

100
29.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PREPARACION DE PROFARMACOS POTENCIALES DEL MEBENDAZOL

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
MARCELA RAMIREZ GARCIA

MEXICO, D.F.

1998



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

263717



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	Dra. Ofelia Espejo González.
VOCAL	Q.F.B. M ^a del Lourdes García Peña.
SECRETARIO	M. en C. Francisco Hernández Luis.
1er. SUPLENTE	Q. Ana Luisa Silva Portillo.
2º. SUPLENTE	M. en C. Alicia Hernández Campos.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

Faculta de Química U.N.A.M.
Departamento de Farmacia.
Laboratorio No. 122; Conjunto E.
Ciudad Universitaria, México, D.F.

ASESOR:

M. en C. Francisco Hernández Luis



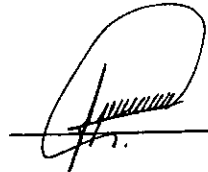
SUPERVISOR TECNICO:

M. en C. Alicia Hernández Campos

Alicia Hernández Campos

SUSTENTANTE:

Marcela Ramírez García



AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Química de la U.N.A.M. por darme la oportunidad de obtener el grado de licenciatura.

Al M. en C. Francisco Hernández Luis por su apoyo, paciencia, asesoría, y motivación para lograr el desarrollo del presente trabajo.

A los miembros del jurado, por su revisión, y sugerencias en el contenido de este trabajo.

Al personal de los laboratorios de Espectroscopía, de Infrarrojo, Espectroscopía de Masas de la Facultad de Química de la U.N.A.M., por su valiosa colaboración.

AGRADECIMIENTOS

Con todo mi amor a mis **padres**, por su esfuerzo , apoyo incondicional, confianza y sobre todo por su invaluable cariño para poder concluir esta meta importante en mi vida y en la de ellos.

Con mucho cariño y respeto a mis **abuelos** (Dolores y Pedro) por su apoyo y enorme cariño.

A tí por tu apoyo, confianza y amor; que sin ellos no hubiera contado con ese pequeño aliento para finalizar el presente trabajo, que constituye una meta alcanzada en mi vida profesional.

INDICE

	Pag.
1.INTRODUCCION	4
2. GENERALIDADES	6
2.1. Los helmintos.	
2.1.1. Infección por nematodos extraintestinales.	
2.1.2. Infección por cestodos extraintestinales.	
2.1.3 Infección por trematodos extraintestinales.	
2.2. Los bencimidazoles.	
2.2.1. Relación estructura-actividad.	
2.2.2. El mebendazol.	
2.3. Los profármacos.	
2.3.1. Tipos estructurales de los derivados bio-reversibles.	
2.3.2. Formas de liberación del fármaco.	
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. OBJETIVOS	21
4.1. Objetivo general.	
4.2 Objetivos específicos.	
5. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO	22

6. PROCEDIMIENTOS	26
6.1. Preparación del bioprecursor 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido) benzofenona.(7).	
6.2. Preparación del derivado bio-reversible 5-benzoil-1(3)-(4-nitrobencil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo.(12).	
6.3. Preparación del derivado bio-reversible 5-benzoil-1(3)-(etoxicarbonil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo.(13).	
7. RESULTADOS	31
8. DISCUSION	33
9. CONCLUSIONES	38
10. PARTE EXPERIMENTAL	39
10.1. Instrumentación.	
10.2. o-fenilendiacetamida.(2).	
10.3. 3,4-diaminobenzofenona.(5).	
10.4. 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido)benzofenona.(7).	
10.5. Cloruro de p-nitrobencilo.(10).	
10.6. 5-benzoil-1(3)-(4-nitrobencil)-1H-bencimidazol-2-il- carbamato de metilo.(12).	
10.7. 5-benzoil-1(3)-(etoxicarbonil)-1H-bencimidazol-2-il- carbamato de metilo.(13).	
10.8. o-nitroanilina.(14).	

11. BIBLIOGRAFIA45
12. APENDICE49

12.1 Espectros.

1. INTRODUCCION.

Las infecciones parasitarias constituyen uno de los problemas relevantes de salud pública, ya que a nivel mundial han producido más muertes y daños económicos a la humanidad que todas las guerras juntas. (*Lamoth A. Rafael y cols.*). En los países con poco o nulo desarrollo económico, es donde las enfermedades parasitarias se presentan con mayor frecuencia, viéndose favorecidas por las condiciones ecológicas y falta de cultura médica; además de generar grandes pérdidas económicas, las cuales si se expresan en términos monetarios suelen ser cuantiosas (gastos causados por atención médica, hospitalización, ausentismo en el trabajo, medicamentos, pérdida de salario y defunción etc.).

Un grupo de estas enfermedades parasitarias son provocadas por los helmintos, los cuales, son organismos que varían en sus ciclos biológicos, en su morfología, fisiología, en el hábitat que ocupa dentro del huésped y en su susceptibilidad a los diversos agentes antiparasitarios.

Después de muchos años de investigación químico-farmacéutica, en la actualidad, se puede disponer de fármacos que eliminen helmintos que parasitan el tracto gastrointestinal con buena respuesta terapéutica. Sin embargo, no se puede decir lo mismo, para el caso de los helmintos que parasitan otros órganos y tejidos del

cuerpo humano y de animales domésticos. Se han presentado dificultades para lograr respuestas quimioterapéuticas eficientes y pocos compuestos presentan alguna perspectiva de ser utilizado para este propósito.

Para el tratamiento de las diferentes parasitosis extraintestinales, se requiere de productos que alcancen concentraciones plasmáticas adecuadas para erradicar la infección. Algunos medicamentos tienen actividad biológica o farmacológica adecuada, pero por lo general, tienen otras características no deseables, por ejemplo, alta toxicidad, insolubilidad o problemas por su metabolismo. Por lo que es necesario disponer de fármacos adecuados para combatir distintos tipos de infecciones sistémicas causadas por helmintos con localización tisular, los cuales requieren en la actualidad para su erradicación, grandes dosis y tratamientos prolongados.

Dentro de los profármacos que pudiesen ser utilizados para helmintiasis extraintestinales se encuentran los bencimidazoles-2-carbamatos de metilo entre los cuales podemos mencionar al mebendazol, albendazol, fenbendazol y flubendazol.

Sin embargo, todos ellos presentan en común una insolubilidad acuosa, lo que ocasiona una pobre biodisponibilidad y en consecuencia una respuesta terapéutica poco favorable.

2. GENERALIDADES.

2.1 Los helmintos.

El término **helminto** viene del griego *helmíns* que significa gusano y que originalmente se usó para denominar a los gusanos intestinales, pero en sentido más amplio suele incluir a las especies parasitarias y de vida libre. *Brown H., 1985*).

Las infecciones helmínticas son conocidas principalmente por los efectos dañinos en la salud de animales que afectan la producción de los mismos y la salud del hombre. *(Urquhart G. M., 1983)*.

La transmisión de las enfermedades parasitarias y su distribución depende de tres factores:

- 1.- Fuente de infección.
- 2.- Modo de transmisión.
- 3.- Presencia de un huésped susceptible.

El efecto combinado de estos tres factores, establece la existencia de un parásito en un momento y en un lugar determinado, y su tendencia a la diseminación, favoreciéndose bajo condiciones sanitarias inadecuadas del individuo o de la comunidad, los bajos niveles de vida y la ignorancia. *(Sharma S., 1994)*.

Aunque muchas especies importantes de parásitos se encuentren en todo el mundo, la supervivencia, el desarrollo larvario y la transmisión son más comunes en las zonas tropicales que aún padecen infestación por parásitos helmintos que ocasionan un alto grado de morbilidad y mortalidad.

Las enfermedades por helmintos en el hombre y en el animal son causados por tres grupos de parásitos:

- a) Nematodos
- b) Cestodos y
- c) Trematodos.

Los helmintos de la clase nematoda, cestoda y trematoda que son invasores del tejido muscular, la circulación sanguínea, el hígado y otros tejidos, producen mucho más serios problemas que los que habitan el tracto gastrointestinal. La quimioterapia de la helmintiasis extraintestinal ha sido difícil porque sólo existen pocos fármacos que den respuestas terapéuticas satisfactorias. Hasta ahora existen fármacos más efectivas para el tratamiento de infecciones gastrointestinales que para el tratamiento de infecciones extraintestinales. (Davis A., 1973; Sturche D., 1982; Harron; D Arey, 1983; Cook C.G., 1986; Tayler; Denham, 1988).

2.1.1 Infección por nematodos extraintestinales.

Los nematodos se encuentran en el hombre, infectado tanto por estadios larvales como por estadios adultos y se alojan según la especie en diversos órganos de la economía humana. No existen normas generales de diagnóstico o tratamiento. (Bragi F., 1982).

- Filariasis. Es la enfermedad más importante del trópico causada por *Wocheria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus*, *Loa loa*, *Mansonella ozzardi* y *Dipetalonema perstans*. La enfermedad es transmitida por una gran variedad de mosquitos conocidos con el nombre de "chupa sangre"; las larvas viven en la circulación sanguínea y los gusanos adultos viven en los nódulos linfáticos, tejido

subcutáneo, cavidad mesentérica y pleural. Los fármacos como el suramín, mebendazol, levamisol, ivermectín, son usados para el tratamiento de diferentes formas de filariasis. (Sharma S., 1994).

- Gusano de guinea. *Drancuculus medinensis*. La infección es adquirida por beber agua contaminada con huevos. La forma larvaria invade tejido conectivo y subcutáneo. Su quimioterapia es, la administración oral de metronidazol, tiabendazol o niridazol. (Sharma S., 1994).
- Triquinosis causada por la larva *Trichinella spiralis*. La infección es transmitida por comer carne de cerdo infectada. (Sharma, S., 1991). La liberación de la larva es en la circulación sanguínea, mientras los quistes se encuentran en los músculos y el diafragma. El tratamiento para la triquinosis es insatisfactorio, altas dosis del mebendazol puede matar a los gusanos adultos en el intestino y puede, además dañar las larvas de los musculos. (Sharma S., 1994).
- Toxicariasis. La infección es causada por ingerir huevos embrionarios de *Toxocara cati* y *T. canis* de nematodos que se encuentran en la tierra; la larva migra a varias partes del cuerpo, sistema nervioso central y ojos, produciendo diferentes problemas de salud. La más seria consecuencia es la invasión de la retina por la larva, causando retinitis y también ceguera. El tratamiento es con dietilcarbamacina, tiabendazol y mebendazol. (Sharma S., 1994).

2.1.2 Infección por cestodos extraintestinales.

La forma larvaria de algunos cestodos infectan al humano produciendo serias complicaciones. La quimioterapia por infección de la larva de la hidatidosis y cisticercosis es insatisfactorio.

- La hidatidosis es una enfermedad por infección de cestodos en forma larvaria, causada por la ingestión de huevos de *Echinococcus granulosus* y *E. multilocularis*. El huevo libera la larva en el intestino que penetra la pared intestinal hasta alcanzar la circulación sanguínea. Las larvas son transportadas a diferentes partes del cuerpo y finalmente son enquistadas. La quimioterapia es insatisfactoria aunque se hace uso de mebendazol, albendazol y flubendazol. (Sharma S., 1994).
- La cisticercosis es causada por la larva de *Taenia solium*. y *T. saginata*. El humano adquiere la infección por consumir carne de cerdo y de res. La larva penetra la mucosa intestinal, entra a la circulación y es transportada a diferentes partes del cuerpo donde forman quistes. En su quimioterapia se utiliza el prazicuantel y el albendazol. (Sharma S., 1994).

2.1.3 Infección por trematodos extraintestinales.

Muchas especies de trematodos son parásitos del hombre, el cual funciona como hospedador definitivo. Su transmisión se debe a que las formas larvarias que se encuentran activamente en el agua entran en contacto con la piel del hombre, o cuando se enquistan se encuentran en el interior de hospedadores intermediarios acuáticos como son los camarones y cangrejos de agua dulce. (Bragi F., 1982).

- Schistosomiasis la infección clínicamente más importante por trematodos en humanos y es causada por *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum* y *S. japonicum*. La infección ocurre cuando la piel del humano está en contacto con el pescado. (Sharma S., 1994). El prazicuantel y el albendazol son utilizados en su quimioterapia.

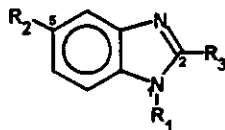
Otros trematodos que infectan órganos extraintestinales en humanos son *Fasciola hepática*, *Colonicéis sinensis*, *Opisthorchis felineus* y *Dicrocoelium dentriticum*. En la quimioterapia se hace uso del triclabendazol para el tratamiento de *Fasciola hepática*, el prazicuantel, el mebendazol y el hexacloroparaxileno para el tratamiento del resto de infecciones por trematodos. (Sharma S., 1994).

2.2 Los bencimidazoles como antihelmínticos.

Los bencimidazoles surgen como uno de los grupos más versátiles que poseen amplio espectro de actividad contra una gran variedad de helmintos que infectan al humano. Estas sustancias muestran un gran poder de actividad contra nematodos. (Vanden Bosshe et al., 1982; Sturcher D., 1982; Botero D., 1986; Taylor; Denham, 1988) una actividad selectiva contra cestodos (Webbe G., 1986) y poca actividad contra trematodos (Raether W., 1988).

El descubrimiento de fármacos de amplio espectro asociados con actividad antihelmíntica con diferentes bencimidazoles 2,5-disustituidos, es un punto importante en la quimioterapia de enfermedades parasitarias. (Vanden Bosshe et al., 1982; Raether W., 1988). Ahora, el bencimidazol, es reconocido como un heterociclo versátil en la investigación químico farmacéutica y consecuentemente está sujeto a una gran variedad de modificaciones estructurales que permiten generar nuevos fármacos para enfermedades causadas por helmintos intestinales y extraintestinales. (Sharma S., 1994).

2.2.1 Relación estructura-actividad.



La alta actividad antihelmíntica de los bencimidazoles se debe a que tienen un átomo de hidrógeno en la posición 1, un metoxicarbonilamino en la posición 2 y un alquil, aril, o un grupo heterociclo unido en la posición 5, usando como puente un CO, CHOH, CONH, O, S, SO. (Lacey, E., 1988).

Se han realizado varios cambios en la molécula de los bencimidazoles, entre ellos se cambiaron los átomos de nitrógeno por átomos de oxígeno o azufres; así mismo se cambió el metoxicarbonilamino por un etoxicarbonilamino, acetilamino, urea, alquil, aril, alquiltio, ariltio,; aunque en todos los casos se presentó una merma o una pérdida de la actividad antihelmíntica. (Sharma S., 1994).

Los bencimidazoles que tienen actividad contra nematodos son: tiabendazol, cambendazol, flubendazol, albendazol y mebendazol. El mebendazol es uno de los bencimidazoles helmínticos comúnmente utilizado como el fármaco de elección para el tratamiento de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *E. vermicularis* y *Capillaria philippinensis* en niños y adultos. No muestra actividad contra *Loa loa*, pero exhibe un efecto apreciable contra *Dipetalonema. perstans* en humanos. (Buchard; Kern, 1988).

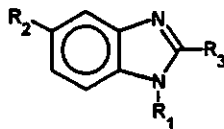


TABLA No.1 Compuestos antihelmínticos con estructuras variadas.

No compuesto	Nombre genérico	R1	R2	R3	Patente
1	Tiabendazol	H	H	Tiazol-4-il	ICI
2	Cambendazol	H	NHCOO-iPR	Tiazol-4-il	Merck
3	Parbendazol	H	n-Bu	NHCOOMe	SKF
4	Mebendazol	H	COPh	NHCOOMe	Janssen
5	Flubendazol	H	COC ₆ H ₄ -4-F	NHCOOMe	Janssen
6	Fenbendazol	H	SPh	NHCOOMe	Hoechst
7	Oxfendazol	H	SOPh	NHCOOMe	Syntex
8	Albendazol	H	S-n-Pr	NHCOOMe	SKF
9	Oxibendazol	H	O-n-Pr	NHCOOMe	SKF
10	Luxabendazol	H	OSO ₂ C ₆ H ₄ -4-F	NHCOOMe	Hoechst

2.2.2. El mebendazol.

Dentro de los bencimidazoles 2-carbamato de metilo, el mebendazol es utilizado en el tratamiento de las helmintiasis intestinales. Sin embargo, su insolubilidad en agua dificulta su absorción a nivel intestinal, y por lo tanto, el alcanzar concentraciones plasmáticas adecuadas para utilizarlo en el tratamiento de infección extraintestinal es nula.

El mebendazol y otros bencimidazoles, actúan primeramente por el bloqueo en el transporte de secreción de gránulos y el movimiento de otros organelos subcelulares, es el causante de desaparecer los microtúbulos del citoplasma de los parásitos susceptibles. En consecuencia se acumulan sustancias secretoras en las áreas de golgi, presentando tumefacción y degeneración de las células de tegumento, con necrosis final de los pseudoprogliótidos por el completo deterioro del sistema

microtubular citoplasmático, secreción de acetilcolinesterasas por el bloqueo de glucosa y el bloqueo de glucógeno, todo esto lleva a la inmovilización lenta y luego la muerte del helminto, mientras es expulsado por el hospedador. Estos efectos no son observados en las células del hospedador porque su sistema microtubular es diferente al de los helmintos.

Estudios ultraestructurales indican que el mebendazol separa los microtubulos del citoplasma provocando una disminución en la reproducción celular de adultos de *Ascaris suum*.

Se cree que la inhibición de glucosa, la actividad de la fumarato reductasa y la actividad neuromuscular, también depende de la inhibición de la polimerización de tubulina de los microtubulos por bencimidazoles. (Sharma S., 1994).

Al igual que con otros fármacos, se han empleado diferentes estrategias para mejorar las propiedades fisico-químicas del mebendazol, dentro de las cuales se encuentra la producción de profármacos.

• 2.3. Los profármacos.

El descubrimiento y desarrollo de nuevas entidades químicas para el tratamiento de las enfermedades, es un proceso prolongado, complejo y de alto costo económico.

Las estrategias modernas de investigación de nuevos medicamentos, se basa en la farmacología molecular, que frecuentemente utiliza modelos "in vitro" (preparaciones enzimáticas o membranas, cultivo de microorganismos y células, órganos aislados, etc.) para lograr sus propósitos.

Las moléculas activas, encontradas empíricamente o diseñadas racionalmente, no pueden ser del todo satisfactorias, ya que en algunos casos los grupos funcionales que poseen, pueden provocar una absorción muy pobre o distribución inadecuada en el organismo, ellos pueden ser también la causa de inestabilidad, ya sea por reacción química o por destrucción metabólica, en el hígado u otros órganos, que provoquen un tiempo de vida media muy corto para los fines terapéuticos perseguidos, por lo que la administración "*in vivo*" de estas sustancias se encuentran limitadas, y su utilidad clínica es de ámbito restringido.

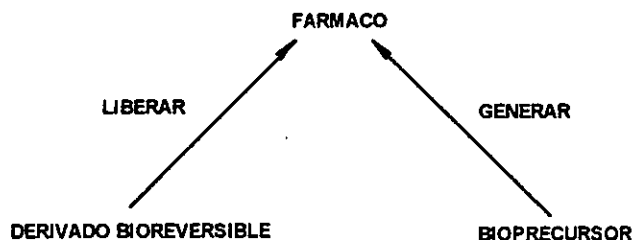
La optimización en la eficiencia y selectividad de un fármaco puede llevarse a cabo por medios biológicos, físicos y químicos.

Los medios biológicos implican los cambios en las rutas de administración, los medios físicos se refieren al diseño de la formulación farmacéutica, los medios químicos por otro lado se refieren a las modificaciones estructurales de un compuesto determinado, basado en el diseño racional, y así proporcionar un nuevo agente con mayor eficacia terapéutica, llamado análogo o nueva molécula con diferentes propiedades farmacológicas que sirvan como modelo de futuras investigaciones.

Existen tres tipos de diseños cualitativos bien establecidos, los cuales pueden ayudar a optimizar ciertas características farmacológicas deseables que presente el fármaco en cuestión, o eliminar aquellas que no permitan su administración. Estas alternativas son el diseño de profármacos, el diseño de fármacos suaves y el diseño de fármacos duros.

Un **profármaco** es un derivado farmacológicamente inactivo de un principio activo, que requiere de una transformación espontánea o enzimática dentro del organismo, para poder liberar al fármaco que ejerce la acción terapéutica. (Wermuth C. G., 1984).

Por la forma como están estructuralmente constituidos, los profármacos se han dividido en: a) bioprecusores y b) derivados bio-reversibles conocidos también con el nombre de fármacos latenciados, congéneres o caballos de Troya moleculares. (Korolkovas A; 1988, Wermuth C. G., 1984).



A) Bioprecusores; son aquellos compuestos que formalmente no presentan la estructura del principio activo, pero una vez dentro del organismo, lo generan mediante reacciones de reducción u oxidación. (Alcántara, E; 1996)

B) Derivado bio-reversible; son aquellos compuestos que presentan la estructura del principio activo, al cual se le ha adicionado una porción estructural, denominada progrupo, que modificará temporalmente las propiedades fisico-químicas del fármaco. Este tipo de compuestos liberan al principio activo mediante reacciones de hidrólisis, oxidaciones o reducciones. (Alcántara E; 1996)

Tab.No 2.- Diferencia entre un derivado bio-reversible y un bioprecursor.

	Derivado bio-reversible	Bioprecursor
Constitución	Principio activo+progrupo	No tiene progrupo
Lipofilia	Fuertemente modificada	Ligeramente modificada
Bioactivación	Hidrolítica, reductiva, oxidativa	Oxidativa o reductiva
Catálisis	Química o enzimática	Solamente enzimática

El diseño de un profármaco puede ser dividido en tres etapas: (Korolkovas A.,1988; Bundaard H.,1991).

1. Identificación del problema de liberación del fármaco.
2. -Identificación de las propiedades fisico-químicas requeridas para la eficiencia máxima y liberación óptima del fármaco.
3. Selección del derivado que tenga las propiedades fisico-químicas y que pueda ser hidrolizado en el compartimento biológico deseado.

Los criterios generales que deben tomarse en cuenta en la elaboración de derivados bio-reversibles son: (Korolkovas A., 1988; Bungaard H., 1991)

- La unión entre el fármaco y el progrupo deberá ser un enlace covalente.
- El nuevo compuesto diseñado será inactivo o menos activo biológicamente que el fármaco de origen.
- La unión entre el fármaco y el progrupo debe romperse "in vivo".
- El derivado bio-reversible así como el progrupo deben ser no tóxico para el organismo.
- La liberación del fármaco debe ser cinéticamente rápida, para asegurar niveles efectivos del principio activo en los sitios de acción y/o minimizar el metabolismo del derivado bio-reversible como tal, o la gradual inactivación del fármaco mismo.

- El cambio químico propuesto modificará las propiedades fisico-químicas del fármaco, con lo cual se afectará su absorción, distribución y metabolismo enzimático.
- La síntesis del fármaco no debe de ser costosa, es deseable que su preparación sea en pocos pasos.

Los criterios generales que deben tomarse en cuenta en la elaboración de bioprecusores son:

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

En el campo de la investigación de los bencimidazoles antiparasitarios, se ha utilizado el diseño de los profármacos para tratar de incrementar la solubilidad acuosa de estos principios activos.

2.3.1 Tipos estructurales de los derivados bio-reversibles.

La estructura de muchos derivados bio-reversibles es bipartita ya que consiste en la unión del principio activo al progrupo (progrupo-fármaco), pero también existen la tripartita, en los cuales el progrupo y el fármaco son enlazados por un tercer componente estructural llamado conector (progrupo-conector-fármaco).

Dentro de esta clasificación encontramos a los derivados bio-reversibles dobles, los cuales se caracterizan por la presencia de dos progrupos (progrupo-progrupo-fármaco) cuya finalidad principal es de modificar o adicionar dos propiedades en algunos fármacos.

Los derivados bio-reversibles mutuos, se caracterizan por el acoplamiento de dos principios activos, su ventaja terapéutica se presenta cuando la acción farmacológica de ambos fármacos es compatible o presenta algunas interacciones de tipo adición, sinergismo, o actúa por mecanismos de acción diferentes para producir un mismo efecto terapéutico.

Los derivados bio-reversibles macromoleculares (*Gregoriadis G., 1977 y 1981*) se forman al unir el principio activo a través de un espaciador, a un polímero determinado (polímero sintético, proteínas, ácidos nucleicos, anticuerpos, etc.) su finalidad es la de proporcionar una liberación controlada de fármaco dentro del organismo.

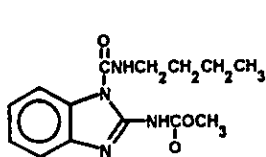
2.3.2 Formas de liberación del fármaco.

La forma en la que el derivado bio-reversible libera al fármaco puede ser mediante la acción de enzimas o por descomposición química. La mayor parte de derivados bio-reversibles reportados hoy en día, se metabolizan por una serie de enzimas encontradas dentro del organismo, entre las cuales destacan las esterases. Para este grupo de enzimas se han realizado estudios de los diseños estructurales de los progrupos con una mayor sensibilidad.

Los profármacos pueden ser diseñados de una manera objetiva si la estructura del compuesto activo es conocido. Uno de los puntos a considerar es la presencia de

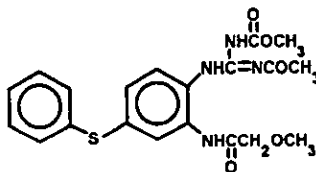
grupos funcionales adecuados, a los cuales se les puede unir un progrupo determinado.

De los profarmacos reportados y actualmente investigados en medicina veterinaria son: (Lacey, 1988)



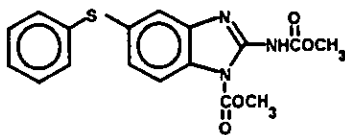
BENOMYL

(Derivado bioreversible)



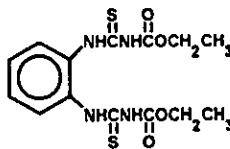
FEBANTEL

(Bioprecursor)



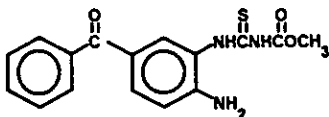
METOXICARBONIL FENBENDAZOL

(Derivado bioreversible)



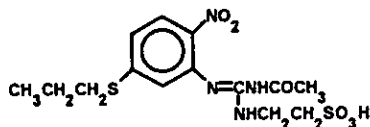
TIOFANATO

(Bioprecursor)



PRO MEBENDAZOL

(Bioprecursor)



NETOBIMIN

(Bioprecursor)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Dentro del grupo de los bencimidazoles, el mebendazol es uno de los fármacos antihelmínticos de amplio espectro que es empleado eficazmente en el tratamiento de algunas parasitosis intestinales, sin embargo para el tratamiento de las helmintiasis extraintestinales no se puede decir lo mismo, ya que debido a su baja solubilidad acuosa es escasamente absorbido en la luz intestinal. Ante esta situación, es necesario contar con estrategias que permitan mejorar y optimizar las características físico-químicas del mebendazol, para obtener finalmente un compuesto útil en el tratamiento de las helmintiasis extraintestinales.

4. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo general.

Esta tesis tiene por objetivo la preparación de profármacos potenciales del mebendazol, que pudiesen presentar mejores características de solubilidad en disolventes polares, así como liposolubilidad con fines de ser utilizados para combatir infecciones sistémicas en medicina humana y veterinaria.

4.2 Objetivos específicos.

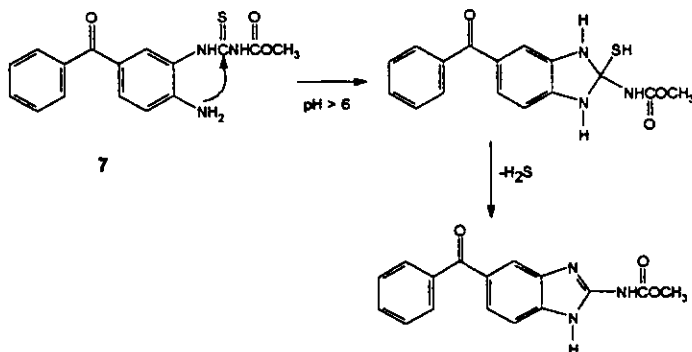
- Realice revisión bibliográfica sobre el diseño y síntesis de profármacos de mebendazol reportados en la literatura.
- Adquirir conocimientos en el diseño y síntesis de los profármacos.
- Obtener experiencia en los métodos y técnicas de laboratorio para la preparación de los compuestos de interés farmacéutico.
- Preparar dos derivados bio-reversibles y un bioprecursor.
- Evaluar la pureza de los compuestos obtenidos por Cromatografía en capa fina y punto de fusión.
- Analizar y caracterizar espectroscópicamente los compuestos obtenidos.

5. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO.

Debido a que el mebendazol es un antihelmíntico que presenta baja solubilidad acuosa y liposolubilidad, es poco biodisponible y por lo tanto poco eficiente en el tratamiento de las parasitosis extraintestinales; ante tal situación, se espera que al modificar estructuralmente este principio activo, se podrá rebasar el inconveniente de poca solubilidad y liposolubilidad; y en consecuencia incrementar su eficiencia terapéutica.

La elección de los compuestos a preparar en esta tesis, se llevó a cabo tomando en cuenta las siguientes consideraciones.

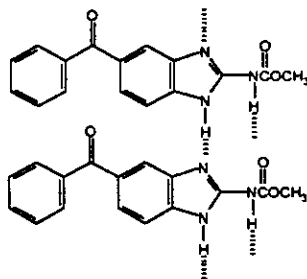
- 1.- El compuesto 7 es un bioprecursor del mebendazol, el cual se ha dado a conocer previamente en la literatura, aunque en la actualidad no se encuentra comercialmente disponible. Hasta el momento solo se han llevado a cabo estudios de conversión a mebendazol en condiciones de ensayos *in vitro*. Estos estudios han comprobado la idea original sobre el ataque intramoleculare del grupo amino al carbono de la porción tiourea para generar al mebendazol.



La estabilidad que este bioprecursor ha presentado, tanto en estado sólido como en soluciones acuosas a pH menores a 6, se debe a que el primer paso de la conversión a mebendazol es la etapa determinante de la velocidad. A valores bajos de pH, el grupo amino se encuentra protonado, aún con la presencia del grupo carbonilo, el cual por su característica de ser electroatrayente, provoca una disminución en la basicidad y nucleofilia del grupo amino. Es por esto que a valores de pH < 6, prácticamente, no ocurre la generación del mebendazol. Asimismo, este tipo de estudios han mostrado que a pH >6 la formación del grupo bencimidazol 2-carbamato de metilo se lleva a cabo en forma cuantitativa debido a que en estos casos el grupo amino ya no se encuentra protonado.

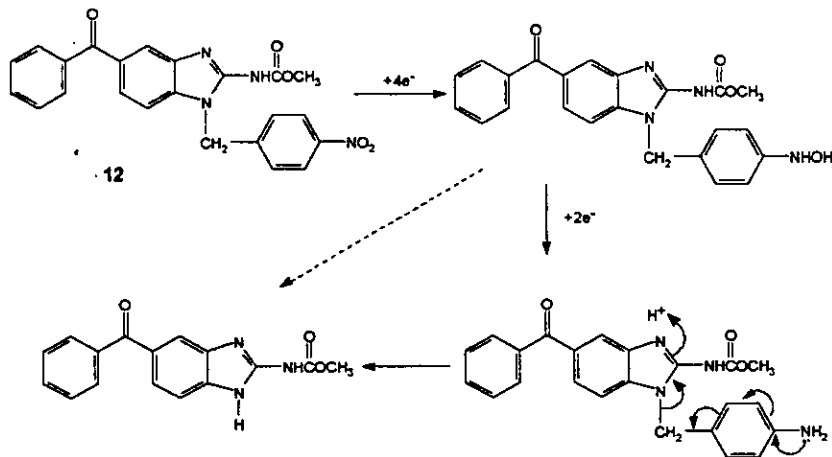
En base a estos resultados y con el propósito de tener a este bioprecursor para estudios contra parásitos intestinales y extraintestinales se decidió llevar a cabo su preparación.

- 2.- El diseño del compuesto 12 se realizó con la modalidad de un derivado bio-reversible. En esta sustancia se tiene formalmente la estructura del mebendazol, aunque se espera que posea mejores características de solubilidad en disolventes polares. La razón para esperar este comportamiento, considero que la insolubilidad del mebendazol se debe a que los puentes de hidrógeno intermoleculares que se puedan formar, provocan un arreglo molecular que hace difícil la solvatación de este principio activo.

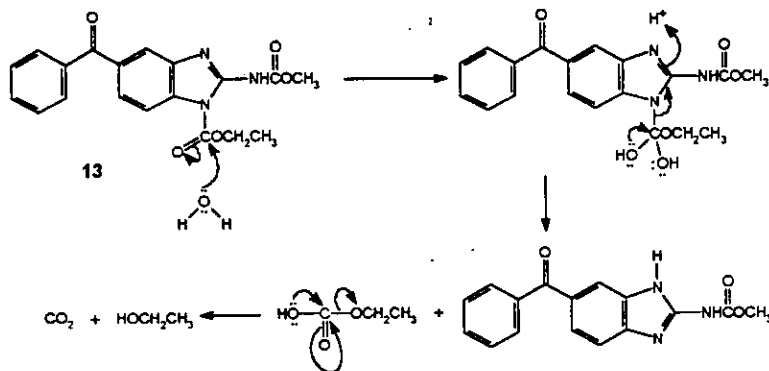


Aunque existen en la molécula del mebendazol varios sitios factibles de formar puentes de hidrógeno, nuestra propuesta considera que al sustituir el hidrógeno en la porción imidazol, por otra porción estructural se podrá presentar un nuevo arreglo molecular en estado sólido que favorecería la solubilidad del derivado bio-reversible.

La bio-reversibilidad del compuesto 12, se basa en la reducción del grupo nitro al grupo hidroxilamino o al grupo amino por la presencia de nitroreductasas de la microflora intestinal o por el citocromo P-450 reductasa intestinal o hepática.



3.- El diseño del compuesto 13, al igual que el compuesto 12, se realizó bajo la modalidad de derivado bio-reversible, con las mismas consideraciones antes mencionadas para modificar temporalmente la solubilidad y lipofilia del mebendazol. Sin embargo, la bioactivación, en este caso, se espera que se lleve a cabo mediante una reacción de hidrólisis catalizada por enzimas peptidasas y/o esterazas presentes en el tracto gastrointestinal y en el hígado, respectivamente.



Con la preparación del bioprecursor y los dos derivados bio-reversibles, se espera abrir puertas en la investigación químico-farmacéutica de nuestro país, con miras a la obtención de compuestos con mayor eficiencia en el tratamiento de helmintiasis extraintestinales.

6. PROCEDIMIENTOS.

Para obtener los compuestos 7, 12 y 13 que son el objetivo de esta tesis, se realizaron las reacciones que se muestran en los Esquema 1, 2 y 3 respectivamente.

6.1 Preparación del bioprecursor 4-amino-3-(3-metoxicarbonil-2'-tioureido) benzofenona. (7).

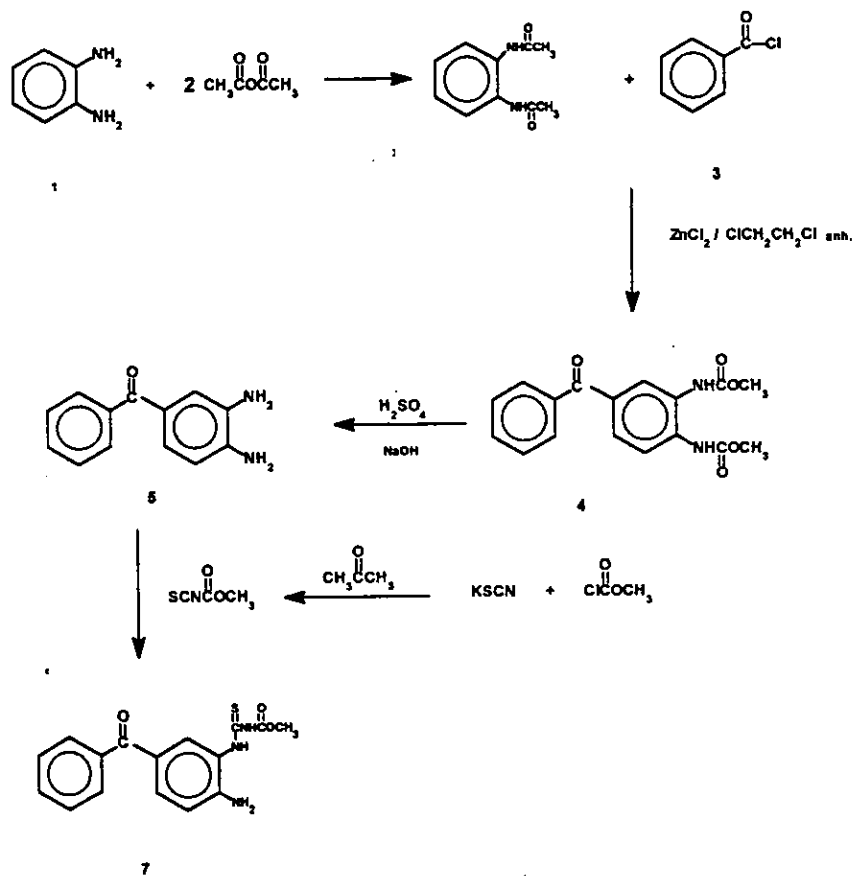
La síntesis del compuesto 7 se llevó a cabo siguiendo la serie de reacciones del Esquema 1. En donde se partió de la *o*-fenilendiamina 1 comercialmente disponible, la cual se acetiló con anhídrido acético comercial, obteniéndose de esta forma la *o*-fenilendiacetamida 2 con un rendimiento de 40%. El producto recristalizó de éter etílico anhidro y presentó un R_f de 0.272 en el sistema III* y un punto de fusión de 167-170 °C.

Se puso a reaccionar la *o*-fenilendiacetamida 2 y cloruro de benzoilo comercial 3 obteniéndose el 3,4 diacetamidobenzofenona 4, mediante una reacción de acilación de Friedel-Crafts utilizando $ZnCl_2$ como catalizador. El producto se utilizó crudo para su posterior hidrólisis.

La hidrólisis de 3,4-diacetamidobenzofenona 4 en ácido sulfúrico a 70 °C dió 3,4-diaminobenzofenona 5 con un rendimiento de 29%. El producto se lavó con hexano caliente obteniéndose un polvo amarillo con un R_f de 0.45 en el sistema II* y un punto de fusión de 102-103 °C.

El producto de la hidrólisis se le trató con metoxicarbonilisotiociano 6 previamente preparado de la reacción de tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo obteniéndose como producto 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido) 7 con un

rendimiento del 35%. El producto se recristalizó de etanol y presentó un Rf de 0.262 en el sistema I* y tuvo un punto de fusión de 190-192 °C.

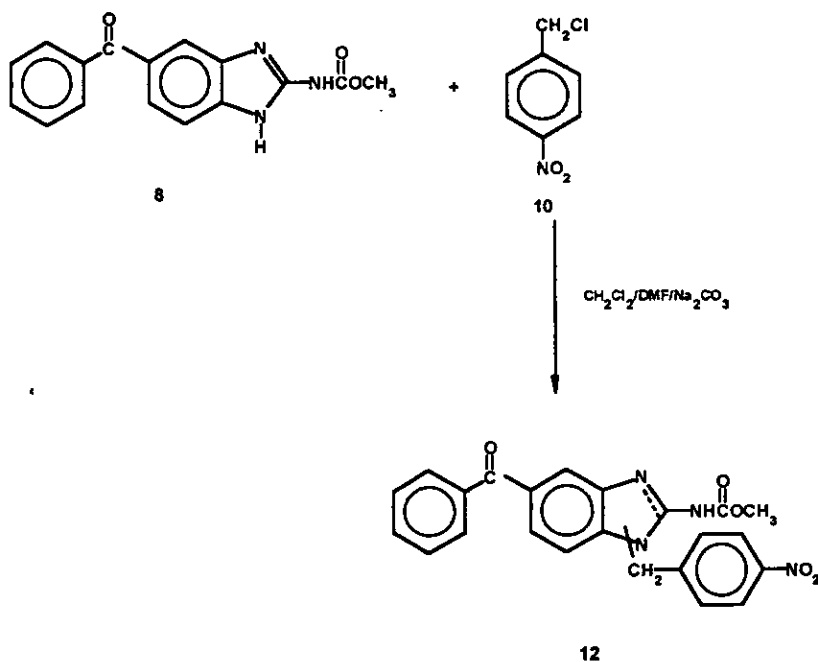
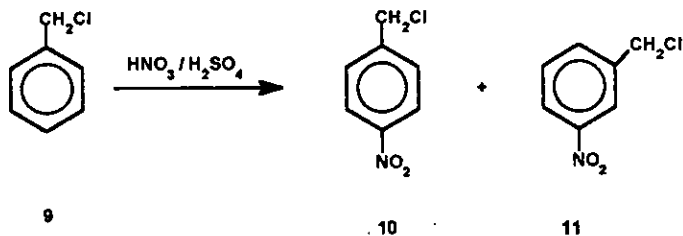


ESQUEMA 1 SINTESIS DE 4-AMINO-3-(3'-METOXCARBONIL-2'-TIOUREIDO) BENZOFENONA.

6.2 Preparación del derivado bio-reversible 5-benzoil-1(3)-(4-nitrobencil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo. (12).

La síntesis del compuesto **12** se obtuvo siguiendo el esquema 2. Se partió de la reacción de nitración del cloruro de bencilo **9** con ácido nítrico fumante en frío y ácido sulfúrico, para dar el cloruro de p-nitrobencilo **10** y el o-nitrobencilo **11**. El producto se recristalizó de etanol obteniéndose unos cristales amarillos con un punto de fusión idéntico al reportado en la literatura (Giral F., 1956) y un Rf de 0.716 en el sistema I*.

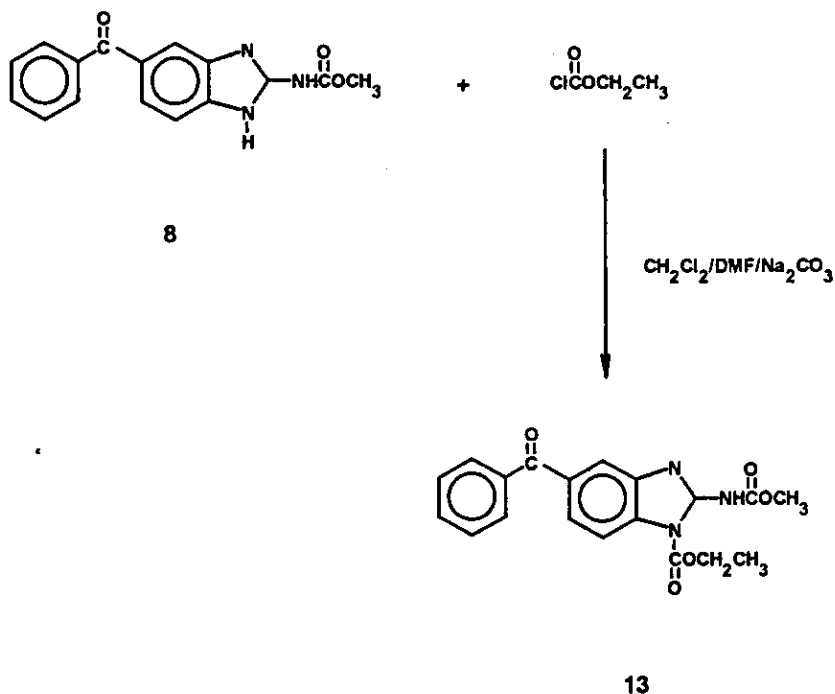
La reacción del cloruro de p-nitrobencilo **10** con el mebendazol **8** dio lugar al 5-benzoil-1(3)-(4-nitrobencil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo **12** con un rendimiento del 30%. El producto se recristalizó de acetona acetona obteniéndose un sólido beige con un Rf de 0.575 en el sistema I* y un punto de fusión de 220-223 °C.



ESQUEMA 2 SINTESIS DE 5-BENZOIL-1(3)-(4-NITROBENCIL)-1H-BENCIMIDAZOL-2-IL-CARBAMATO DE METILO.

6.3 Preparación del derivado bio-reversible 5-benzoil-1(3)-(4-nitrobenzil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo. (12).

La síntesis del compuesto 13 se obtuvo siguiendo el esquema 3 Se partió de la reacción del cloroformiato del etilo con el mebendazol, dando lugar al 5-benzoil-1(3)-(etoxicarbonil)-1 H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo 13 con un rendimiento del 50% y un Rf de 0.160 y un punto de fusión de 130°C.



ESQUEMA 3 SINTESIS DE 5-BENZOIL-1(3)-(ETOXICARBONIL)-1H-BENCIMIDAZOL-2-IL-CARBAMATO DE METILO.

7. RESULTADOS.

Después de haber realizado diferentes procesos de preparación para el bioprecursor y los derivados bio-reversibles, se presentan en la siguiente tabla los Rf, puntos de fusión (pf) y rendimiento de estos compuestos así como la de los intermediario sintetizados.

TABLA 3

COMPUESTO No	Rf	SISTEMA	pf °C	%RENDIMIENTO
2	0.272	III	16 7-170	40
5	0.500	IV	98-101	29
7	0.262	I	190-192	35
10	0.716	I	70-71	32
12	0.575	I	220-223	30
13	0.160	VI	130	50
14	0.380	V	85-87	80

TABLA 4. SOLUBILIDAD DEL BIOPRECURSOR Y DERIVADOS BIO-REVERSIBLES

No COMPUESTO	ACETONA	ETANOL	METANOL	AGUA/TWEEN/DMSO
7	+	+	+	+
12	±	±	±	±
13	+	+	+	+

+ Solubilidad de 10 mg. del compuesto en 1 mL del disolvente a 40°C

± Solubilidad de 10 mg. del compuesto en 20 mL del disolvente a 40°C

TABLA 5. DATOS ESPECTROSCOPICOS DE LOS COMPUESTOS PREPARADOS

COMPUESTO No	DATOS ESPECTROSCOPICOS
MEBENDAZOL	IR (KBr) ν : 3366, 2662, 1728, 1640, 1592, 1264 cm^{-1} ^1H RMN (TMS, DMSO) δ : 3.8 (S, CH_3O), 7.5-8.0 (m, aromáticos) ppm.
7	IR (Br) ν : 3340, 3210, 1728, 1620, 1588, 1514, 1320, 1236 CM^{-1} ^1H RMN (TMS, DMSO) δ : 3.9 (S, CH_3O), 6.1 (S, NH_2), 6.8 (d, aromáticos), 7.8-7.8 (m, aromáticos), 11 (ancho, -NH), 11.3 (ancho, -NH)
12	IR (KBr) ν : 3374, 1720, 1656, 1530, 1514, 1450, 1348 CM^{-1} ^1H RMN (TMS, Ac. Fórmico) δ : 3.6 (S, CH_3O), 5.1 (S, CH_2) 7-8 (m, aromáticos), 11 (ancho, NH) ppm.
13	IR (KBr) ν : 3302, 1774, 1726, 1652, 1540, 1328 CM^{-1} ^1H RMN (TMS, DMSO) δ : 1.4 (T CH_3), 3.9 (S, CH_3O), 4.3 (m, CH_2), 7.5-8.0 (m, aromáticos) ppm.

ν (μ), δ (delta) : letras griegas

8. DISCUSION DE RESULTADOS.

Debido a que el mebendazol es un compuesto con baja solubilidad acuosa, la cual afecta su eficiencia terapéutica en el tratamiento de las helmintiasis extraintestinales, se prepararon un bioprecursor potencial 7, y de dos derivados bio-reversibles 12 y 13.

La preparación del bioprecursor 7, (4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido) benzofenona, se realizó de acuerdo al procedimiento presentado en el esquema 1. La o-fenilendiamina, se puso a reaccionar con anhídrido acético con el propósito de evitar la participación de los grupos aminos en la reacción posterior. Cabe mencionar que aunque la o-fenilendiamina fue adquirida de productos Aldrich, se tuvo que recrystalizar antes de utilizarla para evitar la presencia de productos de oxidación. En un segundo paso, el compuesto diacetilado fue sometido a una reacción de acilación de Friedel-Crafts, utilizando en un primer intento tricloruro de aluminio ($AlCl_3$), 1,2-dicloroetano como disolvente y cloruro de benzoilo. Experiencias previas en nuestro grupo de investigación (Castillo R., 1995), han mostrado la conveniencia de utilizar el 1,2-dicloroetano en lugar de nitrobenzono tradicional para esta reacción debido a la fácil eliminación del primero. Sin embargo, se tuvieron problemas debido a la fuerte reactividad del tricloruro de aluminio, ya que al realizar una cromatografía de capa fina, esta mostró una mezcla compleja de productos, varios de los cuales pudiesen haber surgido al arreglar el grupo acetilo de la diacetamina.

Ante esta situación, se decidió cambiar el catalizador, utilizando en un segundo intento el cloruro de zinc ($ZnCl_2$) fundido, por ser un ácido de Lewis más débil que el tricloruro de aluminio ($AlCl_3$). Al realizar la cromatopla de la mezcla de reacción se observa la presencia de un producto principal (99 %), y residuos

de las materias primas al revelarse por luz U.V. Después de evaporar el disolvente se obtuvo un material resinoso, difícil de manejar y que no se pudo solidificar después de tratarlo con varios disolventes de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo, cloroformo, benceno, etanol, metanol etc.) Ante tal situación, se decidió someter a hidrólisis ácida este material resinoso. El producto de hidrólisis después de lavarlo con una solución acuosa de hidróxido de sodio y agua para neutralizar, se presentó como un sólido amarillo, cuyo punto de fusión, espectro de IR y RMN se presentan en las tablas de resultados.

Con la intención de explorar otras rutas de preparación del intermediario 5. Se partió de la 2-nitro anilina, materia prima más estable que la orto-fenilendiamina, la cual se acetiló con el mismo propósito de la orto-fenilendiamina.

La reacción de acilación de Friedel-Crafts es un buen método para la introducción de una cadena lateral carbonatada en un anillo aromático utilizando como catalizador un ácido de Lewis, para formar de esta manera una cetona aromática la cual puede utilizarse como tal.

En la última reacción del esquema 1, el compuesto 5 con 6, se tomó como referencia la publicación Dawson, M. (1983) para obtener 7. En esta reacción, el compuesto actuó como nucleófilo por el nitrógeno de la posición 3 debido a que el benzoil como es un electroatrayente disminuye el poder nucleófilo del amino en posición 4.

En la preparación del derivado bio-reversible 12, como se muestra en el esquema 2, se llevaron a cabo dos reacciones. La primera consistió de una nitración del cloruro de bencilo, utilizando mezcla sulfonítrica.

En esta reacción resultó importante mantener la temperatura entre 0 y 10 °C para evitar la posible dinitración. Cuando se tomó placa de la mezcla de reacción se observó la presencia de dos productos. La presencia de estos dos productos se debe a la orientación orto-para que presenta el ClCH_2^- . Una vez que la materia prima se agotó se procedió a separar los productos formados. La separación de ambos productos se realizó mediante recristalización en etanol. El cloruro de 4-nitrobencilo cristaliza en este disolvente, mientras que el cloruro de 2-nitrobencilo queda en solución. El punto de fusión y los datos espectroscopios de IR, RMN para el cloruro de 4-nitrobencilo correspondieron a los reportados por la literatura (Giral F., 1956). Debido a la sensibilidad de este compuesto fue necesario guardarlo en refrigeración y recristalizarlo cada vez que se utilizara.

El siguiente paso consistió en realizar una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) entre el mebendazol y el cloruro de 4-nitrobencilo con el propósito de obtener el derivado bio-revesible correspondiente. En un primer intento, el mebendazol se suspendió en dimetilformamida (DMF), se adicionó yoduro de potasio, el cual se esperaba que funcionara como un catalizador, y el cloruro de 4-nitrobencilo. La mezcla se dejó en agitación por 5 días a 40 °C, sin resultados favorables, ya que en todo momento, la materia prima estuvo presente.

Ante esto, se decidió modificar algunas de las condiciones de reacción. Se conservó a la dimetilformamida (DMF) como disolvente. Aunque en esta ocasión se utilizó hidruro de sodio en suspensión oleosa, para aprovechar sus propiedades de base fuerte y tratar de quitarle al mebendazol su hidrógeno de la porción imidazol, incrementando con esto el poder nucleofílico del bencimidazol y favorecer la reacción $\text{S}_{\text{N}}2$. Después de 2 h. de agitación del mebendazol y el hidruro de sodio, se procedió a agregar el cloruro de 4-nitrobencilo. Después de 48 h. se tomó placa de la reacción y se observó la presencia de tres manchas tenues además de materia prima. Se trató de aislar el producto más polar (R_f más pequeño), aunque los resultados fueron

infructuosos tanto por la presencia de la materia prima como del disolvente dimetilformamida (DMF). Es probable que por las características de basicidad del hidruro de sodio, éste haya reaccionado con el hidrógeno de la porción imidazol, así como con el hidrógeno de nitrógeno exocíclico del carbamato; además, debido a la dificultad de manejar cantidades equimoleculares de esta base, por su presentación oleosa y descomposición al almacenarse, probablemente el exceso pudo haber reaccionado con alguno de los hidrógenos ligeramente ácidos que presenta el metileno y el cloruro de 4-nitrobencilo.

El intento más exitoso, se llevó a cabo como se muestra en el esquema 2. En esta ocasión, se utilizó carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3) base para tratar de sustraer el hidrógeno ácido del mebendazol. Con esto se esperaba evitar la formación de varios productos en la mezcla de reacción. El disolvente fue la dimetilformamida (DMF) y se agregó un ligero exceso de cloruro de 4-nitrobencilo (1:1.5).

La mezcla de reacción se dejó en agitación a 40 °C por 48 h. Al término de los cuales se tomó cromatografía de placa fina a la mezcla de reacción, mostrándose la presencia de un solo producto y la materia prima. En un intento de favorecer la total desaparición de la materia prima, se calentó la mezcla (80°C); sin embargo al volver a tomar placa, se observó la presencia de otros dos nuevos compuestos; por lo que se decidió trabajar esta reacción a temperatura ambiente y detenerla después de 48 h.

El aislamiento del producto fue difícil, debido a que se presentaba una sustancia viscosa al eliminar los disolventes; aunque después de dejar en reposo por una semana se presentaba un polvo de color amarillo con bajo rendimiento. El bajo rendimiento primeramente se debe a que no todo el mebendazol reacciona y segundo a que por el tiempo transcurrido es probable que parte de cloruro de 4-nitrobencilo se descompusiera, a pesar de proteger de la luz al matrás de reacción y trabajar bajo

atmósfera de nitrógeno. Para la elucidación estructural de este compuesto se utilizó el espectro de IR y RMN. Es importante mencionar que al parecer, por el equilibrio tautomérico que presenta el mebendazol, el sólido obtenido es una mezcla compuesta por el derivado alquilado en posición 1 y el derivado alquilado en posición 3. Sin embargo, para fines del diseño del profármaco potencial, consideramos que esta mezcla liberaría al mebendazol no importando el sitio de la sustitución del progrupo.

En la preparación del derivado 13, la reacción que se llevó a cabo fue de sustitución al grupo carbonilo del progrupo. Se decidió trabajar con dimetilformamida (DMF) como disolvente. Con el propósito de disolver la mayor cantidad de mebendazol, la suspensión se calentó a 80 °C por dos horas y se agregó posteriormente, trietilamina como base. A la suspensión se le agregó gota a gota el cloroformiato de etilo en exceso (1:1.5). Con esto se esperaba que el nitrógeno de la porción imidazol atacara al grupo carbonilo del cloroformiato, el cual liberaría al ion cloruro mismo que reaccionaría con la trietilamina presente en el medio de reacción. La mezcla de reacción se agitó por 24 h. Al término se tomó cromatografía de placa fina. Debido a que se presentaba una pequeña cantidad de materia prima, se decidió agregar la mitad de cloroformiato de etilo más; después de 12 h. de agitación, la materia prima se había agotado. El producto obtenido presentó una sola mancha en la cromatografía de placa fina, aunque como en el caso anterior cabe esperarse que se trate de una mezcla de dos compuestos; uno sería el mebendazol sustituido en posición 1 y el otro sustituido en posición 3.

9. CONCLUSIONES.

De acuerdo al planteamiento del problema, los resultados y la discusión se puede concluir lo siguiente:

- El lograr obtener profármacos de un compuesto antihelmíntico de interés farmacéutico, permite abrir puertas a la investigación tanto farmacéutica como clínica, biológica.
- El diseñar y sintetizar profármacos con bajos puntos de fusión que el principio activo, es indicativo de mejorar las propiedades de solubilidad del compuesto en disolventes polares.
- Se logró adquirir gran parte de la experiencia que se requiere para realizar trabajos de investigación en síntesis de compuestos químicos de interés farmacéutico.

10. PARTE EXPERIMENTAL.

10.1 Instrumentación.

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer de transformadas de Fourier Modelo FT-IR-1600 en pastilla de bromuro de potasio, las señales se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron en un espectrofotómetro Varian Modelo EM.390 usando cloroformo deuterado, dimetilsulfóxido deuterado como disolventes. Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se dan en ppm. Los símbolos de las señales son: s= singulete, sa= singulete amplio, d= dobletes, m= multiplete.

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

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

Para la cromatografía en capa fina (CCF) se usaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice GF 254 de la casa Merck. Los compuestos orgánicos se revelaron con la luz UV y por exposición a vapores de yodo.

SISTEMAS ELUYENTES.

SISTEMA	COMPOSICIÓN	PROPORCIÓN
I	CH ₃ Cl ₃ -MeOH	99:1
II	CH ₃ Cl ₂ -MeOH	95:5
III	CH ₃ Cl ₃ -MeOH	90:10
IV	Hexano -Acetato de etilo	95:5
V	Hexano-Chloroformo-Acetato de etilo	50:35:15
VI	CH ₃ Cl ₃ -Acetato de etilo-Ciclohexano	90:7:3

10.2 Preparación del o-fenilendiacetamida.(2).

En un matraz bola de 250 mL con 1 boca (24/ 40) adaptado con agitador magnético, embudo de adición de presiones igualadas y baño de hielo, se colocaron 20 g (0.185 mol) de o-fenilendiamina y se adicionó 70 mL (0.686 mol) de anhídrido acético. (Mallinckrodt), gota a gota, con agitación vigorosa, controlando la temperatura por debajo de los 20 °C y verificando por cromatografía en capa fina la desaparición de la o-fenilendiamina.

La mezcla, se dejó enfriar hasta 0°C y luego se vertió en 100 mL agua-hielo al vacío, precipitando un sólido negro, el cual se separó por filtración al vacío, se lavó con agua helada hasta un pH neutro y se secó a temperatura ambiente dando un punto de fusión de 165-179 °C. El producto se lavó con éter dietílico previamente enfriado, separó por filtración al vacío y secó a temperatura ambiente. El sólido café obtenido presentó un R_f de 0.272, en sistema III*, y un punto de fusión de 157-170 °C.

10.3 Preparación del 3,4-diaminobenzofenona.(5).

En un matraz bola de 250 mL con 2 bocas (24/40), adaptado con agitación magnética y embudo de presiones igualadas con trampa anhidra, se colocaron 2.9 g (0.02 mol) de $ZnCl_2$ el cual se fundió con mechero para que estuviera completamente seco, una vez hecho esto se adicionaron 100 mL de 1,2-dicloroetano anhidro con agitación vigorosa por 1.5 h, posteriormente se agregaron 1.8 g (0.019 mol) de cloruro de benzoilo, gota a gota y con agitación vigorosa, registrando un aumento de temperatura. Se formó una suspensión color café. La mezcla de reacción agitada, se calentó a reflujo en canastilla de 20 a 30 °C durante 72 h, verificando por cromatografía en capa fina la desaparición de la o-fenilendiacetamida. La mezcla de reacción se dejó enfriar y el remanente de $ZnCl_2$ se separó por filtración, el filtrado se extrajo en embudo de filtración de 500 ml dos veces con agua corriente y 3 veces con agua alcalina hasta obtener un pH neutro de la fase orgánica, que posteriormente se secó con sulfato de magnesio anhidro, separó por filtración y concentró en rotaevaporador, obteniéndose un aceite color café. El producto no se purificó y tal cual se sometió a la siguiente reacción. En un matraz bola de 250 mL con 1 boca (24/40) adaptado con agitación magnética, termómetro y baño de aceite, se colocó el producto de la reacción anterior y se le trató con 3 mL de H_2SO_4 concentrado, cuidando que el baño de aceite no rebasara 100 °C, transcurrido 30 min., el baño de aceite se retiró y la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se procedió a agregar una solución acuosa de NaOH al 35% a la mezcla de reacción para neutralizar el ácido remanente; se observó la formación de un precipitado, el cual se separó por filtración al vacío, se lavó con agua corriente y se secó a temperatura ambiente, obteniéndose un polvo café con un Rf de 0.45, en sistema II*. y un punto de fusión de 102-103 °C.

10.4 Preparación del 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido) benzofenona. (7).

En un matraz de bola 250 mL con 1 boca (24/40) adaptado con agitación magnética, embudo de presiones igualadas, se colocaron 0.71 g (0.007 mol) de tiocianato de potasio comercial con 20 mL de acetona anhidra (Merck) con agitación vigorosa.

Se adicionó lentamente una mezcla de 0.66 g (0.007 mol) cloroformiato de metilo (Aldrich) con 3 mL de acetona anhidra contenida en el embudo de presiones igualadas, se dejó en agitación durante 2 h, posteriormente, se agregaron 0.5 g (0.0023) mol de 3,4-diaminobenzofenona. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 30 h. verificando por cromatografía en capa fina la desaparición de 3,4-diaminobenzofenona. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, separó por filtración al vacío y concentró en rotaevaporador, formándose un producto resinoso café, el cual se recrystalizó en etanol, obteniéndose un sólido amarillo que mostró en cromatografía en capa fina una mancha alargada, por lo tanto, el producto se lavó con cloruro de metileno, después de esto mostró una sola mancha por cromatografía en capa fina con un R_f de 0.262 en el sistema y un punto de fusión de 190-192 °C y un rendimiento del 32% .

10.5 Preparación del cloruro de p-nitrobencilo.(10).

En un matraz bola de 3 bocas (24/40) de 100 mL, adaptado con agitador magnético, termómetro y un baño de hielo, se colocaron 96 g (0.559 mol) de cloruro de bencilo, los cuales se trataron lentamente con una mezcla sulfonítrica previamente enfriada a -5 °C con baño de hielo y sal, contenida en un embudo de presiones igualadas, evitando que la temperatura no aumentara por arriba de 10 °C. Terminada la adición, se quedó solidificado todo el contenido del matraz, posteriormente se vertió

sobre hielo picado, formándose un precipitado amarillo, el cual se separó por filtración al vacío y se lavó con agua hasta pH neutro. El sólido húmedo se recrystalizó de etanol. El producto por cromatografía en capa fina mostró una sola mancha con un Rf 0.716 en sistema I* y un punto de fusión de 70-71 °C.

10.6 Preparación del 5-benzoil-1(3)-(4-nitroencil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo.(12).

En un matraz de bola 100 mL con 1 boca (24/40) adaptado con agitación magnética se colocaron 30 mL de cloruro de metileno anhidro, 1.38 g (0.005 mol) de mebendazol, 1.2 g (0.007 mol) de p-nitroclorobencilo, 10 mL de DMF y 1.4 mL de agua alcalinizada saturada. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 96 h, se formó una suspensión naranja la cual se separó por filtración al vacío, el filtrado se concentró en rotaevaporador, quedando un aceite naranja, el cual se vertió sobre agua de hielo, formando una resina, a la cual se le decantó el agua, enseguida se le adicionó acetona fría y se formó un precipitado amarillo, que se filtró a vacío quedando un sólido amarillo que presentó en cromatografía en capa fina un Rf de 0.575 y un punto de fusión de 220-223 °C.

10.7 Preparación del 5-benzoil-(3)(etoxicarbonil)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo.(13).

En un matraz de bola de 500 mL adaptado con agitación magnética, se colocaron 5 g de mebendazol (0.016 mol) con 4.2 g de K₂CO₃ (0.030 mol) y 150 mL de dimetil formamida. Se dejó en agitación por 3 h a 80 °C. Posteriormente se adicionaron gota a gota una mezcla formada por 2 mL de cloroformiato de etilo (0.024 mol) y 2 mL de dimetilformamida. Después de 2 h de agitación se volvió adicionar una cantidad igual de la mezcla mencionada. La suspensión se dejó en agitación por 48 h.

Transcurrido este tiempo, se agregaron 100 mL de agua, con esto la suspensión se transformó en una solución transparente. Se procedió a extraer con acetato de etilo (4 x 100 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y posteriormente se concentro con el rotaevaporador, obteniéndose un líquido viscoso (4 g), el cual se dejó en reposo por una noche. El líquido obtenido, fue disuelto en tolueno caliente y posteriormente se le adicionaron unas gotas de éter de petróleo; después de 24 h se presentó un sólido color crema (3.2g, rend. 50%).

El punto de fusión fue de 130 °C y en la cromatografía en placa fina presentó un Rf de 0.16, fase móvil CHCl₃:AcOET:Ciclohexano (90:7:3).

10.8 Preparación de 2-nitroacetanilida .(14).

En un matraz bola de 2 bocas (24/40) de 500 mL con agitación magnética se colocaron 50 g (0.362 mol) de 2 -nitroanilina que se hicieron reaccionar con 100 mL (1.0 mol) de anhídrido acético comercial durante 30 min, posteriormente se le agregaron lentamente 15 gotas de H₂SO₄ concentrado contenidos en un embudo de adición de presiones igualadas hasta que la mezcla de reacción alcanzó 50 °C, la mezcla de reacción se vertió en hielo picado formándose un precipitado verde, que inmediatamente se lavó con agua alcalinizada hasta un pH neutro y se secó a temperatura ambiente El producto se recrystalizó de éter de petróleo, obteniéndose un sólido verde con un rendimiento del 80 % y que mostró en cromatografía en capa fina una sola mancha con un Rf de 0.38, en sistema V* y con un punto de fusión de 85-87.°C.

11. BIBLIOGRAFIA.

Alcántara E. (1996). Síntesis de un compuesto filaricida del tipo bencimidazol-2-carbamato de metilo, un profármaco del mismo y la determinación de sus propiedades fisicoquímicas de interés farmacéutico. Tesis de la Facultad de Química. U.N.A.M. 12-15.

Brown H.W., Neva F.A. (1985). Parasitología Clínica. 5 edición Interamericana S. A. de C.V. México, D.F. 153-166.

Botero D. (1986). In Chemotherapy of Parasitic Disease. Editores Cambell W.C; Rew.R.S. Plenum Press, New York. 267-276.

Buchard G.D., Kern P. (1986). Osterierch. Gesellschaft. Tropical Medicinal Parasitol. 8, 57-61.

Bundgaard H. (1991). Design and Application of Prodrug. En A Texbook of Drug Design Development editores Krogsgaard-Larsep P; Bundgaard H. Academic Publishers. Great.Britain. 173-191.

Castillo R., Suárez-Herrera M., Aparicio M., Herdández Luis F., Hernández A. (1995). Organic Preparation and Procedures International. 27, 550-552.

Cook G.C. (1986). Transaction Royal Society Tropical Medicinal Hygiene. 80, 675-685.

Davis A. (1973). Drug Treatmen in Intestinal Helminthiases. World Health Organization, Genova.

Dawson M., Watson T. R. (1983). Mebendazol prodrugs. European. Journal of Drug Metabolism. Pharmacokinetic. 8, 329-337.

Bragi F. (1982). Enfermedades parasitarias. Segunda edición. Prensa Médica Mexicana, S.A.México, D.F. 217,218,233,234.

Gregoriadis G. (1977) . Drug Carriers in Biology and Medicine. Nature (London). 75, 201-210.

Gregoriadis G. (1981). Targeting of Drugs Implications in Medicine. The Lancet. 1, 241-246.

Giral F. (1956). Productos Químicos y Farmacéuticos. Editorial Atlante, S.A. México, D.F. 2, 765-766.

Harron D. W. G., D'Arej P. F. (1983). Pharmaceutical International. 4, 162-168

Korolkovas A. (1988). Drug Development. En Essentials of Medicinal Chemistry. Second Edition. John Wiley Sons. U.S.A. 97-118.

Lacey E. (1988). The Role of the Cytoskeletal Protein, Tubulin, in the Mode of Action and Mechanism of Drug Resistance to Bencimidazoles. International Journal for Parasitology. 15, 886-888.

Lamoth A., García Rafael, Luis P. (1988). Helmintiasis del Hombre en México. Editores AGT. editor, S. A.).

*Morales R. (1996). Evaluación de la actividad biológica de dos profármacos del albendazol contra *Trichinella spiralis*. Tesis de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. U.N.A.M. México,D.F. 2.*

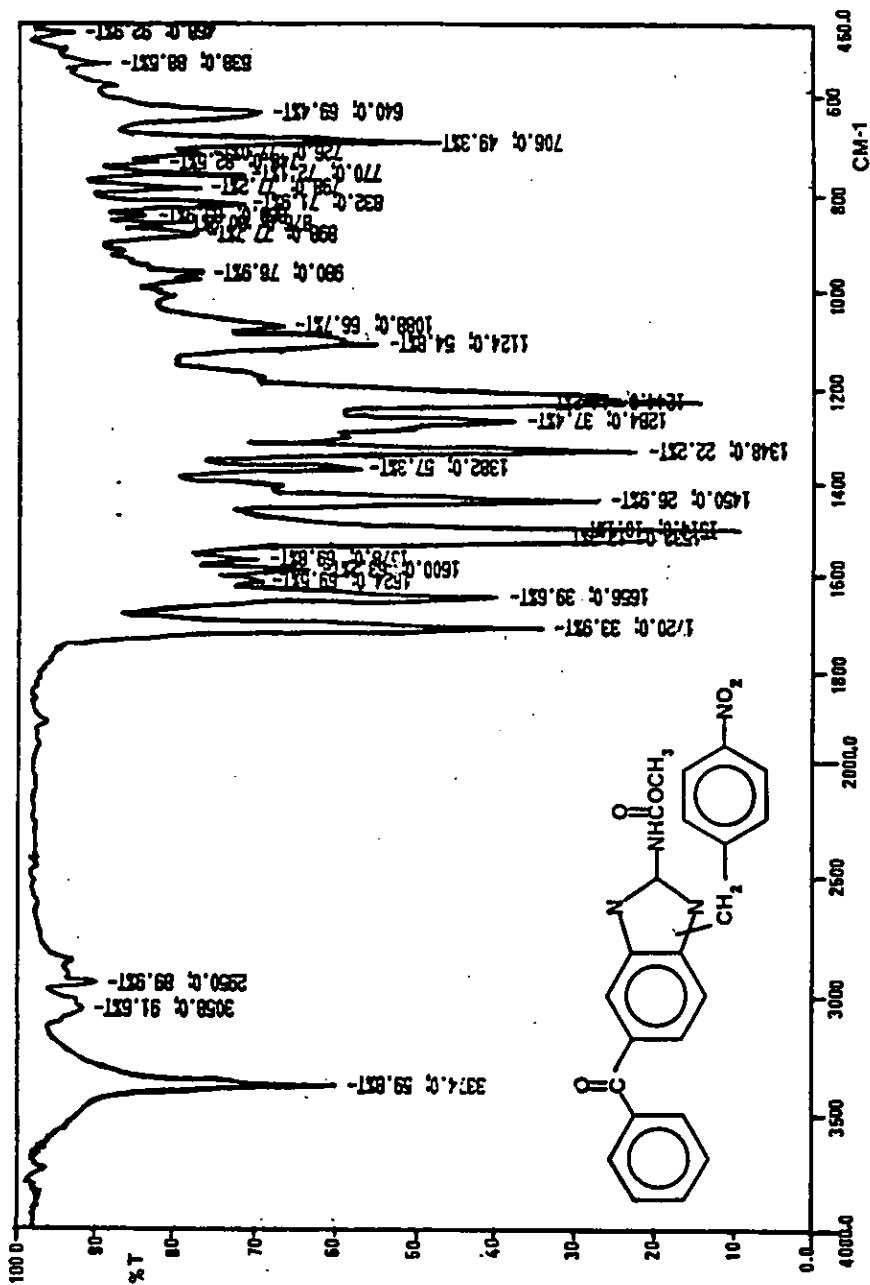
Pine Stanley H., Hendrickson J.B.,Cram D.J., Hammond G.S. (1980). Química Orgánica. 4 edición.. Editorial McGraw-Hill España. 668-671, 207-214.

- Sylvest N. L. (1994)*. Improved peroral bioavailability of mebendazole in rabbits by administration of various N-alkoxycarbonyl derivatives of mebendazole. *International Journal of Pharmaceutics*. 104, 175-179.
- Raether W. (1988)*. In " *Parasitology in Focus: Fact and Trends*). Editorial Mehlhorn H. Springer Verlag, Heidelberg. 739-866.
- Sharma S., Abuzar S. (1983)*. *Progress Drug Research*. 27, 85-161.
- Sharma S., Abuzar S. (1991)*. *Medicinal Research Reviws*. 11, 581-615.
- Sharma S. (1994)*. *New Drugs for Helminth Disease*. *Advanced Drug Research*. Academic Press. 105-172.
- Sturcher D. (1982)*. *Advanced Pharmacology Chemotherapy*. 19, 129-154.
- Urquhart G. M. (1983)*. *Hellenic Vet. Med.* 26, 36-49.
- Taylor A. E. R., Denham D. A. (1988)*. *Tropical Diseases*. Bull. 85, R1-R34.
- T. Z. Jorge, C. A. Ramón, (1989)*. *Parasitología Médica*. Editorial Francisco Mendez Cervantes.
- Vanden Bossche, H. Rochette, F., Horig C. (1982)*. *Advanced Pharmacology Chemotherapy*. 19, 129-154.
- Walchschofer N., Delabre-Defayolle, I. Paris, J., Francoisce P. A. (1990)* In vivo morphological damage induced by a new benzimidazole prodrug in *Echinococcus multicularis* metacestodes. *J. Pharma. Sci.*, 79, 606-608.

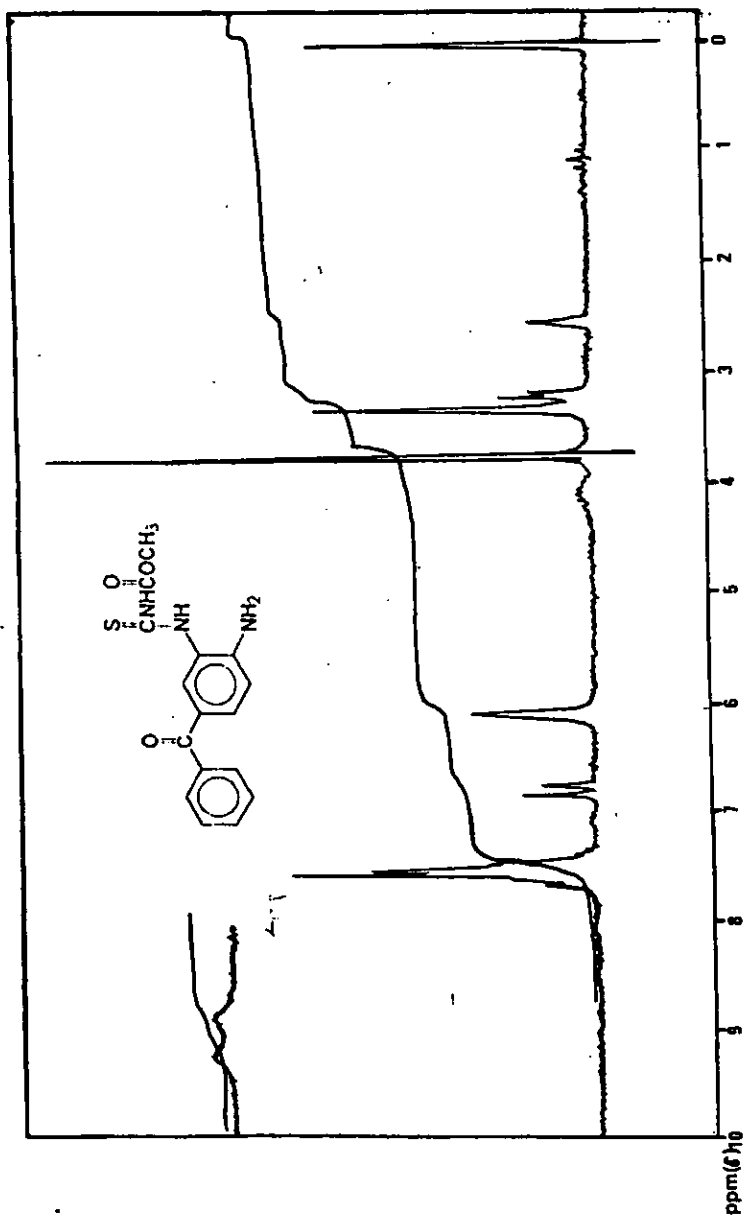
Webber G. (1986). In *Chemotherapy of Parasitic Diseases*. Editores Campbell W. C., Rew R. S. Plenum Press, New York. 457-477.

Wermuth.C.G. (1984). *Designing Prodrugs and Bioprecursors*. En *Drug Design. Fact o Fantasy*. Lollers G. Editorial. Academic Press. U.S.A. 47-72.

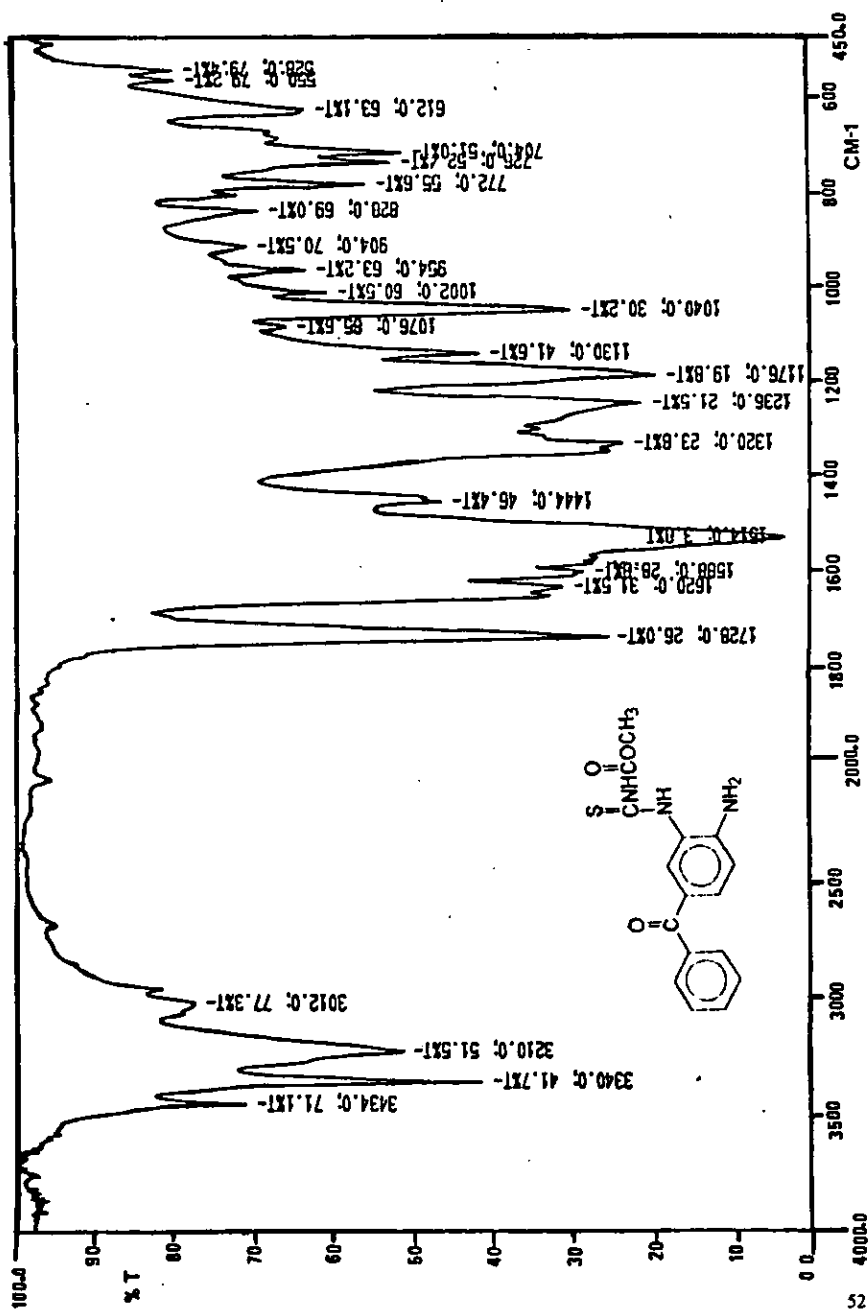
APENDICE



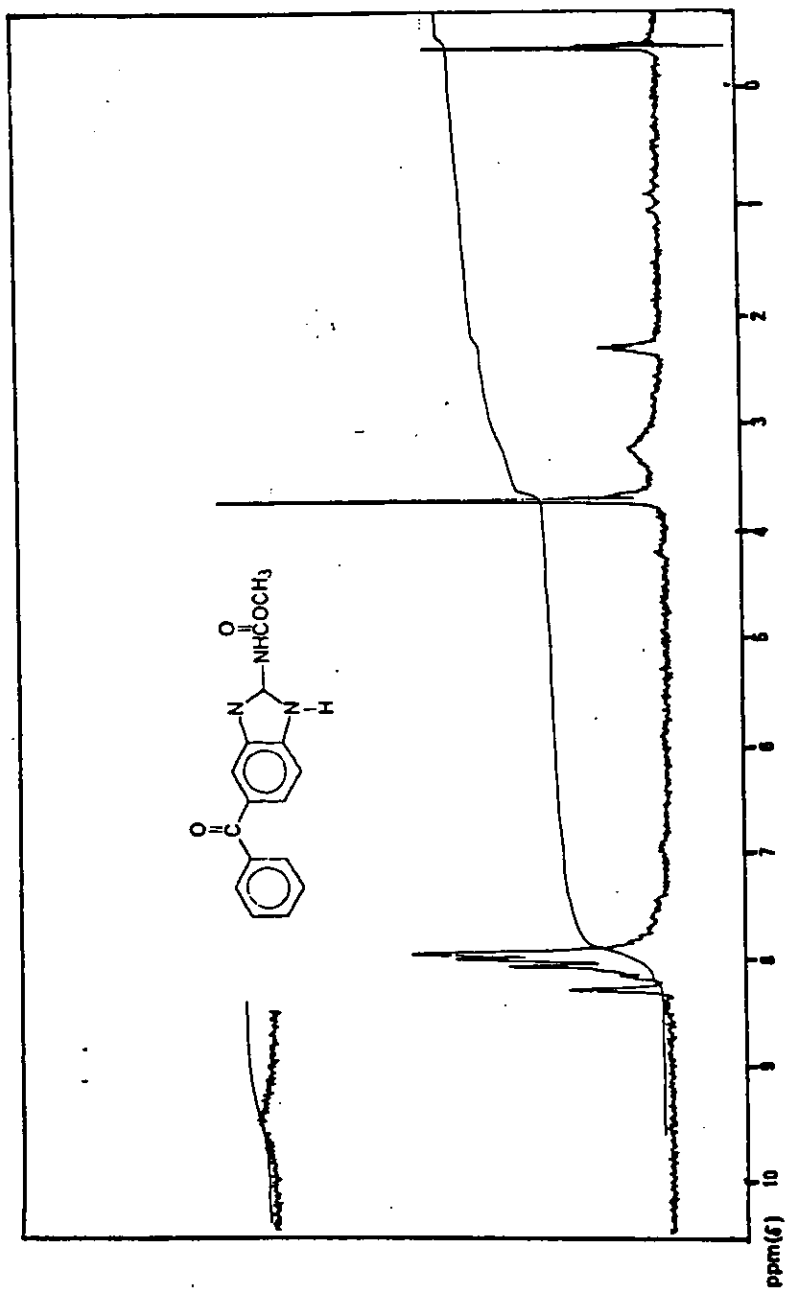
Espectro No. 3. IR: S-benzoil-1(3)-(4-nitrobenzyl)-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo



Espectro No. 2. RMN: 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-fluoreldo)benzofenona

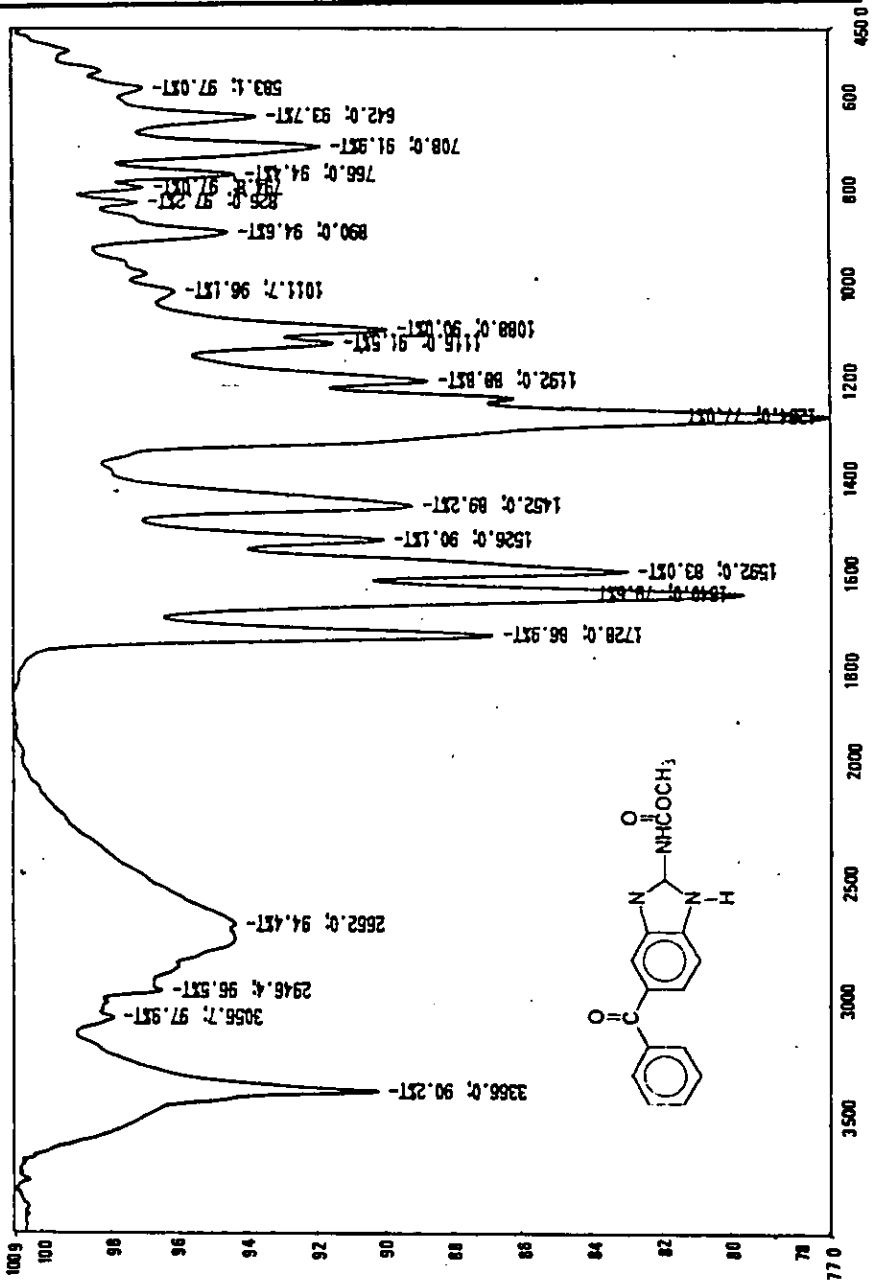


Espectro No. 1. IR: 4-amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-fluoreido)benzafenona

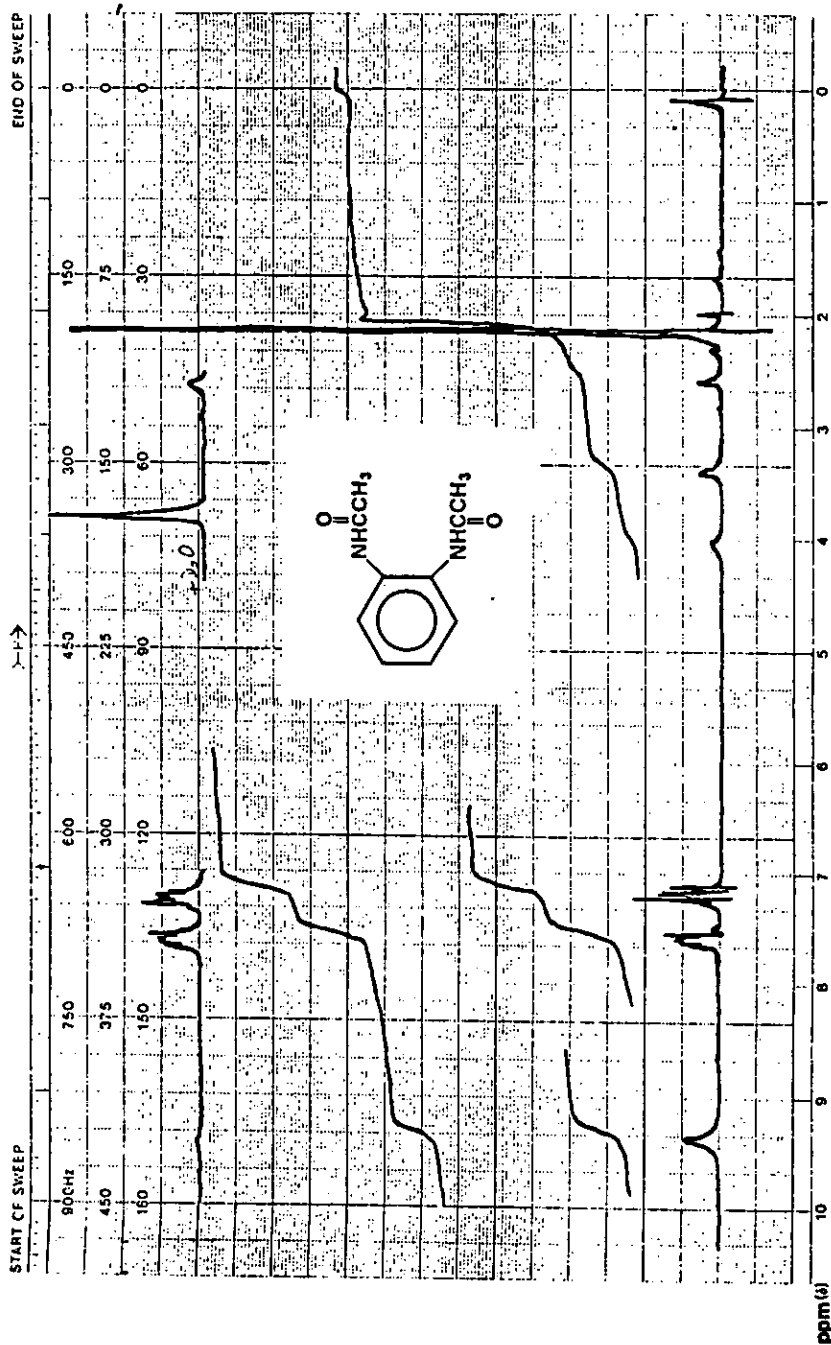


Espectro No. 13 RMN: 5-benzil-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo

ESPECTROS

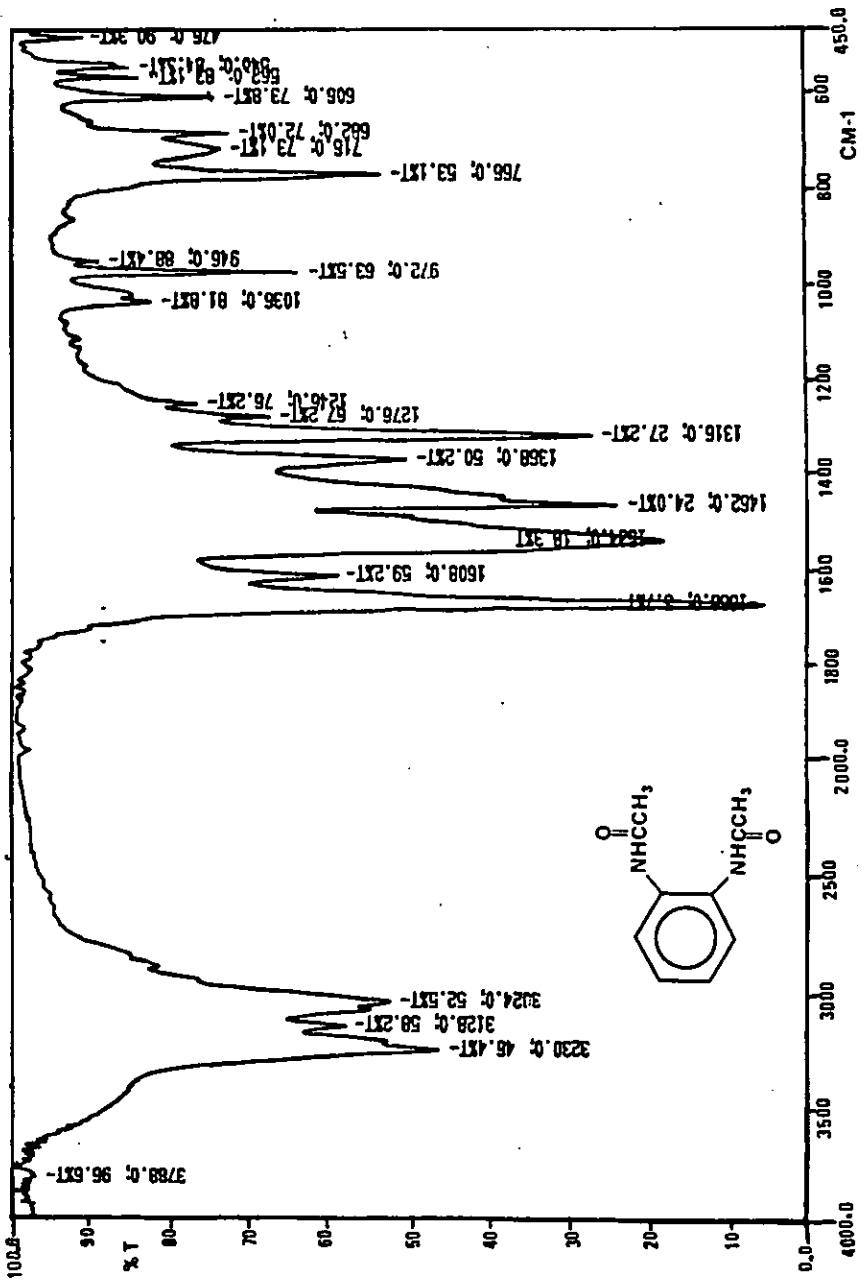


Espectro No. 12 IR: 5-benzol-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo

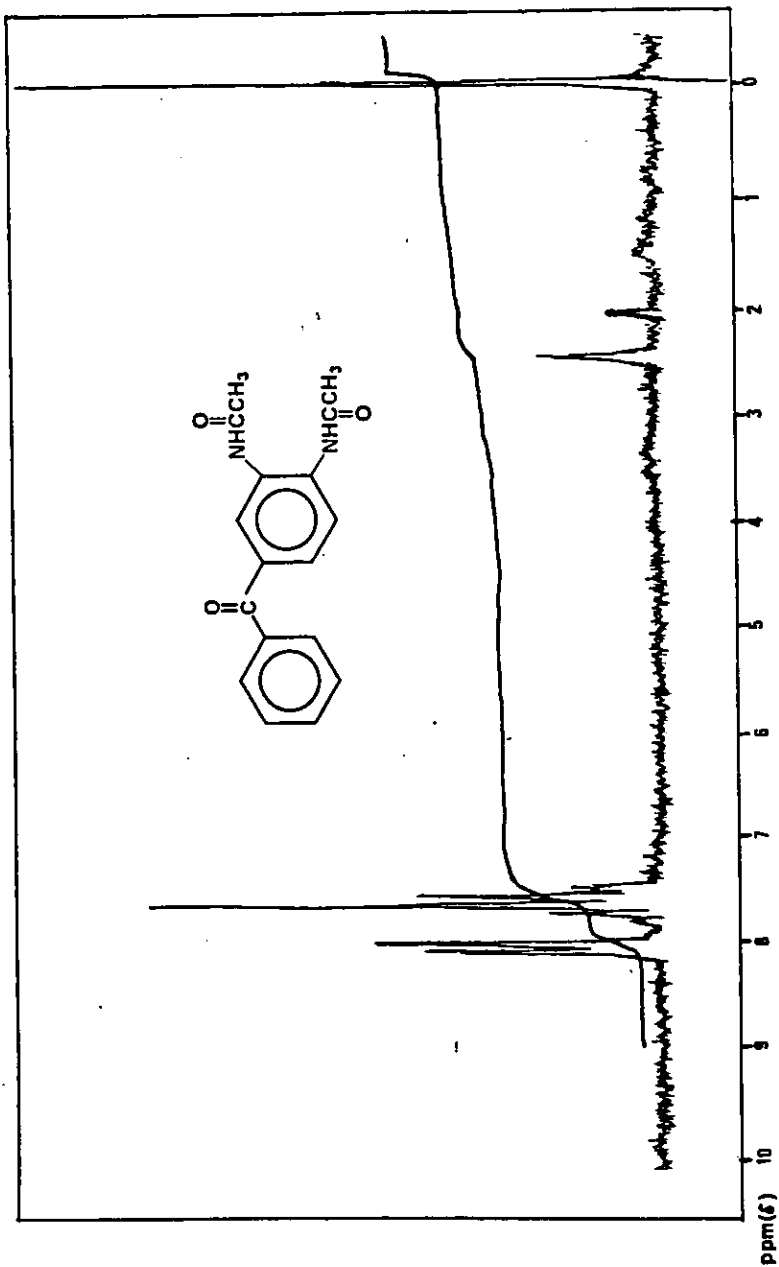


Espectro No 11. RMN : o-nitroanilina

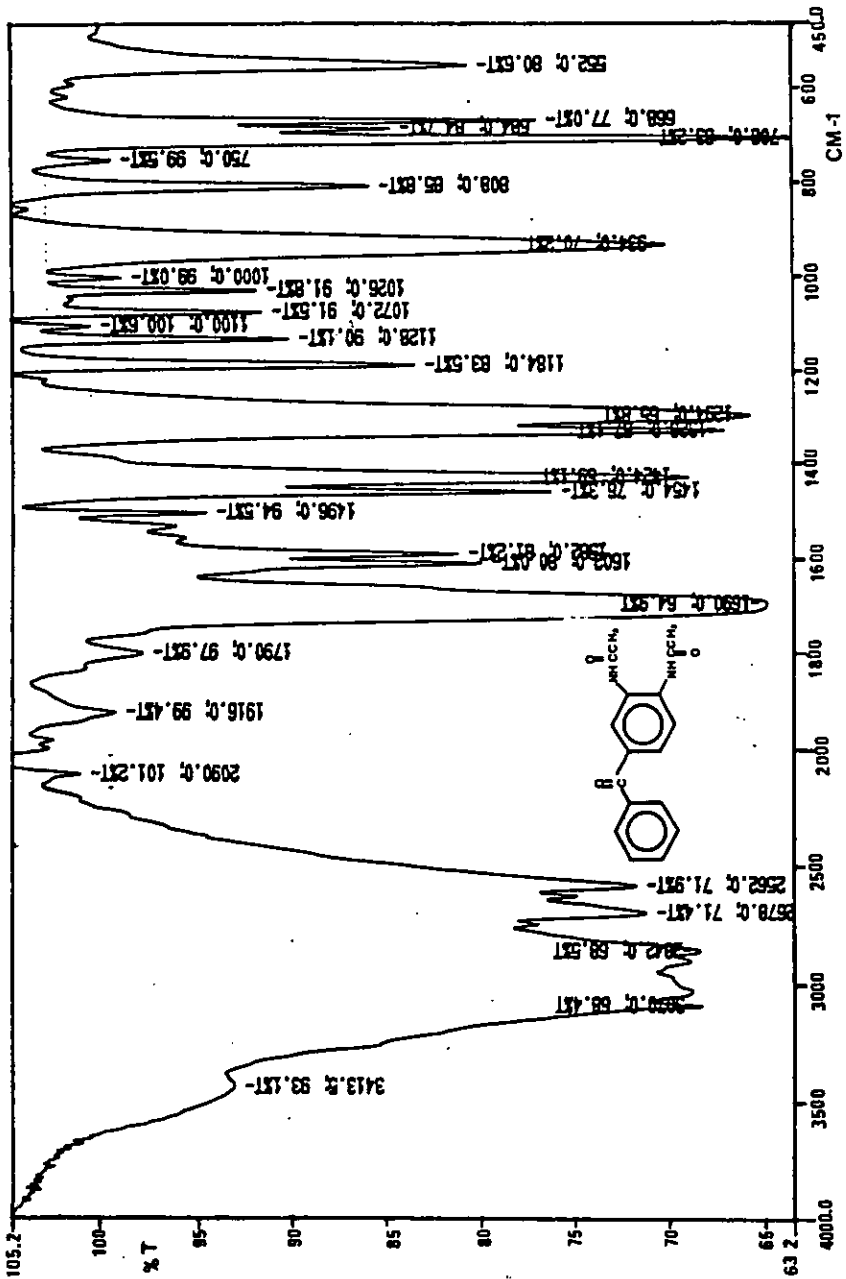
ESPECTROS



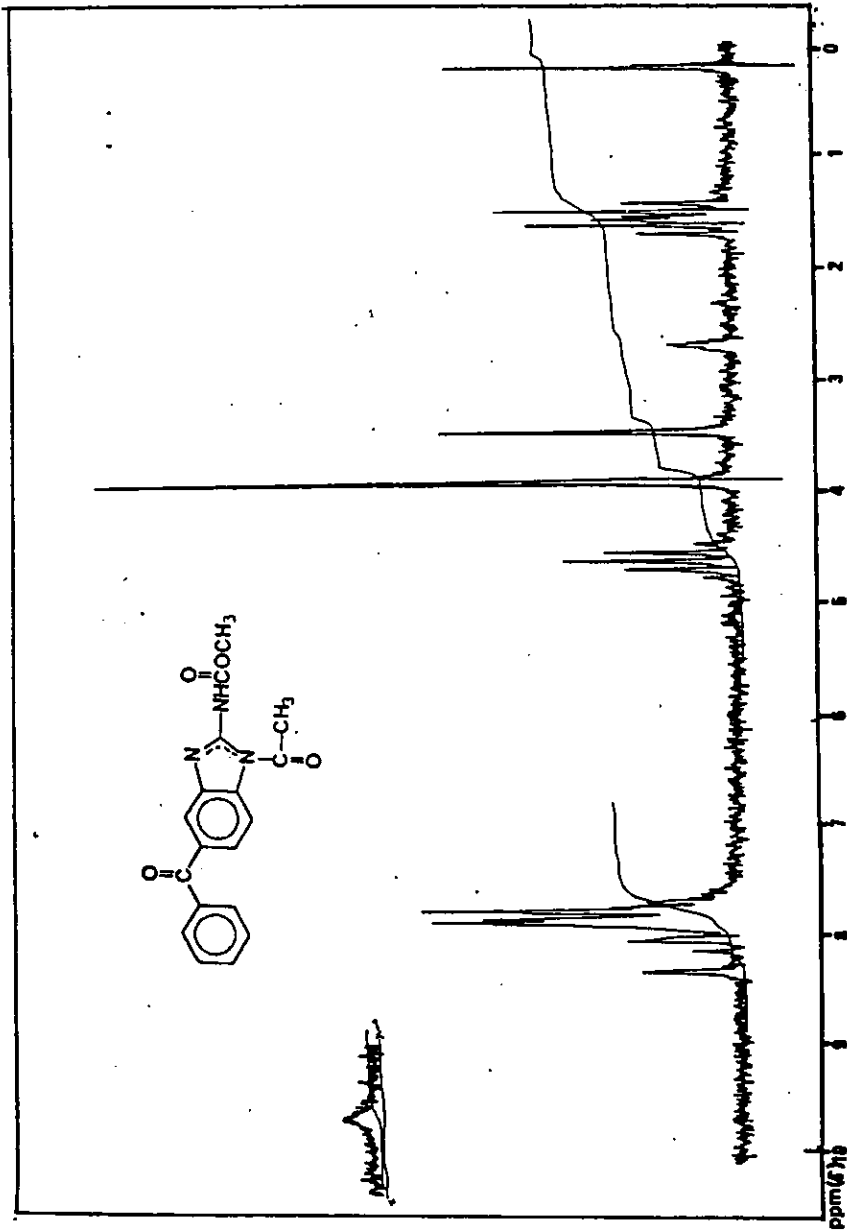
Espectro No.10. IR: o-nitroanilina



Espectro No.9 RMN: 3,4-diaminobenzofenona

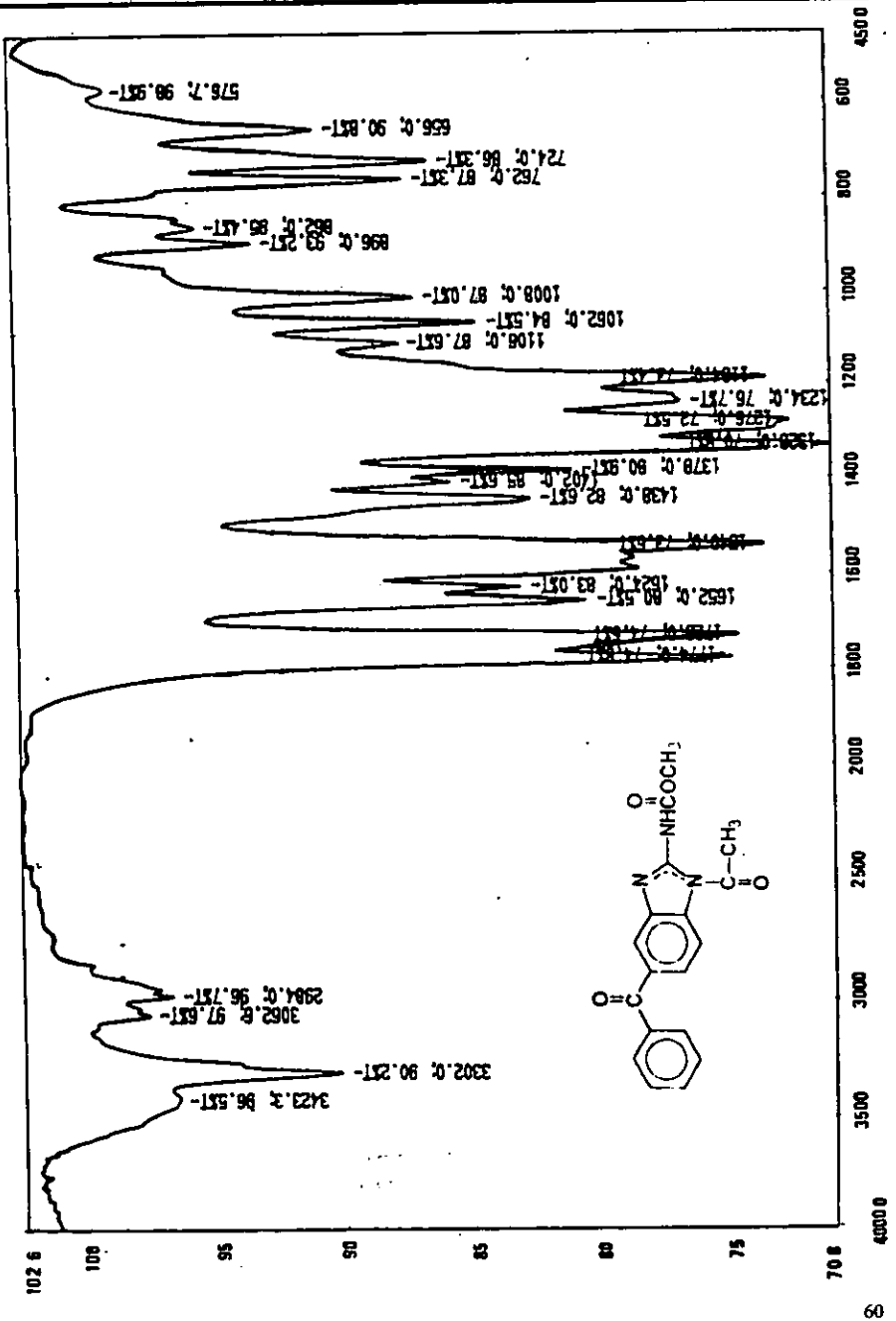


Espectro No.8 IR: 3,4-diaminobenzofenona

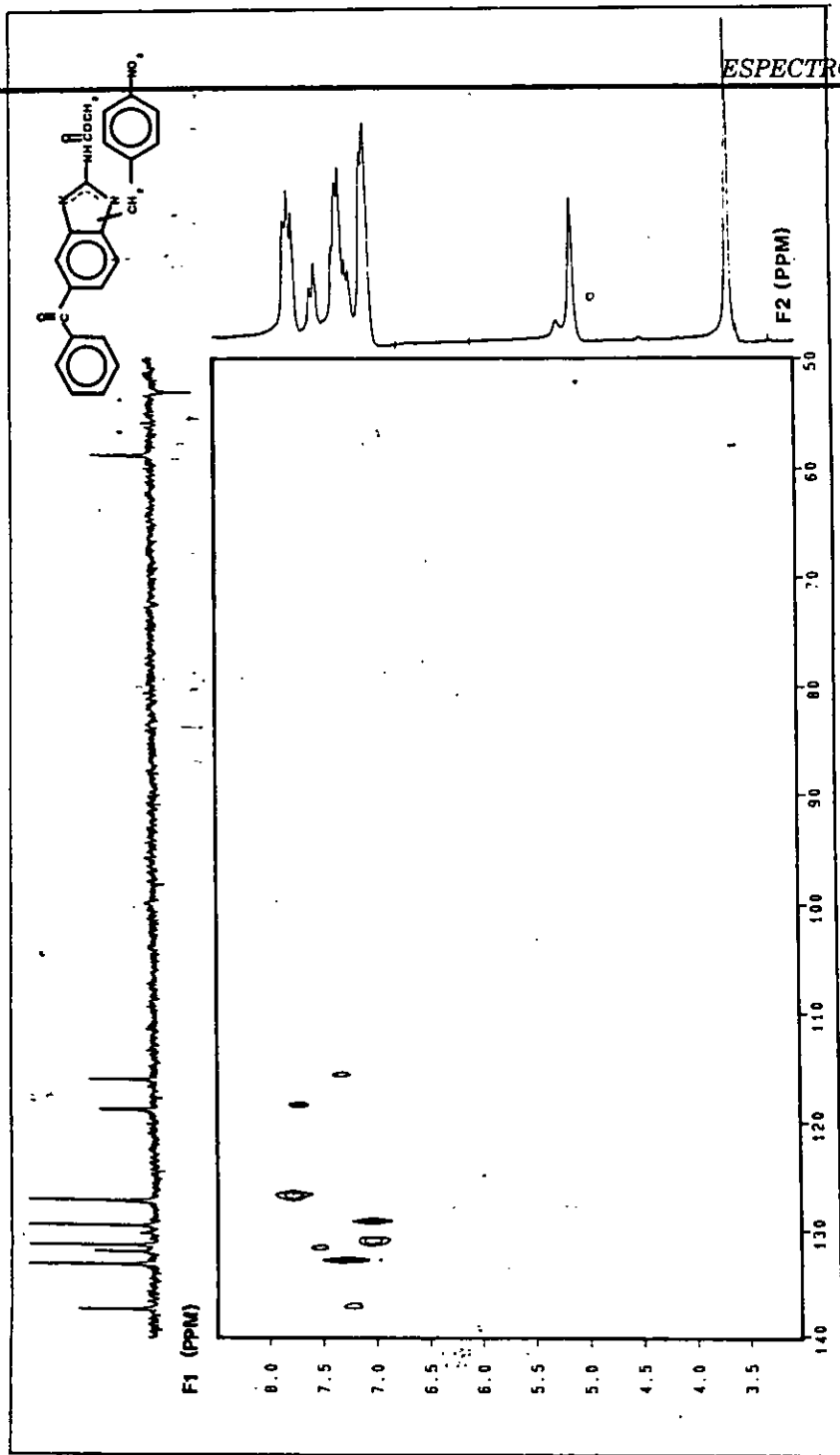


Espectro No. 7. RMN: 5-benzol-1(3)-(etoxycarbonil)-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo

ESPECTROS

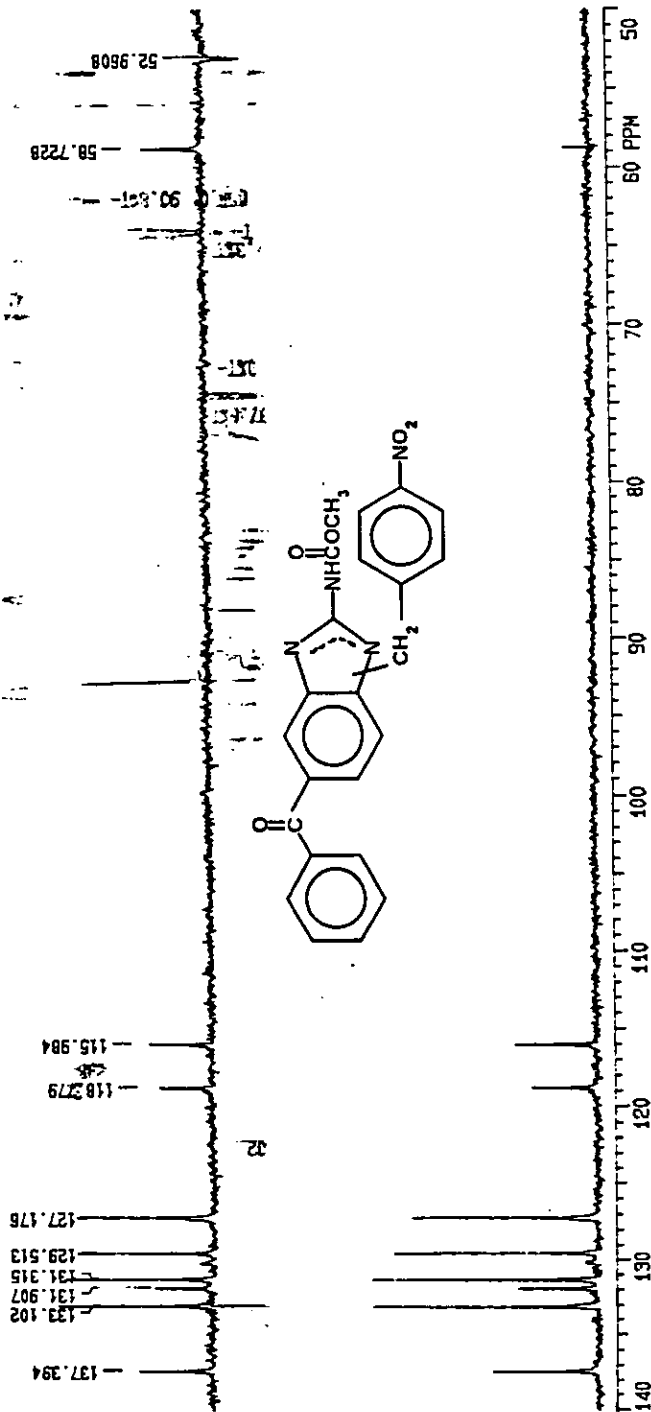


Espectro No. 6. IR.: 5-benzoil-1(3)-(etoxicarbonil)-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo



Espectro No. 5. HETCOR del 5-benzol-1[3]-(4-nitobencil)-1H-benzimidazol-2-il-carbamato de metilo

MS-1 DR. R. CASTILLO RG



Espectro No. 4. RMN: 5-benzoil-1(3)-(4-nitobencil)-1H-benzimidazol-2-yl-carbamato de metilo