

35
21.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

SINTESIS DE BIOPRECURSORES POTENCIALES
DEL 5-CARBOXI-1H-BENCIMIDAZOL-2-CARBAMATO
DE METILO (FILARICIDA).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

HUGO GARRIDO HERNANDEZ



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.

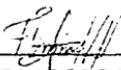
JURADO ASIGNADO :

PRESIDENTE	PROF. CASTILLO BOCANEGRA RAFAEL.
VOCAL	PROF. JIMÉNEZ ESTRADA MANUEL.
SECRETARIO	PROF. HERNÁNDEZ LUIS FRANCISCO.
1ER. SUPLENTE	PROF. REYES TREJO LINO JOEL.
2DO. SUPLENTE	PROF. RÍOS OLIVARES HÉCTOR.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA :

DEPARTAMENTO DE FARMACIA, LABORATORIO No. 122. CONJUNTO E.
FACULTAD DE QUÍMICA, U.N.A.M.

ASESOR :



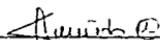
M. C. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS

SUPERVISOR TÉCNICO :



M. C. ALICIA HERNÁNDEZ CAMPOS

SUSTENTANTE :



HUGO GARRIDO HERNÁNDEZ

DEDICO ESTA TESIS A :

Mis padres Teresa Hernández Calderón y Manuel Garrido Espinosa por enseñarme con el ejemplo que no existen imposibles.

A mi hermana Vanesa Garrido Hernández por ser mi alma gemela.

A las familias Garrido Espinosa y Hernández Calderón por su amor interminable.

AGRADECIMIENTOS :

A mis compañeros y amigos de los laboratorios 121 y 122 por su apoyo y buena compañía.

A Diana González por su eterna amistad y apoyo.

A Karla Cuevas (Karilila) por que la semilla de nuestra amistad genere un árbol capaz de atravesar fronteras.

A todas aquellas personas que de alguna u otra manera contribuyeron a mi formación universitaria.

Al personal del departamento de Espectroscopia y Espectrometría del Instituto de Química por su apoyo en el registro de espectros.

A las Químicas Maricela Gutiérrez, Alejandrina Acosta, Graciela Chávez e Irene Audela del departamento de Química Analítica de la Facultad de Química por el registro de espectros de IR y RMN.

Al subprograma 121 "Formación de Profesores" de la UNAM; al programa "Iniciación Temprana a la Investigación", y al programa de "Intercambio Académico" de Fundación UNAM.

Al Dr. Rafael Castillo B. y a la M.C. Alicia Hernández C. por su apoyo y consejos.

Y FINALMENTE PERO NO POR ESO MENOS IMPORTANTE...

**Al M.C. Francisco Hernández Luis por su interminable comprensión, sabios
consejos, apoyo incondicional y sincera amistad ¡ GRACIAS !**

"Porque la mujer dormida debe dar a luz..."

RESUMEN

En esta tesis se describe el intento de la mejora de la solubilidad acuosa de el 5-carboxi-1H-benzimidazol-2-carbamato de metilo, sustancia que ha probado ser filaricida en pruebas *in vivo* e *in vitro*, por medio de la obtención, a través de la síntesis orgánica de sus distintos bioprecusores potenciales. La síntesis orgánica involucró el uso de reacciones de nitración, esterificación, reducción y síntesis convergente partiendo de el ácido 4-aminobenzoico como materia prima. La caracterización de los productos finales e intermedios requirió la determinación de sus puntos de fusión y Rf, así como también el empleo de técnicas espectroscópicas para su elucidación estructural.

INDICE

1. Introducción	1
2. Antecedentes	
2.1 Las Filarias	5
2.1.1 Superfamilia Filarioidea	6
2.2 Los Bencimidazoles	9
2.2.1 Mecanismo de Acción de los Bencimidazoles	12
2.3 Perfil del Agente Terapéutico Ideal	14
2.4 Los Profármacos	15
2.4.1 Los Derivados Biorreversibles	16
2.4.2 Los Bioprecusores	17
3. Planteamiento de el Problema	21
4. Objetivos	22
5. Consideraciones para el Diseño	23
6. Metodología	27
7. Resultados	35
8. Discusión	41
9. Conclusiones	67
10. Parte Experimental	
10.1 Instrumentación	69
10.2 Cromatografía en Capa Fina	70
10.3 Composición de los Sistemas de Elución Utilizados	70
10.4 Acido 4-acetamidobenzoico (1)	70
10.5 Acido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (2)	71
10.6 Acido 4-amino-3-nitrobenzoico (3)	72
10.7 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (4)	72
10.8 3,4-Diaminobenzoato de metilo (5)	73
10.9 3,4-Bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzoato de metilo (6)	74

10.10 3-(3-Metoxicarbonil-2-tioureido)-4-(metoxicarbonilamino)benzoato de metilo (7)	75
10.11 4-Amino-3-nitrobenzoato de etilo (8)	75
10.12 3,4-Diaminobenzoato de etilo (9)	76
10.13 N-Metoxicarbonil-N'-(3-etoxicarbonil-6-aminofenil)tiourea (10)	77
10.14 4-Amino-3-nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11)	78
10.15 3,4-Diaminobenzoato de pivaloiloximetilo (12)	79
10.16 3,4-Bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzoato de pivaloiloximetilo (13)	80
10.17 3-(3-Metoxicarbonil-2-tioureido)-4-metoxicarbonilaminobenzoato de pivaloiloximetilo (14)	81
10.18 Acido 3,4-Diaminobenzoico (15)	81
10.19 Acido 3,4-Bis(trifluoroacetamido)benzoico (16)	82
11. Bibliografia	84
12. Espectros	88

I. INTRODUCCION

De entre las seis principales enfermedades tropicales (filariosis, esquistosomiosis, malaria, leishmaniosis, tripanosomiosis y lepra) reconocidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la causa principal de morbilidad y mortalidad en el trópico,¹ la filariosis es sin duda una de las más esparcidas y debilitantes en los seres humanos. La filariosis es un término de denominación general que abarca a todas aquellas enfermedades o padecimientos causados por filarias. Las filarias son un tipo de helmintos clasificados dentro de la superfamilia Filarioidea, que incluye a especies como *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus*, *Loa loa*, etc.

La filariosis es transmitida al hombre por una extensa variedad de artrópodos hematófagos, generalmente mosquitos y moscas, que introducen un gran número de larvas infectantes a la circulación sanguínea mientras se alimentan de sangre humana. Así, el ciclo de vida de los parásitos se completa en dos hospederos, humanos (hospedero definitivo) y vectores artrópodos (hospedero intermediario).

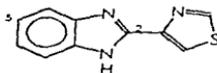
Los gusanos adultos viven en tejidos conectivos, vasos y nódulos linfáticos, capas cutáneas y en otras cavidades. Los gusanos hembra, después de haberse reproducido sexualmente con los gusanos macho, producen microfilarias, que viajan a circulación sanguínea y tejidos subcutáneos de donde son captadas por un vector adecuado para reiniciar el ciclo.

Se estima que existen entre 300 y 400 millones de personas infectadas por distintas formas de filarias y que muchas más se encuentran en peligro de contraerlas. La filariosis linfática, causada por *W. Bancrofti*, *B.*

malayi y *B. timori*, es la filariasis más común y esparcida de todas. Las manifestaciones clínicas que caracterizan a la filariasis linfática incluyen tres fases: Inflamación, obstrucción de la circulación linfática y elefantiasis, caracterizada por un crecimiento masivo de piernas, brazos, escroto y pecho.

El número de moléculas que se han empleado para el tratamiento de las distintas filariosis es grande, e incluye compuestos tales como organoantimoniales, organoarsenicales y organofosforados; sin embargo, su uso ha sido limitado dado el gran número de efectos adversos que ocasionaron al paciente cuando le fueron administrados.

De entre los fármacos que se siguen utilizando en el tratamiento de las filariosis se encuentran el Suramin, la Dietilcarbamazina y la Ivermectina; además de éstos, es de particular interés la mención de el uso de los Bencimidazoles, que data de la década de los sesenta cuando se sintetizó el Tiabendazol (TBZ) (Fig. 1) por personal de los laboratorios Merck, empezándose a distribuir en el área veterinaria para después pasar a uso humano. Dada la inactivación metabólica que presentó la molécula de Tiabendazol al ser administrado se inició una serie de investigaciones sobre la molécula de Bencimidazol con el objeto de combatir su inactivación y aumentar su potencia, que llevó al establecimiento de dos sitios claves en la molécula, las posiciones 2 y 5.



Tiabendazol

Figura 1.

El mecanismo de acción de los Bencimidazoles no ha sido del todo elucidado; se tienen evidencias de que la molécula de Bencimidazol interfiere con la actividad de diversas enzimas implicadas en la captación de glucosa y metabolismo de la misma y de lípidos, así como en la polimerización de las subunidades β de tubulina; por muy diversos que parezcan los sitios en donde se implica la actividad de los Bencimidazoles se ha postulado que el mecanismo principal de los mismos se localiza en la intervención sobre el equilibrio polimerización-despolimerización de la tubulina, ya que se parte de el conocimiento de la intervención de los microtúbulos en las distintas funciones celulares.

La principal desventaja que presentan, no sólo los Bencimidazoles, sino muchos de los principios activos, es su escasa solubilidad acuosa que limita en gran medida su capacidad para atravesar barreras biológicas, afectando su absorción y por tanto su biodisponibilidad. Dentro del campo de la Química Farmacéutica se encuentra el Diseño y Síntesis de Profármacos, que son moléculas cuya finalidad es la optimización de las propiedades farmacéuticas y fisicoquímicas de los principios activos originales, por medio de la generación de moléculas con características modificadas y que a través de reacciones que sufran dentro del cuerpo generen a la molécula que se requiere (principio activo original). Los profármacos se dividen en dos grandes grupos, que son los derivados biorreversibles y los bioprecusores, la diferencia entre ambos grupos estriba en el tipo de reacciones que deben sufrir para generar a la molécula activa y de la presencia o ausencia de un grupo acarreador; para que el diseño de los profármacos sea válido como una estrategia para modificar ciertas propiedades indeseables de la molécula original, éste debe

contemplar rutas sintéticas sencillas y económicas comparadas con aquella de el compuesto original.

2. ANTECEDENTES

2.1 LAS FILARIAS

La clasificación actual de los seres vivos se basa en tres niveles de organización :³

- 1) Material genético no localizado dentro de un sistema membranal : Procariontes, que corresponden al Reino Monera donde se encuentran como ejemplos los virus y las bacterias.
- 2) Material genético en un sistema membranal : Eucariontes, que son todos los organismos que, como su nombre lo indica, están dotados de núcleo verdadero y de diferentes organelos membranales ; en este grupo se encuentran los Protista y los Fungi.
- 3) Multi o pluricelularidad, que presentan todos los organismos que tienen una gran organización de tejidos, órganos y sistemas, como es el caso de los Metazoos.

Los helmintos son Metazoos que se reproducen sexualmente por medio de huevos ; su morfología es muy variada dependiendo del grupo al que pertenecen. Entre los helmintos parásitos del hombre existen dos Phyla : Platyhelminthes a la que pertenecen dos clases : Cestoda y Trematoda, y Aschelminthes (Cuadro 1) a la que pertenecen las clases Adenophorea (Aphasmidia) y Sescernentea (Phasmidia). Los organismos de las dos primeras familias son gusanos planos, mientras que los de las dos últimas familias son cilíndricos.

Cuadro 1.
 CLASIFICACION DEL SUBREINO METAZOA
 PHYLUM ASCHELMINTHES

PHYLUM	CLASE	ORDEN	SUPERFAMILIA	FAMILIA	GENERO
Aschelminthes	Adenophorea	Enopliida	Trichuroidea	Trichinellidae	<i>Trichinella</i>
				Capillariidae	<i>Capillaria</i>
				Trichuridae	<i>Trichuris</i>
	Rhabditida	Rhabdiasoidea	Strongyloidea	Strongyloidea	<i>Strongyloides</i>
				Uncinariidae	<i>Necator</i>
	Strongyloidea	Ancylostomatoidea	Ancylostomatidae	Ancylostoma	<i>Ancylostoma</i>
				Oxyuridae	<i>Oxyuroidea</i>
	Secernentea	Oxyurida	Oxyuroidea	Oyuridae	<i>Enterobius</i>
				Ascaridida	Ascaridoidea
	Spinida	Filaroidea	Gnathostomatoidea	Gnathostomatidae	
				Onchocerca	<i>Onchocerca</i>
				Wuchereria	<i>Wuchereria</i>
	Filaroidea	Filaroidea	Filaroidea	Loa	<i>Loa</i>
Mansonella				<i>Mansonella</i>	

2.1.1 Superfamilia Filaroidea.

Los miembros de esta superfamilia viven en su etapa adulta en los tejidos y cavidades del cuerpo de sus huéspedes definitivos. Las hembras son vivíparas y las larvas de primer estado, conocidas como microfilarias, son morfológica y fisiológicamente menos diferenciadas que las respectivas de otros nematodos. Como todos los miembros del Phylum sufren cinco mudas para llegar a ser adultos machos y hembras filiformes que poseen un gran dimorfismo sexual, pues, las primeras son muy grandes

y los machos son minúsculos. Las microfilarias son sanguíneas o linfáticas y pueden o no tener periodicidad nocturna. Son transmitidas por artrópodos. Las especies comunes se señalan a continuación :

- a) *Wuchereria bancrofti*, es una especie cuyo habitat son los vasos linfáticos; la enfermedad que produce se denomina Filariosis de Bancroft. Este parásito es transmitido por diferentes mosquitos entre los que figuran : *Culex quinquefascians* y *Aedes polynesiensis*, el primero es un mosquito de hábitos nocturnos domésticos y de predominio urbano ; en cambio, el segundo es diurno y silvestre. En el hemisferio occidental , este padecimiento se encuentra en zonas endémicas costeras de Costa Rica, Venezuela, Guyana, Guyana Francesa, Surinam, Nordeste de Brasil, Haití, República Dominicana y otras islas de las Antillas menores. En Africa se encuentra en regiones húmedas subsaharianas y hacia el Sur incluso Mozambique y en islas como las de Malagasy, Comores, Mascarenes, Seychelles y grupo de Chagos. En Asia se encuentra en gran parte de las regiones del sudeste y se extiende hasta Japón y hacia el Oeste hasta la India, con un pequeño foco en Turquía. En las islas del Pacifico se ha reportado en Nueva Guinea y Australia y en una gran cantidad de pequeñas islas de la zona. Las hembras producen microfilarias envainadas que tienen periodicidad nocturna, excepto las especies que se han encontrado en el Sur del Pacifico. Como secuela se presenta la elefantiasis de miembros superiores, inferiores, escroto y mamas.
- b) *Brugia malayi*, al igual que la anterior, también vive en los vasos linfáticos y produce microfilarias envainadas ; algunas cepas presentan periodicidad nocturna. Se encuentra en diversas zonas del Este asiático,

islas del Sudoeste del pacífico y algunas partes de la India. Es transmitida por mosquitos del género *Anopheles* y *Mansonia*.

a) *Onchocerca volvulus*. los adultos se localizan en nódulos subcutáneos y las microfilarias se encuentran en circulación linfática de piel y en la cámara anterior de el ojo; las microfilarias no son envainadas. La enfermedad que produce es la oncocercosis, conocida en lenguaje coloquial como ceguera de los ríos. Como secuela llega a producir ceguera irreversible. El parásito es transmitido por un mosquito del género *Simulium*. Se encuentra en África en una amplia franja que comprende Norte y Sur de la línea ecuatorial. En América se encuentra en diversos focos en Centro y Sudamérica que comprende países como Venezuela, Brasil, Colombia, Ecuador, Guatemala y México. En este último, se encuentran tres focos infecciosos, uno en la sierra de Ixtlán en Oaxaca y dos en el estado de Chiapas ubicados en la sierra de Chamula y en el Soconusco.

b) *Loa loa*. habita en los tejidos cutáneos y subcutáneos, las hembras producen microfilarias envainadas con periodicidad diurna. La enfermedad que produce es la loasis o hinchazón de Calabar, que es transmitida por moscas del género *Chrysops*. La parasitosis sólo se encuentra en África tropical.

c) *Mansonella perstans*. se localiza en cavidades, sobre todo en la peritoneal, las hembras producen microfilarias no envainadas, sin periodicidad, se encuentran en África y Sudamérica tropicales.

d) *Mansonella streptocerca*. se encuentra en piel y tejido celular subcutáneo, produce microfilarias no envainadas sin periodicidad y sólo se encuentra en África tropical.

e) *Mansonella ozzardi*, los adultos se encuentran en cavidades pleural, mediastinal, peritoneal y ocasionalmente pericárdica. Las microfilarias se encuentran en sangre periférica y no tienen periodicidad, la enfermedad que produce es la mansonelosis. Esta es una filaria netamente americana, ya que no se ha encontrado fuera del continente. Se encuentran zonas endémicas desde el norte de Argentina hasta la península de Yucatán en México. En las Antillas, sobre todo Haití, República Dominicana, Antigua, Dominica, Guadalupe, Martinica, Santa Lucía y San Vicente.

2.2 LOS BENCIMIDAZOLES

La intervención de la molécula de Bencimidazol dentro de la terapéutica se remonta mucho tiempo atrás, cuando en la década de los cincuenta se descubrió que ésta formaba parte de la estructura de la vitamina B₁₂ en la forma de 5,6-dimetil-1-(α -D-ribofuranosil)-bencimidazol.

La estructura de la molécula de Bencimidazol consiste en un sistema anular bicíclico, en donde un anillo de benceno se encuentra unido a las posiciones 4 y 5 de un anillo de imidazol.



Figura 2.

La molécula de Bencimidazol presenta un comportamiento ácido-base muy peculiar, pues cuando esta no se encuentra N-sustituida actúa como ácido y como base. Normalmente, la molécula de Bencimidazol se encuentra en equilibrio tautomérico (Fig. 2); este equilibrio, es de tipo intramolecular principalmente y afecta a las posiciones 5 y 6 de la molécula. Los Bencimidazoles en general, así como los Bencimidazol-2-carbamatos en particular, son sustancias con puntos de fusión altos y una escasa solubilidad acuosa.⁴

La primer molécula de Bencimidazol utilizada con fines de tratamiento contra parasitosis fue el Tiabendazol (TBZ) (Fig. 1); inicialmente, la utilización de esta molécula se enfocó al área veterinaria para después pasar a uso humano. La obtención de esta molécula mediante procesos sintéticos fue optimizada por personal perteneciente a los laboratorios Merck.⁴ Las principales desventajas que presentó el compuesto (Tiabendazol) fueron la inactivación por hidroxilación en la posición 5 seguida de conjugación con ácido glucurónico y la alta actividad teratogena de sus metabolitos.

Estudios subsiguientes realizados sobre la molécula de Bencimidazol con el objeto de enfrentar la inactivación metabólica dio origen a la segunda generación de Bencimidazoles, que presentan distintos grupos funcionales sobre la posición 5 de la molécula, un ejemplo de este grupo de Bencimidazoles constituye el Cambendazol (Fig. 3).

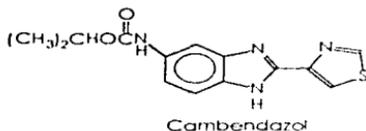
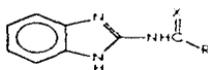


Figura 3.

Estudios posteriores sobre el grupo tiazolilo en la posición 2 de la molécula de Bencimidazol demostraron que este podía ser reemplazado por otros grupos, partiendo de una estructura general (Fig. 4).



X = S, R = OC_2H_5 .

X = O, R = alilo

X = O, R = alcoxi

X = O, R = alquilamino

Figura 4.

De esta forma se sintetizaron compuestos con un grupo tiocarbonato, 2-acilbencimidazoles, 2-bencimidazoilcarbamatos y 2-bencimidazoilureas, todos estos compuestos con cierto grado de actividad; sin embargo, los derivados 2-metilcarbamatos mostraron ser los más efectivos.

Resumiendo, la molécula de Bencimidazol ha sufrido modificación estructural, principalmente en dos posiciones de la molécula, con el objeto de la obtención de moléculas más activas y potentes, correspondiendo a

las posiciones 2 y 5 de la molécula marcadas con las letras X e Y respectivamente (Fig. 5).

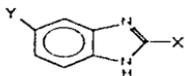


Figura 5.

Estudios de relación estructura-actividad entre diversas moléculas del tipo Bencimidazol muestran que la parte de la molécula que incluye el anillo de Bencimidazol así como el sustituyente en la posición X se encuentran en un solo plano, mientras que el sustituyente en posición Y se encuentra fuera de éste, siendo más activas aquellas moléculas que presentaron sustituyentes en Y perpendiculares al plano de el anillo de bencimidazol.³

2.2.1 Mecanismo de acción de los bencimidazoles

Los Bencimidazoles son moléculas antihelmínticas de amplio espectro; sin embargo, también muestran actividad contra algunos hongos y células mamíferas. En la actualidad aún no se ha establecido en dónde estriba el carácter selectivo de este tipo de moléculas.

El mecanismo de acción de los Bencimidazoles aún no se ha caracterizado del todo; los posibles mecanismos de acción postulados hasta este momento son :

- 1) Fosforilación mitocondrial realizada por el complejo succinato deshidrogenasa-fumarato reductasa.
- 2) Secreción de acetilcolinesterasa (AChE).
- 3) Incorporación de glucosa, uso de las reservas de glucógeno y actividad glucolítica enzimática.
- 4) Ensamble citoplasmático de tubulina, por inhibición de la polimerización de tubulina.
- 5) Metabolismo de lípidos a cargo de las enzimas glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. (G-6-PDH), malato deshidrogenasa (MDH) y triacilglicerol lipasa (Tg lipasa).

Se han establecido algunas hipótesis acerca de la causa de la secreción de acetilcolinesterasa por parte del parásito que incluyen: modulación de el peristaltismo intestinal, acción anticoagulante por inactivación del factor activante de plaquetas, destrucción de antihelmínticos, proveer precursores para su metabolismo (colina y acetato) y modulación de la respuesta inmune del hospedero.⁸

Algunos autores opinan que la acción antihelmíntica de los bencimidazoles es debida principalmente a la acción que tiene sobre la función de los microtúbulos por unión directa de la molécula de bencimidazol a los monómeros β de tubulina: esta alteración de el equilibrio microtúbulos- β tubulina es visto como el inicio de una cascada de cambios fisiológicos y/o bioquímicos (incluyendo efectos inhibitorios en la incorporación de glucosa y el sistema mitocondrial fumarato reductasa) que llevan a una pérdida de la homeostasis celular y por tanto a la muerte de el parásito.

La tubulina, subunidad de los microtúbulos, es una proteína dimérica compuesta de subunidades α y β de aproximadamente 50 kDa cada una. Estructuralmente, las subunidades α y β son proteínas heterogéneas, producto, de varios genes y de modificaciones post-traduccionales.

Los microtúbulos existen en un equilibrio dinámico con la tubulina, este equilibrio se encuentra regulado por una serie de proteínas endógenas y cofactores.

Como ya se mencionó al inicio, el tiabendazol fue el primer bencimidazol utilizado en la terapéutica de las helmintosis: sin embargo, este compuesto tuvo una aplicación limitada debido a las frecuentes reacciones colaterales que presenta entre las que se encuentran: anorexia, náusea, vómito, malestar epigástrico, vértigo, prurito, erupciones (incluyendo eritema multiforme), diarrea, dolor de cabeza, fatiga, somnolencia, bradicardia e hipotensión entre otros.

2.3 PERFIL DEL AGENTE TERAPEUTICO IDEAL

El agente ideal con una actividad de amplio espectro no se ha descubierto aún y necesitará tener las siguientes características :¹¹

I) Efectivo contra todos los helmintos intestinales y sistémicos, tanto adultos como larvas.

(II) 100% eficiente con administración de una sola dosis.

(III) Seguro de administrarse en niños y mujeres embarazadas.

(IV) Estable a temperatura ambiente.

(V) Bajo en costo y por tanto de fácil acceso.

2.4 LOS PROFARMACOS

El término profármaco se refiere a aquel derivado farmacológicamente inactivo que, mediante una transformación dentro del cuerpo al cual se administra, generará una molécula activa.

Los profármacos son un tipo de compuestos que tienen como objetivo principal la mejora de las propiedades farmacéuticas y farmacocinéticas que pueden en cierto momento limitar la utilidad clínica de los principios activos. La formación de un profármaco puede considerarse entonces como la generación de una cubierta química transitoria con el objeto de alterar o eliminar propiedades indeseables de cierta molécula o principio activo. La conversión necesaria o activación de los profármacos al principio activo en el cuerpo puede realizarse por una variedad de reacciones: los profármacos más comunes son aquellos que requieren de una reacción de hidrólisis mediada por una catálisis enzimática; en otros casos, los principios activos son generados por procesos bioquímicos redox. Además del uso de sistemas enzimáticos del cuerpo para realizar la activación necesaria de los profármacos, el valor relativamente constante de el pH fisiológico (7.4) puede ser útil en generar el principio activo.

Los principales problemas de tipo farmacéutico incluyen inestabilidad química, solubilidad acuosa inapropiada y características organolépticas no deseadas como color y olor desagradable.

En la fase farmacocinética, las principales barreras que pueden limitar la utilidad de un fármaco son :

1. Absorción incompleta de el principio activo a través de membranas biológicas como las células de la mucosa gastrointestinal y la barrera hemato-encefálica.
2. Biodisponibilidad incompleta debido a efecto de primer paso.
3. Absorción o excreción demasiado rápida, cuando se desea una mayor duración del efecto.
4. Problemas de toxicidad relacionados con irritación local o distribución a tejidos distintos al órgano blanco.

Existen dos grandes grupos en los cuales se pueden dividir a los profármacos : los derivados biorreversibles y los bioprecusores.

2.4.1 Los Derivados Biorreversibles

Los derivados biorreversibles resultan de una unión temporal de una molécula activa con una molécula acarreadora o modificadora. Una simple reacción de hidrólisis elimina esta molécula acarreadora en el momento adecuado. Tales derivados son menos activos que la molécula original o inactivos.

2.4.2 Los Bioprecusores

Los bioprecusores no involucran una unión temporal entre el principio activo y el grupo acarreador o modificador, pero sí una reestructuración de la molécula para que al ser blanco de reacciones enzimáticas generen al principio activo deseado.

Las principales diferencias entre un derivado biorreversible y un bioprecursor se listan en la tabla 1.

Tabla 1.

Característica	Derivado Biorreversible	Bioprecursor
Constitución	Principio Activo + Grupo Acarreador o Modificador	Sin grupo acarreador
Liposolubilidad	Fuertemente modificada	Débilmente modificada
Bioactivación	Hidrolítica, Redox	Redox
Catálisis	Química o enzimática	Solamente enzimática

Consideraciones generales para el diseño de un Profármaco.:

1. Identificación de el problema de liberación de el principio activo.
2. Identificación de las propiedades físico-químicas requeridas para una máxima eficacia y/o liberación.
3. Selección de un profármaco que tenga las características físico-químicas adecuadas.
4. Identificación de grupos funcionales en la molécula de el principio activo capaces de ser derivadas químicamente.

5. La síntesis y purificación de el profármaco deberá ser relativamente simple.
6. El profármaco deberá ser compatible con los ingredientes de la formulación farmacéutica.
7. El principio activo deberá ser regenerado (idealmente de manera cuantitativa) de el profármaco *in vivo*.

Consideraciones para el diseño de un Derivado Biorreversible :

1. La unión entre la molécula del principio activo y el grupo acarreador es generalmente de tipo covalente.
2. El derivado biorreversible deberá ser inactivo o menos activo que el principio activo.
3. La síntesis de el derivado biorreversible no debe ser más costosa que aquella de el principio activo : debe ser preferida una síntesis de pocos pasos y los grupos acarreadores elegidos deberán tener un costo bajo.
4. La unión entre el principio activo y el grupo acarreador deberá ser eliminada *in vivo* por rutas ya sean de tipo químico o de tipo enzimático.
5. El grupo acarreador liberado deberá ser no tóxico y preferiblemente biológicamente inactivo.
6. La generación de el principio activo en virtud de su liberación de el acarreador inactivo deberá llevarse a cabo con una cinética rápida para asegurar niveles de el principio activo efectivos en el sitio de acción y para minimizar, ya sea metabolismo directo del derivado biorreversible, o una inactivación gradual.

Las principales formas de preparar derivados biorreversibles son: (a) formación de ésteres, hemiésteres, ésteres de carbonato, ésteres de

nitrato, amidas, ácidos hidroxámicos, carbamatos, iminas, bases de Mannich y enaminas de el principio activo; (b) introducción de las siguientes funciones: azo, glicósido, péptido y éter; y (c) preparación de polímeros, sales, complejos, fosfamidias, acetales, hemiacetales y cetales de el principio activo.

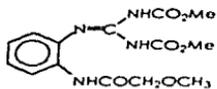
Consideraciones para el diseño de un Bioprecursor

Para la elaboración de bioprecusores se tendrá en cuenta, adicionalmente a los lineamientos generales, lo siguiente :

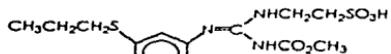
1. La generación de el fármaco debe llevarse a cabo mediante una reacción de reducción u oxidación.
2. El bioprecursor diseñado debe presentar mejores características de solubilidad en agua y en disolventes orgánicos polares que el principio activo.
3. Debe existir en el bioprecursor algún grupo funcional susceptible a sufrir la reacción de reducción u oxidación de forma favorable en condiciones biológicas.

La consideración de los profármacos para el diseño de agentes filaricidas de tipo bencimidazol-2-carbamato de mayor efectividad ha aportado grandes avances, en la figura 6 se ejemplifican algunas de estas moléculas.

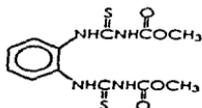
BIOPRECURSORES



Febantel

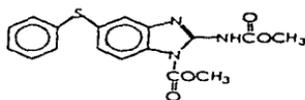


Neotibimin

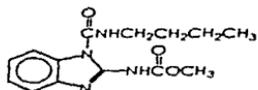


Tiofanato

DERIVADOS BIORREVERSIBLES



Metoxicarbonil fenbendazol



Benamil

3. PLANTEAMIENTO DE EL PROBLEMA

Los bencimidazol-2-carbamatos de metilo pertenecen a un nuevo grupo de fármacos filaricidas que presentan ventajas tales como una mayor especificidad, actividad y un menor número de efectos adversos ocasionados al paciente con respecto al resto de los fármacos utilizados hoy día, un caso particular de este grupo lo constituye el bencimidazol-2-carbamato de metilo que presenta un grupo carboxilo en la posición 5 (5-carboxi-1H-bencimidazol-2-carbamato de metilo). Sin embargo, poseen una desventaja primordial, su escasa solubilidad acuosa que ocasiona que el fármaco sea absorbido pobremente y que por tanto su biodisponibilidad disminuya.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Por medio de la obtención de distintos bioprecusores de el 5-carboxi-1H-benzimidazol-2-carbamato de metilo se pretende generar moléculas con propiedades físico-químicas distintas que presenten una mayor solubilidad acuosa con respecto al principio activo y que a su vez lo generen dentro de el organismo administrado.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Utilizar técnicas como cromatografía en columna, cromatografía preparativa y recristalización por par de disolventes como métodos para la purificación de los productos intermedarios de la ruta sintética propuesta.
2. Emplear el punto de fusión y la cromatografía en capa fina como técnicas para la verificación de pureza de los distintos productos sintetizados en la ruta sintética seguida.
3. Verificar la estructura de los bioprecusores sintetizados y materias primas mediante la utilización de técnicas espectroscópicas de IR, RMN y EM.

5. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO

El establecimiento de el núcleo de bencimidazol-2-carbamato con un sustituyente en la posición 5 ha probado ser el más efectivo en la obtención de agentes filaricidas eficaces; de entre los distintos sustituyentes que se han probado figuran ácidos carboxílicos, ésteres, amidas, cetonas y tioéteres, por mencionar algunos. Dentro de los bencimidazol-2-carbamatos de metilo con un grupo carboxilo sustituido en la posición 5 (5-carboxi-1H-bencimidazol-2-carbamato de metilo) se ha encontrado que los ésteres metílico, etílico, isopropílico, además de el carboxilo libre, han presentado una mayor respuesta en pruebas filaricidas y antineoplásicas *in vitro*.¹⁸

Existen evidencias para sustentar que la importancia de la presencia de el grupo éster en el 5-carboxi-1H-bencimidazol-2-carbamato de metilo se debe exclusivamente a la nulificación de el comportamiento como zwitterión de la molécula, aumentando así su absorción a través de los tejidos. Sin embargo, los ésteres preparados, por presentar la estructura de bencimidazol-2-carbamato de metilo, no poseen buenas características de solubilidad, lo que dificulta la formulación por vía oral o parenteral de estos compuestos.²² La reacción de hidrólisis de el grupo éster presente en el bencimidazol-2-carbamato de metilo es clave para su especificidad por lo que convendría establecer si esta reacción está mediada por enzimas de el parásito o de el propio hospedero.

Dado lo anterior, se han considerado tres moléculas sobre las cuales se elaboren sus profármacos, que presentan distintos alcoholes esterificados en el carboxilo de la posición 5 (Fig.7): dos de ellos representando a ésteres activos ya comprobados en pruebas *in vitro* pero

de escasa solubilidad acuosa y un tercero que presenta, por la parte del alcohol, una estructura semejante a la acetilcolina, sustrato endógeno de una enzima común encontrada en organismos superiores.⁹

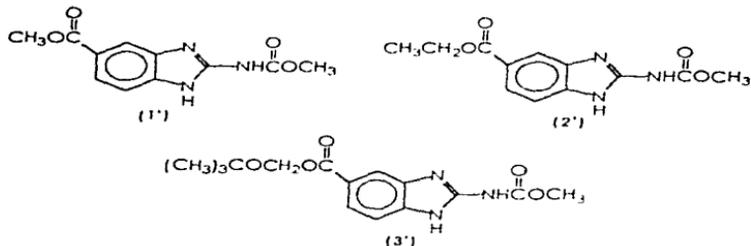


Figura 7.

El descubrimiento hecho por Douche (et al.) de que derivados alcóxicarbonilureidos de *orto*-fenilendiamina sufren una ciclación en borregos para generar al benzimidazol-2-carbamato de metilo fue de importancia para el desarrollo de un bioprecursor de el Mebendazol, donde se demostró que la biodisponibilidad de éste era superior cuando se administraba el bioprecursor que cuando se administraba el Mebendazol.¹⁹ En este trabajo se propone una estructura similar para los bioprecusores de las tres moléculas que se desean obtener (Fig. 8).

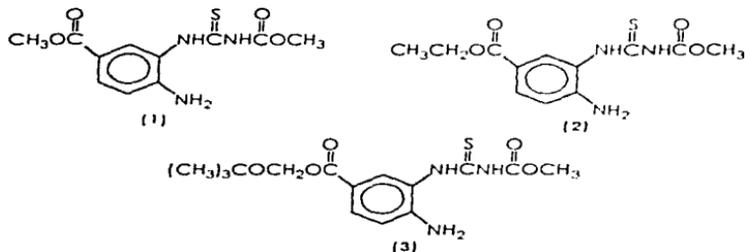


Figura 8.

El grupo amino libre en posición 4 de la molécula puede ser generado a partir de un grupo nitro o uno azido mediante una biorreducción (Fig. 9) efectuada ya sea por la microflora intestinal²⁰ o sustancias endógenas como el glutatión.²¹

De esta manera, el presente trabajo pretende la obtención de bioprecusores que mediante una simple reacción de ciclación o bien mediante esta reacción de ciclación, precedida de una reducción, generen a las tres moléculas propuestas en la Figura 7.

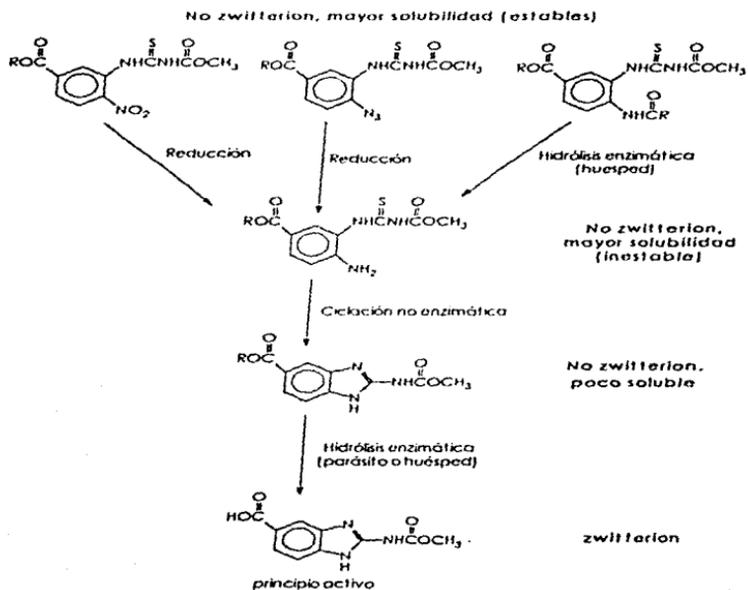
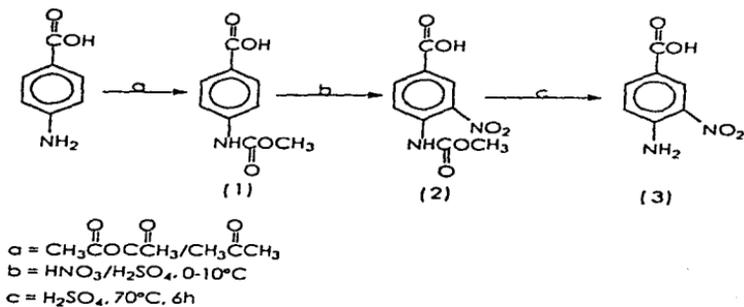


Figura 9.

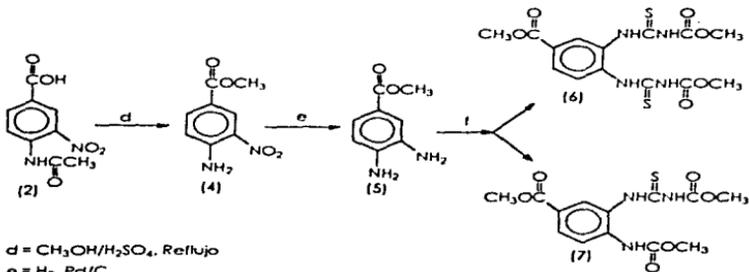
6. METODOLOGIA

La síntesis de los bioprecursores obtenidos se realizó de acuerdo a los siguientes esquemas de reacción.

ESQUEMA I



ESQUEMA II

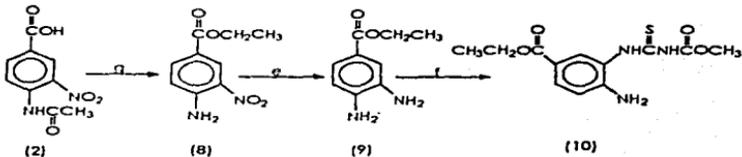


d = $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{SO}_4$, Reflujo

e = H_2 , Pd/C

f = SCNCOCH_3 ; de KSCN y ClCOCH_3 reaccionando 2 h

ESQUEMA III

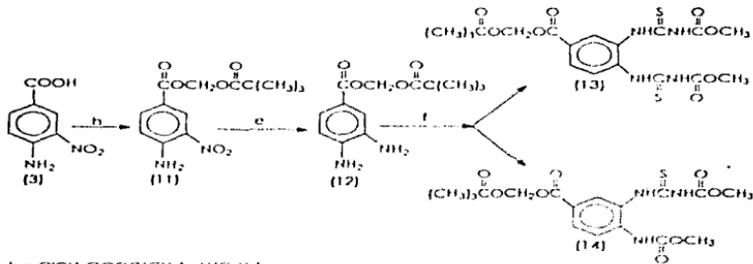


g = $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, H_2SO_4 , Reflujo

h = H_2 , Pd/C

f = SCNCOCH_3 ; de KSCN y ClCOCH_3 reaccionando 2 h

ESQUEMA IV



$h = \text{ClCH}_2\text{OCC}(\text{CH}_3)_3, \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$

$e = \text{H}_2, \text{Pd/C}$

$f = \text{SCNCOCH}_3$; de KSCN y ClCOCH_3 reaccionando 2 h

6.1 Preparación de el ácido 4-acetamidobenzoico (1).

Se utilizó ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (Sigma) como materia prima, éste se disolvió en acetona anhidra (Merck) a temperatura ambiente, se agregó anhídrido acético (Malinckrodt) y después de una hora se obtuvo un precipitado de color blanco (1) con un rendimiento de 84 % y un punto de fusión de 260 ° C.

6.2 Preparación de el ácido-4-acetamido-3-nitrobenzoico (2).

El ácido 4-acetamidobenzoico (1) se hizo reaccionar con mezcla sulfonítrica, preparada a partir de ácido nítrico fumante y ácido sulfúrico,

con agitación constante en un rango de temperatura de 0-3 ° C, al final se obtuvo un sólido de color amarillo fuerte (2) con un rendimiento de 86.32 % y un punto de fusión de 214-218 ° C.

6.3 Preparación de el ácido 4-amino 3-nitrobenzoico (3).

El ácido 4-acetamidobenzoico (2) se trató con ácido sulfúrico concentrado en agitación a 70 ° C por 6 h, al final se obtuvo un sólido de color amarillo claro (3) con un rendimiento de 90 % y un punto de fusión de 179-184 ° C.

6.4 Preparación de el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (4).

El ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (2) se disolvió en alcohol metílico anhidro (Merck), se agregó un poco de ácido sulfúrico concentrado y la reacción se llevó a reflujo con agitación por 6 h, al enfriar se obtuvieron cristales de color amarillo claro (4) con un rendimiento de 90 % y un punto de fusión de 190 ° C.

6.5 Preparación de el 3,4-diaminobenzoato de metilo (5)

El 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (4) se sometió a hidrogenación catalítica utilizando carbón activado con paladio al 5 % (Aldrich) en alcohol etílico, la mezcla se dejó agitando por 24 minutos a temperatura ambiente, al final se obtuvo un polvo de color café claro (5) con un rendimiento de 93.6 % que inmediatamente se utilizó como materia prima para la reacción siguiente.

6.6 Preparación de el 3,4-bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzoato de metilo (6).

El 3,4-diaminobenzoato de metilo (5) se hizo reaccionar en acetonitrilo anhidro (Merck) con el metoxicarbonilisotiociano, preparado dos horas antes a partir de tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo en acetonitrilo, con agitación a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno por un día, al final se obtuvo un sólido de color blanco que contenía mezcla de dos productos principales (6) y (7), la separación se logró por cristalización fraccionada y se obtuvo (6) como un sólido de color blanco con un punto de fusión de 128-140 ° C.

6.7 Preparación de el 3-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-(metoxicarbonilamino)benzoato de metilo (7).

Este se obtuvo de la reacción de obtención de (6) y fue un polvo blanco con un punto de fusión de 164-165 ° C.

6.8 Preparación de 4-amino-3-nitrobenzoato de etilo (8).

El ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico (2) se disolvió en alcohol etílico anhidro (Merck), se agregó un poco de ácido sulfúrico concentrado y llevó a reflujo con agitación por 4 días; el producto crudo se purificó por tratamiento con cloruro de metileno caliente y carbón activado. El producto final (8) presentó un punto de fusión de 133-134 ° C.

6.9 Preparación de el 3,4-diaminobenzoato de etilo (9).

El 4-amino-3-nitrobenzoato de etilo (8) se sometió a hidrogenación catalítica utilizando carbón activado con paladio al 5 % (Merck) en alcohol etílico, la mezcla se dejó agitando por 30 minutos a temperatura ambiente, al final se obtuvo un sólido de color blanco (9) con un rendimiento de 100 % que inmediatamente se utilizó como materia prima para la reacción siguiente.

6.10 Preparación de el N-metoxicarbonil-N'-(3-etoxicarbonil-6-aminofenil)tiourea (10).

El 3,4-diaminobenzoato de etilo (9) se hizo reaccionar en acetona anhidra (Merck) con el metoxicarbonilisotiociano, preparado dos horas antes a partir de tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo en acetona anhidra, a temperatura ambiente por 24 horas. El producto crudo se purificó con benceno, el producto final obtenido (10) presentó un punto de fusión de 140 ° C y un rendimiento de 45 %.

6.11 Preparación de el 4-amino-3-nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11).

El ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (3) se hizo reaccionar con clorometilpivalato en presencia de trietilamina como catalizador y DMF como disolvente a temperatura ambiente por 24 horas, el producto crudo se purificó con éter isopropílico; se obtuvieron, un producto principal (11) en forma de cristales de color amarillo, y uno secundario en forma de aceite de color amarillo oscuro (11a).

6.12 Preparación de el 3,4-diaminobenzoato de pivaloiloximetilo (12).

El 4-amino-3-nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11) se sometió a hidrogenación catalítica utilizando carbón activado con paladio al 5 % (Aldrich) en alcohol etílico, la mezcla se dejó agitando por 30 minutos a temperatura ambiente, al final se obtuvo un polvo de color blanco (12) con un rendimiento de 100 %.

6.13 Preparación de el 3,4-bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzoato de pivaloiloximetilo (13).

El 3,4-diaminobenzoato de pivaloiloximetilo (12) se hizo reaccionar en acetonitrilo anhidro (Merck) con el metoxicarbonilisotiociano, preparado dos horas antes a partir de tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo en acetonitrilo, a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno por una semana; al final se obtuvieron dos productos principales (13) y (14), la separación de ellos se logró por cristalización fraccionada. (13) fue un sólido de color blanco con un punto de fusión de 162 °C.

6.14 Preparación de el 3-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-(metoxicarbonilamino)benzoato de pivaloiloximetilo. (14).

Este se obtuvo en la reacción de obtención de (13) al ser separado de (14) por cristalización fraccionada fue un sólido de color blanco con un punto de fusión de 146 °C.

6.15 Preparación de el ácido 3,4-diaminobenzoico (15).

Se llevó (3) a una hidrogenación catalítica con carbón activado con paladio al 5 % (Merck) en alcohol etílico por una hora con 40 minutos, al final se obtuvo un sólido de color café claro con un rendimiento de 100 % que fue llevado a la siguiente reacción inmediatamente.

6.16 Preparación de el ácido 3,4-bis(trifluoroacetamido)benzoico (16).

Se hizo reaccionar (15) con anhídrido trifluoroacético en acetonitrilo por 2 días, al final se obtuvo un sólido de color púrpura (16) con un rendimiento de 77 % y un punto de fusión de 229-235 ° C.

7. RESULTADOS

Los compuestos sintetizados fueron caracterizados por determinación de algunas de sus propiedades físicas, así como también por sus espectros de IR, RMN y EM (en algunos casos); la tabla 2 muestra las propiedades físicas determinadas y la tabla 3 muestra los datos espectroscópicos obtenidos.

Tabla 2. Propiedades Físicas de los compuestos sintetizados.

NOMBRE DEL COMPUESTO	RENDIMIENTO SINTETICO (%)	PUNTO DE FUSION (° C)	RF	CARACTERISTICAS
Acido 4 acetamidobenzoico (1).	84	260	0.271	Pólvo fino blanco
Acido 4 acetamido 3 nitrobenzoico (2)	86.32	214-218	0.560	Pólvo amarillo
Acido 4 amino 3 nitrobenzoico (3).	90	179-184	0.385	Pólvo amarillo claro
4 amino 3 nitrobenzoato de metilo (4)	90	174	0.585	Pólvo amarillo claro
3,4-diaminobenzoato de metilo (5)	93.6	ND	0.719	Sólido café claro
3,4-bis-(3 metoxicarbonil 2 tioureid)benzoato de metilo (6)	ND	120-140	0.220	Sólido blanco
3-(3 metoxicarbonil 2 tioureid) 4 (metoxicarbonilamino)benzoato de metilo (7)	ND	164-165	0.136	Sólido blanco
4 amino 3 nitrobenzoato de etilo (8)	51.95	133-134	0.589	Pólvo amarillo claro
3,4-diaminobenzoato de etilo (9)	100	ND	0.777	Sólido color blanco
4 etoxicarbonil N'-(3 etoxicarbonil 6 aminotetil)tiourea (10)	45	140	0.438	Sólido color blanco
4 amino 3 nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11)	ND	91-92	0.650	Cristales amarillo claro
4-(hidroximetilamino)-3 nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11a)	ND	174	0.800	Acido color café oscuro.
3,4-diaminobenzoato de pivaloiloximetilo (12)	85	ND	0.102	Pólvo fino color blanco.
3,4-bis-(3 metoxicarbonil 2 tioureid)benzoato de pivaloiloximetilo (13).	ND	162	0.172	Sólido color blanco
3-(3 metoxicarbonil)-4 (metoxicarbonilamino)benzoato de pivaloiloximetilo (14)	ND	146	0.224	Sólido color blanco
Acido 3,4-diaminobenzoico (15)	100	ND	0.116	Sólido café claro
Acido bis(trifluoroacetamido)benzoico (16).	34.77	229-235	0.311	Sólido púrpura

Tabla 3. Datos espectroscópicos de los compuestos sintetizados

NOMBRE DEL COMPUESTO	DATOS ESPECTROSCÓPICOS
Acido 4 acetamidobenzóico (1)	IR (KBr) $\nu = 3304$ (NH); 1672 (C=O) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 9.0$ (s, 1H); 7.65 (dd, 4H); 6.5 (ancho, 1H); 2.1 (s, 3H) ppm.
Acido 4 acetamidobenzóico (2)	IR (KBr) $\nu = 3326$ (NH); 1790 2350 (COOH); 1718 (COOH); 1620 1514 (NH); 1452, 1338, 1304 (NO ₂) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = >10$ (s, 1H); 8.3 (d, 1H); 8.12 (dd, 1H); 7.72 (d, 1H); 3.0 (s, 1H); 2.0 (s, 3H) ppm.
Acido 4 amino 3 nitrobenzóico (3)	IR (KBr) $\nu = 3480$, 1666 (NH); 2908 2530 (C-OH); 1686 (C=C); 1522, 1352, 1308 (NO ₂) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 8.5$ (d, 1H); 7.8 (ancho, 2H); 7.0 (d, 1H) ppm.
4 amino 3 nitrobenzoato de metilo (4)	IR (KBr) $\nu = 3474$, 3340 (NH); 1702 (C=O); 1630, 1294 1258 (NO ₂) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 8.45$ (d, 1H); 7.75 (dd, 1H); 6.95 (d, 1H); 4.0 (ancho, 2H); 3.7 (s, 3H) ppm.
3,4 diaminobenzoato de metilo (5)	ND
3,4-bis-[3-metoxicarbonil-2-tioumido]benzoato de metilo (6)	IR (KBr) $\nu = 3190$ (NH); 1726, 1528 (C=O); 1246 (C=S) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 11.649$ (s, 1H); 11.353 (s, 1H); 11.182 (s, 1H); 11.157 (s, 1H); 8.781 (d, 1H); 8.192 (d, 1H); 7.972 (dd, 1H); 3.95 (s, 3H); 3.91 (s, 3H); 3.89 (s, 3H) ppm. ^{13}C RMN (TMS) $\delta = 180.455$, 179.158, 165.044, 153.79, 153.741, 137.864, 132.431, 128.600, 127.872, 127.784, 125.541, 52.638, 51.677 ppm. EM (IE) m/z : M+ 400 (65 %); 250 (100 %).

COMPUESTO	DATOS ESPECTROSCOPICOS
3-(3-metoxycarbonil-2-tiocetido)-4-(metoxycarbonilamino)benzoato de metilo [7]	IR (KBr) $\nu = 3192$ (OH); 1710, 1684, 1518 (C=O); 1224 (C=S) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 11.019$ (s, 1H); 10.444 (s, 2H); 7.865 (d, 1H); 7.779 (dd, 1H); 6.185 (d, 1H); 3.042 (s, 3H); 3.036 (s, 3H) ppm. ^{13}C RMN (TMS) $\delta = 179.072$, 165.991, 153.799, 146.924, 130.013, 129.634, 125.672, 122.162, 118.943, 115.199, 52.072, 51.080 ppm. EM (IE) m/z : M^+ 341 (2.5 %); 290 (100 %).
4-amino-3-nitrobenzoato de etilo [8]	IR (KBr) $\nu = 3444$, 3322, 3080 (NH ₂); 1674 (C=O); 1522, 1364, 1352 (NO ₂) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 8.866$ (d, 1H); 8.024 (dd, 1H); 6.868 (d, 1H); 6.489 (m, 1H); 4.371 (q, 2H); 1.419 (t, 3H) ppm.
3,4-diaminobenzoato de etilo [9]	ND
N-metoxicarbonil-N'-(3-etoxicarbonil-6-aminofenil)tiourea (10)	IR (KBr) $\nu = 3404$, 3324, 3216 (NH, NH ₂); 1724, 1680, 1526 (C=O); 1226 (C=S) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 11.331$ (s, 1H); 10.809 (s, 1H); 7.682 (d, 1H); 7.607 (dd, 1H); 6.730 (d, 1H); 5.950 (s, 2H); 4.206 (q, 2H); 3.733 (s, 3H); 1.269 (t, 3H) ppm. ^{13}C RMN (TMS) $\delta = 180$, 165, 154, 149, 131, 129, 122, 116, 114, 60, 52, 14 ppm. EM (IE) m/z : M^+ 297 (11 %); 264 (100 %).
4-amino-3-nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11)	IR (KBr) $\nu = 3469$, 3352, 3700 (NH ₂); 1754 (C=O); 1524, 1354, 1293 (NO ₂) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) $\delta = 8.902$ (d, 1H); 8.026 (dd, 1H); 6.890 (d, 1H); 6.566 (ancha, 2H); 6.010 (s, 2H); 1.260 (s, 9H) ppm. EM (IE) m/z : M^+ 296 (22 %); 165 (100 %).

COMPUESTO	DATOS ESPECTROSCOPICOS
4-(hidroximetilamino) 3 nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11a)	<p>IR (KBr) ν = 3350 (NH); 1742 (C=O); 1530, 1346, 1298 (NO₂) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS) δ = 9.139 (t, 1H); 8.660 (d, 1H); 7.962 (dd, 1H); 7.472 (d, 1H); 5.852 (s, 2H); 5.163 (t, 1H); 3.181 (s, 2H); 1.109 (s, 9H) ppm.</p> <p>¹³C RMN (TMS) δ = 176.516, 162.815, 146.341, 135.562, 131.673, 128.986, 116.219, 114.893, 79.294, 50.985, 38.073, 26.260 ppm.</p> <p>EM (EI) m/z: M+ 326 (2 %); 177 (100 %)</p>
3,4-diaminobenzoato de pivaloiloximetilo (12)	ND
3,4-bis-(3 metoxicarbonil-2-floreido)benzoato de pivaloiloximetilo (13)	<p>IR (KBr) ν = 3190 (NH); 1720 (C=O); 1342 (C-S) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS) δ = 11.644 (s, 1H); 11.297 (s, 1H); 10.374 (ancha, 2H); 8.552 (d, 1H); 8.226 (d, 1H); 8.055 (dd, 1H); 5.982 (s, 2H); 3.845 (s, 3H); 3.829 (s, 3H); 1.227 (s, 9H) ppm.</p> <p>¹³C RMN (TMS) δ = 180.647, 179.173, 163.571, 153.800, 153.646, 138.726, 132.366, 129.396, 129.110, 127.261, 125.963, 79.619, 53.146, 53.102, 38.0, 26.497 ppm.</p> <p>EM (EI) m/z: M+ 500 (30 %); 218 (100 %).</p>
3-(3-metoxicarbonil-2-floreido)-4-(metoxicarbonilamino)benzoato de pivaloiloximetilo (14)	<p>IR (KBr) ν = 3252, 3186 (NH); 1730, 1646, 1536 (C=O); 1230 (C-S) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS) δ = 11.184 (s, 1H); 10.729 (ancha, 1H); 8.096 (d, 1H); 8.013 (dd, 1H); 8.009 (s, 1H); 7.916 (ancha, 1H); 5.962 (s, 1H); 3.862 (s, 3H); 3.786 (s, 3H); 1.220 (s, 9H) ppm.</p> <p>¹³C RMN (TMS) δ = 180.513, 176.511, 163.419, 153.732, 153.328, 138.852, 129.741, 129.464, 127.271, 123.588, 120.523, 79.288, 52.992, 52.081, 38.223, 26.344 ppm.</p> <p>EM (EI) m/z: M+ 441 (30 %); 408 (100 %).</p>
Acido, 3,4-diaminobenzoico (15)	ND

COMPUESTO	DATOS ESPECTROSCOPICOS
Acido 3,4-bis(trifluoroacetamido)benzoico (16)	IR (KBr) ν = 3292, 3076 (NH); 1751, 1706, 1612 (C=O); 1164, 770 (C-F) cm^{-1} . ^1H RMN (TMS) δ = 10.474 (s, 1H); 10.330 (s, 1H); 8.246 (d, 1H); 8.004 (dd, 1H); 7.775 (d, 1H) ppm. ^{13}C RMN (TMS) δ = 166.501, 132.314, 129.663, 128.440, 127.711, 127.609, 125.090 ppm. EM (EI) m/z : M^+ 344 (40 %); 275 (100 %).

8. DISCUSION

El rendimiento de la síntesis de (1) fue bastante aceptable, no se encontró ningún tipo de obstáculo en su realización ya que la reacción entre el ácido 4-aminobenzoico y el anhídrido acético es muy rápida, el cuidado que debe tenerse es que el disolvente empleado (acetona) sea anhidro y que a su vez el anhídrido acético no tenga tanto tiempo almacenado por el riesgo a que se encuentre hidrolizado. Se realizaron otros intentos de esta reacción empleando ácido acético glacial como disolvente pero no se obtuvieron buenos resultados; el empleo de piridina como catalizador en esta reacción no fue necesario pues no se obtuvo diferencia en rendimiento cuando se prescindió de ella en intentos anteriores. La relación estequiométrica ácido 4-aminobenzoico:anhídrido acético que finalmente se empleó fue 1:1.5 respectivamente. No hubo necesidad de purificar el producto pues en CCF sólo se evidenció una mancha correspondiente al producto esperado por comparación con producto anteriormente sintetizado.

El espectro (No. 1) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos carbonilo y amida. El espectro (No. 2) de ^1H RMN, corrido a 90 MHz, muestra un singulete a 9.8 ppm, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al protón de el carboxilo; un doble de dobles a 7.7 ppm con $J = 10$ Hz simétrico, conocido como un sistema aa' - bb' correspondiente a los protones en las posiciones 2, 3, 5 y 6 de el anillo aromático; una señal ancha a 6.5 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno de la amida y un singulete a 2.1 ppm que corresponde a los protones de el grupo metilo de la parte de la amida.

El rendimiento de la síntesis de (2) fue aceptable, la utilización de ácido nítrico fumante en la elaboración de la mezcla sulfonítrica fue muy importante ya que de esta forma la reacción procedió de una manera más rápida y específica comparada con el intento de nitración utilizando ácido nítrico concentrado. La introducción de el grupo nitro en posición 3 se encontró favorecida por estar orto a un grupo electrodonador (amino) y para a un grupo electroattractor (carboxilo); sin embargo se prestó especial atención al control de la temperatura con el objeto de controlar la mononitración de la molécula.

El espectro (No. 3) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos carboxilo, amida y nitro. El espectro (No. 4) de ^1H RMN, corrido a 90 MHz, muestra una señal a más de 10 ppm, que desaparece con H_2O , correspondiente al protón del ácido carboxílico; el sistema abx caracterizado por: un doblete a 8.35 ppm con una $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un doble de dobles a 8.15 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo; y un doblete a 7.75 ppm con $J = 10$ Hz, correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo; un singulete a 3.0 ppm, que desaparece con H_2O , correspondiente al protón unido al nitrógeno de la amida; y un singulete a 2.0 ppm que corresponde a los tres protones equivalentes de el grupo metilo de la parte acilo de la amida.

El rendimiento obtenido en la síntesis de (3) fue bastante bueno, se debió emplear ácido sulfúrico concentrado y dejar en agitación por seis horas para asegurar la hidrólisis de la amida.

El espectro (No. 5) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos carboxilo y amina primaria. El espectro (No. 6) de ^1H RMN, corrido a 90 MHz, muestra, no muy bien definido, el sistema abx por el traslape de

una señal ancha a 7.8 ppm, correspondiente al grupo amino primario presente en la molécula, pudiéndose solamente observar un doblete a 8.5 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; y un doblete a 7.0 ppm con $J = 10$ Hz que corresponde protón en la posición 5 de el anillo.

La reacción de esterificación para la obtención de (4), con un buen rendimiento, fue tipo fischer en donde el alcohol metílico actuó como disolvente y reactivo utilizando ácido sulfúrico como catalizador. En esta reacción se empleó (2) en lugar de (3) como materia prima con el objeto de eliminar la posible interferencia de el grupo amino protonado en la reacción, además de que dadas las condiciones de reacción (reflujo, ácido sulfúrico) al final se obtuvo el producto esterificado y la amida hidrolizada. No hubo necesidad de purificar el producto final pues al enfriar la mezcla de reacción se obtuvieron cristales de éste.

El espectro (No. 7) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amino primario, carbonilo y nitro. El espectro (No. 8) de ^1H RMN, corrido a 90 MHz, muestra el sistema abx caracterizado por: un doblete a 8.45 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un doble de dobles a 7.75 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo; y un doblete a 6.95 ppm con $J = 10$ Hz, correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo; una señal ancha, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, a 4.0 ppm, correspondiente al grupo amino primario; y un singulete a 3.7 ppm que corresponde a los tres protones equivalentes de el grupo metilo de la parte alquilo de el éster.

Con respecto a la interconversión de grupo funcional sobre el grupo amino de la molécula a grupo nitro, azido o base de Mannich con el

objeto de protegerlo y obtener compuestos más estables ésta se consideró en el laboratorio y se hicieron varios intentos para la obtención de estos tres derivados de el grupo amino.

El primer intento de interconversión fue el de la obtención de el grupo nitro; de hecho esta ruta ahorraría un paso pues sintéticamente para introducir un grupo amino a la molécula se necesita introducir primero un grupo nitro y después reducirlo, así que después de haber esterificado (2) y obtener (4) se realizaron intentos de síntesis convergente por reacción con el metoxicarbonilisotiociano. La preparación de este reactivo, a partir de tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo por una sustitución nucleofílica bimolecular, al inicio fue algo difícil pues se tuvo que establecer el disolvente más propicio para su preparación por medio de pruebas en acetona, isobutirimetilcetona, 2-butanona y DMSO y por monitoreo continuo de la reacción por CCF por extinción de el cloroformiato de metilo. Las condiciones más propicias encontradas para su obtención fueron empleando como disolvente acetona anhidra con agitación magnética a temperatura ambiente y en un lapso de 2 horas, la relación estequiométrica entre el tiocianato de potasio y el cloroformiato de metilo debe ser de 1:1 pero la relación estequiométrica de el producto formado (metoxicarbonilisotiociano) y (4) debe ser 2:1 pues el cloroformiato de metilo se enfrenta al ion tiocianato que es un nucleófilo ambidentado que generará tanto al metoxicarbonilisotiociano como al metoxicarbonilisotiociano dependiendo de si el átomo que realiza el ataque es el azufre o el nitrógeno.

Este primer intento de síntesis convergente no presentó resultados satisfactorios ya que no se obtuvo el producto esperado sino materia prima, éste resultado evidenció el escaso poder nucleofílico de el grupo

amino en la reacción sobre el metoxicarbonilisotiociano por la intervención de el grupo carboxilo en posición para con respecto a éste. Dado lo anterior y a que se encontró reportado en la literatura la genotoxicidad de los compuestos aromáticos nitrados se abandonó la idea de la interconversión de el grupo amino por grupo nitro.

Una vez comprobado el poco poder nucleofílico de el grupo amino en posición 4 de el anillo se optó por realizar el siguiente intento de interconversión de este grupo por la obtención de una base de Mannich. Para este propósito se empleó (4) y se intentó hacerlo reaccionar con dietilamina en una relación estequiométrica 1:1 en un exceso de solución acuosa al 40 % de formaldehído en condiciones suaves; sin embargo, no se obtuvo producto de reacción alguno por lo que se procedió a emplear en otros intentos disolventes como nitrometano, acetona y alcohol etílico pero ahora empleando como recipiente de reacción un pequeño reactor con calentamiento por baño de aceite que llevó a una temperatura de 100 ° C y presión interna de 1 Kg/cm², las mezclas de reacción se dejaron en agitación magnética por varios días y se obtuvo al final, para el caso de la reacción en nitrometano y acetona, la materia prima por comparación en CCF; para el caso de la reacción realizada en alcohol etílico se evidenció en CCF una mancha adicional además de la materia prima con un valor de Rf superior a ésta pero con una intensidad muy baja. Debido que a pesar de que se emplearon condiciones drásticas para la formación de la base de Mannich no se obtuvo un producto final prominente. Se abandonó este segundo intento de interconversión de grupo funcional, que teóricamente después de haber obtenido la base de Mannich, se hubiera proseguido con la reducción de el grupo nitro que daría origen a un grupo amino más nucleofílico y capaz de reaccionar en la síntesis

convergente con el metoxicarbonilisotiociano para obtener finalmente el bioprecursor, que por hidrólisis de la base de Mannich, generaría dietilamina, formaldehído y el grupo amino libre, capaz de realizar la reacción de ciclación y por tanto generar la molécula de bencimidazol *in vivo*.

Ya que no se obtuvieron resultados satisfactorios en los intentos de interconversión de el grupo amino por otro grupo funcional se consideró para el diseño de un nuevo tipo de bioprecursor, la síntesis de un compuesto que presentara al grupo amino libre en posición 4, sin ningún tipo de protección, y que la reacción de ciclación estuviera mediada por pH de el medio.

La reacción de reducción de (4) para la obtención de (5) fue sencilla, el rendimiento fue cuantitativo. La reacción de reducción (aceptación de electrones) de el grupo nitro está favorecida por tener en posición meta a un grupo electroattractor (metoxicarbonilo); el poder electrodonador de el grupo amino que se encuentra en posición orto al grupo nitro y que puede considerarse como un obstáculo para la aceptación de electrones de el grupo nitro se encuentra mermado por tener a su vez en posición para a un grupo electroattractor (metoxicarbonilo). Aún cuando el grupo carboxilo se encontraba en condiciones propicias para su reducción (esterificado) la reducción selectiva se logró por medio de la utilización de el catalizador de carbón activado con paladio al 5 % que no es tan reactivo como el carbón activado con paladio al 10 %.

Dada la inestabilidad de el producto obtenido se omitió el uso de técnicas espectroscópicas y punto de fusión, confirmando su estructura al verificar los espectros de el producto obtenido siguiente (producto final).

Una vez obtenido (5), éste se llevó a la síntesis convergente con el metoxicarbonilisotiociano, preparado a partir de cloroformiato de metilo y tiocianato de potasio en acetonitrilo anhidro.

Después de iniciar la reacción y realizar una CCF se evidenció, de acuerdo a las intensidades de las manchas, la presencia de dos productos mayoritarios y varios productos secundarios. La separación de los dos productos mayoritarios se logró mediante el tratamiento de la sustancia oleosa obtenida de la mezcla de reacción con benceno para obtener un sólido de color café. La separación de (6) y (7) se logró por una cristalización fraccionada empleando como par de disolventes acetato de etilo-hexano. La elucidación estructural de los dos compuestos aislados mostró que ninguno de ellos tenía al grupo amino libre en la posición 4 de la molécula, de hecho, el sustituyente que presentaba dicho grupo era lo que determinaba que se tratara de (6) o de (7).

Para el compuesto (6) se encontró que el espectro (No. 9) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amida, carbonilo y tiocarbonilo. El espectro (No. 10) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra cuatro singuletes que desaparecen con $^2\text{H}_2\text{O}$ a 11.649 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 4 de el anillo; a 11.353 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 3 de el anillo; a 11.182 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno que forma parte de la tiourea y de el carbamato del sustituyente del nitrógeno en posición 4 de el anillo; y a 11.157 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno que forma parte de el otro sustituyente de el nitrógeno en la posición 3 de el anillo. El espectro (No. 11) de ^{13}C RMN muestra señales a 180.445ppm, correspondiente al tiocarbonilo unido al nitrógeno en 4 de el anillo; 179.158 ppm, correspondiente al otro tiocarbonilo unido al nitrógeno en posición 3

de el anillo; 165.044 ppm, correspondiente al carbonilo de la parte de el éster; 153.79, correspondiente al carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en la posición 4 de el anillo; 153.741 ppm, correspondiente al grupo carbonilo de el otro sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 137.864 ppm, correspondiente al carbono ipso en posición 4 de el anillo; 132.431 ppm, correspondiente al carbono ipso en posición 1 de el anillo; 128.6 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 en el anillo; 127.872 ppm correspondiente al carbono ipso en posición 3 de el anillo; 127.784 ppm, correspondiente al carbono no sustituido en posición 2 y a 125.541 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 5 en el anillo; 52.638 ppm más intensa, correspondiente a los carbonos de metoxilo de los dos sustituyentes de los grupos amino y a 51.677 ppm correspondiente al carbono de metoxilo de la parte alquilo de el éster. El espectro (No. 12) muestra el experimento DEPT que ayudó para la asignación de las señales de los grupos CH_3 y CH presentes en la molécula. El espectro (No. 13) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z que concuerda con la masa molecular esperada y un pico base con una relación m/z de 250 que corresponde a una pérdida de 150 unidades de masa a partir de el ion molecular. Esta pérdida se puede originar a partir de la eliminación de uno de los sustituyentes de los nitrógenos y además pérdida de un SH para generar la molécula de bencimidazol en un fraccionamiento concertado (Fig. 10).

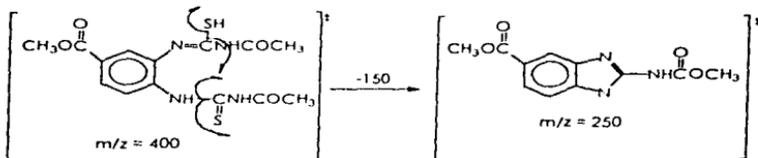


Figura 10.

Por lo que respecta al compuesto (7), el espectro (No. 14) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amida, carbonilo y tiocarbonilo muy semejantes al espectro de (6). El espectro (No. 15) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra señales, que desaparecen con $^2\text{H}_2\text{O}$, a 11.019 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 3 de el anillo; y a 10.444 ppm que corresponde a los protones unidos al nitrógeno en la posición 3 y al otro nitrógeno que forma parte de el resto de el sustituyente. El espectro (No. 16) de ^{13}C RMN muestra señales a 179.872 ppm, correspondiente al único grupo tiocarbonilo presente en la molécula; 165.991 ppm, correspondiente al grupo carbonilo en posición 1 de el anillo; 153.799 ppm, correspondiente al grupo carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en la posición 3 de el anillo; 146.924 ppm, correspondiente al grupo carbonilo unido al nitrógeno de la posición 4 de el anillo; 130.013 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 de el anillo; 129.634 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 2 en el anillo; 125.672 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 4 de el anillo; 122.162 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 2 de el anillo; 118.943 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 3 de el anillo; 115.199 ppm, correspondiente al

carbono no sustituido de la posición 5 en el anillo; 52.872 ppm, que corresponde al carbono de metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; y a 51.080 ppm que corresponde a los carbonos de los metoxilos de el éster y de el carbamato formado con el nitrógeno en la posición 4 de el anillo. El espectro (No. 17) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 341 que concuerda con el peso molecular esperado y un pico base con una relación m/z de 250 correspondiente a la pérdida de 91 unidades de masa con un mecanismo semejante al propuesto en la figura 10.

Al comprobar que el grupo amino en posición 4 de la molécula se encuentra sustituido, se evidencia que el metoxicarbonilisotiociano posee dos sitios electrofílicos, el carbono unido al azufre que al ser atacado por el nucleófilo (amino) generará al tioureido, y el carbonilo que al ser atacado expulsa al ion isotiocianato como grupo saliente y que generará al carbamato; sin embargo, es de notar que el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 no varía, sugiriendo que el ataque de este átomo de nitrógeno es selectivo sobre el sitio electrofílico de el metoxicarbonilisotiociano mientras que el ataque de el grupo amino en posición 4 sobre cualquiera de los sitios electrofílicos es indistinto o no selectivo.

Continuando con la idea de obtención de bioprecusores con el grupo amino libre en posición 4 se realizó la síntesis de el segundo bioprecursor que presente como porción éster un grupo etilo.

Para la obtención de (8) se utilizó la reacción de esterificación de Fischer en condiciones similares a aquellas para la obtención de (3); se empleó como materia prima (2), alcohol etílico anhidro como disolvente y materia prima y ácido sulfúrico como catalizador. Al final se obtuvo un

rendimiento bajo (51.95 %) por la necesidad de purificación de el producto final por tratamiento con cloruro de metileno y carbón activado.

El espectro (No. 18) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amino primario, carbonilo y nitro. El espectro (No. 19) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra el sistema abx formado por las siguientes señales: un doblete a 8.866 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo, un doble de dobles a 8.024 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo; y un doblete a 6.868 ppm con una $J = 10$ Hz correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo aromático; una señal ancha, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al grupo amino primario en la posición 4 de el anillo; un cuarteto a 4.391 ppm, correspondiente al grupo metileno de la parte de el éster; y un triplete a 1.419 ppm que corresponde al grupo metilo de el resto de la parte de el éster.

La reacción de reducción de el grupo nitro de (8), transcurrió sin dificultades pues se encontró favorecida por las mismas consideraciones mencionadas para la reacción de reducción de (4). Los datos espectroscópicos de (9) nuevamente se omitieron dada la inestabilidad de la molécula y se hizo reaccionar inmediatamente en la síntesis convergente con el metoxicarbonilisotiociano en una relación estequiométrica 1:2, a partir de cloroformiato de metilo y tiocianato de potasio en acetona anhidra. Al final se obtuvo un producto oleoso de color café que contenía, de acuerdo a una CCF, dos productos principales y varios secundarios, éste se trató con benceno y se logró aislar solamente un producto final (10), que de acuerdo a los datos espectroscópicos, presenta el grupo amino libre en posición 4 y el grupo amino en posición 3 sustituido de la misma forma que (6) y (7).

El espectro (No. 20) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amino primario y secundario, carbonilo y tiocarbonilo. El espectro (No. 21) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra un singulete a 11.331 ppm, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, que corresponde al protón unido al nitrógeno que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; un singulete a 10.809, que también desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 3 de la molécula; el sistema abx formado por las siguientes señales: doblete a 7.682 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo, doble de dobles a 7.607 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo y un doblete a 6.738 ppm con una $J = 10$ Hz que corresponde al protón en posición 5 de el anillo; un singulete, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, a 5.950 ppm, correspondiente a los protones de el grupo amino primario en posición 4 de el anillo; un cuarteto a 4.206 ppm, correspondiente al metileno de la parte de el éster; y un triplete a 1.269 ppm que corresponde al metilo de la parte restante de el éster. El espectro (No. 22) de ^{13}C RMN muestra señales a 180 ppm, correspondiente al grupo tiocarbonilo presente en la molécula; 167 ppm, correspondiente al grupo carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en la posición 3 de el anillo; 154 ppm, correspondiente al grupo carbonilo en la posición 1 de el anillo; 149 ppm, correspondiente al carbono ipso en posición 4 de el anillo, 131 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 en el anillo; 129 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 2 en el anillo; 122 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 1 de el anillo; 116 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 3 de el anillo; 114 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 5 en el anillo; 60 ppm, correspondiente al metileno de la

parte de el éster: 52 ppm, correspondiente al carbono de que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; y a 14 ppm que corresponde al mello de la parte restante de el éster. El espectro (No. 23) muestra el experimento DEPT, que sirvió para la asignación de las señales correspondientes a grupos CH_3 , CH_2 , y CH presentes en la molécula. El espectro (No. 24) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 297 que concuerda con la masa molecular esperada y un pico base con una relación m/z de 264 originado por pérdida de 33 unidades de masa (SH) a partir de el ion molecular (Fig. 11).

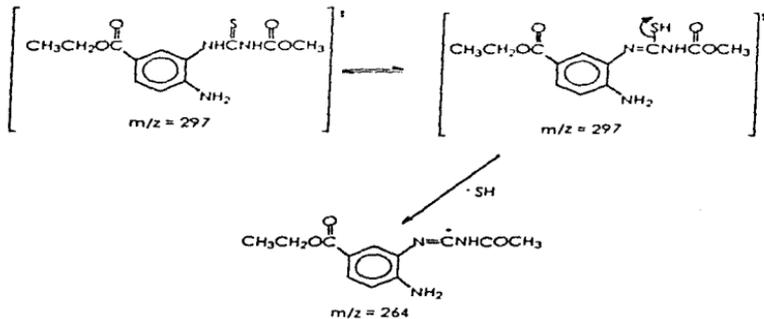


Figura 11.

Teniendo los bioprecusores con éster metílico y etílico se procedió a preparar el tercer éster considerado, aquel a partir de el pivalato. Para este compuesto, se tuvo que emplear como materia prima (3) en lugar de (2) ya que la reacción de esterificación no procede a través de el alcohol

sino de el clorometilpivalato por una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular. En un primer intento se hizo reaccionar (2) con clorometilpivalato en DMF con una relación estequiométrica de 1:1.2 y se proporcionó un calentamiento suave; sin embargo, no se observó progreso de la reacción después de 24 horas por lo que fueron agregados 0.5 equivalentes de KI con el objeto de que éste actuara como catalizador, pero aún así después de 24 horas el progreso observado fue muy poco; por lo que se decidió adicionar un equivalente de trietilamina, que funcionaría como base. Fue hasta este momento en el que se empezó a observar cierto progreso de la reacción apareciendo en CCF varias manchas y entre ellas dos muy intensas, pero aún se observaba materia prima presente por lo que se adicionaron entonces 0.2 equivalentes más de clorometilpivalato; sin embargo, 24 horas después no se observó mayor progreso. Se volvió a realizar otro intento de reacción, estableciendo como condiciones de una relación estequiométrica (2) : trietilamina : clorometilpivalato 1:1.5:1.5, utilizando DMF como disolvente y dejando reaccionar (2) con la trietilamina por una hora antes de adicionar el clorometilpivalato con el objeto de asegurar una transformación completa. Al término de la reacción se observó en CCF dos productos principales siendo la mancha de menor Rf la más intensa. La separación de los dos productos no fue fácil, pues la característica oleosa de uno de ellos dificultó su manejo. La agregación de el compuesto oleoso (11a) y disolución de el otro (11) por medio de varias lavadas con éter isopropílico permitió la separación de el producto más abundante (11) pero no la determinación de el rendimiento de la reacción.

De acuerdo a técnicas espectroscópicas se comprobó que el producto más abundante se trataba de el producto esperado (11). El

espectro (No. 25) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amino primario, carbonilo y nitro. El espectro (No. 26) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra el sistema abx caracterizado por: un doblete a 8.902 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón de la posición 2 en el anillo; un doble de dobles a 8.026 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón de la posición 6 en el anillo; y un doblete a 6.890 ppm con $J = 10$ Hz que corresponde al protón en la posición 5 de el anillo; una señal ancha, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al grupo amino primario en la posición 4 de el anillo; un singulete a 6.010 ppm que corresponde al metileno que se encuentra entre dos átomos de oxígeno en la parte de el éster; y un singulete a 1.260 ppm que corresponde a los 9 protones equivalentes de los tres grupos presentes en la parte de el éster. El espectro (No.27) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 296, que concuerda con la masa molecular esperada; y un pico base con una relación m/z de 165 que corresponde a la pérdida de 131 unidades de masa ($\text{OCH}_2\text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$) a partir de el ion molecular (Fig. 12).

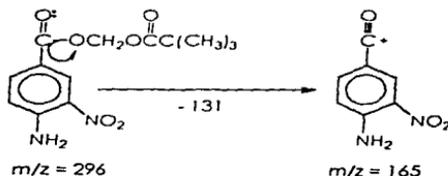


Figura 12.

Por lo que respecta al producto oleoso secundario obtenido en esta reacción (11a) su identidad es la de un hemiaminal de acuerdo con los datos espectroscópicos. El espectro (No. 28) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amino secundario, carbonilo y nitro. El espectro (No. 29) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra un triplete, que desaparece con H_2O , a 9.139 ppm, correspondiente al grupo amino presente en la molécula; el sistema abx caracterizado por: un doblete a 8.660 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un doble de dobles a 7.962 ppm con $J = 10$ Hz Y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo y un doblete a 7.472 ppm con $J = 10$ Hz que corresponde al protón en la posición 5 de el anillo; un singulete a 5.852 ppm que corresponde al metileno entre dos átomos de oxígeno en la parte éster de la molécula; un triplete a 5.163 ppm que corresponde al protón de el alcohol que forma parte de el hemiaminal; un singulete a 3.181 que corresponde metileno que forma parte de el hemiaminal; y un singulete a 1.109 ppm que corresponde a los 9 protones equivalentes de los tres grupos metilo presentes en la parte éster de la molécula. El espectro (No. 30) de ^{13}C RMN muestra señales a 176.216 ppm, correspondiente al carbonilo en la parte de el éster unido al carbono cuaternario; 162.815 ppm, correspondiente al carbonilo en la posición 1 de el anillo; 146.341 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 4 de el anillo; 135.562 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 de el anillo; 131.673 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 3 de el anillo; 128.906 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 2 de el anillo; 116.219 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 1 de el anillo; 114.893 ppm, correspondiente al carbono no sustituido en la posición 5 de el anillo; 79.294 ppm, que es el

correspondiente al metileno situado entre dos átomos de oxígeno en la parte de el éster; 50.585, correspondiente al metileno unido a hidroxilo en la parte de el hemiaminal; 38.073 ppm, correspondiente al carbono cuaternario presente en la molécula en la parte de el éster; y a 26.260 ppm que corresponde a los carbonos de los tres metilos equivalentes presentes en la molécula. El espectro (No. 31) muestra el experimento APT, que sirvió para la asignación de las correspondientes a grupos CH_3 , CH_2 y CH presentes en la molécula. El espectro (No. 32) de EM (IE) muestra un ion molecular esperada, un pico (25 %) con una relación m/z de 326, que concuerda con la masa molecular esperada, un pico (25 %) con una relación m/z de 308, correspondiente a la pérdida de agua a partir de el ion molecular, un pico (25 %) con una relación m/z de 296 que corresponde a la masa molecular de (11) y que proviene de una pérdida de 30 unidades de masa (formaldehído) y un pico base con una relación m/z de 177 que proviene de una pérdida de la misma cantidad de 131 unidades de masa ($\text{OCH}_2\text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$) que se pierden para generar el pico base en el espectro (No. 27) de (11) (Fig. 13) que confirman la presencia de el hemiaminal en la molécula.

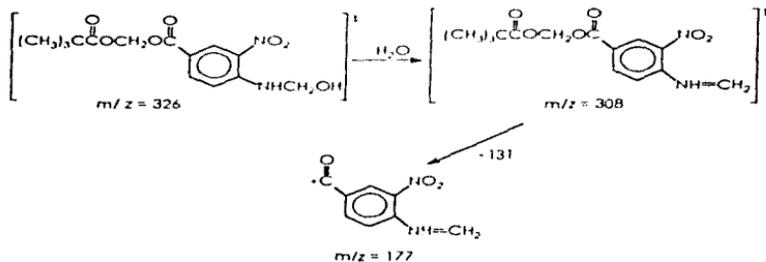


Figura 13

De acuerdo a la estructura de (11) se comprueba que a pesar de que el clorometilpivalato posee varios sitios electrófilos el carboxilato, generado por reacción ácido-base entre la trietilamina y (3), prefiere el ataque sobre el metileno unido al cloro. El producto secundario obtenido en esta reacción (11a) con una intensidad considerable en CCF evidencia una vez más el carácter nucleófilo ambiguo de el grupo amino en posición 4 de el anillo pues lo que se obtuvo es un hemiaminal de (11) que resultó ser bastante estable en disolventes orgánicos como la DMF y el éter isopropílico en incluso en las condiciones de determinaciones espectroscópicas. Un posible mecanismo que puede explicar la formación de el hemiaminal es por la formación de formaldehído *in situ* a partir de el carbocatión metilpivalato, generado por abstracción de el cloro que actúa como co-ion de la trietilamina protonada, por traslocación concertada de la molécula para liberar además de el formaldehído monóxido de carbono y un carbocatión terciario muy estable aún en DMF (Fig. 14).

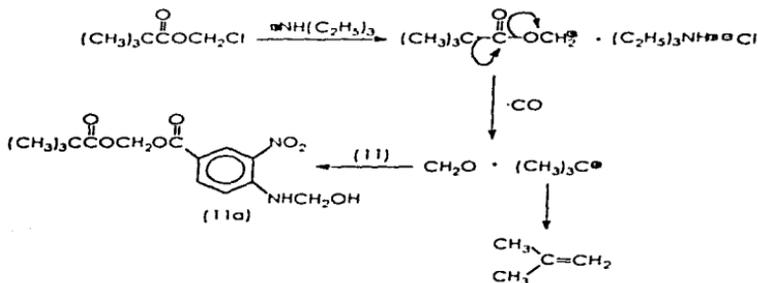


Figura 14.

Con el objeto de incrementar el rendimiento de la reacción, la sustancia oleosa obtenida al término de la reacción, se podría someter a un intento de hidrólisis suave con ácido cítrico para liberar al grupo amino pero sin hidrolizar al éster formado.

Después de haber obtenido (11) puro se prosiguió con el esquema de reacción y se sometió a una hidrogenación catalítica para reducir al grupo nitro, una vez más, ésta reducción se vio favorecida por encontrarse en posición meta a un grupo electroattractor y tener en posición orto a un grupo pobre electrodonador. La reducción selectiva de el grupo nitro sobre el carboxilo se logró por la utilización de el catalizador de carbón activado con paladio al 5 %. El rendimiento en esta ocasión sí fue posible determinarlo, pues este fue el único producto que necesitó y se pudo purificar por presentar impurezas.

Después de haber obtenido (12), éste se sometió a una síntesis convergente con el metoxicarbonilisotiociano en una estequiometría 1:2, preparado a partir de tiocianato de potasio y clorotormiato de metilo en acetonitrilo anhidro. Transcurrido el tiempo de reacción se obtuvieron dos productos principales (13 y 14) y varios secundarios. La elucidación estructural de los productos (13) y (14) se logró mediante el empleo de técnicas espectroscópicas que determinó que la diferencia entre ambos estriba en el sustituyente de el nitrógeno en la posición 4 de el anillo aromático al igual que los productos (6) y (7).

Para el compuesto (13) el espectro (No. 33) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amida, carbonilo y tiocarbonilo. El espectro (No. 34) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra tres señales que desaparecen con H_2O : un singulete a 11.644 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 4 de el anillo; un singulete a 11.297 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 3 de el anillo; una señal ancha a 10.374 ppm, correspondiente a los dos protones unidos a los nitrógenos que forman parte de los sustituyentes de los nitrógenos en posiciones 3 y 4 de el anillo; el sistema abx caracterizado por: un doblete a 8.552 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un doblete a 8.228 ppm $J = 10$ Hz, correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo; y un doble de dobles a 8.055 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, que corresponde al protón en la posición 6 de el anillo; un singulete a 5.982 ppm, correspondiente al metileno situado entre dos átomos de oxígeno en la parte de el éster de la molécula; un singulete a 3.845 ppm que corresponde al metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 4 de el anillo; un singulete a 3.820 ppm, correspondiente al metoxilo que forma parte de el sustituyente de el

nitrógeno en posición 3 de el anillo y un singulete a 1.227 ppm que corresponde a los 9 protones equivalentes de los 3 grupos metilo presentes en la parte éster de la molécula. El espectro (No. 35) de ^{13}C RMN, muestra señales a 180.647 ppm, correspondiente al tiocarbonilo de el sustituyente de el nitrógeno en posición 4 de el anillo; 179.173 ppm, correspondiente al tiocarbonilo de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 163.571 ppm, correspondiente a los dos carbonilos presentes en la parte de el éster; 153.8 ppm, correspondiente al carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 4 de el anillo; 153.646 ppm, correspondiente al carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 138.726 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 4 de el anillo; 132.366 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 1 de el anillo; 129.396 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 en el anillo; 129.110 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 2 en el anillo; 127.161 ppm, correspondiente al carbono ipso no sustituido en la posición 3 de el anillo; 125.963 ppm, correspondiente al carbono no sustituido en la posición 5 de el anillo; 79.619 ppm, correspondiente al carbono de el metileno situado entre los dos átomos de oxígeno de la parte de el éster; 53.146 ppm, correspondiente al carbono de metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 4 de el anillo; 53.102 ppm, correspondiente al carbono de metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 38 ppm, correspondiente al carbono cuaternario presente en la parte éster de la molécula; y a 26.497 ppm que corresponde a los carbonos de los tres metilos equivalentes de la parte éster (pivaloilo) de la molécula. El espectro (No. 36) muestra el experimento APT que ayudó a diferenciar las señales de los grupos CH_3 .

CH₂ y CH presentes en la molécula. El espectro (No. 37) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 500, que concuerda con la masa molecular esperada y un pico base con una relación m/z de 218 que corresponde a la pérdida de 282 unidades de masa a partir de el ion molecular por un posible mecanismo concertado de ciclación de la molécula, ilustrado en la figura 10; seguido de una pérdida de 131 unidades de masa ((CH₂)₃CCOCH₂O).

Para el compuesto (14) el espectro (No. 38) de IR (KBr) muestra bandas características de grupos amida, carbonilo y tiocarbonilo. El espectro (No. 39) de ¹H RMN, corrido a 300 MHz, muestra un singulete, que desaparece con ²H₂O a 11.184 ppm, correspondiente al protón unido al nitrógeno que se encuentra en posición 4 de el anillo; una señal ancha a 10.729 ppm, que desaparece con ²H₂O, correspondiente al protón unido al nitrógeno en posición 3 de el anillo; el sistema abx no se distingue bien en este espectro pero se observa un doblete a 8.096 ppm con J = 10 Hz, correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo aromático; un doble de dobles a 8.013 ppm, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo; un singulete a 8.009 que desaparece con ²H₂O, correspondiente al protón unido al nitrógeno que se encuentra entre el tiocarbonilo y el carbonilo; una señal ancha a 7.916 ppm, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un singulete a 5.962, correspondiente al metileno situado entre dos átomos de oxígeno de la parte de el éster en la molécula; un singulete a 3.862 ppm, correspondiente al metoxilo que forma el carbamato con el nitrógeno en posición 4 de el anillo; un singulete a 3.786 ppm, correspondiente al metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; y un singulete a 1.220 ppm que corresponde a los 9 protones equivalentes de los tres grupos

metilo presentes en la parte de el éster de la molécula. El espectro (No. 40) de ^{13}C RMN muestra señales a 180.513 ppm, correspondiente al fiocarbonilo presente en la molécula; 176.511 ppm, correspondiente al grupo carbonilo que forma el carbamato con el nitrógeno en posición 4 de el anillo; 163.419 ppm, correspondiente al grupo carbonilo unido al carbono cuaternario que forma parte de el éster; 153.732 ppm, correspondiente al grupo carbonilo que se encuentra en la posición 1 de el anillo; 153.328 ppm, correspondiente al carbonilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 138.852 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 4 de el anillo; 129.741 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 en el anillo; 129.464 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 2 en el anillo; 127.271 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 1 de el anillo; 123.588 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 3 de el anillo; 120.523 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 5 en el anillo; 79.288 ppm, correspondiente al metileno situado entre dos átomos de oxígeno en la parte de el éster de la molécula; 52.997 ppm, correspondiente al metoxilo que forma parte de el carbamato con el nitrógeno en posición 4 de el anillo; 52.081 ppm, correspondiente al metoxilo que forma parte de el sustituyente de el nitrógeno en posición 3 de el anillo; 38.223 ppm, correspondiente al carbono cuaternario presente en la molécula; y 26.344 ppm que corresponde a los tres metilos equivalentes que forman parte de el éster en la molécula. El espectro (No. 41) muestra el experimento APT que ayudó en la asignación de las señales correspondientes a los grupos CH_3 , CH_2 y CH presentes en la molécula. El espectro (No. 42) muestra el experimento HETCOR que también facilitó la asignación, por correlación, de las señales de los grupos CH_3 , CH_2 y CH

presentes en la molécula. El espectro (No. 43) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 441 que concuerda con la masa molecular esperada y un pico base a una relación m/z de 408 correspondiente a la pérdida de 33 unidades de masa (-SH) a partir de el ion molecular.

En un intento por comprobar la intervención de el grupo amino en posición 4 de el anillo y por proseguir con el esquema propuesto en consideraciones para el diseño se intentó llevar a cabo la síntesis de un nuevo bioprecursor con la interconversión de el grupo amino por un grupo azida. En base a esto se partió de (3) disolviéndolo en HCl 5M y se adicionó después nitrito de sodio y se encontró que el control de la reacción con el nitrito de sodio es clave en la generación de la azida antes de que la azida de sodio sea adicionada como paso final. Una vez transformado el grupo amino a grupo azido, se prosiguió a realizar el éster por reacción con clorometilpivalato en condiciones muy similares a las empleadas en la obtención de (11), al término de el tiempo de reacción se observó esta vez solo una mancha principal, que comprobó la intervención de el grupo amino en posición 4. Al final se obtuvo una sustancia oleosa de color café que se sometió a una hidrogenación catalítica con el objeto de investigar la diferencia en facilidad de reducción entre el grupo nitro y el grupo azido; de acuerdo al consumo de hidrógeno se observó una progresión rápida de la reacción y en CCF se observó la presencia de un producto principal y dos secundarios muy tenues, debido a la inestabilidad de el producto se decidió utilizar el sólido obtenido, sin purificar, a la síntesis convergente con el metoxycarbonilisotiociano. De acuerdo al monitoreo, por CCF, de la reacción se obtuvieron varios productos que no fue posible separarlos por el método de separación utilizado para los otros productos

obtenidos de cristalización fraccionada, se optó por tanto por utilizar una cromatografía en columna como método de separación, pero no se aisló producto alguno probablemente por su inestabilidad. Este ruta alterna no se exploró más y se consideró más conveniente realizar una última ruta sintética que pudiera servir como ruta alterna de los bioprecusores ya sintetizados en base a una hidrólisis de una trifluoroacetamida realizada en condiciones suaves con 1,1,3,3-tetrametilguanidina que un éster puede soportar. Para ello se llevó (3) a una hidrogenación catalítica que no presentó complicaciones, por características descritas anteriormente, dada la inestabilidad de la molécula obtenida (15) se prosiguió con el esquema de reacción y se omitió el uso de técnicas espectroscópicas para su elucidación estructural y se hizo reaccionar inmediatamente con anhídrido trifluoroacético y sin emplear como catalizador piridina, se obtuvo un rendimiento de 77 % de (16). El espectro (No. 44) de IR (KBr) muestra bandas características de grupo amida y de unión C-F. El espectro (No. 45) de ^1H RMN, corrido a 300 MHz, muestra un singulete a 10.474 ppm, que desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al protón unido al nitrógeno en la posición 4 de el anillo; un singulete a 10.330 ppm, que también desaparece con $^2\text{H}_2\text{O}$, correspondiente al protón unido al nitrógeno en la posición 4 de el anillo; y el sistema abx caracterizado por un doblete a 8.246 ppm con $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 2 de el anillo; un doble de dobles a 8.004 ppm con $J = 10$ Hz y $J = 3$ Hz, correspondiente al protón en la posición 6 de el anillo aromático; y un doblete a 7.775 ppm con $J = 10$ Hz, correspondiente al protón en la posición 5 de el anillo. El espectro (No. 46) de ^{13}C RMN muestra señales a 166.501 ppm, correspondiente a los tres carbonilos presentes en la molécula; 132.314 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 4

de el anillo; 129.663 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 3 de el anillo; 128.440 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 6 en el anillo; 127.711 ppm, correspondiente al carbono ipso en la posición 1 de el anillo; 127.609 ppm, correspondiente al carbono sustituido de la posición 2 en el anillo; y 125.090 ppm, correspondiente al carbono no sustituido de la posición 5 en el anillo. El espectro (No. 47) de EM (IE) muestra un ion molecular con una relación m/z de 344 que concuerda con la masa molecular esperada y un pico base con una relación m/z de 275 que corresponde a la pérdida de 69 unidades de masa (CF_3) partir de el ion molecular.

9. CONCLUSIONES

Fueron obtenidos varios bioprecusores de el farmacóforo 5-carboxi-1H-benzimidazol-2-carbamato de metilo. En algunos casos se logró realizar la interconversión de grupo funcional sobre el grupo amino solo que de manera distinta a la planteada originalmente pues no se lograron obtener bases de Mannich o azidas sino carbamatos y tioureidos que de cualquier forma, por medio de una reacción de hidrólisis, generarán al farmacóforo.

Cabe mencionar que las expectativas de los bioprecusores obtenidos en esta tesis, que difieren de los propuestos en consideraciones para el diseño, son enormes pues estas estructuras entran en el nuevo campo de el diseño de la síntesis de fármacos suaves conocidos como sistemas químicos de liberación o pre-fármacos¹ en el que se considera que la formación de el 5-carboxi-1H-benzimidazol-2-carbamato de metilo, a partir de estas moléculas, proviene por medio de la ciclación de la molécula (generación de el profármaco) seguido de la hidrólisis de el grupo éster (generación de el principio activo), siendo ambas realizadas dentro de el organismo administrado ya que la función de el éster presente en la molécula es la de incrementar la solubilidad de el principio activo por nulificación de su comportamiento como zwitterión. Las consecuencias de este comportamiento podrían provocar que dichas moléculas se absorbieran con mayor facilidad.

El trabajo de esta tesis sirvió, además, para ilustrar la importancia de la Química Farmacéutica que considerando el diseño racional de nuevos fármacos y utilizando a la Química Orgánica con sus distintas herramientas de caracterización que van de acciones tan sencillas como la determinación de propiedades físicas como puntos de fusión o valores de

Re hasta el uso de técnicas espectroscópicas para la elucidación estructural de los compuestos sintetizados como una disciplina que colabora en la búsqueda de nuevas alternativas que proporcionen una mejora en la calidad de vida a través de la solución de los problemas de salud que aquejan a los seres humanos.

10. PARTE EXPERIMENTAL

10.1 INSTRUMENTACION.

Los espectros de infrarojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 337 en pastilla de bromuro de potasio, las señales se dan en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (^1H RMN) y de carbono trece (^{13}C RMN) se determinaron en dos equipos: Uno Varian EM 390 (Facultad de Química) y otro Varian VXR-300 MHz (Instituto de Química) utilizando en ambos dimetilsulfóxido o cloroformo deuterados como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se dan en ppm (δ).

Los espectros de masas se determinaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) o por introducción directa de la muestra, el tipo de ionización utilizada para ambos fue ocasionada por impacto electrónico (IE), en un aparato marca JEOL-JMS-AX505-HA.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Buchi modelo 530 utilizándose capilares de vidrio.

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

Para realizar la hidrogenación catalítica se utilizó un hidrogenador marca Parr modelo 391EG con 60 lb/plg^2 , utilizando hidrógeno de tanque de la marca INFRA y como catalizador carbón con paladio al 5 % de Aldrich.

10.2 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Para la cromatografía en capa fina (ccf) se utilizaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice G.F.₂₅₄ (Merck) y placas de plástico recubiertas de gel de sílice con indicador fluorescente (Kodak). Los compuestos orgánicos se revelaron con luz UV y por exposición a vapores de yodo.

10.3 COMPOSICION DE LOS SISTEMAS DE ELUCION UTILIZADOS

SISTEMA	COMPOSICION	PROPORCION
I	Cloroformo-Metanol	90:10
II	Cloroformo-Metanol	80:20
III ^a	Tolueno-THF-Ácido Acético 16M	180:18:6

a : Según receta encontrada en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

10.4 ACIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO (1)

En un matraz de bola de 2L fueron colocados 150 g de ácido 4-aminobenzoico (1.09 mol) y 1.5 L de acetona anhidra; éste se tapó con trampa anhidra y mediante agitación magnética, la mezcla se homogeneizó. Fueron después adicionados, por medio de un embudo de adición de presiones igualadas, 155 mL de anhídrido acético (1.64 mol) en un lapso de 30 minutos; después de unos minutos se observó la precipitación de un sólido blanco, la agitación se prosiguió por espacio de una hora más, al término, la mezcla de reacción se filtró y el sólido obtenido se lavó con benceno y se dejó secar por una noche. Se obtuvieron 165 g de un polvo blanco (ácido 4-acetamido benzoico) que

correspondieron a un 84 % de rendimiento, el polvo presentó un punto de fusión de 260 °C y un Rf de 0.271 en el sistema II.

10.5 ACIDO 4-ACETAMIDO 3-NITROBENZOICO (2).

En un matraz bola de tres bocas de 1 L se añadieron 112 mL (1.814 mol) de ácido nítrico fumante. En una boca se colocó un termómetro de alcohol asegurándolo con un séptum y en otra un embudo de adición de presiones igualadas conteniendo 133 mL (2.399 mol) de ácido sulfúrico concentrado, previamente enfriado en un baño hielo sal. El matraz se colocó en un baño de hielo seco-isopropanol bajo agitación mecánica a velocidad media. Cuando la temperatura descendió a 0 °C comenzó la adición de el ácido sulfúrico gota a gota cuidando de que la temperatura de la mezcla de reacción no subiera por encima de los 10 °C. Al terminar la adición se dejó agitando la mezcla de reacción por 30 minutos. Fueron después adicionados 50 g de ácido 4-acetamidobenzoico, (1), (0.279 mol) manteniendo constante la agitación y el baño, cuidando de que la temperatura de la mezcla no excediera los 10 °C, posteriormente la mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente por 8 horas.

Transcurridas las 8 horas, la mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados que contenía hielo picado, con agitación mecánica vigorosa. El precipitado obtenido se separó por filtración al vacío lavándose con agua hasta la obtención de un valor de pH neutro. El sólido obtenido resultó ser un polvo amarillo que pesó 54 g, con un rendimiento de 86.32 %, punto de fusión 214-218 °C y un Rf= 0.56 en el sistema II.

10.6 ACIDO 4-AMINO-3-NITROBENZOICO (3).

En un vaso de precipitados de 1 L se colocaron 50 g (0.223 mol) de ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico, (2), y 125 mL (2.255 mol) de ácido sulfúrico concentrado. El vaso se colocó en una parrilla eléctrica y se mantuvo a 70 °C con agitación magnética por 6 horas. Después de ese tiempo, se suspendió el calentamiento, dejándose alcanzar la temperatura ambiente. Posteriormente se adicionó carbonato de sodio hasta alcanzar un valor de pH de 3.5, observándose la generación de un precipitado, el cual posteriormente se separó por filtración al vacío y se lavó varias veces con ácido clorhídrico al 20 %, el sólido finalmente se dejó secando al vacío por una noche. Fueron obtenidos 37 g de un polvo amarillo claro que corresponden a un rendimiento de 90 %, con un punto de fusión de 179-184 ° C con un Rf de 0.385 en el sistema I.

10.7 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO (4).

En un matraz bola de 1 boca de 500 mL, en baño de aceite, se colocaron 8 g de ácido 4-amino-3-nitrobenzoico, (3), (0.044 mol) y 140 mL de alcohol metílico anhidro, éste se equipó con un condensador en posición de reflujo y con una trampa anhidra. La mezcla de reacción se calentó ligeramente y se brindó una agitación magnética mediana hasta completa disolución. Una vez disuelta la materia prima se suspendió el calentamiento y al llegar la mezcla a temperatura ambiente se añadieron cuidadosamente 2.4 mL de ácido sulfúrico concentrado. Terminada la adición, el calentamiento y la agitación se reanudaron hasta lograr reflujo manteniéndolo así por espacio de 6 horas. Transcurrido ese tiempo se

suspendió el calentamiento y la agitación; al enfriarse la mezcla de reacción apareció un precipitado, el cual se separó por filtración al vacío y lavó con solución caliente de carbonato de sodio, finalmente se dejó secando al vacío por una noche. Se obtuvieron 7.8 g de un sólido de color amarillo con un 90 % rendimiento, un punto de fusión de 194 °C y un Rf de 0.585 en el sistema I.

10.8 3,4-DIAMINOBENZOATO DE METILO (5).

En un frasco reactor de 600 mL se mezclaron 2.4 g (0.012 mol) de 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (4) y 0.24 g de carbón activado con paladio al 5 %. Se añadieron después 200 mL de alcohol metílico; la mezcla se agitó manualmente un poco y se llevó al aparato hidrogenador en donde se tapó y selló la boca del frasco. Se llenó después a 60 psi de presión de hidrógeno y se inició la agitación, se monitoreó el progreso de la reacción por la lectura de la presión interna de el frasco reactor, suspendiendo la agitación y volviendo a saturar el frasco cuando la presión de éste llegara las 20 psi; la reacción se completó luego de que la presión interna de el frasco reactor permaneciera constante por varios minutos y de que se observara la extinción de la materia prima en CCF. Se registró un consumo de 44 psi de presión de hidrógeno en un lapso de una hora con veinticuatro minutos. Al término de la reacción se eliminó el catalizador por succión al vacío para finalmente evaporar a sequedad la solución metanólica obtenida. Se obtuvo un sólido de color café claro que presentó un peso de 1.9 g con un 93.6 % de rendimiento y un Rf de 0.719 en el sistema I.

Dada la inestabilidad del compuesto obtenido y a que se prosiguió inmediatamente el esquema de reacción para la obtención de (6), no se obtuvieron datos espectroscópicos.

10.9 3,4-BIS-(3-METOXCARBONIL-2-TIOUREIDO)BENZOATO DE METILO (6).

Al mismo tiempo que se inició la hidrogenación catalítica para la obtención de (5) se comenzó la preparación de el reactivo con el cual reaccionaría. Para esto, en un matraz bola de 250 mL de una boca se colocaron 2.3 g (0.024 mol) de KSCN y 25 mL de acetonitrilo, éste se tapó con trampa anhidra; la mezcla se mantuvo en agitación magnética a temperatura hasta casi disolución total. Fueron después añadidos, por medio de un embudo de adición de presiones igualadas, 1.8 mL (0.024 mol) de cloroformiato de metilo por goteo lento, terminada la adición la agitación se continuó por espacio de dos horas.

El sólido obtenido en la reacción anterior (5) se suspendió en un poco de acetonitrilo y trasvasó al matraz conteniendo la mezcla de reacción de el tiocianato de potasio y el cloroformiato de metilo, ésta se dejó agitando a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno por una noche. Al día siguiente la materia prima se extinguió totalmente, por lo que la mezcla se filtró, para eliminar el KCl formado, y se evaporó después a sequedad. Se obtuvo una sustancia oleosa de color café. Dos productos principales se obtuvieron (6) y (7) al adicionar benceno a la sustancia oleosa y dejándola reposar por dos días. Al final se obtuvo un sólido depositado en el fondo de el matraz, éste se filtró y se obtuvo un polvo de color café. La separación de (6) se obtuvo por cristalización fraccionada por par de disolventes acetato de etilo-hexano. Al final se obtuvo un sólido

del mismo color con un un punto de fusión de 128-140 ° C y un valor de Rf de 0.220 en el sistema III.

10.10 3-(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)-4-(METOXICARBONILAMINO)-BENZOATO DE METILO (7).

El compuesto (7) se obtuvo de la reacción de preparación de (6). La separación de (7) se logró a partir de la recristalización por par de disolventes acetato de etilo-hexano. Al final se obtuvo un sólido de color café con un un punto de fusión de 164-165 ° C y un valor de Rf de 0.136 en el sistema III.

10.11 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE ETILO (8).

En un matraz bola de 500 mL de una boca se agregaron 5 g (0.027 mol) de ácido 3-amino-4-nitrobenzoico (3) y 150 mL de etanol anhidro, éste se equipó con un condensador en posición de reflujo y una trampa anhidra al final, la mezcla se homogeneizó al proporcionarle un calentamiento suave, a través de una canastilla de calentamiento, y agitación magnética, después, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Terminada la adición, el calentamiento y la agitación se reanudaron hasta generación de reflujo en la reacción, ésta se dejó en estas condiciones por espacio de cuatro días. Transcurrido este tiempo, el calentamiento se suspendió y se dejó que la mezcla de reacción llegara a temperatura ambiente, después se evaporó a sequedad el alcohol etílico de la mezcla, el residuo obtenido se lavó con un poco de solución concentrada de carbonato de potasio

caliente, se filtró al vacío y se dejó secando por una noche. El producto crudo obtenido, con un peso de 4.1 g y un rendimiento de 71 %, se encontró impuro, evidenciado por CCF, por lo que se disolvió, en un matraz Erlen Meyer de 125 mL, con 68 mL de cloruro de metileno caliente y se le agregaron 0.82 g de carbón activado ésta mezcla se llevó a ebullición, se filtró y dejó secando al vacío por una noche. Se obtuvo un sólido de color amarillo claro (8) con un peso de 3 g, un punto de fusión de 133-134 ° C y un Rf de 0.589 en el sistema I.

10.12 3.4-DIAMINO BENZOATO DE ETILO (9).

En un frasco reactor de 600 mL se mezclaron 2.8 g (0.013 mol) de 4-amino-3-nitrobenzoato de etilo (8), 0.3 g de carbón activado con paladio al 5%, y 200 mL de alcohol etílico. La mezcla se agitó un poco de forma manual y se llevó al hidrogenador. El frasco se tapó y selló. Se llenó posteriormente con hidrógeno hasta que alcanzó un valor de 60 psi de presión y se comenzó la agitación, el progreso de la reacción se evidenció a través del consumo de hidrógeno por la disminución de la presión interna de el frasco reactor deteniendo la agitación cuando ésta llegara a los 20 psi de presión y volviendo a llenar hasta 60 psi de presión antes de reiniciar la agitación. La mezcla de reacción consumió un total de 40 psi de presión de hidrógeno en un lapso de media hora antes de alcanzar un valor de presión que permaneció constante por varios minutos. La mezcla de reacción perdió su coloración inicial amarilla. Terminada la reacción se eliminó el catalizador sobrante por succión al vacío y la mezcla de reacción se evaporó a sequedad. Se obtuvo un sólido de color blanco.

que se dejó secando al vacío por espacio de diez minutos y que pesó 2.5 g con un rendimiento de 100 % y con un Rf de 0.777 corrido en el sistema I.

Dada la inestabilidad de el compuesto obtenido se omitieron los datos espectroscópicos y este producto (9) se empleó inmediatamente como materia prima para la siguiente reacción de obtención de (10).

10.13 N-METOXICARBONIL-N'-(3-ETOXICARBONIL-6-AMINOFENIL)TIUREA (10).

Al mismo tiempo que se inició la preparación de (9) se comenzó la preparación de el reactivo con el cual reaccionaría.

En un matraz bola de 250 mL de una boca se colocaron 2.68 g (0.028 mol) de KSCN y 23 mL de acetona anhidra, éste se tapó con trampa anhidra y se dejó agitando magnéticamente, a temperatura ambiente, hasta la completa disolución de el KSCN. Después fueron adicionados, mediante un embudo de adición de presiones igualadas, 2.13 mL (0.028 mol) de cloroformiato de metilo, diluido con dos mL de acetona anhidra, con un goteo suave y constante, terminada la adición, el matraz se volvió a tapar con trampa anhidra y se dejó agitando la mezcla de reacción por dos horas más, al término de las cuales, el reactivo estuvo listo para reaccionar con (9)

El producto obtenido en la reacción anterior (9) se resuspendió en un poco de acetona anhidra y se trasvasó al matraz que contenía el reactivo preparado a partir de KSCN y cloroformiato de metilo. Al final, éste se dejó agitando a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno por 24 horas. Al término de este periodo la mezcla se monitoreó por CCF y se observó la aparición de una mancha principal y varias secundarias por lo

que se optó por detener la reacción filtrándose al vacío; el filtrado obtenido se evaporó a sequedad; se obtuvo una sustancia oleosa de color café, que generó un precipitado cuando se le adicionó benceno; éste se separó por filtración al vacío y se obtuvieron 1.9 g de un sólido de color blanco (10) que presentó un rendimiento del 45% , un punto de fusión de 140°C y un valor de R_f de 0.438 en el sistema I.

10.14 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO (11)

En un matraz bola de 250 mL de una boca se colocaron 10 g (0.055 mol) de ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (3), 11.4 mL (0.083 mol) de trietilamina y 12.5 mL de DMF, se montó, en la boca de el matraz, una trampa anhidra y se dejó agitando magnéticamente a temperatura ambiente por una hora hasta la formación de una solución de color café oscuro; después se adicionaron 12 mL (0.083 mol) de pivalato de clorometilo. Se observó desprendimiento de vapores de color blanco, el matraz se volvió a acondicionar de la trampa anhidra y la reacción se dejó en agitación magnética por espacio de 24 horas a temperatura ambiente. Por CCF se evidenció la presencia de un producto principal y un secundario. Se agregó después un poco de acetato de etilo a la mezcla de reacción y trasvasó a un embudo de extracción en donde se lavó con solución de sosa diluida y después con agua hasta la obtención de un valor de pH neutro de la fase acuosa; la fase orgánica se secó con cloruro de calcio y se concentró en rotavapor. Al final se obtuvo una sustancia café oleosa que al dejar reposar una noche generó pequeños cristales amarillos; éstos se separaron por filtración al vacío y lavaron con éter isopropílico con el objeto de eliminar la impureza oleosa. El sólido obtenido

se dejó secando al vacío por una noche. Se obtuvieron cristales de un color amarillo oscuro con un punto de fusión de 91-92 ° C y un Rf de 0.650 en el sistema I.

10.15 3,4-DIAMINOBENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO (12)

En un frasco reactor de 600 mL se mezclaron 3 g (0.010 mol) de 4-amino-3-nitrobenzoato de pivaloiloximetilo (11) y 0.3 g de carbono activado con paladio al 5%. se adicionaron después 200 mL de alcohol etílico. la mezcla se agitó manualmente y se llevó al hidrogenador; el frasco se tapó y selló. Después se llenó con hidrógeno a 60 psi de presión y se agitó. El progreso de la reacción se evidenció por el consumo de hidrógeno y disminución de la presión interna de el frasco reactor; la agitación se detuvo cuando ésta alcanzó los 20 psi de presión para volver a llenar el frasco a 60 psi de presión e iniciar nuevamente la agitación. El consumo total de hidrógeno fue de 40 psi de presión en 30 minutos antes de presentar un valor constante de presión interna por varios minutos. Después la mezcla de reacción se filtró y la solución etanólica se evaporó a sequedad. Se obtuvo como producto crudo un sólido de color café claro que pesó 3.4 g que fue lavado con cloroformo para dar lugar a un polvo muy fino de color blanco que tiende a oscurecerse con el transcurso del tiempo. Se obtuvieron finalmente 2.3 g de este polvo con un Rf de 0.102 en el sistema III.

Dada la inestabilidad de este producto se omitió el empleo de técnicas espectroscópicas y se procedió a utilizarse inmediatamente en la siguiente reacción.

10.16 3,4-BIS(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)BENZOATO DE PIVALOIL-OXIMETILO (13).

Al mismo tiempo que se inició la reacción para la obtención de (12) se inició la preparación de el reactivo (metoxicarbonilisotiociano) al cual se enfrentó más adelante.

En una matraz bola de 100 mL de una boca se colocaron 1.84 g (0,019 mol) de tiocianato de potasio y 20 mL de acetonitrilo, la boca de el matraz se equipó con una trampa anhidra, se dejó agitando magnéticamente y a temperatura ambiente por cierto tiempo hasta disolución parcial. Fueron después adicionados, mediante un embudo de adición de presiones igualadas, 1,5 mL (0,019 mol) de cloroformato de metilo, diluido en 2 mL de acetonitrilo, por un goteo suave y constante. Terminada la adición, el matraz se dejó en agitación magnética a temperatura ambiente por dos horas más.

El sólido obtenido en la reacción anterior (12) se suspendió en un poco de acetonitrilo y trasvasó al matraz que contenía el metoxicarbonilisotiociano ya preparado, se continuó la agitación magnética a temperatura ambiente pero ahora bajo atmósfera de nitrógeno por espacio de una semana con un monitoreo frecuente. Transcurrido ese tiempo, la mezcla de reacción se filtró al vacío, para eliminar el KCl formado; se obtuvo un líquido café de apariencia oleosa que comenzó a solidificar inmediatamente; ésta se disolvió en un poco de benceno y se guardó en refrigeración una noche. Al día siguiente, después de la que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente, el sólido formado se separó por filtración, y presentó un color amarillo claro. La purificación de (14) se realizó por cristalización fraccionada utilizando acetato de etilo-

hexano como par de disolventes. Al final se obtuvo un sólido de color blanco con un punto de fusión de 162 ° C y un valor de Rf de 0.172 en el sistema III.

10.17 3-(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)-4-METOXICARBONILAMINO-BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO (14).

El compuesto (14) se generó de la reacción de obtención de (13). La separación por recristalización fraccionada permitió el aislamiento de un sólido de color blanco con un punto de fusión de 146 ° C y un valor de Rf de 0.224 en el sistema III.

10.18 ACIDO 3,4-DIAMINO BENZOICO (15).

En un frasco reactor de 500 mL se mezclaron 2,4 g (0,013 mol) de ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (3) y 0,24 de catalizador de carbono con paladio al 5 %, se adicionaron después 150 mL de alcohol etílico. La mezcla se agitó manualmente y se llevó al hidrogenador en donde se selló y llenó con hidrógeno hasta una presión interna de 60 psi ; después de esto se inició la agitación. El progreso de la reacción fue evidenciado por el consumo de hidrógeno a través de la disminución en la presión interna de el frasco con el transcurso de el tiempo, suspendiéndose la agitación cuando la presión interna llegara a 20 psi para llenar de nuevo la cámara y continuar la agitación. La mezcla de reacción presentó un consumo de 50 psi de presión de hidrógeno en 1 hora con 26 minutos antes de permanecer constante el valor de presión interna por varios minutos. Al monitorear la mezcla de reacción por CCF se evidenció la presencia de

materia prima por lo que se adicionaron 0.2 g más de catalizador, la cámara se llenó de nuevo de hidrógeno y la agitación se inició nuevamente. En esta segunda adición de catalizador se registró un consumo de 13 psi de hidrógeno en 1 hora con 40 minutos antes de que el valor de presión interna de el frasco reactor permaneciera constante por varios minutos. Al final la mezcla se filtró y el filtrado obtenido se evaporó a sequedad obteniéndose un sólido de color café oscuro con un peso de 2 g con un rendimiento de 100% y un valor de RI 0,116 en el sistema III.

Dada la inestabilidad de el compuesto obtenido se prosiguió inmediatamente con la siguiente reacción y se omitió el uso de técnicas espectroscópicas de elucidación estructural.

10.19 ACIDO 3,4-BIS(TRIFLUOROACETAMIDO)BENZOICO (16)

El ácido 3,4-diaminobenzoico (13) obtenido en la reacción anterior fue suspendido en 20 mL de acetonitrilo y le fueron adicionados 4.3 mL (0.029 mol) de anhídrido trifluoroacético, al término de la adición se observó una completa disolución de el sólido suspendido para formar una solución homogénea de color púrpura, la mezcla de reacción se dejó bajo agitación magnética a temperatura ambiente por espacio de 24 horas : transcurrido ese tiempo ésta se monitoreó por CCF y se evidenció la presencia de materia prima, por lo que se añadieron 0.9 mL (0.006 mol) más de anhídrido trifluoroacético. Veinticuatro horas más tarde, una CCF mostró que la materia prima ya se había extinguido por lo que se detuvo la agitación y se evaporó el acetonitrilo a sequedad. Se obtuvo una sustancia oleosa de color púrpura que se disolvió posteriormente en

acetato de etilo, se le agregaron unas gotas de trietilamina y se lavó varias veces la fase orgánica con agua ; el valor de pH de los extractos acuosos siempre fue menor a 1 ; la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad, al final se obtuvieron 3.48 g con de un sólido de color púrpura con un rendimiento de 77 % y un Rf de 0.311 en el sistema III.

11. BIBLIOGRAFIA

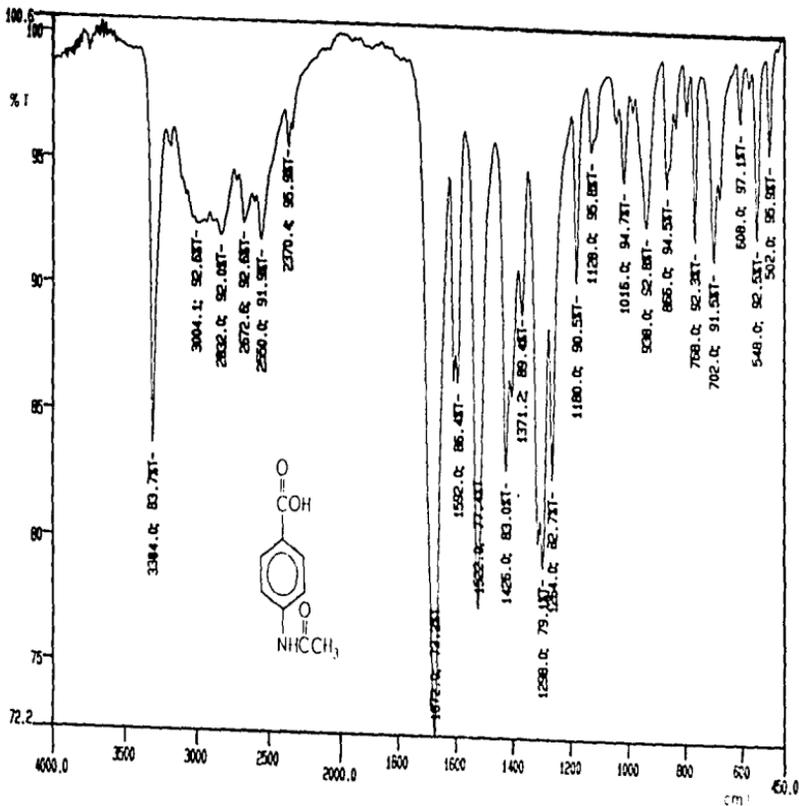
1. Satyavan Sharma. Drugs for Filariasis: Four Decades of Research. *Advances in Drug Research* 1993; 24: 199-255.
2. Horton R.J. Benzimidazoles in a Wormy World. *Parasitology Today* 1990; 6 (4): 106.
3. de Haro Arteaga Irene; Salazar Schettino María Paz; Cabrera Bravo Margarita. Diagnóstico Morfológico de las Parasitosis. 2ª Edición. Méndez Editores. 1995. 289 pp.
4. Townsend L.B. and Wise D.S. The Synthesis and Chemistry of Certain Anthelmintic Benzimidazoles. *Parasitology Today* 1990; 6 (4): 107-112.
5. McCracken O. R. and Lipkowitz K. B. Structure-Activity Relationships of Benzothiazole and Benzimidazole Anthelmintics: A Molecular Modeling Approach to In Vivo Drug Efficacy. *Journal of Parasitology* 1990; 76 (6): 853-864.
6. Lacey E. Mode of Action of Benzimidazoles. *Parasitology Today* 1990; 6 (4): 112-115.
7. Sarwai Rashmi; Sanyal S. N.; Khara S. In Vitro Effect of Benzimidazole Drugs on the Enzymes of Lipid Metabolism in *Trichuris globulosa*. *Journal of Parasitology* 1989; 75 (5): 808-810.

-
8. Pritchard D. I. Why Do Some Parasitic Nematodes Secrete Acetylcholinesterase (AChE) ? . *International Journal of Parasitology* 1993 ; 23 (5) : 549-550.
 9. Roos M. H. The Molecular Nature of Benzimidazole Resistance in Helminths. *Parasitology Today* 1990 ; 6 (4) : 125-127.
 10. Waller P. J. Resistance in Nematode Parasites of Livestock to the Benzimidazole Anthelmintics. *Parasitology Today* 1990 ; 6 (4) : 127-129.
 11. Campbell W. C. ; Benzimidazoles : Veterinary Uses. *Parasitology Today* 1990 ; 6 (4) : 130-133.
 12. Cook G.C. Use of Benzimidazole Chemotherapy in Human Helminthiases : Indications and Efficacy. *Parasitology Today*, 1990 ; 6 (4) : pp. 133-136.
 13. Greene Bruce M. Modern Medicine versus an Ancient Scourge : Progress toward Control of Onchocerciasis. *The Journal of Infectious Diseases* 1992 ; 166 : 15-21.
 14. Ottesen Eric A. The human filariases : new understandings, new therapeutic strategies. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1994 ; 7 : pp. 550-558.

-
15. Gottschall D. W.; Theodorides V. J.; Wang R. The Metabolism of Benzimidazole Anthelmintics. *Parasitology Today* 1990; 6 (4) : 115-124.
16. Bundgaard H. A textbook of Drug Design and Development. Edited by Paul Krosggaard-Larsen and Bundgaard. Harwood Academic Publishers. U.K. 1991. 300 pp.
17. Korolkovas Andrejus. Essentials of Medicinal Chemistry. 2nd Edition. Wiley Interscience Publication. 1988. 1204 pp.
18. Ram Siya; Wise Dean S.; Wolring Linda L.; McCall John W.; Townsend Leroy B. Synthesis and Biological Activity of Certain Alkyl 5-(Alkoxy carbonyl)-1H-benzimidazole-2-carbamates and Related Derivatives: A New Class of Potential Antineoplastic and Antifilarial Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* 1992; 35: 539-547.
19. Dawson Michael; Watson Thomas R. 4-Amino-3(3'-Methoxycarbonyl-2'-Thioureido)Benzophenone, a prodrug of Mebendazole. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1983; 8 (4) : 329-334.
20. Elmer G. W.; Rimmel R. P. Role of the intestinal microflora in clonazepam metabolism in the rat. *Xenobiotica* 1984; 14 (11) : 829-840.
21. Naik A.; Irwin W. J.; Griffin R.J. The reduction of azidoprofen: A model for a soft anti-inflammatory drug for topical application. *International Journal of Pharmaceutics* 1993; 89: 51-63.

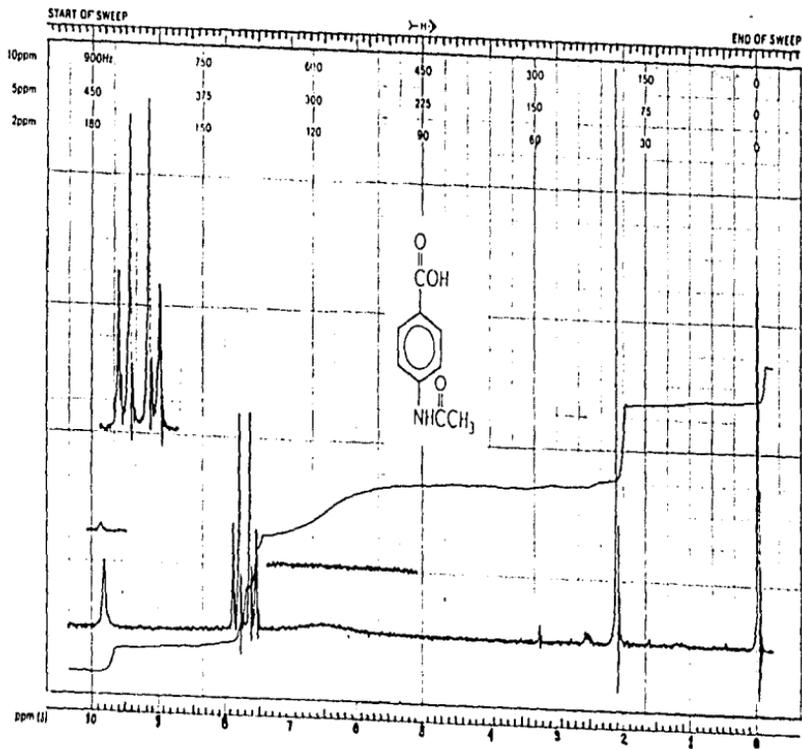
22. Alcántara Priego Eduardo. Síntesis de un Compuesto Filaricida del tipo Bencimidazol-2-carbamato de metilo, un Profármaco del mismo y la Determinación de sus Propiedades Físicoquímicas de interés farmacéutico. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM. 1996. 90 pp.
23. Pretsch Ernö ; Clerc Thomas ; Seibl Joseph ; Simon Wilhem. Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compunds. Second Edition. Springer-Verlag. 1989.
24. Silverstein R. M. ; Bassier G, Clayton ; Morrill Terrence C. Spectrometric Identification of Organic Compounds. Fifth Edition. John Wiley & Sons, Inc. 1991. 419 pp.
25. Bodor Nicholas. Design of biologically safer chemicals. *Chemtech*. 1995 October: 22-32.

12. ESPECTROS



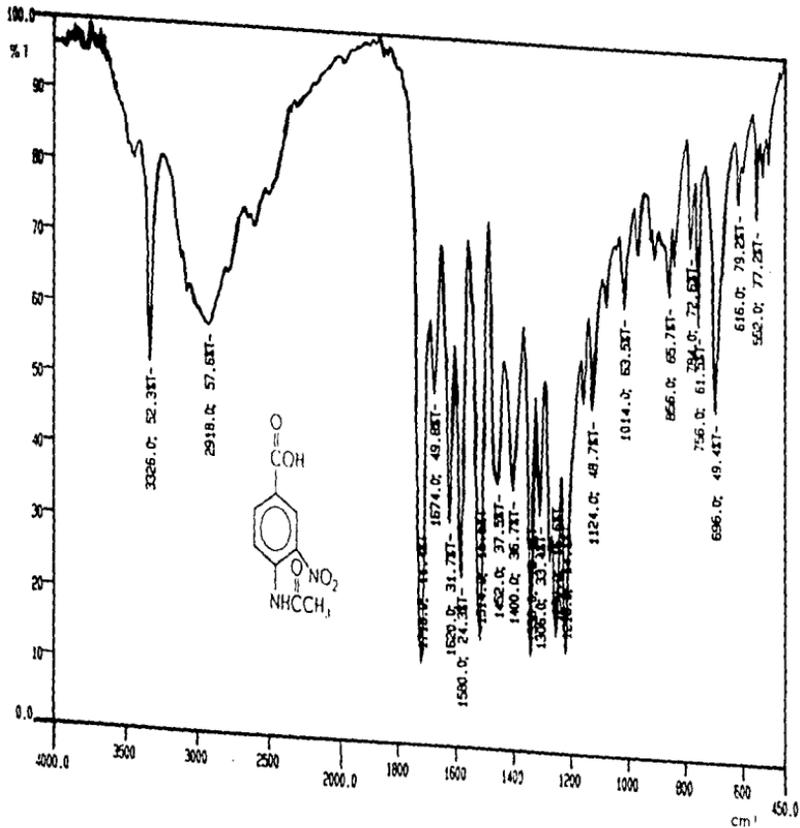
ESPECTROS

ESPECTRO No. 1. IR (KBr). ACIDO 4-ACETAMIDOBENZOICO.



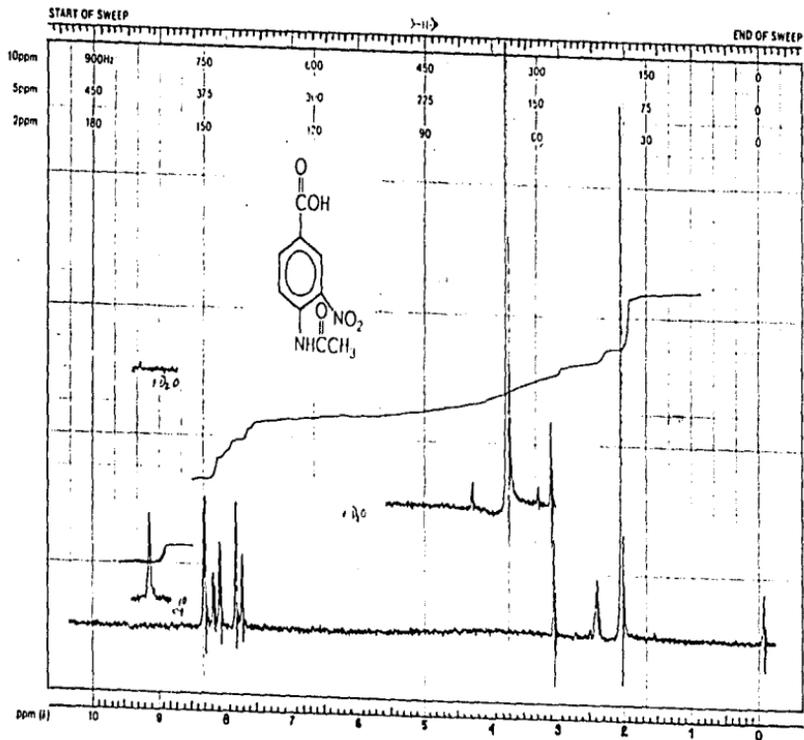
ESPECTRO N. 2

ESPECTRO No. 2. ¹H RMN. ACIDO 4-ACETAMIDOENZOICO.



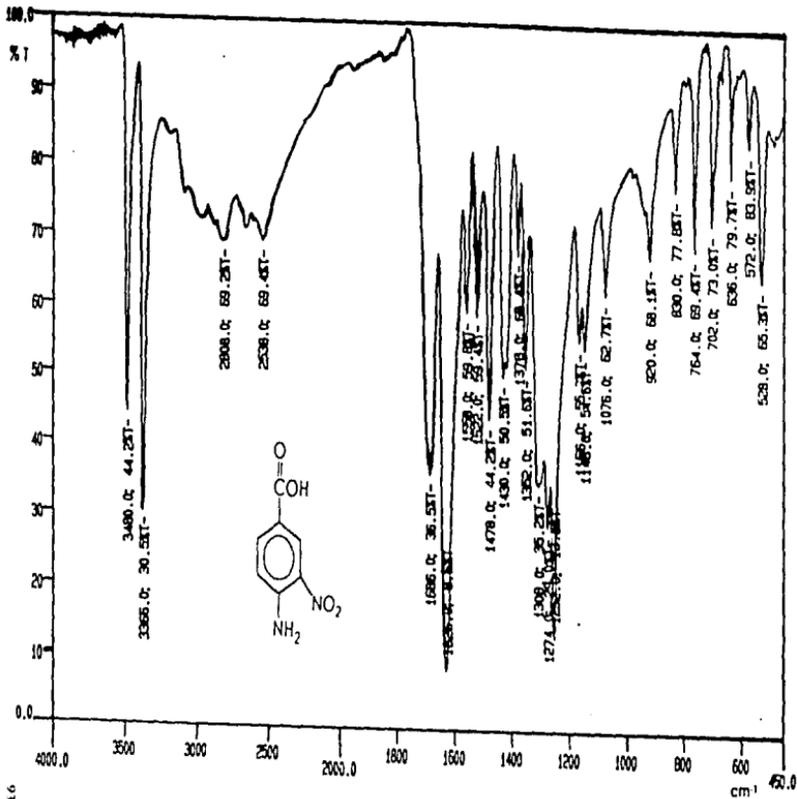
ESPECTROS

ESPECTRO No. 3. IR (KBr). ACIDO 4-ACETAMIDO-3-NITROBENZOICO.



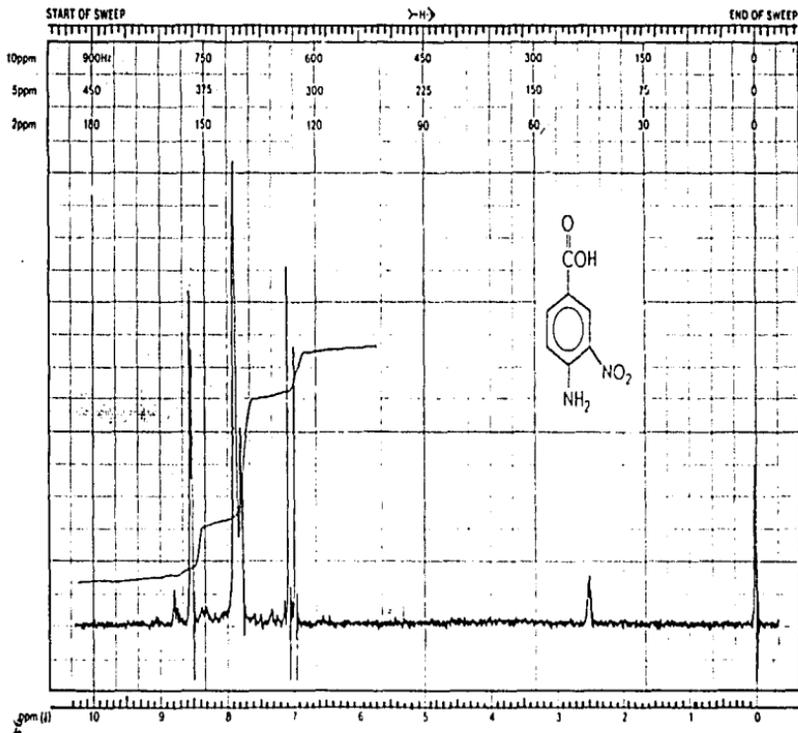
ESPECTROS

ESPECTRO No. 4. ¹H RMN. ACIDO 4-ACETAMIDO-3-NITROBENZOICO.



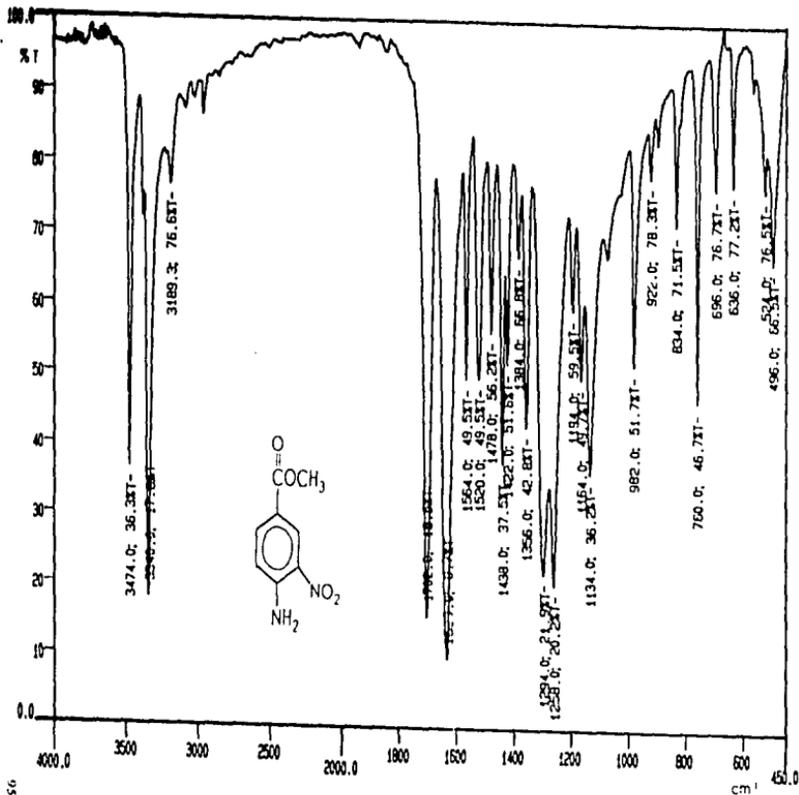
ESPECTRO No. 5. IR (KBr). ACIDO 4-AMINO-3-NITROBENZOICO.

ESPECTROS



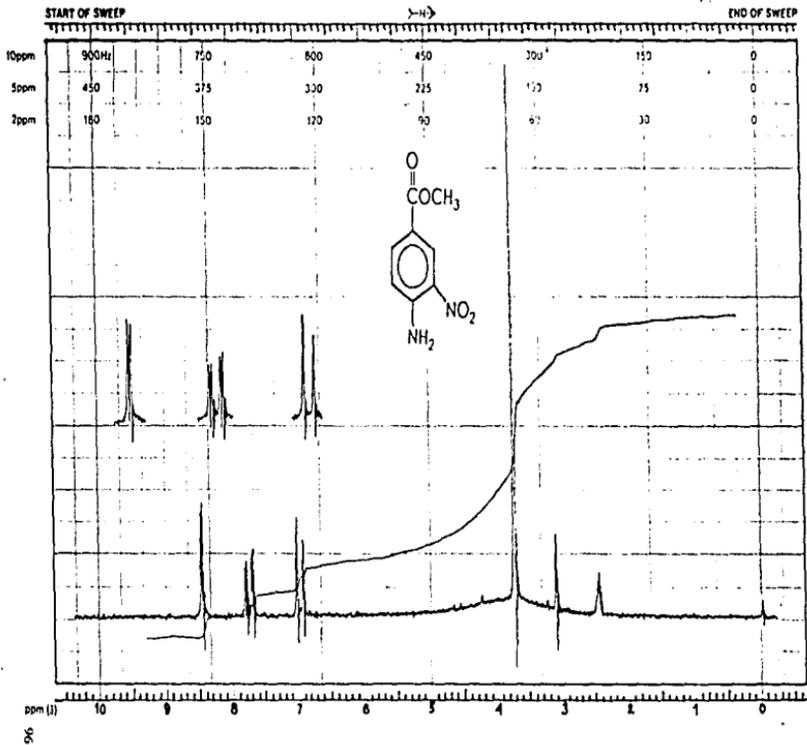
ESPECIROS

ESPECIRO No. 6. ¹H RMN. ACIDO 4-AMINO-3-NITROBENZOICO.



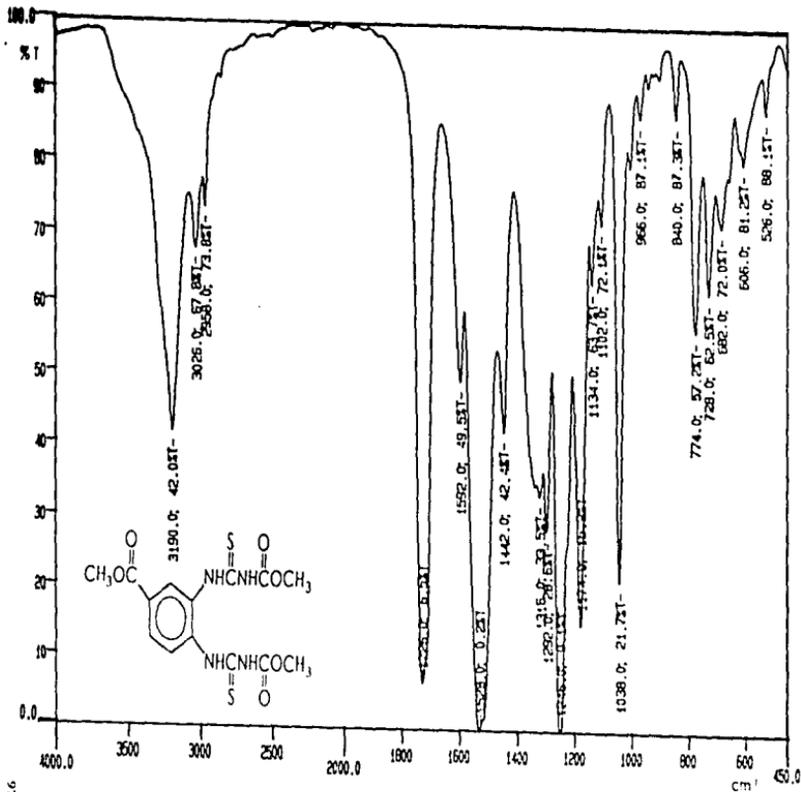
ESPECTRO No. 7. IR (KBr), 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO.

ESPECIARIOS



ESPECTROS

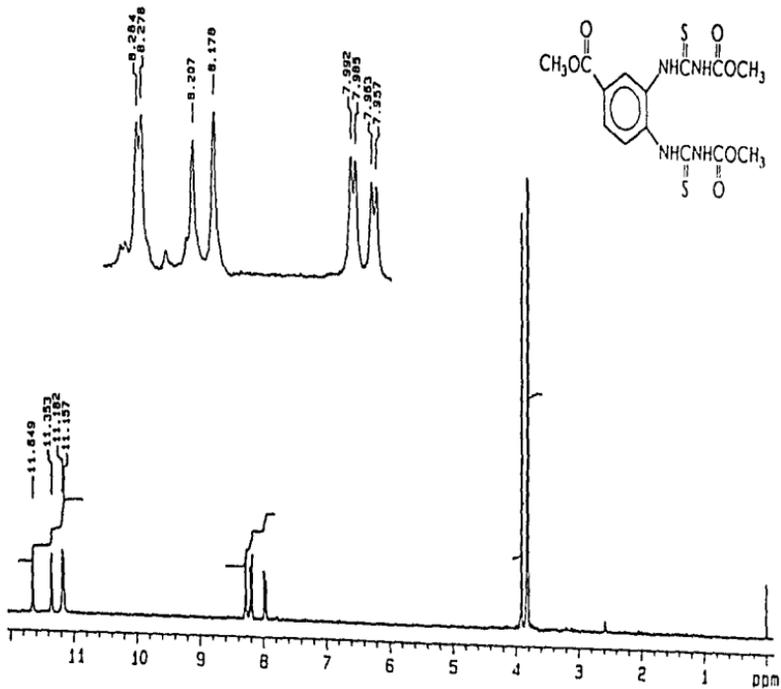
ESPECTRO No. 8. ¹H RMN. 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE METILO



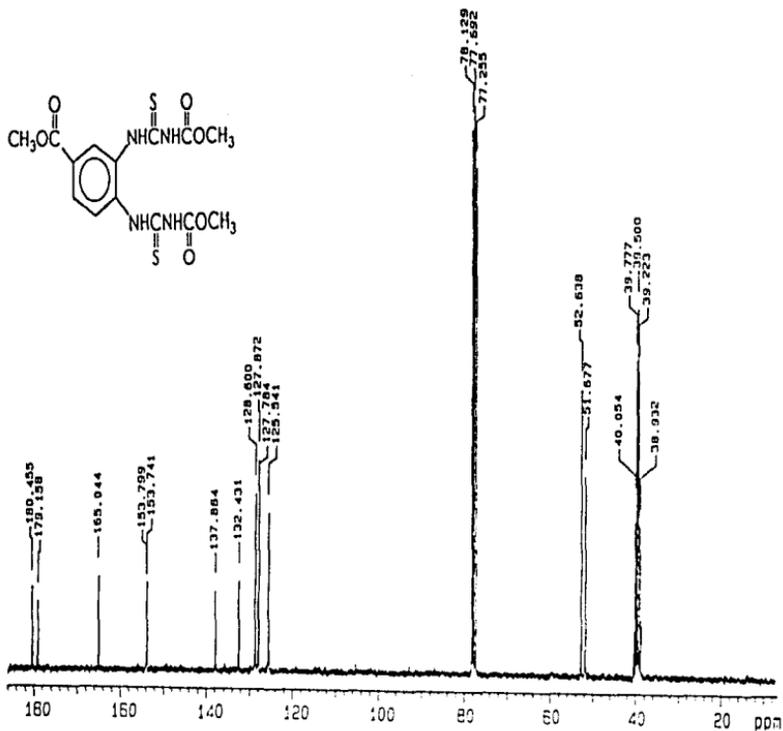
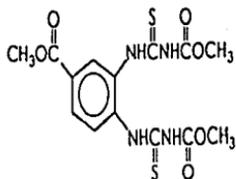
97

ESPECTRO No. 9. IR (KBr). 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-IOUREIDO)BENZOATO DE METILO.

ESPECIMENS

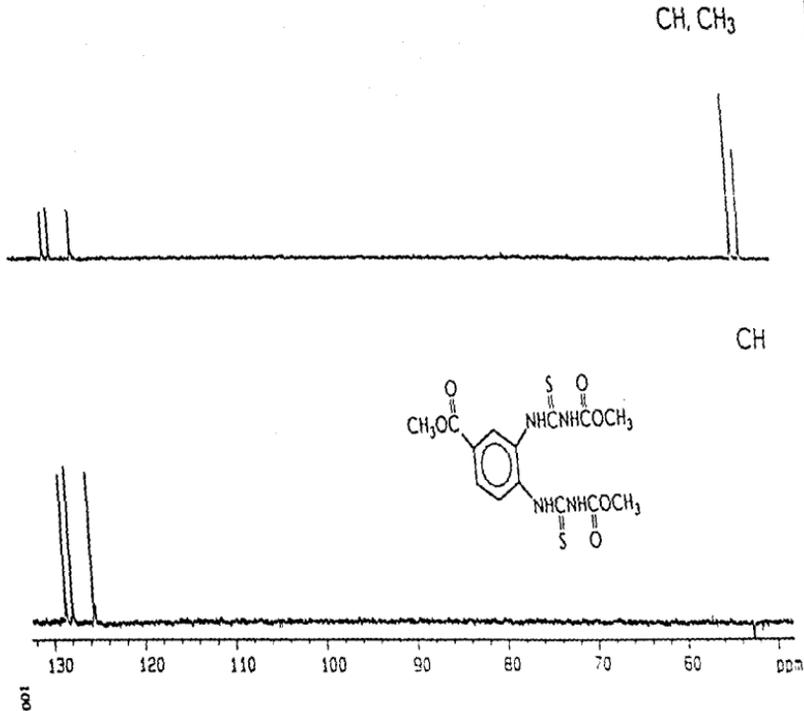


ESPECTRO No. 10. ¹H RMN. 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)BENZOATO DE METILO.

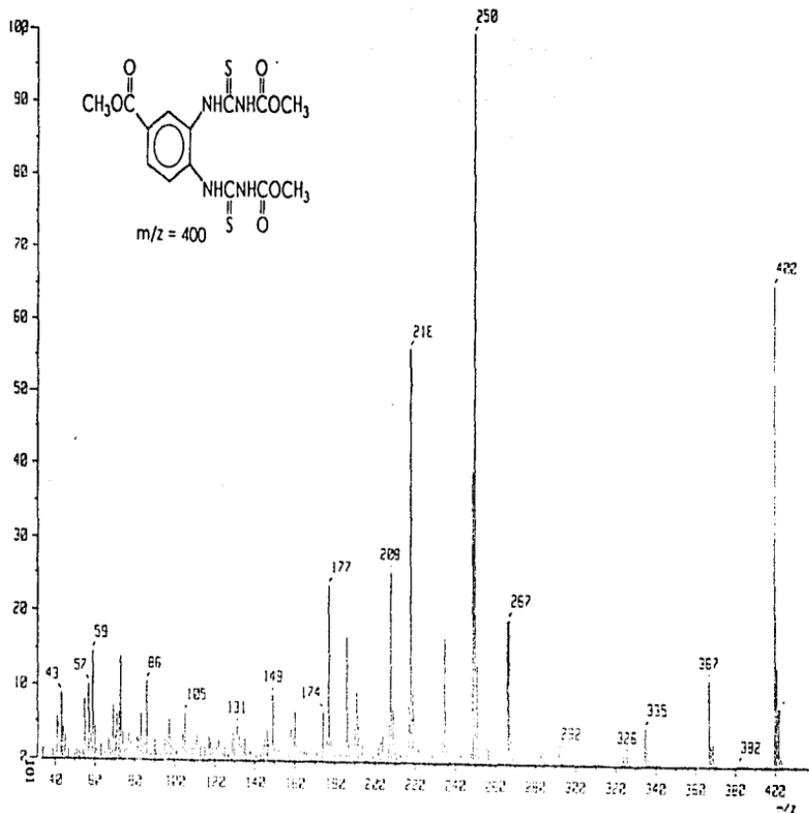


ESPECTROS

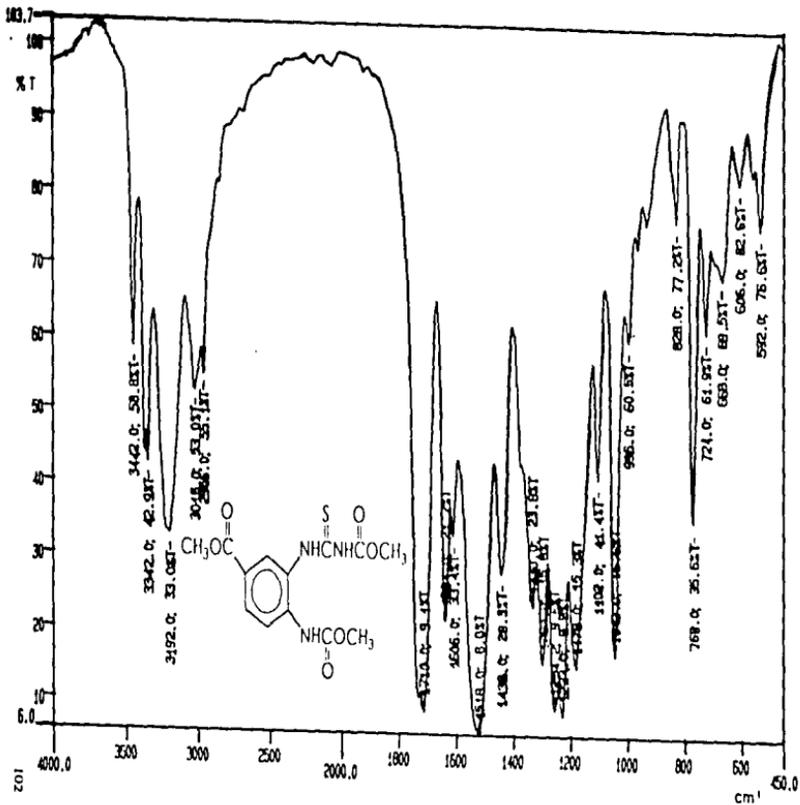
ESPECTRO No. 11. ¹³C RMN. 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO)BENZOATO DE METILO.



ESPECTRO No. 12. DEPT. 3,4-BIS-[3-METOXCARBONIL-2-TIOUREIDO]BENZOATO DE METILO.

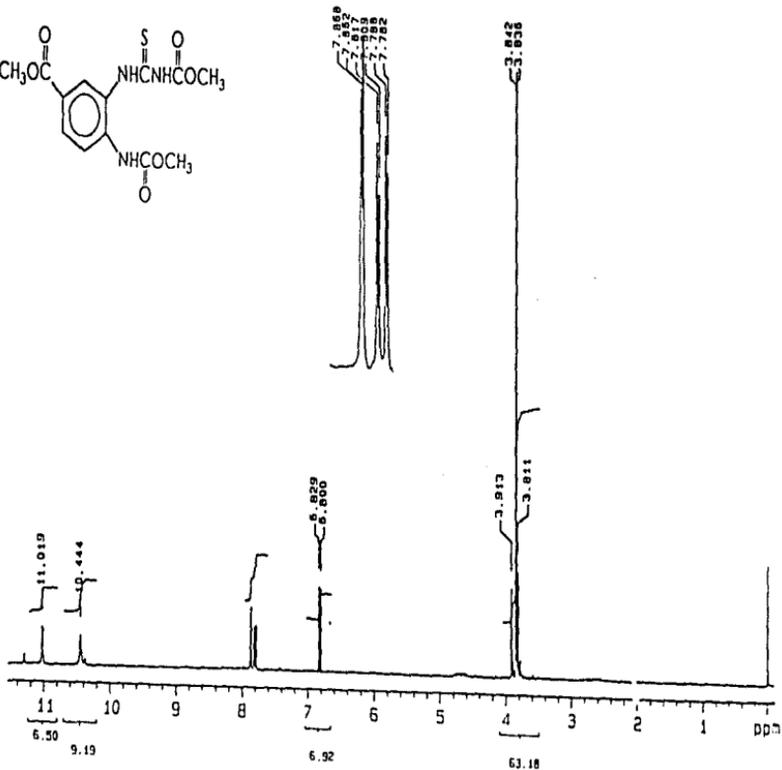
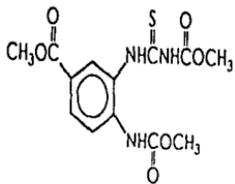


ESPECTRO No. 13. EM (IE). 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO)BENZOATO DE METILO.



ESPECTROS

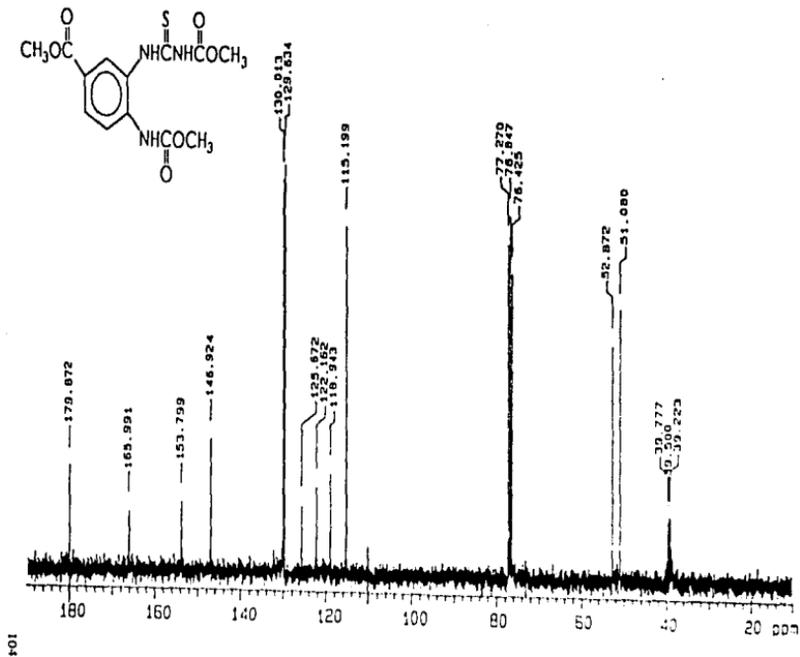
ESPECTRO No. 14. IR (KB). 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-(METOXICARBONILAMINO)BENZOATO DE METILO.



103

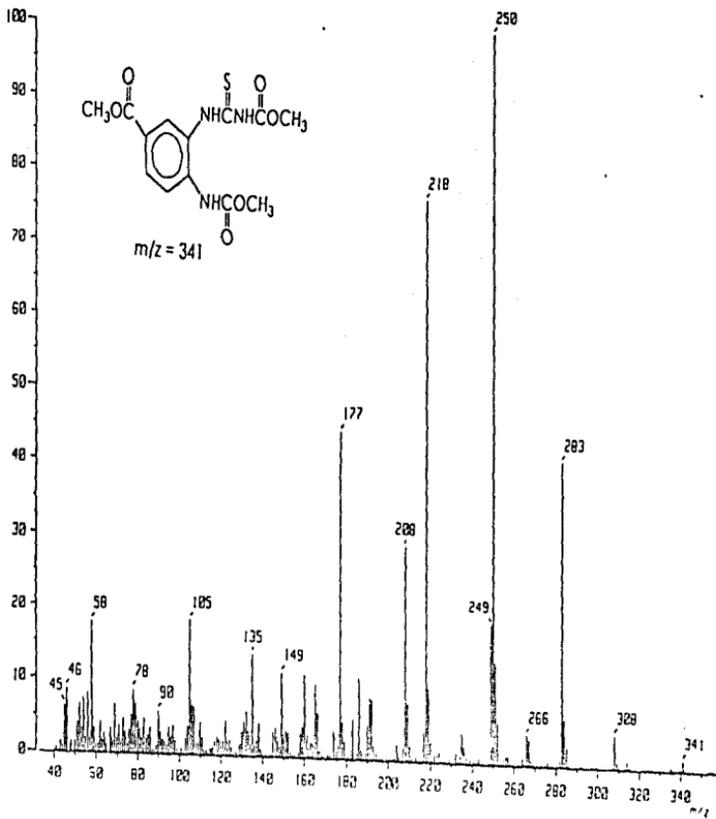
ESPECTROS

ESPECTRO No. 15. ¹H RMN, 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-(METOXICARBONILAMINO)BENZOATO DE METILO.



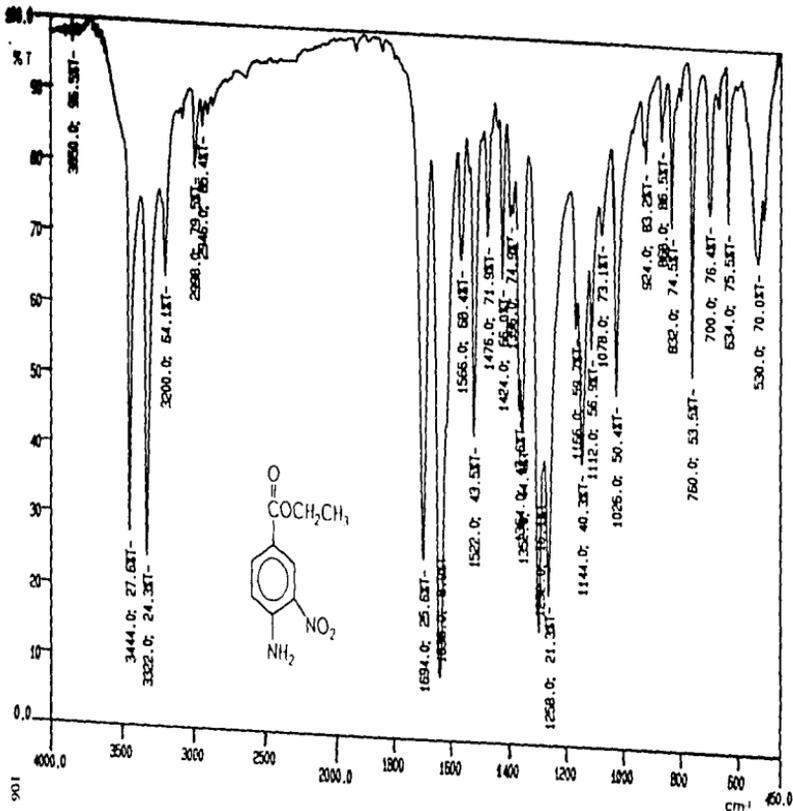
ESPECTROS

ESPECTRO No. 16. ^{13}C RMN. 3-[3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO]-4-[METOXICARBONILAMINO]BENZOATO DE METILO.



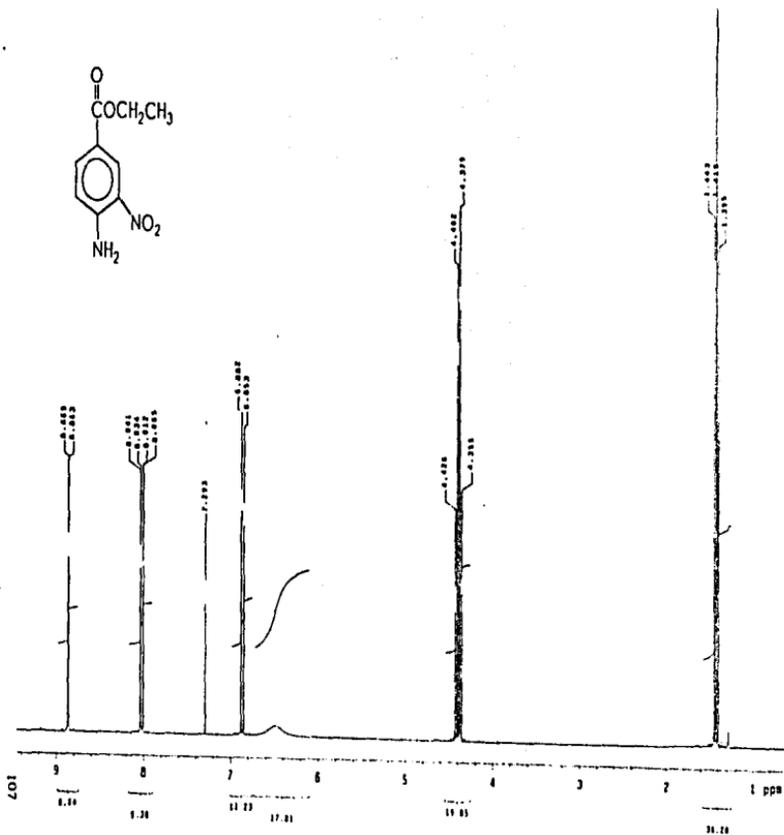
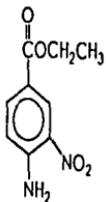
ESPECTROS

ESPECTRO No. 17. EM (IE). 3-(3-METOXICARBONIL-2-IOUREIDO)-4-(METOXICARBONILAMINO)BENZOATO DE METILO.

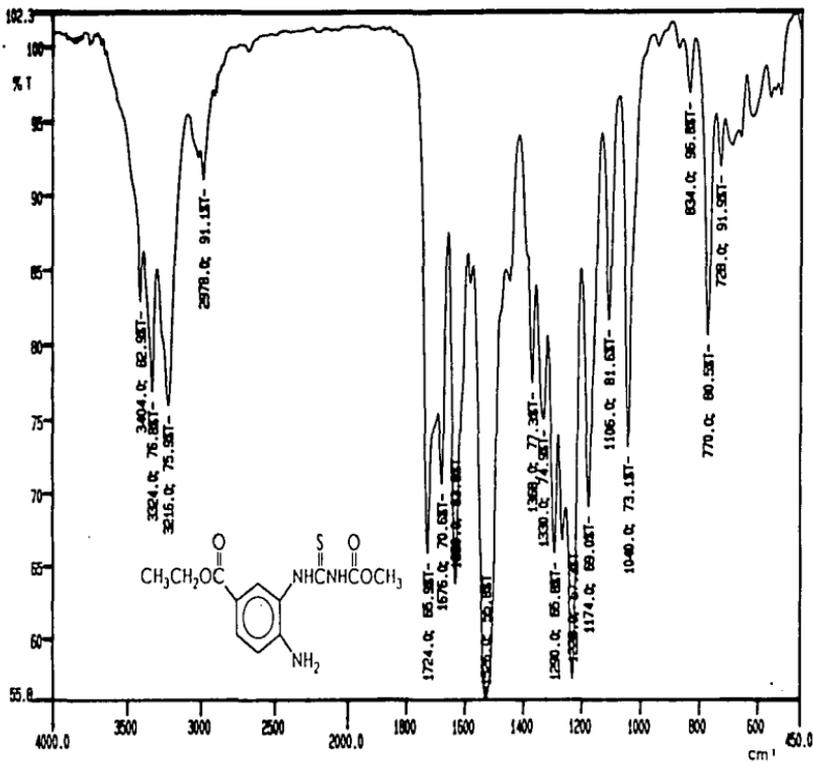


ESPECIROS

ESPECTRO No. 18. IR (KBr). 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE ETILO.

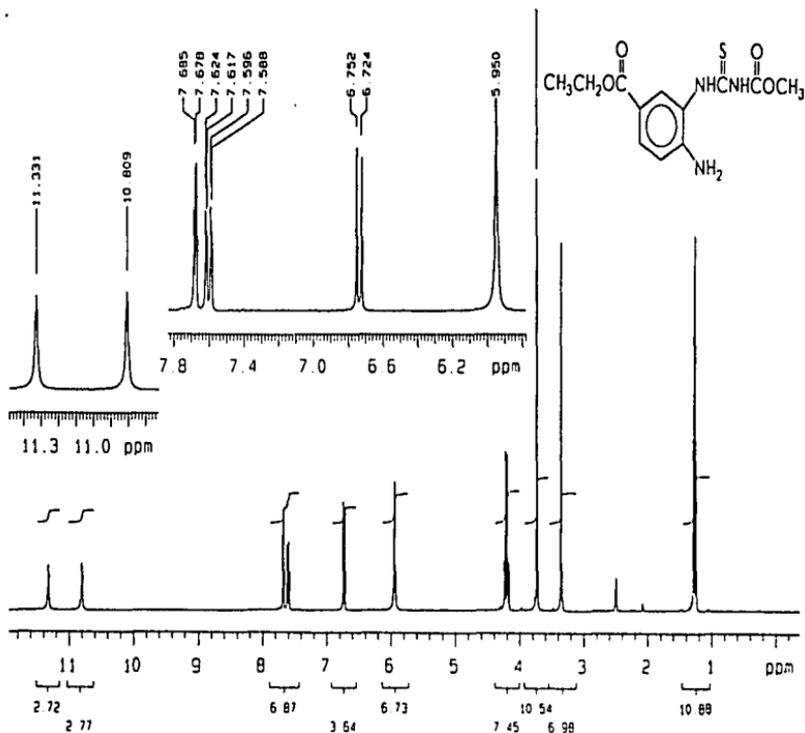


ESPECTRO No. 19. ¹H RMN. 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE ETILO.



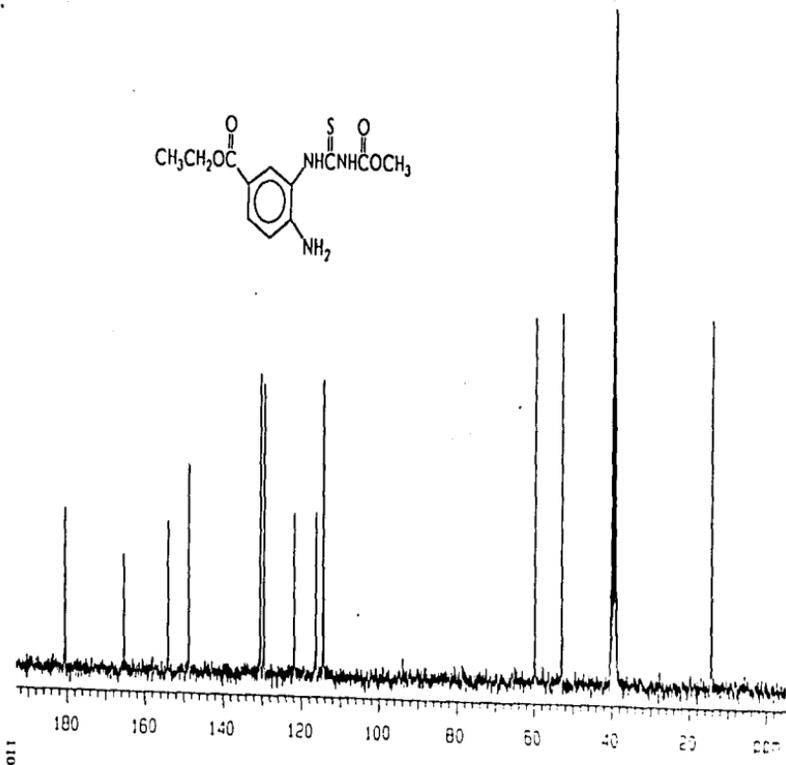
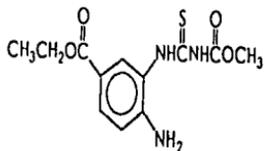
ESPECTRO No.20. IR (KBr). N-METOXICARBONIL-N'-[3-ETOXICARBONIL-6-AMINOFENIL]TIUREA.

ESPECTROS



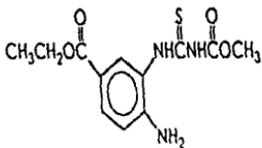
109

ESPECTRO No. 21. ¹H RMN. N-METOXICARBONIL-N'-(3-ETOXICARBONIL-6-AMINOFENIL)TIUREA.



ESPECIMOS

ESPECTRO No. 22. ¹³C RMN. N-METOXICARBONIL-N'-(ETOXICARBONIL-6-AMINOFENIL)IOUREA.



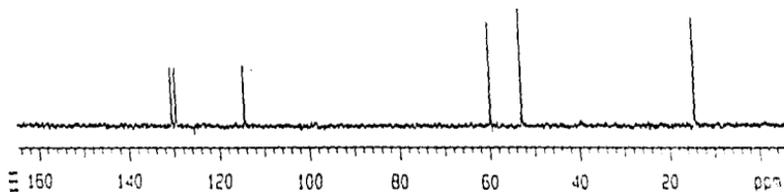
CH_3



CH_2

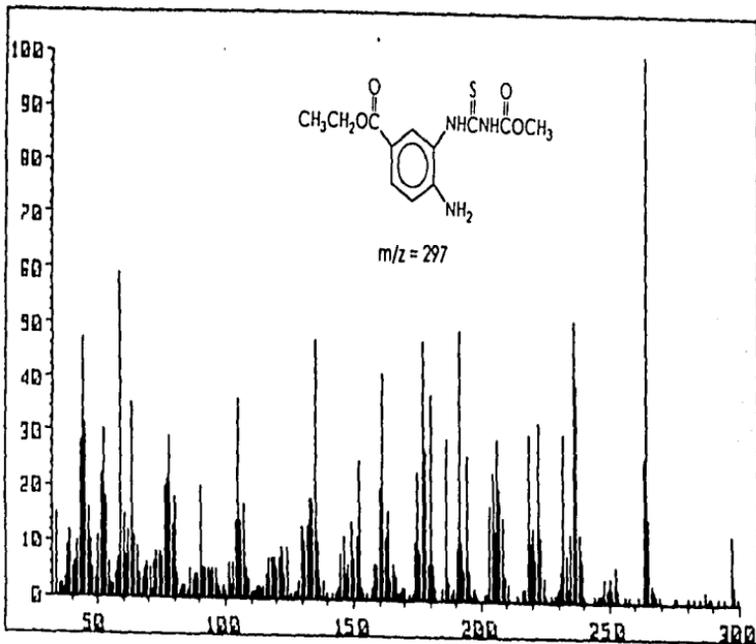


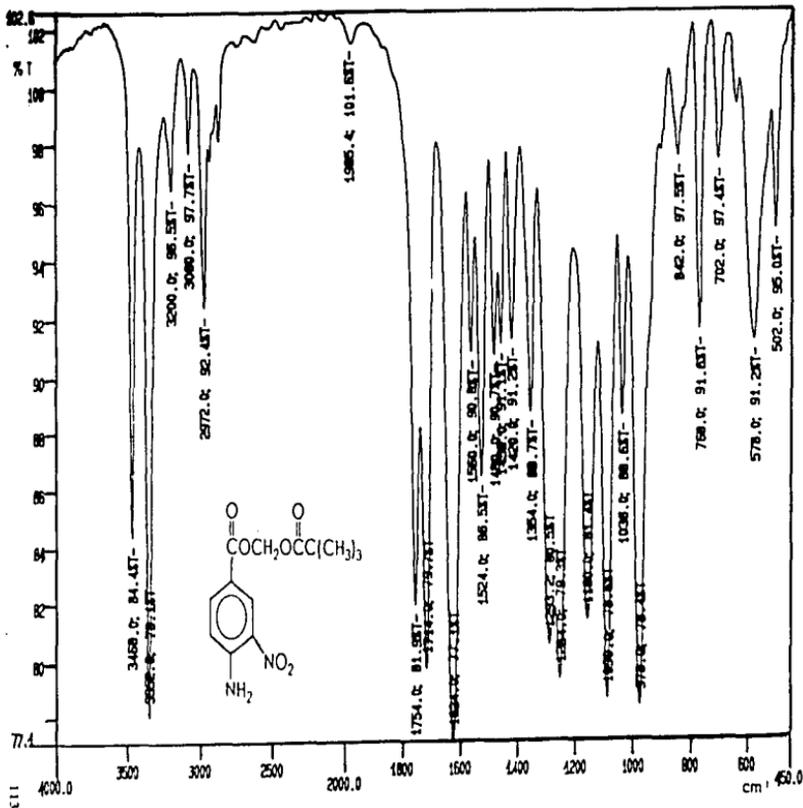
CH



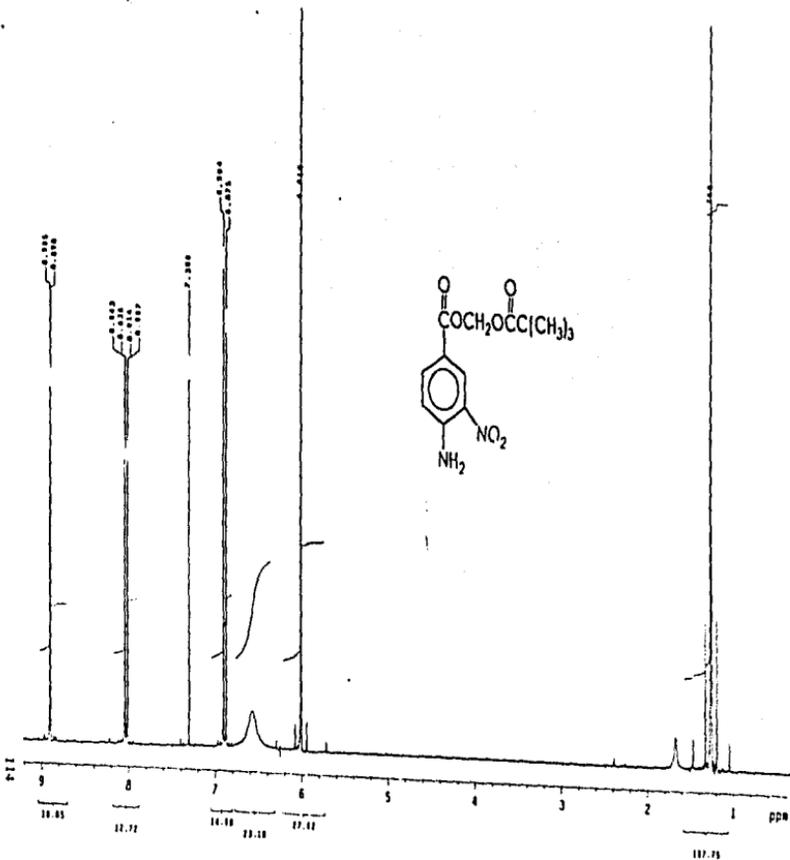
ESPECIROS

ESPECTRO No. 23. DEPT. N-METOXICARBONIL-N'-(EIOXICARBONIL-6-AMINOFENIL)IOUREA.



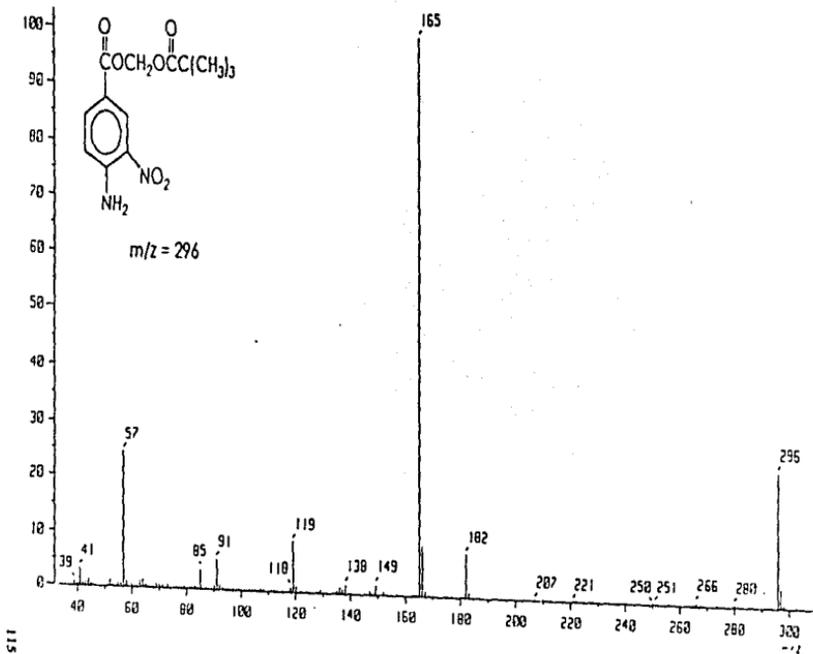


ESPECTRO No. 25. IR (KBr). 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE PIVALILOXIMETILO.

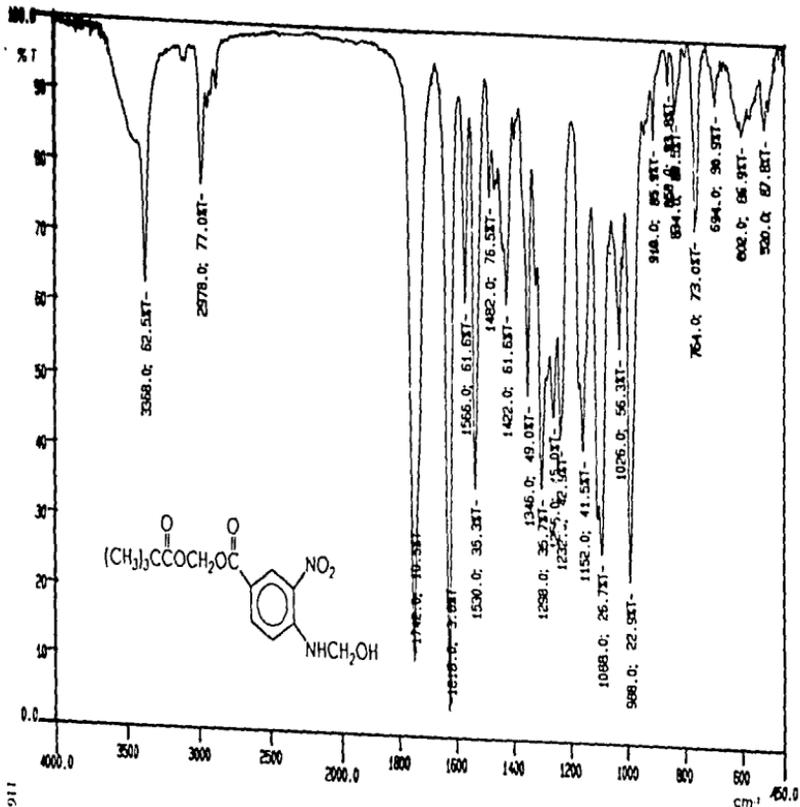


ESPECTROS

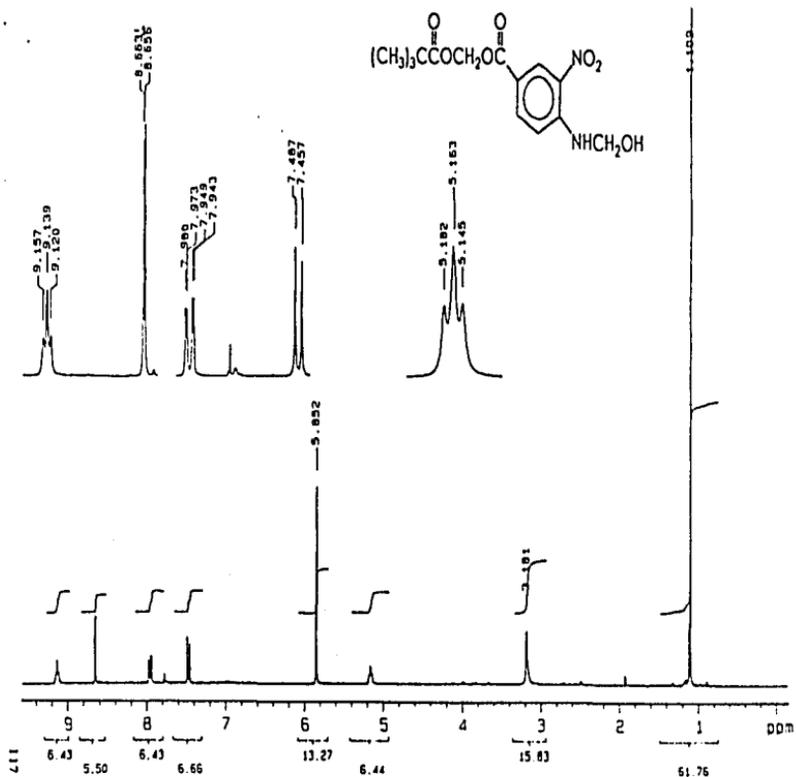
ESPECTRO No. 26. ¹H RMN. 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE PIVALOIOXIMETILO.



ESPECTRO No. 27. EM (IE). 4-AMINO-3-NITROBENZOATO DE PIVALOIXIMETILO.

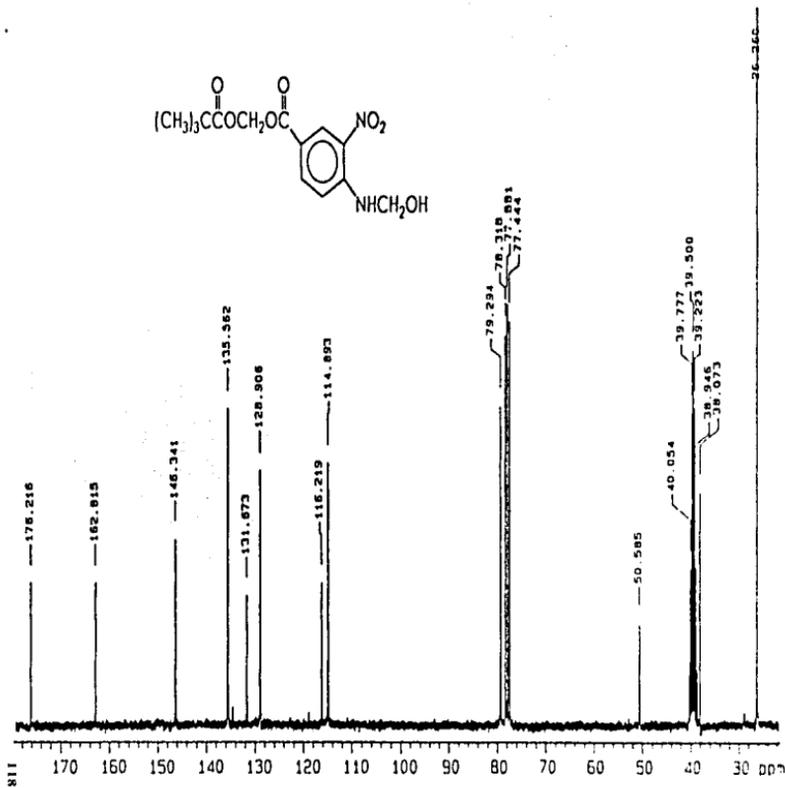
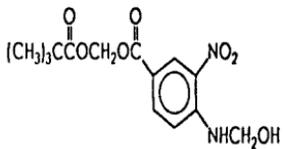


ESPECTRO No. 28. IR (KBr). 4-(HIDROXIMETILAMINO)-3-NITROBENZOATO DE PIVALOIOXIMETILO.

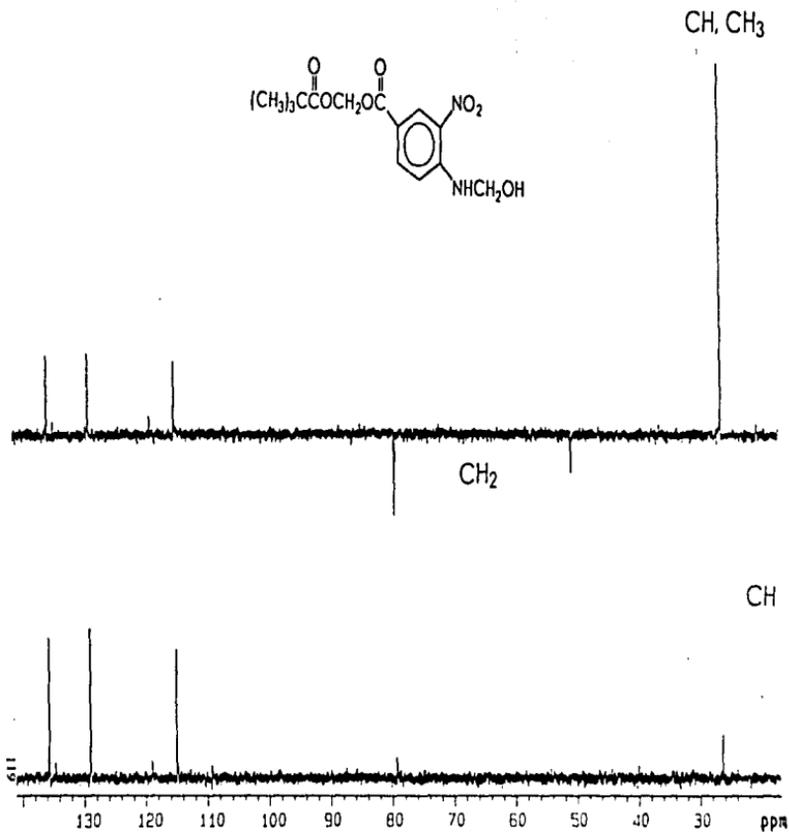
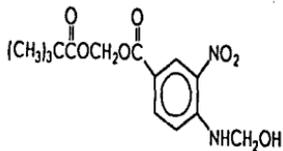


ESPECTROS

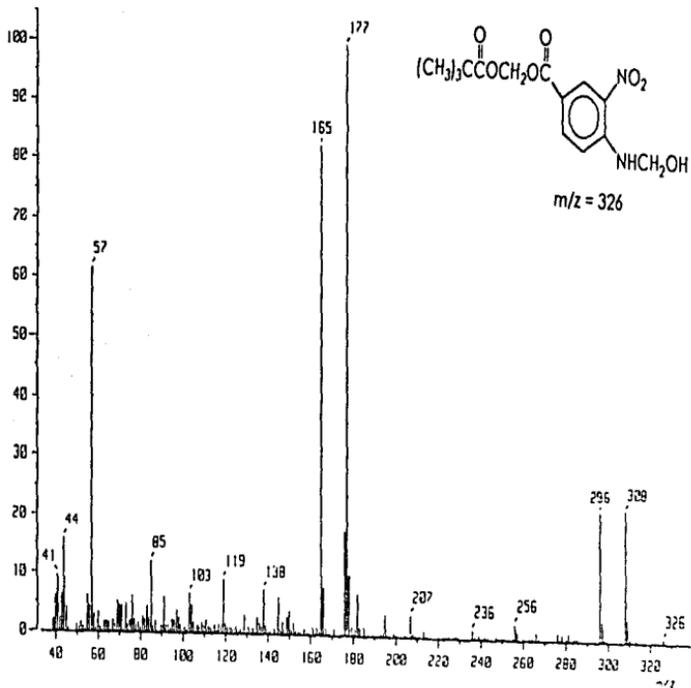
ESPECTRO No. 29. ¹H RMN. 4-(HIDROXIMETILAMINO)-3-NITROBENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.



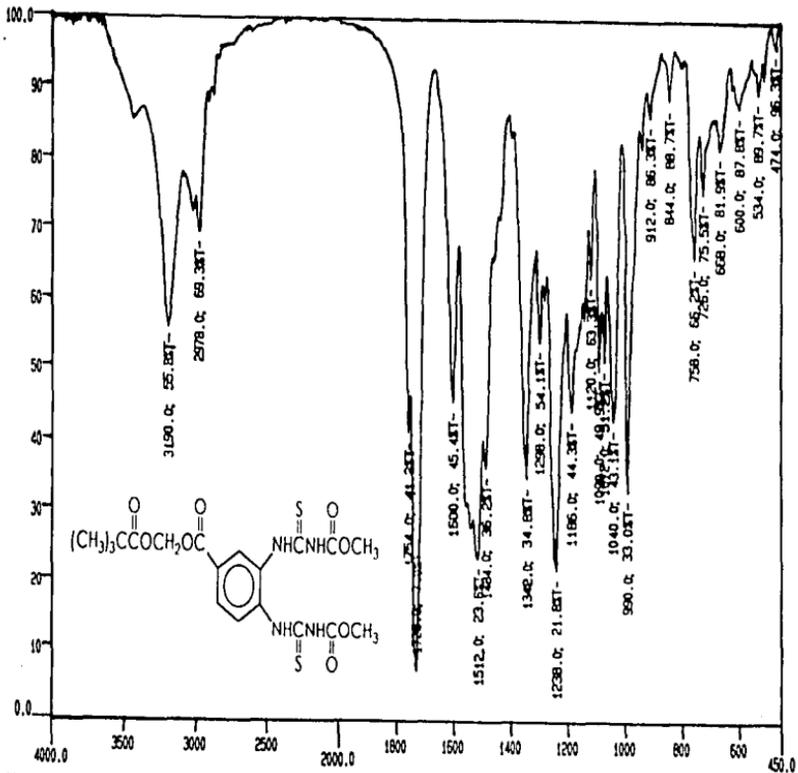
ESPECTRO No. 30. ¹³C RMN. 4-(HIDROXIMETILAMINO)-3-NITROBENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.



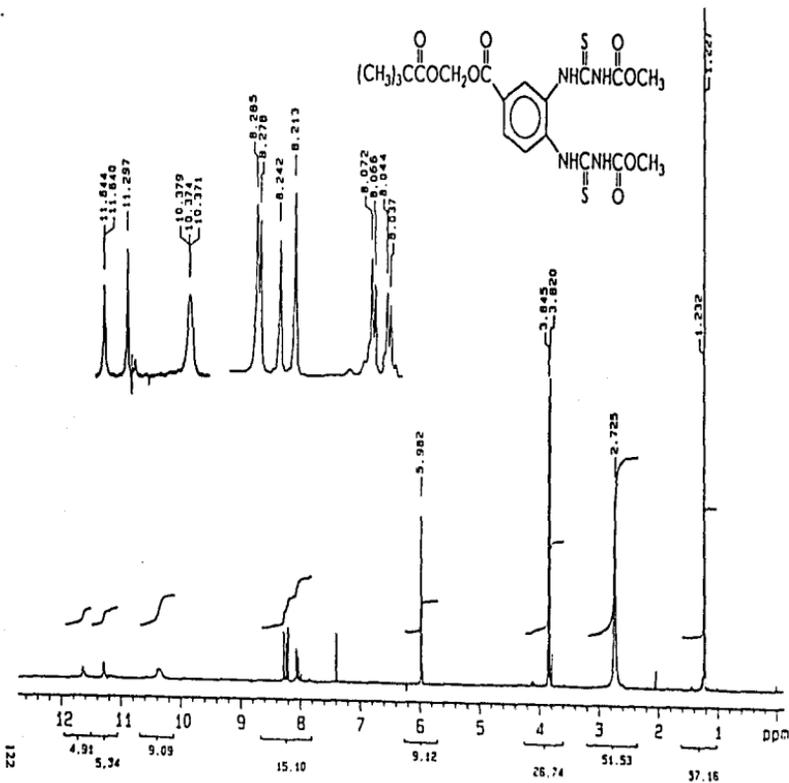
ESPECTRO No. 31. API. 4-(HIDROXIMETILAMINO)-3-NITROBENZOATO DE PIVALOIOXIMETILO.



ESPECTRO No. 32. EM [IE]. 4-(HIDROXIMETILAMINO)-3-NITROBENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.

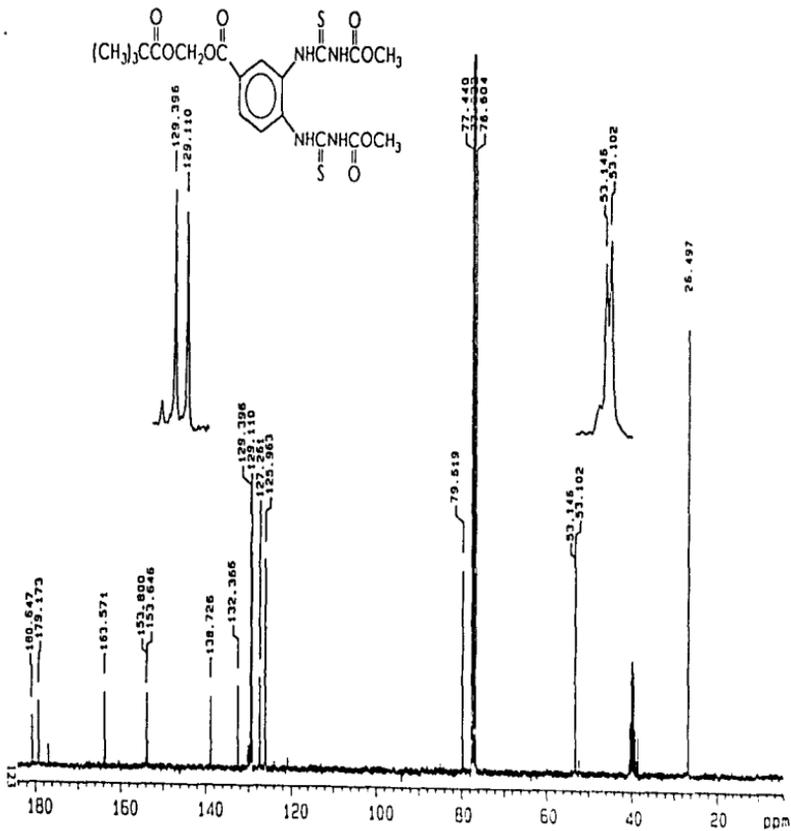


ESPECTRO No. 33. IR (KBr). 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO)BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.

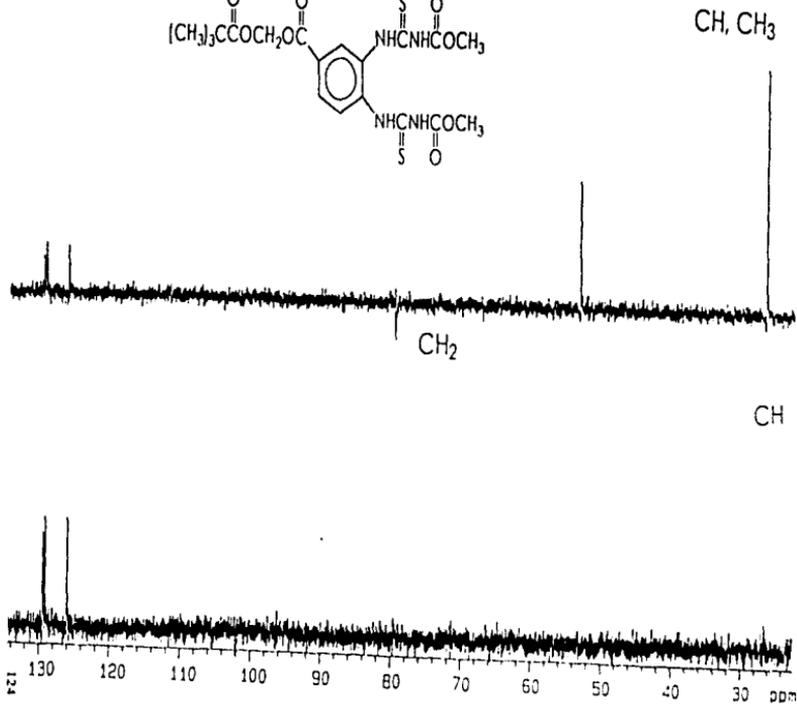
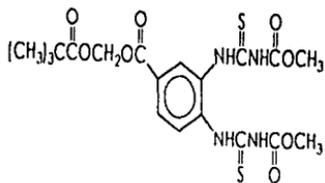


ESPECTROS

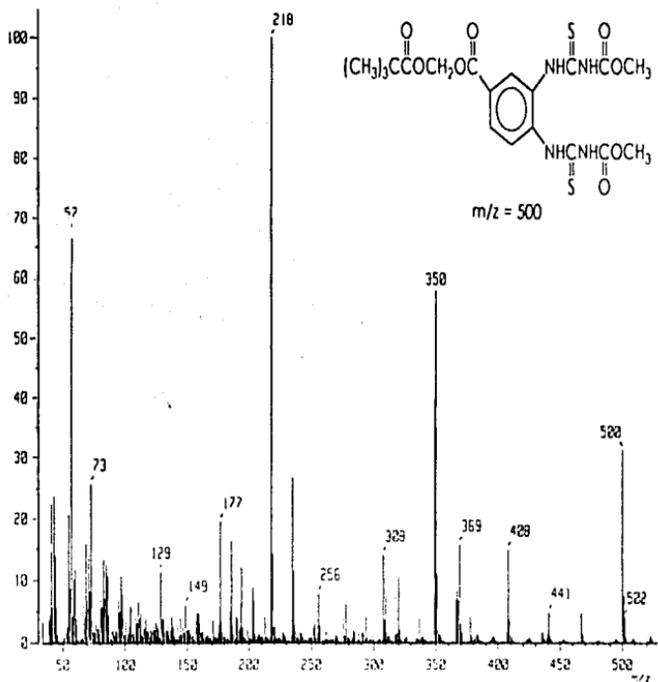
ESPECTRO No. 34. ¹H RMN. 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO)BENZOATO DE PIVALOIXIMETILO.



ESPECTRO No. 35. ¹³C RMN. 3,4-BIS-[3-METOXCARBONIL-2-THIOUREIDO]BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.

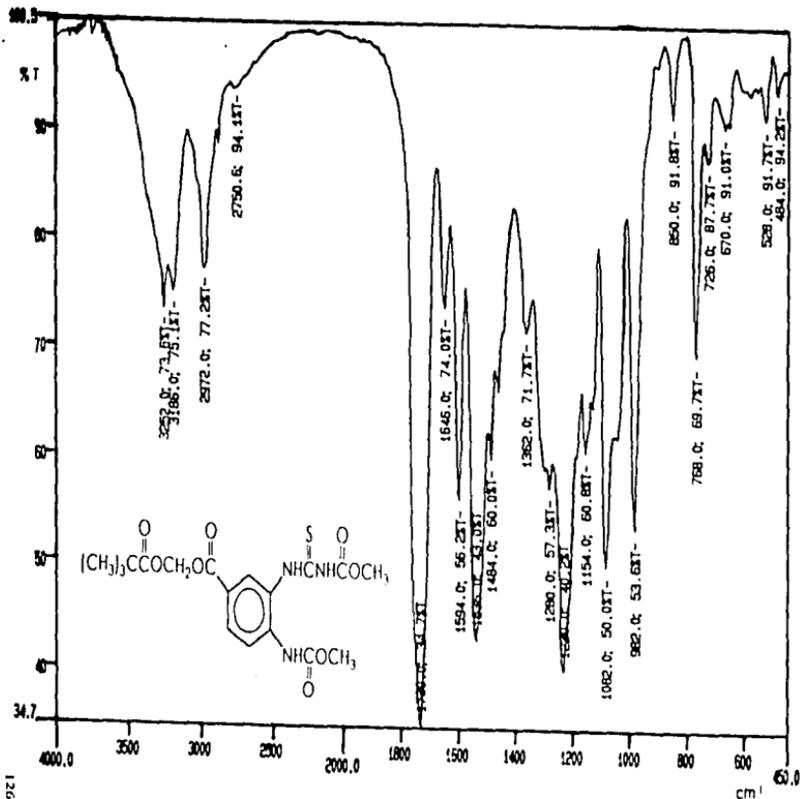


ESPECTRO No. 36. APT. 3,4-BIS-(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.

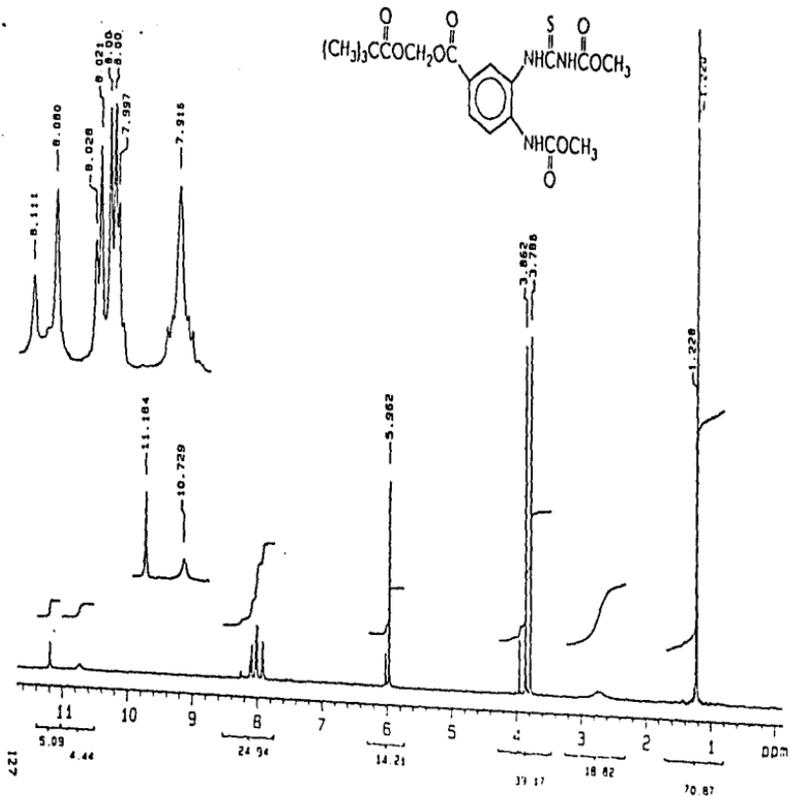


ESPECTROS

ESPECTRO No. 37. EM (IE). 3,4-BIS-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]BENZOATO DE PIVALOIXOMETILO.

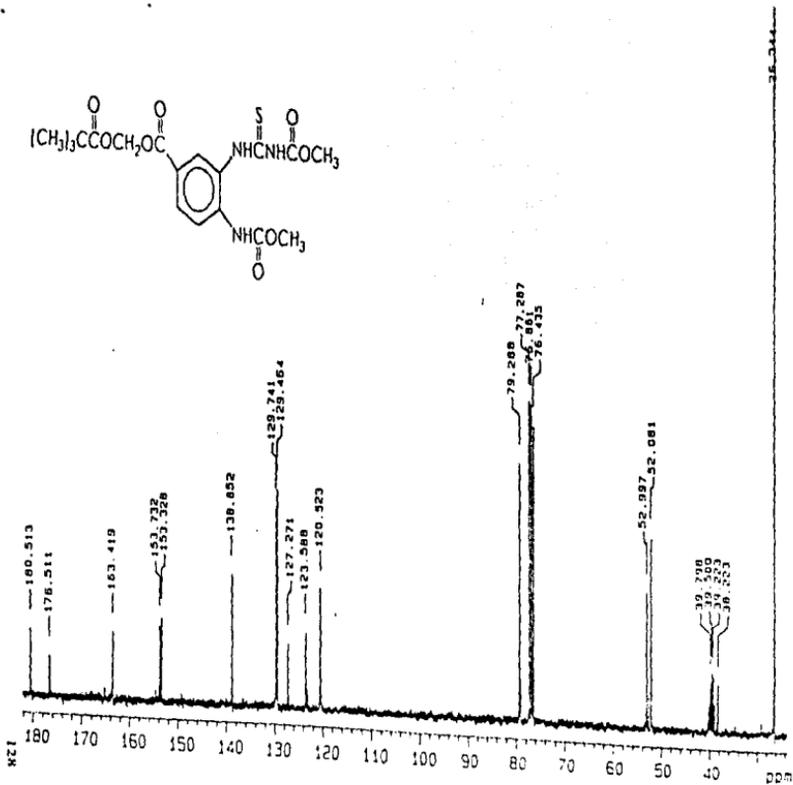
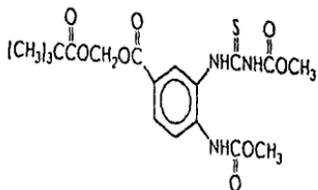


ESPECTRO No. 38. IR (KBr). 3-(3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO)-4-(METOIXICARBONILAMINO)BENZOATO DE PIVALOIXOMETILO.

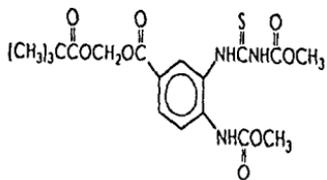


ESPECTROS

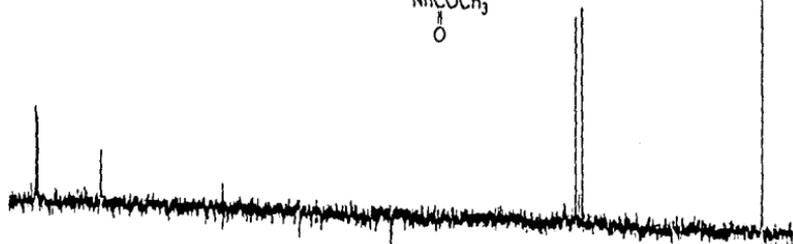
ESPECTRO No. 39. ¹H RMN. 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-[METOXICARBONILAMINO]BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.



ESPECTRO No. 40. ¹³C RMN. 3-[3-METOXICARBONIL-2-THIOUREIDO]-4-[METOXICARBONILAMINO]BENZOATO DE PIVALOIOXIMETILO.

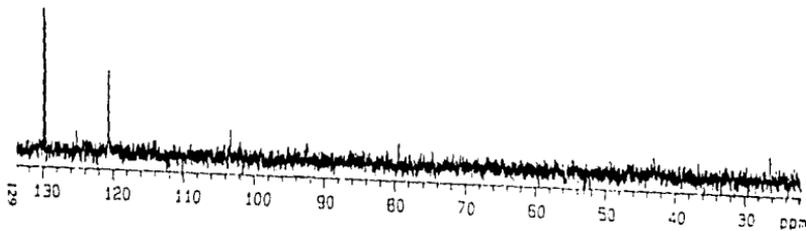


CH, CH₃

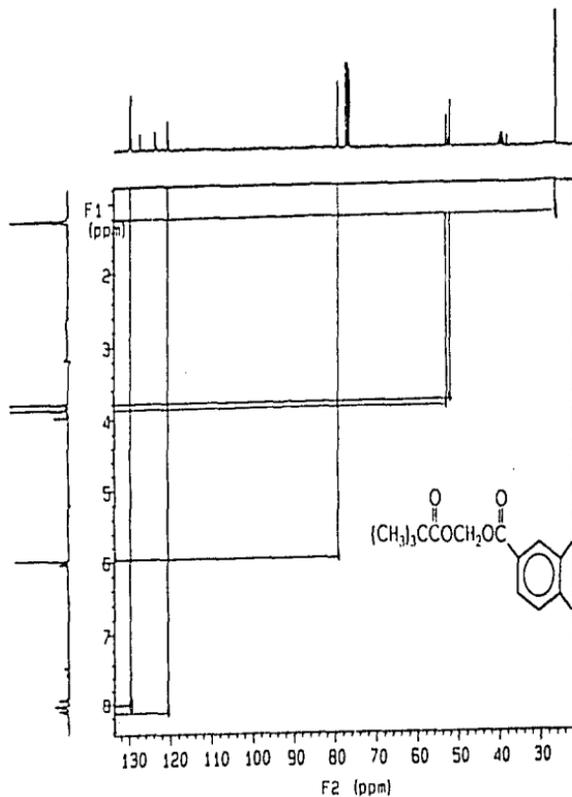


CH₂

CH

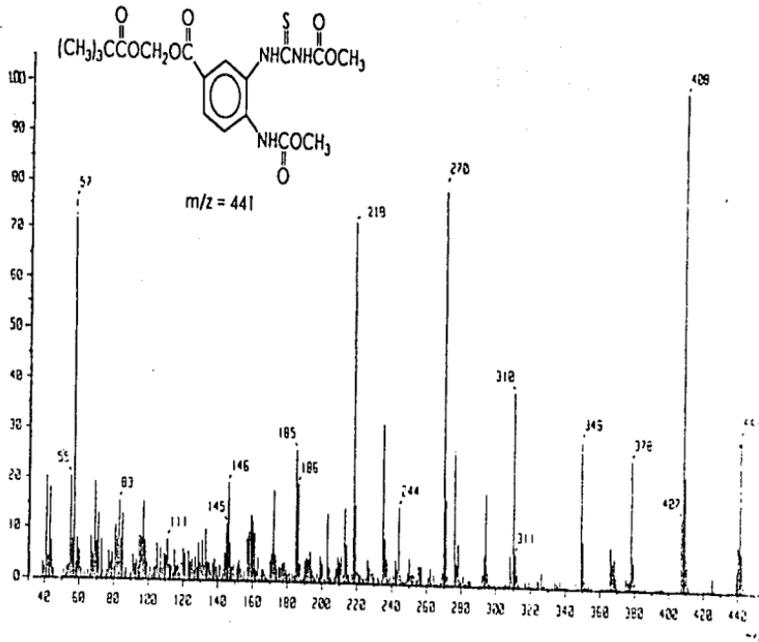


ESPECTRO No. 41. APT. 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-(METOXICARBONILAMINO)BENZOATO DE PIVALOIOXIMETILO.



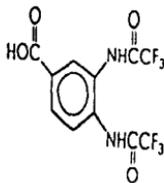
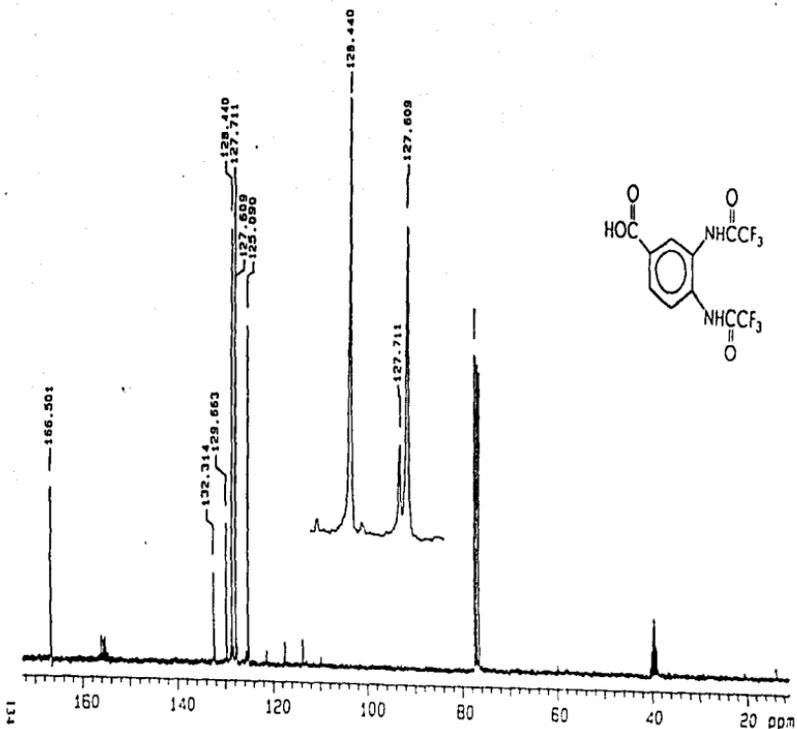
ESPECTROS

ESPECTRO No. 42. HETCOR. 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-[METOXICARBONILAMINO]BENZOATO DE PIVALOILOXIMETILO.

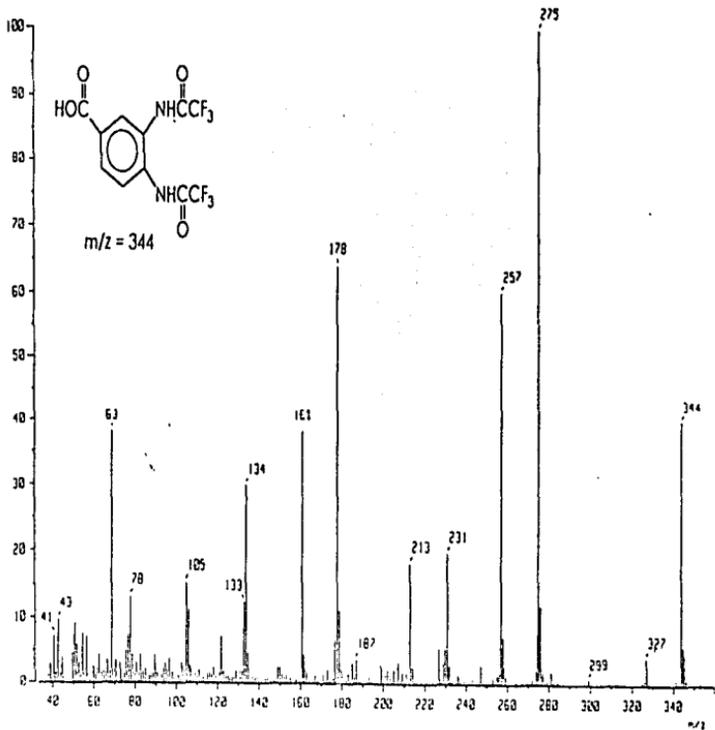


ESPECTROS

ESPECTRO No. 43. EM (IE). 3-[3-METOXICARBONIL-2-TIOUREIDO]-4-[METOXICARBONILAMINO]BENZOATO DE PIVALOIOXIMITELO.



ESPECTRO No. 46. ¹³C RMN. ACIDO 3,4-BIS(TRIFLUOROACETAMIDO)BENZOICO.



ESPECTROS

ESPECTRO No. 47. EM (IE). ACIDO 3,4-BIS(TRIFLUOROACETAMIDO)BENZOICO