



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

SINTESIS ALTERNA PARA CARBOXAMIDAS
BENCIMIDAZOLICAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD
ANTIHELMINTICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

NORA ZAIDEL LAGUNA MARTINEZ



MEXICO, D. F.

1997

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 esta 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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dr. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA
VOCAL: Q. ROSA LUZ CORNEJO ROJAS
SECRETARIO: M. en C. ALFONSO LIRA ROCHA
1er. SUPLENTE: M. en C. FRANCISCO HERNANDEZ
LUIS
2do. SUPLENTE: M. en C. LINO JOEL REYES TREJO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE FARMACIA, DIVISIÓN DE BIOQUIMICA Y
FARMACIA, FACULTAD DE QUIMICA, UNAM .

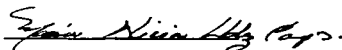
ASESOR DE TESIS

Dr. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA



SUPERVISOR TECNICO

M. en C. ALICIA HERNANDEZ CAMPOS



SUSTENTANTE

NORA ZAIDEL LAGUNA MARTÍNEZ



JESUS

Gracias por tu amor infinito, y por
darme fortaleza en los momentos
más importantes de mi vida,
todos mis logros van dedicados a ti.

**A MIS PADRES, RUFINO Y EMMA POR TODO EL APOYO Y CARIÑO
QUE ME DIERON.**

**A MIS HERMANOS:
NOHEMI, NARDA, ULISES Y BENJAMIN .
POR EL INMENSO AMOR QUE ME BRINDARON.**

A MI FAMILIA POR SU COMPRENSIÓN Y AFECTO .

Le doy las más infinitas gracias al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, por haber confiado en mí en la realización de esta tesis, así como los consejos, enseñanzas y cariño que me brindó.

A Alicia, por ser una amiga insustituible y una maestra excepcional.

A mis compañeros de laboratorio : Ceci S., Ceci J., Rosita, Mayra, Sergio, Carlos, Lalo, Hugo, Karla, Ingrid, Gabriel , Aarón, Reme, Daniel, el maestro Francisco por toda la ayuda y amistad que me ofrecieron.

Al maestro Lira Rocha y a Pili por su apoyo .

A Lucina, por ser un pilar en los momentos de duda.

A todos mis amigos de la carrera: Bety, Rita, Liliana, Blanca, Delia, Luis, Mariano, Santiago, Darío por los momentos de alegría juntos.

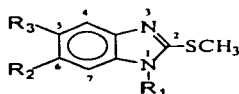
A mis lindas compañeras del Basket y a mi entrenador José Luis.

A mis amigos del Servicio Social , por que me enseñaron a ver la vida desde otra perspectiva, Héctor, Sandra, Gustavo, Toña, Juan Carlos, Nahiel, Rafael.

A TODOS ELLOS MUCHAS GRACIAS.

RESUMEN

En esta tesis se describe una alternativa de síntesis de las siguientes bencimidazol carboxamidas, análogas del potente fasciolicida Triclabendazol .



TRICLABENDAZOL	HIDRÓGENO	CLORO	2,3-DICLOROFENOXI
D a	METILO	PIPERIDINILCARBONILO	HIDRÓGENO
D b	METILO	HIDRÓGENO	PIPERIDINILCARBONILO
X a	METILO	4-METILPIPERIDINILCARBONILO	HIDRÓGENO
X b	METILO	HIDRÓGENO	4-METILPIPERIDINILCARBONILO

El ácido 4-aminobenzoico (I) se acetiló con anhídrido acético y dio un 79% de ácido 4-acetamidobenzoico (II) . El tratamiento de II con mezcla sulfonítrica llevó a un 95% del ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (III), el cual se esterificó y solvó al mismo tiempo con metanol en medio ácido, para dar el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (IV) en un 92% de rendimiento . La hidrogenación catalítica de IV y posterior ciclocondensación de la o-fenilendiamina (V) cruda con CS₂, llevó al 2-mercapto-5-metoxicarbonilbencimidazol (VI). El compuesto (VI) se trató con dos equivalentes de yoduro de metilo obteniéndose un 65% de rendimiento de la mezcla 1-metil-2-metil-5(6)-metoxicarbonilbencimidazol (VII), que por

saponificación con sosa llevó a un 83% del ácido 1-metil-2-metil-5(6)-bencimidazolilcarboxílico (VIII), materia prima precursora para las carboxamidas IX y X. La activación de (VIII) con carbonildiimidazol y posterior tratamiento con piperidina dio un 64% de la mezcla de 1-metil-2-metil-5 ó 6-(piperidinilcarbonil)bencimidazol (IX a, IX b), cuando se empleó la 4-metilpiperidina se obtuvo un 62% de la mezcla de 1-metil-2-metil-5 ó 6-[(4-metilpiperidinil)carbonil]bencimidazol. La ruta de síntesis estudiada ofrece un camino alternativo para la preparación de nuevos derivados de ácidos bencimidazol-5-carboxílicos como las carboxamidas IX y X.

CONTENIDO

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	4
1.2 Hipótesis de trabajo	4
2. GENERALIDADES	7
3. PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 Instrumentación	15
3.2 Cromatografía	16
3.3 Sistemas de elución	16
4. DESARROLLO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL	17
4.1 Ácido 4-acetamidobenzoico (II)	17
4.2 Ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (III)	18
4.3 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (IV)	18
4.4 3,4-diaminobenzoato de metilo (V)	19
4.5 2-mercapto-5-metoxicarbonilbencimidazol (VI)	20
4.6 1-metil-2-metilíto-5(6)-metoxicarbonilbencimidazol (VII)	21
4.7 Ácido 1-metil-2-metilíto-5(6)-bencimidazolilcarboxílico (VIII)	22
4.8 1-metil-2-metilíto-5(6)-[(piperidinil)carbonil]bencimidazol (IX a, IX b)	23
4.9 1-metil-2-metilíto-5(6)-[(4-metilpiperidinil)carbonil]bencimidazol (X a, IX b)	24

5. RESULTADOS	25
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	28
7. CONCLUSIONES	33
8. ESPECTROS	34
9. BIBLIOGRAFÍA	64

1. INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria de bovinos, ovinos, caprinos, porcinos, equinos que se debe a la presencia y acción del trematodo *Fasciola hepatica*. Es transmitida por caracoles acuáticos o anfibios y se encuentra ampliamente distribuida por el mundo, (Quiroz, 1994).

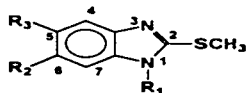
Esta especie afecta el hígado, conductos biliares, vesícula biliar y en ocasiones otros órganos como el pulmón, útero, tejido subcutáneo, etc. en estos animales. El parásito posee numerosas espinas que irritan inflaman y destruyen el parénquima hepático, causando hemorragias y por consiguiente anemia, debilitamiento, desnutrición, trastornos digestivos, disminuyendo la producción de leche, carne y lana e inclusive la muerte. Aunado a las pérdidas económicas, se agrega el decomiso de hígados en los mataderos. La incidencia de la Fasciolosis en México es elevada en muchas regiones, en donde se combinan las condiciones ambientales, fuentes de infestación y población susceptible, ya que su frecuencia varía de una región a otra y entre los animales de un mismo rebaño según la edad, (Quiroz, 1994).

Para el tratamiento de esta parasitosis, actualmente se cuenta con el Triclabendazol (Fasinex, Ciba Geigy), un fármaco de uso veterinario, efectivo contra los estados inmaduros tempranos y adultos del parásito, (Turner *et al.*, 1984; Richards *et al.*, 1990), además no muestra efectos mutagénicos y tampoco embriotoxicidad ni teratogenicidad en ratas, ovejas y vacunos, (Islip, 1981). La desventaja que presentan otros compuestos fasciolicidas, es su acción sólo en las formas adultas (ejemplo: Albendazol, Hexaclorofeno, Meniclofolan, etc.), y algunos sobre estados jóvenes del parásito como el Diamfenetide o Coriban, (Boray *et al.*, 1980).

Considerando los siguientes aspectos : 1) los perjuicios originados por la fasciolosis, 2) que el Triclabendazol, 6-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-metilbencimidazol, es el fármaco de elección, y 3) el desarrollo de un nuevo producto de amplio espectro: el 5(6)-[(4-metil-1-piperidinilcarbonil)]-2-bencimidazolilcarbamato de metilo (CDRI-87-144), (Beard,1990); se están realizando estudios enfocados al diseño y síntesis de nuevos compuestos con posible actividad antihelmíntica y en particular fasciolicida; uno de estos trabajos se realizó en la División de Farmacia (L-122, Conjunto "E", Facultad de Química, UNAM), en donde se informó de la preparación de 4 nuevos compuestos derivados del bencimidazol, análogos a la estructura del Triclabendazol (TABLA 1) . En estos compuestos se sustituyó el grupo 2,3-diclorofenoxi de la posición 5, por otros grupos con potencial farmacofórico como son las carboxamidas de piperidina y 4-metilpiperidina (Beard, 1990); también se cambió el hidrógeno de la posición 1 por un grupo metilo, con el fin de determinar la importancia que tiene el hidrógeno y los grupos en 5 y/ó 6 en la actividad fasciolicida, esperando también mejorar la absorción comparados con el Triclabendazol, (Del Villar & Guzmán, 1996) .

La síntesis de los compuestos 13a, 13b, 14a, y 14b se llevó a cabo según el ESQUEMA 1, en donde se partió del ácido p-aminobenzoico, a través de una secuencia de acetilación, nitración, formación del cloruro del ácido, tratamiento con piperidina o 4-metilpiperidina, hidrólisis selectiva de la acetanilida, reducción catalítica, ciclación con disulfuro de carbono y por último adición de yoduro de metilo . De acuerdo a los resultados obtenidos, se comenta : a) el bajo rendimiento que se obtuvo (30-40%) en la síntesis de las carboxamidas 5 y 6 , b) el problema para cristalizar los tioles 11 y 12 , c) el laborioso trabajo que resultó la purificación y separación de los productos finales 13a,13b, 14a, y 14b .

TABLA 1.
CARBOXAMIDAS DISEÑADAS CON ESTRUCTURA ANÁLOGA
AL TRICLABENDAZOL .



COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
TRICLABENDAZOL	H	Cl	
13 a	CH ₃		H
13 b	CH ₃	H	
14 a	CH ₃		H
14 b	CH ₃	H	

Con estos antecedentes, el presente estudio está dirigido al diseño de una nueva ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas con potencial actividad antihelmíntica .

1.1 OBJETIVOS .

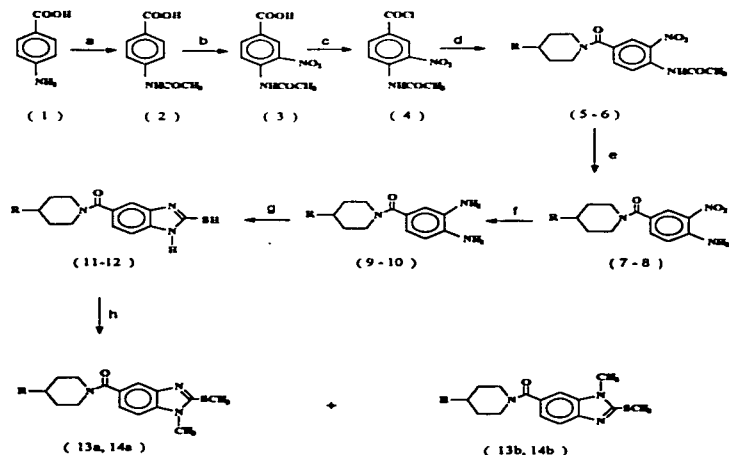
En la presente tesis se pretenden alcanzar los objetivos siguientes :

- a) La síntesis de las bencimidazol carboxamidas IX a, IX b, X a, X b. (que corresponden a 13a, 13b, 14a y 14b respectivamente.), por un camino alterno al reportado con anterioridad por el grupo de trabajo.
- b) Disminución en el número de etapas en el trabajo experimental.
- c) Obtención de una molécula la cual pueda servir como materia prima para una gran variedad de derivados de ácidos carboxílicos.
- d) Mediante la realización de este trabajo experimental, adquirir conocimientos y experiencia en la obtención de nuevas moléculas de interés farmacéutico .

1.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO .

Las carboxamidas 13a, 13b, 14a, y 14b se pueden obtener a partir del ácido 4-aminobenzoico siguiendo una ruta sintética alterna.

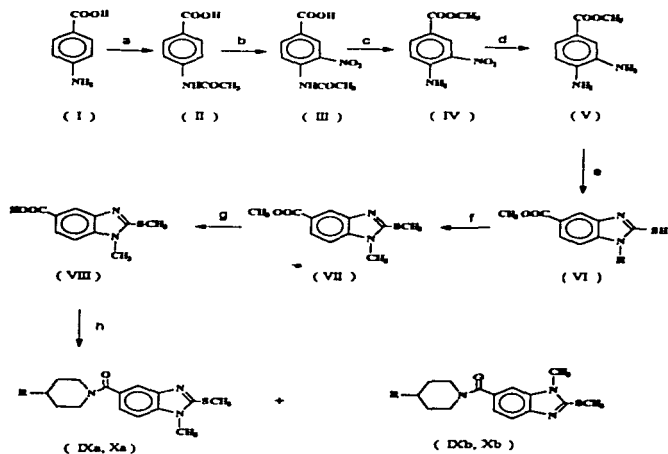
**ESQUEMA 1. SECUENCIA SINTÉTICA REPORTADA
PARA LA OBTENCIÓN DE LAS CARBOXAMIDAS
13a,13b,14a y 14b.**



$R = \text{H}$ en 5, 7, 9, 11, 13a, 13b ; $R = \text{CH}_3$ en 6, 8, 10, 12, 14a, 14b.

a) Ac_2O , acetona; b) HNO_3 , H_2SO_4 ; c) SOCl_2 , Benceno; d) Piperidina para 5; 4-metilpiperidina para 6; ambas en Benceno; e) HCl , MeOH ; f) H_2 , Pd-C 5%, EtOH ; g) CS_2 , EtOH , KOH ; h) CH_3I , EtOH , KOH .

**ESQUEMA 2. SECUENCIA SINTÉTICA ALTERNA
PARA LA PREPARACIÓN DE LAS CARBOXAMIDAS
IX a, IX b, X a, y X b.**



R = H en IX a, IX b ; R = CH₃ en X a, X b.

a) Ac₂O, AcOEt ; b) HNO₃, H₂SO₄ ; c) H₂SO₄, MeOH ; d) H₂, Pd - C 10%, MeOH ;

e) 1) CS₂, EtOH, KOH, 2) AcOH, H₂O ; f) CH₃I, KOH aq., acetona ; g) NaOH, KOH ;

h) Piperidina, dicloroetano, 1,1-carbonildiimidazol para IX ; 4-metilpiperidina, dicloroetano, 1,1-carbonildiimidazol para X.

2. GENERALIDADES

En la actualidad el control de la helmintosis en animales domésticos y el hombre, recae en el uso regular de productos químicos conocidos como antihelmínticos . Estos productos ayudan a contrarrestar el efecto de los parásitos en los diversos sitios en el organismo vivo . Son altamente efectivos y seguros para la integridad de las diferentes especies; sin embargo, tanto en los países desarrollados como en los del Tercer mundo, (siendo estos los más afectados al igual que las regiones con climas tropicales), el problema de la helmintosis no ha sido eliminado .

Por esta razón, continúa la búsqueda del antihelmíntico ideal, en especial en las naciones que sufren los estragos causados por este tipo de enfermedades, como México, ya que aparte de pertenecer al bloque de países en vías de desarrollo, existen ciertos factores como son el clima, fecalismo al aire libre, mala nutrición, etc. que condicionan la incidencia de las parasitosis en la población, resultando difícil su control y erradicación .

Por lo tanto, la industria farmacéutica esta fuertemente encaminada a la solución de estos problemas mediante la investigación de nuevos productos con las siguientes características: alto grado de eficacia, elevado espectro de acción antiparasitario, especificidad, alto índice terapéutico y versatilidad en la administración; de acuerdo a las posibilidades económicas y científicas con las que cuentan .

Este proceso involucra a una gran cantidad de especialistas, tales como: químicos, biólogos, toxicólogos, farmacólogos, ingenieros, abogados, expertos en el mercado, etc. . Asimismo se realizan pruebas iniciales, (rango de eficacia, toxicidad, viabilidad para la formulación etc.), que se llevan a cabo tanto *in vitro* como *in vivo*, también se inician estudios a largo plazo para determinar efectos teratogénicos, carcinogénicos o adversos tanto en personas como en animales .

Se considera que de 10 000 productos que se prueban solo uno llegara al mercado, así un antihelmíntico desde su descubrimiento hasta su salida a la

venta puede tomar de 6 a 8 años y costar más de 30 millones de dólares, (Herrera,1992) .

En la tabla No 2. se observa la naturaleza química de los distintos compuestos de uso humano y veterinario, que ayudan al control de la helmintiosis.

TABLA 2 .

GRUPO QUÍMICO	FÁRMACO
Salicilanilidas halogenadas y fenoles sustituidos.	Oxiclosanida, Rafoxanida, ciosantel, hexaclorofeno, bromosalán, sulfóxido de bitionol.
Bencimidazoles	Tiabendazol*, Albendazol, Parbendazol*, Cambendazol*, Mebendazol, Oxibendazol, Fenbendazol, Triclabendazol etc.
Probenicimidazoles	Netobimin, Febantel, Tiofanato .
Imidazoles y Tiazoles	Metronidazol, Levamisol, Morantel.
Compuestos nítro	Diisofenol, Nitroxinil.
Lactonas macrocíclicas	Avermedinas
Fenoxialcanos	Diamfenetide

* Actualmente retirados del mercado como antihelmínticos .

Si analizamos la gran variedad de antiparasitarios, encontraremos que las investigaciones se enfocan hacia el diseño y síntesis de derivados del Bencimidazol; debido a que su núcleo ha sido reconocido como base para la

GENERALIDADES

construcción de moléculas que poseen un amplio espectro de actividad biológica .

La polifuncionalidad asociada con el núcleo del bencimidazol, la facilidad para llevar a cabo varias reacciones orgánicas y su asociación con biomoléculas, ha motivado a los investigadores a continuar los estudios sobre sus diversas rutas sintéticas

Si hay modificaciones en las posiciones 2 y 5 del sistema anular bencénico puede dar lugar a cambios en la actividad biológica, (Townsend & Wise 1990) .

La ruta sintética de varios bencimidazoles generalmente consiste en dos partes: primero, se forma una o-fenilendiamina conteniendo los sustituyentes que se requieran . En segundo término, sigue el cierre del anillo de o-fenilendiamina para obtener el bencimidazol . En varios casos la ciclación de la o-fenilendiamina es el paso final; sin embargo, en otras ocasiones primero es la ciclación y posteriormente la adición de los sustituyentes deseados en el anillo aromático, (Townsend & Wise 1990) .

La síntesis del Tiabendazol (Brown *et al*, 1961), abrió las puertas al desarrollo de una gama de bencimidazoles potentes y activos en contra de infestaciones parasitarias de tipo gastrointestinal. Lamentablemente el Tiabendazol presenta una desventaja, sufre una hidroxilación enzimática en la posición 5 y es inactivado, limitando así su efectividad. Para superar este problema, los investigadores comienzan la preparación de una segunda generación de bencimidazoles con cambios estructurales, que prevenían la inactivación metabólica al tener sustituida la posición 5 y en la posición 2, tener un grupo carbamato de metilo, (Townsend & Wise 1990) .

Estos hallazgos llevaron a la producción de fármacos efectivos a bajas dosis y con amplios espectros de actividad antihelmíntica (Fig. No 1); ejemplos son el Mebendazol, (Janssen *et al*, 1971) para uso en humanos; el Albendazol (Theodorides *et al*, 1976), efectivo en el tratamiento de la neurocisticercosis; el Triclabendazol, (Ciba Geigy, 1978), potente fasciolicida utilizado mundialmente, y recientemente un nuevo producto de amplio espectro: el 5(6)-[(4-metil-1-piperidinilcarbonyl)]-2-bencimidazolilcarbamato de metilo (CDRI-87-144), (Beard, 1990) .

Dado lo anterior, entre la amplia gama de organismos parásitos que afectan a la industria pecuaria a nivel mundial, se encuentra el trematodo *Fasciola hepatica*, que produce la enfermedad conocida como Fasciolosis .

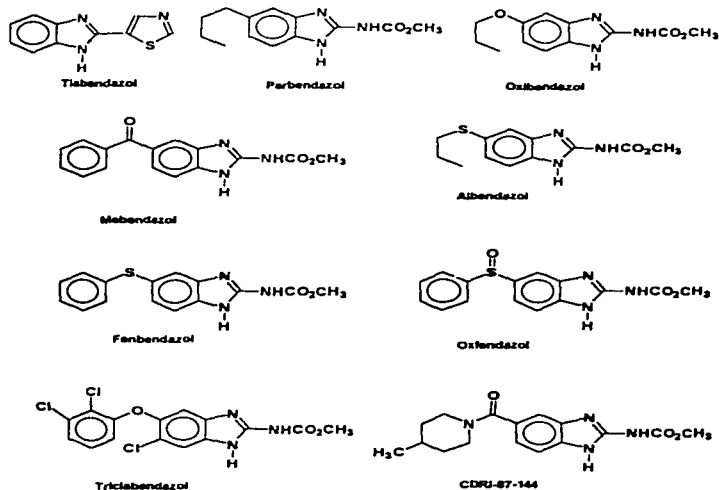


Figura No 1. Compuestos Anthelmínticos con estructura base del anillo benzimidazólico.

La Fasciolosis es conocida desde aproximadamente 600 años, se considera que llegó al continente americano con la conquista española y en México se encuentra presente en casi todas las zonas geográficas .

Dado lo anterior, entre la amplia gama de organismos parásitos que afectan a la industria pecuaria a nivel mundial, se encuentra el trematodo *Fasciola hepatica*, que produce la enfermedad conocida como Fasciolosis.

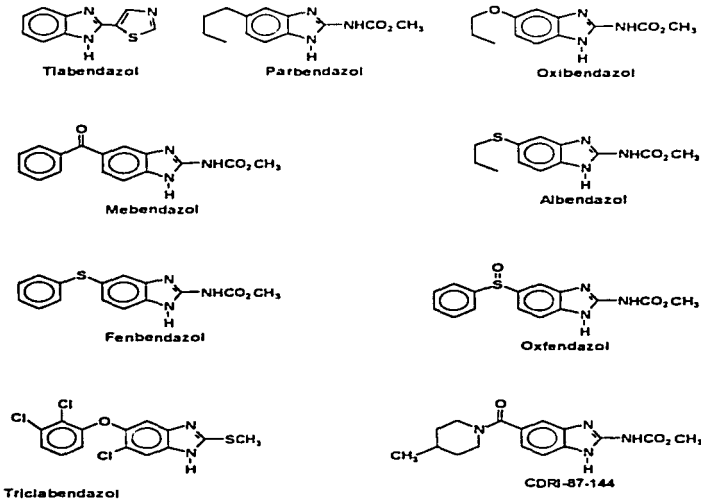


Figura No 1. Compuestos Antihelminticos con estructura base del anillo benzimidazólico.

La Fasciolosis es conocida desde aproximadamente 600 años, se considera que llegó al continente americano con la conquista española y en México se encuentra presente en casi todas las zonas geográficas.

NOTA: En la página 10, la estructura del Triclabendazol esta equivocada, se anexa en esta hoja la corrección.

La distribución geográfica de *Fasciola hepatica*, (Fig. No 2), esta determinada por la presencia de huéspedes definitivos, suelos con drenaje deficiente, humedad permanente o estacional y temperaturas que favorecen el desarrollo de los huéspedes intermedios (caracoles) .

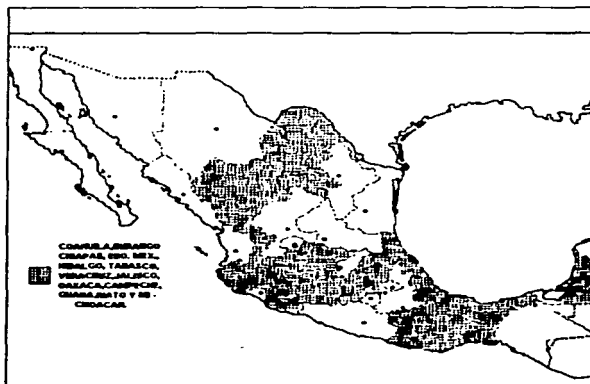


Figura No 2. Distribución geográfica de *Fasciola hepatica* en México.

Como resultado de su ubicación entre el trópico de Cáncer y la Zona Ecuatorial, la República Mexicana posee una amplia variedad de climas donde las condiciones favorecen la existencia del hospedero intermedio y por ende la existencia de la fasciolosis, (Najera, 1986) .

Ciclo Evolutivo: Los parásitos adultos localizados en los conductos biliares de sus hospederos mamíferos, eliminan huevecillos, los cuales pasan con la bilis al intestino y salen al exterior en las heces focales; continuando su desarrollo en praderas húmedas o charcos. A temperaturas de 10-28 °C el huevo evoluciona a miracidio penetrando en caracoles del género *Limnea*, en donde se transforma en esporoquiste redia y cercarias. Las cercarias abandonan el caracol y se dirigen a la superficie del agua depositándose en las plantas; en este momento pierden su cola y se rodean de una membrana que los protege del medio ambiente, (cuando llegan a esta fase de evolución, reciben el nombre de metacercarias y son la única fase infectante para los mamíferos). Los animales adquieren la infección cuando ingieren forraje o agua contaminada con metacercarias. En el intestino se libera la metacercaria de su cubierta quística y queda libre el joven trematodo. Penetra el intestino, pasa a cavidad abdominal, atraviesa el hígado y por el parénquima vaga de 6 a 8 semanas, hasta alcanzar los conductos biliares en donde completan su desarrollo, (Quiroz, 1991a; Najera, 1982).

Los estudios económicos de tipo directo que muestran los daños causados por *F. hepatica* - el decomiso de hígados y muertes de animales-; además de los de tipo indirecto - pérdidas en la producción de leche, carne, lana, crías y baja fertilidad -; hacen resaltar la importancia de esta enfermedad en la producción animal, (Milian *et al.*, 1986). A continuación se mencionan algunos ejemplos: a) Durante el período comprendido entre el 1o de enero de 1977 y el 31 de agosto de 1987 se sacrificaron un total de 2 101 224 bovinos, decomisándose 109 127 hígados (763889 Kg.) con *F. hepatica*; que corresponden al 51.9% del total de sacrificios, (Ferrería, México D.F.), significando una pérdida económica de \$1 375 000 200.00 pesos m/n., (Encinas *et al.*, 1989); b) Dependiendo de las condiciones de manejo, la producción de leche se ve afectada del 5 al 40% y la producción de carnes de bovinos se deja de ganar 30 Kg en canal (Quiroz, 1991 b).

El problema social, relativo al conocimiento por parte de ganaderos y autoridades, lleva el problema a un campo de decisión político económico, en donde resalta la capacidad, la voluntad y la actitud de ambas partes en la

GENERALIDADES

solución del mismo, mediante el estudio y diseño de programas a nivel nacional de difusión informativa, desparasitación, control sanitario etc., (Quiroz, 1991 b).

No obstante que la fasciolosis en el ganado se encuentra ampliamente distribuida en el territorio nacional, no se cuenta con un panorama adecuado de la presencia del parásito en la población humana, debido a que se presentan ciertos problemas para diagnosticar esta enfermedad, ya que el número de parásitos que se albergan en el paciente suele ser pequeño, y por consiguiente, los huevos se eliminan en pequeñas cantidades, resultando que los exámenes coproparasitológicos se reporten frecuentemente negativos, además el médico remotamente pensará en una fasciolosis cuando se le presente un individuo con los signos y síntomas sugerentes a un problema de vías biliares, por lo que en este sentido es de recomendar el desarrollo de investigaciones epidemiológicas de tipo integral y multidisciplinarias para obtener un parámetro más real de este tipo de enfermedad, (Arteaga *et al.*, 1986) .

Por ejemplo; en un estudio llevado a cabo en el Valle de Tulancingo del Estado de Hidalgo, para determinar la frecuencia de este padecimiento en la población, se encontraron 10 casos, lo que hace una tasa de 2.58 por cada 100 habitantes.; en el Hospital de especialidades del Centro Médico La Raza, en poco más de un año se hizo el diagnóstico de 8 casos de fasciolosis; por tanto, la población en riesgo aumenta . El mecanismo de infección suele ser por ingestión de metacercarias localizadas en berros, lechuga, alfalfa (Alvarez,1992), o en el agua de bebida, procedente de charcos, canales, arroyos y lagunas cercanas a los pastizales del ganado, (Arteaga *et al.*, 1986) .

La terapia de elección fue la Emetina en dosis de 0.01 g x Kg/peso, pero se presentaba efectos secundarios como náuseas, vómito y alteraciones cardíacas (Campbell, 1986), la Dehidrometina es tan eficaz como la Emetina y con menos efectos colaterales . Otros fármacos como el Praziquantel y el Albendazol no tienen efecto alguno sobre *F. hepatica* (Campbell,1986) . El Bitionol si bien es efectivo en contra de este parásito, presenta cierta toxicidad, motivo por el cual su aplicación es restringida, (Alcaíno & Alp, 1989) .

Actualmente se están realizando diversos estudios sobre el efecto del Triclabendazol en humanos infectados con el parásito (OMS, 1991), el primer informe sobre este tratamiento fue satisfactorio y fueron realizados en un alemán y dos austriacos (Wessely *et al*, 1988), a dosis 12 mg x Kg/peso; también en un francés a una dosis de 10 mg x Kg/peso (Loutan *et al*, 1989) . Otros estudios al respecto, se realizaron en la Universidad de Chile con 24 individuos y con una dosis 10 mg x Kg./peso, los resultados también fueron satisfactorios, no presentaron efectos secundarios y la tolerancia fue excelente (Apt *et al*, 1995) .

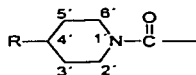
El mecanismo de acción del Triclabendazol aún es incierto, las evidencias muestran que actúa más como una salicilanida, inhibiendo la fosforilación oxidativa, que como un bencimidazol (Campbell, 1986) , también se sugiere que puede inhibir la captación de glucosa o bien desacoplar el transporte electrónico, (Campbell, 1986) .

Un reciente estudio comenta que el metabolito activo del Triclabendazol (sulfóxido), actúa como un potente inhibidor en la síntesis de proteínas, pero con un mecanismo diferente no basado en la inhibición microtubular (Stitt & FairWeather,1994), lo anterior motiva a los investigadores a seguir los estudios relacionados con esta innovadora molécula **EL TRICLABENDAZOL .**

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 INSTRUMENTACIÓN .

Los espectros de resonancia magnética protónica (RMN ^1H), se determinaron con un espectrómetro Varian EM-390 (Facultad de Química), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y deuteriocloroformo, dimetilsulfóxido o acetona deuterada como disolventes y con un espectrómetro VXR-300 MHz Varian (Instituto de Química) . Los desplazamientos químicos δ se dan en ppm. Los símbolos de las señales son s= singulete, sa= singulete amplio, m= multiplete, d= doblete, dd= doble de doblete, sd= singulete doble, para asignar los desplazamientos de las señales de las carboxamidas preparadas, se considera que los carbonos del anillo de piperidina y 4-metilpiperidina se les numera comúnmente como 2',3',4',5', y 6' para este tipo de compuestos .



Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 337 en pastilla de bromuro de potasio o película, las señales se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de masas se determinaron por cromatografía de gases - espectrometría de masas (CG-EM) o por introducción directa de la muestra en un aparato marca JEOL-JMS-AX505-HA . La simbología utilizada es M^+ = ión molecular y p.b.= pico base (100%) .

Los puntos de fusión (ρ f) se determinaron en un aparato marca Büchi Modelo 530 y no están corregidos .

Para la evaporación de los disolventes se empleó un evaporador rotatorio marca Büchi RE 111, con vacío generado por una bomba Felisa modelo 1600 ajustada a 55 cm de Hg y condensador de hielo seco .

Para realizar las hidrogenaciones catalíticas se utilizó un hidrogenador marca Parr Mod. 3916EG con 60 lb/plg² y 80°C como capacidad máxima, utilizando hidrógeno de tanque de la casa INFRA y como catalizador paladio sobre carbono al 10% de marca Aldrich .

3.2 CROMATOGRAFIA .

Las reacciones y la pureza de los compuestos se analizaron por cromatografía en capa fina (C C F) utilizando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice 60, GF-254 de Merck . Las manchas de la CCF se visualizaron con luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo .

3.3 SISTEMAS DE ELUCION .

Como eluyentes se utilizaron los siguientes sistemas :

SISTEMA	COMPOSICIÓN	RELACION
1	Cloroformo - Metanol	80:20 *
2	Cloroformo - Metanol	85:15*
3	Cloroformo - Metanol	90:10*
4	Cloroformo - Metanol	95:5
5	Cloroformo - Metanol	98:2

* Se adiciona 1 gota de AcOH por 5 mL de sistema de elución .

4. DESARROLLO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

4.1 ÁCIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO (II) .

En un matraz bola de 2 litros con dos bocas, adaptado con embudo de adición, condensador en posición de reflujo y trampa de humedad en el extremo, se suspendieron 205.7 g (1.5 moles) de ácido *p*-aminobenzoico en 1000 mL de acetato de etilo con agitación magnética.

A continuación se le adicionaron gota a gota 188.7 mL (2 moles) de anhídrido acético, al finalizar, la temperatura aumentó hasta un reflujo suave, y se agitó por dos horas a temperatura ambiente. La suspensión obtenida se filtró al vacío y el residuo se lavó con 300 mL de acetato de etilo; se obtuvieron 211.58 g (78.72%) de un polvo blanco de partículas finas que por análisis en CCF presentó una mancha con $R_f = 0.45$ en el sistema 1. El producto crudo se recristalizó de acetato de etilo con un rendimiento 70%. El p_f fue 254-257 °C (259-262 °C, Aldrich, 1990-1991).

El espectro de RMN 1H (No. 1) en $CDCl_3$ presentó señales a 12.3 (s, 1H, int. con D_2O , COOH), 10.2 (s, 1H, int. con D_2O , NH), 7.73 (m, 4H, H 2, H 3, H 5, y H 6) y 2.1 (s, 3H, $COCH_3$). El espectro de IR (No. 2) en KBr, mostró bandas a 3306 (N-H), 3100-2800 (O-H, de COOH), 1670 (C=O), 1608-1426 (C=C, aromático). En el espectro de masas (No. 3) se observó un M^+ de 179 con un 42 % de abundancia relativa y un p.b. de $m/z = 137$.

4.2 ÁCIDO 4-ACETAMIDO-3-NITROBENZOICO (III) .

En un matraz bola de 2 litros y tres bocas, adaptado con agitación mecánica, termómetro, embudo de adición y baño de hielo seco-isopropanol se agregaron 211.8 g (1.18 moles) de (II) pulverizado, sobre 400 mL de H_2SO_4 a 0 °C .

A continuación se goteó una solución de 125 mL de HNO_3 y 125 mL de H_2SO_4 concentrados, previamente enfriados entre 0 y 5 °C durante una hora . Al terminar la adición la mezcla de reacción se llevó a una temperatura entre 10-15 °C y se continuó agitando por 5 horas . Al finalizar la reacción, se vertió sobre hielo picado (3 Kg) . El sólido formado se separó por filtración al vacío y lavó con agua repetidas veces hasta que el pH del agua de lavado fuera neutro, obteniéndose 253.2 g (95.5%) de un sólido amarillo . El producto, analizado por CCF, mostró una mancha con un $R_f = 0.52$ en el sistema 2 . Se purificó por recristalización de acetónitrilo dando cristales amarillos (73.3%) y $p_f = 218-221$ °C .

En el espectro de RMN 1H (No. 4) en DMSO se observaron señales a 10.45 (s, 1H, int. D_2O , COOH), 8.45 (sd, 1H, H 2), 8.23 (dd, 1H, H 6), 7.9 (d, 1H, H 5), 2.15 (s, 3H, COCH $_3$) . El espectro de IR (No. 5) en KBr, mostró bandas a 3324 (N-H), 3100 - 2800 (COOH), 1716 (C=O), 1514 y 1338 (NO $_2$) . El espectro de masas (No. 6) presentó un $M^+ = 224$ con una abundancia relativa de 17.5 % y un p.b. de $m/z = 182$.

4.3 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO (IV) .

En un matraz bola de 1 litro con una boca, condensador en posición de reflujo y trampa de humedad en el extremo, se disolvieron 71.1 g (0.390 moles) de (III) en 300 mL de metanol anhidro más 7 mL de H_2SO_4 concentrado .

Esta mezcla se calentó en un baño de agua a reflujo durante 10 horas, al terminar la reacción se retiró del calentamiento y se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente. El producto formado se separó por filtración al vacío obteniéndose 70.5 g (92.2 %) de un sólido amarillo que por análisis en CCF presentó una mancha con $R_f = 0.66$ en el sistema 2 .

El producto crudo se recrystalizó en acetato de etilo dando cristales amarillos (77.2%) con un $p_f = 193-195$ °C .

El espectro de RMN 1H (No. 7) en acetona mostró señales a 8.75 (sd, 1H, H 2), 7.9 (dd, 1H, H 6), 7.35 (sa, 2H, int. D_2O de NH_2), 6.98 (d, 1H, H 5), 3.85 (s, 3H, $COOCH_3$.) . El espectro de IR (No. 8) presentó bandas en 3474 y 3340 ($-NH_2$), 1702 ($C=O$ de $COOCH_3$), 1632 y 1476 ($C=C$ aromático) 1520 y 1356 ($-NO_2$). En el espectro de masas (No. 9) se observó un $M^+ = 196$ con una abundancia relativa de 88 % y un p.b. de $m/z = 165$.

4.4 3,4- DIAMINO BENZOATO DE METILO (V) .

En un frasco reactor de hidrogenación de 500 mL se colocaron 20 g (0.101 moles) de (IV), 2 g de Pd / C al 10 % en 260 mL de metanol y se adaptó a un hidrogenador . Se eliminó el aire presente en el vaso reactor mediante la inyección / expulsión de 30 lb/plg² de hidrógeno tres veces, después se inyectó hidrógeno hasta llegar a una presión de 60 lb/plg² iniciándose la reacción; ésta se llevó a cabo en 2.5 horas consumiéndose 570 lb/plg² de hidrógeno .

Posteriormente, la mezcla de reacción se filtró al vacío, mediante un embudo de vidrio poroso para separar el catalizador . El filtrado se llevó a sequedad en el rotavapor .

Este producto crudo se utilizó como tal para la reacción de ciclación .

4.5 2-MERCAPTO-5-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VI) .

En un matraz bola de 500 mL con tres bocas, adaptado con un termómetro, embudo de adición y un condensador en posición de reflujo y sobre éste un globo con nitrógeno, se mezclaron 3.7 g (0.022 moles) de (V) en 37 mL de etanol, se adicionó a goteo constante una solución preparada previamente de 2.7 mL (0.0448 moles, 2 eq.) de disulfuro de carbono, 2.5 g (0.445 moles, 2 eq.) de hidróxido de potasio en solución acuosa, y 4.1 mL (2 eq.) de etanol. La mezcla de reacción se calentó a reflujo suave a una temperatura entre 60-70 °C con agitación magnética durante 3 horas.

Al finalizar, ésta se vació en 100 mL de agua a 60-70 °C y se ajustó a pH = 5 con ácido acético al 20 %, se dejó enfriar en un baño de hielo y precipitó un sólido café claro. El sólido se separó por filtración al vacío obteniéndose 3.4 g (73.3%). A continuación el producto se disolvió en 150 mL de acetato de etilo y lavó con tres porciones de una solución de cloruro de sodio saturada de 50 mL cada uno.

A la fase orgánica se le eliminó las trazas de agua, con sulfato de sodio anhidro y evaporó a sequedad obteniéndose un sólido café claro, que analizado por CCF dio una mancha en el sistema 3, con Rf = 0.47, para su cristalización se utilizó metanol, dimetilformamida y carbón activado dando cristales amarillos con un rendimiento 80% y p f = 302-303 °C.

El espectro de RMN ¹H (No. 10) en DMSO presentó señales a 10.85 (s, 1H, int. con D₂O, NH), 7.84 (dd, 1H, H 6), 7.72 (sd, 1H, H 4), 7.25 (d, 1H, H 7), 3.88 (s, 3H, O-CH₃), 3.45 (sa, 1H, int. con D₂O, SH). El espectro de IR (No 11) en KBr, mostró una banda a 3310 (NH), 2948 y 2880 (C-H), 2700 (-SH), 1692 (COO-CH₃). En el espectro de masas (No. 12) se observó un M⁺ = 208 con una abundancia relativa del 100% el cual correspondió el p.b de m/z = 208.

4.6) 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-METOXCARBONILBENCIMIDAZOL (VII) .

En un matraz bola de 500 mL con tres bocas, adaptado con globo con nitrógeno, un septum y termómetro, se disolvieron 5 g (0.024 moles) de (VI) en 180 mL de acetona con agitación magnética .

La solución se enfrió en un baño de hielo - sal de 0-5 °C; y se adicionó gota a gota mediante jeringa 2.25 mL (0.036 moles, 1.5 eq.) de yoduro de metilo; 3.37 g (0.060 moles, 2 eq.) de hidróxido de potasio en solución acuosa, y nuevamente 2.25 mL (0.036 moles, 1.5 eq.) de yoduro de metilo, el pH de la mezcla debe ser de 10 .

Después de la adición se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente, mediante CCF se verificó la desaparición de (VI), así como la formación del producto de monometilación, el cual no se aisló; la agitación se mantuvo por 3.5 horas más . A continuación se ajustó a pH neutro con ácido acético al 20% y evaporó a sequedad, el producto se disolvió en 250 mL de acetato de etilo y lavó con tres porciones de agua de 50 mL cada uno .

A la fase orgánica se le eliminó las trazas de agua, con sulfato de sodio anhidro y evaporó a sequedad obteniéndose 4.5 g (79.5%) de un sólido café claro; que analizado por CCF mostró dos manchas en el sistema 4, con $Rf_1 = 0.25$ y $Rf_2 = 0.33$, ya que se obtuvo como una mezcla de isómeros . La mezcla cruda se recristalizó de ciclohexano dando cristales de color amarillo pálido (65.3%) y $p_f = 99-110$ °C .

Por cristalizaciones sucesivas de hexano se aisló un solo isómero (VI. a), - el de Rf mayor - dando cristales blancos (11.76%), con un $p_f = 143-146$ °C ; por análisis en CCF se observó una sola mancha con $Rf = 0.43$ en el sistema 4 .

En el espectro de RMN 1H (No. 13) en C_3D_8O para la mezcla de isómeros se observaron señales a 8.18-7.45 (m, 3H, H 4, H 5(6), H 7), 3.88 (s, 3H, CO-CH₃), 3.73 (s, 3H, N-CH₃), 3.72 (s, 3H, N-CH₃), 2.75 (s, 3H, S-CH₃) . El espectro de IR (No. 14) en KBr, mostró bandas a 2942 y 2839 (C-H), 1704 (-CO-OCH₃), 1436 y 1310 (S-CH₃), 1250 (C-O-C) . El espectro de masas (No. 15) dio un M^+ = 236.00 con una abundancia relativa de 100% y un p.b. de $m/z = 236.00$.

El espectro de RMN ¹H (No. 16) en CDCl₃ para el isómero aislado (VII a) presentó señales a 8.00 (sd, 1H, H 7), 7.97 (dd, 1H, H 5), 7.67 (d, 1H, H 4), 3.96 (s, 3H, CO-CH₃), 3.73 (s, 3H, NH-CH₃), 2.84 (s, 3H, S-CH₃). El espectro de IR (No. 17) en KBr, mostró bandas a 2996 y 2994 (C-H), 1708 (-CO-OCH₃), 1420 y 1322 (S-CH₃), 1256 (C-O-C). El espectro de RMN ¹³C (No. 18) mostró 11 señales 167.56 (-COO-), 156.7 (C₂), 196.91 (7a), 136.71 (4a), 123.54 (C₅), 123.47 (C₆), 117.48 (C₄), 110.37 (C₇), 52.08 (-O-CH₃), 30.075 (-N-CH₃), 14.52 (-S-CH₃).

4.7 ÁCIDO 1- METIL- 2- METILTIO- 5 (6)- BENCIMIDAZOLILCARBOXILICO (VIII).

En un matraz de 500 mL con una boca, adaptado con un condensador en posición de reflujo y sobre éste un globo con nitrógeno, se colocaron 6g (0.02539 mol) de (VII) disueltos en 150 mL de metanol, enseguida se añadieron 2.54 g (0.0635 mol) de NaOH en solución acuosa. La mezcla agitada magnéticamente, se calentó a reflujo por 2.5 h, al verificar por CCF la desaparición de (VII) se suspendió el calentamiento y dejó enfriar a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente en un rotavapor hasta sequedad, el producto obtenido se disolvió en 100 mL de agua y las impurezas se extrajeron mediante tres extracciones sucesivas con cloroformo; la fase acuosa se vació en un vaso de precipitados y se ajustó a un pH= 4.5. El sólido formado se separó por filtración al vacío, lavó con agua helada y secó al aire; obteniéndose 4.7g (83.3%) de un sólido crema que analizado por CCF presentó dos manchas con Rf = 0.35 y Rf = 0.40 en el sistema 5.

La mezcla cruda se recristalizó de MeOH-H₂O 1:1 dando cristales amarillos (71.3%) y p f = 221-235 °C.

El espectro de RMN ¹H (No. 20) en CDCl₃ + DMSO presentó señales a 8.20-7.33 (m, 3H, H 4, H 5(6), H 7), 3.7 (s, 3H, N-CH₃), 2.78 (s, 3H, S-CH₃).

El espectro de IR (No. 21) en KBr, mostró bandas a 3069-2785 (COOH), 1684 (C=O), 1418 (S-CH₂), 1252 (C-O-C) . El espectro de masas (No. 22) dio un M⁺ = 222.00 con una abundancia relativa de 100% y un p.b. de m/z = 222.00.

4.8 1-METIL-2-METILTIO-5(6)- (PIPERIDINILCARBONIL)BENCIMIDAZOL (IX a, IX b).

En un matraz de 250 mL de dos bocas adaptado con una trampa de humedad y un septum, se adicionaron 1.75 g (0.01079 mol, 2 eq) de 1,1-carbonildimidazol bajo atmósfera de nitrógeno; aparte, en un vaso de precipitados de 250 mL se agregaron 150 mL de diclorometano y 10 mL de DMF a 1.2 g (0.00539 mol, 1 eq.) de (VIII), esta solución se adicionó mediante jeringa al matraz y se calentó en un baño de agua entre 25-35 °C por una hora .

Al verificar por cromatografía en capa fina la desaparición de (VIII), la mezcla de reacción se enfrió entre 0-5 °C y se adicionó 0.54 mL (0.00539 mol, 1 eq.) de piperidina y calentó por una hora entre 25-35°C . Al verificar por CCF la formación del producto esperado y la desaparición del compuesto intermediario se dio término a la reacción, la solución se concentró en un rotavapor, el producto se disolvió en 200 mL de acetato de etilo y lavó con tres porciones de agua de 50 mL cada uno . A la fase orgánica se le eliminó las trazas de aguas con sulfato de sodio anhidro y evaporó a sequedad obteniéndose un líquido viscoso de 1.0 g (64.10%) de color café claro que analizado por CCF presentó dos manchas en el sistema 5 con R_f = 0.21 y R_f = 0.34 .

El espectro de RMN ¹ H (No. 23) de la mezcla en CDCl₃ + DMSO presentó señales a 7.68 -7.20 (m, 3H, H 4, H 5 (6), H 7), 4.23 (s, 2H, 2' y 6'), 3.681 (s, 3H, N-CH₃), 3.674 (s, 3H, N-CH₃), 3.5 (m, 4H, 2' y 6'), 2.8 (s, 3H, S-CH₃); 1.7-1.3 (m, 6H, 3', 4', 5') . El espectro de IR (No. 24) en película mostró bandas a 2934 y 2854 (C-H), 1616 (C=O), 1420 (S-CH₂) . En el espectro de masas (No. 25) se observó un M⁺ = 289.00 con una abundancia relativa de 71% y un p.b. de m/z = 205.00 .

4.9 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-[(4-METILPIPERIDINIL)CARBONIL]BENCIMIDAZOL (X a, X b).

En un matraz de 100 mL de 2 bocas, adaptado con una trampa de humedad y un septum, se adicionaron 0.88 g (0.00269 mol, 2 eq) de 1,1-carbonildiimidazol bajo atmósfera de nitrógeno; aparte, en un vaso de precipitados de 100 mL se agregaron 60 mL de diclorometano y 5 mL de DMF a 0.60 g (0.00269 mol) de (VIII), ésta solución se adicionó mediante jeringa al matraz y se calentó en un baño de agua entre 25-35 °C por una hora .

Al verificar por CCF la desaparición de (VIII), la mezcla de reacción se enfrió entre 0-5 °C, se adicionó 0.318 mL (0.00269 mol, 1 eq.) de 4-metilpiperidina y se calentó por una hora entre 25-35 °C . Al verificar por CCF la formación del producto esperado y la desaparición del compuesto intermediario se dio término a la reacción, la solución se concentró en un rotavapor, el producto se disolvió en 100 mL de acetato de etilo y lavó con tres porciones de agua de 20 mL cada uno . La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y evaporó a sequedad obteniéndose 0.500 g (61.59%) de un líquido viscoso de color café claro que analizado por CCF presentó dos manchas en el sistema 5 con $R_f = 0.22$ y $R_f = 0.27$.

El espectro de RMN ¹H (No. 28) de la mezcla en CDCl₃ + DMSO presentó señales a 7.68-7.2 (m, 3H, H 4, H 5(6), H 7), 4.23 (s, 2H, 2' y 6'), 3.683 (s, 3H, N-CH₃), 3.679 (s, 3H, N-CH₃), 2.9 (sa, 2H, 2' y 6'), 2.81 (s, 3H, S-CH₃) 1.7-1.18 (m, 5H, 3', 4', 5'), 0.97 (m, 3H, CH₃, 4') . El espectro de IR (No 29) en película mostró bandas a 2926 y 2866 (C-H), 1624 (C=O), 1422 (S-CH₃) . En el espectro de masas (No. 30) se observó un M⁺ = 303.00 con una abundancia relativa de 83% y un p.b. de m/z = 302.00.

5. RESULTADOS.

A continuación se muestran los resultados más representativos de ambas rutas sintéticas; como son las características físicas más importantes así como los rendimientos y el análisis espectroscópico de los productos obtenidos en las siguientes tablas.

RESULTADOS POR RUTA SINTÉTICA PREVIA .

COMPUESTO	DISOLVENTE DE RECRISTALIZACION	RENDIMIENTO %	R _T
5	MeOH-H ₂ O ^a	35.98	0.63 ^{III}
6	MeOH-H ₂ O ^a	46.73	0.42 ^{III}
11	Acetato de etilo	88.20	0.35 ^{III}
12	Acetato de etilo	87.15	0.29 ^{III}
13a	Mezcla de éteres ^b	64.46	0.16 ^{IV}
13b	Mezcla de éteres ^b	17.76	0.09 ^{IV}
14a	Mezcla de éteres ^b	20.64	0.27 ^{IV}
14b	Acetona	58.92	0.23 ^{IV}

Tabla No 3 . Resumen de resultados obtenidos para los compuestos sintetizados por la ruta previa.

Mezcla de MeOH-H₂O 1:1; Mezcla de éter dietílico-éter de petróleo, ^{III} 90:10 Cloroformo Metanol, ^{IV} 30:70 Hexano-Acetato de etilo.

RESULTADOS POR RUTA SINTÉTICA ALTERNA .

CÓMPUESTO	DISOLVENTE DE RECRISTALIZACIÓN	RENDIMIENTO %	P.f. °C	R.f.
(II)	Acetato de etilo	78.72	254-257	0.45 ¹
(III)	Acetonitrilo	95.50	218-221	0.52 ²
(IV)	Acetato de etilo	92.20	193-195	0.66 ²
(V)	a	a	a	0.49 ³
(VI)	Metanol-DMF	75.00	302-303	0.47 ³
(VII)	Ciclohexano	65.30	99-110	0.33 ⁴ 0.25 ⁴
(VII a)	Hexano	11.76	143-146	0.43
(VIII)	MeOH : H ₂ O	83.30	221-235	0.35 ⁵ 0.40 ³
(IX a, IX b)	b	64.10	b	0.21 ^{5c} 0.34 ^{5c}
(X a, X b)	b	61.59	b	0.22 ^{5c} 0.27 ^{5c}

Tabla No 4 . Resumen de resultados obtenidos para los compuestos sintetizados por la ruta alterna .

. Sistemas de elución: todos son Cloroformo-Metanol + 1 gota de á.c. acético con las siguientes proporciones: ¹ 80:20, ² 90:10, ³ 85:15, ⁴ 98:2, ⁵ 95:5, ^a el compuesto no se aisló y se uso como tal para la reacción siguiente, ^b el producto final se obtuvo como mezcla de isómeros no llevándose a cabo la separación de los mismos, ^c No se adicionó en este sistema ácido acético, ^e Mezcla de MeOH : H₂O 1:1 .

RESULTADOS

COMPUESTO	RMN(δ ppm)	IR(cm^{-1})	EM M*
(II)	10.2 (sa, 1H, NH) 2.1 (s, 3H, COCH ₃)	3306 (NH)	179
(III)	8.45 (sd, 1H, H ₂) 8.23 (dd, 1H, H ₆) 7.9 (d, 1H, H ₅)	3100-2800 (COOH) 1514 y 1338 (NO ₂)	224
(IV)	7.35 (sa, 2H, NH ₂) 3.85 (s, 3H, COCH ₃)	3474-3340 (NH ₂) 1702 (-CO-OCH ₃)	196
(V)	a	a	a
(VI)	10.85 (sa, 1H, NH) 3.45 (sa, 1H, SH)	2700 (S-H)	208
(VII)	3.88 (s, 3H, CO-CH ₃) 3.72 (s, 3H, N-CH ₃) 3.73 (s, 3H, N-CH ₃) 2.75 (s, 3H, S-CH ₃)	1704(-CO-OCH ₃) 1436 y 1310 (S-CH ₃)	236
(VII a)	3.96 (s, 3H, CO-CH ₃) 3.73 (s, H, N-CH ₃) 2.84 (s, 3H, S-CH ₃)	1708 (COO-OCH ₃) 1420 y 1322 (S-CH ₃)	236
(VIII)	3.7 (s, N-CH ₃) 2.78 (s, 3H, S-CH ₃)	3069-2785 (COOH) 1418 (S-CH ₃)	222
(IX a y IX b)	3.5 (m, 4H, 2'y 6'), 1.7-1.3 (m, 6H, 3', 4', 5')	2934 y 2854 (C-H) 1616 (C=O) 1420 (S-CH ₃)	289
(X a y X b)	4.23 y 2.9 (s, 2H, 2'y 6'), 1.7 -1.18 (m, 5H, 3', 4', 5') 0.99-0.96 (m, 3H, CH ₃ , 4')	2926 y 2866 (C-H) 1624 (C=O) 1422 (S-CH ₃)	303
(13a y 13b)	3.5 (m, 4H, 2'y 6'), 1.7-1.5 (m, 6H, 3', 4', 5')	2930 y 2854 (C-H) 1626 (C=O) 1422 (S-CH ₃)	289
(14a y 14b)	4.1 y 2.9 (s, 2H, 2'y 6'), 1.10 -0.99 (m, 5H, 3', 4', 5') 0.89-0.87 (m, 3H, CH ₃ , 4')	2930 y 2852 (C-H) 1620 (C=O) 1422 (S-CH ₃)	303

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Para la obtención de los compuestos 1-metil-2-metiltio-5(6)-(piperidinilcarbonil)benzimidazol (IX a, IX b), y 1-metil-2-metiltio-5(6)-[(4-metilpiperidini)carbonil]benzimidazol (X a, X b) se siguió la síntesis alterna mostrada en el esquema No 2 .

El primer paso fue la acetilación del ácido *p*-aminobenzoico (I), el cual se suspendió en acetato de etilo y trató con anhídrido acético, formándose el ácido 4-acetamidobenzoico (II) (78.72%) . El producto crudo se recristalizó de acetato de etilo dando cristales color arena, con $p f = 254-257\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $R_f = 0.45$.

Posteriormente, (II) se sometió a nitración, suspendiéndolo en H_2SO_4 conc. a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, y adicionándole una mezcla de HNO_3 y H_2SO_4 concentrados entre $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$; después de la adición se continuó agitando por 5 h., obteniéndose el ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (III) (95.5%), éste se recristalizó de acetonitrilo dando cristales amarillos con $p f = 218-221\text{ }^{\circ}\text{C}$, $R_f = 0.52$. Comparando los dos diseños, tanto la ruta previa (RP), como la ruta alterna (RA) tienen un tronco común que abarca la síntesis de (II) y (III) . En ambos casos los productos se obtuvieron con un rendimiento y pureza aceptables, además los espectros de IR y RMN para la identificación de las materias primas sintetizadas coincidieron con los informados en la literatura, (Aldrich, 1990-91 ; Pouchet , 1977; Del Villar & Guzmán, 1996).

Por otro lado, en RP, se forman las dos carboxamidas a partir de (3) (esquema No. 1), vía el cloruro del ácido teniendo rendimientos bajos, después se ciclaron las ortofenilendiaminas (9 y 10) en donde los productos fueron difíciles de purificar, finalizando con la metilación de los 2-mercaptobenzimidazoles, en este último paso la separación de los isómeros resultó laboriosa y de bajo rendimiento . En cambio en RA, el ácido (III) (esquema No. 2), inicialmente se cicló al tiol correspondiente (VI) como ácido, previa hidrólisis del acetamido, reducción del grupo nitro y tratamiento

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

con CS_2 , KOH y etanol, pero representó un inconveniente el trabajar con el aminoácido 4-amino-3-nitrobenzoico, debido a su solubilidad en agua, por consiguiente el tiol (VI) obtenido también era soluble en dicho disolvente, resultando complicado su extracción y purificación (61.2% de rend.). Debido a lo anterior se trató de formar el tiol por otro camino utilizando acetona, tiofosfógeno y trietilamina, sin embargo se tenían más pérdidas (10.4% de rend.), ya que una parte quedaba en las aguas madres, otra en forma de resina y lo restante en sólido.

No obstante, se realizaron pruebas para llevar a cabo la reacción de metilación con KOH (2eq.), CH_3I (1eq) y acetona, pero nuevamente la baja solubilidad del tiol en disolventes apróticos originó que no reaccionara totalmente, obteniendo en una primera reacción la monometilación en la posición 2 (42.7% de rend.). En el segundo intento, se adicionaron (3eq.) de KOH y (2.1eq) de CH_3I , produciéndose un precipitado y una resina; el sólido correspondió al producto monometilado y la resina a la metilación en las posiciones 1, 2 y en el ác. carboxílico formando el éster, el compuesto dimetilado en las posiciones 1 y 2 no se pudo aislar. En toda la serie de reacciones los rendimientos fueron muy bajos (10-42%); al analizar los resultados obtenidos en este estudio, se decidió proteger el ácido carboxílico en forma de éster metílico, con el fin de cambiar la solubilidad a la molécula; lo cual se logró exitosamente (92.2%), utilizando el método de esterificación de Fisher y al mismo tiempo dadas las condiciones ácidas de la reacción, se hidrolizó la acetamida. La identificación de (IV) se basó en los espectros de IR, RMN, y EM. En el espectro de IR (No 8), se comprobó la desaparición de la banda amplia característica del ácido carboxílico entre 3100-2800 y en su lugar aparecieron dos bandas para amina primaria a 3474 y 3340; además en la RMN 1H (No 7) se observó una señal a 3.85 que integró para 3H de (-O- CH_3).

El 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (IV), se redujo fácilmente por hidrogenación catalítica, utilizando como catalizador Pd / C 10%, dando un sólido café oscuro; el 3,4-diaminobenzoato de metilo (V).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La ortofenilendiamina (V), se sometió a ciclación por tratamiento con el Xantato de etilo previamente preparado, cuidando la temperatura entre 60-70 °C, para que no se hidrolizara el éster metílico, obteniéndose el 2-mercapto-5-metoxicarbonilbencimidazol (VI), con un 75 % de rendimiento .

De acuerdo a los resultados informados por la otra vía de síntesis, se tuvieron problemas para purificar los compuestos 11 y 12 (esquema No 1), logrando así por este camino tener un método de cristalización más viable; aunque el tiol no tiene una amida en 5 sino un éster . La formación del tiol se comprobó por los espectros de IR (No 11) el cual mostró una sola banda para NH a 3310 y el C=O del éster a 1692 . La RMN ¹H (No 10) dio la señal para el CO-OCH₃ a 3.8 ppm, además de dos señales amplias que desaparecieron en D₂O a 10.85 ppm y a 3.45 ppm pertenecientes al NH y SH respectivamente .

La metilación del compuesto (VI) dio la mezcla de isómeros : 1-metil-2-metil-5(6)-metoxicarbonilbencimidazol (VII), debido a que estos productos sufren tautomería protónica entre los nitrógenos 1 y 3; como se puede observar en la siguiente figura .

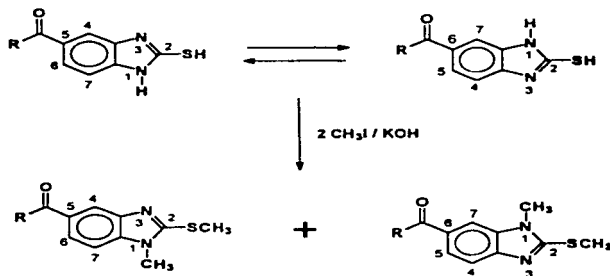


Figura No. 3. Isomería de los 2-mercaptobencimidazol y sus productos de dimetilación.

El producto se purificó como mezcla y se recrystalizó de ciclohexano dando cristales amarillo pálido, con $p f = 99-110\text{ }^{\circ}\text{C}$. Por recrystalizaciones sucesivas de hexano se logró separar, en forma pura, uno de los dos isómeros (VII a) con un bajo rendimiento (11.76%), correspondiente al isómero de mayor $R_f = 0.43$. Para su identificación se realizó el análisis espectroscópico siendo relevante el experimento NOESY de RMN ^1H (No 19), en el cual se observó claramente la relación espacial entre el metilo de la posición 1 (3.73 ppm) con el singulete doblete, (a 8.0 ppm) atribuido a un hidrógeno con acoplamiento meta en otro hidrógeno, por lo que la estructura de (VII a) perteneció al 1-metil-2-metilio-6-metoxicarbonilbencimidazol.

Para la identificación de la mezcla (VII) se determinaron los espectros de RMN ^1H (No 13), éste presentó cuatro señales para los metilos a 2.75 ppm asignado al S-CH₃, a 3.72 y 3.73 ppm para los N-CH₃ y otra a 3.85 ppm del O-CH₃, además del multiplete en la región aromática que integró para 3H a 8.2 - 7.45 ppm. El IR (No 14) mostró una banda a 1612 de C=O a 1704 del O-CH₃, y entre 2942- 2839 perteneciente a C-H.

La hidrólisis alcalina de la mezcla (VII), dio el ácido 1-metil-2-metilio-5(6)-bencimidazolilcarboxílico (VIII), teniéndose también una mezcla de isómeros. Para identificar a (VIII) se determinaron los espectros de RMN ^1H (No 20), en éste se observó la desaparición de la señal a 3.9 ppm del -CO-OCH₃, además de 2 señales para los metilos de S-CH₃ a 2.78 ppm y N-CH₃ a 3.7 ppm. El IR (No 21) mostró una banda amplia entre 3069-2785 característica del COOH confirmando la eliminación del metilo en el carboxilo.

Para formar las carboxamidas se intentaron tres caminos:

- 1) Vía cloruro del ácido; a) utilizando cloruro de tionilo, dicloroetano, DMF; b) piridina, cloruro de tionilo, DMF; c) piridina, cloruro de oxalilo, DMF d) usando cloruro de oxalilo, dicloroetano, DMF, pero no fueron viables debido a la poca solubilidad que presentó el producto (VIII) en disolventes apróticos.
- 2) Sustitución directa al éster (VII), por la amina correspondiente utilizando como base n-butilitio. Se consideró que si se utilizaba una base como el n-butilitio, éste tomaría el protón de la amina generando el anión, aumentando así el poder nucleófilo de esta molécula, facilitando el ataque al grupo carbonilo

del éster, para formar la carboxamida esperada; sin embargo, no hubo reacción. 3) Utilizando a) el 1,1-carbonildiimidazol, diclorometano y DMF; ésta reacción se asemeja a la primera, ya que en lugar de formarse el cloruro del ácido, se genera el anhídrido mixto, siendo el imidazol mejor grupo saliente, factible de ser sustituido por la piperidina o la 4-metilpiperidina, los resultados obtenidos fueron positivos b) también se intentó con 1,3-diciclohexilcarbodiimida, dimetoxietano, DMF esperando tener el mismo comportamiento que con el 1,1-carbonildiimidazol, pero no se presentó reacción.

Dado lo anterior, la obtención de las amidas se llevó a cabo, haciendo reaccionar (VIII) con 1,1-carbonildiimidazol, diclorometano y DMF, para formar el anhídrido mixto; finalizando con la adición de piperidina o 4-metilpiperidina; obteniéndose las carboxamidas 1-metil-2-metil-5(6)-(piperidinilcarbonil)bencimidazol (IX a, IX b), con $R_f = 0.21$ y $R_f = 0.34$, y con un rendimiento del 64.10%; asimismo las carboxamidas 1-metil-2-metil-5(6)-[(4-metilpiperidinil)carbonil]bencimidazol (X a, X b), con un rendimiento 61.59% y $R_f = 0.22$ y $R_f = 0.27$. En el espectro de RMN ^1H (No 23) de la mezcla (IX a, IX b) se observaron las señales amplias a 4.23, 3.5 y 1.7-1.3 características de los protones de piperidina, a 3.68 y 3.67 dos singuletes asignados a los CH_2 unidos al nitrógeno 1 (para cada isómero). Por otro lado, también se observó la señal para el S- CH_3 a 2.8 ppm. El espectro de IR (No 24) presentó la banda C=O de amida a 1616. Estas señales coincidieron con los espectros de RMN ^1H y de IR de la mezcla preparados por la RP (espectro No 26 y 27 respectivamente), siendo importante observar que las señales son muy parecidas.

Para el otro par de carboxamidas (X a, X b) se hizo el mismo análisis y el espectro de RMN ^1H (No 28), presentó el N- CH_2 a 3.68 y 3.67 ppm un singulete para cada isómero, a 2.81 el S- CH_3 , y la señal múltiple para el CH_2 en 4' del 4-metilpiperidinilo en 0.96-0.99 ppm. El espectro de IR (No 29) mostró una banda a 1624 de C=O de amida.

También en este caso el espectro de RMN ^1H y de IR (No 31 y 32 respectivamente) de la mezcla (14a, 14b) sintetizada en RP, coincidió con el espectro de la mezcla de (X a, X b).

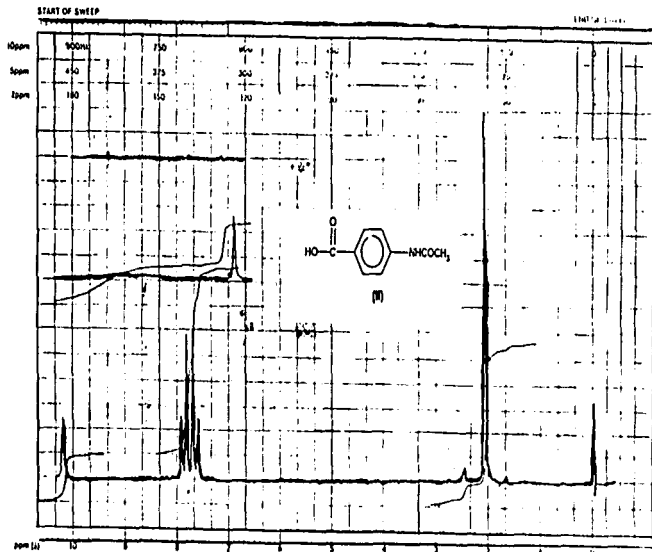
7. CONCLUSIONES.

La ruta sintética alterna propuesta en este estudio, ofreció las siguientes ventajas: 1) El trabajo experimental se realizó en menos tiempo; 2) Los rendimientos y purificación de los compuestos intermediarios obtenidos fueron optimizados, en general se lograron entre un 70-90% y no se necesitó de métodos laboriosos y lentos de cristalización para dichos compuestos; 3) Se logró obtener una molécula que puede servir como materia prima para una variedad de carboxamidas; 4) Gracias a lo anterior, se consolidaron las experiencias adquiridas en el trabajo experimental, así como en conceptos teóricos, que nos llevan a un trabajo de investigación de nuevas moléculas de interés farmacéutico.

Sin embargo esta síntesis presentó también ciertas desventajas que a continuación mencionaremos: a) No se evitaron las mezclas de isómeros, ya que al metilar el 2-mercaptobencimidazol (tanto en la ruta alterna como en la ruta previa), se observó tautomería protónica entre los nitrógenos 1 y 3, y para su separación se tendría que usar placas cromatográficas preparativas, columnas o bien recristalizaciones sucesivas y estos pasos eran los que se deseaban evitar; b) Tampoco se redujo el número de etapas de experimentación.

Resta investigar otras opciones de síntesis, para lograr la optimización de este proceso experimental, por nuestra parte recorrimos uno de estos posibles caminos y queda la tarea a otros la continuación de estos estudios.

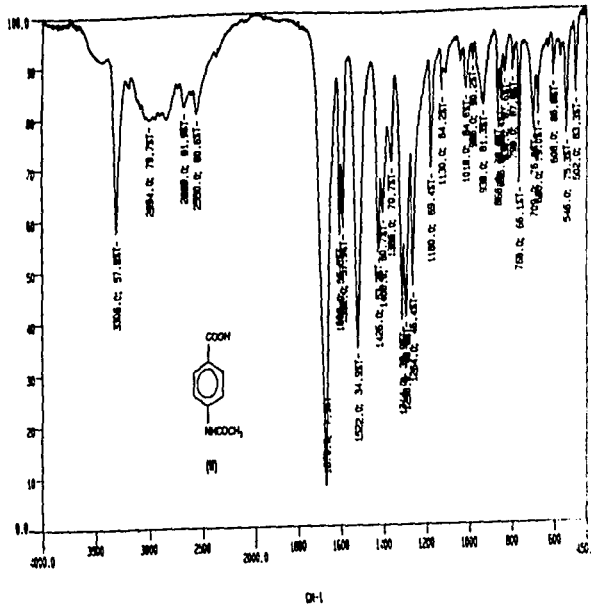
8. ESPECTROS.



ESPECTRO No 1. ACIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO (II)

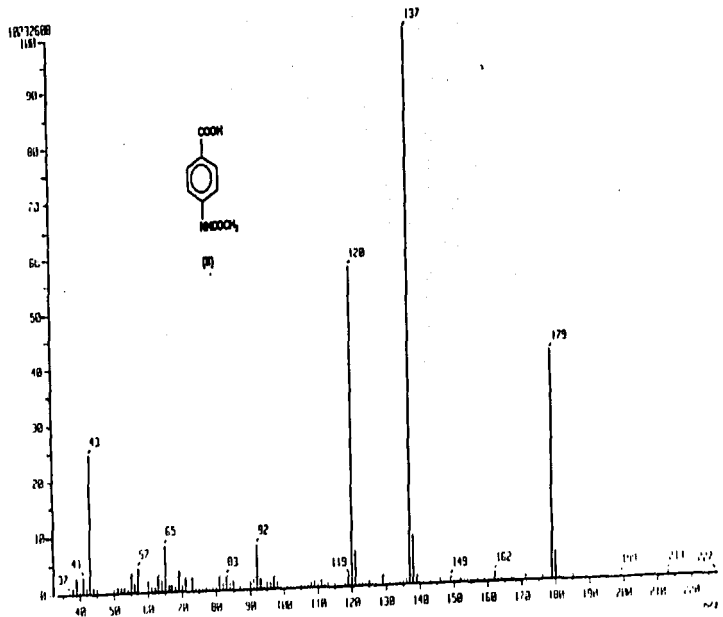
ESPECTROS

E



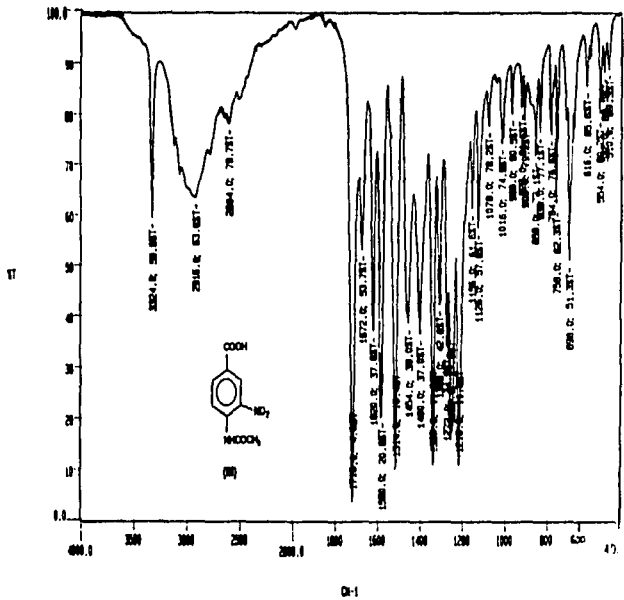
ESPECTRO No 2. ACIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO (II).

ESPECTROS



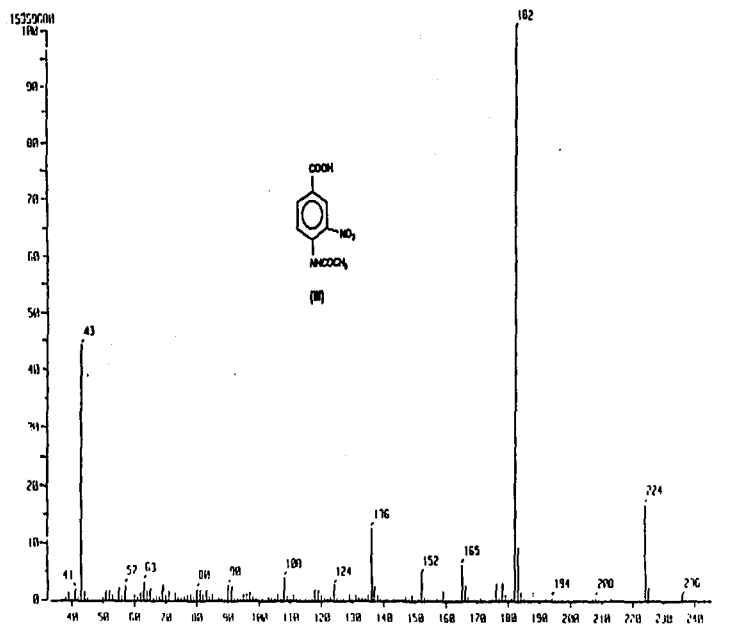
ESPECTRO N° 3. ACIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO (II).

ESPECTROS



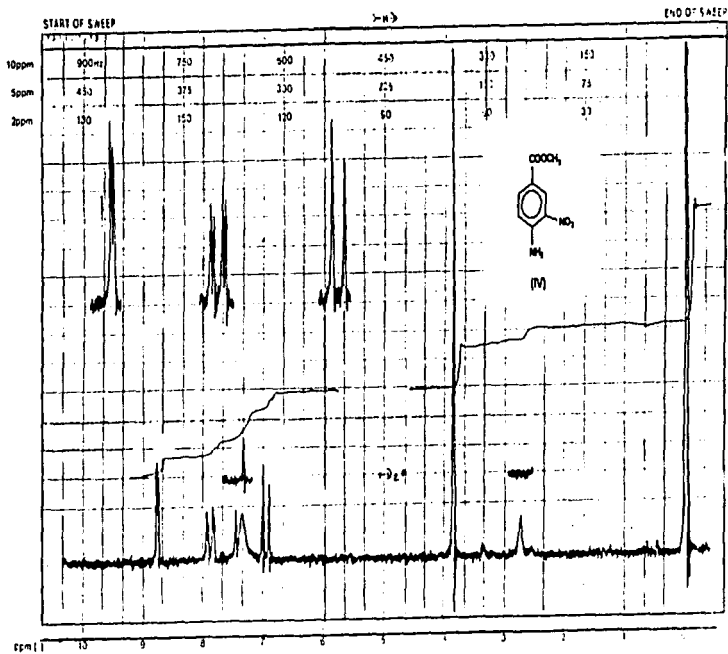
ESPECTRO No 5. ACIDO 4-ACETAMIDO-3-NITROBENZOICO (III)

ESPECTROS



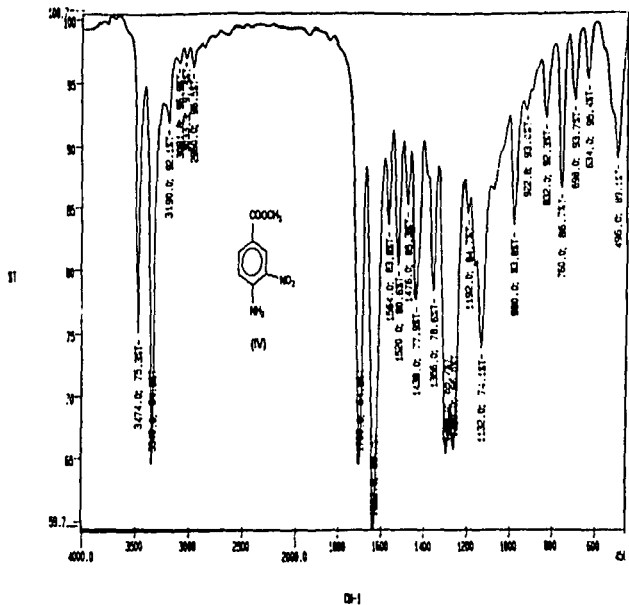
ESPECTROS

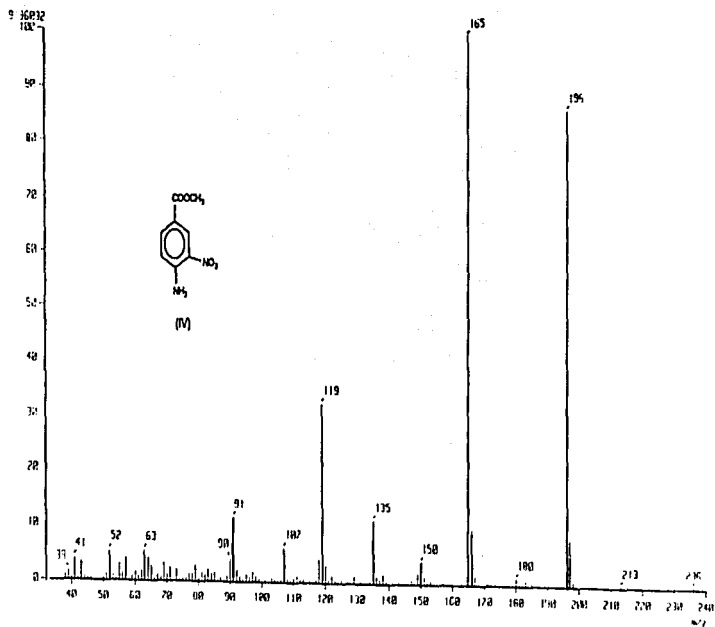
ESPECTRO No 6. ACIDO 4-ACETAMIDO-3-NITROBENZOICO (III)



ESPECTRO No 7. 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO (IV).

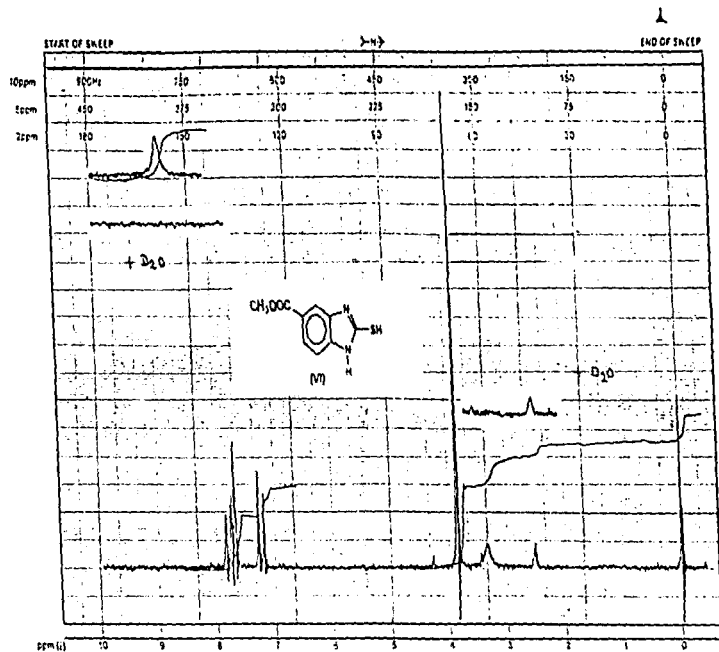
ESPECTROS





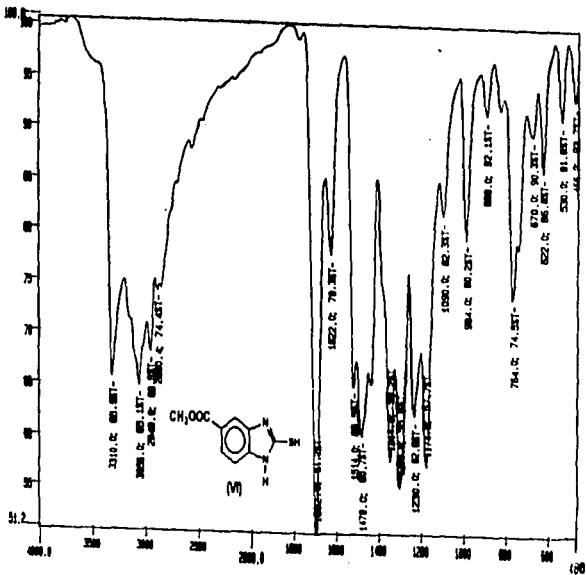
ESPECTRO N.º 9. 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO (IV).

ESPECTROS



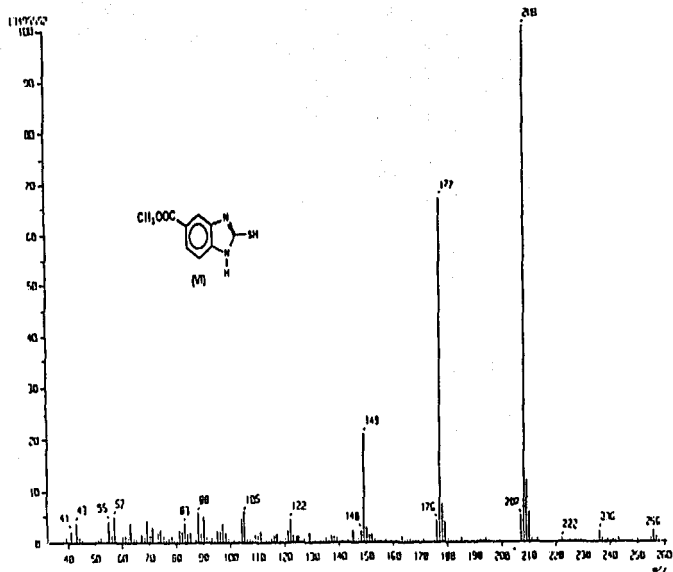
ESPECTROS

ESPECTRO No 10. 2-MERCAPTO-5-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VI).



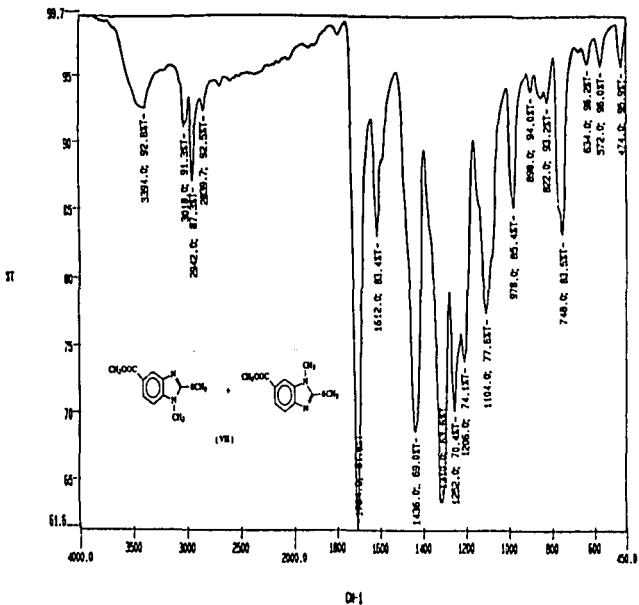
ESPECTRO No 11. 2-MERCAPTO-5-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VI).

ESPECTROS

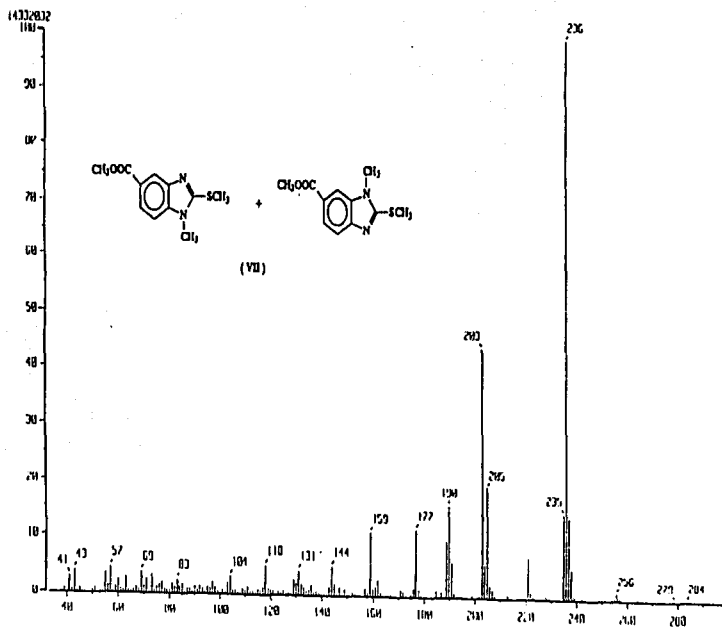


ESPECTRO No 12. 2-MERCAPTO-5-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VI).

ESPECTROS

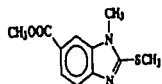


ESPECTRO No 14. 1-METIL-2-METILIO-5(6)-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII).

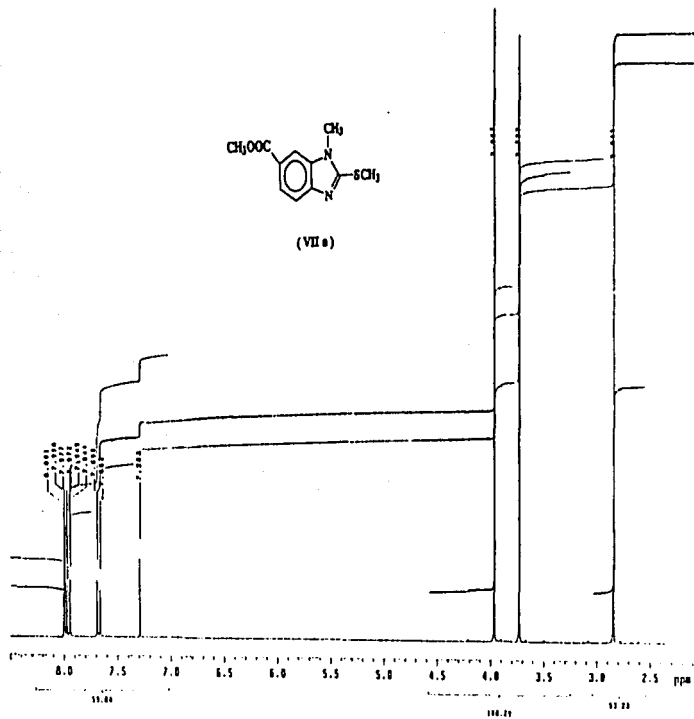


ESPECTRO No 15 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII).

ESPECTROS

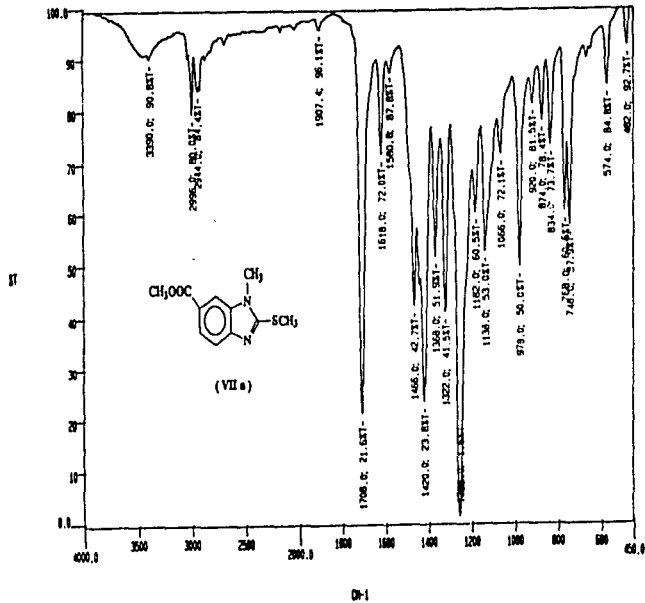


(VII a)



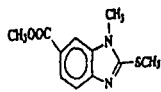
ESPECTRO No 16 1-METIL-2-METIL-6-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII a).

ESPECTROS

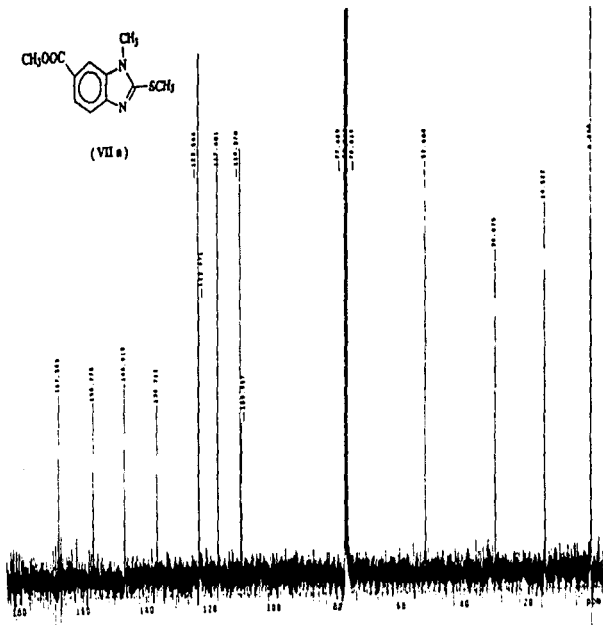


ESPECTRO No 17 1-METIL-2-METILTIO-6-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII a).

ESPECTROS

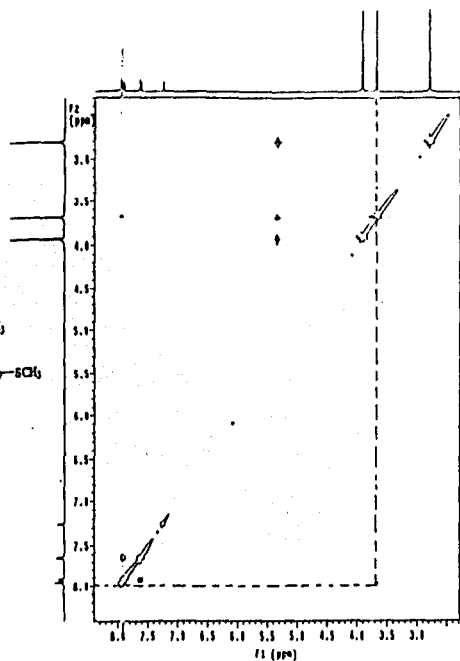
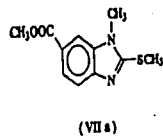


(VII a)



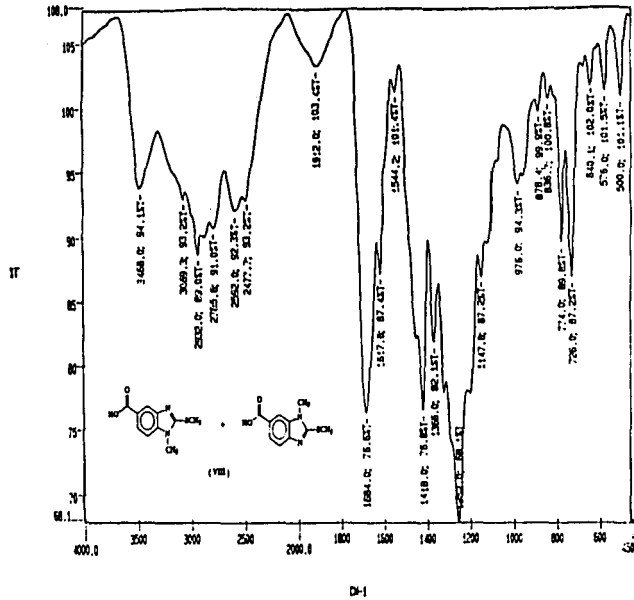
ESPECTRO No 18 1-METIL-2-METILTIO-6-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII a)

ESPECTROS

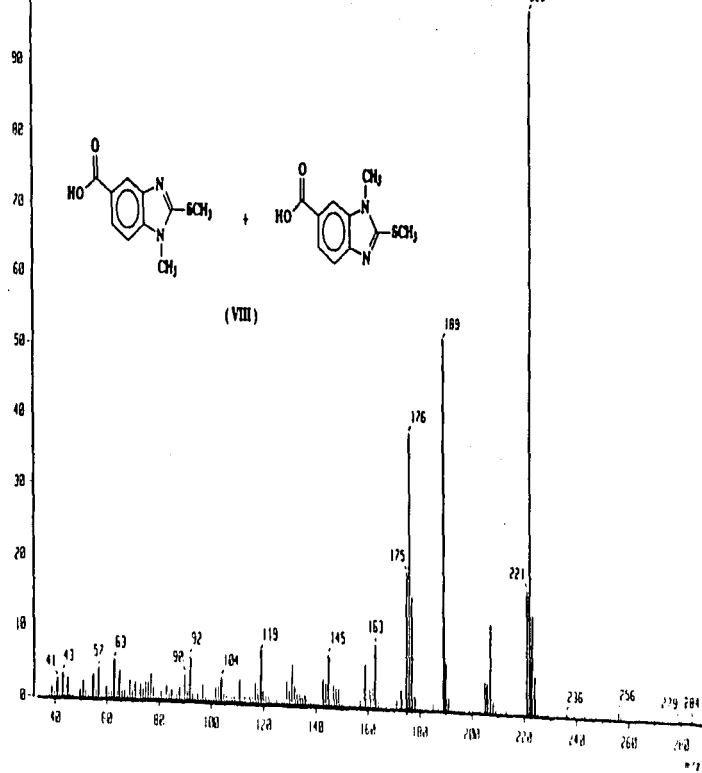


ESPECTRO No 19 1-METIL-2-METILTIO-6-METOXICARBONILBENCIMIDAZOL (VII a).

ESPECTROS

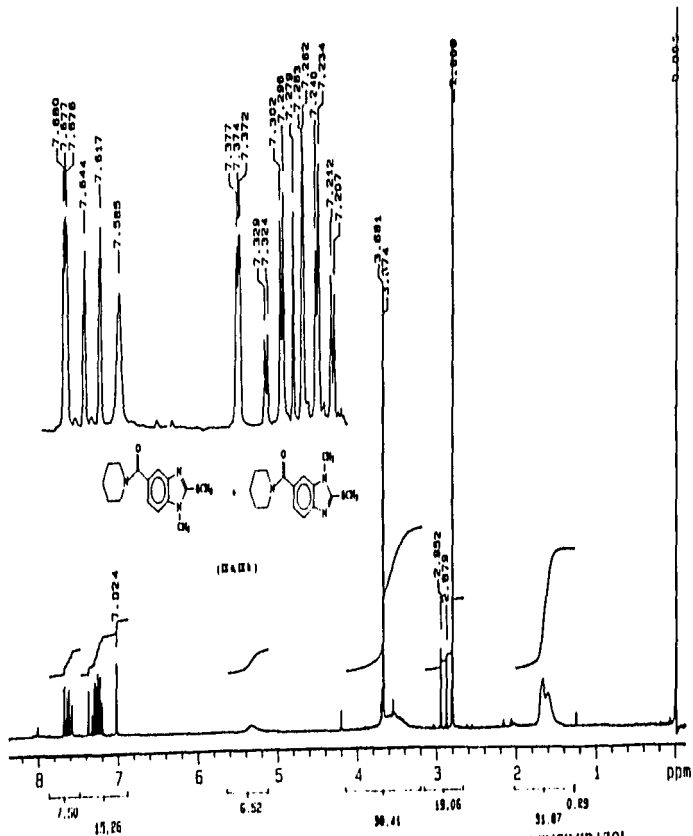


ESPECTRO No 21 ACIDO 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-BENCIMIDAZOLILCARBOXILICO (VIII)



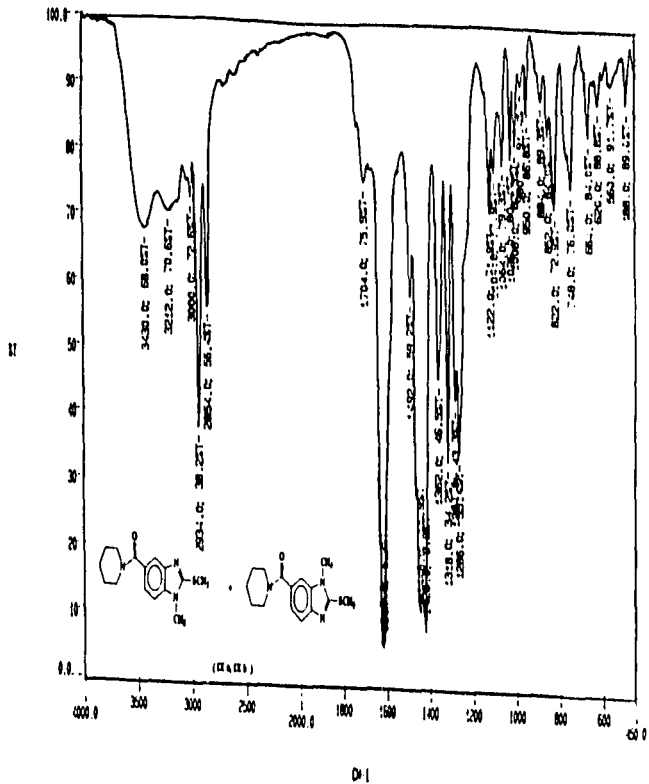
ESPECTRO No 22 ACIDO 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-BENCIMIDAZOLILCARBOXILICO (VIII).

ESPECTROS

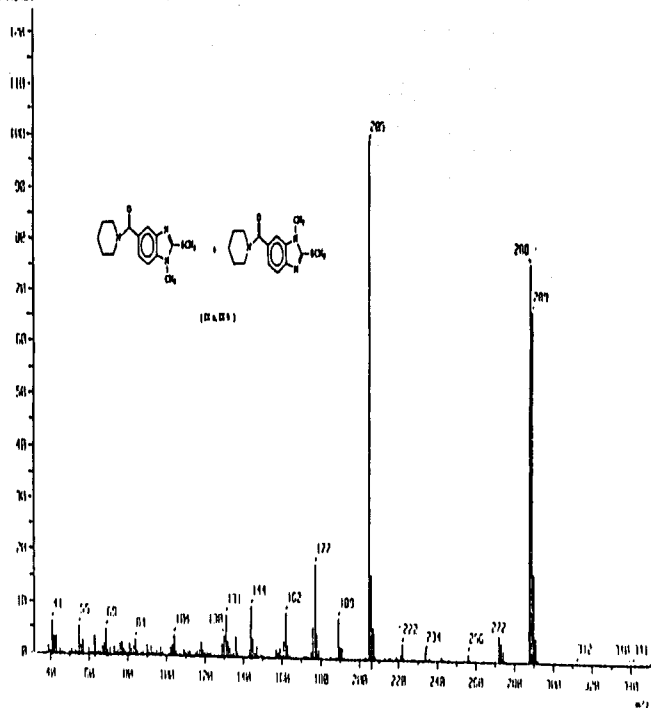


ESPECTRO No 23 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-(PIPERIDINILCARBONIL)BENZIMIDAZOL
(IXa, IXb)

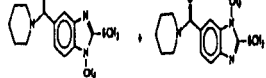
ESPECTROS



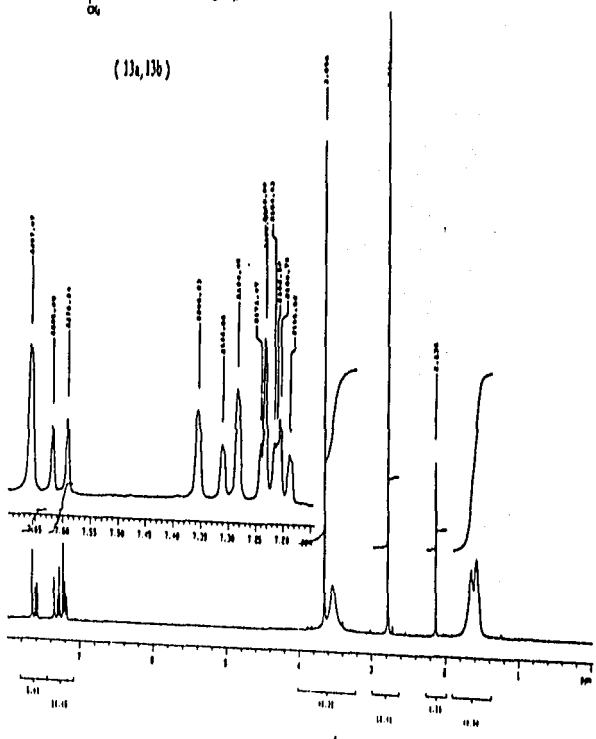
ESPECTRO No 24 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-(PIPERIDINILCARBONIL)BENZIMIDAZOL
(IXa, IXb)



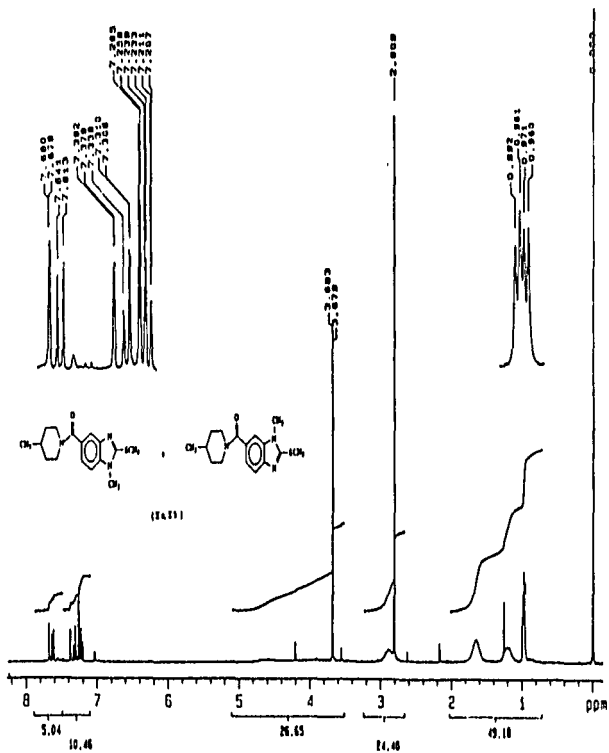
ESPECTRO No 25 1-METIL-2-METIL-5(6)-(PIPERIDINILCARBONIL)BENZIMIDAZOL
(IXa, IXb).



(13a, 13b)

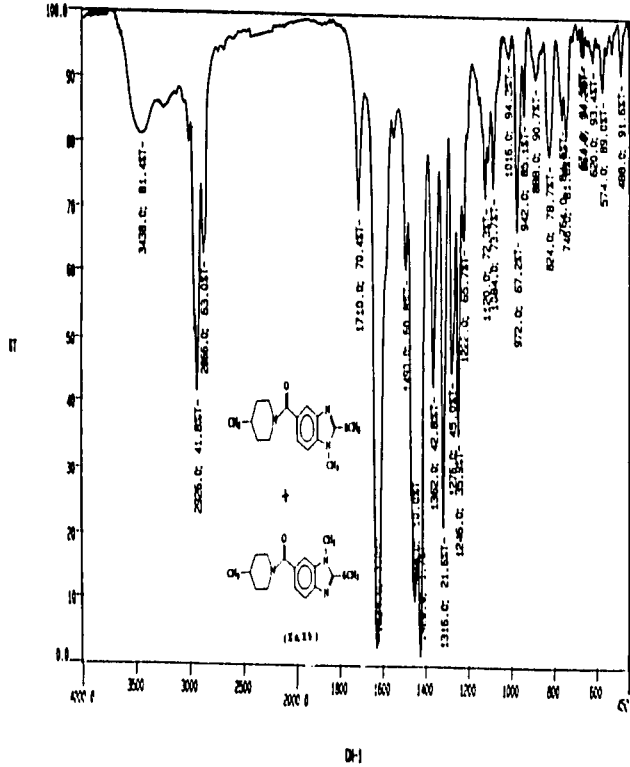


ESPECTRO No 26 1-METIL-2-METILTI-O-5(6)-(PIPERIDINIL CARBONIL)BENCIMIDAZOL
(13a, 13b).

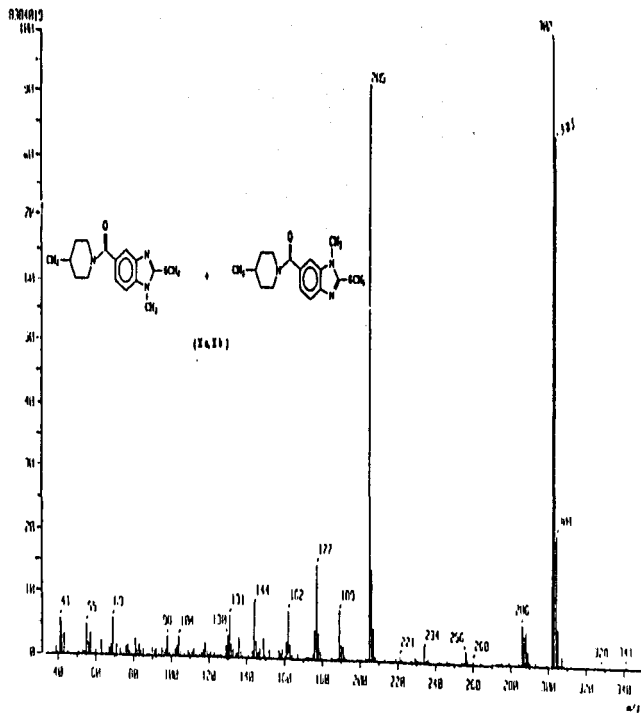


ESPECTRO No 28 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-(4-METILPIPERIDINIL)CARBONIL]BENCIMIDAZOL
 (Xa, Xb)

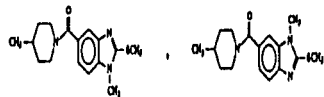
ESPECTROS



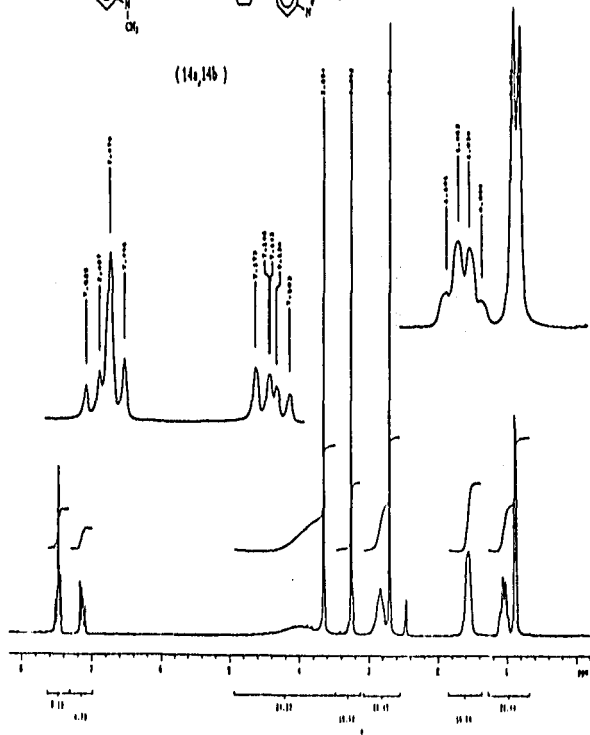
ESPECTRO No 29 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-(4-METILPIPERIDINIL)CARBONILBENCIMIDAZOL
(Xa, Xb)



ESPECTRO No 30 1-METIL-2-METILTIO-5-(4-METILPIPERIDINIL)CARBONIL]BENCIMIDAZOL
(Xa, Xb).



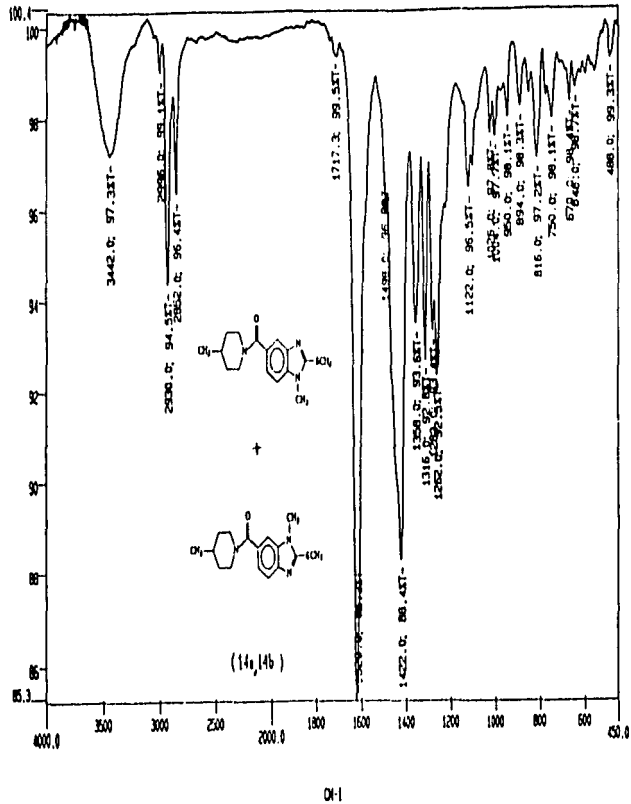
(14a, 14b)



ESPECTRO No 31 1-METIL-2-METILTIO-5(6)-(4-METILPIPERIDINIL)CARBONIL]BENCIMIDAZOL
(14a, 14b)

ESPECTROS

IR



BIBLIOGRAFIA.

1. Alcaíno, H.; Apt, B. W.; Algunos antecedentes sobre la fasciolosis animal y humana, *Medicina Veterinaria (Monografías)*, (1989), **11** (1), págs. 21-22.
2. Alvarez, C. R.; Fasciolosis, "Ciclo de conferencias parasitológicas in memoriam del Dr. Antonio Acevedo Hernández", (1992), Quintero Ma. Teresa, Ed. UNAM- FAC MVYZ, pág. 117.
3. Apt, W.; Aguilera, X.; Vega, F.; Miranda, C.; Zulantay, I.; Perez, C.; Gabor, M.; Apt, P.; Treatment of human chronic fasciolosis with triclabendazole: Drug efficacy and serologic response, *American Journal of Medicine and Hygiene*, (1995), **52** (6), 532-535.
4. Arteaga, I.; Tay, Z. J.; Bucio, T. M.; Salazar, S. P.; Fasciolosis humana, *Zoonosis Parasitarias (Memorias)*, (1986), Acevedo Antonio, Quiroz Héctor, eds., UNAM-FAC. MVYZ, págs. 127-132.
5. Beard, C. C.; Pat. USA, **4086235**, otorgada Syntex, USA, (1990).
6. Boray, J. C.; Crowfoot, P. D.; Strong, M. B.; Allison, J. R.; Schellenbaum, M.; Vonorelli, M.; Sarasin, G.; Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* in Sheep with Triclabendazole, *Veterinary Record*, (1983), **113**, págs. 315-317.
7. Brown, H. D.; Matzuk, A. R.; Ilves, I.R.; Peterson, L. H.; Harris, S. A.; Savett, L. H.; Egerton, J.R.; Yakstis, J. J.; Campbell, W. C.; y Cuckler, A. C.; Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-thiazolyl)-benzimidazole. A New Anthelmintic., *Journal American Chemical Society*, (1961), **83**, págs. 1764-1765.
8. Campbell, W.C., The chemotherapy of parasitic infections, *Journal Parasitology*, (1986), **72** (1), 45-61.
9. *Catálogo Aldrich*, (1990-1991), **13**, 333-7, pág. 3.
10. Ciba Geigy, A. G. Suiza, Pat. Belga **865870**, (1978).

11. Del Villar, M.R.; Guzmán, V. M.; (1996). Síntesis de nuevas carboxamidas bencimidazólicas con potencial actividad antihelmíntica, *Tesis de licenciatura*, FESZ, UNAM, (1996).
12. Encinas, G. R.; Quiroz, R. H.; Guerrero; M.C.; Galván O. P.; Frecuencia de Fasciolosis hepática e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferrería, México D. F., *Veterinaria México*, (1989), 20, 423-425.
13. Herrera, R.D.; Control químico de la helmintiasis en rumiantes. " *Ciclo de conferencias parasitológicas in memoriam del Dr. Antonio Acevedo Hernández*", (1992), Quintero Ma. Teresa, Ed, UNAM- FAC. MVYZ, pág. 202-207.
14. Horton, R. J.; Benzimidazoles in a Wormy World, *Parasitology Today*, (1990), 6 (4), pág. 106.
15. Islip, P. J., *Burquer's Medicinal Chemistry*, (1981), 4th, Manfre E. Wolff, ed., John Wiley & Sons, New York, Part. II, Cap. 21.
16. Janssen, P. A. J.; Raeymaekers, A. H. M.; Van Gelder., J. L. H.; Roevens, L. F. C., (1971, 1972 to Janssen). Ger. Pat. 2029637 corresp. to U. S. Pat. 3657267.
17. Loutan, L.; Bouvier, M.; Rojanawisut, B.; Stalder, H.; Rován, M. C.; Buescher, G.; Poltera, A. A.; Single treatment of invasive Fascioliasis with Triclabendazole, *The Lancet*, (1989), 2, pág. 383.
18. Milian, S. F.; Pronóstico Médico y Económico, *Fasciolosis Vol. Conmemorativo*, (1986), Flores Raúl, Quiroz Héctor, Ibarra Froylán, eds, UNAM-FAC. MVYZ, págs. 310-327.
19. Najera, F. R.; Fasciolosis, *Zoonosis Parasitarias (Memorias)*, (1982), Acevedo Antonio, Quiroz Héctor, eds., UNAM-FAC. MVYZ, págs. 236-242.
20. Nakanishi, K.; *Infrared Absortion Spectroscopy*, (1982), 2a. ed., Holden Day, San Francisco.
21. O. M. S.; Distomas intestinales hepáticos y pulmonares, *Modelo O. M. S. de información sobre prescripción de medicamentos utilizados de las enfermedades parasitarias*, (1991), Ginebra, págs. 127-128.
22. Quiroz, R. H.; Fasciolosis en animales domésticos, *Zoonosis Parasitarias (Memorias)*, (1991a), Acevedo Antonio, Quiroz Héctor, eds., UNAM-FAC. MVYZ, págs. 56-59.

23. Quiroz, R. H.; **Importancia de registros en el control de *Fasciola hepatica***, *Congreso Nacional de Buiatria (Memorias)*, (1991b), Asociación Mexicana de Medicos Veterinarios especialistas en Bovinos A.C., eds., págs. 102-105.
24. Quiroz, R. H.; *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*, (1994), edit. UTEHA, México, 5a edición, págs. 232-247.
25. Richards, R. J.; Bowen, F. L.; Essenwein, F.; Steiger, R. F.; Büscher, G.; **The efficacy of Triclabendazole and other anthelmintics against *Fasciola hepatica* in controlled studies in cattle**, *Veterinary Record*, (1990), **126**, págs. 213-216.
26. Stitt, A. W.; Fairweather, I.; **The effect of the sulphoxide metabolite of Triclabendazole (Fasinex) on the tegument of mature and immature stages of the liver fluke, *Fasciola hepatica***, *Parasitology*, (1994), **108**, 555-567.
29. *The Aldrich Library of IR Spectra*, (1977), 2a. ed., Charles J. Pouchet editor, Aldrich Chemical Company, 3.
30. *The Aldrich Library of RMN Spectra*, (1982), 2a. ed., Charles J. Pouchet editor, Aldrich Chemical Company, 2.
31. Theodorides, V. J.; Gyurik, R. J.; Vassilios, J.; Pat. U.S.A., **3915986**, (1975).
32. Townsend, L. B.; Wisse, D. S.; **The Synthesis and Chemistry of Certain Anthelmintic Benzimidazoles**, *Parasitology Today*, (1990), **6** (4), págs.107-112.
33. Turner, K.; Armour, J.; Richards, R. J.; **Anthelmintic efficacy of Triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep**, *Veterinary Record*, (1984), **114**, págs. 41-42.
32. Wessely, K.; Reischig, H. L.; Heinerman, M.; Stempka, R.; **Human fascioliasis treated with triclabendazole (Fasinex) for the first time**, *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, (1988), **82**, 743-745.