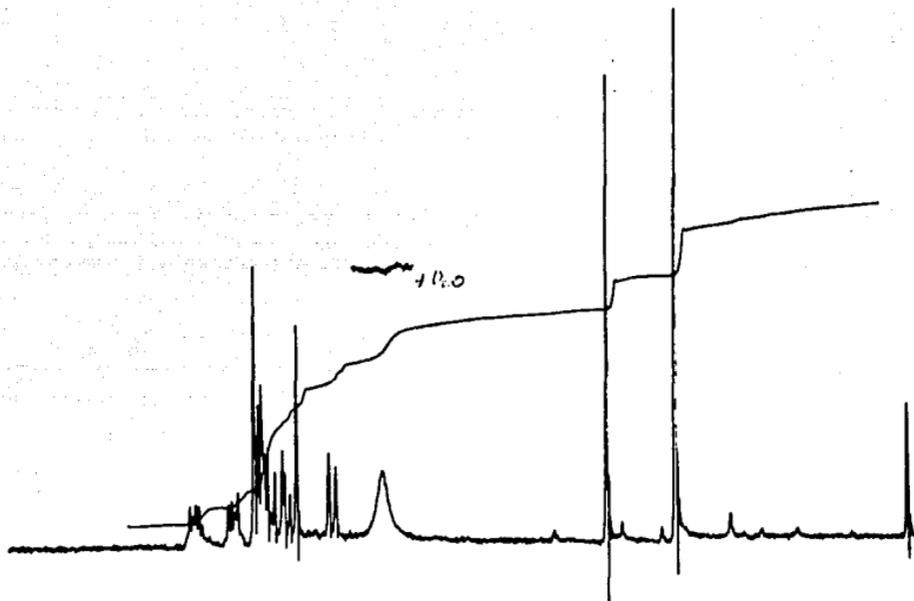


SAMPLE <i>EV-1K</i>	SOLVENT <i>CH₂Cl₂</i>	SCAN <i>12</i>	SINGLE R
CONC.	CELL PATH	NO.	S.D. SPEED
INSTRUM. <i>Falk Var</i>	REFLECT. CELL	OPERATOR <i>Matsuda</i>	DRY LOG
DATE	INSTRUM. I.D. NO.	DATE <i>13-07-88</i>	FOUNDRY
		NO. 5109 1000	FILE NO. <i>2013</i>
			REMARKS <i>fresh</i>

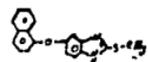
ESPECTRO No. 16

6-CLORO-5-(4-NAPYOXI)-2-METILTTOBENCIMIDAZOL.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



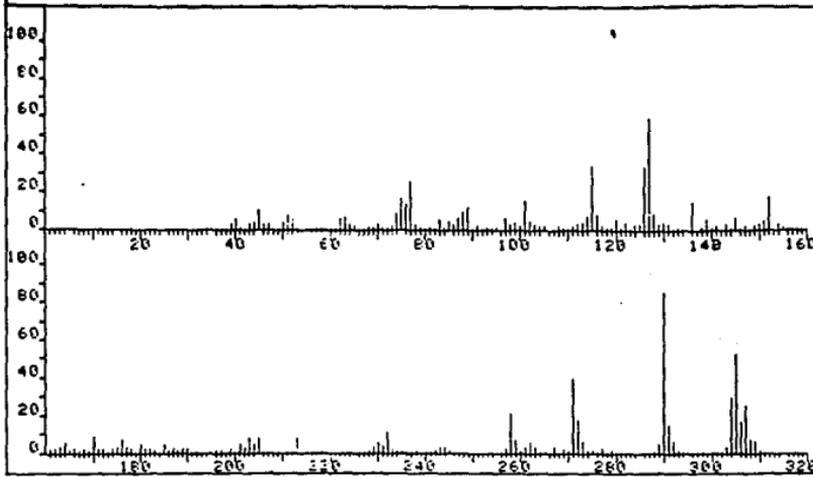
100 MHz
 CDCl₃
 25°C
 100 MHz



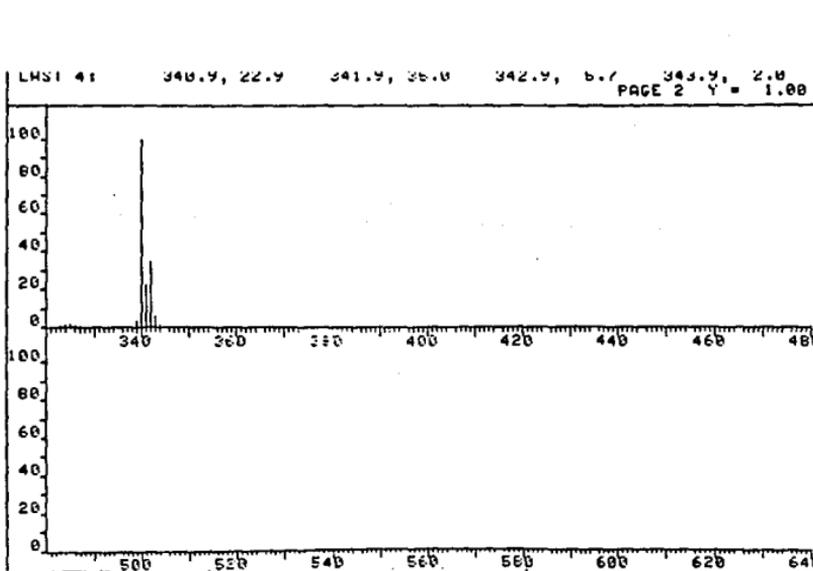
ESPECTRO No. 17

6-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-METILIMIDAZOL.

PKN	5164	SPECTRUM	61	RETENTION TIME	4.1
LARGEST 41	339.9, 100.0	289.9, 85.9	127.0, 59.4	304.9, 52.8	
LAST 41	340.9, 22.9	341.9, 35.0	342.9, 5.7	343.9, 2.8	
					PAGE 1 Y = 1.00



PKN	5164	SPECTRUM	61	RETENTION TIME	4.1
LARGEST 41	339.9, 100.0	289.9, 85.9	127.0, 59.4	304.9, 52.8	
LAST 41	340.9, 22.9	341.9, 35.0	342.9, 5.7	343.9, 2.8	
					PAGE 2 Y = 1.00



ESPECTRO No. 18 6-CLORO-5-(1-NAFTOXI)-2-METILTIOBENCIMIDAZOL.

BIBLIOGRAFIA

1. Eckert, J., Schneiter, G., y Wolff, K., Instituto de Parasitología de la Universidad de Zurich, Suiza, traducción, Berl Munch Tierarztl, 91, 349-356 (1984).
2. Ibarra, F., García, C., Vera, Y., Escudero, J., Vázquez, C., Vet. Mex., 20; 203-205, (1989).
3. Dorchies, P., Franc, J., Ducos de Lahitte, trad. de ;Revue med. vet., 134, 4, 231-234, (1983).
4. Smeal, M.G., and Hall, C.A., ; Aust. vet. J., 60; 328-331 (1983).
5. Sharma, S., and Abusar, S., Prodrug Research, 27, 86 (1983).
6. Brown, H.D., Matzuk, A.R., Ilves, I.R., Peterson, L.H., Harris, S.A., Savett, L.H., Egerton, J.R., Yaktis, J.J., Campbell, W.C., and Cuckler, A.C., J. Am. Chem. Soc., 83, 1764 (1961).

7. Actor, P., Anderson, E. L., Di Cuollo, C. J., Ferlauto, R. J., Hoover, J.R., Pagano, J. F., Ravin, L. R., Scheidy, S. F., Stedman, R. J., and Theodorides V. J., Nature, 215, 321 (1967).
8. Brugmans, J.P., Thienpont, D. C., Wijngarden, I., Vanparijs, O. F., Schuermans, V. L., and Laumers, H.L., J. Am. Assoc, 217, 313 (1971).
9. Islip, P.J., Burguer's Medicinal Chemistry, fourth ed., John Wiley & Sons, New York, part. II, cap. 21 (1981).
10. Navarro Padilla Nilda A., tesis, UNAM, Estudios sobre la síntesis del propranolol y preparación de analogos, 36-38 (1987).
11. Ciba Geigy, A> C>< Suiza Pat. Belga No. 865870 (1978).
12. Frick, W., Pfeffingen y Weiss, A., Basel, Suiza Pat., No. 462847, (1968).

13. Beard, C. C., Dvorak, C. A., Averkin, E. A., Edwards, J. A., Fried, J. H., Lions, E. T., Sharp, M. L., and Corwin, R. M., *J. Med. Chem.*, **18**, 1164-1168 (1975).
14. Jenkins, D. C., Topley, P., and Rapson, E. D., *Parasitology*, **85**, 165-171 (1978).
15. Sánchez, E. B., e Ibarra, V. F., *Técnica pecuaria, México*, **25**, 397-403 (1988).
16. Martin, E. L., *Organic Synthesis*, **1**, 388, (1941).
17. Nuñez Arellano Lucía E., *Síntesis de 2(4-tiazolil)nafto (2,3-d) imidazol análogo del Tiabendazol*, **53-54**, (1984).
18. *Rev. Soc. Quím. Mex.*, **30**, 52 (1986).
19. Van Allan, J. A., and Deacon., *Org. Synt. Coll.*, Vol IV **570** (1983).
20. Craig, T. M. and Huey, R. L., *J. Vet. Res.*, **45**, 1644 (1984).

21. Turner, K., Armour, J., Richards, R. J., Veterinary Records, 114, 41-42 (1984).
22. Alvinerie, M., and Galtier, P. J. of Chromatography, 374, 408-419 (1986).
23. Gibson, T. E., Veterinary Anthelmintic medication Technical Communication 3rd. ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, London, (1975).
24. Dickerson, G., Harfenist, M. and Kingsbury, P. A.; Br. Vet. J., 127: x1 (1971).
25. Boray, J. C., Crowfoot, P. D., Strong, M. B., Allison, J. R., Schellenbaum, M., Orelli, Von M. and Sarasin, G., Vet. Rec., 113; 315-317 (1983).
26. Boray, J. C., Jackson, R. and Strong, M. V.; N. Z. Vet. J, 33: 182-186 (1985).
27. Boray, J. C., New South Wales Vet Proc., 42: 47-53 (1982).

28. Charles, J. Pouchert, The Aldrich library of NMR spectra, Ed. II, Vol 1 pag. 909 A y 1184 A.
29. Catálogo Aldrich 1988-1989, D6,800-2 pag. 503.
30. Catálogo Aldrich 1988-1989, D2,603-2 pag 1040.
31. Catálogo Aldrich 1988-1989, 13,010-9 pag 146.
32. Catálogo Aldrich 1988-1989, 23,823-6 pag 1045.
33. Hernández Campos María Alicia, Tesis UNAM, Síntesis de Bencimidazoles con Actividad Antihelmíntica Potencial, (1980).