

00570

3
20j

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**DISEÑO Y SINTESIS DE ORGANOFOSFORADOS CON POSIBLE
ACTIVIDAD GARRAPATICIDA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA FARMACEUTICA)

P R E S E N T A
Q. F. B. PEDRO VELAZQUEZ PONCE
A S E S O R :
DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA
MEXICO, D.F. 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**DISEÑO Y SINTESIS DE
ORGANOFOSFORADOS CON POSIBLE
ACTIVIDAD GARRAPATICIDA**

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DRA. OFELIA ESPEJO G.
PRIMER VOCAL: DR. EUGENE A. BRATOEFF T.
SECRETARIO: M. EN C. J. MANUEL MENDEZ S.
PRIMER SUPLENTE: M. EN C. ISABEL AGUILAR L.
SEGUNDO SUPLENTE: M. EN C. FRANCISCO HERNANDEZ L.

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

FACULTAD DE QUIMICA U.N.A.M.
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
DEPARTAMENTO DE FARMACIA.
CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO, D.F.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA



SUPERVISOR TECNICO:

M. en C. ALICIA HERNANDEZ CAMPOS



SUSTENTANTE:

PEDRO VELAZQUEZ PONCE



AGRADECIMIENTOS

A la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM por su espléndido apoyo.

A la Universidad de Guadalajara por interesarse en mi desarrollo profesional.

Con enorme gratitud a mis profesores por el constante, tenaz y desinteresado esfuerzo que han puesto en mi formación.

Al Doctor Rafael Castillo B., director de este trabajo, por su gran ayuda, por su confianza y por su paciencia.

A la M. en C. Alicia Hernández C. por su desinteresada y para mí valiosa aportación a la consecución de este trabajo.

A mi familia, a Bety, y a Héctor M. González M. por su comprensión y por su incondicional ayuda.

A mis compañeros y amigos de la División porque han sido una nueva y muy grata experiencia.

Se agradece el apoyo económico brindado por CONACYT, SYNTEX y UNAM para la realización de este trabajo.

De igual manera se agradece al personal que labora en el Departamento de Química Analítica de la División de estudios de Posgrado (Facultad De Química de la UNAM) por la realización de los espectros de Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas:

Q.F.B. Silvia Mendoza Arellano, Q. Ernestina Cervera Flores, Q. Georgina Duarte Lisci, M. en C. Humberto Gómez, Q. Maricela Gutiérrez Franco, Q.F.B. Graciela Chávez Beltrán.

Así mismo se agradece al PRONABIVE el patrocinio de las pruebas biológicas realizadas en el CENAPA bajo la dirección del M.V.Z. Martín Ortiz Estrada. También se agradece al equipo de trabajo que participó en la realización de las mencionadas pruebas:

Biol. Minerva Santamaria Vargas, Biol. Alejandrina Ortiz Nájera, Biol. Jorge Osorio Miranda, Biol. Noé Soberanis Céspedes, Biol. Rubén Franco Bello, M.V.Z. Luis Villaldama Martínez.

RESUMEN

En este trabajo se describe la obtención de nuevos compuestos organofosforados, derivados del 2-naftol y del 2-mercaptobencimidazol. Además se muestran los resultados correspondientes a los ensayos preliminares de actividad garrapaticida (ixodicida). Partiendo de procedimientos conocidos para la obtención de otros organofosforados como el etión se logró una ruta para la síntesis de los organofosforados propuestos en este trabajo.

La síntesis de estos compuestos se realizó por disolución del 2-naftol o del 2-naftol debidamente substituido en una solución básica y posterior adición del o,o-dialquilclorotiofosfato correspondiente, las reacciones se efectuaron a 75°C durante 30 minutos para los compuestos 16-19 y a temperatura ambiente durante un tiempo aproximado de 20 horas para los compuestos 20-23. Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna (a excepción del compuesto 19 que fue purificado por cristalización) dando rendimientos del 63 al 71 %. Estos organofosforados fueron objeto de ensayos preliminares de actividad biológica (en el Centro Nacional de Parasitología Animal) obteniéndose resultados de difícil interpretación, pero según los cuales el compuesto 18 mostro una actividad ixodicida alentadora.

Finalmente cabe mencionar que al parecer y en base a los datos espectroscópicos fue posible obtener dos organofosforados derivados del 2-mercaptobencimidazol los cuales no fueron sometidos a ensayos de actividad biológica debido a que los datos resultantes serian insuficientes para tratar de establecer una relación estructura-actividad.

A B S T R A C T

In this thesis is described the obtention of new organophosphorous compounds, derivatives of 2-naphtol and 2-mercaptobenzimidazole. In addition are shown the preliminary bioassay results. Known procedures were used to obtain an alternative route to the synthesis of new organophosphorous compounds.

The preparation of these substances was done by dissolving 2-naphtol (or the 2-naphtol derivative) in a basic solution. The mixture was treated with o,o-dialkylchlorothiophosphate, maintaining the temperature at 75°C about 20 hours. The purification was done by column chromatograpy yielding 63-71%.

Preliminary bioassays against ticks were done to the 2-naphtol derivatives. In this test a compound showed an interesting activity.

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	3
PARTE I.	
DISEÑO Y SINTESIS DE ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL	16
Síntesis de los organofosforados (16)-(19)	18
Síntesis de los organofosforados (20)-(23)	20
PARTE II.	
DISEÑO Y SINTESIS DE ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL	22
Síntesis del 2-Mercaptobencimidazol (24)	24
Síntesis del 5(6)-Bromo-2-mercapto- bencimidazol (30)	24
Síntesis del 5(6)-Cloro-2-mercapto- bencimidazol (36)	26
Síntesis del Fosforoditionato de O,O-dimetil-S-(2-bencimidazolilo) (37)	28
Síntesis del Fosforoditionato de O,O-dietil-S-(2-bencimidazolilo) (40)	28
PARTE III.	
ENSAYOS PRELIMINARES DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA	29
PARTE IV.	
RESULTADOS.	
Tabla No. III. Rendimientos y características físicoquímicas correspondientes a los organofosforados obtenidos derivados del 2-naftol.	30
Tabla No. IV. Señales de los espectros de infrarrojo correspondientes a los organofosforados obtenidos derivados del 2-naftol.	31
Tabla No. V. Señales de los espectros de RMN de hidrógeno correspondientes a los organofosforados obtenidos derivados del 2-naftol.	33
Tabla No. VI. Constantes de acoplamiento de los organofosforados obtenidos derivados del 2-naftol.	34
Tabla No. VII. Señales de los espectros de masas correspondientes a los organofosforados obtenidos derivados del 2-naftol.	35

Tabla No. VIII. Rendimientos y estados físicos correspondientes a los organofosforados obtenidos derivados del 2-mercaptobencimidazol . . .	36
Tabla No. IX. Señales de los espectros de infrarrojo correspondientes a los organofosforados presumiblemente obtenidos del 2-mercaptobencimidazol	36
Tabla No. X. Señales de los espectros de RMN de hidrógeno correspondientes a los organofosforados presumiblemente obtenidos del 2-mercaptobencimidazol	37
Tabla No. XI. Actividad garrapaticida "in vitro" de nuevos organofosforados derivados del 2-naftol contra Boophilus Microplus cepa Tempoal	38
Tabla No. XII. Actividad garrapaticida "in vitro" de nuevos organofosforados derivados del 2-naftol contra Boophilus Microplus cepa Tuxpan	39
Tabla No. XIII. Actividad garrapaticida "in vitro" de nuevos compuestos organofosforados derivados del 2-naftol contra Boophilus Microplus cepa susceptible	40
Tabla No. XIV. Actividad garrapaticida "in vitro" del compuesto 18 contra Boophilus Annulatus cepa Susceptible	41
PARTE V. DISCUSION Y CONCLUSIONES	42
PARTE VI. PARTE EXPERIMENTAL.	
Instrumentación y equipo	44
Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(2-naftilo) (16) . . .	46
Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1-bromo-2-naftilo) (17)	47
Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(6-bromo-2-naftilo) (18)	48
Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) (19)	49
Tiofosfato de O,O-dietyl-O-(2-naftilo) (20)	50
Tiofosfato de O,O-dietyl-O-(1-bromo-2-naftilo) (21)	51
Tiofosfato de O,O-dietyl-O-(6-bromo-2-naftilo) (22)	52
Tiofosfato de O,O-dietyl-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) (23)	53
2-Mercaptobencimidazol (24)	54
4-Bromoacetanilida (26)	55
4-Bromo-2-nitroacetanilida (27)	55
4-Bromo-2-nitroanilina (28)	56
4-Bromo-1,2-fenilendiamina (29)	56

5(6)-Bromo-2-mercaptobencimidazol (30)	57
4-Cloroacetanilida (32)	58
4-Cloro-2-nitroacetanilida (33)	58
4-Cloro-2-nitroanilina (34)	59
4-Cloro-1,2-fenilendiamina (35)	59
5(6)-Cloro-2-mercaptobencimidazol (36)	60
Fosforoditionato de O,O-dimetil-S-(2-bencimidazolilo) (37)	61
Fosforoditionato de O,O-dietyl-S-(2-bencimidazolilo) (40)	62
PARTE VII.	
ESPECTROS	63
BILBIOGRAFIA	93

INTRODUCCION

La primera información sobre la existencia de la garrapata en México se encuentra registrada en los jeroglíficos mayas de la época precolonial localizados en la ciudad de Campeche. Entre las plagas que actualmente atacan al ganado (equino, ovicaprino y bovino, principalmente a este último) del país, la garrapata se reconoce desde hace siglos como una parasitosis externa grave. El impacto económico que esta parasitosis causa a la ganadería Nacional es debido principalmente a la disminución en la producción de leche y carne, así como al decremento en la habilidad reproductiva y en ocasiones a la muerte de los animales infestados. Para ejemplificar basta mencionar que de 33.83 millones de cabezas que conformaron el censo ganadero Nacional en el año de 1987, más de 24 millones (71.30%), estaban infestadas por garrapatas del género *Boophilus*, lo que significó un total aproximado de 124,000 toneladas de carne que se dejaron de producir. Este y otros datos estadísticos permiten establecer que tales parasitosis son la causa principal de las pérdidas que suporta la ganadería mexicana y el mayor obstáculo para la introducción de razas especializadas, europeas, altamente susceptibles al ácaro en regiones endémicas.

No obstante la gravedad histórica de esta problemática, fue hasta el año de 1974 que la Secretaría de Agricultura y Ganadería emprendió una campaña de carácter nacional tendiente a erradicar al ácaro, misma que sigue vigente pero que en la última década se ha visto entorpecida por la crisis económica que atraviesa el país y que pone de relieve lo oneroso que resulta mantener una campaña de tal magnitud y que además se ve encarecida por la utilización de acaricidas (ixodicidas) todos ellos de importación.

Durante los últimos años algunos compuestos de la familia de los organofosforados han sido los más empleados en el combate contra la garrapata por cuestiones de economía, eficacia y por ser menos contaminantes que sus antecesores organoclorados, por lo que creemos que este tipo de compuestos pueden seguir siendo de gran ayuda en un futuro inmediato.

Considerando lo anteriormente mencionado y contando con el apoyo de CONACYT-SYNTEX-UNAM procedimos a desarrollar el presente trabajo, cuyos objetivos son:

- 1.- Diseñar y sintetizar nuevos organofosforados con posible actividad garrapaticida.
- 2.- Caracterizar espectroscópicamente los nuevos compuestos obtenidos.
- 3.- Realizar pruebas de actividad biológica a los compuestos que serán obtenidos en este trabajo.

GENERALIDADES

La garrapata es un artrópodo clasificado dentro de la clase de los arácnidos y del orden Acarina.

La garrapata es un parásito externo del ganado bovino, equino y ovicaprino, que se alimenta de sangre y cuyo ciclo vital comprende dos fases definidas, la primera no parásita, transcurre en el suelo y comprende el periodo de preoviposición hasta el estado larvario; la segunda, parásita, inicia cuando la larva infesta al hospedador pasando posteriormente por los estadios de ninfa, adulto y apareamiento, luego de lo cual se desprende para iniciar su vida libre.

En México, parásito y hospedador coexisten en prácticamente la totalidad de las áreas fértiles, siendo el ganado bovino el más afectado, tal y como se refleja en los siguientes datos¹: en el año de 1987, el 71.3% de este ganado estaba infestado por garrapatas del género *Boophilus*, el 55.7% por el género *Amblyoma* y el 8.1% por *Dermacentor*. Es importante aclarar que la suma de los porcentajes arroja un valor superior al 100% debido a la existencia de infecciones mixtas.

Las pérdidas en los diferentes renglones causadas por este ácaro a la ganadería mexicana se resumen así^{1,2}: según datos experimentales las mermas en producción lechera van del 14 al 20% y se deben a la hemosuccion y al estado anorético que deriva de la parasitosis. En 1987 se dejaron de producir 196,000 toneladas de carne bovina debido a la anorexia, a la hemosuccion y a la disminución en los índices de reproducción (por decremento en los niveles de progesterona). En 1983 los daños en pieles se estimaron en un 5% del peso de las mismas debido a la infección bacteriana que sufren las heridas hechas por la garrapata para succionar la sangre. La garrapata también es vector de enfermedades como la Babesiosis bovina, cuyo agente etiológico es una especie de piroplasma que en el año de 1983 causó la muerte al 4.1% de la población bovina, y de la Anaplasmosis que en el mismo año provocó el deceso del 4.4% de los bovinos y que tiene como agente etiológico a una *Rickettsia* (*Anaplasma marginale*).

Dadas las cuantiosas pérdidas económicas que viene sufriendo la ganadería del país, el Gobierno de la República se ha visto obligado a realizar una campaña nacional contra la garrapata (iniciada en el año de 1974), la cual se ve considerablemente encarecida debido a que las sustancias pesticidas que en ella se utilizan son de importación. A lo anterior debe agregarse que tales sustancias son prácticamente insolubles en agua lo que trae como consecuencia dosificaciones desiguales ya que se administran en forma de baños compuestos de agua-pesticida donde el pesticida tiende a quedar sobre el agua siendo arrastrado en mayor cantidad por los animales que pasan primero por el baño y en menor cantidad por los que pasan después¹.

Con base en la información anterior resulta de gran importancia para el país contar con nuevos compuestos, propios, que pudieran emplearse en la Campaña Nacional contra la Garrapata.

En el mercado mexicano actualmente se pueden encontrar dos grupos de garrapaticidas, a saber:

- A) Piretroides (Cypermetrina, Deltametrina y Flumetrina).
- B) Organofosforados (Clorfenvifos, Clorpirifos, Coumafos, Diazinón, Dioxatión y Etión).

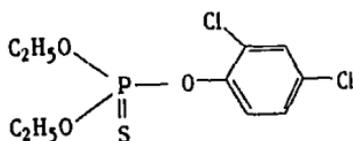
Siendo el segundo grupo el más utilizado debido a las ventajas que presenta y que se mencionan a continuación:

- 1.- Son muy activos¹. El coumafos que es el de uso más difundido se administra en concentración de 200 ppm, dato que da idea de la potencia de estos compuestos.
- 2.- Bajos costos¹. Los organofosforados son los más económicos del mercado. El costo por tratamiento a precios corrientes en 1988 era de 271 pesos M.N. (N \$ 0.271) contra 1,039 pesos M.N. (N \$ 1.039) de los piretroides.
- 3.- Se absorben fácilmente^{3,4}. La mayoría de estas sustancias poseen un grado de lipofilia que facilita su paso a través de membranas biológicas.
- 4.- Biodegradables³. La naturaleza química (son ésteres) de los organofosforados hace que la generalidad de ellos sean relativamente inestables en agua por lo que no representan un problema ecológico si se les compara con sus antecesores organoclorados que se caracterizan por una larga vida media.

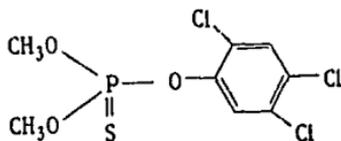
En cuanto a las desventajas que presentan los organofosforados destacan las siguientes:

- 1.- Poca solubilidad y relativa inestabilidad en agua³. Características que dificultan su formulación y su administración.
- 2.- Pueden generar resistencia^{1,2}. En algunos estados como Morelos, Puebla, San Luis Potosí y Veracruz se han detectado cepas de garrapatas que han desarrollado resistencia a los organofosforados, pero a pesar de ello estas sustancias pueden seguir siendo de gran utilidad si se administran adecuadamente.
- 3.- Son tóxicos^{4,5,6}. El coumafos presenta una DL-50 de 16 mg/Kg (en ratas) y al igual que la generalidad de sus congéneres presenta toxicidad por acumulación.

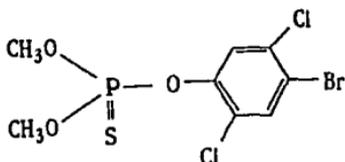
El estudio de un grupo de organofosforados (FIG. 1a, 1b, 1c) inhibidores de acetilcolinesterasa así como fuentes especializadas permiten enumerar una serie de características estructurales que a continuación se describen^{3,6,7};



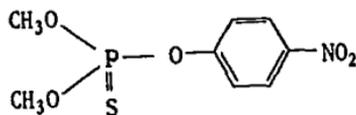
DICLOFENTION (1)



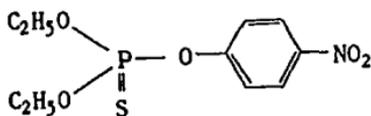
RONNEL (2)



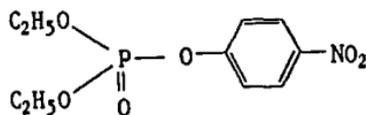
BROMOFOS (3)



METIL PARATION (4)

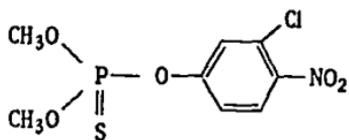


PARATION (5)

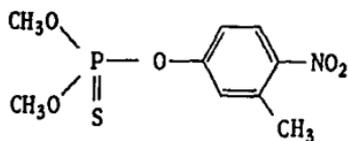


PARAOXON (6)

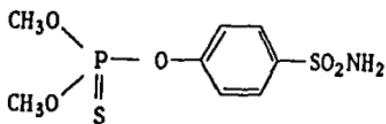
FIG. 1a. ESTRUCTURAS DE ALGUNOS ORGANOFOSFORADOS COMUNMENTE UTILIZADOS COMO PESTICIDAS.



CLORTION (7)



FENITROTION (8)



CITIONATO (9)

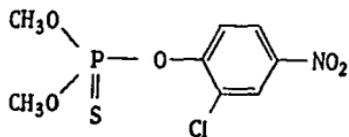
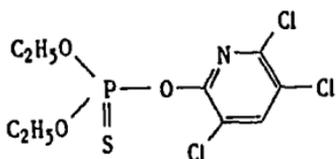
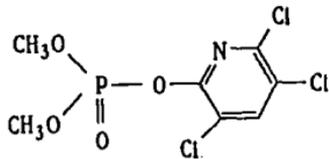
CLOROMETIL
PARATION (10)

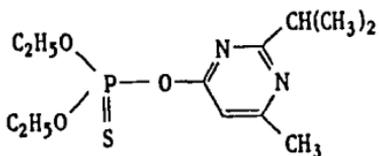
FIG. 1b. ESTRUCTURAS DE ALGUNOS ORGANOFOSFORADOS COMUNMENTE UTILIZADOS COMO PESTICIDAS.



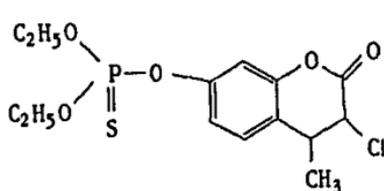
CLORPIRIFOS (11)



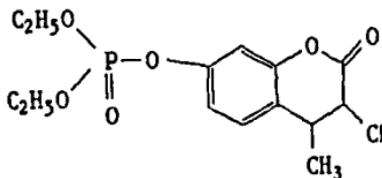
FOSPIRATO (12)



ETIL PIRIMIFOS (13)



COUMAFOS (14)



CORALOX (15)

FIG. 1c. ESTRUCTURAS DE ALGUNOS ORGANOFOSFORADOS COMUNEMENTE UTILIZADOS COMO PESTICIDAS.

- 1.- Son ésteres del ácido fosfórico o tiofosfórico. Los tiofosfatos suelen ser más lipofílicos que los correspondientes fosfatos^{3,5}.
- 2.- Dos hidrógenos del ácido fosfórico o tiofosfórico se encuentran substituidos, generalmente, por metilos o etilos, lo que confiere lipofilia al compuesto sin originar impedimento estérico sobre el átomo de fósforo (electrófilo)^{3,8}.
- 3.- Un tercer hidrógeno del ácido fosfórico o tiofosfórico se substituye en muchos casos por un fenilo substituido a su vez con grupos electroattractores como los halógenos (flúor, cloro y bromo) o el grupo nitro que ayuda a hacer del fenóxido un buen grupo saliente^{8,9}.

De entre la serie de compuestos que cumplen con las características estructurales mencionadas destacan el bromofos (3), el clortión (7) y el paratión (5) que son de los pesticidas más utilizados en la actualidad.

En otros casos el tercer hidrógeno del ácido fosfórico o tiofosfórico se substituye por heteroanillos aromáticos que poseen grupos electroattractores como son los halógenos. Entre estos compuestos sobresalen por su uso como garrapaticidas, el clorpirifos (11) con heteroanillo de piridina trihalogenado y el coumafos (14) con heteroanillo de coumarina halogenado, los cuales se emplean en concentraciones de 250 ppm y 200 ppm, respectivamente.

Para comprender el mecanismo de acción de los organofosforados es preciso conocer a fondo el papel fisiológico que desempeña la enzima acetilcolinesterasa (FIG. 2) y las consecuencias que acarrea su inactivación.

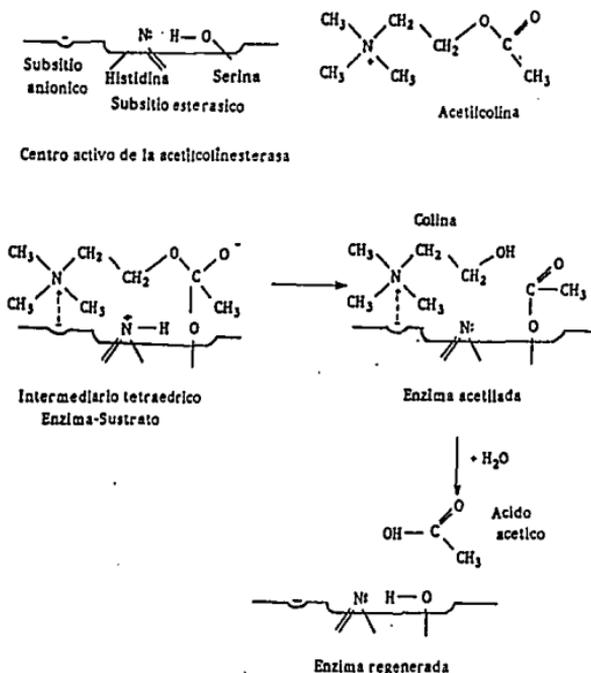


FIG. 2. MECANISMO DE HIDROLISIS DE ACETILCOLINA POR ACETILCOLINESTERASA.

La acetilcolina (FIG. 2) es una molécula de formación endógena que tiene función neurotransmisora y que se encuentra formando parte del sistema nervioso de la garrapata, así como del hombre y de la mayoría de los organismos multicelulares¹⁰.

Por su parte la enzima acetilcolinesterasa también es de formación endógena y tiene como función descomponer al neurotransmisor acetilcolina una vez que ésta ha transmitido el impulso nervioso a la célula efectora uniéndose al receptor localizado en la superficie de la membrana celular.

Es necesario que la acetilcolina sea destruida una vez que ha cumplido con su función, a fin de que la célula efectora pueda recibir un nuevo impulso nervioso, en caso de no ser así, la célula sufriría parálisis que en caso de prolongarse podría ser mortal.

El modelo generalmente aceptado del sitio activo de la enzima acetilcolinesterasa se muestra en la figura 2^{4,11,12,13} y como puede verse consta de un subsitio aniónico y de un subsitio esterásico, compuesto a su vez de un resto de serina y otro de histidina. Se cree que el nitrógeno de la histidina forma un puente de hidrógeno con el hidroxilo del resto de serina aumentando de esta forma la reactividad del oxígeno que ataca nucleofílicamente al carbonilo de acetilcolina, a la vez que el nitrógeno cuaternario de acetilcolina forma un enlace iónico con el subsitio aniónico formándose de esta manera un complejo enzima-sustrato; posteriormente, se rompe uno de los enlaces carbono oxígeno, liberándose colina y quedando la enzima acetilada, finalmente, en una reacción rápida y en presencia de agua se rompe el enlace éster de la enzima acetilada quedando como productos ácido acético y la enzima regenerada.

Como se mencionó anteriormente la inhibición de acetilcolinesterasa trae como consecuencia la parálisis de las células efectoras y su muerte en caso de prolongarse ésta, siendo así, como los organofosforados causan la muerte de las garrapatas. El mecanismo detallado es el siguiente^{8,11,12,13},

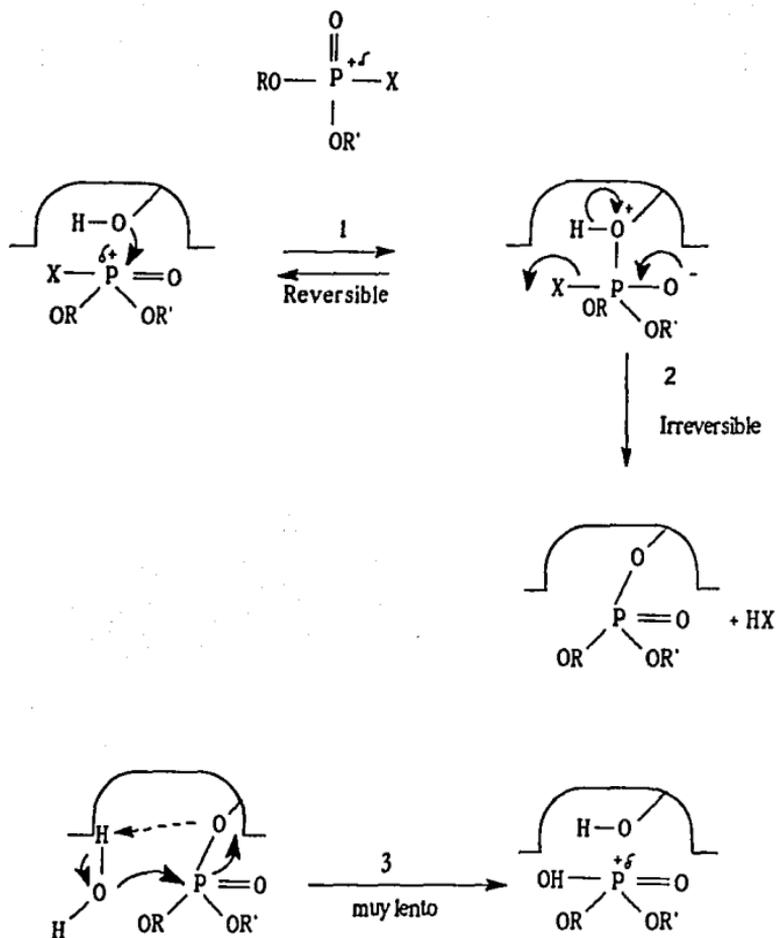


FIG. 3. MECANISMO DE INHIBICION DE ACETILCOLINESTERASA POR ORGANOFOSFORADOS.

El organofosforado cuya estructura general se muestra en la figura 3, donde, R es alquilo y donde X es un buen grupo saliente, posee un átomo de fósforo deficiente en densidad electrónica que debido a ello es atacado nucleofílicamente por el oxígeno del resto de serina que se localiza en el subsitio esterásico dando como producto un complejo enzima-sustrato. Esta reacción es reversible.

Posteriormente el grupo X sale con su par electrónico quedando como producto la enzima fosforilada, esta reacción es irreversible, y finalmente en una reacción muy lenta que ocurre en presencia de agua la enzima se desfosforila. La irreversibilidad de la segunda reacción y la lentitud de la tercera (que puede durar hasta 2 meses o más) son los procesos responsables de que la acetilcolinesterasa permanezca fosforilada durante largo tiempo y por lo tanto imposibilitada para hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina, estos hechos son los responsables de la toxicidad de tipo acumulativo que presentan los organofosforados.

El trabajo realizado en esta tesis se divide en las siguientes partes que son :

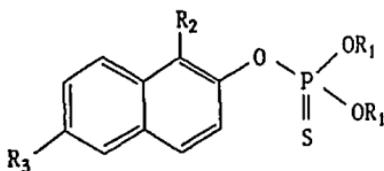
- I. Diseño y síntesis de organofosforados derivados del 2-naftol.
- II. Diseño y síntesis de organofosforados derivados del 2-mercaptobencimidazol.
- III. Ensayos preliminares de actividad biológica.
- IV. Resultados.
- V. Discusión y conclusiones.
- VI. Parte experimental.
- VII. Espectros.

P A R T E I

DISÑO Y SINTESIS DE ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL

Los organofosforados diseñados derivados del 2-Naftol presentan la estructura general que se muestra en la Tabla I, donde: R_1 son metilos o etilos, R_2 es hidrógeno o bromo y R_3 es hidrógeno o bromo. Los compuestos de esta serie son derivados del ácido tiosfórico donde uno de los hidrógenos ha sido sustituido novedosamente por un grupo 2-naftilo, bromado en algunos casos. Esta serie cumple, al menos en teoría, con los requerimientos estructurales para inhibir acetilcolinesterasa, dada su semejanza estructural con respecto a los inhibidores mostrados anteriormente. Se espera que el grupo bromonaftoxi sea un buen grupo saliente, pues presenta múltiples posibilidades para estabilizar la carga negativa por resonancia; además de lo anterior, se espera que este grupo de compuestos sean lo suficientemente lipofílicos (considerando el tamaño del bromonaftoxi) para que puedan atravesar las membranas biológicas y llegar a su sitio de acción. Es importante señalar que el 2-naftol se utiliza en veterinaria por sus propiedades antihelmínticas y antisépticas⁵, hecho que podría tomar relevancia considerando que de actuar la enzima sobre el organofosforado se liberaría el anión 2-naftoxi (o el bromo-2-naftoxi, según el caso) que quizá podría tener efecto nocivo sobre la garrapata. Como una última observación es conveniente mencionar que en pesticidas organofosforados la presencia de halógenos disminuye la toxicidad en mamíferos^{7,14}, hecho que explica el éxito comercial de los análogos clorados del paratión y del metil-paratión.

TABLA I. COMPUESTOS DISEÑADOS PARA ESTE TRABAJO COMO
POSIBLES INHIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASA.



DERIVADOS DEL 2-NAFTOL.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
16	CH ₃	H	H
17	CH ₃	Br	H
18	CH ₃	H	Br
19	CH ₃	Br	Br
20	C ₂ H ₅	H	H
21	C ₂ H ₅	Br	H
22	C ₂ H ₅	H	Br
23	C ₂ H ₅	Br	Br

Los compuestos 16 - 23 se obtuvieron de la manera que a continuación se describe.

Síntesis de los organofosforados (16)-(19).

La síntesis de estos compuestos se realizó por disolución del 2-naftol ó del 2-naftol debidamente substituído en una solución acuosa de hidróxido de sodio y posterior adición del O,O-dimetilclorotiofosfato correspondiente^{15,16}, las reacciones se efectuaron a 75°C durante 30 minutos.

El tiofosfato de O,O-dimetil-O-(2-naftilo) (16) se obtuvo como un líquido oleoso incoloro con un rendimiento de 68.2% luego de ser purificado en columna. El IR (No. 1) mostró una banda en 930 que indica la existencia de una unión éster del tipo P-OAr¹⁷. La RMN (No. 2) presentó un multiplete en 7.45 que integra para 7 protones aromáticos¹⁸. El EM (No. 3) dió un M⁺ de 268.15 (100%) que corresponde al PM esperado.

El compuesto (17) nombrado tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1-bromo-2-naftilo) fue purificado por cromatografía en columna obteniéndose un 65.3% de rendimiento. El producto puro, un sólido ligeramente amarillento de p.f. 46-48°C, mostró las siguientes características espectroscópicas. En IR (No. 4) se observó la unión éster, P-OAr¹⁷, en 930. La RMN (No. 5) mostró un multiplete en 7.49 que integra para 6 protones aromáticos. El EM (No. 6) presentó un M⁺ de 345.95 (5%) que concuerda con el PM de (17).

Durante el proceso de preparación del compuesto (18), la mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna obteniéndose un rendimiento del 67.01% del compuesto deseado denominado tiofosfato de O,O-dimetil-O-(6-bromo-2-naftilo) el cual resultó ser un líquido oleoso e incoloro, que fue caracterizado por métodos espectroscópicos. El IR (No. 7) mostró una señal en 930 que se asigna a la unión éster, P-OAr. En RMN (No. 8) se observó un multiplete en 7.46 que integra para 6 protones aromáticos. El EM (No. 9) mostró un M⁺ de 346.15 (51%) que es igual al peso molecular de (18).

El tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) numerado (19) se purificó por cristalización en etanol absoluto dando un polvo ligeramente amarillento con rendimiento de 66.2% de p.f. 74-76°C que presentó las siguientes características espectroscópicas. En IR (No. 10) se observó una banda en 930 indicativa de la unión del tipo P-OAr. La RMN (No. 11) presentó un multiplete en 7.54 que integra para 5 protones aromáticos. La EM (No. 12) dió un M⁺ de 423.90 (5%) que concuerda con el PM calculado para (19).

Síntesis de los organofosforados (20)-(23).

La obtención de estos compuestos se llevó a cabo por tratamiento con clorotiofosfato de O,O-dietilo, del 2-naftol, o en su caso del 2-naftol debidamente sustituido, previamente disuelto en una solución básica de hidróxido de sodio y carbonato de sodio en agua. La reacción transcurrió a temperatura ambiente durante un tiempo aproximado de 20 horas, según el compuesto.

La síntesis del tiofosfato de O,O-dietil-O-(2-naftilo) (20) arrojó un rendimiento del 64.10% luego del proceso de purificación efectuado por cromatografía en columna. El producto puro se presentó como un líquido incoloro y oleoso que fue caracterizado por espectroscopia. En IR (No. 13) una señal en 930 se asigna a la existencia de un enlace éster de fósforo, P-OAr. En RMN (No. 14) se observó un multiplete en 7.53 que integra para 7 protones aromáticos. El EM (No. 15) dió un M⁺ de 296.00 (99%) que corresponde al peso molecular esperado para (20).

El tiofosfato de O,O-dietil-O-(1-bromo-2-naftilo) (21) se purificó por cromatografía en columna dando 65.2% de un líquido oleoso e incoloro que por IR (No. 16) mostró una banda en 930 que indica la existencia de una unión éster del tipo P-OAr. La RMN (No. 17) presentó un multiplete en 7.45 que integra para 6 protones aromáticos. El EM (No. 18) dió un M⁺-Br de 295 (45%) que corresponde al compuesto (21) después de la pérdida del bromo.

El compuesto (22) nombrado tiofosfato de O,O-dietil-O-(6-bromo-2-naftilo) purificado al igual que su isómero de posición por cromatografía en columna dió un rendimiento de 63.2% de un líquido oleoso e incoloro cuyo IR (No. 19) presentó una señal en 930 característica de un enlace éster del tipo P-OAr. La RMN (No. 20) mostró un multiplete en 7.56 que integra para 6 protones aromáticos. El M⁺ de 373.8 (89%) observable en el EM (No. 21) es coherente con el peso molecular calculado para (22).

Luego de ser purificado por cromatografía en columna el tiofosfato de O,O-dietil-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) (23) mostró ser un líquido oleoso e incoloro que se obtuvo con rendimiento de 71.1%. El IR (No. 22) dió una señal en 930 que caracteriza la unión éster, P-OAr. Por su parte, la RMN (No. 23) presentó un multiplete en 7.4 que integra para 5 protones aromáticos. Finalmente el EM (No. 24) permitió la observación de dos señales que corresponden a M^+-Br , 372.95 (48%) y 374.95 (50%).

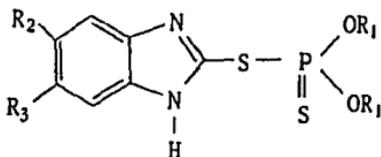
P A R T E I I

**DISEÑO Y SINTESIS DE ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL
2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL.**

Los 2-mercaptobencimidazoles requeridos como materias primas (24, 30 y 36) para la obtención de los análogos organofosforados fueron sintetizados en el laboratorio siguiendo esquemas desarrollados en el mismo, en el caso de los 2-mercaptobencimidazoles halogenados, y técnicas descritas en la literatura, en el caso del 2-mercaptobencimidazol.

Los organofosforados derivados del 2-mercaptobencimidazol presentan la estructura general que se observa en la Tabla II, donde: R_1 son metilos o etilos, R_2 es hidrógeno o halógeno (cloro o bromo) y R_3 es hidrógeno o halógeno (cloro o bromo). Los compuestos de esta serie son derivados del ácido tiosulfónico donde uno de los hidrógenos ha sido sustituido novedosamente por un grupo 5(6)-halo-2-mercaptobencimidazol cuya elección se debe a que los derivados del bencimidazol han mostrado un amplio espectro de actividad farmacológica (antihelmíntica, antimicrobiana, pesticida^{4,12}, etc.). A diferencia de la serie anterior esta serie podría ser más hidrosoluble por la presencia de los nitrógenos del bencimidazol lo que podría redundar en una mayor facilidad de formulación sin menoscabar considerablemente su capacidad para atravesar membranas biológicas.

**Tabla II. COMPUESTOS DISEÑADOS PARA ESTE TRABAJO COMO
POSIBLES INHIBIDORES DE ACETILCOLINESTERASA**



DERIVADOS DEL 2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
37	CH ₃	H	H
38	CH ₃	Cl (ó H)	H (ó Cl)
39	CH ₃	Br (ó H)	H (ó Br)
40	C ₂ H ₅	H	H
41	C ₂ H ₅	Cl (ó H)	H (ó Cl)
42	C ₂ H ₅	Br (ó H)	H (ó Br)

Síntesis del 2-Mercaptobencimidazol (24).

El tratamiento de *p*-fenilendiamina con disulfuro de carbono e hidróxido de potasio en un medio compuesto de etanol-agua a reflujo dió el 2-mercaptobencimidazol (24) con 93% de rendimiento, luego de ser recristalizado de agua. Su punto de fusión fue concordante al reportado en la literatura¹⁹.

Síntesis de 5(6)-Bromo-2-mercaptobencimidazol (30).

El compuesto (30) fué preparado siguiendo la ruta sintética mostrada en la FIG. 4. Se partió de la 4-bromoanilina (25) que por tratamiento con anhídrido acético a 60°C dió la 4-bromoacetanilida (26) con un rendimiento de 93.93% y p.f. semejante al reportado en la literatura²⁰.

La acetanilida obtenida en el proceso anterior se hizo reaccionar con mezcla sulfonítrica a 0°C para obtener la 4-bromo-2-nitroacetanilida (27) con rendimiento de 94.82%, polvo amarillo de p.f. idéntico al reportado²⁰.

La nitroacetanilida (27) se hidrolizó con ácido clorhídrico a temperatura de 60°C durante 25 minutos. Después de vaciar la mezcla de reacción sobre agua se formó un sólido color naranja, mismo que posteriormente fue caracterizado como 4-bromo-2-nitroanilina, con un rendimiento de 97.01% y un p.f. concordante con el reportado en la literatura²⁰.

El grupo nitro del compuesto (28) se redujo con polvo de zinc en un medio de reacción compuesto de etanol-hidróxido de sodio acuoso, calentando a 76°C. La 4-bromo-1,2-fenilendiamina (29) así obtenida, se utilizó como tal para la obtención del producto final.

El 5(6)-bromo-2-mercaptobencimidazol (30), polvo color beige, se obtuvo en un 95.1% por reacción de (29) con disulfuro de carbono en medio básico. El compuesto (30) fundió entre 281 y 283°C.

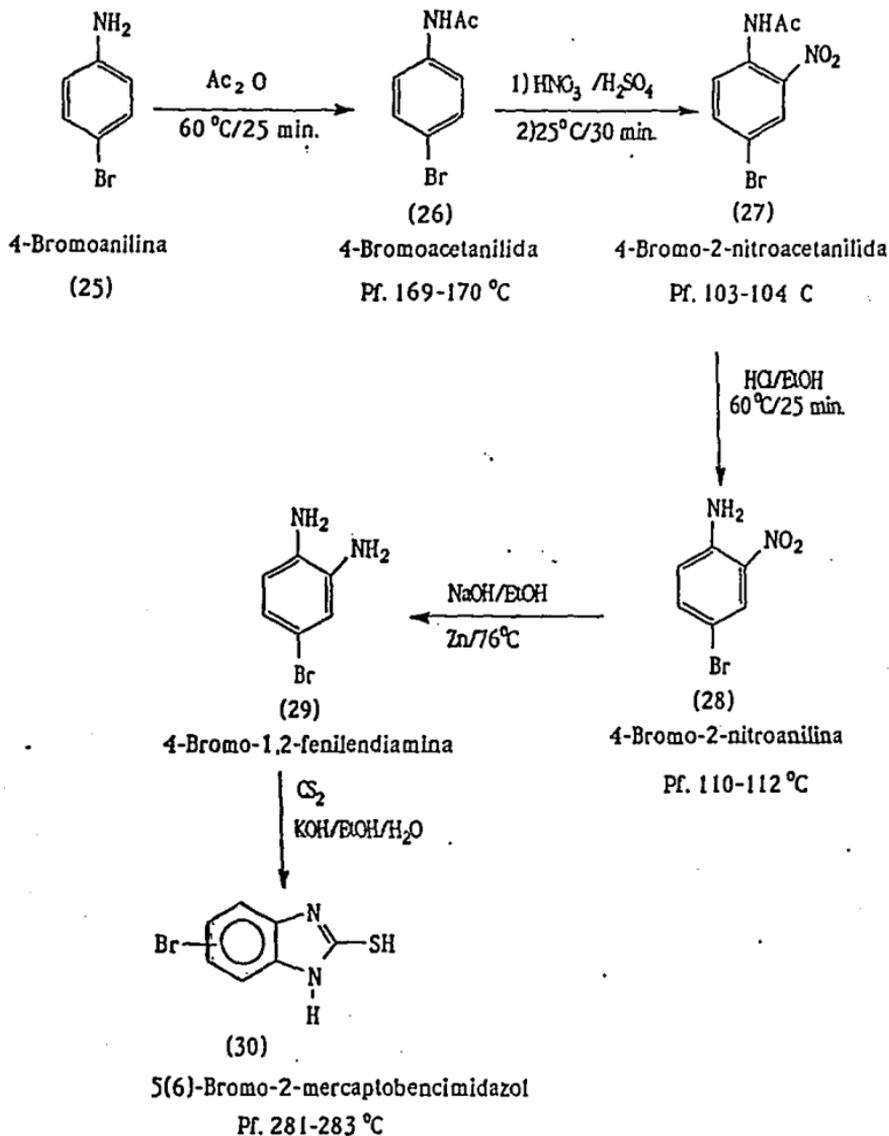


FIG. 4. RUTA SINTETICA DEL 5(6)-BROMO-2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL.

Síntesis de 5(6)-Cloro-2-mercaptobencimidazol (36).

El 5(6)-cloro-2-mercaptobencimidazol fué sintetizado según la FIG. 5. La materia prima 4-cloroanilina (31) se hizo reaccionar con anhídrido acético a 60°C para obtener la correspondiente acetanilida con un rendimiento de 97.78% y p.f. semejante al reportado²⁰.

Una vez protegido el grupo amino, el siguiente paso consistió en tratar la 4-cloroacetanilida (32), recientemente obtenida, con mezcla sulfonítrica a 0°C para obtener la 4-cloro-2-nitroacetanilida (33) con rendimiento de 99.58%, polvo amarillo de p.f. semejante al reportado en la literatura²¹.

La acetanilida (33) se hidrolizó con ácido clorhídrico a 60° C por espacio de 30 minutos. Luego de vaciar la mezcla de reacción sobre agua se obtuvo un sólido color naranja, 4-cloro-2-nitroanilina (34), con un rendimiento de 98.62% y un p.f. concordante con el esperado²².

El grupo nitro de la 4-cloro-2-nitroanilina (34) fue reducido con zinc en un medio de etanol-hidróxido de sodio acuoso, calentando a 76°C. El producto crudo, 4-cloro-1,2-fenilendiamina (35), se obtuvo como un sólido color morado que se utilizó como tal para la siguiente reacción.

El producto (35) crudo de la reacción anterior se hizo reaccionar con disulfuro de carbono en medio básico para obtener un polvo color verde amarillento²³, con un rendimiento de 97.98% y un p.f. correspondiente al 5(6)-cloro-2-mercaptobencimidazol²³(36).

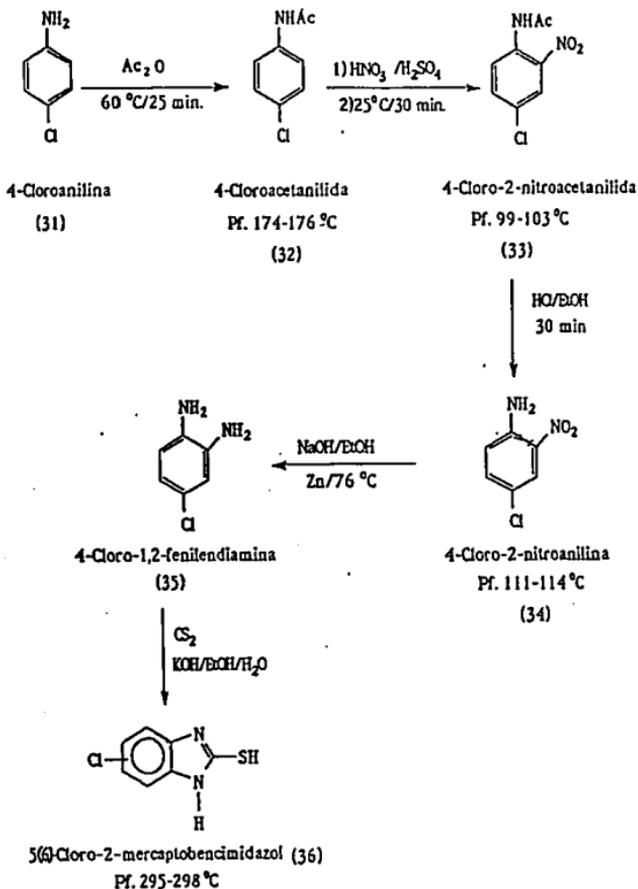


FIG. 5 RUTA SINTETICA DEL 5(6)-CLORO-2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL.

Síntesis de Fosforoditionato de O,O-dimetil-S-
(2-bencimidazolilo) (37)

La síntesis de este compuesto se intentó disolviendo el 2-mercaptobencimidazol en acetona, luego de lo cual se agregó el clorotiofosfato de O,O-dimetilo, manteniéndose la temperatura a 55°C durante 45 minutos, después del cual se obtuvo un polvo blanco con rendimiento del 40% después de ser purificado por cristalización. El IR (No. 25) mostró una banda en 730 que indica la unión P=S¹⁷. La RMN (No. 26) dejó ver un multiplete en 7.3 que integra para 4 protones aromáticos.

Síntesis de fosforoditionato de O,O-dietil-S-
(2-bencimidazolilo) (40)

El compuesto (40) se trató de obtener reaccionando el 2-mercaptobencimidazol, previamente disuelto en acetona, con clorotiofosfato de O,O-dietilo a 55°C durante 45 minutos. El producto de la reacción se purificó por cristalización en acetona, dando un polvo blanco fino con un rendimiento del 45%. El IR (No. 27) denotó una señal indicadora de la unión P=S en 730. La RMN (No. 28) mostró un multiplete en 7.3 que integra para 4 protones aromáticos.

P A R T E I I I

ENSAYOS PRELIMINARES DE ACTIVIDAD BIOLOGICA

Las pruebas de actividad biológica "in vitro" contra la garrapata fueron realizados en el Centro Nacional de Parasitología Animal (CENAPA), dependiente de la S.A.R.H. En este lugar se probaron los ocho organofosforados derivados del 2-naftol.

Para los ensayos se utilizó la técnica denominada "inmersión de hembras repletas"²⁴, donde se emplearon los siguientes géneros, especies y cepas de garrapatas: *Boophilus microplus* cepa Tempoal, originaria de Veracruz y resistente tanto a organofosforados como a organoclorados; *Boophilus microplus* cepa Tuxpan, resistente a organofosforados; *Boophilus microplus* cepa susceptible y *Boophilus annulatus* cepa susceptible. Las pruebas se realizaron en un rango de concentraciones entre 0.000625% (6.25 ppm) y 0.068% (680 ppm) (mismas que fueron preparadas a partir de una solución madre compuesta del organofosforado a ensayar, 1,2-propanodiol, dimetilbenceno, triton X-100 y tween 80) donde el disolvente mayoritario era agua destilada, cabe hacer notar que todos los compuestos presentaron dificultad para disolverse. En esta técnica la actividad garrapaticida se expresa como % de control siendo 100% el valor de aceptación²⁴.

Para determinar el porcentaje de control, es necesario calcular la reproducción estimada (RE) por grupo mediante la fórmula siguientes:

$$RE = \frac{\text{Peso de huevecillos} \times 20,000 \times \% \text{ de eclosión}^{\dagger}}{\text{Peso de hembras por grupo}}$$

† Ruptura del huevecillo para dar lugar al nacimiento del ácaro.

Una vez calculados las RE de ambos lotes, compuestos de prueba y control, se procede a calcular el porcentaje de control como sigue:

$$\% C = \frac{\text{REC} - \text{REP} \times 100}{\text{REC}}$$

Donde:

REP = Reproducción estimada en el lote del compuesto objeto de prueba.

REC = Reproducción estimada en el lote control.

Los resultados de las pruebas se muestran en las tablas XI-XIV, donde es posible observar que el compuesto 18 exhibió control en un 100% contra *Boophilus annulatus* en concentraciones de 0.068% (680 ppm), 0.034% (340 ppm) y 0.017% (170 ppm), ejerciendo efectos sobre ovoposición y sobre eclosión. El mismo compuesto mostró control de 100% frente a *Boophilus Temporal*, *Boophilus Tuxpan* y frente a *Boophilus microplus* cuando se empleó en concentración de 0.068% (680 ppm).

P A R T E I V

RESULTADOS

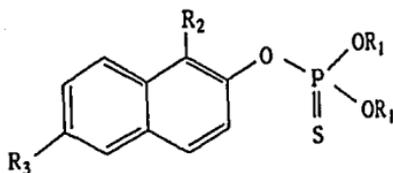


TABLA No. III RENDIMIENTOS Y CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃	RENDIMIENTO (%)	ESTADO	PUNTO DE FUSION
16	-CH ₃	H	H	68.20	LIQUIDO	
17	-CH ₃	Br	H	65.30	SOLIDO	46-46°C
18	-CH ₃	H	Br	67.01	LIQUIDO	
19	-CH ₃	Br	Br	66.20	SOLIDO	74-76°C
20	-C ₂ H ₅	H	H	64.10	LIQUIDO	
21	-C ₂ H ₅	Br	H	65.20	LIQUIDO	
22	-C ₂ H ₅	H	Br	63.20	LIQUIDO	
23	-C ₂ H ₅	Br	Br	71.10	LIQUIDO	

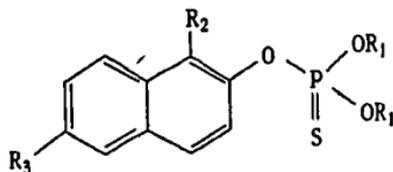


TABLA No. IV SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE INFRARROJO
CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS
OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL.
COMPUESTOS 16-23.

ABSORCION (cm ⁻¹)	ASIGNACION
3,000-3,050	C-H (aromáticos)
2,950	-OH ₂
1,510-1,630	Anillo aromático
950-1,100	P-O
930	P-OAr
640	P=S

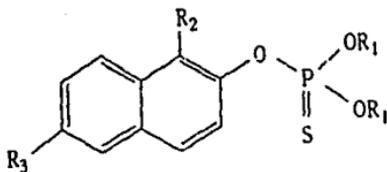


TABLA No. V SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE RMN DE HIDROGENO CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃	-CH ₃	-CH ₂ -	AROMATICOS	ESPECTRO No.
16	-CH ₃	H	H	3.75, d (6H)		7.45, m (7H)	2
17	-CH ₃	Br	H	3.89, d (6H)		7.49, m (6H)	5
18	-CH ₃	H	Br	3.80, d (6H)		7.46, m (6H)	8
19	-CH ₃	Br	Br	3.88, d (6H)		7.54, m (5H)	11
20	-CH ₂ CH ₃	H	H	1.34, t (6H)	4.24, m (4H)	7.53, m (7H)	14
21	-CH ₂ CH ₃	Br	H	1.38, t (6H)	4.25, m (4H)	7.45, m (6H)	17
22	-CH ₂ CH ₃	H	Br	1.36, t (6H)	4.53, m (4H)	7.56, m (6H)	20
23	-CH ₂ CH ₃	Br	Br	1.05, t (6H)	3.93, m (4H)	7.40, m (5H)	23

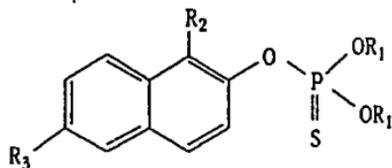


TABLA No. VI CONSTANTES DE ACOPPLAMIENTO DE LOS ORGANOFOSFORADOS OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL.

COMPUESTO	J P-CH ₃ (Hz)	J P-CH ₂ (Hz)	J CH ₂ -CH ₃ (Hz)
16	9.0		
17	9.2		
18	9.0		
19	9.0		
20		4.6	2.00
21		5.4	1.7
22		5.5	1.8
23		4.5	1.8

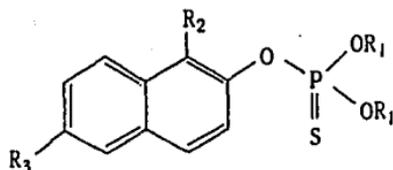


TABLA No. VII SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE MASAS CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL. ESPECTROS No. 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 Y 24 RESPECTIVAMENTE.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃	ION MOLECULAR	PICO BASE	M+1	M+2	M+4
16	-CH ₃	H	H	268.15 (100)	M ⁺	-	270.15 (15)	
17	-CH ₃	Br	H	345.95 (5)	267 (99)	345.95 (1)	347.95 (6)	
18	-CH ₃	H	Br	346.15 (51)	124.94 (100)	347.15 (7)	348.15 (53)	
19	-CH ₃	Br	Br	423.90 (5)	346.95 (100)		425.75 (8)	428.00 (4)
20	-CH ₂ CH ₃	H	H	296.00 (99)	M ⁺	297.00 (16)	298.00 (6)	
21	-CH ₂ CH ₃	Br	H	NO OBSERVABLE†	239.00 (100)			
22	-CH ₂ CH ₃	H	Br	373.80 (89)	M+2		375.8 (100)	
23	-CH ₂ CH ₃	Br	Br	NO OBSERVABLE††	318.90 (100)			

† 295.00 (45) = M⁺ - Br

†† 372.95 (48) = M⁺ - Br

374.95 (50)

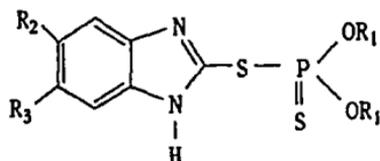


TABLA No. VIII RENDIMIENTOS Y ESTADOS FISICOS CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃	RENDIMIENTO (%)	ESTADO
37	CH ₃	H	H	40	POLVO BLANCO
40	C ₂ H ₅	H	H	38	POLVO BLANCO

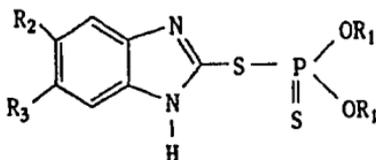


TABLA No. IX SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE INFRARROJO CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS PRESUMIBLEMENTE OBTENIDOS DEL 2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL. ESPECTROS 26 Y 29 RESPECTIVAMENTE.

COMPUESTO 37 Y 40	
ABSORCION (cm ⁻¹)	ASIGNACION
1010	S=P-O-C
1170-1230	S=P-O-C
730	P=S
3200-2300	N-H

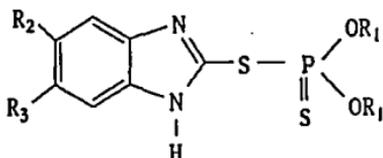


TABLA No. X SEÑALES DE LOS ESPECTROS DE RMN DE HIDROGENO CORRESPONDIENTES A LOS ORGANOFOSFORADOS, PRESUMIBLEMENTE OBTENIDOS DERIVADOS DEL 2-MERCAPTOBENCIMIDAZOL. ESPECTROS 27 Y 30 RESPECTIVAMENTE.

COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃	-CH ₃	-CH ₂	AROMATICOS
37	CH ₃	H	H	2.83 (6H)	--	7.28 (4H)
40	C ₂ H ₅	H	H	1.46 (6H)	3.3 (4H)	7.27 (4H)

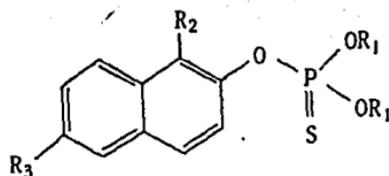
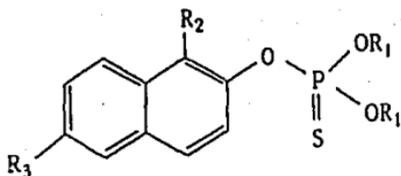


TABLA No. XI ACTIVIDAD GARRAPATICIDA "IN VITRO" DE NUEVOS ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL CONTRA BOOPHILUS MICROPLUS CEPA TEMPOAL.

CONCENTRACION (g)	% DE CONTROL PARA CADA COMPUESTO							
	16	17	18	19	20	21	22	23
0.068	-	-	100.00	-	-	-	-	-
0.034	-	-	79.98	-	-	-	-	-
0.02	0.00	24.33	-	0.00	†	24.54	15.09	23.61
0.017	-	-	8.27	-	-	-	-	-
0.01	0.00	19.11	-	0.00	†	36.72	28.81	18.83
0.005	0.00	22.99	-	0.00	†	34.49	64.56	57.70
0.0025	0.00	20.39	-	0.00	†	30.92	0.00	38.13
0.00125	0.00	14.29	-	0.00	†	31.23	0.00	35.13
0.000625	14.05	1.08	-	0.00	†	25.82	0.00	22.72

† NO SE OBTUVIERON DATOS SUFICIENTES PARA DETERMINAR EL % DE CONTROL.



**TABLA No. XII ACTIVIDAD GARRAPATICIDA "IN VITRO" DE NUEVOS
 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-NAFTOL
 CONTRA BOOPHILUS MICROPLUS CEPA TUXPAN.**

CONCENTRACION		% DE CONTROL PARA CADA COMPUESTO			
%	ppm	18 [§]	18 ^t	21	22
0.068	680	100.00	-	-	-
0.034	340	85.73	-	-	-
0.02	200	-	100.00	35.85	21.24
0.017	170	31.16	-	-	-
0.01	100	-	89.99	19.32	0.00
0.005	50	-	24.83	6.95	1.37
0.0025	25	-	24.59	13.85	18.15
0.00125	12.5	-	23.77	16.73	1.72
0.000625	6.25	-	29.09	32.48	7.20

§ El compuesto 18 se probó en dos ocasiones.

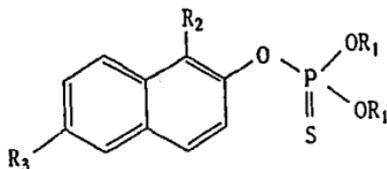
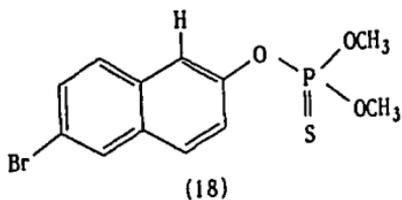


TABLA No. XIII ACTIVIDAD GARRAPATICIDA "IN VITRO" DE NUEVOS
 COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS DERIVADOS DEL 2-
 NAFTOL CONTRA BOOPHILUS MICROPLUS CEPA
 SUSCEPTIBLE.

CONCENTRACION (%)	% DE CONTROL PARA CADA COMPUESTO		
	18	21	22
0.068	100.00	-	-
0.034	85.18	-	-
0.02	44.60	‡	50.23
0.017	-	-	-
0.01	-	‡	16.46
0.005	-	‡	35.32
0.0025	-	‡	30.69
0.00125	-	‡	26.50
0.000625	-	‡	0.00

‡ NO SE OBTUVIERON DATOS SUFICIENTES PARA DETERMINAR EL % DE CONTROL.



**TABLA No. XIV ACTIVIDAD GARRAPATICIDA "IN VITRO" DEL COMPUESTO 18
CONTRA BOOPHILUS ANNULATUS CEPA SUSCEPTIBLE.**

CONCENTRACION (%)	% DE CONTROL
0.02	100.00
0.01	100.00
0.005	100.00
0.0025	54.33
0.00125	8.09
0.000625	6.09

P A R T E V

D I S C U S I O N Y C O N C L U S I O N E S

La preparación de los organofosforados (16-23) derivados del 2-naftol se logró, según lo muestran los datos espectroscópicos (Tablas IV-VII), sin mayores complicaciones pero con los inconvenientes que representa el trabajar con sustancias líquidas oleosas de olor desagradable y relativamente inestables. Dichos inconvenientes hicieron necesario purificar por cromatografía en columna, con excepción del compuesto 19 que fue purificado por cristalización. Los rendimientos obtenidos fueron bajos, del 63 al 71 % (Tabla III), debido a los procesos de purificación y a que las reacciones no eran completas; sin embargo, cabe mencionar que las cantidades obtenidas fueron suficientes para los propósitos de este trabajo.

Con respecto a los ensayos preliminares (in vitro) de actividad garrapaticida es posible observar (Tablas XI-XIII) que no hay una relación directa entre las concentraciones, a las cuales fueron evaluados los compuestos 16-23 (excepción hecha del compuesto 18) y los porcentajes de control observados. Además de lo anterior se pudo observar (pag.40) que el etión utilizado como referencia no mostró porcentaje de control. Si a las apreciaciones anteriores se agrega que los compuestos ensayados mostraron problemas de solubilidad en el medio de prueba (pag. 29) y que el compuesto 18 mostro control de 100 % contra las cepas Tempoal, Tuxpan, Microplus y Annulatus, se llega a la conclusión de que sería interesante que los compuestos preparados volvieresen a ser objeto de ensayos preliminares de actividad biológica con el propósito de obtener resultados más confiables y representativos.

Es posible que los análogos clorados de los compuestos 16-23 puedan poseer una actividad ixodocida mayor por analogía a la actividad mostrada por el coumafos y su análogo bromado.

De los compuestos derivados del 2-mercaptobencimidazol (37-42, Tabla II), únicamente fue posible obtener (presumiblemente) los compuestos 37 y 40 (Tablas IX y X) en bajos rendimientos (Tabla VIII) debido a que las reacciones daban mucho de ser completas, en tanto que no fue posible obtener los compuestos 38, 39, 41 y 42 porque las reacciones daban lugar a escasa formación de los productos y porque los mismos resultaron ser inestables descomponiéndose durante la purificación, regenerando el correspondiente 2-mercaptobencimidazol halogenado. En consecuencia estos compuestos no fueron sometidos a ensayos de actividad biológica.

En este trabajo se logró sintetizar, sencilla y económicamente, ocho compuestos organofosforados derivados del 2-naftol, haciendo reaccionar un alquilclorotiofosfato con el correspondiente 2-naftol debidamente sustituido en medio acuoso básico. Los compuestos mencionados también fueron caracterizados espectroscópicamente, siendo sometidos a ensayos preliminares de actividad biológica observándose posteriormente que el compuesto 18 mostro un % de control que lo hace interesante. Sin embargo, los resultados de dichas pruebas no son útiles para efectuar un estudio de relación estructura-actividad pues en siete de los ocho casos se observó un comportamiento aleatorio.

Además se lograron obtener "presumiblemente" dos compuestos derivados del 2-mercaptobencimidazol mismos que no fueron sometidos a ensayos de actividad biológica debido a que los resultados no serían suficientes para la realización de un estudio de la relación existente entre la estructura y la actividad biológica, debido a que el número de compuestos es muy reducido.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que es posible obtener organofosforados con posible actividad ixodídica, derivados del 2-naftol, de manera simple, rápida y económica.

PARTE VI

PARTE EXPERIMENTAL

INSTRUMENTACION Y EQUIPO.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se obtuvieron en un espectrómetro Varian EM-360 de 60 MHz usando cloroformo deuterado, cloroformo deuterado-dimetilsulfóxido como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se dan en partes por millón (ppm). Las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hertz; los símbolos de las señales son: s = singulete, d = doblete, t = triplete, c = cuarteto y m = multiplete.

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 1320, en pastilla de bromuro de potasio. Las señales se dan en cm^{-1} .

Los espectros de masas se obtuvieron de un equipo acoplado, cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas, marca Hewlett-Packard modelo 5988 "A".

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un fusiómetro Büchi modelo 530, así como en un fusiómetro Fisher-Johns (para el caso de aquellos compuestos cuyo punto de fusión se acercaba o rebasaba los 300°C) y no están corregidos.

Para concentrar se empleó un rotavapor marca Büchi modelo RE 111, provisto de condensador de hielo seco y con ayuda de vacío.

CROMATOORAFIA EN CAPA FINA Y EN COLUMNA. Para la cromatografía en capa fina se utilizaron cromatoplacas recubiertas con gel de sílice 60 F₂₅₄, con capa de 0.25 mm de espesor, de la marca Merck. Los compuestos de interés se revelaron con luz ultravioleta, con sulfato cérico y con vapores de yodo. Como eluyentes se usaron los sistemas que a continuación se dan:

- I. Hexano-acetato de etilo 85:15
- II. Cloroformo-metanol 97:3
- III. Cloroformo-hexano-acetato de etilo 35:50:15
- IV. Cloroformo-hexano-acetato de etilo 3:97:2
- V. Cloroformo-metanol 80:20

Las cromatografías en columna se realizaron sobre gel de sílice 60 (con tamaño de partícula de 0.063-0.6 mm) de la Casa Merck.

Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(2-naftilo) (16).

1.39 g (0.0347 mol) de hidróxido de sodio se disolvieron en 20 ml de agua y la solución resultante se calentó hasta 75°C; posteriormente, se agregaron 5 g (0.0347 mol) de 2-naftol agitando vigorosamente y manteniendo la temperatura, una vez formado el alcóxido (color café) se adicionaron gota a gota 5.21 ml (0.0416 mol) de clorotiofosfato de O,O-dimetilo. La mezcla de reacción se mantuvo a 75°C por espacio de 30 minutos, al cabo de los cuales se observó la formación de dos fases. Se dejó enfriar y el producto de la reacción se extrajo con 40 ml de acetato de etilo, el extracto se lavó con agua hasta pH de 6-7 y secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y concentró en el rotavapor. Se obtuvieron 8.95 g (96.2%) de un líquido oleoso color café de olor azufrado. En cromatografía de capa fina dió una mancha principal (Rf 0.36, sistema I). El producto crudo se purificó por cromatografía en columna empleando gel de sílice como fase estacionaria y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.75:0.25 hasta 99:1). El producto puro (68.2% de rendimiento) resultó ser un líquido oleoso, incoloro (Rf 0.38, sistema I). IR (No. 1): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₃); 1510-1630 (anillos aromáticos); 950-1100 (P-O); 930 (P-OArilo); 640 (P=S). RMN (No. 2): 3.75 d, 6H (-CH₃); 7.45 m, 7H (Aromáticos). EM (No. 3): M⁺ = 268.15 (100%); M⁺ + 2 = 270.15 (15%).

Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1-bromo-2-naftilo) (17).

Se disolvieron 0.9 g (0.0224 mol) de hidróxido de sodio en 20 ml de agua, la solución formada se llevó hasta 75°C y después se agregaron 5 g (0.0224 mol) de 1-bromo-2-naftol agitando vigorosamente y manteniendo la temperatura, cuando se hubo formado el alcóxido, color café, se adicionaron, gota a gota, 3.4 ml (4.32 g, 0.0269 mol) de clorotiofosfato de O,O-dimetilo. La reacción continuó a la temperatura indicada durante 30 minutos, transcurrido este tiempo se formaron dos fases, se dejó enfriar y el producto de la reacción se extrajo con 40 ml de acetato de etilo; posteriormente, se efectuaron dos extracciones del 1-bromo-2-naftol que no reaccionó, con porciones de 15 ml de hidróxido de sodio al 7%.

La fase orgánica se lavó con agua hasta pH de 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 4.97 g (70.58%) de un líquido oleoso color café con fuerte olor azufrado. En cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.37, sistema I). El producto crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.5:0.5 hasta 98:2). El producto puro (65.3% de rendimiento), un sólido ligeramente amarillento (Rf 0.37, sistema I), p.f. = 46-48°C, presentó las siguientes características espectroscópicas. IR (No. 4): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-CH₂); 1510-1630 (Anillo aromático); 930 (P-OArilo); 640 (P=S). RMN (No. 5): 3.89 d, 6H (-CH₂); 7.49 m, 6H (Aromáticos). EM (No. 6): M⁺ = 345.95 (5%); M⁺ + 1 = 345.95 (1%); M⁺ + 2 = 347.95 (6%); P.B. = 267 (99%).

Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(6-bromo-2-naftilo) (18).

Se disolvieron 0.9 g (0.0224 mol) de hidróxido de sodio en 20 ml de agua, la solución formada se llevó hasta 75°C y después se agregaron 5 g (0.0224 mol) de 6-bromo-2-naftol agitando vigorosamente y manteniendo la temperatura. Cuando se hubo formado el alcóxido, color café, se adicionaron, gota a gota 3.4 ml (4.32 g, 0.0269 mol) de clorotiofosfato de O,O-dimetilo. La reacción se continuó a la temperatura indicada durante 30 minutos, después de este tiempo se formaron dos fases. Se dejó enfriar y el producto de la reacción se extrajo con 40 ml de acetato de etilo; enseguida, se efectuaron dos extracciones del 6-bromo-2-naftol que no reaccionó, con porciones de 15 ml de hidróxido de sodio al 5%. La fase orgánica se lavó con agua hasta pH de 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 5.07 g (72%) de un líquido oleoso color café con fuerte olor azufrado. En cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.36, sistema I). El producto crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.5:0.5 hasta 98:2). El producto puro (67.01% de rendimiento) resultó ser un líquido oleoso incoloro (Rf 0.36, sistema I) que presentó las siguientes características espectroscópicas:

IR (No. 7): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₃); 950-1100 (P-O); 930 (P-OArilo); 640 (P=S). RMN (No. 8): 3.8 d, 6H (-CH₃); 7.46 m, 6H (aromáticos). EM (No. 9): M⁺ = 346.15 (51%); M⁺ + 1 = 347.15 (7%); M⁺ + 2 = 348.15 (53%); P.B. = 124.94 (100%).

Tiofosfato de O,O-dimetil-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) (19).

Una solución compuesta de 0.66 g (0.0166 mol) de hidróxido de sodio en 20 ml de agua se llevó hasta 75°C, después se adicionaron 5 g (0.0166 mol) de 1,6-dibromo-2-naftol agitando y manteniendo la temperatura, cuando se observó la formación del alcóxido, color café, se procedió a adicionar lentamente 2.49 ml (0.0199 mol) de clorotiofosfato de O,O-dimetilo. La reacción se continuó durante 30 minutos a la temperatura mencionada, observándose la formación de dos fases. Se dejó enfriar, y el producto de la reacción se extrajo con 30 ml de acetato de etilo al cual posteriormente se le hicieron dos extracciones con hidróxido de sodio al 5%. La fase orgánica se lavó con agua hasta pH 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 4.81 g (68.18%) de un sólido color café que por cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.37, sistema I). El producto crudo se purificó por cristalización en etanol absoluto (66.2% de rendimiento) dando un polvo ligeramente amarillento (Rf 0.37, sistema I), p.f. 74-76°C, que presentó las siguientes características espectroscópicas. IR (No. 10): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₃); 950-1100 (P-O); 930 (P-OAr); 640 (P=S). RMN (No. 11): 3.88 d, 6H (-CH₃); 7.54 m, 5H (aromáticos). EM (No. 12): M⁺ = 423.90 (5%); M⁺ + 2 = 425.75 (8%); M⁺ + 4 = 428.00 (4%); P.B. = 346.95 (100%).

Tiofosfato de O,O-dietil-O-(2-naftilo) (20).

5 g (0.0347 mol) de 2-naftol se adicionaron a una solución compuesta de 1.39 g (0.0347 mol) de hidróxido de sodio y 1.84 g (0.01735 mol) de carbonato de sodio en 15 ml de agua agitando vigorosamente hasta formar el alcóxido, color café; posteriormente, se gotearon 5.63 ml (0.0347 mol) de clorotiofosfato de O,O-dietilo. La reacción se dejó transcurrir a temperatura ambiente (aproximadamente 17°C) durante 22 horas. La mezcla de reacción se extrajo con 30 ml de hexano para luego extraer el 2-naftol, que no reaccionó, con hidróxido de sodio al 7%. La fase hexánica se lavó con agua hasta pH 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 6.79 g (66.08%) de un líquido oleoso, ligeramente café, que por cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.43, sistema I). El producto de la operación anterior se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.75:0.25 hasta 99.5:0.5). El producto puro (64.10%), un líquido incoloro, oleoso (Rf 0.43, sistema I) se caracterizó espectroscópicamente. IR (No. 13): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₃); 950-1100 (P-O); 930 (P-OAr); 640 (P=S). RMN (No. 14): 1.34 t, 6H (-CH₃); 4.24 m, 4H (-CH₂-); 7.53 m, 7H (aromáticos). EM (No. 15): M⁺ = 296.00 (99%); M⁺ +1 = 297.00 (16%); M⁺ +2 = 298.00 (6%).

Tiofosfato de O,O-dietil-O-(1-bromo-2-naftilo) (21).

5 g (0.0224 mol) de 1-bromo-2-naftol se adicionaron a una solución básica (0.9 g de hidróxido de sodio, 0.224 mol y 1.19 g de carbonato de sodio, 0.112 mol disueltos en 15 ml de agua) agitando adecuadamente hasta formar el alcóxido, enseguida se adicionaron lentamente 3.6 ml (0.224 mol) de clorotiofosfato de O,O-dietilo. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente (aproximadamente 19°C) durante 19 horas, transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se extrajo con 30 ml de hexano y después se le hicieron 2 extracciones con hidróxido de sodio al 7%. La fase hexánica se lavó con agua hasta pH 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 5.78 g (68.73%) de un líquido oleoso, ligeramente café, que por cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.43, sistema I), y que posteriormente fué sometido a una cromatografía en columna sobre gel de sílice empleando como eluyente una solución de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.75:0.25 hasta 99.5:0.5). El compuesto puro se obtuvo con un rendimiento del 65.2% y resultó ser un líquido oleoso e incoloro (Rf 0.43, sistema I).

IR (No. 16): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₂-); 1510-1630 (anillos aromáticos); 950-1100 (P-O); 930 (P-OAr); 640 (P=S).
 RMN (No. 17): 1.38 t, 6H (-CH₃); 4.25 m, 4H (-CH₂-); 7.45 m, 6H (aromáticos).
 EM (No. 18): M⁺ = No observable; P.B. = 239 (100%); M⁺-Br = 295 (45%).

Tiofosfato de O,O-dietil-O-(6-bromo-2-naftilo) (22).

Para sintetizar y purificar parcialmente (extracción básica del 6-bromo-2-naftol que no reaccionó) este compuesto, se utilizaron los mismos procedimientos que para la síntesis y purificación parcial de su isómero de posición (bromado en 1). Después de haber extraído la gran mayoría del 6-bromo-2-naftol se obtuvieron 5.63 g (66.94%) de un líquido oleoso, ligeramente café, que por cromatografía en capa fina dió una mancha mayoritaria (Rf 0.42, sistema I) y que después de ser sometido a cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando como eluyente una solución de hexano-acetato de etilo de polaridad ascendente (99:1 hasta 98:2), el compuesto eluido de la columna (63.2%) resultó ser un líquido oleoso e incoloro (Rf 0.42, sistema I).

IR (No. 19): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₂-); 1510-1630 (anillos aromáticos); 950-1100 (P-O); 930 (P-OAr); 640 (P=S).
 RMN (No. 20): 1.36 t, 6H (-CH₃); 4.53 m, 4H (-CH₂-); 7.56 m, 6H (aromáticos).
 EM (No. 21): M⁺ = 373.8 (89%); M⁺ + 2 = 375.8 (100%); P.B. = M⁺ + 2.

Tiofosfato de O,O-dietil-O-(1,6-dibromo-2-naftilo) (23).

5 g (0.0166 mol) de 1,6-dibromo-2-naftol se adicionaron a una solución básica (0.662 g de hidróxido de sodio, 0.0166 mol y 0.88 g de carbonato de sodio, 0.0083 mol, disueltos en 15 ml de agua) agitando adecuadamente hasta formar el alcóxido; enseguida se adicionaron lentamente 2.7 ml (0.0166 mol) de clorotiofosfato de O,O-dietilo. La reacción se efectuó a temperatura ambiente (aproximadamente 19°C) durante 22 horas, transcurrido el tiempo mencionado la mezcla de reacción se extrajo con 30 ml de hexano y después se hicieron dos extracciones adicionales con hidróxido de sodio al 7%. La fase hexánica se lavó con agua hasta pH 6-7, secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y el disolvente se evaporó en el rotavapor. Se obtuvieron 5.52 g (73.4%) de un líquido oleoso, ligeramente café, que por cromatografía en capa fina dió una mancha principal (Rf 0.44, sistema I), y que posteriormente fué sometido a una cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando como eluyente una solución de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente (99.5:0.5 hasta 98:2). El compuesto puro se obtuvo con un rendimiento del 71.1% y resultó ser un líquido oleoso e incoloro (Rf 0.44, sistema I)

IR (No. 22): 3000-3050 (C-H aromáticos); 2950 (-OCH₂-) 1510-1630 (anillos aromáticos); 950-1100 (P-O); 930 (P-OAr); 640 (P=S). RMN (No. 23): 1.05 t, 6H (-CH₃); 3.93 m, 4H (-CH₂-); 7.4 m, 5H (aromáticos). EM (No. 24):

M⁺ = No observable; M⁺-Br 372.95 (48%) y 374.95 (50%); P.B.= 318.90 (100%).

2-Mercaptobencimidazol (24).

Este compuesto se obtuvo refluendo una mezcla de 32.4 g (0.30 mol) de *o*-fenilendiamina, 19 g (0.34 mol) de hidróxido de potasio, 26 g (21 ml, 0.34 mol) de disulfuro de carbono, 300 ml de etanol al 95% y 45 ml de agua. Después de purificar, el producto (color beige) pesó 41.73 g (93%); por cromatografía en capa fina presentó una sola mancha (Rf 0.74, sistema II) y un p.f. 302-304°C (Lit.¹⁹ 303-304°C).

4-Bromoacetanilida (26)

La síntesis de este compuesto se llevó a cabo haciendo reaccionar 20 g (0.11625 mol) de 4-bromoanilina con 12.64g (11.7 ml, 0.1238 mol) de anhídrido acético, obteniéndose 23.38 g (93.93%) de un polvo que resultó ser puro cromatográficamente (Rf 0.11, sistema III). p.f. 169-170°C (Lit.²⁰ 168°C).

4-Bromo-2-nitroacetanilida (27)

La 4-bromo-2-nitroacetanilida se sintetizó tratando 108 ml de una mezcla (enfriada a 0°C) compuesta de ácido sulfúrico-ácido nítrico concentrados (1:1 en volumen, 0.9738:0.8220 en moles) con 22.38 g (0.1045 mol) de 4-bromoacetanilida. Después de purificar se obtuvieron 25.68 g (94.82%) de un sólido amarillo que por cromatografía en capa fina presentó un Rf de 0.34 (sistema III). p.f. 103-104°C (Lit.²⁰ 104°C).

4-Bromo-2-nitroanilina (28)

24.68 g (0.1153 mol) de 4-bromo-2-nitroacetanilida se disolvieron en una mezcla de HCl al 36%-etanol al 96% (14.9 ml:49.5 ml). La solución se llevó a 60°C por 25 minutos, se dejó enfriar, el etanol se evaporó en el rotavapor y posteriormente la mezcla se vació sobre 500 g de agua-hielo (1:2). Se formó un sólido naranja que fue separado por filtración al vacío y lavado con agua hasta un pH neutro. El producto crudo bien drenado se recrystalizó de agua-etanol, obteniéndose una mancha por cromatografía en capa fina (Rf 0.56, sistema III). El producto puro pesó 19.24 g (97.01%). p.f. 110-112°C (Lit.²⁰ 112-113°C).

4-Bromo-1,2-fenilendiamina (29)

Una solución de 18.74 g (0.1089 mol) de 4-bromo-2-nitroanilina en 56.5 ml de etanol y 11.3 ml de hidróxido de sodio al 20% se calentó a 76°C. Después se trató con 35.59 g de zinc en polvo (0.5445 mol) adicionado en pequeñas porciones para mantener un reflujo controlado. Después de la adición se reflujo por una hora más, filtró al vacío en caliente y lavó el residuo con etanol caliente. El filtrado se concentró en el rotavapor y el residuo se disolvió en éter anhidro, finalmente, el éter se evaporó en el rotavapor formándose un sólido que pesó 15.55 g. Por cromatografía en capa fina se observó una sola mancha (Rf 0.5, sistema III). Este producto crudo se utilizó como tal para la obtención del (5)6-bromo-2-mercaptobencimidazol.

5(6)-Bromo-2-mercaptobencimidazol (30)

Para obtener este compuesto se reflujo una mezcla de 15.55 g (aproximadamente 0.1089 mol de 4-bromo-1,2-fenilendiamina) del producto crudo de la reacción de reducción, 6.71 g (0.1198 mol) de hidróxido de potasio, 9.12 g (7.4 ml, 0.1198 mol) de disulfuro de carbono, 109 ml de etanol al 95% y 56.4 ml de agua. Luego de purificar, el producto (polvo color beige) pesó 23.83 g (95.1%), por cromatografía en capa fina presentó una mancha (R_f 0.73, sistema III). p.f. - 281-283°C. IR (No. 25): 2,560 (-S-H); 850-810 (1,2,4 trisustitución de benceno); 3,300-2,800 (N-H). RMN (No. 26): 7.1 m, 3H (aromáticos); 7.6 s, 1H (-S-H); 13.4 s que desaparece con D_2O 1H (N-H).

4-Cloroacetanilida (32)

La síntesis de este compuesto se realizó haciendo reaccionar 20 g (0.1568 mol) de 4-cloroanilina con 16.98 g (15.72 ml, 0.1662 mol) de anhídrido acético, obteniéndose 26 g (97.78%) de un polvo blanco que resultó ser puro cromatográficamente (Rf 0.11, sistema III). p.f. 174-176°C (Lit.²⁰ 178°C).

4-Cloro-2-nitroacetanilida (33)

La 4-cloro-2-nitroacetanilida se sintetizó tratando una mezcla enfriada a 0°C de 158 ml de ácido sulfúrico-ácido nítrico concentrados (1:1 en volumen, 1.4246:1.2026 en moles) con 26 g (0.1533 mol) de 4-cloro-acetanilida. Luego de purificar se obtuvieron 32.76 g (99.58%) de un polvo amarillo. Por cromatografía en capa fina mostró una sola mancha (Rf 0.35, sistema II). p.f. 99-103°C (Lit.²¹ 104°C).

4-Cloro-2-nitroanilina (34)

32.76 g (0.1526 mol) de 4-cloro-2-nitroacetanilida se disolvieron en una mezcla de HCl al 36%-etanol al 96% (19.7 ml:65.5 ml). La solución se calentó a 60°C por 20 minutos, se dejó enfriar, el etanol se evaporó en el rotavapor y posteriormente la mezcla se vació sobre 500 g de agua-hielo (1:2). Se formó un sólido naranja que se separó por filtración al vacío y lavó con agua hasta pH neutro. El producto crudo bien drenado se recristalizó de agua-etanol, obteniéndose 25.98 g (98.26%) de un polvo color naranja, observándose una mancha por cromatografía en capa fina (Rf 0.58, sistema II). p.f. 111-114°C (Lit.²² 116-117°C).

4-Cloro-1,2-fenilendiamina (35)

Una solución de 15 g (0.0867 mol) de 4-cloro-2-nitroanilina en 45 ml de etanol y 9 ml de hidróxido de sodio al 20% se calentó a 76°C, después se trató con 28.34 g (0.3468 mol) de zinc en polvo adicionado en pequeñas porciones para mantener un reflujo controlado. Después de la adición se reflujo por una hora más y filtró al vacío en caliente, lavando el residuo con etanol caliente. El filtrado se concentró en el rotavapor y el residuo se disolvió en éter anhidro; finalmente, el éter se evaporó en el rotavapor formándose un sólido morado que pesó 12.52 g (101.02%). Por cromatografía en capa fina presentó un Rf de 0.51, sistema II. Este producto crudo se utilizó como tal para la obtención de 5(6)-cloro-2-mercaptobencimidazol.

5(6)-Cloro-2-mercaptobencimidazol (36)

Para obtener este compuesto se refluó una mezcla de 12.52 g (aproximadamente 0.0869 mol) de 4-cloro-1,2-fenilendiamina, del producto crudo de la reacción de reducción, 5.36 g (0.0956 mol) de hidróxido de potasio, 7.28 g (5.9 ml, 0.0956 mol) de disulfuro de carbono, 87 ml de etanol al 95% y 45 ml de agua. Luego de purificar, el producto (polvo color verde amarillento) pesó 15.72 g (97.98%), por cromatografía en capa fina presentó una mancha (Rf 0.76, sistema II). p.f. 295-298°C (Lit.²³ 308-310°C).

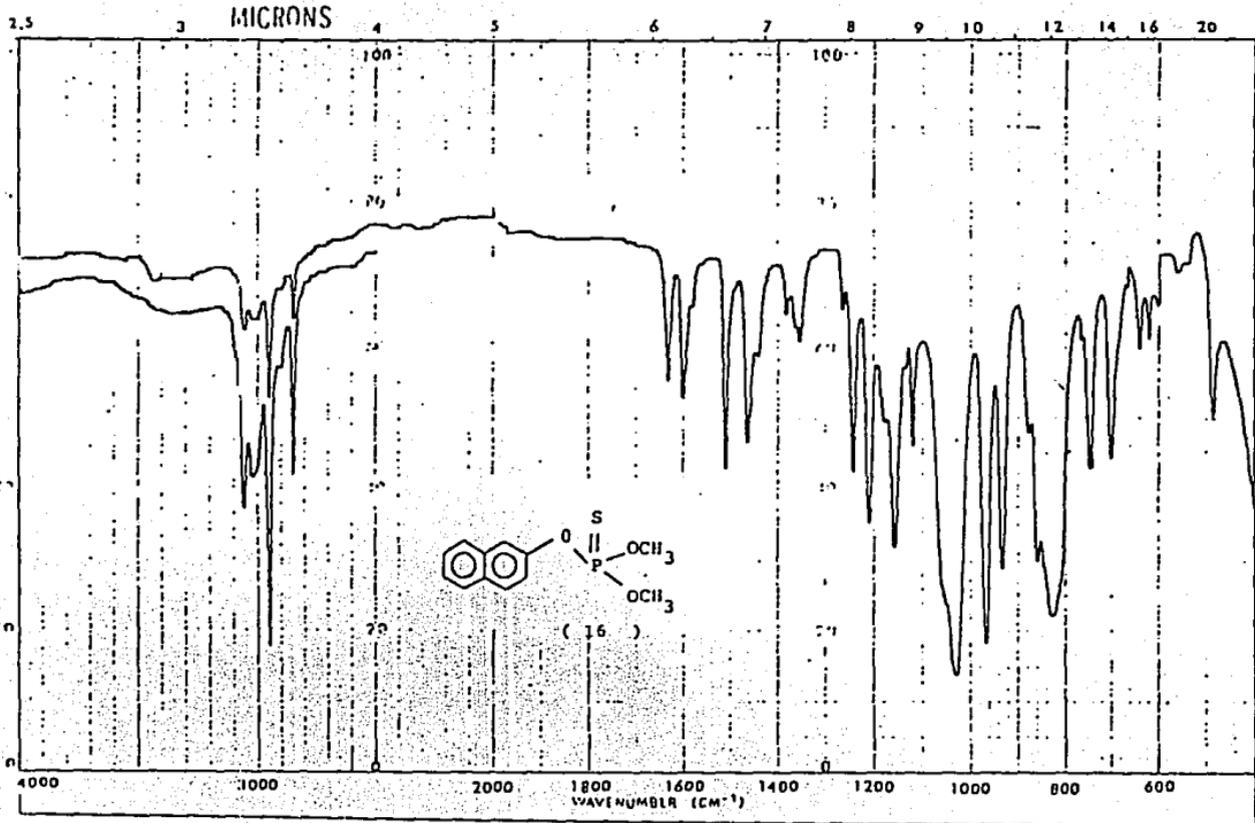
Fosforoditionato de O,O-dimetil-S-(2-bencimidazolilo) (37)

Se disolvieron 5 g (0.0333 mol) de 2-mercaptobencimidazol, con ayuda de agitación magnética, en una solución preparada con 3.8026 g (0.0999 mol) de carbonato de potasio en 20 ml de acetona, previamente calentando a 55°C, luego de lo cual se adicionaron lentamente 6.25 ml (0.0499 mol) de clorotiofosfato de O,O-dimetilo sin interrumpir la agitación manteniéndose la temperatura durante 45 minutos. Después, el disolvente se retiró por destilación a presión reducida, la mezcla de reacción se colocó dentro de un vaso con agua y se agitó, enseguida se filtró al vacío lavando posteriormente con agua fría el sólido blanco que quedó sobre el papel filtro, finalmente el polvo blanco se purificó por cristalización utilizando etanol absoluto como disolvente y posteriormente fue secado con ayuda del rotavapor. El producto obtenido con un 40 % de rendimiento se mostró como un polvo blanco de olor azufrado con Rf 0.18, en un sistema 97:3 cloroformo-metanol. IR (No. 27): 730 (P=S); 1,010 y 1,230-1,170 (P-O-C); 3,200-2,300 (N-H). RMN (No. 28): 7.3 m, 4H (aromáticos); 2.8 s, 6H (-CH₃).

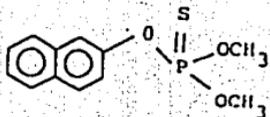
Fosforoditionato de O,O-dietil-S-(2-bencimidazolilo) (40)

Para obtener este orgaño fosforado se procedió de la siguiente forma: se disolvieron 13.8026 g (0.0999 mol) de carbonato de potasio en 20 ml de acetona calentando hasta 55° C; enseguida se disolvieron mediante agitación magnética 5 g (0.0333 mol) de 2-mercaptobencimidazol sin variar la temperatura mencionada. Posteriormente se adicionaron por goteo 7.615 ml (0.04995 mol) de clorotiofosfato de O,O-dietilo, transcurridos 45 minutos se procedió a secar el producto de la reacción con ayuda de un rotavapor. El producto crudo de la reacción se vertió en un vaso con agua fría y acto seguido se filtró al vacío, para después lavar con agua fría el sólido blanco sobre el papel filtro, mismo que fue recristalizado de etanol absoluto y secado con el rotavapor. El producto resultó ser un polvo blanco (38 % de rendimiento) de olor azufrado característico con Rf de 0.23 determinado en un sistema 97:3 cloroformo-metanol. IR (No. 29): 730 (P=S); 1,010 y 1,230-1,170 (P-O-C); 3,200-2,300 (N-H). RMN (No. 30): 7.3 m, 4H (aromáticos); 1.46 t, 6H (-CH₃); 3.3 c, 4H (-CH₂-).

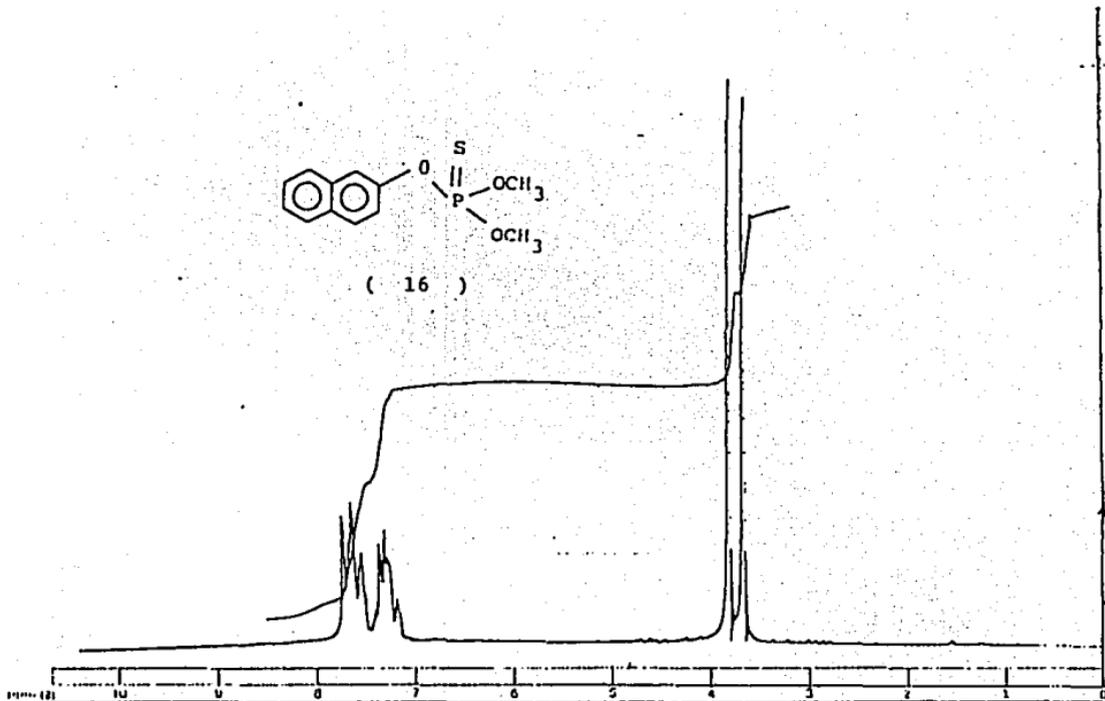
P A R T E V I I
E S P E C T R O S



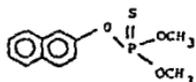
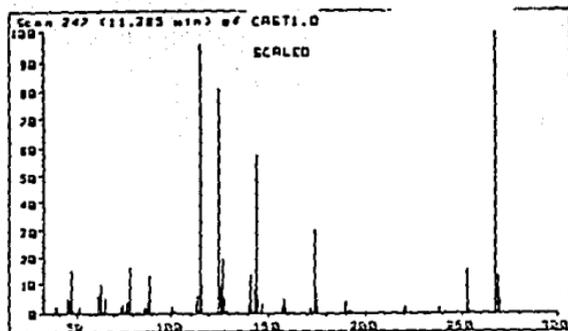
ESPECTRO No. 1



(16)



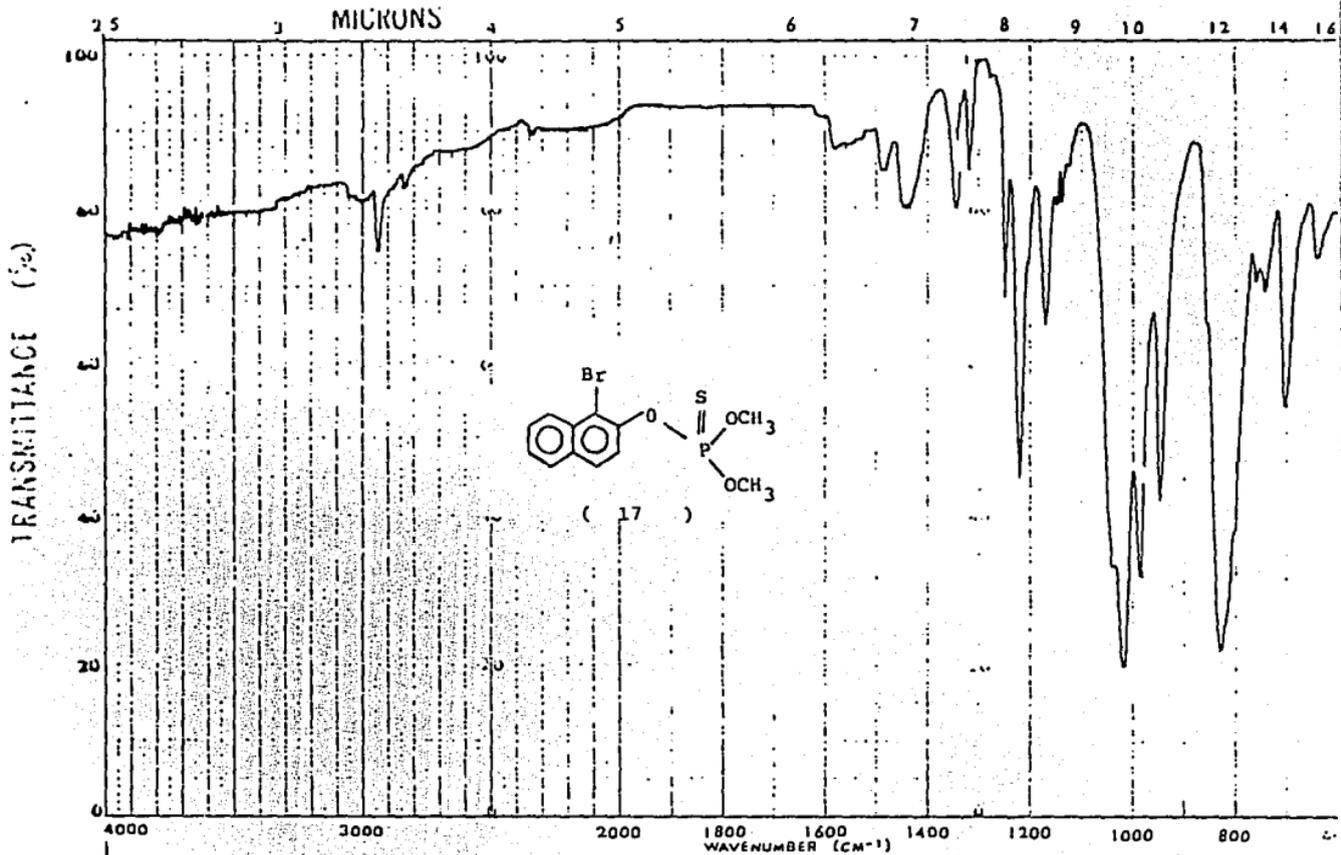
ESPECTRO No. 2

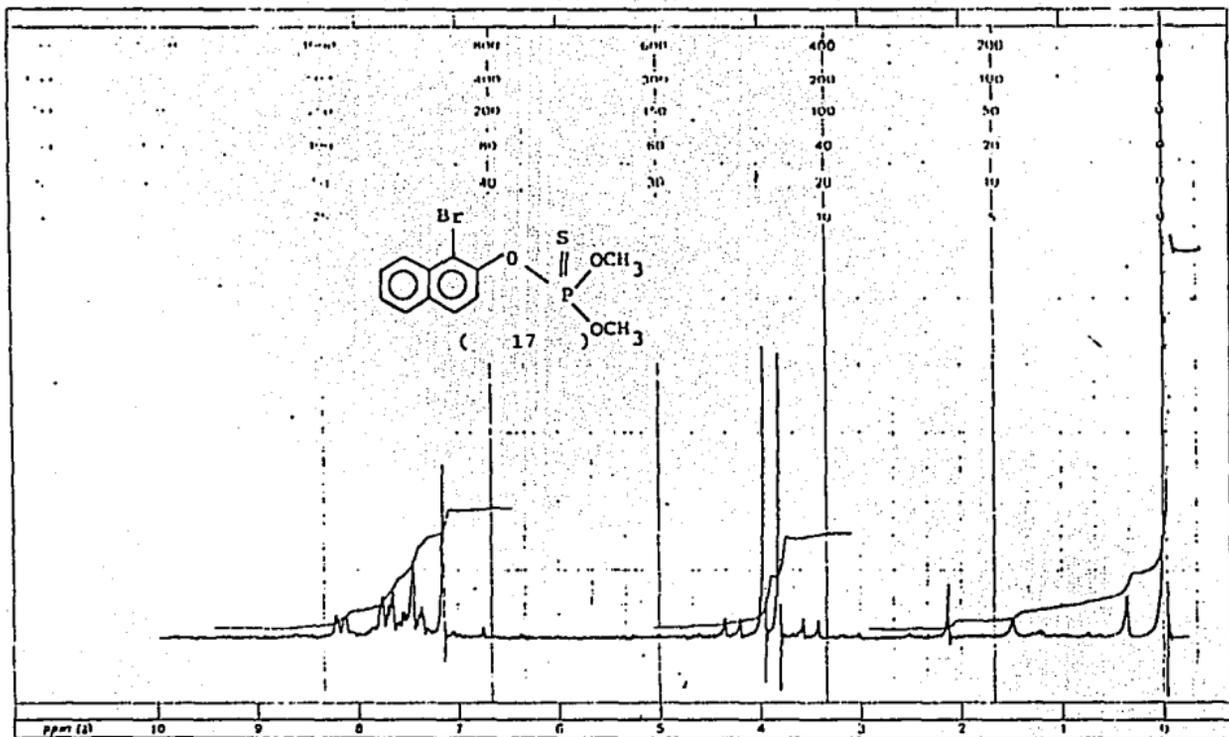


PM = 268.27

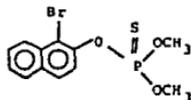
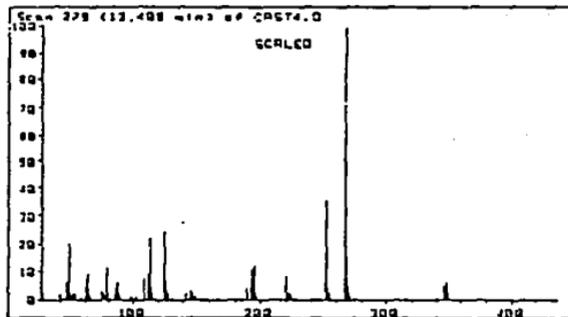
(16)

ESPECTRO No. 3





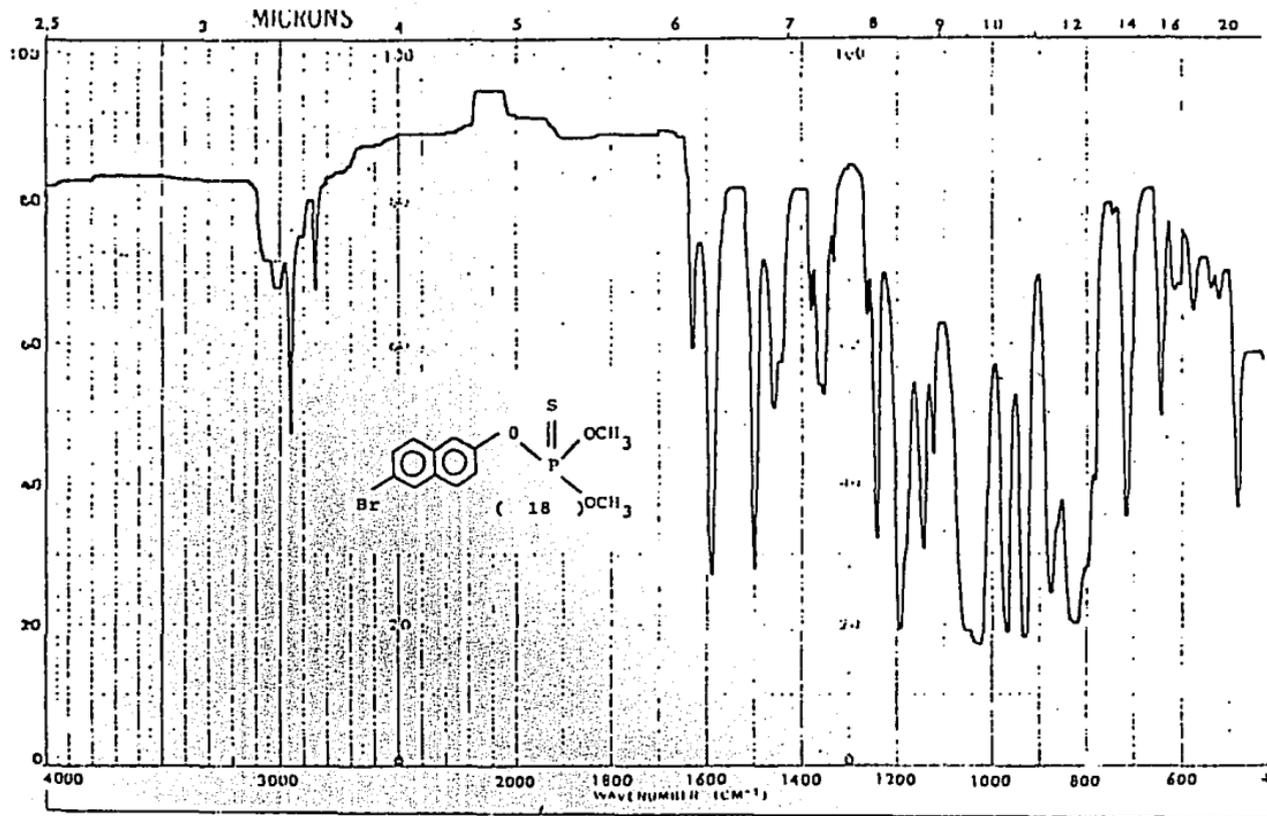
ESPECTRO No. 5



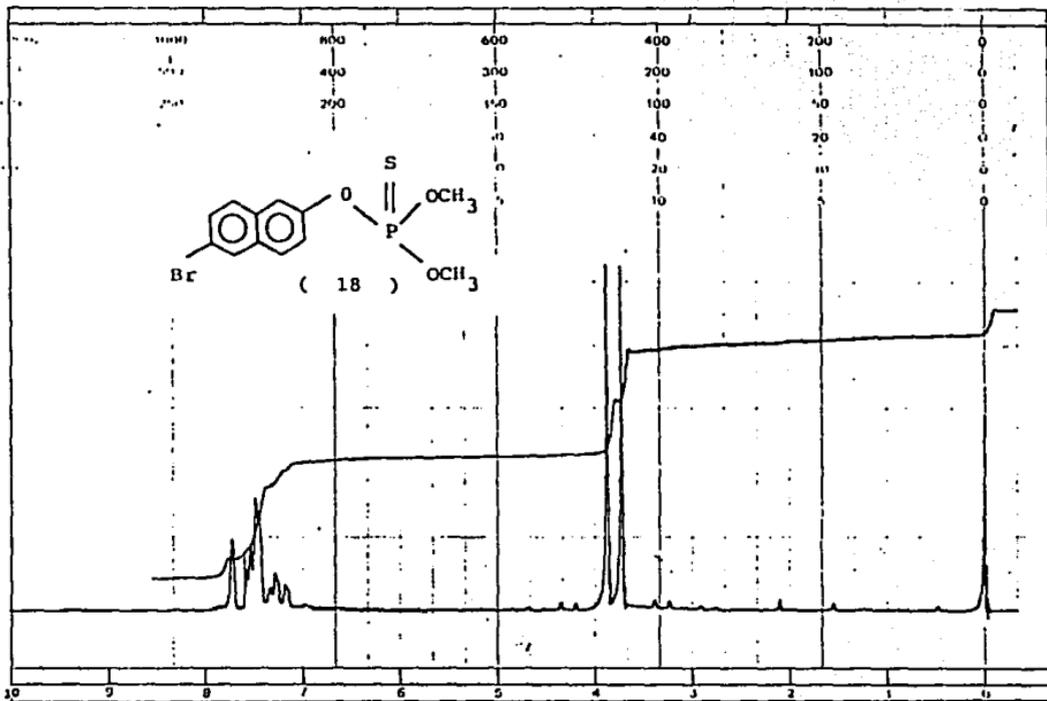
PM = 347.17

(17)

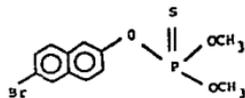
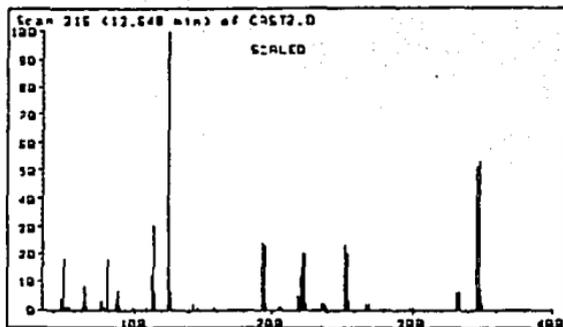
ESPECTRO No. 6



ESPECTRO No. 7



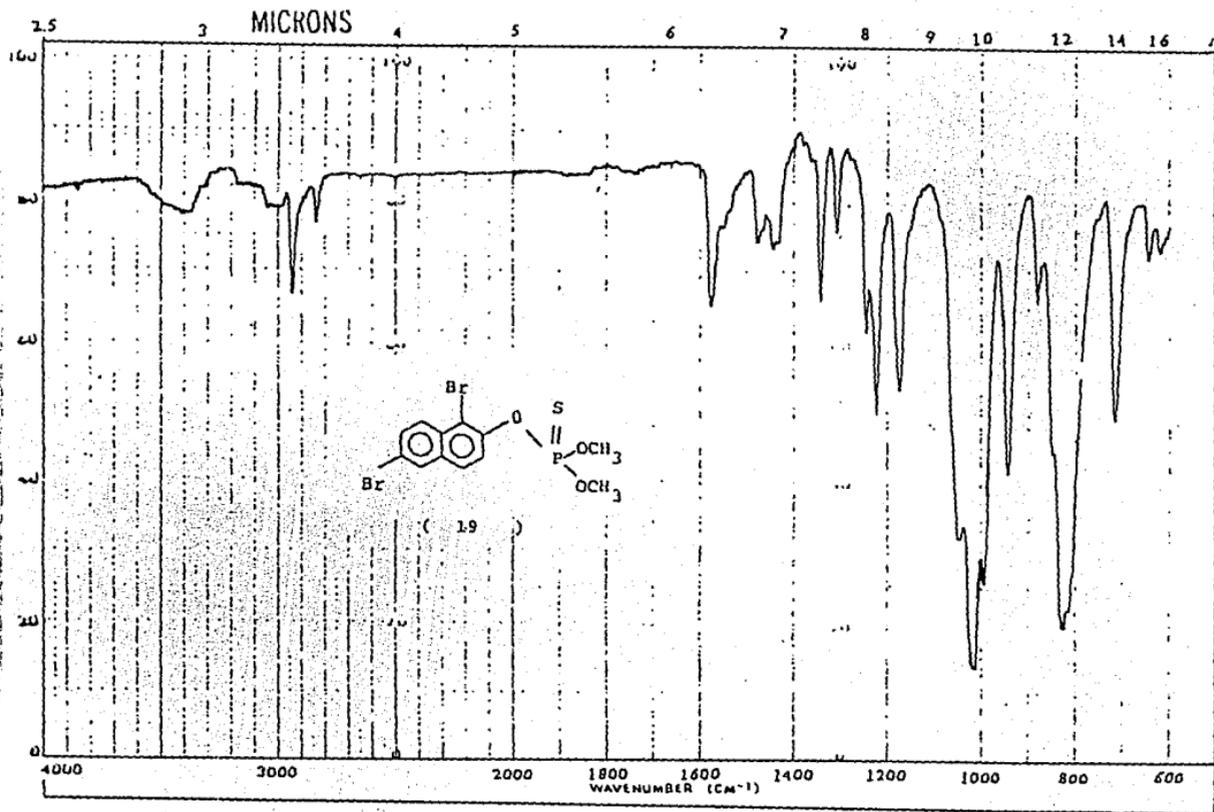
ESPECTRO No. 8



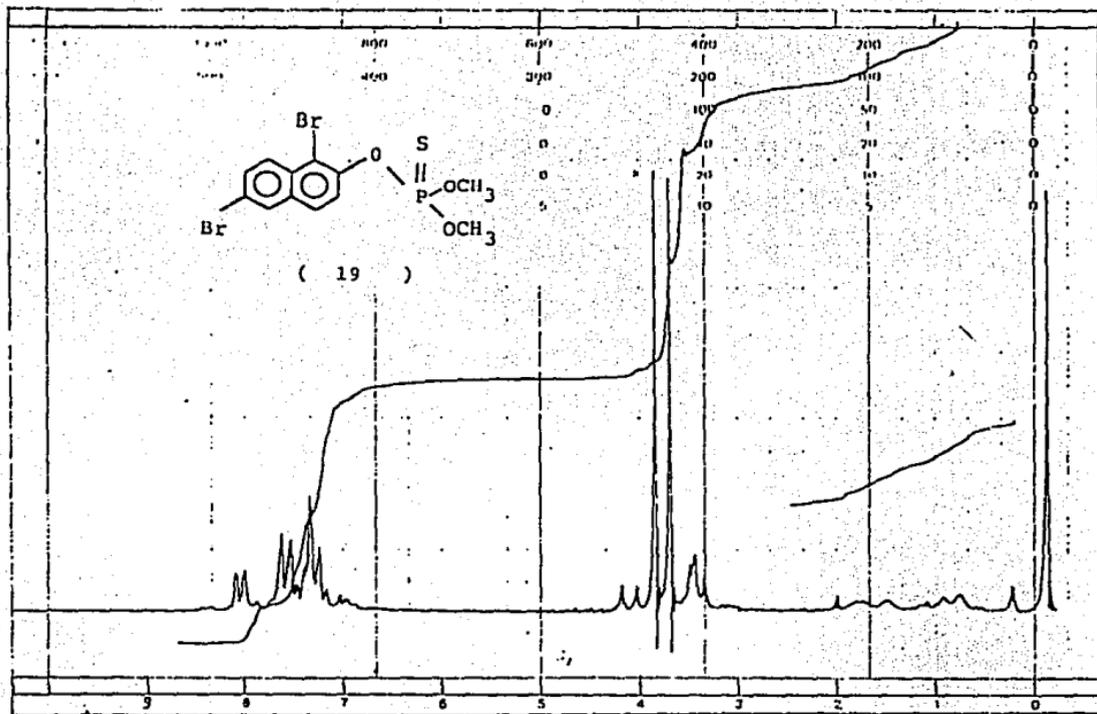
PM = 347.17

(18)

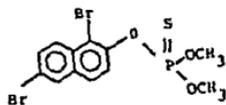
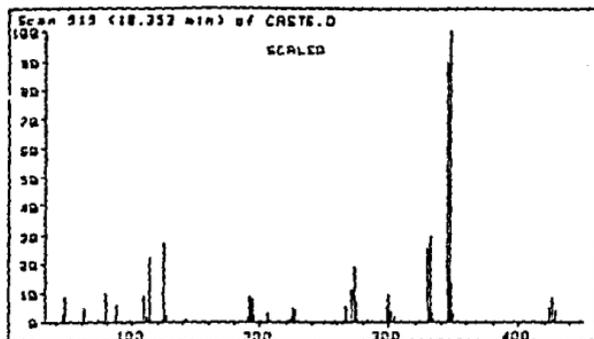
ESPECTRO No. 9



ESPECTRO No. 10



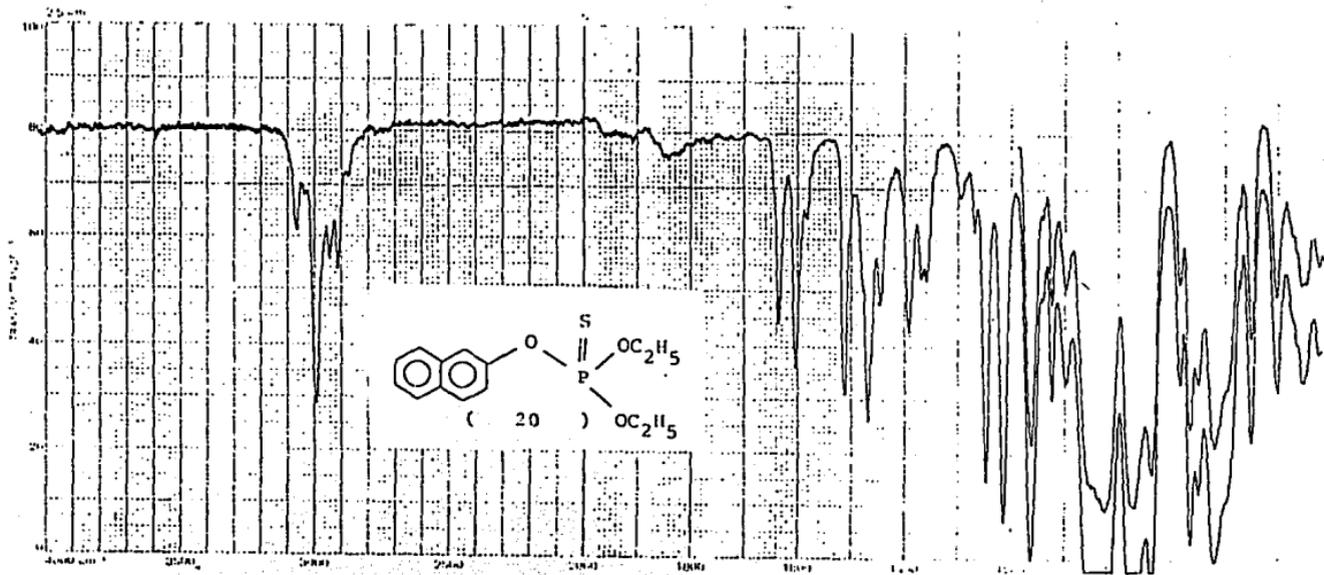
ESPECTRO No. 11



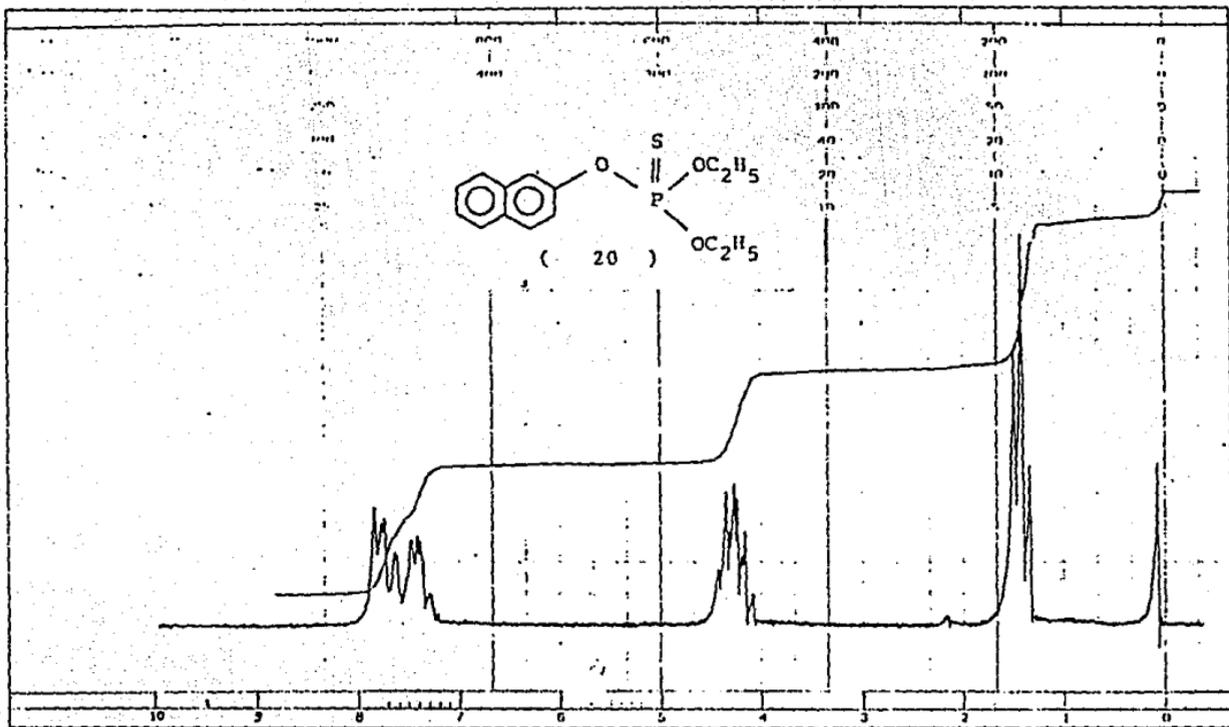
PM = 426.06

(19)

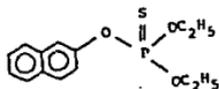
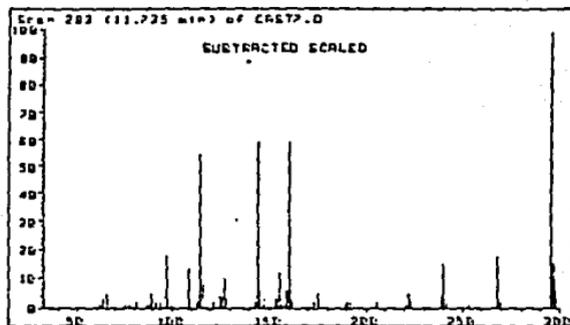
ESPECTRO No. 12



ESPECTRO No. 13



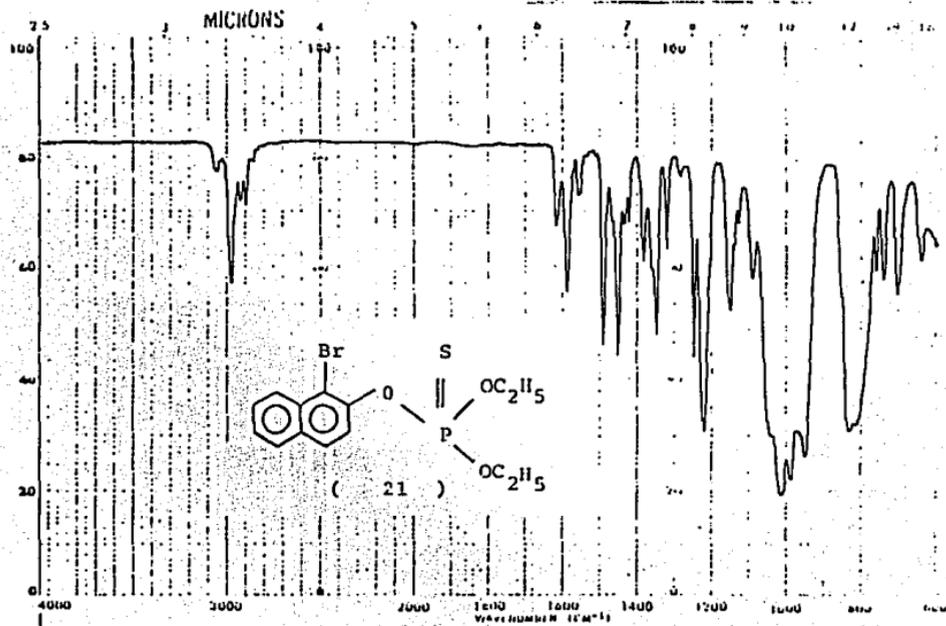
ESPECTRO No. 14



PM = 296.32

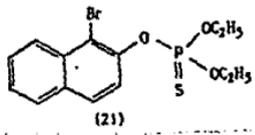
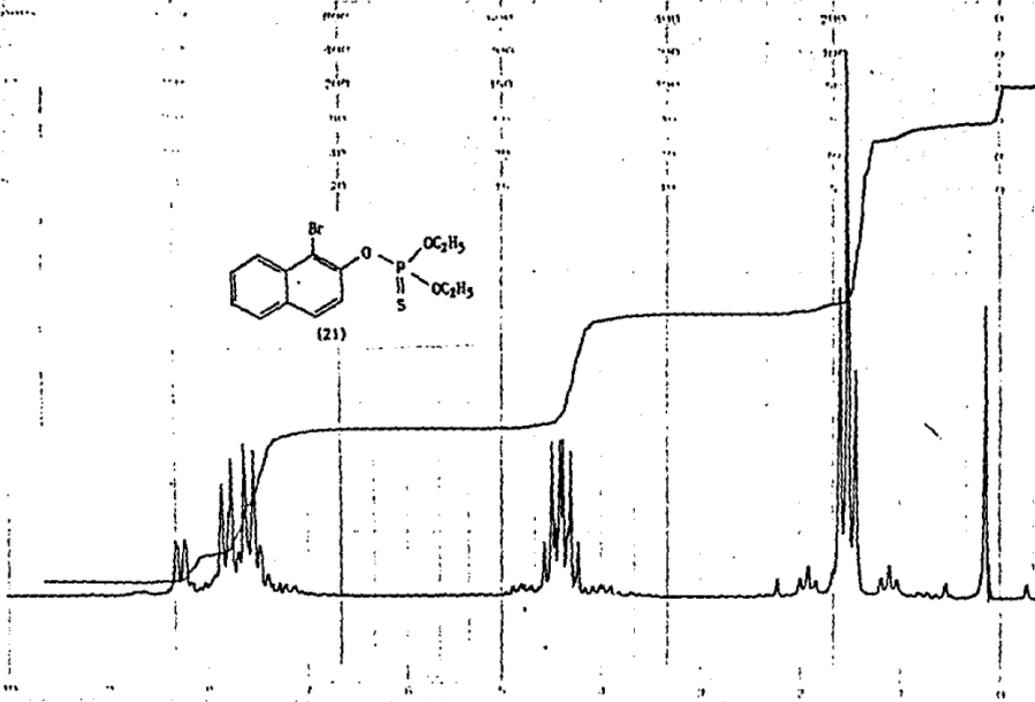
(20)

ESPECTRO No. 15

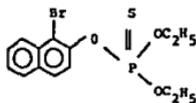
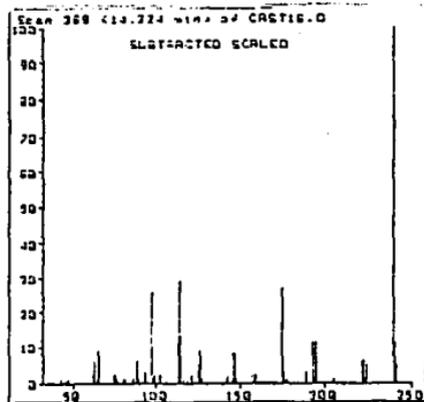


ESPECTRO No. 16

1000 cm⁻¹
8000 cm⁻¹
7000 cm⁻¹
6000 cm⁻¹
5000 cm⁻¹
4000 cm⁻¹
3000 cm⁻¹
2000 cm⁻¹



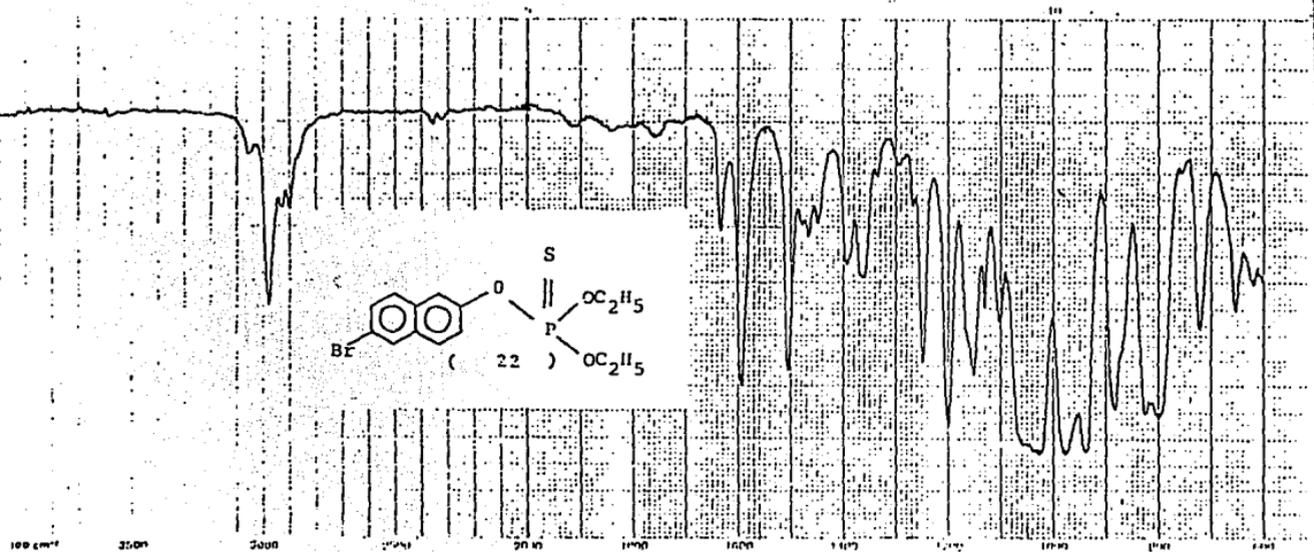
ESPECTRO No. 17



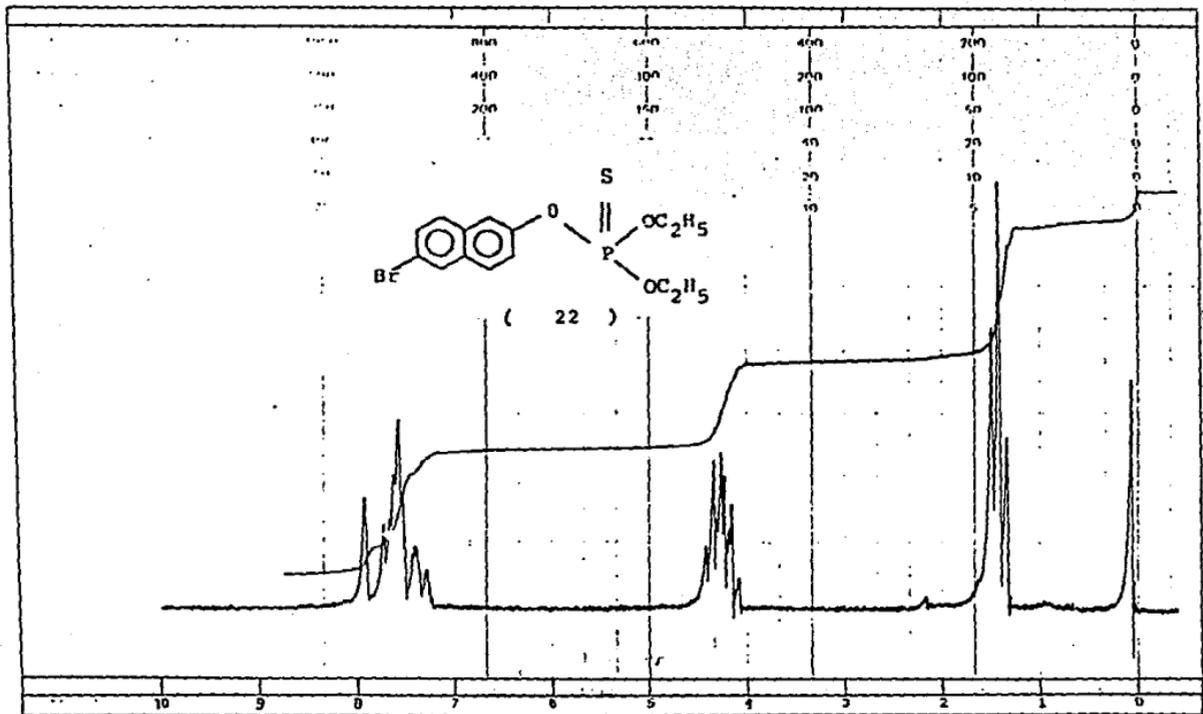
(21)

PM = 375.22

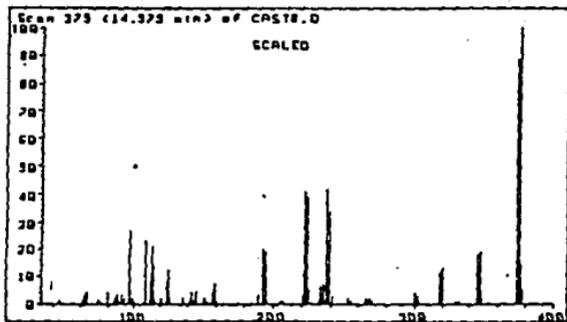
ESPECTRO No. 18



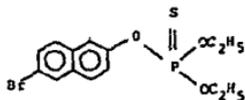
ESPECTRO No. 19



ESPECTRO No. 20

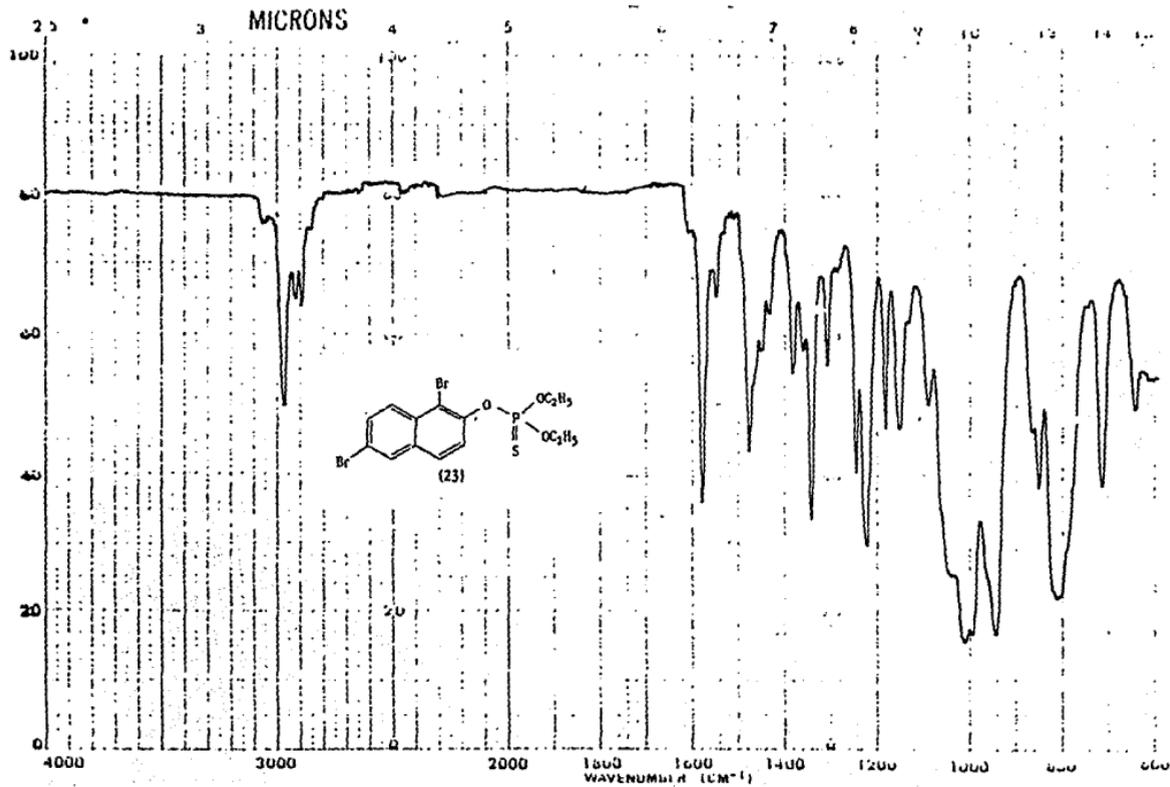


PM = 375.22

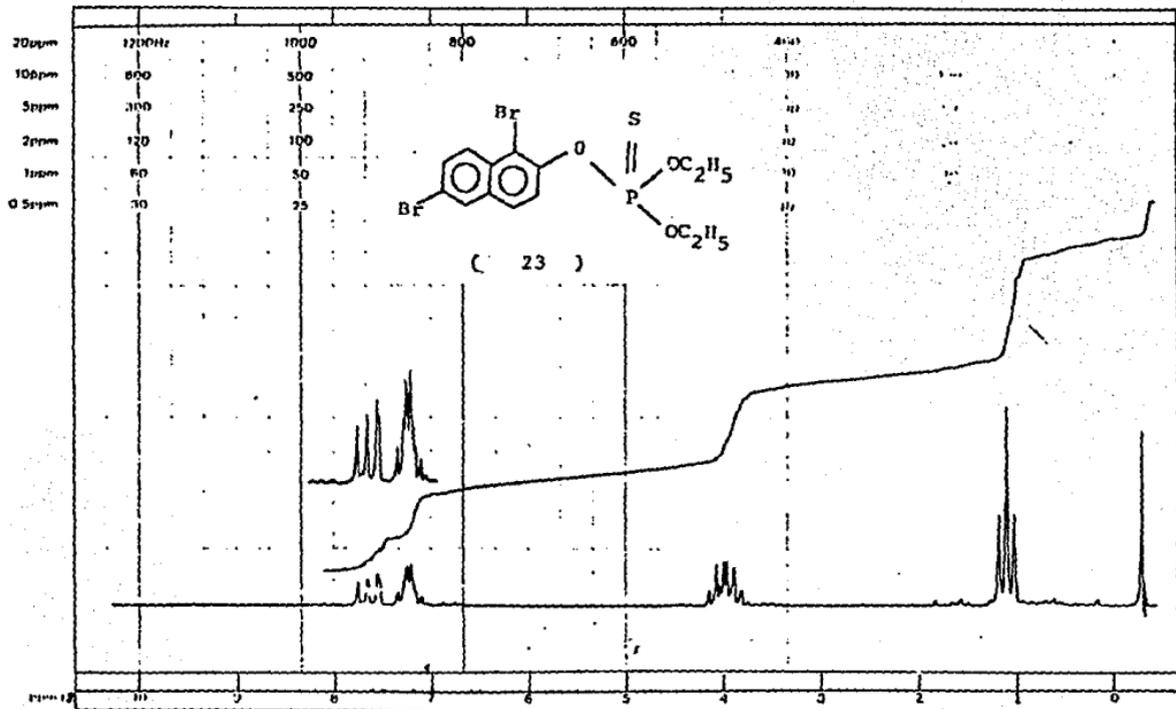


(22)

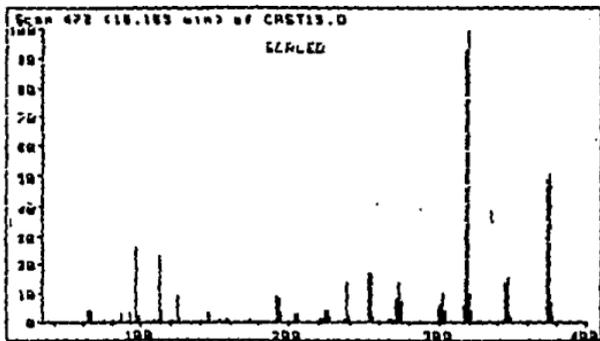
ESPECTRO No. 21



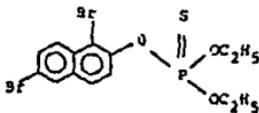
ESPECTRO No. 22



ESPECTRO No. 23

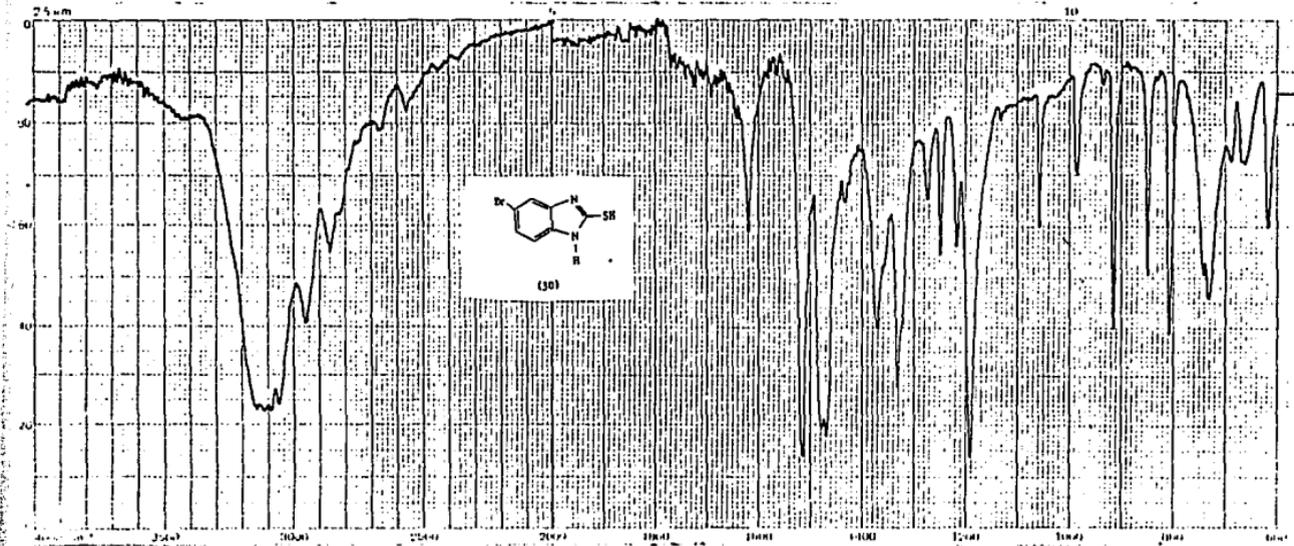


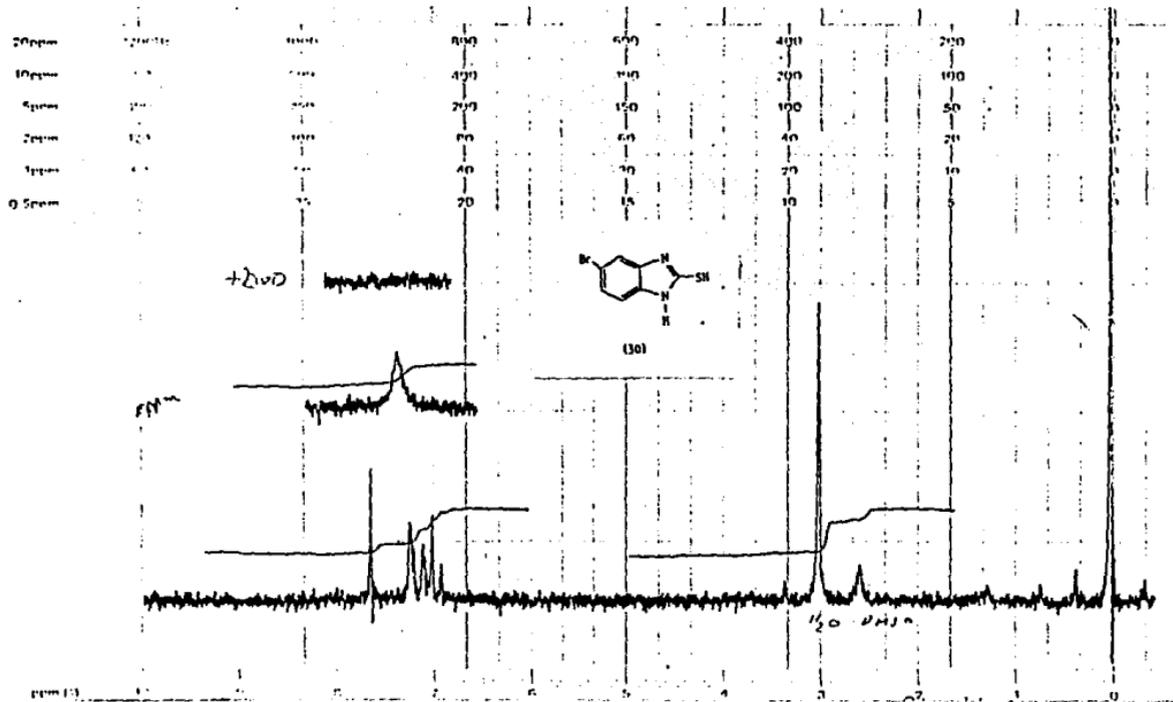
PM = 454.12



(23)

ESPECTRO No. 24



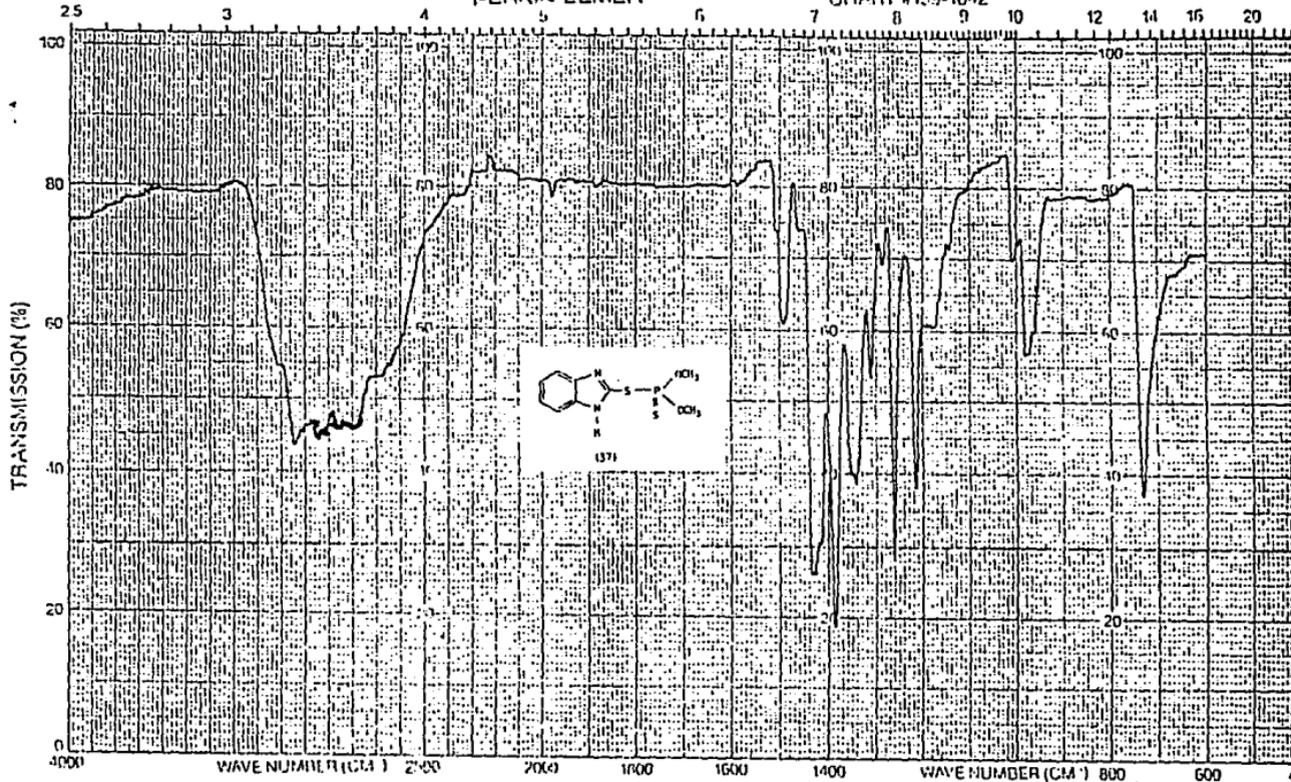


EM-360 60 MHz NMR SPECTROMETER

PERKIN ELMER

CHART #199-1042

27



ESPECTRO No. 27

varian instrument division



EM-360

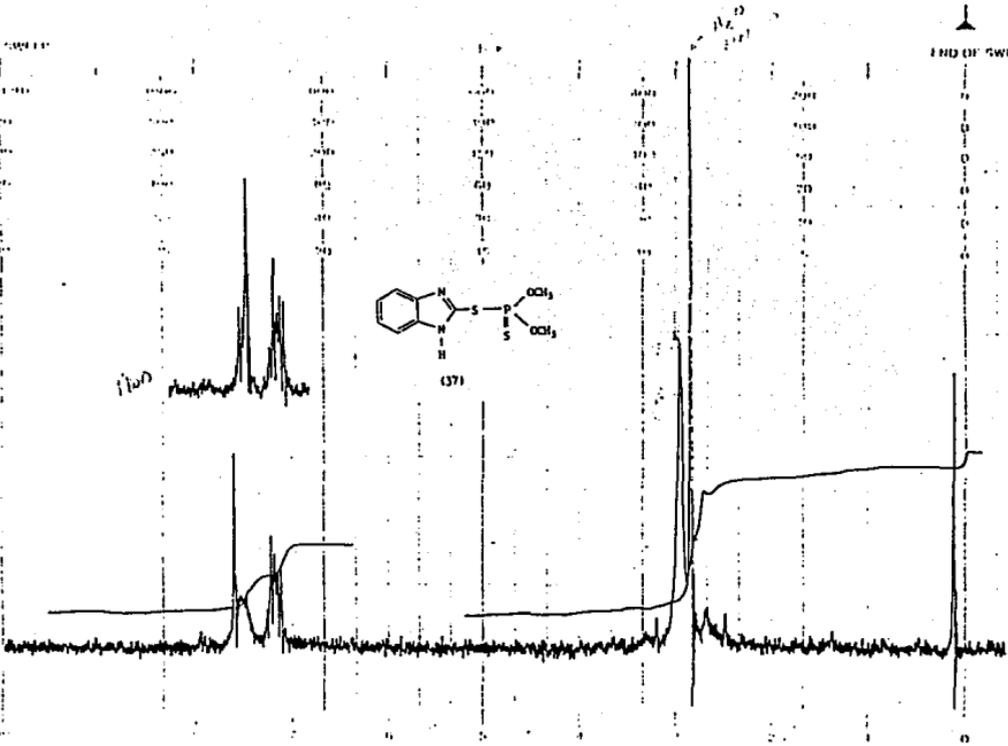
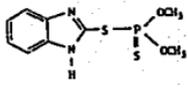
START OF SWEEP

END OF SWEEP

200000
100000
50000
20000
10000
0

20000
10000
50000
70000
90000
110000
130000
150000
170000
190000
210000
230000
250000

1100



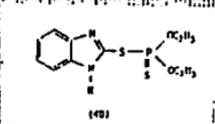
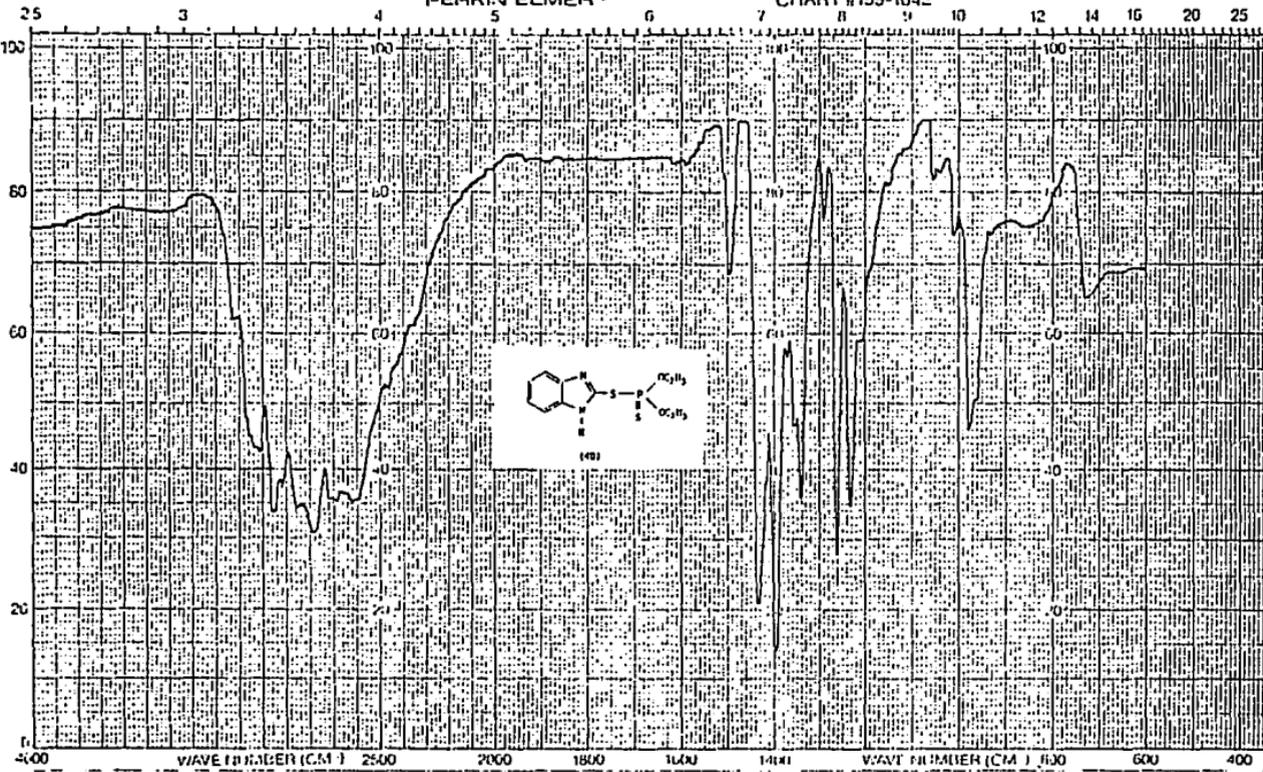
ESPECTRO No. 28

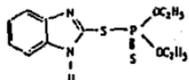
EM-360 60 MHz NMR SPECTROMETER

PERKIN ELMER

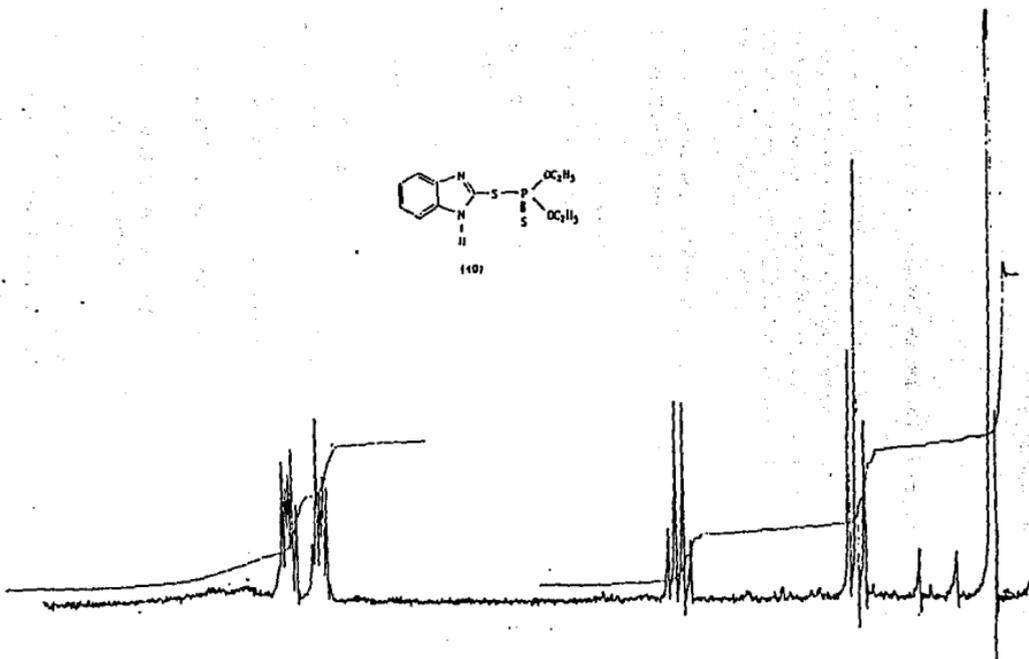
CHART # 159-1042

CONF 90





(140)



ESPECTRO No. 30

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Dirección General de Parasitología Animal (S.A.R.H.), 1987.
- 2.- THE ERADICATION OF TICKS. Proceeding of the expert consultation on the eradication of ticks with special reference to Latin America. Mexico City, Mexico, 22-26 June 1987. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italia, 1989.
- 3.- Eto. M., ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES. ORGANIC AND BIOLOGICAL CHEMISTRY, CRC Press, Inc., U.S.A., 1974.
- 4.- THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THE THERAPEUTICS, 8a. Edic., Alfred Goodman Ed., Pergamon Press, Inc., U.S.A., 1991.
- 5.- THE MERCK INDEX, Eleventh edition, Susan Budavari Ed., U.S.A., 1989.
- 6.- PESTICIDES IN THE ENVIRONMENT, Vol. I, part. I, Robert White-Stevens Ed., U.S.A., 1971.
- 7.- Szász G., PHARMACEUTICAL CHEMISTRY OF ADRENERGIC AND CHOLINERGIC DRUGS, CRC Press, Inc., U.S.A., 1985.
- 8.- J. Agric. Food Chem. 4, 930-935 (1956).
- 9.- Bull. Chem. Soc. Jap. 34, 1224-7 (1961).
- 10.- DRUG DEVELOPMENT, Charles E. Hammer Editor, Academic Press, Inc., U.S.A., 1982.
- 11.- Korolkovas A., ESSENTIALS OF MOLECULAR PHARMACOLOGY, John Wiley and Sons Inc., U.S.A., 1970.
- 12.- Korolkovas A., ESSENTIALS OF MEDICINAL CHEMISTRY, 2a. Edition, John Wiley and Sons Inc., U.S.A., 1988.

- 13.- RECENT ADVANCES IN THE CHEMISTRY OF INSECT CONTROL, N.F. Janes, Editor, The Royal Society of Chemistry No. 53, Burlington House, London, 1985.
- 14.- Cremlin R., PESTICIDES, John Wiley and Sons, Inc., U.S.A., 1978.
- 15.- J. Amer. Chem. Soc. 70, 3943-3944 (1948).
- 16.- Gagliardi G. N. et al., U.S. pat. 3,340,262 (1967 to Am. Cyanamid).
- 17.- Nakanishi K., INFRARED ABSORPTION SPECTROSCOPY, Second edition, Holden Day, Inc., San Francisco, 1977.
- 18.- Pretsch, E., TABELLEN ZUR STRUKTURAU FLARUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN MIT SPECTROSKOPISCHEN METHODEN, Versión Española, Castells J., Campos F., Ed. Alhambra, España, 1980.
- 19.- Org. Synth., Coll., Vol. IV, p. 569, 1963.
- 20.- DICTIONARY OF ORGANIC COMPOUNDS, Fifth edition, Chapman and Hall, Vol. I y II, U.S.A., 1982.
- 21.- J. Amer. Chem. Soc. 62, 2459 (1947).
- 22.- Catálogo Aldrich 1988-1989, 26905-0, Pag 358.
- 23.- Alicia Hernández C., Tesis de Maestría en Farmacia, UNAM, 1990.
- 24.- MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA EVALUACION DE IXODICIDAS, Dirección General de Sanidad Animal.
- 25.- Conley, T.R., ESPECTROSCOPIA INFRARROJA, Alhambra, España, 1979.
- 26.- Spectrochimica Acta, 20, 467 (1964).
- 27.- THE ALDRICH LIBRARY OF INFRARED SPECTRA. Edition III, by Charles J. Pouchet Editor, Aldrich Chemical Company, Inc., 1981.

- 28.- THE ALDRICH LIBRARY OF NMR SPECTRA. Edition II, Vol. 2, by Charles J. Pouchet Editor. Aldrich Chemical Company, Inc., 1982.
- 29.- Bovey A., NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY, Second edition, Academic Press, Inc., U.S.A., 1988.
- 30.- CHEMICAL ANALYSIS, Vol. 48, ANALYTICAL APPLICATIONS OF NMR, D.E. Leyden, R.H. Cox, Wiley Interscience, U.S.A., 1977.
- 31.- Safe S., MASS SPECTROMETRY OF PESTICIDES AND POLLUTANTS, C.R.C. PRESS, Inc., U.S.A., 1973.
- 32.- MASS SPECTROMETRY AND NMR SPECTROSCOPY IN PESTICIDE CHEMISTRY, Rizwanul Haque Francis J. Biros, Plenum Press, N.Y.-London, 1974.
- 33.- Lawesson, S.O., TETRAHEDRON, 24, 1875, 1968.