

00570



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE
2-(TRIFLUOROMETIL) BENCIMIDAZOLES

T E S I S

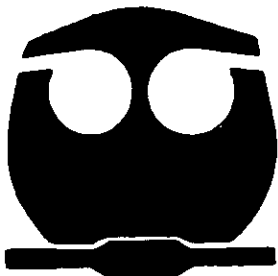
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS

(QUIMICA FARMACEUTICA)

P R E S E N T A :

Q.F.B. JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ



MEXICO, D. F.

282725

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE : Dr. Raymundo Cruz Almanza

VOCAL : Dra. Lilián Yépez Mulia

SECRETARIO : Dr. Rogelio Pereda Miranda

1er. SUPLENTE : M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

2do. SUPLENTE : Dr. Francisco Hernández Luis

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

LAB. 122 DEPARTAMENTO DE FARMACIA, DIVISION DE BIOQUIMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.

ASESOR DE TESIS

Dr. Rafael Castillo Bocanegra _____

SUPERVISOR TECNICO :

M. en C. María Alicia Hernández Campos _____

SUSTENTANTE.

Q.F.B. Juan Gabriel Navarrete Vázquez _____

AGRADECIMIENTOS

Con admiración y respeto al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, agradezco sus consejos, enseñanzas, comentarios y sobretodo su gran amistad.

A la Dra. Alicia Hernández Campos, por la asesoría y sugerencias en la realización de este trabajo de investigación.

Al Dr. Francisco Hernández Luis, por transmitir su experiencia al dar cada uno de sus consejos.

A los Profesores del Departamento de Farmacia y del Posgrado, por la ayuda brindada.

A mis compañeros del Laboratorio 122, por sus consejos.

Al personal de la USAI, en especial a Rosa Isela del Villar, Margarita Guzmán, Georgina Duarte y Marisela Gutiérrez por su apoyo en el registro de espectros.

Al Dr. Roberto Cedillo, Dra. Lilián Yopez, Amparo Tapia y Raúl Morales por su ayuda en la realización de pruebas biológicas.

Al CONACyT, por la beca otorgada para la realización de los estudios de posgrado.

A DGAPA y CONACyT por financiar los proyectos IN204998 y 25920-M.

A la UNAM por todo lo que me ha dado.

RESUMEN

En esta tesis se describe la síntesis de los siguientes derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol (**1**): 5,6-dicloro (**2**); 5(6)-cloro (**3**); 1-metil (**4**); 5,6-dicloro-1-metil (**5**); 5-cloro-1-metil (**6**); 6-cloro-1-metil (**7**).

La elucidación estructural de estos compuestos, se determinó por métodos espectroscópicos y espectrométricos.

Los compuestos preparados en este estudio se sometieron a pruebas de susceptibilidad *in vitro* contra los protozoarios intestinales *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y contra el helminto *Trichinella spiralis*.

Los compuestos **4-7**, con grupo metilo en posición 1, fueron más activos que los compuestos **1-3**, con hidrógeno en la misma posición, sugiriendo así que los primeros pueden tener un mecanismo de acción diferente. En relación con el efecto de estos compuestos sobre *Trichinella spiralis*, sólo el compuesto **6** (con sustituyentes metilo en 1 y monoclorado en posición 5), empleado a 1 µg/mL y 0.1 µg/mL redujo la viabilidad de la larva muscular con mejores resultados que el albendazol.

Los resultados obtenidos muestran que los compuestos **6** y **7** son más efectivos *in vitro* contra trofozoitos de *G. lamblia* y *E. histolytica*, que los fármacos de elección: metronidazol y nitazoxanida.

Se concluye que los compuestos sintetizados muestran actividad antiprotozoaria y antihelmíntica, destacando los compuestos **6** y **7** respectivamente.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1. Generalidades sobre Bencimidazoles.....	6
2.2. Relación Estructura-Actividad.....	9
2.3. Actividad Biológica de 2-Alquilbencimidazoles.....	10
2.4. Síntesis de 2-(Trifluorometil)bencimidazoles.....	11
3. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	12
4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA	15
4.1. Parásitos.....	15
4.2. Pruebas de susceptibilidad <i>in vitro</i> para <i>Giardia lamblia</i> y <i>Entamoeba histolytica</i>	15
4.3. Obtención de las larvas musculares de <i>Trichinella spiralis</i>	17
4.4. Ensayo <i>in vitro</i> para evaluar el efecto de los compuestos sobre la larva muscular de <i>Trichinella spiralis</i>	17
5. DISCUSION Y RESULTADOS	18
5.1. Metodología seguida para la síntesis de los compuestos 1-7	18
5.2. Resultados de la Parte Química.....	21
5.4. Resultados de la Parte Biológica.....	26
6. CONCLUSIONES	36
7. PARTE EXPERIMENTAL	38
7.1. Instrumentación.....	38
7.2. Cromatografía.....	39
7.3. Sistemas de elusión.....	39
7.4. Síntesis de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles (1-7).....	40

7.4.1.	2-(Trifluorometil)bencimidazol (1).....	40
7.4.2.	5,6-Dicloro-2-(trifluorometil)bencimidazol (2).....	41
7.4.3.	5(6)-Cloro-2-(trifluorometil)bencimidazol (3).....	42
7.4.4.	1-Metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (4).....	43
7.4.5.	5,6-Dicloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (5).....	44
7.4.6.	5-Cloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (6).....	45
7.4.7.	6-Cloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (7).....	46
7.5.	Síntesis de las 1,2-fenilendiaminas precursoras (9, 10, 11, 12).....	47
7.5.1.	Síntesis de 4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (9).....	47
7.5.1.1.	3,4-Dicloroacetanilida (15).....	47
7.5.1.2.	4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (18).....	48
7.5.1.3.	4,5-Dicloro -2-nitroanilina (21).....	49
7.5.1.4.	4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (9).....	50
7.5.2.	Síntesis de 4-Cloro-1,2-fenilendiamina (10).....	51
7.5.2.1.	4-Cloroacetanilida (16).....	51
7.5.2.2.	4-Cloro-2-nitroacetanilida (19).....	52
7.5.2.3.	4-Cloro-2-nitroanilina (22).....	53
7.5.2.4.	4-Cloro-1,2-fenilendiamina (10).....	54
7.5.3.	Síntesis de N-Metil-4 -Cloro-1,2-fenilendiamina (11).....	55
7.5.3.1.	N-Metil-4-cloro-2-nitroanilina (23).....	55
7.5.3.2.	N-Metil-4-cloro-2-nitroanilina (25).....	56
7.5.3.3.	N-Metil-4-cloro-1,2-fenilendiamina (11).....	57
7.5.4.	Síntesis de N-Metil-5-cloro-1,2-fenilendiamina (12).....	58
7.5.4.1.	5-Cloro-2-nitroacetanilida (20).....	58
7.5.4.2.	N-Metil-5-cloro-2-nitroacetanilida (24).....	59
7.5.4.3.	N-Metil-5-cloro-2-nitroanilina (26).....	60
7.5.4.4.	N-Metil-5-cloro-1,2-fenilendiamina (12).....	61
8.	ESPECTROS	62
9.	BIBLIOGRAFÍA	90

1. INTRODUCCIÓN

Las helmintosis, como las protozoosis, son enfermedades parasitarias que causan serios problemas de salud en México y en países pertenecientes al bloque tercermundista.

Aunque muchas especies importantes de parásitos se encuentren en todo el mundo, la supervivencia, el desarrollo larvario y la transmisión son más comunes en zonas tropicales. En estos lugares, las infecciones por helmintos ocasionan un alto grado de mortalidad; especialmente, en la población infantil. También se encuentran en los primeros lugares como causa de morbilidad (Horton, R. J. 1990).

Las helmintosis en el hombre y animales son causadas por tres grupos de parásitos: nematodos, cestodos y trematodos (Boray, J.C. 1986).

Los helmintos de la clase nematoda, cestoda y trematoda, que son invasores del tejido muscular, la circulación sanguínea, el hígado y otros tejidos, producen problemas más serios que los que habitan en el tracto gastrointestinal.

Infección por nematodos extraintestinales. Los nematodos que infectan al hombre pueden existir en estadios larvales así como adultos, y se alojan, según la especie, en diversos órganos del cuerpo humano. Ejemplos de infecciones causadas por nematodos:

- Filariosis (Kassai *et al* 1988). Es la enfermedad más importante del trópico causada por *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca volvulus*, *Loa loa* y *Mansonella ozzardi*. La enfermedad es transmitida por una gran variedad de mosquitos conocidos como

"chupa sangre"; las larvas viven en la circulación sanguínea y los gusanos adultos viven en los nódulos linfáticos, tejido subcutáneo, cavidad mesentérica y pleural (Sharma S. 1994).

- Trichinellosis. Esta parasitosis es causada por la larva *Trichinella spiralis* que es transmitida principalmente por comer carne de cerdo infectada (Sharma S. 1991). Los organismos adultos de *Trichinella spiralis* se localizan en el intestino del hospedero y a partir del quinto día liberan larvas recién nacidas, las cuales alcanzan la circulación sanguínea penetrando finalmente células musculares, en donde se desarrolla la larva infectiva, que puede permanecer en el hombre por tiempo indefinido.

Infección por cestodos extraintestinales. La forma larvaria de algunos cestodos infectan al humano produciendo serias complicaciones. La quimioterapia para estas infecciones todavía no es del todo satisfactoria.

- La cisticercosis es causada por la larva de *Taenia solium* y *Taenia saginata*. El humano la adquiere por consumir carne de cerdo y res infectada. La larva penetra la mucosa intestinal, entra en la circulación y es transportada a diferentes partes del cuerpo donde se forman quistes (Horton, R.J. 1990).
- La hidatiosis es una enfermedad causada por la ingestión de huevos de *Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis*. El huevo libera la larva en el intestino, y luego penetra la pared intestinal hasta alcanzar la circulación sanguínea. Las larvas son transportadas a diferentes partes del cuerpo y finalmente se enquistan.

Infección por trematodos extraintestinales. Muchas especies de trematodos son parásitos el 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 caracoles, camarones y cangrejos de agua dulce (Boray, J. C. 1986).

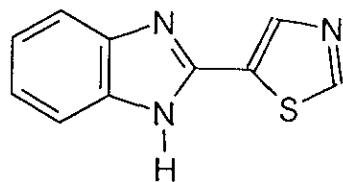
- Esquistosomiosis. Es clínicamente la infección más importante en humanos y es causada por *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. intercalatum* y *S. japonicum*. La infección ocurre en la piel del humano cuando está en contacto con la cercanía del parásito.
- Fasciolosis. Causada por *Fasciola hepatica*, infecta el parénquima hepático, conductos biliares y vesícula biliar; en ganado vacuno, conejos, ratas, y el hombre (Sharma S. 1994).

Las infecciones causadas por protozoarios representan asimismo un problema de salud. Entre las más estudiadas se encuentran aquellas originadas por protozoarios extraintestinales como *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*, además de protozoarios intestinales como *Giardia lamblia*.

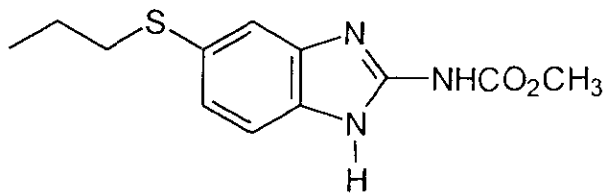
Después de muchos años de investigación Químico-Farmacéutica, en la actualidad se puede disponer de fármacos que eliminan a estos protozoarios que parasitan el tracto gastrointestinal con buena respuesta terapéutica. Sin embargo, no se puede decir lo mismo para el caso de los protozoarios que tienen diseminación sistémica y se alojan en diversos tejidos del cuerpo humano o de animales domésticos. Para el tratamiento

de estas parasitosis extraintestinales, se requiere de fármacos que alcancen concentraciones plasmáticas adecuadas para erradicar la infección; esto es, grandes dosis y tratamientos prolongados. Algunos medicamentos tienen actividad biológica o farmacológica adecuada, pero por lo general, tienen otras características no deseables, por ejemplo: alta toxicidad, insolubilidad, problemas por su metabolismo, y pueden causar resistencia.

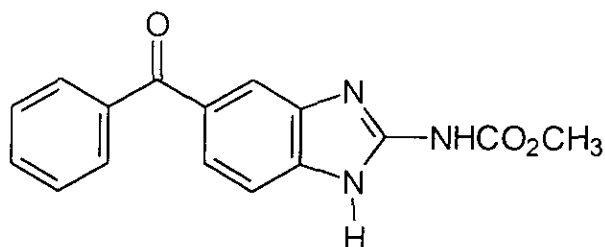
Dentro de los fármacos que actualmente son utilizados para combatir parasitosis intestinales se encuentran los bencimidazoles, representativos de una gran familia de agentes terapéuticos mostrados en la **Figura 1**. Los bencimidazoles que tienen actividad contra trematodos son: tiabendazol, flubendazol, albendazol y mebendazol (Vanden Bossche, H. 1985). El uso de este último ha sido sustituido por el albendazol, puesto que su espectro de acción incluye tanto infecciones intestinales como sistémicas (trichinellosis, uncinariosis, hidatiosis, trichuriasis y cisticercosis); además, sólo se requiere una dosis en un día, comparada con tres días de tratamiento con el mebendazol (PLM, 1998). Por otro lado, se ha encontrado que algunos bencimidazoles como el albendazol, tienen actividad contra protozoarios como *Giardia lamblia*, siendo más efectivo que el metronidazol, pero escasa actividad contra *Entamoeba histolytica* (Morgan, U.M. et al 1993, Rodríguez García, R. et al 1996). El metronidazol es efectivo tanto para las formas intestinales como extraintestinales de parásitos protozoarios, pero el inconveniente de utilizar este compuesto se asocia con la alta toxicidad que presenta (Romero-Cabello, et al 1996). Por consiguiente, es importante continuar con el estudio de los bencimidazoles como agentes antihelmínticos y antiprotozoarios.



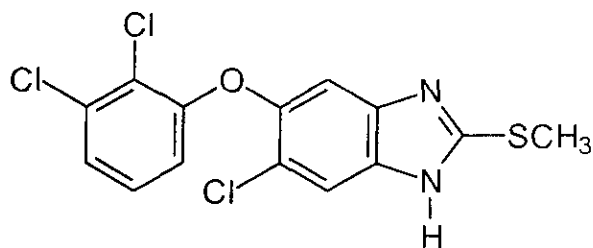
Tiabendazol



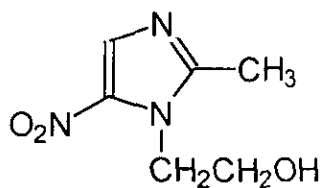
Albendazol



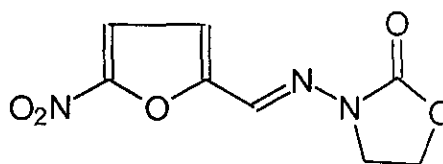
Mebendazol



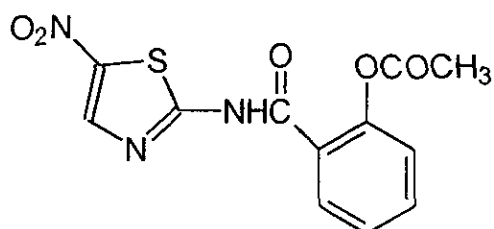
Triclabendazol



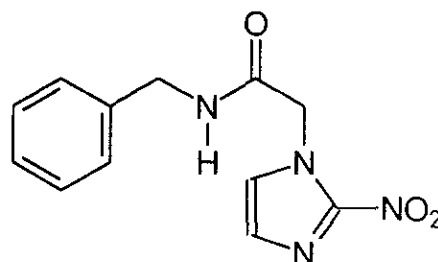
Metronidazol



Furazolidona



Nitazoxanida



Benznidazol

Figura 1. Estructuras de agentes antihelmínticos y antiprotozoarios.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades sobre bencimidazoles

El descubrimiento de los bencimidazoles sustituidos como fármacos de amplio espectro asociados con actividad antihelmíntica es un punto de partida importante en la quimioterapéutica de enfermedades parasitarias. El bencimidazol se reconoce como un heterociclo versátil en la investigación Químico-Farmacéutica y está sujeto a una gran variedad de modificaciones estructurales que generen nuevos fármacos para el tratamiento de helmintosis intestinales y extraintestinales (Sharma S. 1994).

Mecanismo de acción de los bencimidazoles. El modo de acción antihelmíntico de los bencimidazoles ha sido revisado recientemente y se ilustra en la **Figura 2** (Sharma S. 1994). Aunque no se conoce con precisión el mecanismo exacto de todos los bencimidazoles, el extenso trabajo realizado, indica que los bencimidazoles pueden ejercer su acción antihelmíntica al inhibir la enzima fumarato reductasa, la incorporación de glucosa en los parásitos, o inhibiendo la polimerización de la tubulina, (Sharma y Abuzar,1983 ; Vanden Bosche,1985 ; Rew y Fetter, 1986 ; Lacey 1990).

- **Inhibición del metabolismo de glucosa.** La fumarato reductasa, enzima unida a la membrana mitocondrial y responsable de convertir el fumarato a succinato, juega un papel importante en el metabolismo anaerobio de la glucosa de varios helmintos. La inhibición de esta enzima ha sido considerada un obstáculo en el suministro de energía del helminto, lo que desencadena la parálisis del mismo. Además, esta enzima es única en el parásito, y por lo tanto, proporciona un excelente blanco de ataque en quimioterapia (Sharma S. 1994).

- **Inhibición de la incorporación de glucosa.** El mebendazol bloquea directa e irreversiblemente la captura de glucosa por helmintos. Se ha observado *in vitro* e *in vivo* una disminución del contenido de glucógeno en el parásito; al no poder utilizar la glucosa exógena, disminuye la formación de ATP indispensable para la actividad y reproducción del parásito, produciéndole inmovilización y muerte. Sin embargo, el mebendazol a dosis elevadas, no se afecta el metabolismo de la glucosa de los mamíferos (PLM, 1998).
- **Inhibición de la polimerización de tubulina.** El albendazol y otros bencimidazoles actúan produciendo la desaparición selectiva de microtubulos citoplasmáticos de células tegumentarias e intestinales de los helmintos, y altera las sustancias secretoras del aparato de Golgi, la secreción de acetilcolinesterasa, el consumo de glucosa y el agotamiento de glucagón, produciendo primero inmovilización del parásito, y luego la muerte (Lacey *et al* 1990). Se ha sugerido que para que la molécula del bencimidazolcarbamato ejerza su efecto sobre la tubulina, éste debe tener un hidrógeno en la posición 1.

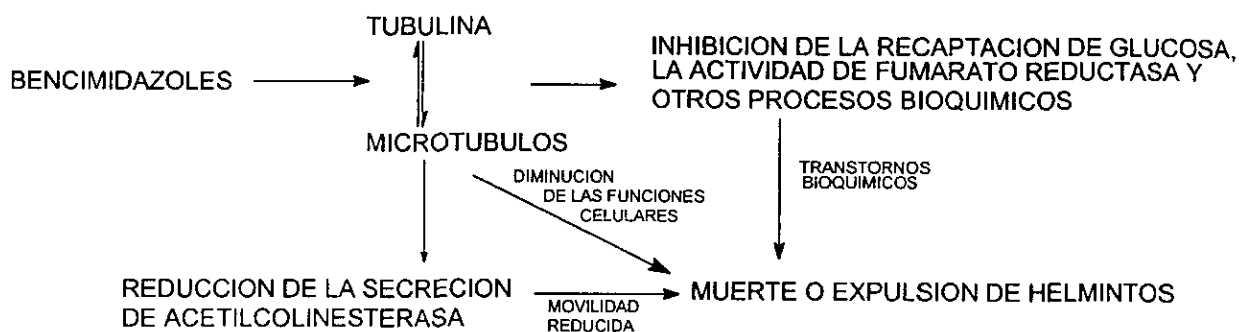


Figura 2. Mecanismo de acción de bencimidazoles.

En cuanto a propiedades fisicoquímicas, los bencimidazolcarbamatos (albendazol, mebendazol, flubendazol, etc.) presentan en común escasa solubilidad acuosa debido a los puentes de hidrógeno intermoleculares que se forman entre moléculas del bencimidazol como lo muestra la **Figura 3**; a la sustitución en posición 5, y al grupo carbamato de metilo en posición 2, lo que confiere a estas moléculas alta polaridad y por lo tanto, mayor vida media. Lo anterior lleva a una biodisponibilidad baja y en consecuencia una respuesta terapéutica poco favorable, por lo que su uso se limita al tratamiento de helmintosis intraintestinales.

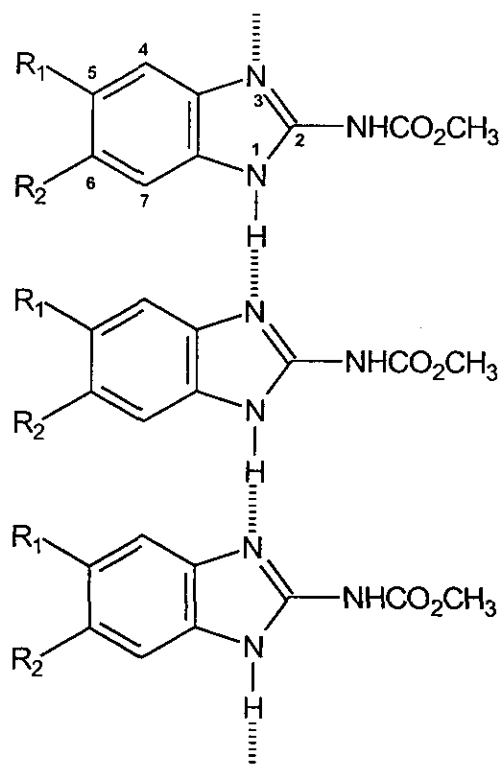
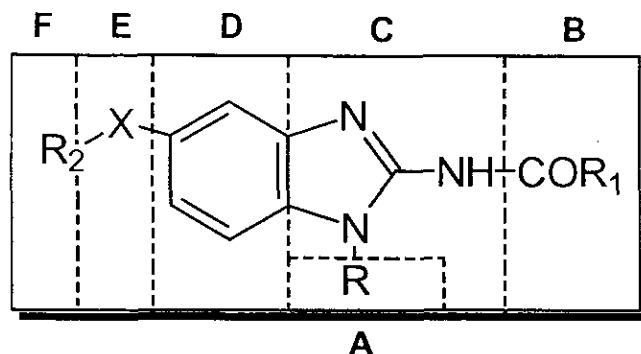


Figura 3. Puentes de hidrógeno intermoleculares.

Aunque existen en la molécula varios sitios factibles de formar puentes de hidrógeno, se considera que al sustituir el hidrógeno de la posición 1 del imidazol, se podrá cambiar el arreglo molecular del bencimidazol, y por lo tanto la solubilidad se incrementará.

2.2 Relación Estructura-Actividad.

Para los bencimidazoles, existen 6 sitios susceptibles de modificación molecular (Sharma, 1994):



SITIO DE CAMBIO	MODIFICACIONES ESTRUCTURALES	COMENTARIOS
A	R=H, Me, COR, Ar, CH ₂ OAr, (CH ₂) _n R, etc.	Usualmente la presencia de H es requerida, pero no esencial.
B	R ₁ = OMe, OEt, OPr, Me, Et, NRR'	La actividad obtenida puede ser de moderada a buena, con los derivados acíclicos (R ₁ =Me, Et) y ureas (R ₁ =NRR'). La actividad mostrada por el triclabendazol, requiere un S-R en la posición 2 del bencimidazol.
C	Reemplazo de un átomo de nitrógeno por O, S, o CH _n	La presencia del grupo guanidino es necesaria para la actividad antihelmíntica. El reemplazo de los nitrógenos endo y exo por átomos de oxígeno, azufre o carbono, disminuye la actividad (?)
D	Inserción de un átomo de nitrógeno en el anillo	Pobre actividad antihelmíntica
E	X=O, S, SO, SO ₂ , OSO, CO, CONH, NHCO, CH ₂	Papel importante en la selectividad contra helmintos intestinales y sistémicos.
F	R ₂ = alquilos, cicloalquilos, alquenos, arilos y heteroarilos.	Como el sitio E, éste es crucial para determinar el perfil antihelmíntico de los bencimidazoles.

2.3 Actividad biológica de 2-Alquilbencimidazoles.

En general los 2-alkilbencimidazoles muestran una actividad antihelmíntica pobre. No obstante el compuesto 4,5,6,7-Tetracloro-2-(trifluorometil)bencimidazol **(a)** ha mostrado gran actividad contra los nematodos *Ancylostoma caninum*, *Haemonchus contortus*, y *Ascaris suum*, así como el trematodo *Fasciola hepatica*, en borregos, perros y ratas en dosis orales de 0.1-5 mg/ Kg (Buhechel, *et al*, 1972; Brooker, *et al*, 1977; Corbett, J. R. and Percival, A. 1974). De manera similar, una solución al 5% de 4,5,6-tricloro-7-(diethylsulfamoyl)-2-(trifluorometil)bencimidazol **(b)** y 1-ciano-4,5,7-tricloro-2-(trifluorometil)bencimidazol **(c)**, en dimetilsulfóxido-alcohol amílico (1:4), causa el 99-100% de reducción de *Fasciola hepatica* en hígado de borrego, cuando se administra en dosis de 100-200 mg /Kg. Las estructuras químicas de estos compuestos se muestran en la **Figura 4**.

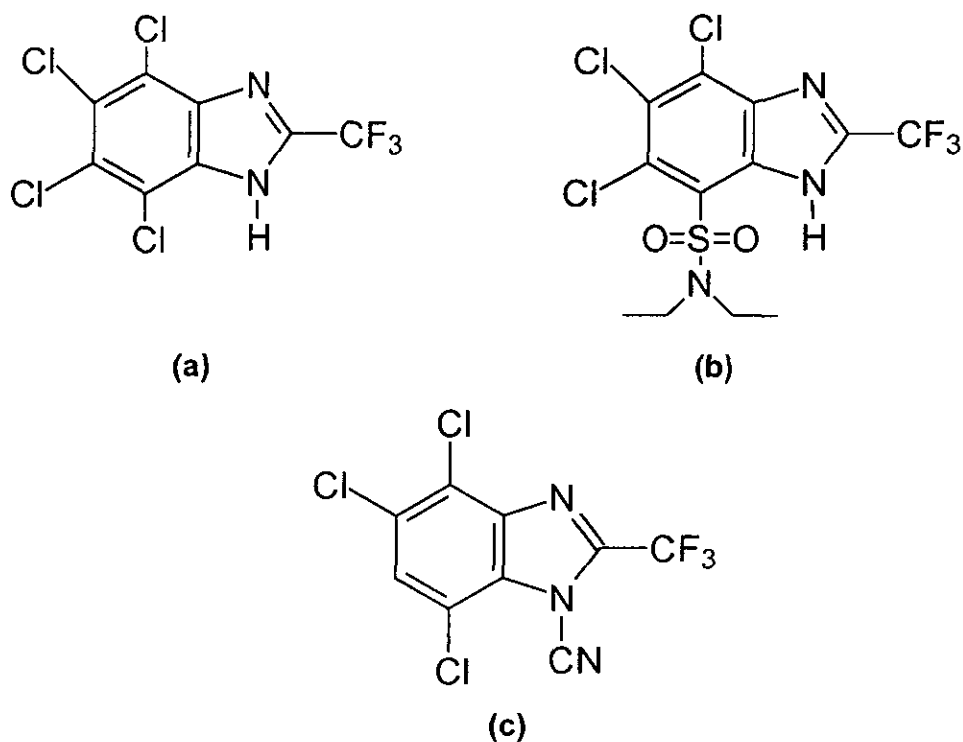


Figura 4. 2-(Trifluorometil)bencimidazoles con actividad antihelmíntica.

2.4 Síntesis reportada de 2-(Trifluorometil)bencimidazoles.

La síntesis de 2-(Trifluorometil)bencimidazoles (Figura 5), se basa en la reacción de condensación de las *o*-fenilendiaminas sustituidas, con ácido trifluoroacético y catálisis ácida. Alternativamente, la *o*-nitroanilina sustituida, puede ser tratada con anhídrido trifluoroacético para dar la correspondiente nitrotrifluoroacetanilida, la cual se hidrogena con catálisis de Pd/C, dando el correspondiente 2-(trifluorometil)bencimidazol (Holan, G. y Samuel, E.L. 1967; Sharma 1983).

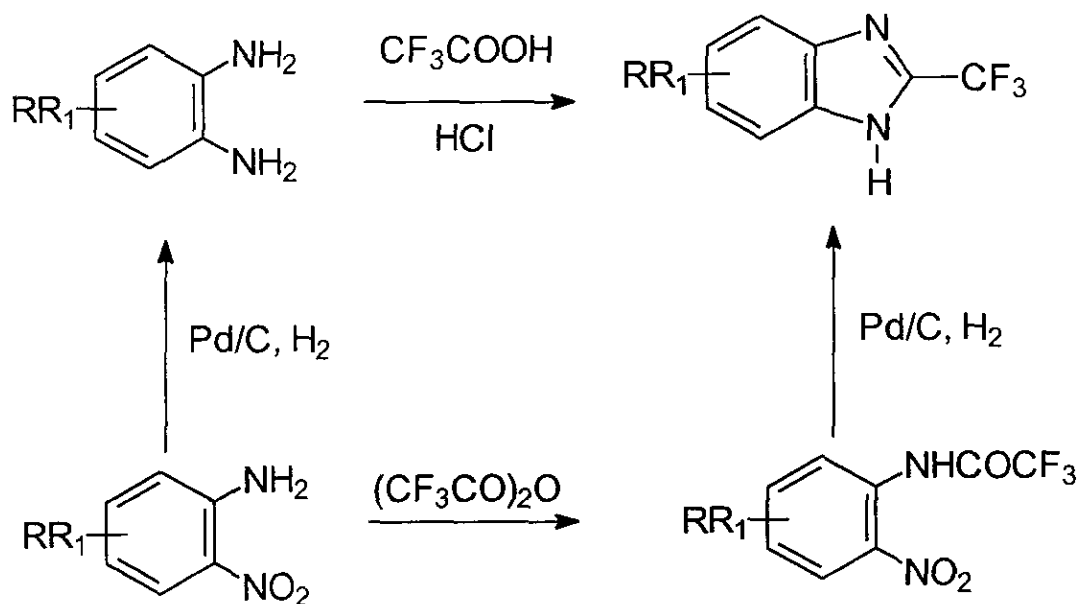


Figura 5. Síntesis reportada de los 2-(trifluorometil)bencimidazoles

3. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION

Los objetivos que se pretenden alcanzar durante el desarrollo de esta tesis son:

1. La síntesis de los derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol (1-7), con potencial actividad antihelmintica y antiprotozoaria.
2. Suministrar los compuestos sintetizados para evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro*, empleando como modelo de helminto a *Trichinella spiralis* y como modelos de protozoarios a *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*.
3. Comparar la actividad mostrada por los compuestos 1-7, con la presentada por los fármacos de elección (metronidazol, albendazol y nitazoxanida).

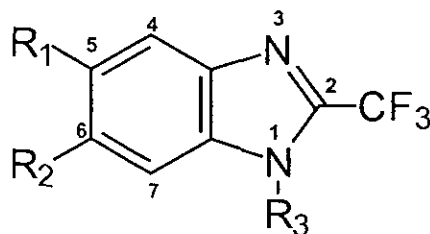
JUSTIFICACIÓN.

Debido a la importancia de las enfermedades parasitarias causadas por helmintos en nuestro país, atacando fundamentalmente a la población infantil, esta tesis puede aportar por sí una serie de compuestos con capacidad antihelmintica y/o antiprotozoaria ; o bien apoyar proyectos futuros que permitan establecer una relación cuantitativa de estructura-actividad. Sobre la base de los antecedentes presentados resulta evidente que mediante el diseño y síntesis de nuevas moléculas, así como su evaluación biológica, será posible conocer más sobre el efecto antiparasitario y el mecanismo por el cual ejercen su acción biológica. Con esta información, posteriormente diseñar nuevas moléculas más efectivas y menos tóxicas a partir de reactivos sencillos, económicos y con tecnología propia de nuestro país.

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

Por los antecedentes anteriormente expuestos y para tener una mayor información sobre los requerimientos estructurales para la actividad biológica, en esta tesis se realizó la síntesis y evaluación biológica de derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol, los cuales se incluyen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Estructura de los compuestos diseñados y sintetizados.



COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
1	H	H	H
2	Cl	Cl	H
3	Cl	H	H
4	H	H	CH ₃
5	Cl	Cl	CH ₃
6	Cl	H	CH ₃
7	H	Cl	CH ₃

Como se ilustra, estos compuestos además de conservar el núcleo de bencimidazol, están sustituidos en la posición 2 por un grupo trifluorometilo. Las posiciones 5 y 6 pueden estar no sustituidas, monocloradas en 5, monocloradas en 6 o dicloradas en 5 y 6.

La introducción del grupo metilo en 1 fue considerada por los siguientes aspectos:

- Disminuir la polaridad e incrementar la solubilidad y, por lo tanto, la biodisponibilidad de estos compuestos.
- Al evitar el efecto tautomérico que sufre la molécula del bencimidazol por migración del hidrógeno de la posición 1 a la posición 3 (**Figura 6**), ya no se tendrían dos

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

tautómeros, sino compuestos isoméricos 1-metilados que podrían brindar una mayor información sobre los requerimientos estructurales para la acción biológica.

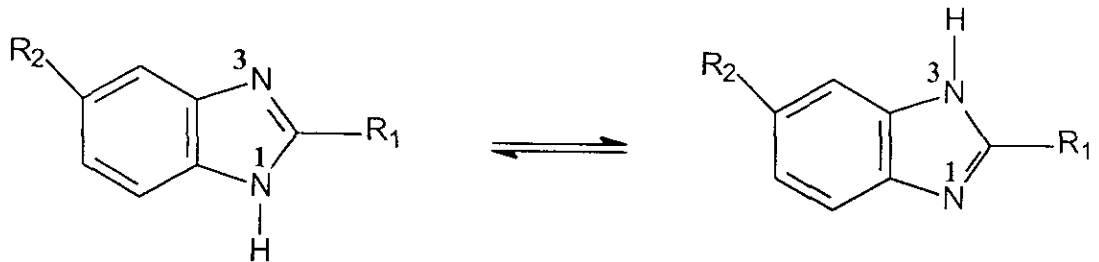


Figura 6. Tautómeros del bencimidazol.

La sustitución en posiciones 5 y 6 definirá los requerimientos electrónicos y estéricos para tener una mejor actividad biológica (Korolkovas, 1970).

4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

4.1. Parásitos. Se empleó la cepa de *Giardia lamblia* IMSS:0989:1, la que se mantuvo en condiciones axénicas en medio TYI-S-33 modificado, suplementado con suero de ternera descomplementado al 10%. Los parásitos se subcultivaron 2 veces por semana. Por otro lado, se empleó una cepa de *Trichinella spiralis* que fue aislada de cerdo por el Dr. Martínez-Marañón del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas (INDRE). Con el objeto de mantener el ciclo de vida de este parásito, ratas de la cepa Sprague-Dawley de 2 a 3 meses de edad fueron infectadas con 3000 larvas musculares resuspendidas en Bacto agar al 0.02%. La infección se realizó por vía intragástrica con cánula y jeringa.

4.2. Pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* : Se empleó el método de subcultivos previamente estandarizado (Cedillo-Rivera R. *et al*, 1992): 1.6×10^6 trofozoítos/mL de *G. lamblia* y 1×10^5 trofozoítos/mL de *E. histolytica* se incubaron por 48 h a 37°C, en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes 2-(trifluorometil)bencimidazoles (0.05, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 µg/mL), además del albendazol y del metronidazol que sirvieron como compuestos de referencia. Como control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de fármacos. Después de la incubación se inocularon 50 µL de los trofozoítos tratados, en medio fresco, ya sin la adición de los compuestos y se incubaron por otras 48 h. El número final de trofozoítos se determinó en una cámara cuentaglóbulos. Se calculó el

PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control y posteriormente mediante análisis Probit se calculó la CI_{50} que correspondió a la concentración que inhibió al 50% el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.

4.3. Obtención de las larvas musculares de *Trichinella spiralis*. Las larvas musculares se obtuvieron de acuerdo a lo descrito por Dennis, *et al* (1970). Ratas de la cepa Sprague-Dawley se infectaron con 3000 larvas musculares de *T. spiralis*, a los 28 días post-infección, los animales fueron sacrificados y el músculo esquelético fue macerado y digerido artificialmente con una solución de pepsina-HCl al 1% durante 3 h a 37°C con agitación constante. Posteriormente, la solución se pasó por un tamiz, dejando que las larvas se sedimentaran por 15 min. Las larvas así obtenidas se lavaron con PBS hasta que no quedaran restos de carne y se incubaron por 12 h a 37 °C con medio RPMI 1640 al cual se le adicionaron 500 U/mL de penicilina, 500 µg/mL de estreptomycin y 1.25 µg/mL de amfotericina B. Una vez realizado lo anterior, las larvas se lavaron con amortiguador de fosfatos y se resuspendieron en Bacto agar al 0.02% para contar el número de larvas.

4.4. Ensayo *in vitro* (MTT/PMS) para evaluar el efecto de derivados de 2-trifluorometilbencimidazol sobre la larva muscular de *Trichinella spiralis*. Se colocaron 1000 larvas musculares por pozo en cajas de cultivo de 24 pozos (Nunclon) en medio RPMI 1640 conteniendo el fármaco a evaluar a 5 concentraciones crecientes de 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 y 1 µg/mL. Los parásitos se incubaron por 3

PRUEBAS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

días a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%, con cambio diario del medio de cultivo suplementado con el compuesto de prueba. Como control positivo se incluyeron parásitos en presencia de albendazol a las mismas concentraciones y como control negativo, larvas musculares incubadas sólo con los disolventes utilizados.

Después de la incubación se determinó la viabilidad de los parásitos mediante un método colorimétrico basado en la reducción de la sal de tetrazolio (MTT, Sigma) a formazán de acuerdo a lo descrito por Townson y cols. (1989), con algunas modificaciones. Los parásitos cultivados con los diferentes compuestos se transfirieron a tubos de microcentrífuga de 2 mL y se centrifugaron a 2,500 rpm por 2 min. Posteriormente, se realizó un lavado con PBS y se añadió 1 mL de una solución de MTT al 0.75% (Sigma), 50 µL de una solución de metosulfato de fenazina al 5% (PMS, Sigma) como catalizador y 100 µL de dimeltisulfóxido (DMSO, Sigma). Los tubos se incubaron a 37°C durante 50 min, con agitación constante. Después de la incubación se realizó otro lavado con PBS y se agregaron 500 µL de DMSO, los parásitos se resuspendieron y se dejaron a temperatura ambiente por 1 h. Al finalizar este tiempo, los tubos se centrifugaron y el sobrenadante se transfirió a placas de ELISA, las cuales se leyeron a 492 nm. Se calculó el porcentaje de reducción de la densidad óptica en comparación con el control negativo y de acuerdo a esto se calculó el porcentaje de reducción de la viabilidad. Se realizaron 3 experimentos por duplicado cada uno de ellos.

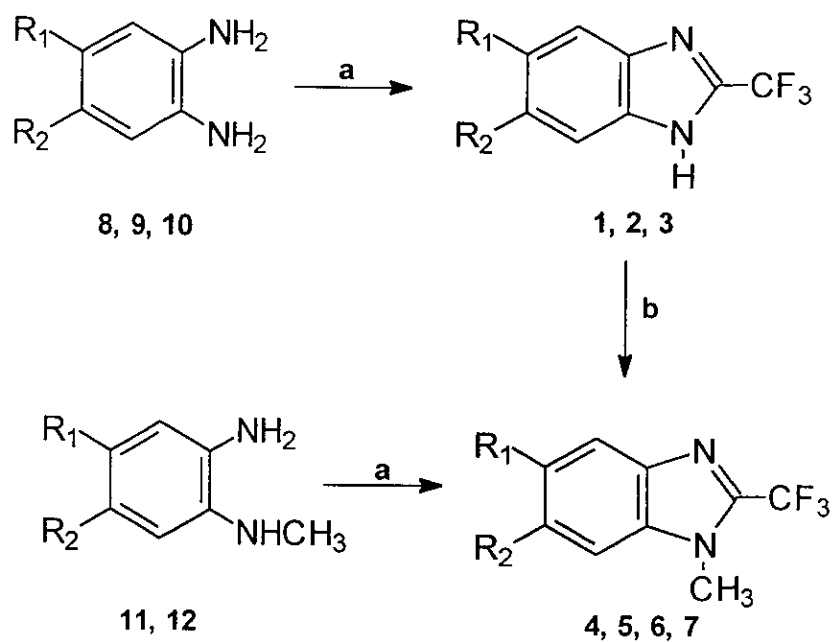
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Metodología seguida para la síntesis de los compuestos 1 al 7:

El método de preparación de los compuestos fue realizado mediante modificaciones de las técnicas reportadas (Holan y Samuel, 1967; Sharma, 1983).

Se partió de la anilina adecuadamente sustituida (**13**) comercial, la cual se acetiló con anhídrido acético en ácido acético, formándose la acetanilida correspondiente (**15, 16**). Esta se trató con mezcla sulfonítrica en frío, obteniéndose la 2-nitroacetanilida sustituida (**18, 19, 20**). Para obtener las nitroanilinas **21** y **22**, se hidrolizaron **18** y **19** en ácido sulfúrico concentrado en caliente. El siguiente paso fue la reducción del grupo nitro para obtener las 1,2-fenilendiaminas sustituidas adecuadamente (**8, 9, 10**), empleando H_2 con Pd /C al 5%. Una vez obtenidas la fenilendiaminas **8 - 10**, se utilizaron para la ciclocondensación con ácido trifluoroacético y H_2O , formándose los 2-(trifluorometil)bencimidazoles sustituidos **1-3**. Los compuestos **1** y **2** se metilaron posteriormente con yoduro de metilo, originando 1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazoles **4** y **5**.

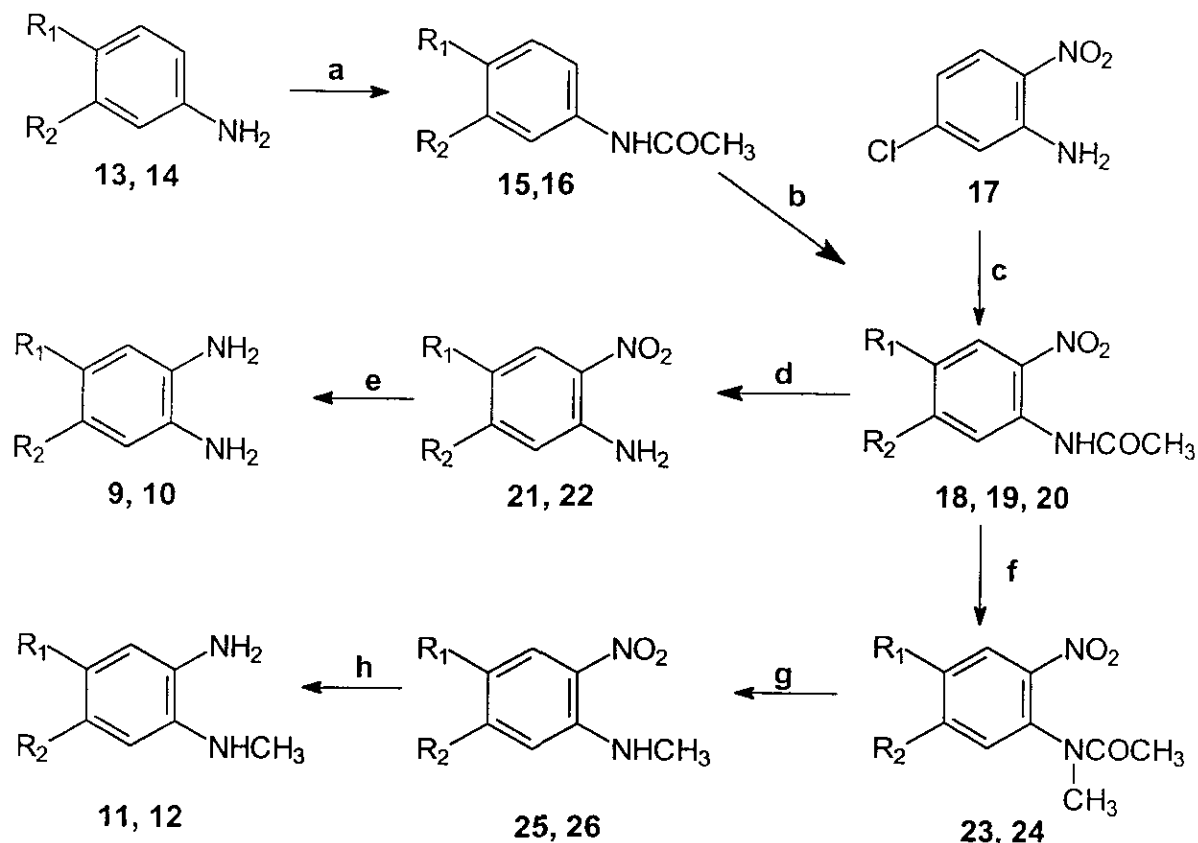
Para la síntesis de los compuestos **6** y **7**, se partió de la nitroacetanilida correspondiente (**19, 20**), las cuales se trataron con KOH / H_2O en glima, para hacer la reacción de N-metilación con sulfato de dimetilo, obteniéndose las N-metilnitroacetanilidas **23** y **24**. La posterior hidrólisis con en ácido sulfúrico y calor, dio las N-metilnitroanilinas **25** y **26**, las cuales se redujeron con H_2 y Ni-Raney en THF (**11, 12**), para condensarse inmediatamente con ácido trifluoroacético, dando así los 2-(trifluorometil)bencimidazoles **6** y **7**.



$\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$ en 1, 4, 8
 $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{Cl}$ en 2, 5, 9
 R_1 o $\text{R}_2 = \text{Cl}$ en 3, 10
 $\text{R}_1 = \text{Cl}$, $\text{R}_2 = \text{H}$ en 6, 11
 $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{Cl}$ en 7, 12

(a) CF_3COOH , H_2O , Calor ; (b) CH_3I , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, KOH , H_2O

Esquema 1. Método general para la síntesis de los compuestos (1-7).



$R_1=R_2= Cl$ en 9, 13, 14, 15, 18, 21
 $R_1= Cl$; $R_2= H$ en 10, 11, 14, 16, 19, 22, 23, 25
 $R_1= H$; $R_2= Cl$ en 12, 17, 20, 24, 26
 $R_1=R_2= H$ en 8

(a) Ac_2O ; **(b)** HNO_3/H_2SO_4 ; **(c)** Ac_2O, H^+ ; **(d)** $H_2SO_4, calor$; **(e)** $H_2, Ni-Raney, Etanol$; **(f)** $(CH_3)_2 SO_4, glima, KOH/H_2O$; **(g)** $H_2SO_4, calor$; **(h)** $H_2, Ni-Raney, THF$.

Esquema 2. Secuencia sintética seguida para preparar las o-fenilendiaminas precursoras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2. Resultados de la Parte Química.

Los resultados de rendimientos y constantes físicas para los compuestos 1-7 se incluyen en la **Tabla 2**.

Los puntos de fusión más altos correspondieron a los bencimidazoles con mayor simetría que tienen hidrógeno en la posición 1, como era de esperarse, debido a la posibilidad de formar puentes de hidrógeno y dada la polaridad de estas moléculas. Los puntos de fusión más bajos corresponden a los que tienen en la misma posición un grupo $-CH_3$ el cual evita la formación de puentes intermoleculares.

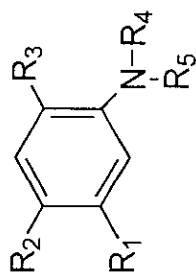
Tabla 2. Datos de rendimiento y constantes físicas de los compuestos 1 - 7.

Compuesto	Rendimiento (%)		pf (°C)		Cristalización	Rf (Sistema I)
	Crudo	Recristalizado	Encontrado	Reportado		
1	82	80.8	209-211	208-211 ^a	Etanol-agua	0.29
2	84.6	83.5	236-238	240 ^b	Tolueno	0.34
3	68.03	68	197-199	-	Columna	0.34
4	89.5	85.2	98-100	-	Etanol-agua	0.45
5	88.9	82.1	164-165	-	Etanol	0.52
6	84.4	80.7	108-109	-	Eter de petroleo	0.47
7	85.7	81.3	158-160	-	Ciclohexano	0.5

^a Catalogo Aldrich, 1996-1997 .

^b Holan *et al*, 1967.

Las constantes físicas y rendimientos de los intermediarios 9 - 26 se muestran en la **Tabla 3**.



No.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	F.M.	P.M.	Rend %	Cristal	Edo. Físico	pF (°C) Encont.	pF (°C) Report.
9	Cl	Cl	NH ₂	H	H	C ₆ H ₆ Cl ₂ N ₂	177.03	98	EtOH-H ₂ O	Liq. osc.	159-162	159-162 ^a
11	H	Cl	NH ₂	H	CH ₃	C ₇ H ₉ ClN ₂	156.63	90	-	Liq. osc.	-	-
12	Cl	H	NH ₂	H	CH ₃	C ₇ H ₉ ClN ₂	156.63	85	-	Liq. osc.	-	-
15	Cl	Cl	H	COCH ₃	H	C ₈ H ₇ Cl ₂ NO	204.05	97	EtOH	-	122-124	120.5 ^b
16	H	Cl	H	COCH ₃	H	C ₈ H ₆ Cl ₂ N ₂ O	169.61	99	AcOH-H ₂ O	Cristales blancos	177-178	178-179 ^b
18	Cl	Cl	NO ₂	COCH ₃	H	C ₈ H ₆ Cl ₂ N ₂ O ₃	249	98	MeOH-H ₂ O	-	121-123	123-124 ^c
19	H	Cl	NO ₂	COCH ₃	H	C ₈ H ₇ ClN ₂ O ₃	214.62	99	EtOH	Crist. amarillo pálido	99-101	10-101 ^d
20	Cl	H	NO ₂	COCH ₃	H	C ₈ H ₇ ClN ₂ O ₃	214.62	77	EtOH	Crist. amarillo pálido	116-118	117-118 ^d
21	Cl	Cl	NO ₂	H	H	C ₆ H ₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	207.05	95.3	AcOH-H ₂ O	Crist. amarillo pálido	174-176	177-179 ^a
23	H	Cl	NO ₂	COCH ₃	CH ₃	C ₉ H ₉ ClN ₂ O ₃	228.65	98	EtOH-H ₂ O	Crist. anaranjados	90.5-91	90.5-91 ^a
24	Cl	H	NO ₂	COCH ₃	CH ₃	C ₉ H ₉ ClN ₂ O ₃	228.65	92	EtOH	Crist. amarillo pálido	86-87	86-87 ^a
25	H	Cl	NO ₂	H	CH ₃	C ₇ H ₇ ClN ₂ O ₂	186.61	78	EtOH-H ₂ O	Crist. Amarillos	107-108	110 ^d
26	Cl	H	NO ₂	H	CH ₃	C ₇ H ₇ ClN ₂ O ₂	186.61	98	EtOH	Agujas Amarillas	104-106	106-107 ^d

^a Sanchez Diaz, 1999; ^b 1) Beil. XII, 626. 2) Roberts *et al.*, 1959; ^c Beil. XII, 733-734; ^d Fitton *et al.*, 1968.

Tabla 3. Constantes físicas y rendimientos de los intermediarios sintetizados

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

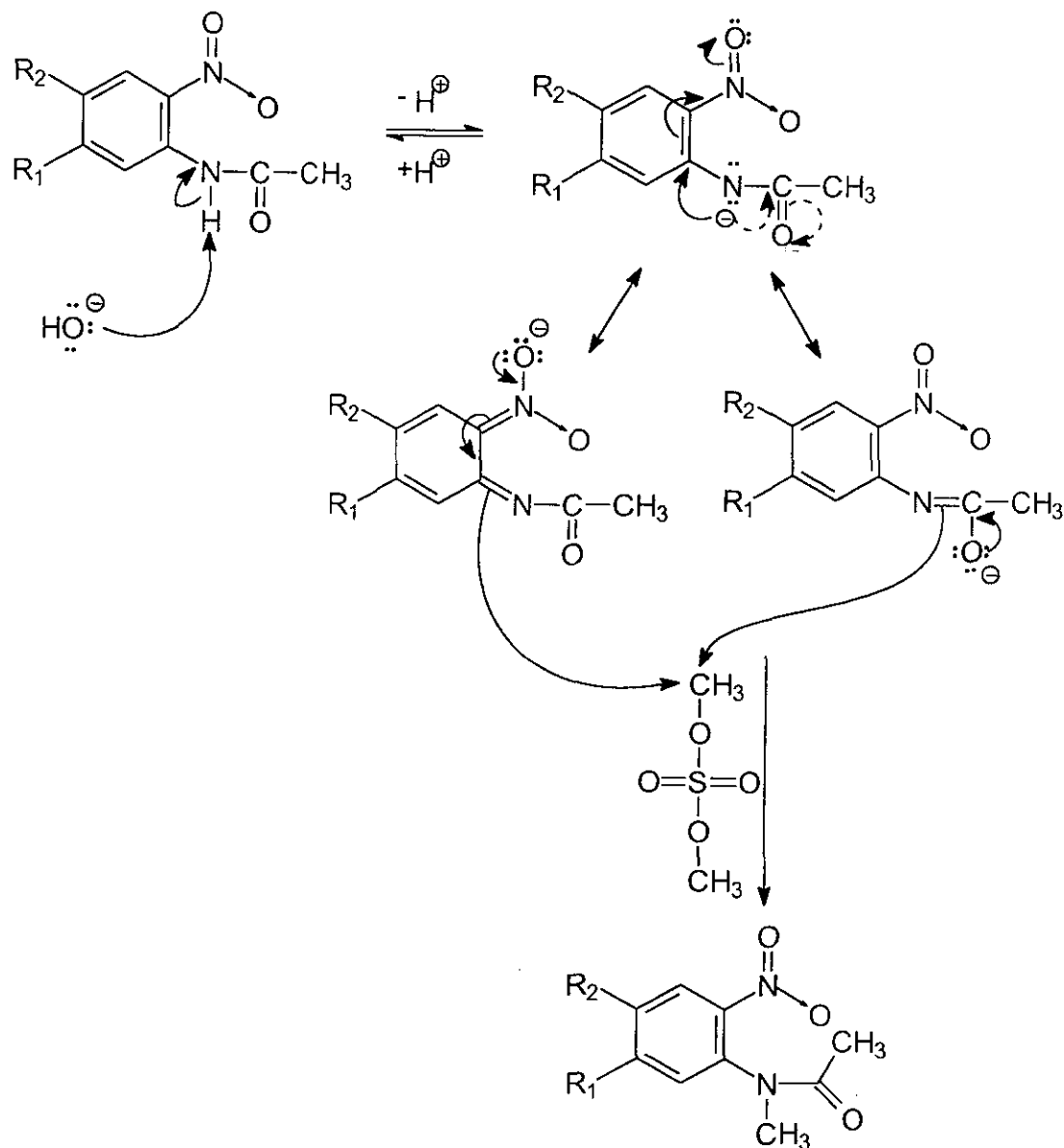
La espectroscopía de IR mostró las bandas características para el núcleo bencimidazol a 1645-1600 y 1480-1450 cm^{-1} , las bandas de CF_3 y C-F en 1500-1400 y 1200-1140 cm^{-1} . La RMN ^1H integró para los hidrógenos de cada molécula resaltando en ellos la señal a 3.9 ppm asignada para el metilo unido al nitrógeno de la posición 1.

En todos los casos que se determinó el espectro de masas, el ión molecular $[\text{M}^+]$ correspondió al peso molecular del compuesto, además de ser el pico base [PB]. El $\text{M}+2$ y $\text{M}+4$ demostraron la presencia de 1 ó 2 átomos de cloro en la molécula (Relación 3 :1 y relación 9 :6 :1, respectivamente). La pérdida de los fragmentos $[\text{HF}]^+$, $[\text{F}]^+$ y $[\text{CF}_2]^+$, corresponden a $[\text{M}-20]$, $[\text{M}-19]$ y $[\text{M}-50]$, respectivamente, siendo estas fragmentaciones típicas indicadoras de la presencia de flúor en la molécula.

Respecto a la síntesis, las N-metil-1,2-fenilendiaminas adecuadamente sustituidas (**11** y **12**) fueron preparadas para tener el sustituyente Cl en la posición 5 o 6, respectivamente; dirigiendo así el proceso sintético y evitar la formación de tautómeros. Esta reacción se realizó mediante la modificación de una técnica reportada que usaba sulfato de dimetilo en exceso (4 eqs.). En este caso se utilizó glima como disolvente, 1.5 eqs de sulfato de dimetilo y las 2-nitroacetanilidas convenientemente sustituidas (**18**, **19**), obteniéndose productos de reacción prácticamente puros y con alto rendimiento. La temperatura se mantuvo entre 27 y 30 °C para evitar la hidrólisis de la acetanilida por la adición de base.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reacción de metilación fue facilitada por la presencia del grupo nitro en posición *orto*, como lo muestra el siguiente esquema:



Esquema 3. Obtención de la N-metilacetanilida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ilustra en el esquema, el grupo nitro incrementa la acidez del protón unido al nitrógeno de la amida, facilitando la formación del N-anión, el cual está estabilizado doblemente por resonancia hacia el grupo nitro y hacia el carbonilo.

Tabla 4. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos 1 - 7.

Comp.	Espectroscopía ^c
1	¹ H RMN (TMS) δ: 8.218 (sa, 1H, H-N), 7.754 (m, 2H, H-C4, H-C7), 7.412 (m, 2H, H-C5, H-C6) ppm IR (KBr) v: 3049, 1624 (w), 1594 (m), 1550, 1461 (m), 1192 (s), 1171 (s), 1143 (s), 741 (s) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 186 M ⁺ (100%)
2	¹ H RMN (TMS) δ: 7.692 (s, 1H, H-C7), 8.004 (s, 1H, H-C4), ppm. IR (KBr) v: 3074, 1702 (w), 1576 (m), 1151, 1476, 1200 (s), 1174 (s), 1129, 851 (s) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 254 M ⁺ (100%), M+2 (66%), M+4 (11%).
3	¹ H RMN (TMS) δ: 13.41 (sa, 1H, H-N), 7.67 (sa, 2H, H-C4, H-C7), 7.292-7.38 (dd, 1H, H-C6), ppm. IR (KBr) v: 3043, 1624 (m), 1587 (m), 1546, 1444 (m), 1190 (s), 1162 (s), 809 (m) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 220 M ⁺ (100%), M+2 (33%)
4	¹ H RMN (TMS) δ: 7.4(s, 1H, H-C4), , 7.2 (s, 1H, H-C7), 6.76(s, 2H, NH ₂), 3.91 (s, 3H, NCH ₃) ppm. IR (KBr) v: 2960, 1779 (w), 1617, 1589 (m), 1521 (m), 1456, 1266 (s), 1181, 1125, 748 (s) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 200 M ⁺ (100%)
5	¹ H RMN (TMS) δ: 7.94 (s, 1H, H-C4), 7.56 (s, 1H, H-C7) 3.94 (s, 3H, NCH ₃) ppm. IR (KBr) v: 3076, 1683, 1575 (m), 15520, 1484 (m), 1264 (s), 1232 (s), 1195, 1126, 842 (s) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 268 M ⁺ (100%), M+2 (66%), M+4 (11%).
6	¹ H RMN (TMS) δ: 7.85 (sd, 1H, H-C4), 7.42 (dd, 1H, H-C6), 7.371 (dd, 1H, H-C7), 3.945 (s, 3H, NCH ₃) ppm. IR (KBr) v: 3056, 1861(m), 1616 (m), 1487 (m), 1266, 1223, 1156 (s), 1136 (s), 1091, 749 cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 234 M ⁺ (100%), M+2 (33%)
7	¹ H RMN (TMS) δ: 7.77 (d, 1H, H-C4), 7.44 (d, 1H, H-C7), 7.33 (dd, 1H, H-C5), 3.915 (s, 3H, NCH ₃) ppm. IR (KBr) v: 3061, 1619, 1580 (m), 1523, 1489 (m), 1267 (s), 1223, 1175 (s), 1129, 1048, 732 (s) cm ⁻¹ . EM (IE) m/z: 234 M ⁺ (100%), M+2 (33%)

5.3. Resultados de la Parte Biológica.**Efecto de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles sobre *Entamoeba histolytica*.**

En la **Tabla 5** y **Figura 7** se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de *E. histolytica* a los 2-(trifluorometil)bencimidazoles, en donde se puede apreciar que son efectivos contra los trofozoítos del parásito. La efectividad de estos compuestos fue superior a la del albendazol, nitazoxanida y a la del metronidazol (**Figura 8**).

Tabla 5. Porcentajes de reducción de la viabilidad de trofozoítos de *E. histolytica* incubados con los compuestos **1-7**, albendazol, mebendazol y metronidazol.

Compuesto	CI ₅₀	Dosis (µg/mL)*				
		0.005	0.01	0.05	0.1	0.5
1	0.013	29.3	54.9	71.5	75.6	89
2	0.003	47	76.6	82.4	88.9	92.9
3	0.005	41.6	65.8	80.1	85.5	91.0
4	0.04	17	31.9	40	70	84
5	0.009	46	51.2	57.3	67.8	76.4
6	0.011	23	60.9	70.4	87.7	95.8
7	0.002	50	66.8	74.5	83	93.6
Nitazoxanida	0.017					
Albendazol	15					
Metronidazol	0.060					

* % de reducción de la viabilidad a esa concentración

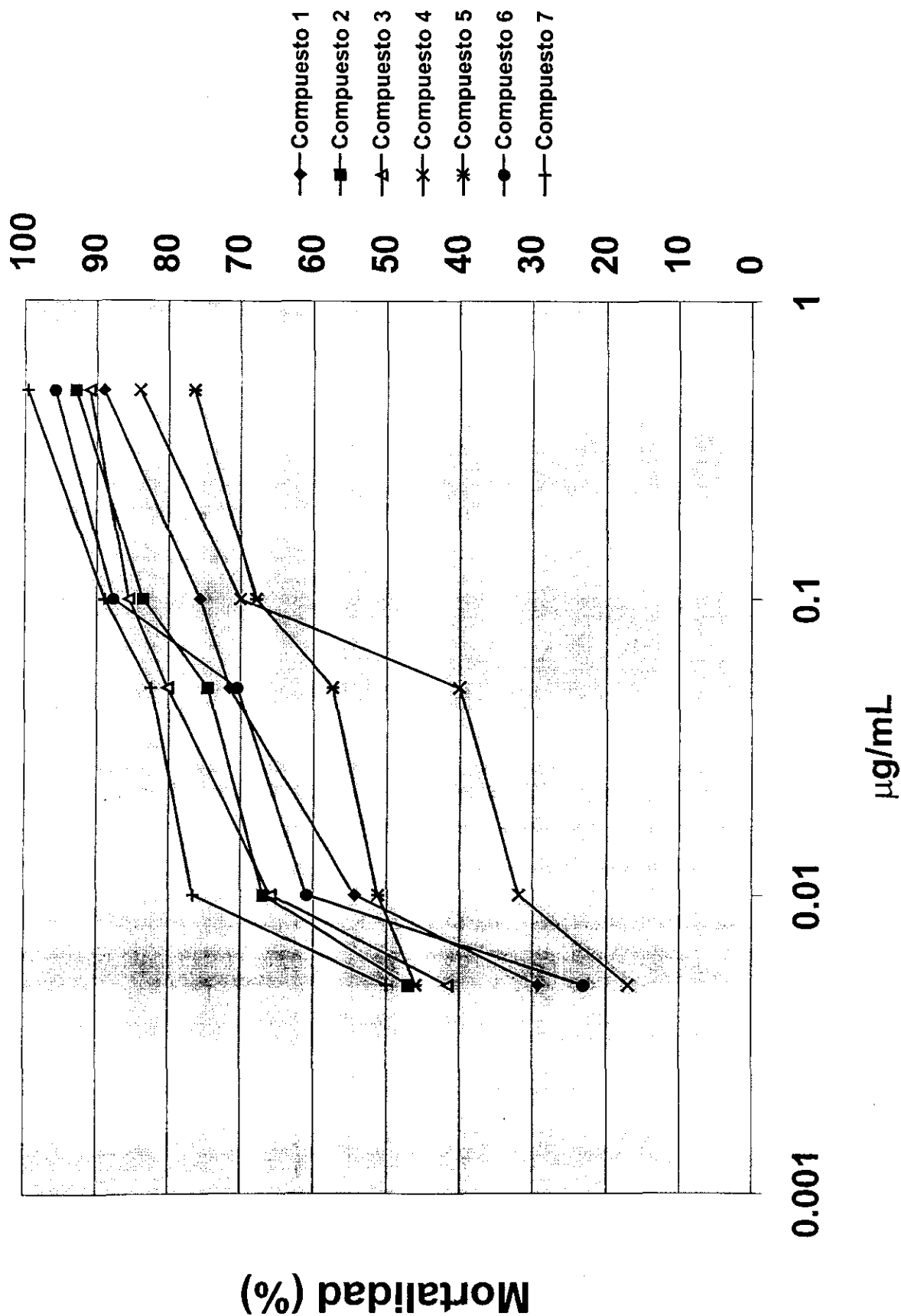


Figura 7. Efecto de los compuestos 1-7 sobre la viabilidad de trofozoitos de *E. histolytica*.

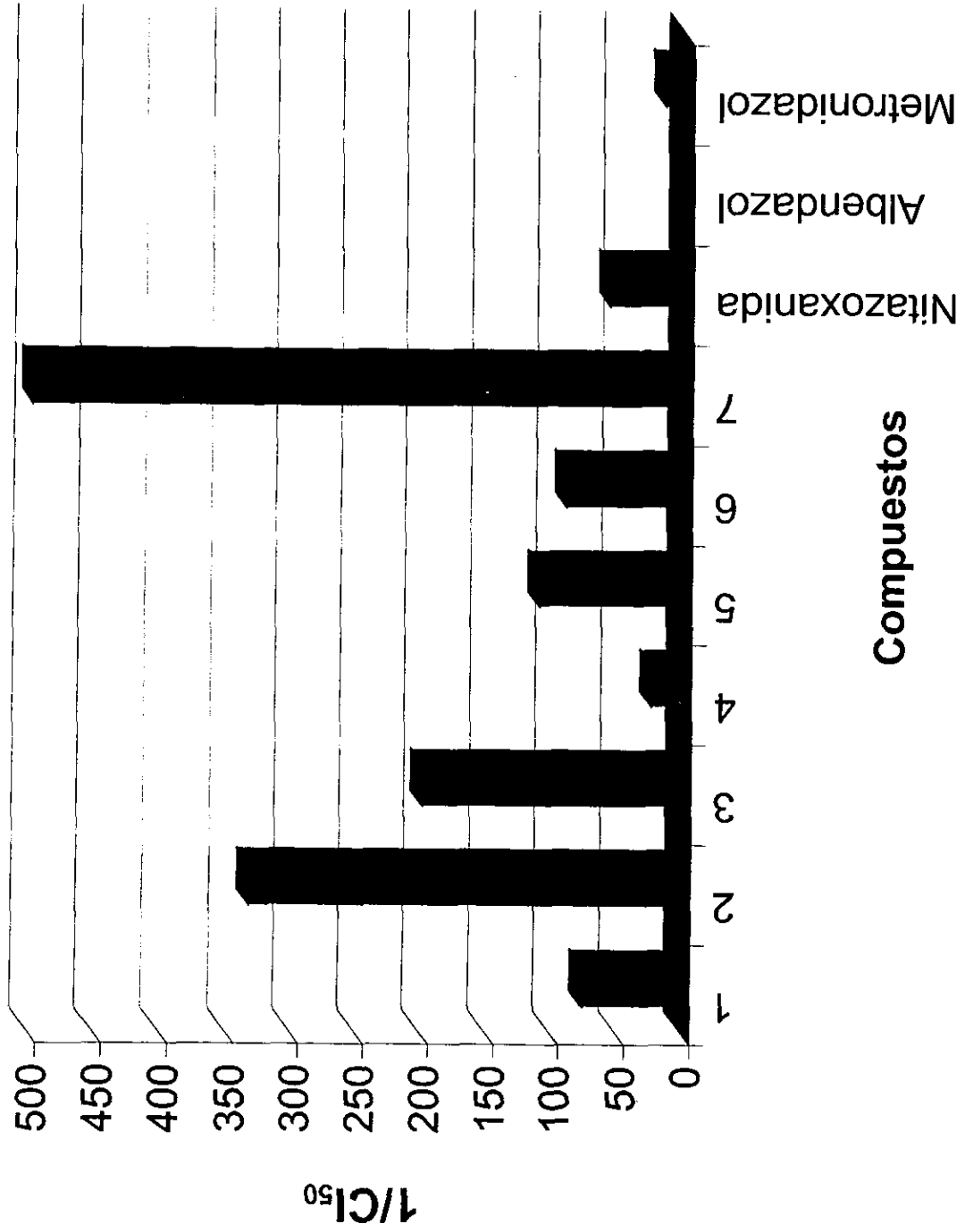


Figura 8. Efectividad de los compuestos 1-7, albendazol, nitazoxanida y metronidazol contra *E. histolytica*, representada por el inverso de la concentración inhibitoria cincuenta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles sobre *Giardia lamblia*.

En la **Tabla 6** y **Figura 9** se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de *Giardia lamblia* a los 2-(trifluorometil)bencimidazoles, en donde se puede apreciar que son efectivos contra los trofozoítos del parásito. La efectividad de estos compuestos fue superior a la del metronidazol (**Figura 10**).

Tabla 6. Porcentajes de reducción de la viabilidad de trofozoítos de *Giardia lamblia* incubados con los compuestos 1-7, albendazol, mebendazol y metronidazol.

Compuesto	CI₅₀	Dosis (µg/mL*)				
		0.005	0.01	0.05	0.1	0.5
1	0.02	23.4	48.7	60.2	75.2	85.5
2	0.02	26.3	32.3	62	68.2	85.2
3	0.172	27.4	28.3	37.2	46	59.6
4	0.064	11.8	38.8	43.6	48.6	83.3
5	0.070	12	24.1	47.3	50.4	75
6	0.01	14.6	57.8	83.6	92.5	97.3
7	0.03	31.1	37.1	47.6	68.8	82
Albendazol	0.01	26.9	58	81.9	89.8	93.2
Mebendazol	0.06					
Metronidazol	0.21					

*% de reducción de la viabilidad a esa concentración

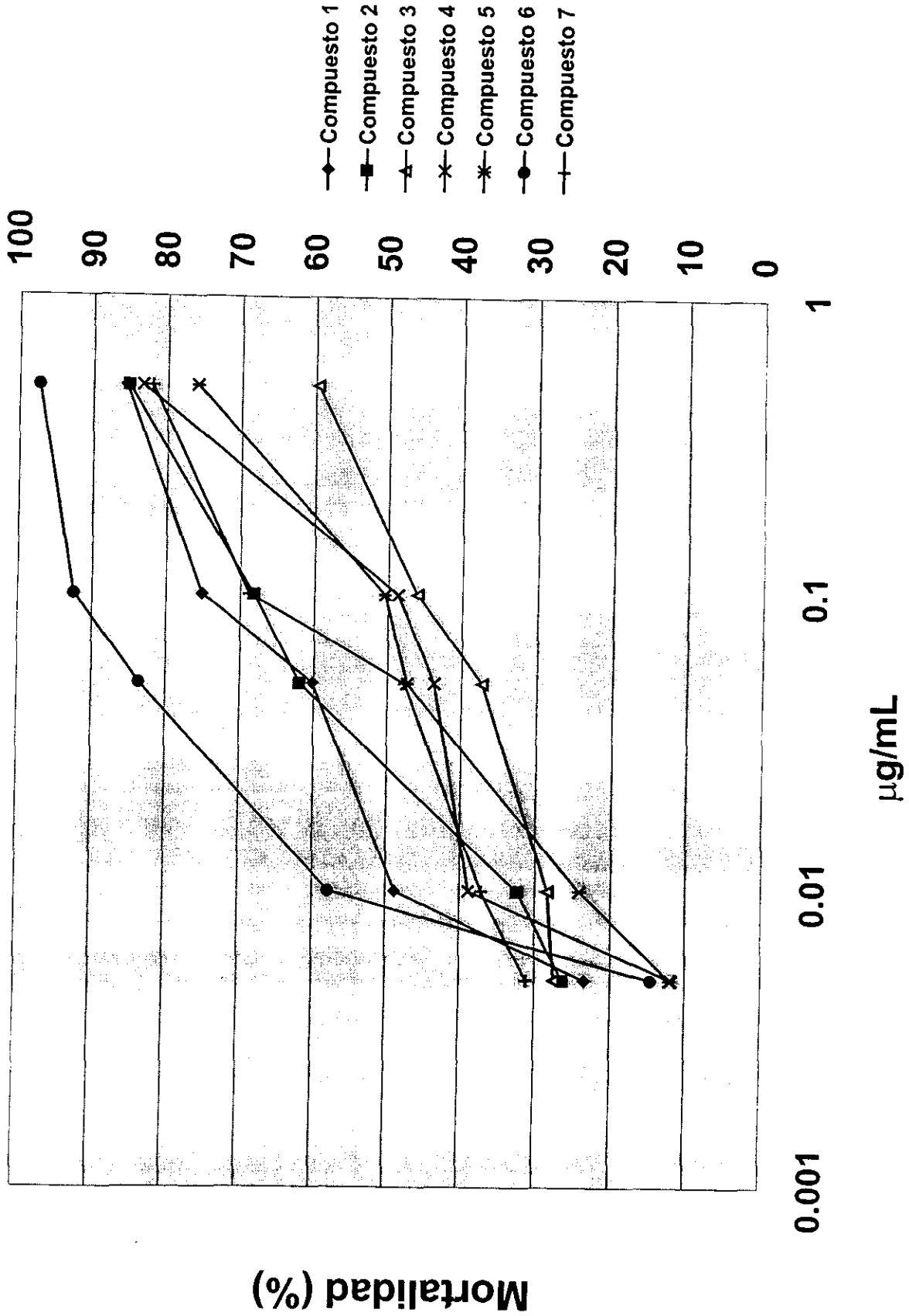


Figura 9. Efecto de los compuestos 1-7 sobre la viabilidad de trofozoitos de *G. lamblia*

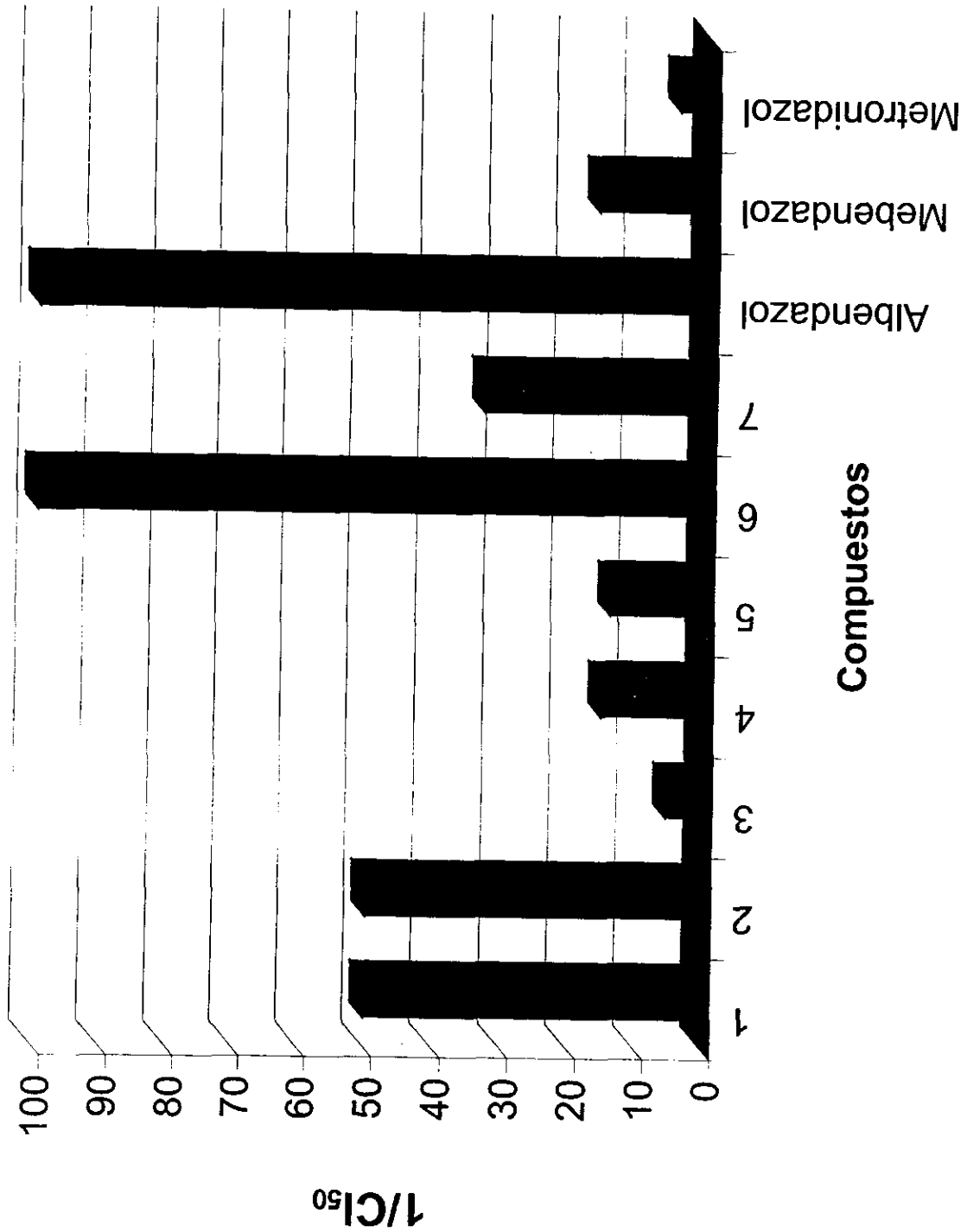


Figura 10. Efectividad de los compuestos 1-7, albendazol, mebendazol y metronidazol contra *G. lamblia* representada por el inverso de la concentración inhibitoria cincuenta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles sobre *Trichinella spiralis*.

En la **Tabla 7** y **Figura 11** se presentan los porcentajes de reducción de la viabilidad de las larvas musculares de *T. spiralis* incubadas con los compuestos 1-7 y albendazol a diferentes concentraciones. Como podemos observar el albendazol a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$, redujo la viabilidad de la larva muscular de un 30%. A concentraciones menores de 1 $\mu\text{g/mL}$, los compuestos, con excepción del **6**, no tiene efecto sobre el parásito. A la concentración mas alta empleada en el ensayo (1 $\mu\text{g/mL}$), el compuesto **6** tuvo una efectividad superior a la del albendazol, reduciendo la viabilidad del parásito un 39%. Para los compuestos **1**, **2**, **4** y **5**, el efecto sobre la viabilidad fue menor a la del albendazol (9, 19, 12, 15% respectivamente). Los compuestos restantes **3** y **7** no mostraron actividad sobre esta fase de desarrollo de *T. spiralis*.

Tabla 7. Porcentaje de reducción de la viabilidad de la larva muscular (LM) de *Trichinella spiralis* utilizando los 2-trifluorometilbencimidazoles.

Compuesto	0.0001 $\mu\text{g/mL}$	0.001 $\mu\text{g/mL}$	0.01 $\mu\text{g/mL}$	0.1 $\mu\text{g/mL}$	1 $\mu\text{g/mL}$
Albendazol	NR	6	13	20	30
1	NR	NR	1	3	9
2	NR	NR	1	9	19
3	NR	NR	NR	NR	NR
4	NR	NR	1	9	12
5	NR	2	4	9	15
6	NR	2	9	16	39
7	NR	NR	NR	NR	NR

El porcentaje de reducción de la viabilidad del parásito se calculó con respecto al control. NR = No Redujo

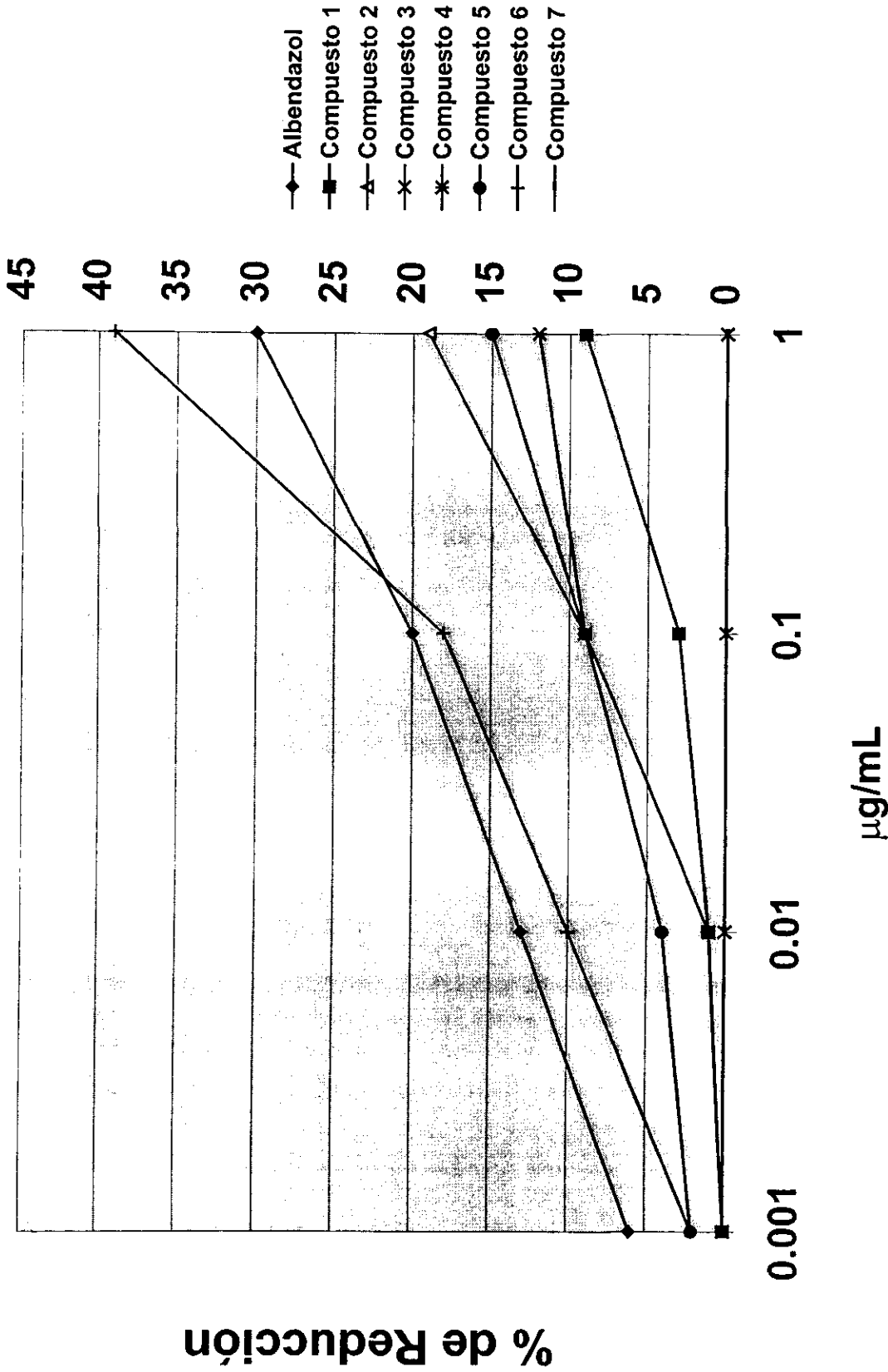


Figura 11. Porcentaje de reducción de la viabilidad de la larva muscular de *T. spiralis* en presencia de los compuestos 1-7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos preparados en este estudio se diseñaron para estudiar el comportamiento del grupo trifluorometilo en posición 2 de la molécula. Además se verificó la importancia del H en posición 1 y la sustitución por el grupo metilo, lo que evita la formación de tautómeros. Las modificaciones realizadas al introducir átomos de Cl en posiciones 5 y/o 6 de la molécula de bencimidazol permitieron conocer los requerimientos estéricos y electrónicos necesarios para observar un efecto en la actividad biológica.

Los resultados obtenidos muestran que los 2-(trifluorometil)bencimidazoles sintetizados son más efectivos *in vitro* contra trofozoitos de *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, que los fármacos de elección: metronidazol y nitazoxanida.

Los compuestos **4-7**, con grupo metilo en posición 1, fueron más activos que los compuestos **1-3**, con hidrógeno en la misma posición, sugiriendo así que los primeros pueden tener un mecanismo de acción diferente al del albendazol, que se ha sugerido que para que la molécula del bencimidazolcarbamato ejerza su efecto sobre la tubulina, éste debe tener un hidrógeno en la posición 1.

En relación con el efecto de estos compuestos sobre *Trichinella spiralis*, sólo el compuesto **6** (con sustituyentes metilo en 1 y clorado en posición 5), empleado a 1 µg/mL y 0.1 µg/mL redujo la viabilidad de la larva muscular con mejores resultados que el albendazol. En contraste el compuesto **7** (con sustituyentes metilo en 1 y clorado en posición 6) no mostró actividad a ninguna dosis. Por otro lado el compuesto **3** (clorado en 5(6) y con hidrógeno en 1) tampoco presento actividad contra *T. spiralis*, lo que sugiere que el mecanismo por el cual actúan estos compuestos 1-metilados, podría ser selectivo hacia uno de los dos isómeros, en este caso, el compuesto **6**.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el caso de *Entamoeba histolytica*, el compuesto **7** con sustituyente metilo en posición 1 y monoclorado en 6, fue 8.5, 30 y 7500 veces más efectivo que la nitozoxanida, metronidazol y albendazol respectivamente.

El compuesto más activo contra *Giardia lamblia* fue el **6** con sustituyentes -CH₃ en posición 1 y monoclorado en 5, que resultó ser tan efectivo como el albendazol y 20 veces más activo que el metronidazol.

Aunque ambos son protozoarios, la diferencia en actividades podría radicar en que el citoesqueleto de *Entamoeba* esta constituido principalmente por actina, en vez de tubulina, como ocurre con *Giardia*.

Es de relevancia mencionar que los compuestos isómeros **6** y **7** fueron especialmente activos contra *G. lamblia* y *E. histolytica* respectivamente. Este resultado indica la importancia del grupo sustituyente en las posiciones 5 y/o 6 de la molécula de bencimidazol.

6. CONCLUSIONES

- Se realizó la síntesis de 7 derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol (1-7), 5 de los cuales no se encuentran reportados en la literatura (3-7). La estructura de estos compuestos se logró establecer por análisis de datos espectroscópicos y espectrométricos.
- La síntesis de los compuestos 1-7 mostró rendimientos superiores al 80% y se obtuvieron como sólidos fáciles de purificar por recristalización y con puntos de fusión exactos.
- En general los 2-(trifluorometil)bencimidazoles se obtuvieron con rendimientos aceptables, puntos de fusión menores y de mayor solubilidad frente a disolventes orgánicos, en comparación a los bencimidazoles antihelmínticos existentes en el mercado (albendazol, triclabendazol y mebendazol); esto podría favorecer la absorción de los mismos dentro del organismo.
- Al evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* contra *Trichinella spiralis*, *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, se confirmó el potencial antihelmíntico y antiprotozoario mostrado por algunos de los compuestos sintetizados (2, 6 y 7).
- El compuesto más activo contra *Giardia lamblia* fue el 6 con sustituyentes -CH₃ en posición 1 y monoclorado en 5, que resultó ser tan efectivo como el albendazol y 20 veces más activo que el metronidazol.

CONCLUSIONES

- Los 2-(trifluorometil)bencimidazoles presentan excelente actividad *in vitro* contra *Entamoeba histolytica*, destacando el compuesto **7** con sustituyente metilo en posición 1 y monoclorado en 6, el cual fue 8.5, 30 y 7500 veces más efectivo que la nitozoxanida, metronidazol y albendazol respectivamente.
- En relación a *Trichinella spiralis*, el compuesto **6** fue tan activo como el albendazol a las dosis de 0.1 y 1 μ g/mL.
- La presencia de Cl en posiciones 5 y/o 6, le dio mayor actividad a la molécula, debido a que de alguna manera se impide el metabolismo rápido que sufren los bencimidazoles en esta posición. Así mismo, la presencia del grupo metilo en posición 1, le confiere propiedad antiprotozoaria.
- Con estos resultados, podemos concluir que el mecanismo presentado por los derivados 1-metilados del 2-(trifluorometil)bencimidazol podría ser diferente al mostrado por el albendazol (unión a tubulina).
- Cabe señalar que los resultados hasta ahora obtenidos son alentadores para continuar con nuevos estudios dirigidos a la evaluación *in vitro* de la actividad de los 2-(trifluorometil)bencimidazoles contra el parásito *Fasciola hepatica*; así como evaluar *in vivo* los compuestos, permitiéndose determinar características farmacológicas importantes como absorción, biodisponibilidad, metabolismo, toxicidad, entre otras.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Instrumentación.

Los espectros de masas por impacto electrónico se determinaron por cromatografía de gases- espectrometría de masas (GC :MS) o por introducción directa de la muestra en un aparato marca JEOL-JMS-S102A. La simbología utilizada es M^+ =ion molecular y PB = pico base.

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 son reportadas en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron en un espectrometro de 300 MHz Varian Modelo EM-390 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y deuterocloroformo, dimetilsulfóxido deuterado como disolventes. Los desplazamientos químicos (δ) se dan en ppm. Los símbolos de las señales son: s= simple, sa= amplia, d= doble, m= multiple.

Las hidrogenaciones catalíticas se realizaron en un hidrogenador marca Parr Modelo 391EG con 60 lb/in² y 80 °C como capacidad máxima, utilizando hidrógeno de tanque de la casa INFRA y como catalizadores Pd/C al 5% y Raney níquel de la casa Aldrich.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Büchi Modelo 530 y no están corregidos. Para concentrar las soluciones se empleó un evaporador rotatorio marca Büchi Modelo RE111, con vacío generado por una bomba Felisa Modelo 1600 ajustada a 55 cm de Hg y condensador de hielo seco.

7.2. Cromatografía.

Para 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 visualizaron con luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo.

7.3. Sistemas de elución.

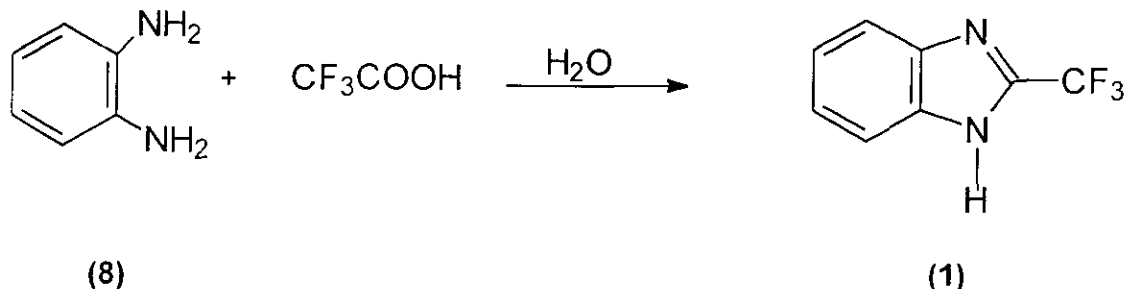
La composición de los sistemas de elución fue la siguiente:

Sistema	Composición	Proporción
I	Hexano-CHCl ₃ -AcOEt	50:35:15
II	Cloroformo-Metanol*	90 :10
III	Cloroformo-Metanol*	98 :2
IV	Cloroformo-Metanol*	80 :20

- 8 ml de la mezcla + 2 gotas de hidróxido de amonio.

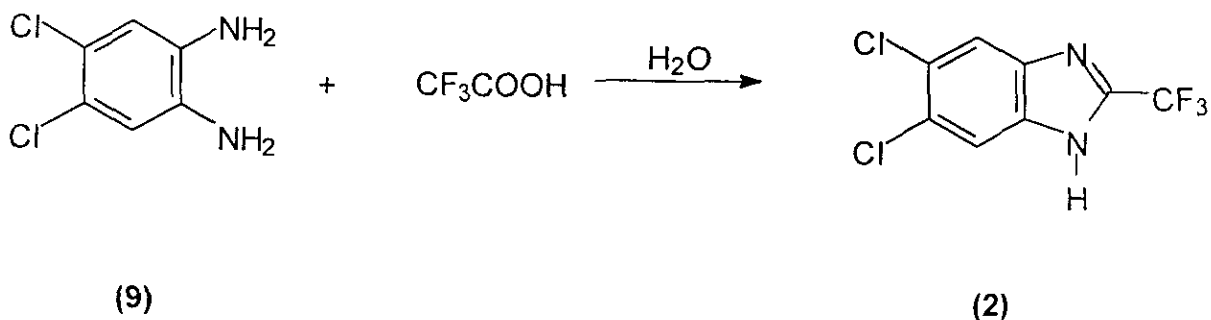
7.4. Síntesis de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles (1-7).

7.4.1. 2-(Trifluorometil)bencimidazol (1)



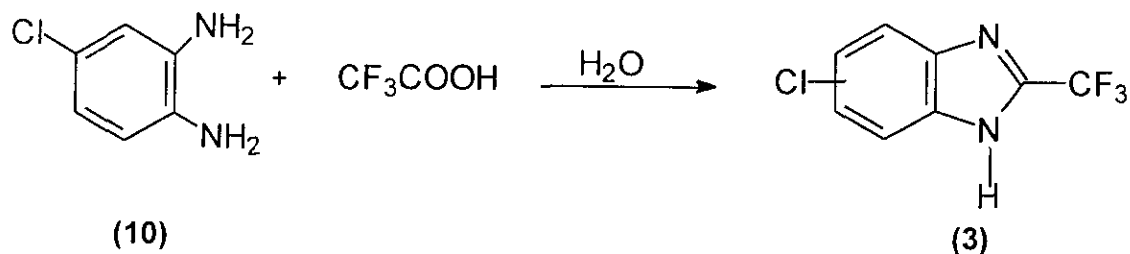
En un matraz bola de 250 mL, equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmósfera de N₂, se colocaron 20 g (0.1851 mol) de 1,2-fenilendiamina (8) y 25.3 g (17.1 mL, 0.022 mol, 1.2 eq) de ácido trifluoroacético al 46% en agua. La mezcla se llevó al reflujo y mantuvo así por 6 h. Al terminar este tiempo, se comprobó la conversión total de la materia prima por ccf; se enfrió a temperatura ambiente y adicionó NaHCO₃ sólido, hasta llegar a pH neutro. El sólido formado se separó por filtración al vacío, obteniéndose 28.2g (82 %) de cristales ámbar, los cuáles se recrystalizaron de etanol-agua, obteniéndose 27.5 g de cristales incoloros (80.8%), una sola mancha por ccf. *R_f* = 0.29 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 209-211°C (Lit. 208-211°C, Catalogo Aldrich 1996-1997, 492). **RMN** ¹H (TMS) δ: 8.218 (sa, 1H, H-N), 7.754 (m, 2H, H-C4, H-C7), 7.412 (m, 2H, H-C5, H-C6) ppm; **IR** (KBr) ν: 3049, 1624 (w), 1594 (m), 1550, 1461 (m), 1192 (s), 1171 (s), 1143 (s), 741 (s) cm⁻¹; **EM** (IE) m/z: 186 M⁺ (100%).

7.4.2. 5,6-Dicloro-2-(trifluorometil)bencimidazol (2)



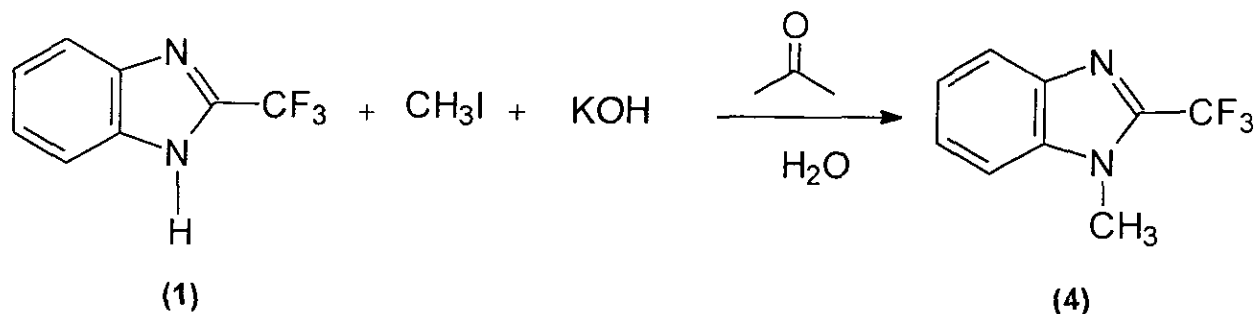
En un matraz bola de 250 mL, equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmósfera de N₂, se colocaron 5.9 g (0.0333 mol) de 4,5-dicloro-1,2-fenilendiamina (9) recién obtenida y 3.79 g (2.56 mL, 0.0333 mol, 1 eq) de ácido trifluoroacético en 2.5 mL de agua. La mezcla se llevó al reflujo y mantuvo así por 4 h. Al comprobar la conversión total de la materia prima por ccf, se dejó enfriar a temperatura ambiente y adicionó NaHCO₃ sólido hasta llegar a pH neutro. El sólido formado (7.1g ,84.6 %) se disolvió en etanol y trató con carbón activado para posteriormente recristalizarlo de tolueno, obteniéndose 6.0 g de cristales blancos (83.6%), una sola mancha por ccf. *R_f* = 0.34 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 236-238°C (Lit 240°C, Holan *et al*, 1967). **RMN** ¹H (TMS) δ: 7.692 (s, 1H, *H*-C7), 8.004 (s, 1H, *H*-C4), ppm; **IR** (KBr) ν: 3074, 1702 (w), 1576 (m), 1151, 1476, 1200 (s), 1174 (s), 1129, 851 (s) cm⁻¹; **EM** (IE) m/z: 254 M⁺ (100%), M+2 (66%), M+4 (11%).

7.4.3. 5(6)-Cloro-2-(trifluorometil)bencimidazol (3)



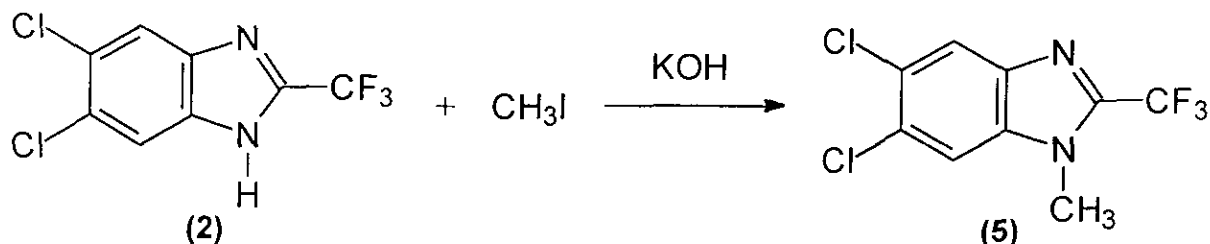
En un matraz bola de 100 mL equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmósfera de N₂, se colocaron 10.74 g (0.0753 mol) de 4-cloro-1,2-fenilendiamina (10) recién obtenida, 10.3 g (6.95 mL, 0.0903 mol, 1.2 eq) de ácido trifluoroacético diluido en 6.9 mL de agua. La mezcla se llevó al reflujo y mantuvo así por 1.5 h, apareciendo dos productos por ccf, uno de ellos, de color café, se separó por filtración al vacío, mientras que el otro producto se fue en el filtrado. Este se trató con NH₄OH hasta pH neutro, luego se extrajo con acetato de etilo (3 x 75 mL). Los extractos reunidos se lavaron con agua (3x75 mL), secaron con Na₂SO₄ anhidro y concentraron a sequedad en el rotaevaporador. El sólido obtenido presentó coloración rojiza, por lo cual se le realizó una filtración flash en columna con carbón activado y gel de sílice, eluyendo con una mezcla de cloroformo-acetato de etilo 85:15. Las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por ccf, los semejantes se juntaron y concentraron a presión reducida. Se obtuvieron 11.3 g (68.03%) de polvo blanco, una mancha por ccf. *R_f* = 0.34 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 197-199°C. **RMN** ¹H (TMS) δ: 13.41 (sa, 1H, *H*-N), 7.67 (sa, 2H, *H*-C4, *H*-C7), 7.292-7.38 (dd, 1H, *H*-C6), ppm; **IR** (KBr) ν: 3043, 1624 (m), 1587 (m), 1546, 1444 (m), 1190 (s), 1162 (s), 809 (m) cm⁻¹; **EM** (IE) *m/z*: 220 M⁺ (100%), M+2 (33%).

7.4.4. 1-Metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (4)



En un matraz de bola de 250 mL con una boca 24/40, equipado con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y embudo de adición, se colocaron 13 g (0.0698 mol) de 2-trifluorometilbencimidazol (1), 50 mL de acetona y 4.3 g (0.0767 mol, 1.1 eqs) de KOH en 5 mL de agua. En seguida se adicionó, gota a gota, una solución de 10.89 g (4.78 mL, 0.076 mol, 1.1 eqs) de yoduro de metilo diluido en 15 mL de acetona. Al término de la adición a temperatura ambiente, se formó un precipitado café claro y se comprobó la conversión total de (1) por ccf. El sólido formado se separó por filtración al vacío y lavó con acetona fría. Se obtuvieron 12.5 g (89.5%) de cristales con ligero color amarillo. El producto crudo se recristalizó de etanol-agua, dando 11.9 g (85.2%) de hojuelas blancas. *R_f* = 0.45 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 98-100°C. **RMN** ¹H (TMS) δ: 7.4(s, 1H, *H*-C4), , 7.2 (s, 1H, *H*-C7), 6.76(s, 2H, NH₂), 3.91 (s, 3H, NCH₃) ppm; **IR** (KBr) ν :2960, 1779 (w), 1617, 1589 (m), 1521 (m), 1456, 1266 (s), 1181, 1125, 748 (s) cm⁻¹; **EM** (IE) m/z: 200 M⁺ (100%).

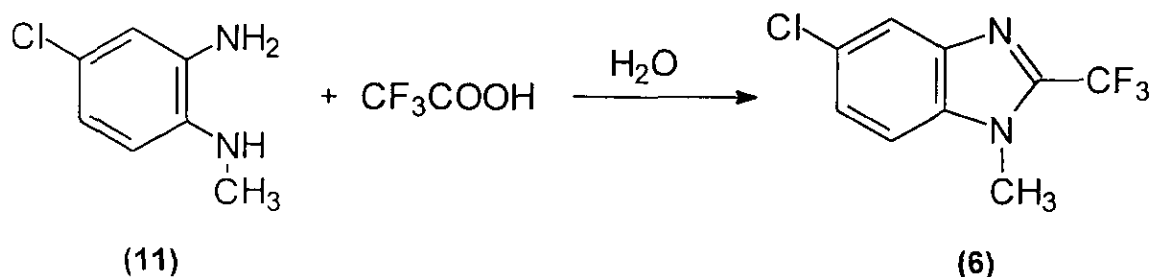
7.4.5. 5,6-Dicloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (5)



En un matraz bola de 100 ml, acondicionado con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y embudo de adición, se colocaron 3.0 g (0.0117 mol) de 5,6-dicloro-2-(trifluorometil)bencimidazol (2) en 15 ml de acetona y 0.7238 g (0.0129 mol, 1.1 eqs.) de KOH en 3 ml de agua. En seguida se adicionó, gota a gota, una solución de 1.83 g (0.805 ml, 1.1 eqs.) de yoduro de metilo, diluido en 5 ml de acetona. Al terminar la adición se formó un sólido color café claro y se dejó agitando 40 min más. Después de comprobar la conversión total de la materia prima por ccf, el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron 2.8 g (88.9%) de cristales ligeramente amarillentos que se recrystalizaron de etanol, obteniéndose 2.3g (82.1%) de cristales color ámbar.

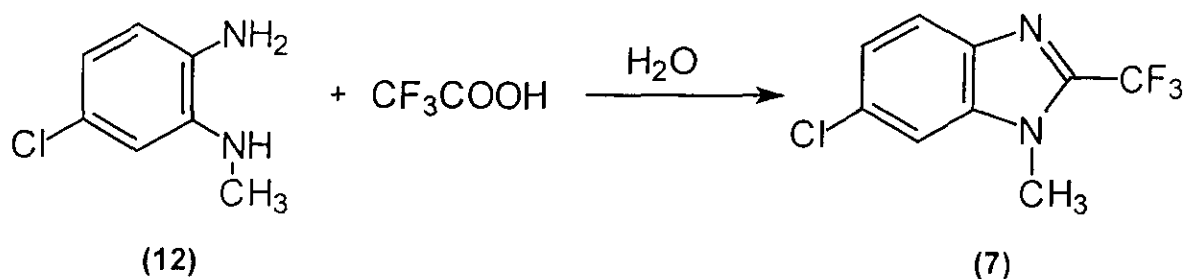
$R_f = 0.52$ (Hexano/ CHCl_3 / AcOEt 50:35:15); p.f. 164-165°C. **RMN** ¹H (TMS) δ : 7.94 (s, 1H, H-C4), 7.56 (s, 1H, H-C7) 3.94 (s, 3H, NCH_3) ppm; **IR** (KBr) ν : 3076, 1683, 1575 (m), 15520, 1484 (m), 1264 (s), 1232 (s), 1195, 1126, 842 (s) cm^{-1} ; **EM** (IE) m/z: 268 M⁺ (100%), M+2 (66%), M+4 (11%).

7.4.6. 5-Cloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (6)



En un matraz bola de 250 mL, equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmósfera de N₂, se colocaron 10.9 g (0.0696 mol) de N-metil-4-cloro-1,2-fenilendiamina (**11**) recién obtenida, 8.7 g (5.9 mL, 0.0766 mol, 1.1 eq) de ácido trifluoroacético diluido en 6 mL de agua. La mezcla se llevó a reflujo y mantuvo así por 2h , se formó un sólido café oscuro, el cual se separó por filtración al vacío, El filtrado se trató con NH₄OH, hasta pH neutro y el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron 13.8 (84.4%) de polvo café oscuro. Este sólido fue cristalizado en éter de petróleo, dando como resultado 13.2 g (80.7%) de cristales blancos, una mancha por ccf. *R_f* = 0.47 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 108-109°C. **RMN** ¹H (TMS) δ: 7.85 (sd, 1H, *H*-C4), 7.42 (dd, 1H, *H*-C6), 7.371 (dd, 1H, *H*-C7), 3.945 (s, 3H, NCH₃) ppm; **IR** (KBr) ν :3056, 1861(m), 1616 (m), 1487 (m), 1266, 1223, 1156 (s), 1136 (s), 1091, 749 cm⁻¹; **EM** (IE) *m/z*: 234 M⁺ (100%), M+2 (33%).

7.4.7. 6-Cloro-1-metil-2-(trifluorometil)bencimidazol (7)



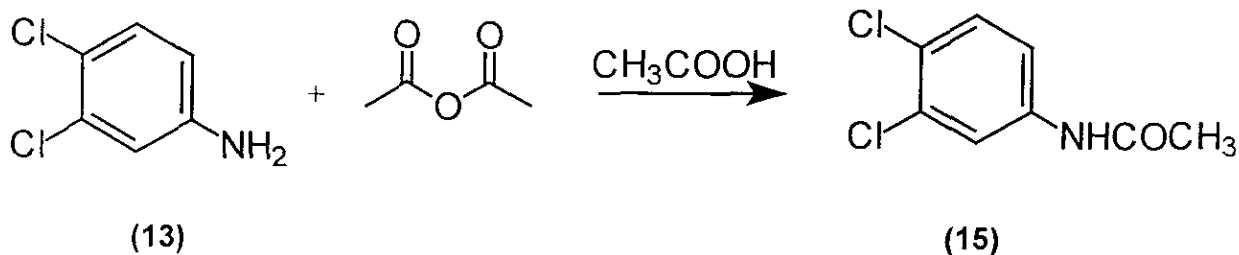
En un matraz bola de 100 ml equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmósfera de N₂, se colocaron 7.55 g (0.0482 mol) de N-metil-5-cloro-1,2-fenilendiamina (12) recién obtenida, 5.49 g (3.76 mL, 0.0482 mol, 1eq) de ácido trifluoroacético diluido en 4 mL de agua. La mezcla se llevó al reflujo y mantuvo así 3h. Se formó un sólido café, el cual se separó por filtración al vacío, El filtrado se trató con NH₄OH, hasta pH neutro, dando 9.7 g (85.7%) de polvo café. Este sólido fue cristalizado de ciclohexano, dando como resultado 9.2 g (81.3%) de cristales blancos, una mancha por ccf. *R_f* = 0.5 (Hexano/CHCl₃/AcOEt 50:35:15); p.f. 158-160°C.

RMN ¹H (TMS) δ: 7.77 (d, 1H, *H*-C4), 7.44 (d, 1H, *H*-C7), 7.33 (dd, 1H, *H*-C5), 3.915 (s, 3H, NCH₃) ppm; **IR** (KBr) ν : 3061, 1619, 1580 (m), 1523, 1489 (m), 1267 (s), 1223, 1175 (s), 1129, 1048, 732 (s) cm⁻¹; **EM** (IE) *m/z*: 234 M⁺ (100%), M+2 (33%).

7.5. Síntesis de las 1,2-Fenilendiaminas precursoras (9,10, 11, 12)

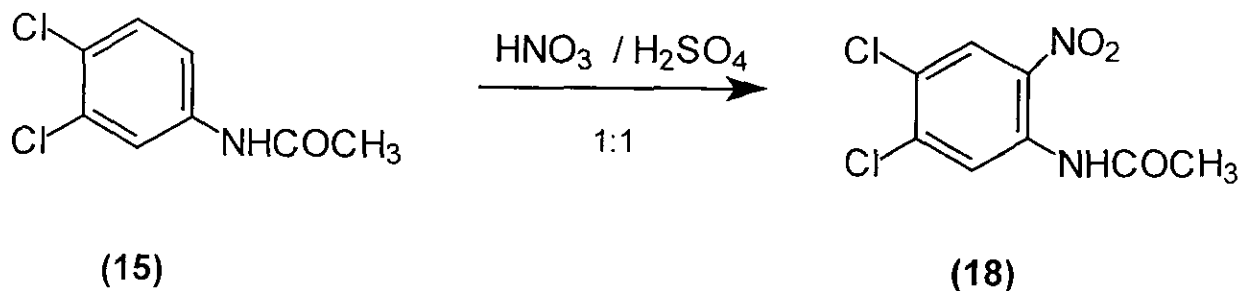
7.5.1. Síntesis de 4,5-Dicloro-1,2-Fenilendiamina (9)

7.5.1.1. 3,4-Dicloroacetanilida (15)



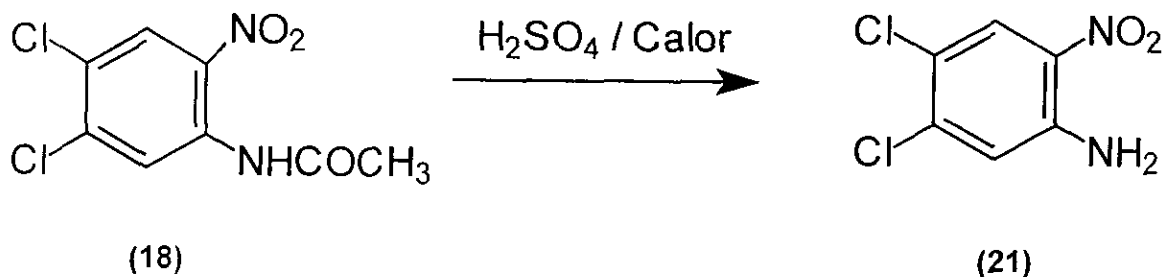
En un vaso de precipitados de 2 L acondicionado con termómetro, se colocaron 408.29 g (2.52 moles) de 3,4-dicloroanilina (13) y 100 ml de ácido acético. La mezcla anterior se enfrió por medio de un baño de hielo agua y agitó con una varilla de vidrio mientras se fueron incorporando 321.58 g (297.21ml,3.15 moles, 1.25 eqs.) de anhídrido acético. La adición se hizo en 8 min, de tal manera que la temperatura de la reacción no pasara de 70°C. Al término de la adición se formó una masa de color violácea, se retiró el baño de hielo, se agitó hasta homogeneización de la mezcla y se dejó en reposo 15 min. Después de comprobar la total conversión de la materia prima por ccf, se adicionó 1 L de agua fría, agitó bien y filtró con succión. El sólido café se trituró en un mortero, suspendió en agua y se volvió a filtrar, lavando repetidas veces con agua hasta pH neutro. El residuo bien drenado se secó en la estufa a 85°C durante 24 h, obteniéndose 499 g de un sólido café claro. Este sólido mostró ser un solo compuesto por ccf, y como tal se empleó en la siguiente reacción de nitración. Una muestra se recristalizó de etanol. p.f. 122-124°C (Lit. 120.5°C, Beil. XII, 626).

7.2.5.2. 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (18)



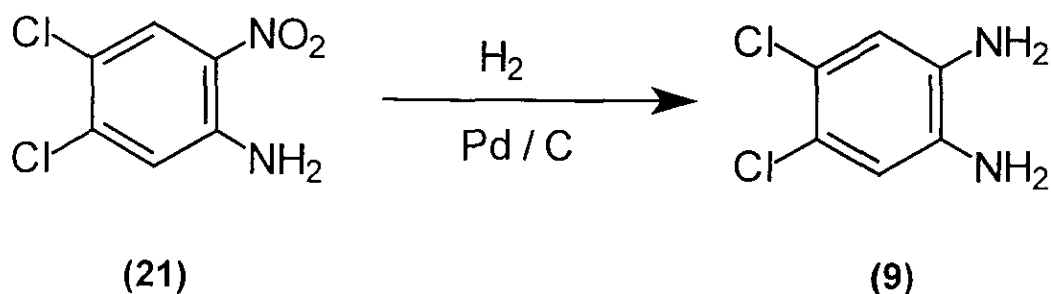
En un vaso de precipitados de 4 L, acondicionado con termómetro, agitación mecánica y enfriado con baño de hielo-sal, se disolvieron 462.3 g (2.2656 moles) de 4,5-dicloroacetanilida pulverizada (15) en 1L de ácido sulfúrico concentrado. La incorporación de (15) se hizo poco a poco, a 10-15°C, con agitación suave. Después se agregó, gota a gota, 400 mL de mezcla sulfonítrica (1:1) fría, manteniendo la temperatura a 17-20°C por espacio de 1 h. Terminada la adición se retiró el baño de hielo y agitó por 30 min más. Se comprobó el consumo total de la materia prima por ccf y la mezcla se vertió cuidadosamente sobre 12 Kg de hielo. El sólido formado se separó por filtración, se lavó con agua repetidas veces hasta pH neutro y dejó secar al aire para dar 553 g de producto crudo. Este se suspendió en 1500 ml de metanol y agitó en frío durante 30 min. Se filtró con succión y lavó con metanol frío. Esta operación se repitió una vez más. El sólido amarillo claro residual (366.78 g), mostró por ccf un compuesto principal y trazas de un producto secundario de mayor polaridad. Una muestra se recristalizó de metanol-agua. p.f. 121-123°C (Lit. 123-124°C, Beil. XII, 733-734).

7.5.1.3. 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (21)



En un vaso de precipitados de 4 L, acondicionado con agitación mecánica y termómetro, se colocaron 700 mL de ácido sulfúrico concentrado y agitaron suavemente mientras se incorporaron 348.68 g (1.4 moles) de la 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida (18) obtenida con anterioridad. La mezcla se calentó a 80-90°C durante 30 min, comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar a 50 °C y se vertió sobre 5 Kg de hielo. El sólido anaranjado que se formó se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro, luego se dejó secar al aire. Se obtuvieron 276.15 g de un polvo anaranjado, una mancha por ccf. Una parte de este sólido se recristalizó de ácido acético-agua. p.f. 174-176°C (Lit. 177-179°C, Sánchez_Díaz, 1999).

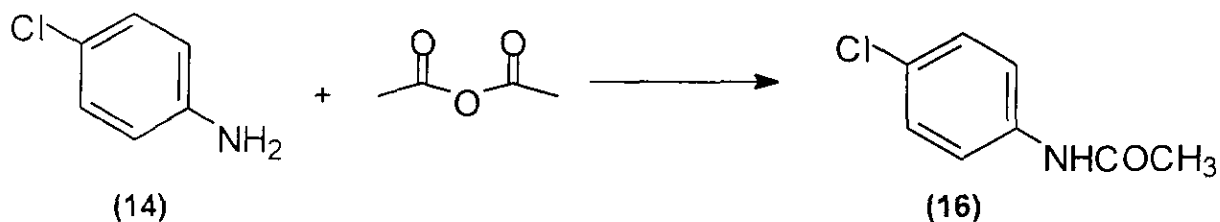
7.5.1.4. 4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (9)



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 51.6 g (0.2493 mol) de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (21), 2.5 g de Pd/C al 5% y 200 mL de etanol. La botella se acopló al hidrogenador, llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y succionó con vacío, esta operación se repitió tres veces; finalmente se llenó siempre a 60 lb/in² y agitó hasta que se consumieron 1546 lb/in² en un lapso de 3 horas. La mezcla se filtró con succión empleando doble papel filtro Whatman No.2. El filtrado oscuro se llevó a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvieron 44 g de un sólido oscuro una sola mancha por ccf. Este sólido se utilizó inmediatamente para la reacción siguiente de ciclación. Una muestra se recristalizó de etanol-agua. p.f. 159-162°C (Lit. 159-162°C, Sánchez-Díaz, 1999).

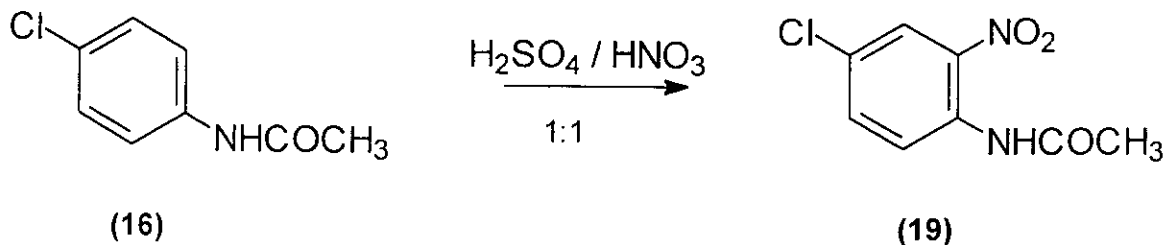
7.5.2. Síntesis de 4-Cloro-1,2-fenilendiamina (10)

7.5.2.1. 4-Cloroacetanilida (16)



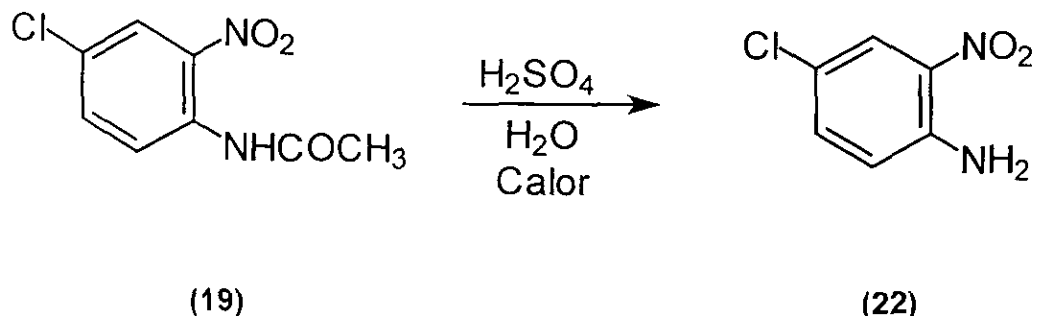
En un matraz de bola de 250 mL con tres bocas 24/40, equipado con agitación magnética, termómetro y condensador de aire en posición de reflujo, y sobre éste un embudo de adición y una trampa anhidra, se colocaron 10 g (0.07836 mol) de 4-cloroanilina (14) pulverizada y se adiciono, gota a gota, 11.18g (10.33 mL, 0.1097 mol, 1.4 eqs.) de anhídrido acético. La adición se hizo de tal forma que la temperatura de reacción no sobrepasara los 80°C. Posteriormente, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y vertió sobre 100 g de agua-hielo. Se formó un precipitado blanco, el cual se separó por filtración al vacío, lavó con agua hasta pH neutro y dejó secar al aire. Se obtuvo 12.5g (94%) de un sólido cristalino blanco una sola mancha por ccf, el cual se utilizó crudo para la siguiente reacción de nitración. Una muestra se recristalizó de ácido acético acuoso. p.f. 177-178°C (Lit. 178-179°C, Roberts *et al*, 1959).

7.5.2.2. 4-Cloro-2-nitroacetanilida (19)



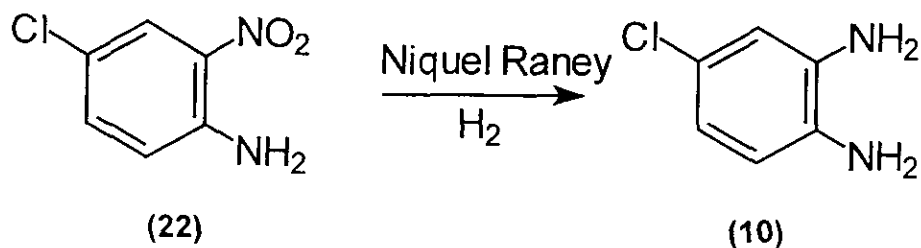
En un vaso de precipitados de 250 mL, equipado con agitación mecánica y baño de acetona-hielo seco, se colocaron 34 mL de HNO₃ concentrado y enfriaron hasta -5 °C. Enseguida se adicionó, gota a gota, 34 mL de H₂SO₄ concentrado, previamente enfriado a 0° C. La adición se hizo de tal forma que la temperatura no subiera de 15°C. Por otro lado, se acondicionó un vaso de precipitados de 500 mL con agitación mecánica y baño de acetona-hielo seco. En este vaso se colocaron 30 mL de H₂SO₄ concentrado, y cuando la temperatura llegó a 10 °C se incorporó lentamente, 12.5 g (0.0737 mol) de 4-cloroacetanilida **(16)** pulverizada. Al finalizar la incorporación se formó una solución parda a la cual se agregó, gota a gota, 70 mL de mezcla sulfonítrica fría, manteniendo la temperatura a 17-20 °C. Terminada la adición, se retiró el baño de hielo seco y agitó por 30 min más. La mezcla se vertió cuidadosamente sobre 1 kg de hielo. El sólido formado se separó por filtración, lavó con agua repetidas veces hasta pH neutro y se dejó secar al aire para dar 14 g (88.5%) de un sólido amarillo, una mancha por ccf . Una muestra se recristalizó de etanol . p.f. 99-101°C (Lit. 100-101°C, Beil. XII, 729-731).

7.5.2.3. 4-Cloro-2-nitroanilina (22)



En un vaso de precipitados de 250 mL acondicionado con agitación mecánica y termómetro, se colocaron 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y agitaron suavemente mientras se incorporaron 14 g (0.0652 moles) de 4-cloro-2-nitroacetanilida (19) obtenida con anterioridad. La mezcla se calentó a 80-90°C durante 30 min, comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar a 50 °C y vertió sobre 300 g de hielo. El sólido anaranjado que se formó se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro; luego, se dejó secar al aire. Se obtuvieron 10.5 g (93.2 %) de un polvo anaranjado, una mancha por ccf. Una parte de este sólido se recristalizó de ácido acético-agua.

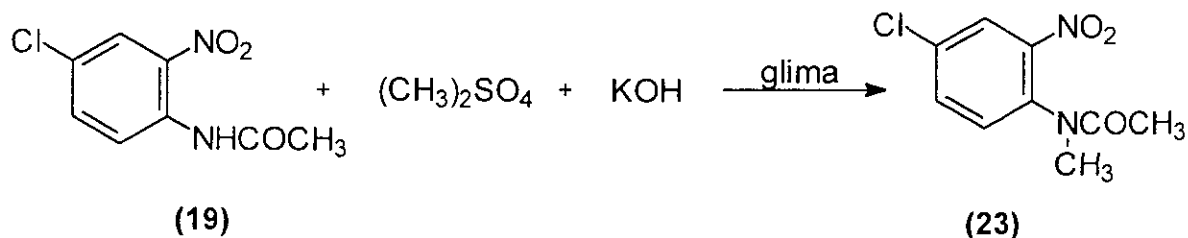
7.5.2.4. 4-Cloro-1,2-fenilendiamina (10)



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 13 g (0.0753 mol) de 4-cloro-2-nitroanilina (22), 3 g de Niquel-Raney y 200 mL de etanol. La botella se acopló al hidrogenador, llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y succionó con vacío, esta operación se repitió tres veces; finalmente se llenó siempre a 60 lb/in² y agitó hasta que consumieron 335 lb/in² en un lapso de 36 min. La mezcla se filtró con succión empleando doble papel filtro Whatman No.2. El filtrado oscuro se llevó a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvieron 11.8 g de un líquido oscuro una sola mancha por ccf. Este líquido se utilizó inmediatamente para la reacción siguiente de ciclación. Una muestra se recrystalizó de etanol-agua.

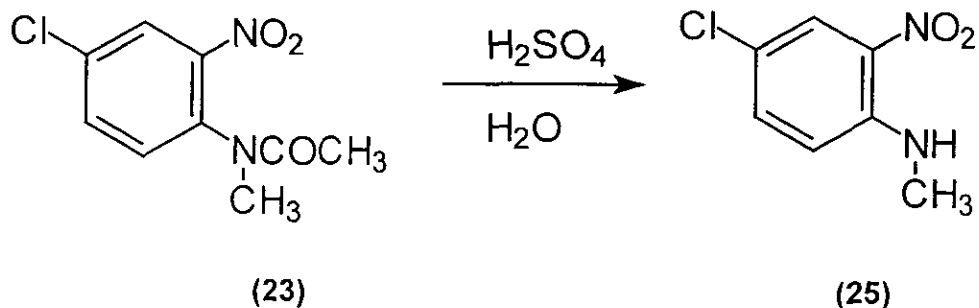
7.5.3. Síntesis de N-Metil-4-cloro-1,2-fenilendiamina (11)

7.5.3.1. N-Metil-4-cloro-2-nitroacetanilida (23)



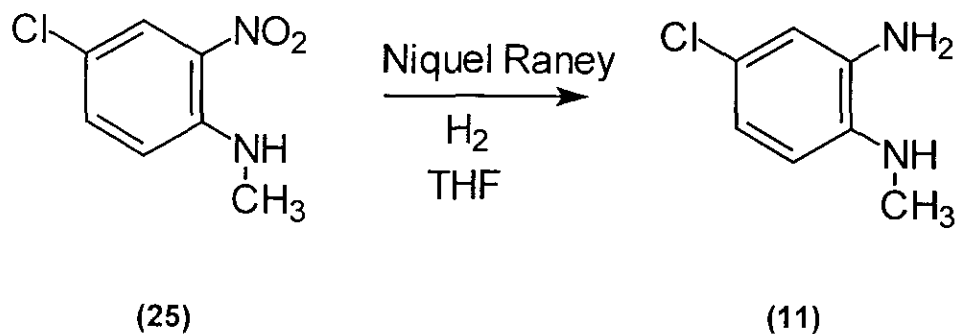
En un matraz de bola de 250 mL con tres bocas 24/40, equipado con agitación magnética , termómetro , embudo de adición y septum, se mezclaron 20 g (0.0932 mol) de 4-cloro-2-nitroacetanilida (19) con 17.63 g (13.22 mL, 0.1397 mol, 1.5 eqs.) de sulfato de dimetilo y 15 mL de glima. La mezcla se calentó a 30°C y con agitación vigorosa se agregó, gota a gota, una solución de 5.6 g (0.1397 mol, 1.5 eqs.) de KOH al 50 % m/v en agua, cuidando que la temperatura no sobrepasara los 34°C. Terminada la adición se continuó la reacción 30 min más; el sólido formado se separó por filtración con succión dando 21 g (98.6%) de un sólido color naranja, los cuales se recrystalizaron de etanol-agua, para dar 20.8 g (98.1%) de agujas color naranja. p.f. 90.5-91°C (Lit. 90.5-91°C, Sánchez-Díaz, 1999).

7.5.3.2. N-Metil-4-cloro-2-nitroanilina (25)



En un vaso de precipitados de 250 mL, adaptado con agitación mecánica y termómetro, se suspendieron 19.5 g (0.0852 mol) de N-Metil-4-cloro-2-nitroacetanilida (23) en 18 mL ácido sulfúrico concentrado agitados suavemente. Una vez que se incorporó todo el sólido, se agregó 1.53 mL (0.0852 mol, 1 eq.) de agua y la mezcla se calentó a 80-90°C durante 15 min, comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar a 50 °C y vertió sobre 500 g de hielo. El sólido anaranjado que se formó se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro; luego, se dejó secar al aire. Se obtuvieron 15.6 g (98%) de un sólido anaranjado, una mancha por ccf. Una parte de este sólido se recrystalizó de etanol-agua. p.f. 107-108°C (Lit. 110°C, Fitton *et al*, 1968).

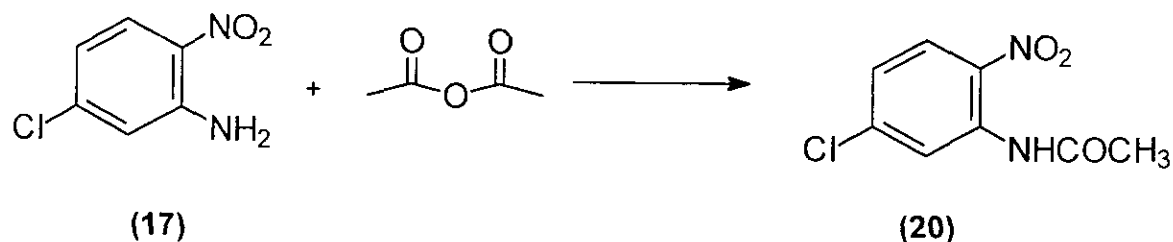
7.5.3.3. N-Metil-4-cloro-1,2-fenilendiamina (11)



En una botella de hidrogenación Parr de 500 ml se colocaron 13 g (0.0696 mol) de N-Metil-4-cloro-2-nitroanilina (**25**), 3 g de Niquel-Raney y 150 ml de THF. La botella se acopló al hidrogenador, llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y succionó con vacío, esta operación se repitió tres veces; finalmente, se llenó siempre a 60 lb/in² y agitó hasta que consumieron 215 lb/in² en un lapso de 30 min. La mezcla se filtró con succión empleando doble papel filtro Whatman No.2. El filtrado oscuro se llevó a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvieron 11 g de un sólido oscuro, una sola mancha por ccf. Este producto crudo se utilizó inmediatamente para la reacción siguiente de ciclación. p.f. 99-101°C (Lit. 100-101°C, Beil. XII, 729-731).

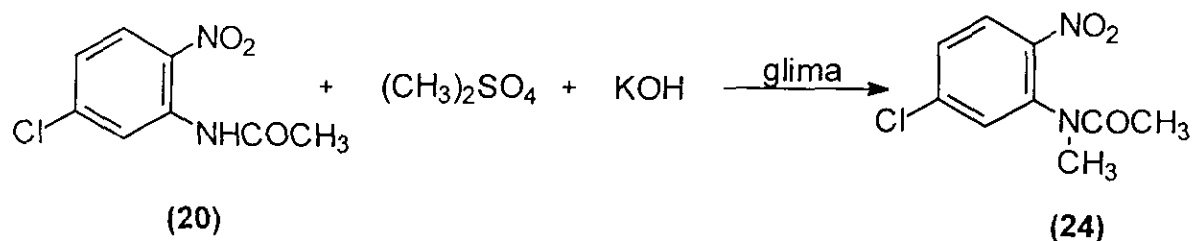
7.5.4. Síntesis de N-Metil-5-cloro-1,2-fenilendiamina (12)

7.5.4.1. 5-Cloro-2-nitroacetanilida (20)



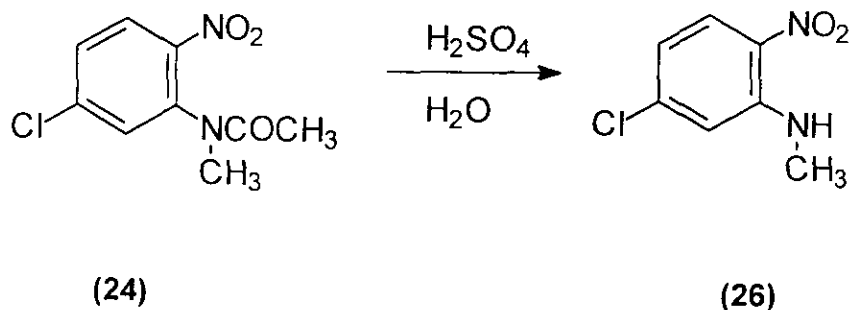
En un matraz de bola de 250 mL con tres bocas 24/40, equipado con agitación magnética, termómetro y condensador de aire en posición de reflujo, y sobre éste un embudo de adición y una trampa anhidra, se colocaron 10 g (0.0579 mol) de 5-cloro-2-nitroanilina (17) pulverizada y se gotearon 6.65 g (6.14 mL, 0.0652 mol, 1.4 eqs.) de anhídrido acético. La adición se hizo de tal forma que la temperatura de reacción no sobrepasara los 80°C. Posteriormente, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y vertió sobre 100 g de agua-hielo. Se formó un precipitado blanco, el cual se separó por filtración al vacío, lavó con agua hasta pH neutro y dejó secar al aire. Se obtuvo 9.5 g (77%) de un sólido amarillo pálido, el cual se utilizó crudo para la siguiente reacción de metilación. p.f. 116-118°C (Lit. 116-118°C, Beil. XII, 729-731).

7.5.4.2 N-Metil-5-cloro-2-nitroacetanilida (24)



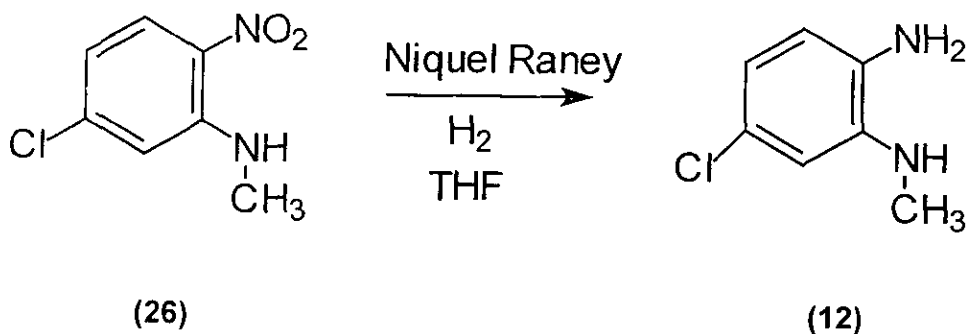
En un matraz de bola de 250 mL con tres bocas 24/40, equipado con agitación magnética, termómetro, embudo de adición y septum, se colocaron 20 g (0.0932 mol) de 5-cloro-2-nitroacetanilida (20) en 17.63 g (13.22 mL, 0.1397 mol, 1.5 eqs.) de sulfato de dimetilo y 15 mL de glime. La mezcla se calentó a 30°C y con agitación vigorosa se agregó, gota a gota, una solución de 5.6 g (0.1397 mol, 1.5 eqs.) de KOH al 50 % m/v en agua, cuidando que la temperatura no sobrepasara los 34°C. Terminada la adición, se continuó la reacción 30 min más; el sólido formado se separó por filtración al vacío, dando 20 g (93.9%) de un sólido amarillo. Este sólido se recrystalizó de etanol, dando 19.3 g (90.6%) de agujas amarillas. p.f. 86-87°C (Lit. 86-87°C, Sánchez-Díaz, 1999).

7.5.4.3 N-Metil-5-cloro-2-nitroanilina (26)



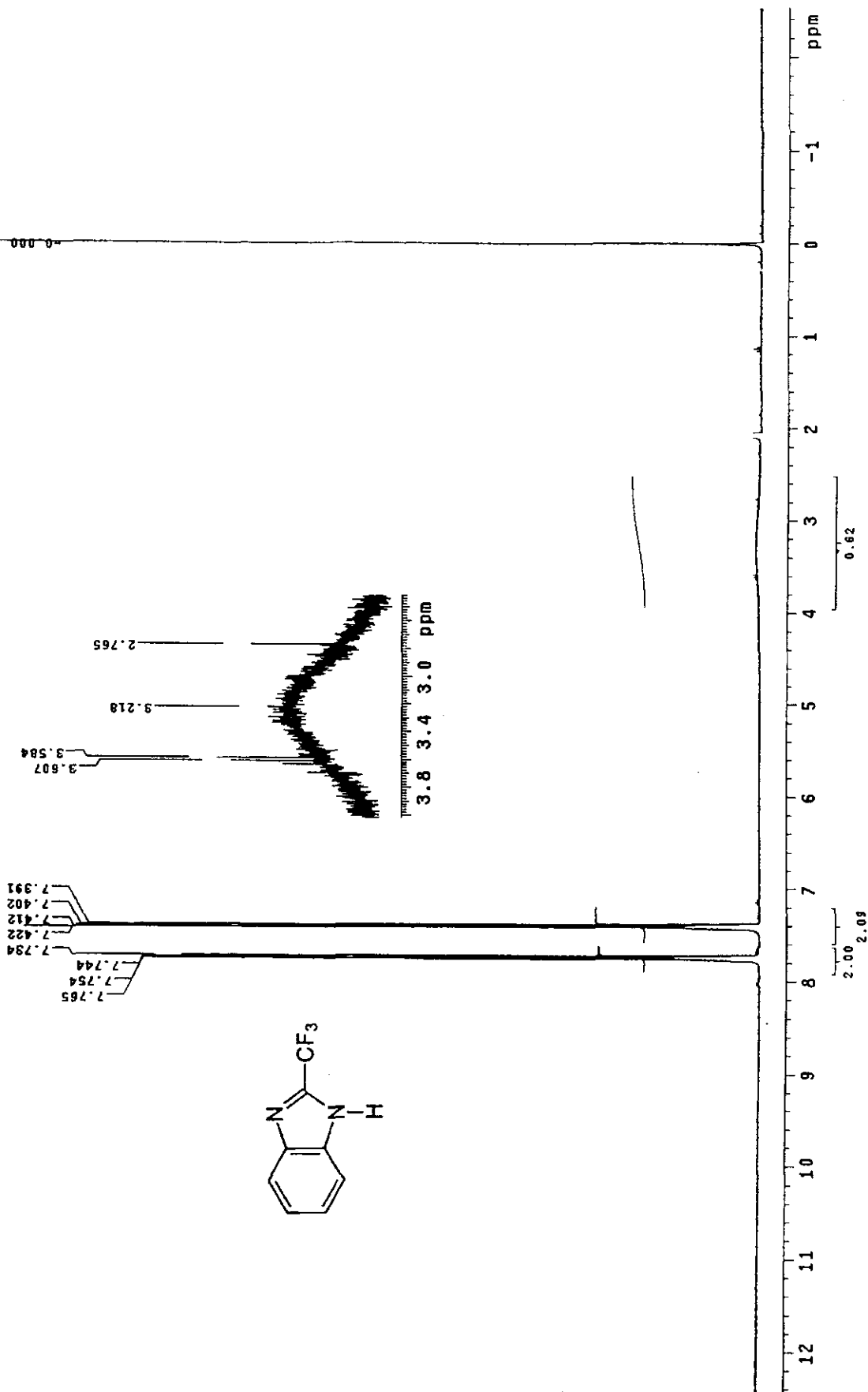
En un vaso de precipitados de 250 mL adaptado con agitación magnética y termómetro, se suspendieron 14 g (0.06123 mol) de N-metil-5-cloro-2-nitroacetanilida (24) en 15 mL ácido sulfúrico concentrado agitados suavemente. Una vez que se incorporó todo el sólido, se agregó 1.1 mL (0.06123 mol, 1 eq.) de agua y la mezcla se calentó a 80-90°C durante 15 min, comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar a 50 °C y se vertió sobre 500 g de hielo. El sólido amarillo que se formó se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro, luego se dejó secar al aire. Se obtuvieron 11.3 g (99%) de un polvo amarillo pálido, una mancha por ccf. Una parte de este sólido se recristalizó de etanol. p.f.104-106°C (Lit. 106-107°C, Beil. XII, 729-731).

7.5.4.4 N-Metil-5-cloro-1,2-fenilendiamina (12)

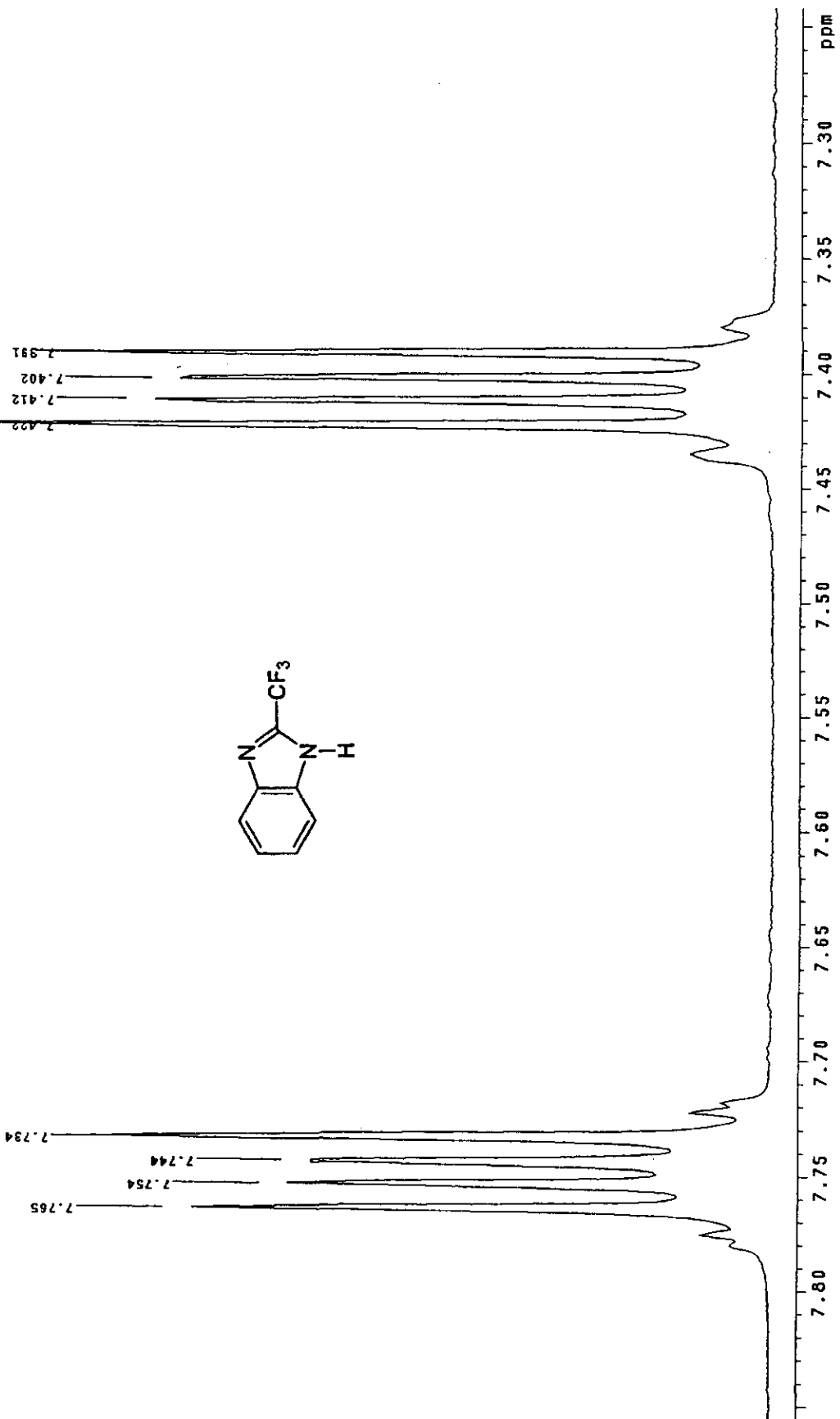


En una botella de hidrogenación Parr de 500 ml se colocaron 9 g (0.0482 mol) de N-metil-5-cloro-2-nitroanilina (**26**), 2 g de Niquel-Raney y 150 ml de THF. La botella se acopló al hidrogenador, llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y succionó con vacío, esta operación se repitió tres veces; finalmente, se llenó siempre a 60 lb/in² y agitó hasta que se consumieron 172 lb/in² en un lapso de 2 h. La mezcla se filtró con succión empleando doble papel filtro Whatman No.2. El filtrado oscuro se llevó a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvieron 7.55 g de un sólido oscuro, una sola mancha por ccf. Este producto crudo se utilizó inmediatamente para la reacción siguiente de ciclación.

USAI 288.7 MHz
 1H 300-2
 14/DICIEMBRE/1999
 Dr. Rafael Castillo Navarrete
 GMV-1/Acetona d-6
 Ref. TMS 0 ppm
 rdm

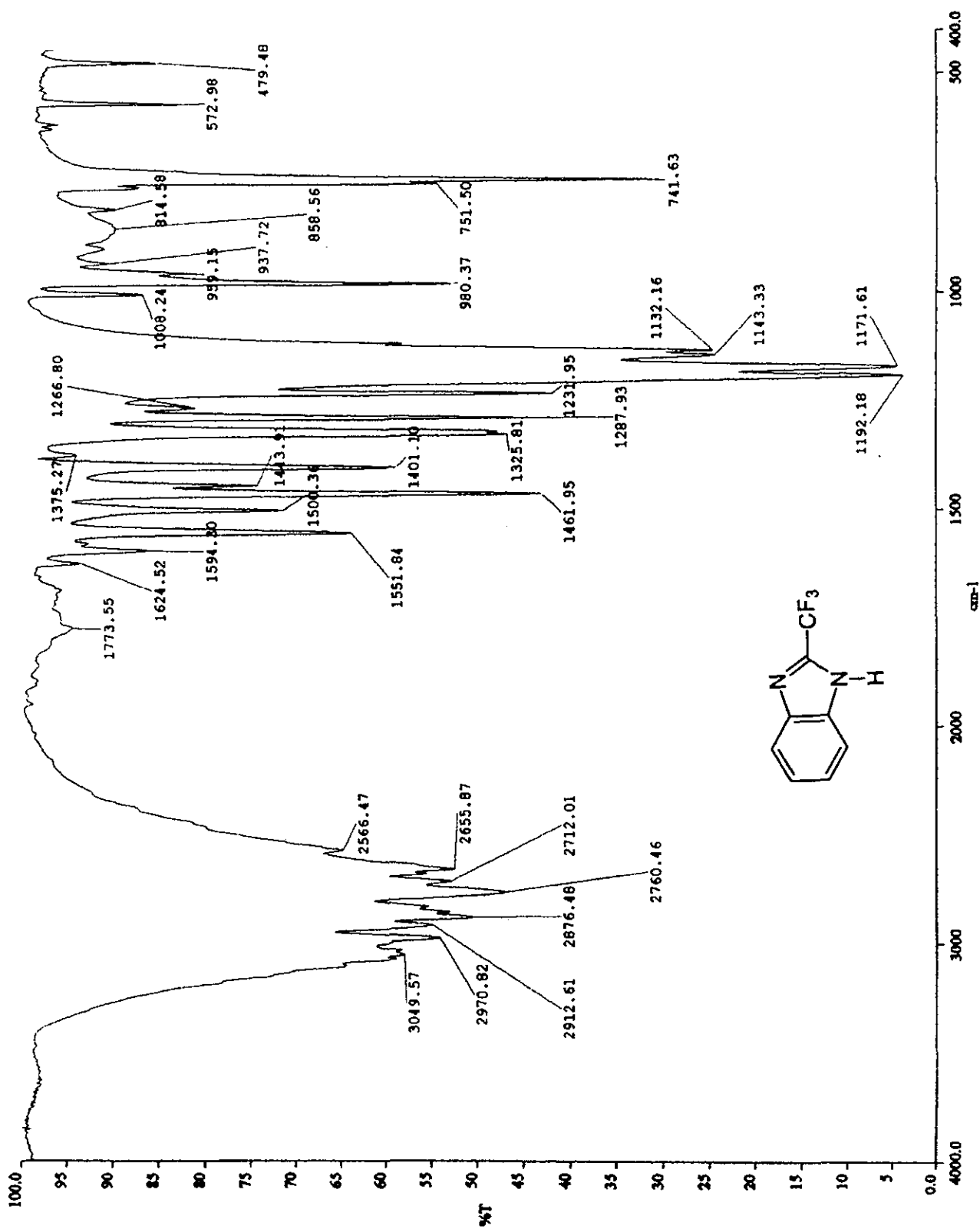


ESPECTRO No . 1. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (1).



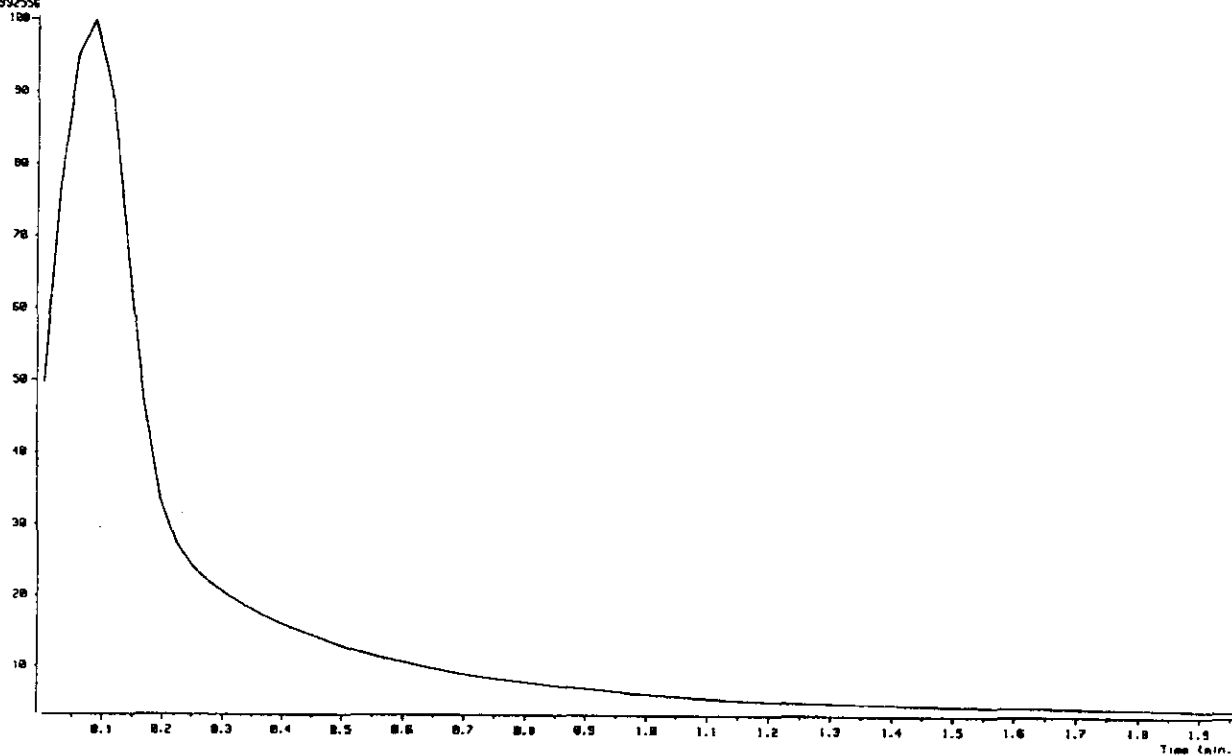
ESPECTRO No. 1 ESPECTRO DE ¹H RMN DE 2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (1).

USAI 299.7 MHz
 1H
 300-2
 14/DICIEMBRE/1993
 Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
 GNV-1/Acetona d-6
 Ref. TMS 0 ppm
 r de

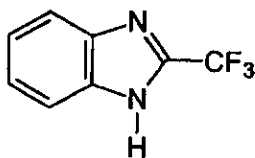
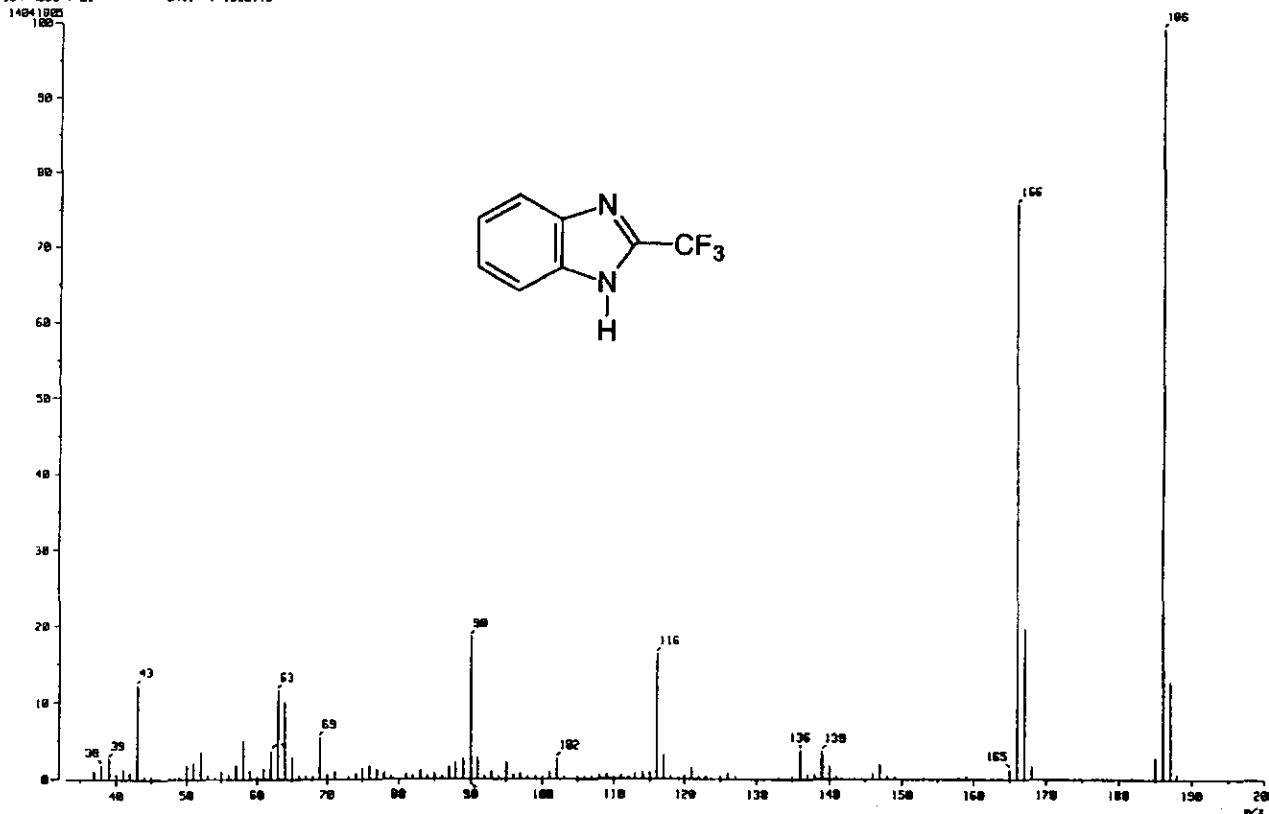


ESPECTRO No. 1. ESPECTRO DE IR DE 2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (1).

(TIC)
 Data : 01959_QW-1_086 Date : 28-Feb-93 16:41
 Sample :
 Note : USRI, Fac. de Química, UNFM.
 Inlet : Direct Ion Mode : E1+
 Ion Species : Normal Ion EHF-Linear
 TIC Range : m/z 33 to 808 Output RT Range : 0.80 to 1.95 min
 54992556

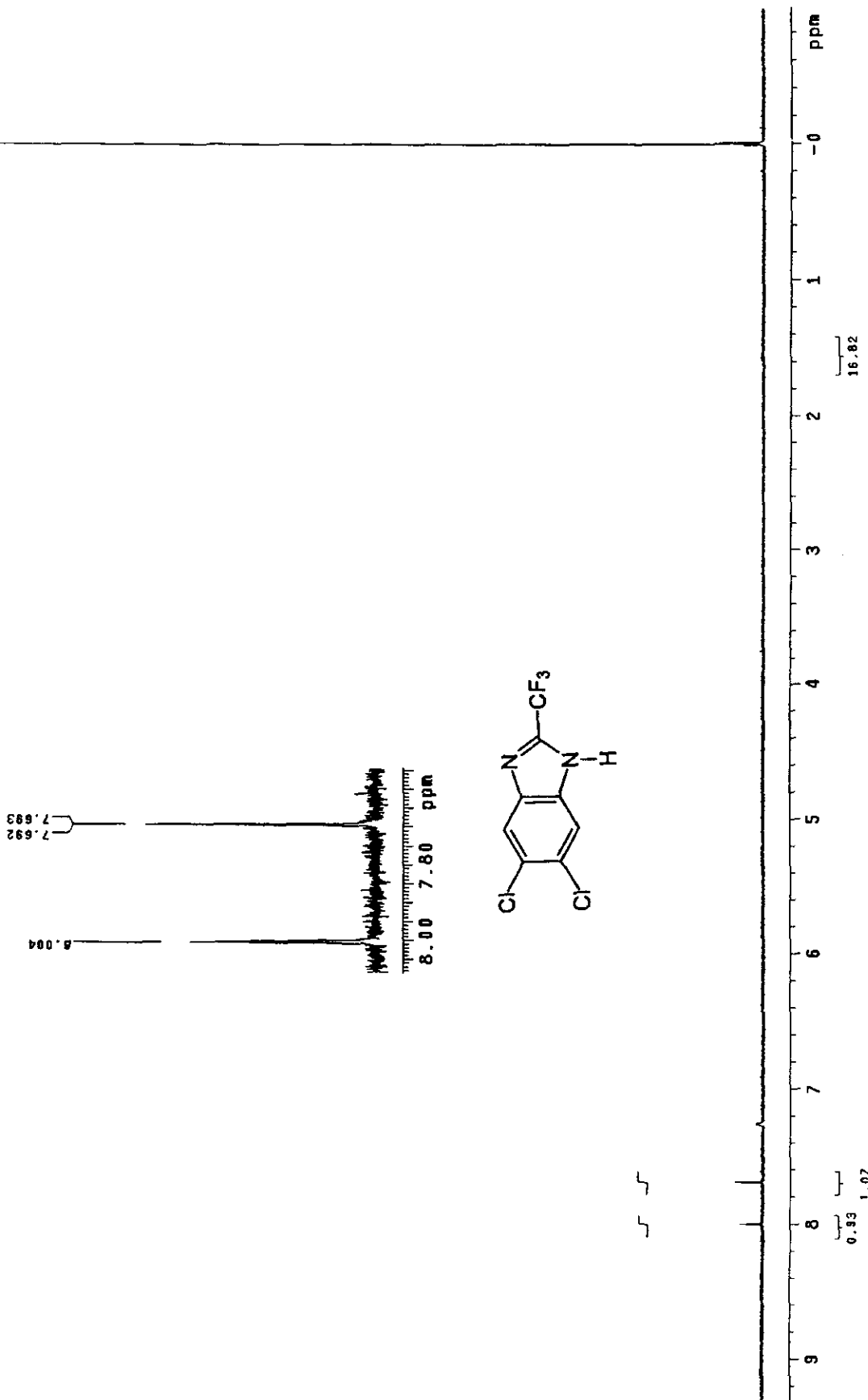


[Mass Spectrum]
 RT : 0.89 Min Scan# : (3,5)-(30,61) Temp : 19.2 deg.C
 Ion Mode : E1+ Ine. : 1339.13

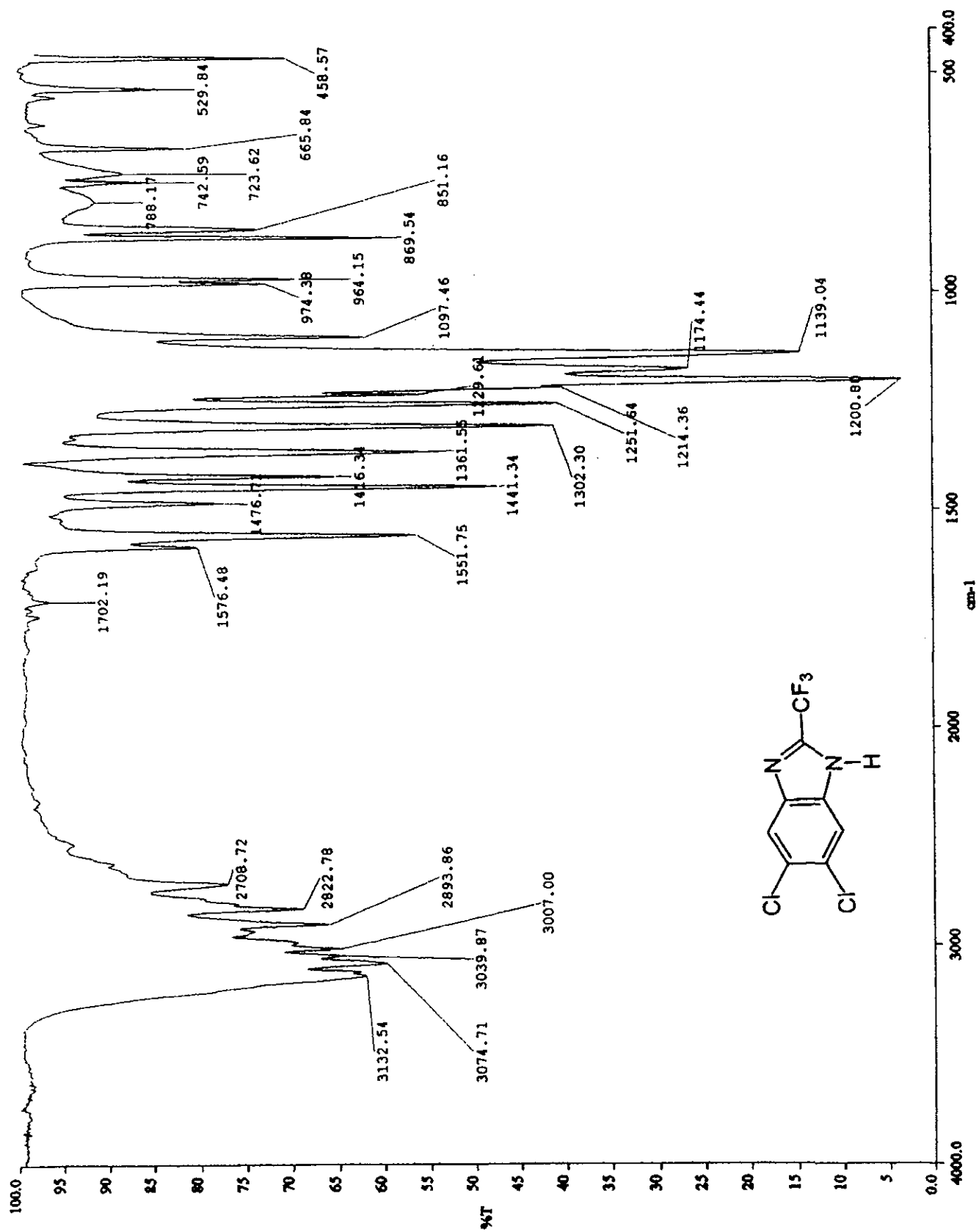


ESPECTRO No. 3 . ESPECTRO DE MASAS DE 2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (1)

USAI
1H 293.7 MHz
300-2
14/DICIEMBRE/1993
Dr. Rafael Castillo/Gabriel Mavarrate
OMV-2/CDC13
Ref. TMS 0 ppm
r-dm

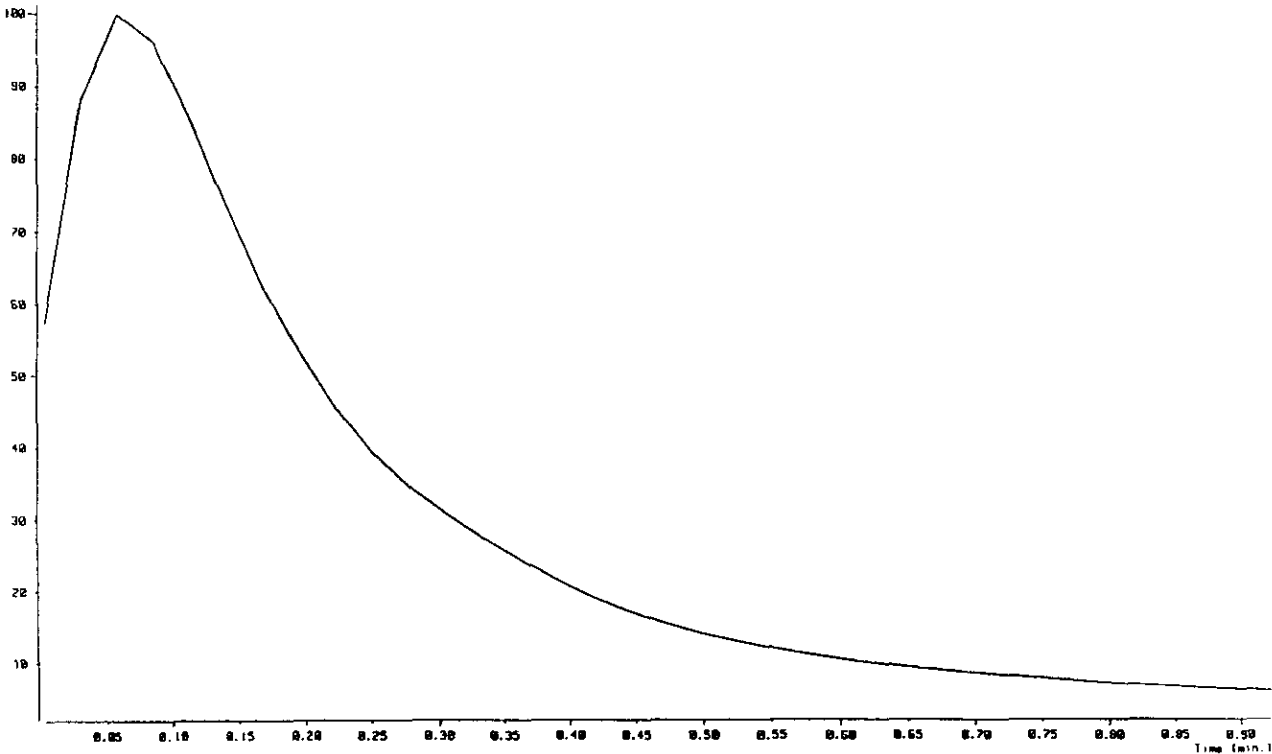


ESPECTRO No . 4 . ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5,6-DICLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (2).

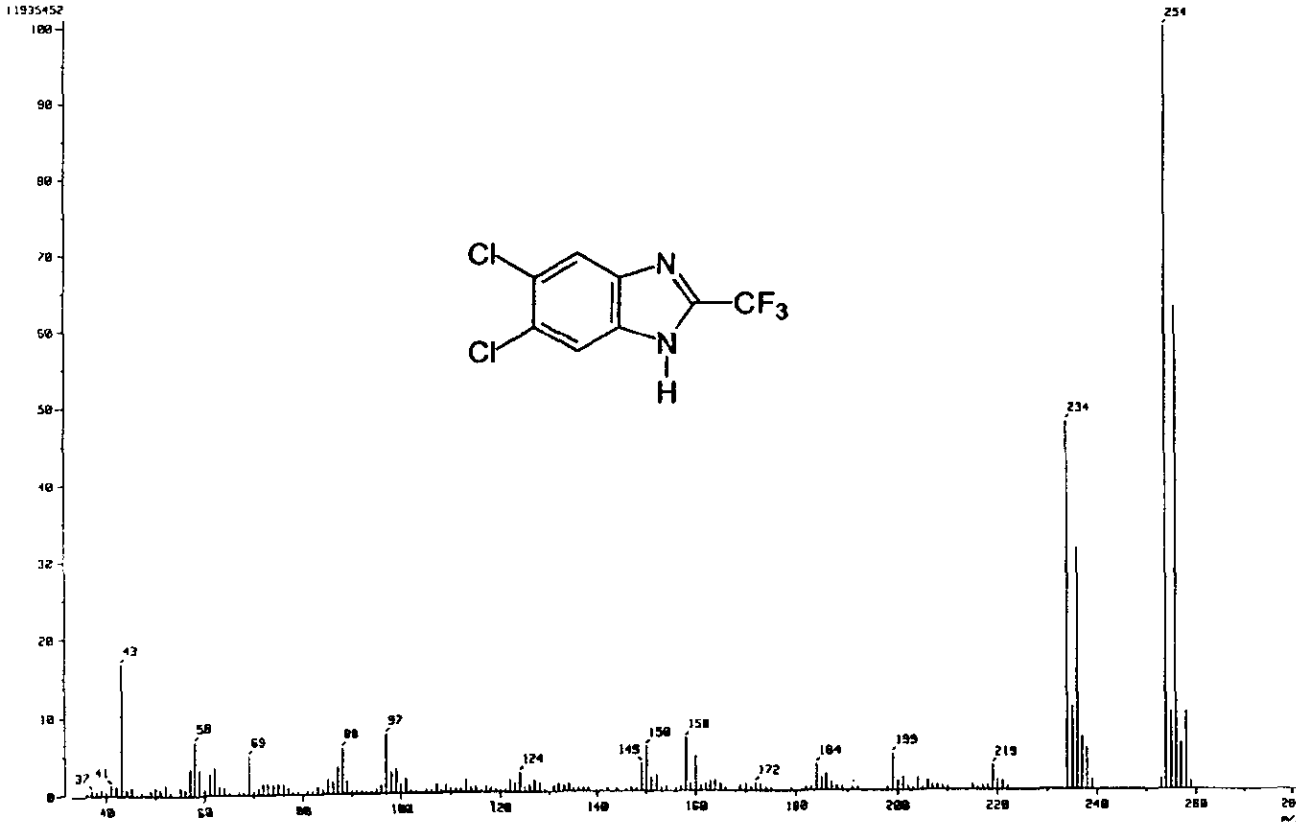


ESPECTRO No 5 . ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (2).

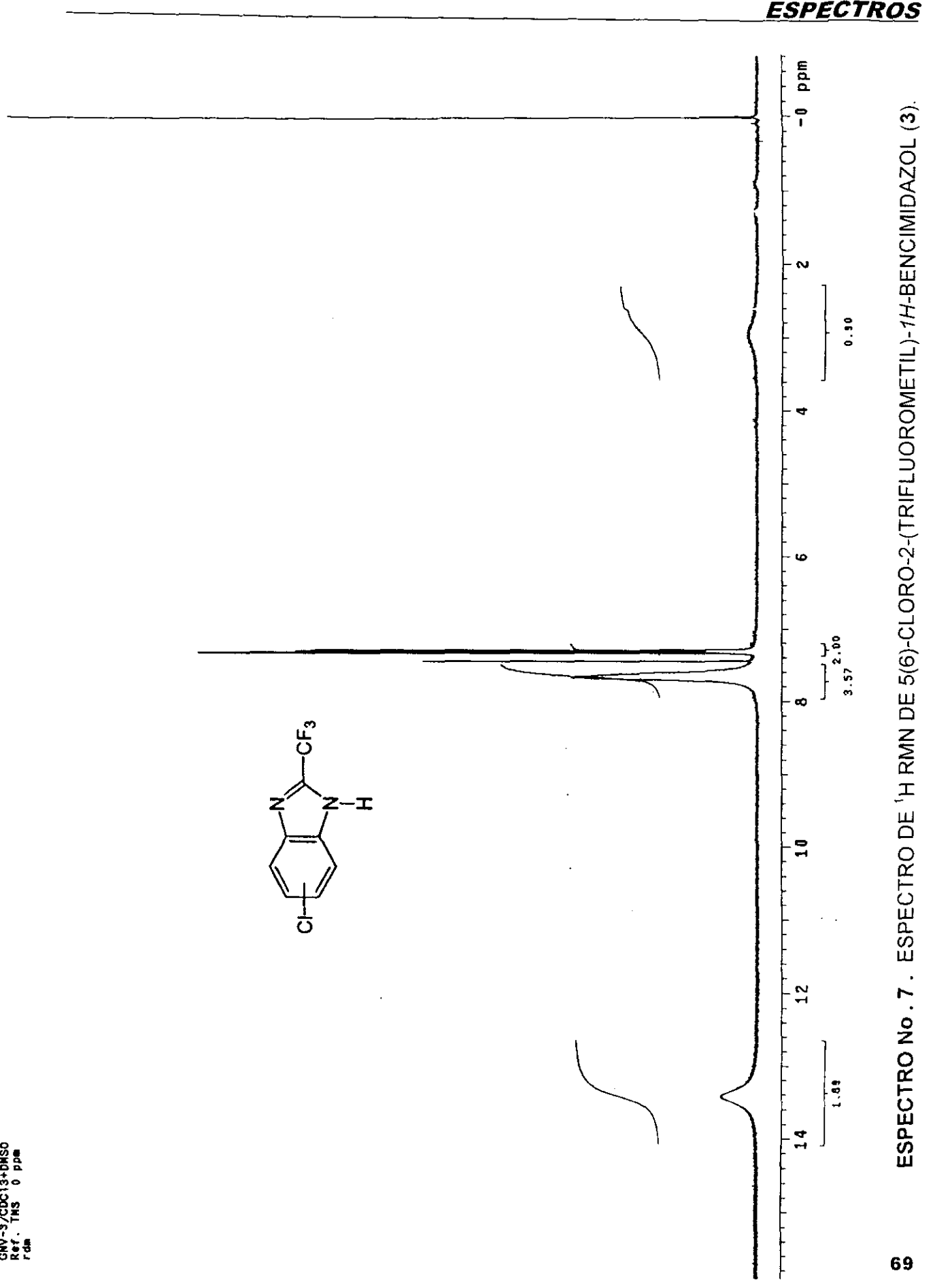
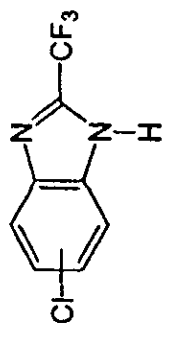
(TIC)
 Data : 011960_GNV-2_003 Date : 28-Feb-99 12:12
 Sample:
 Note : LSRI, Fac. de Quimica, UNFM.
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Ion Species : Normal Ion (MF-Linear)
 TIC Range : m/z 33 to 888 Output RT Range : 0.00 to 0.92 min
 59069528



[Mass Spectrum]
 RT : 0.06 min Scan# : (3,4)-(24,35) Temp : 14.2 deg.C
 Ion Mode : EI+ Int. : 1125.25

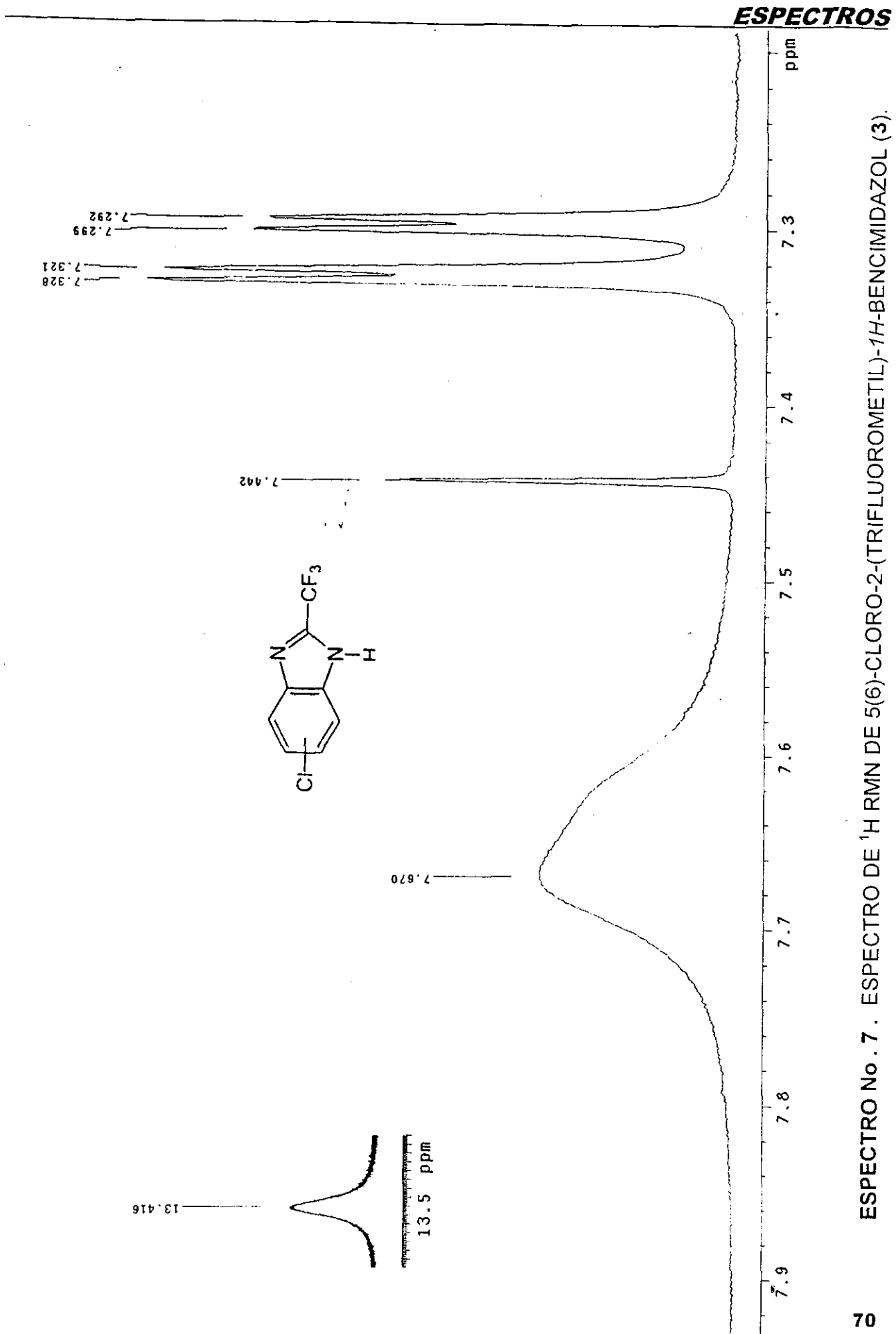


USAJ
1H 299.7 MHz
309-2
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo Navarrete
INV-3/CDC13+DMSO
Ref. TMS 0 ppm
rdm

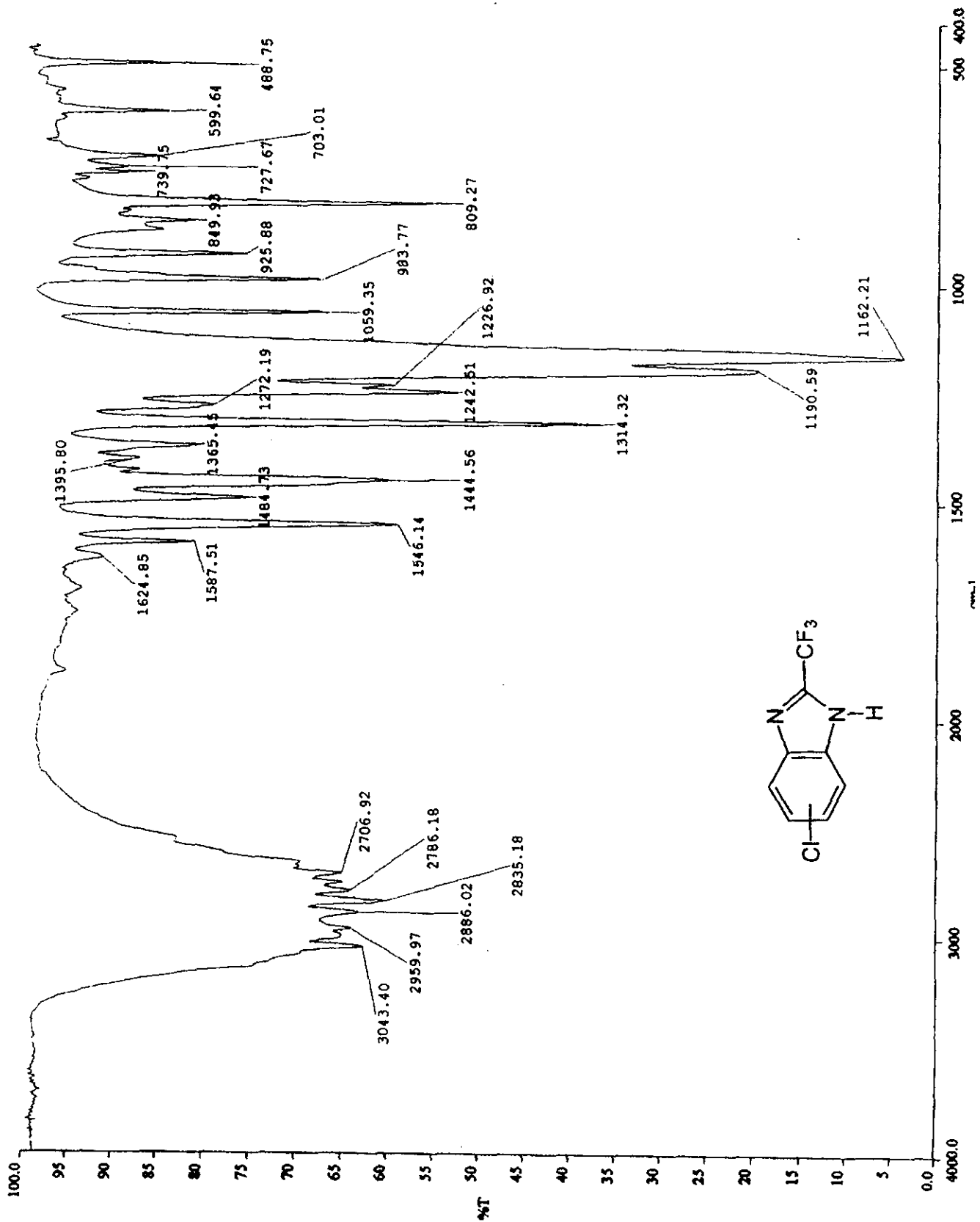


69 ESPECTRO No. 7. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5(6)-CLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (3).

300-2
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
GNY-3/CDC13+DMSO
Ref. TMS 0 ppm
rdm

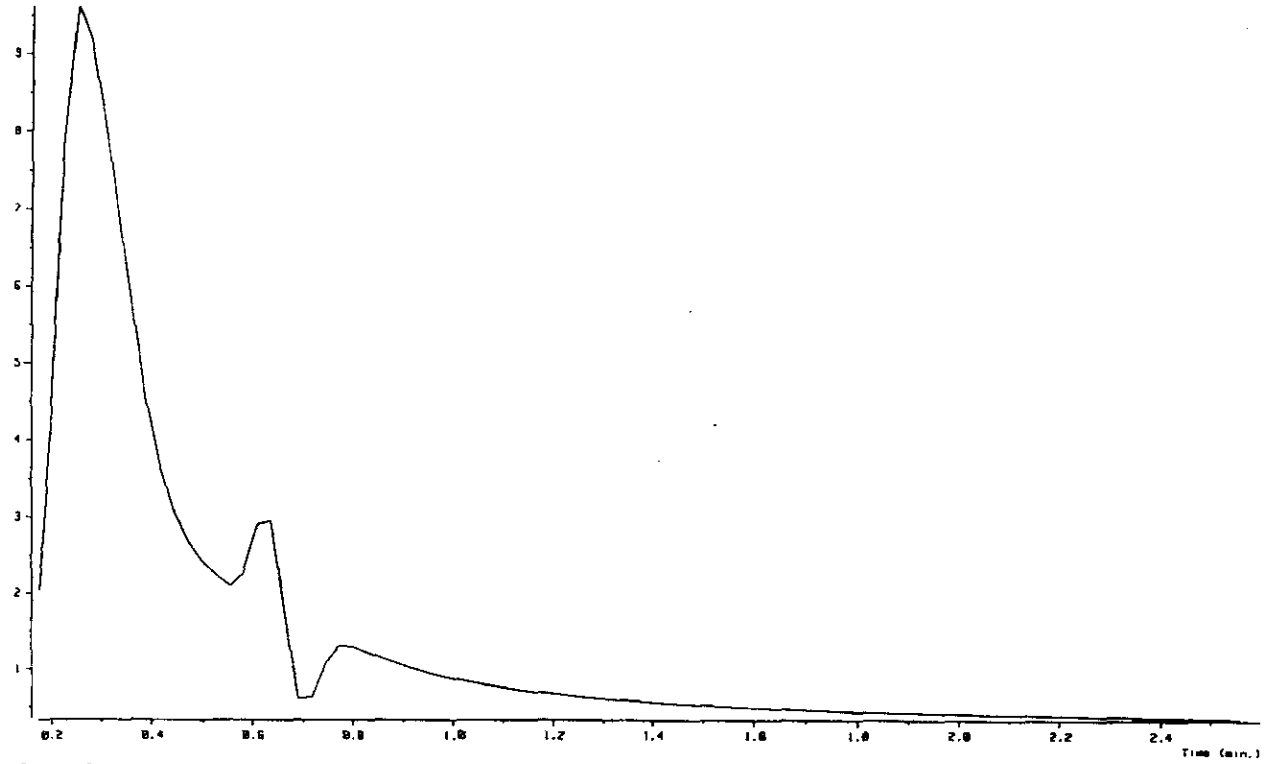


ESPECTRO No . 7 . ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5(6)-CLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (3).

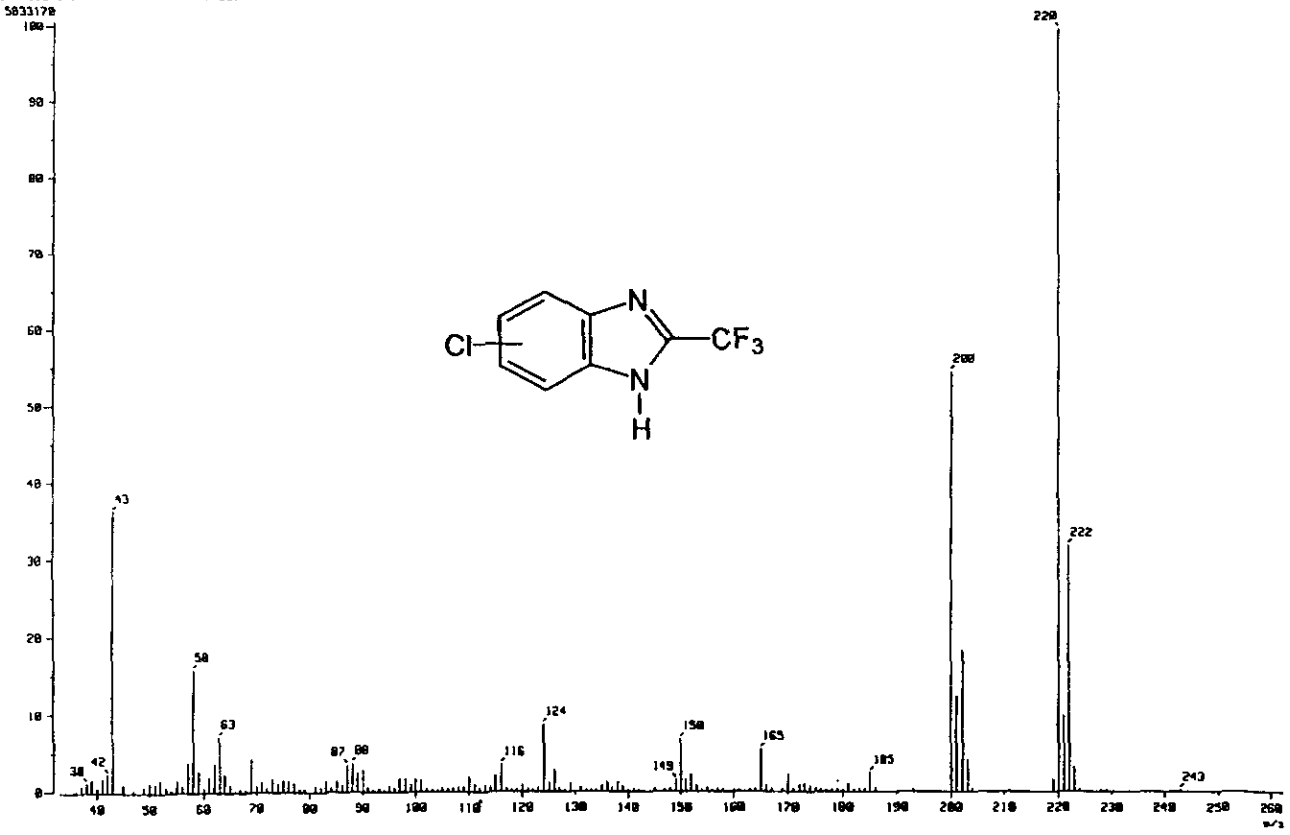


ESPECTRO No. 8 . ESPECTRO DE IR DE 5(6)-CLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (3).

[TIC]
Data : 071961_QW-3_003 Date : 28-Feb-99 18:00
Sample:
Note : USPI, Fac. de Quimica, UNFM.
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Ion Specimen : Normal Ion [MF-Linear]
TIC Range : m/z 33 to 800 Output RT Range : 0.17 to 2.68 min
29340270

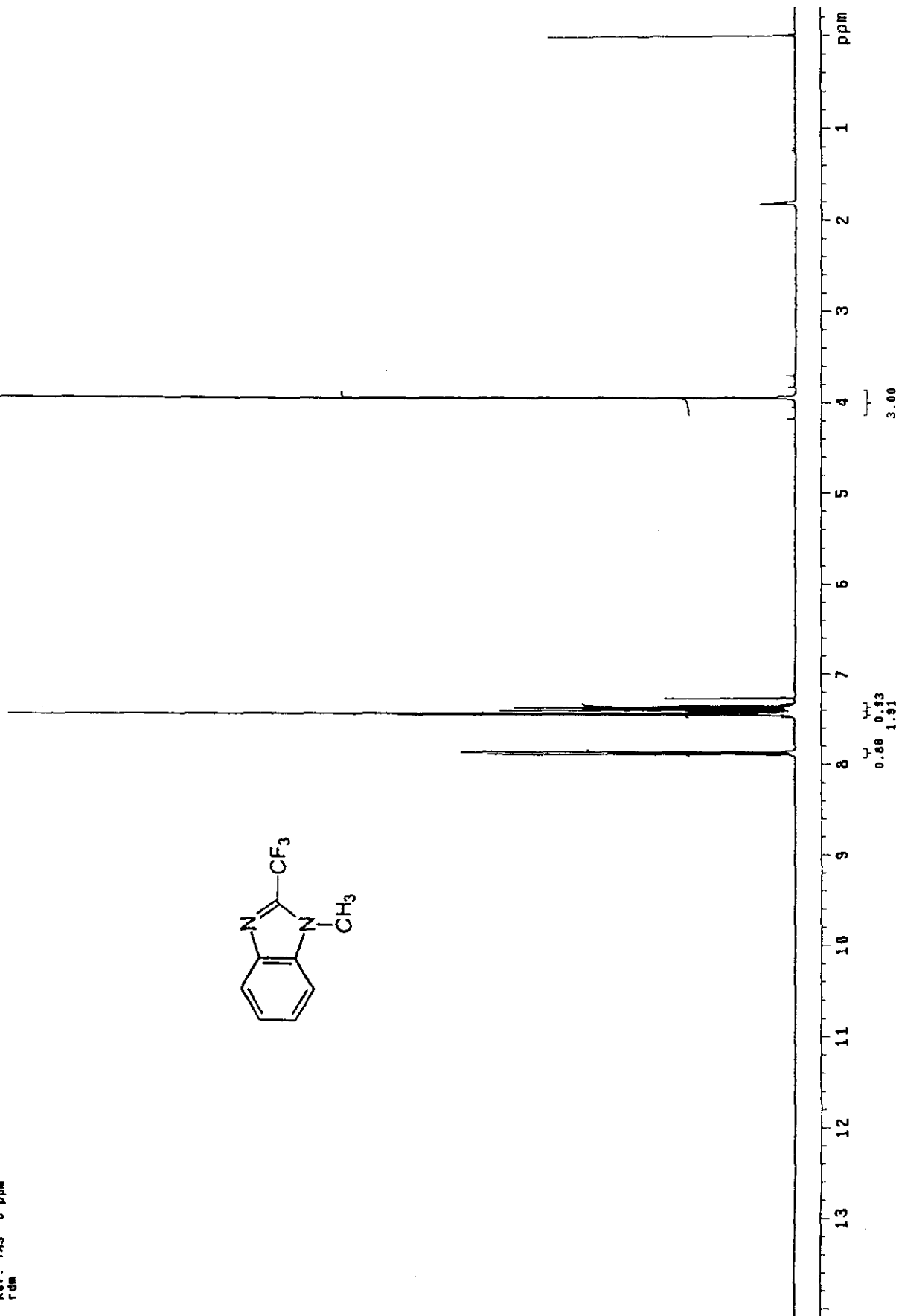
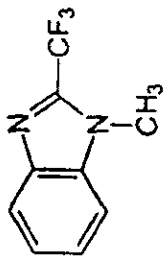


[Mass Spectrum]
RT : 0.28 min Scan# : 118,121-141,62 Temp : 19.2 deg.C
Ion Mode : EI+ Int. : 553.18



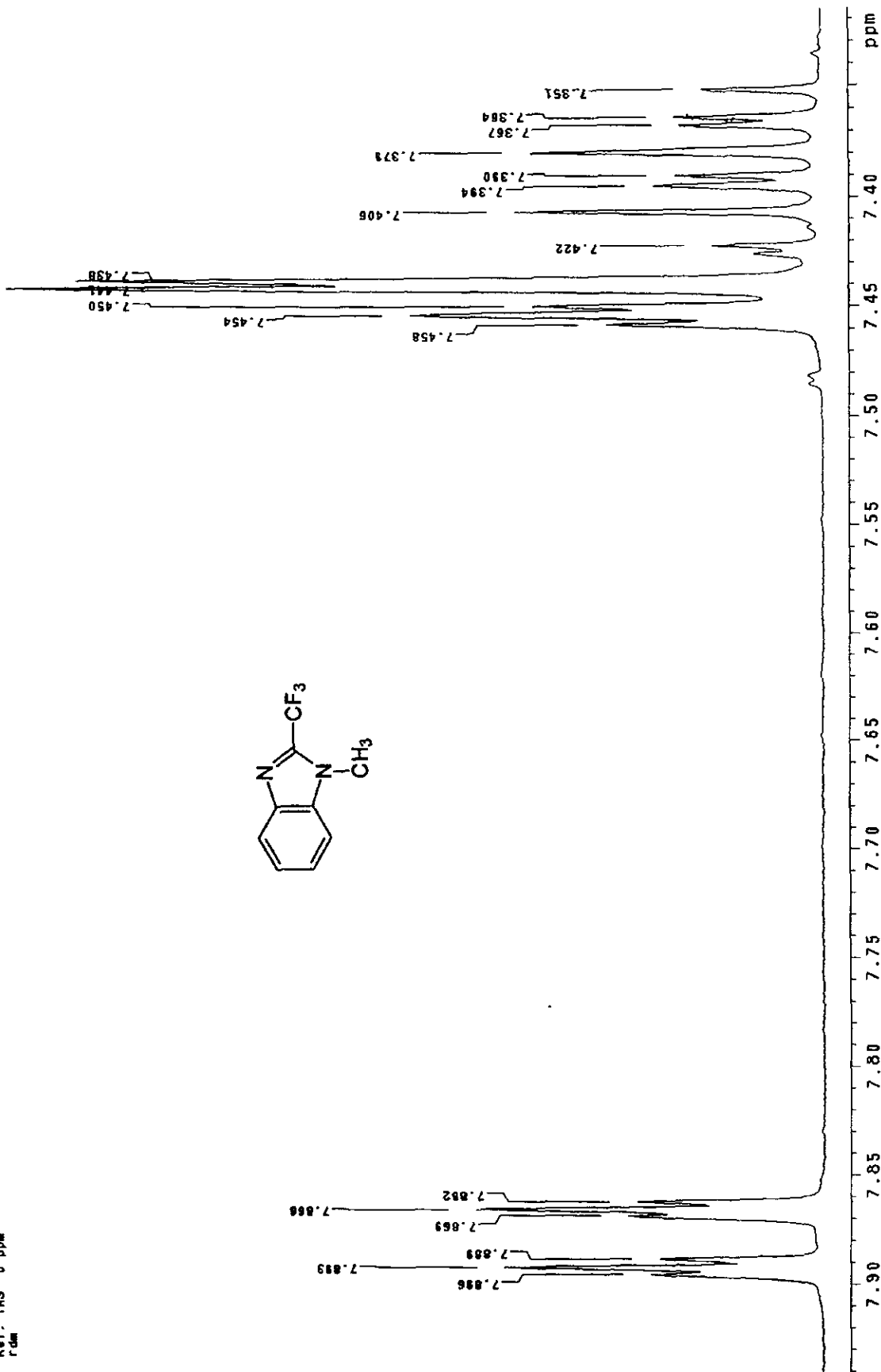
ESPECTRO No . 9 . ESPECTRO DE MASAS DE 5(6)-CLORO-2-(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL (3).

USAI
 1H 299.7 MHz
 10-2
 300-2
 14/DICIEMBRE/1999
 Dr. Rafael Castillo Navarrete
 GMV-4/CDC13-DMSO
 Ref. TMS 0 ppm
 rcm

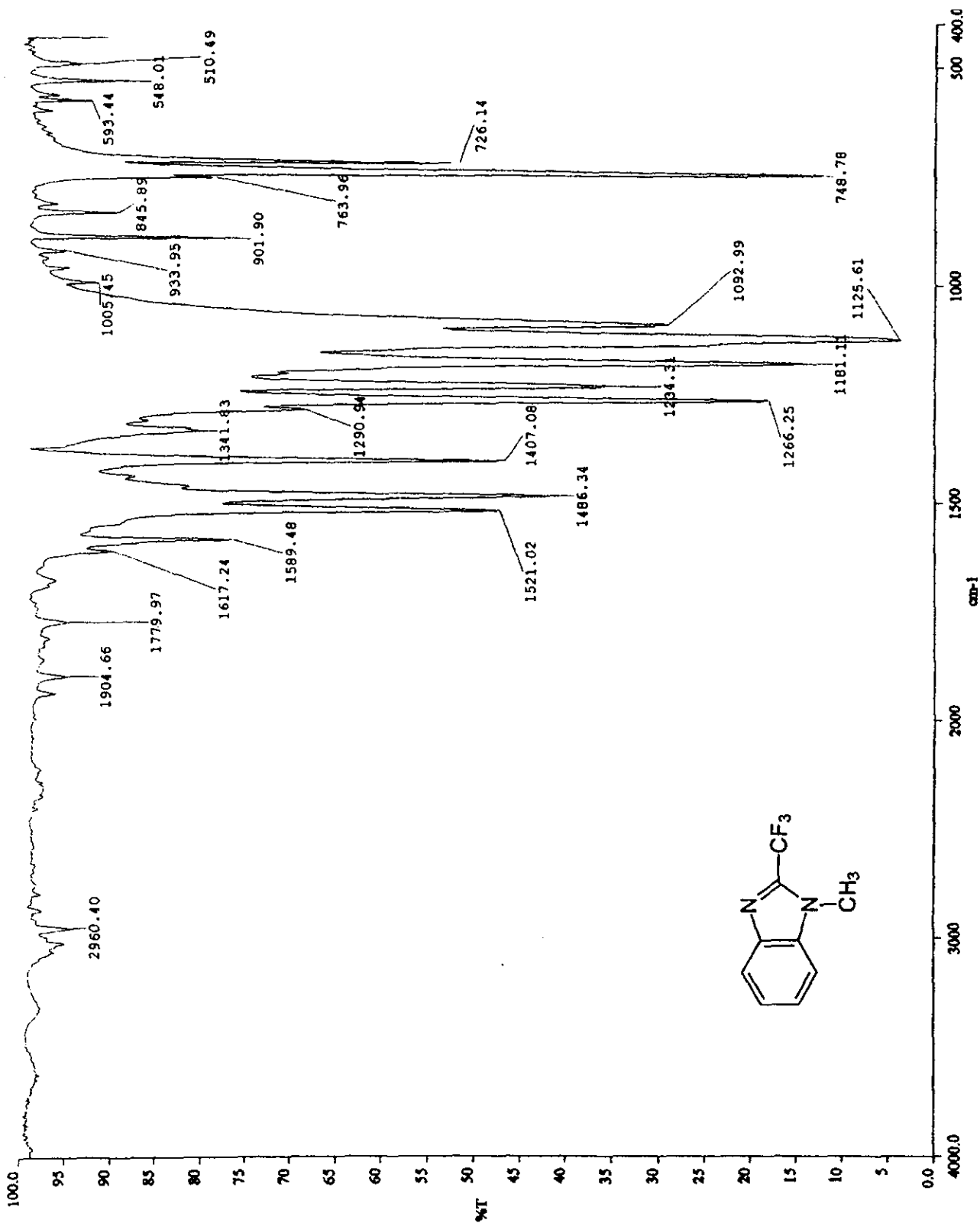


ESPECTRO No. 10. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (4).

ESPECTRO No. 10. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (4).

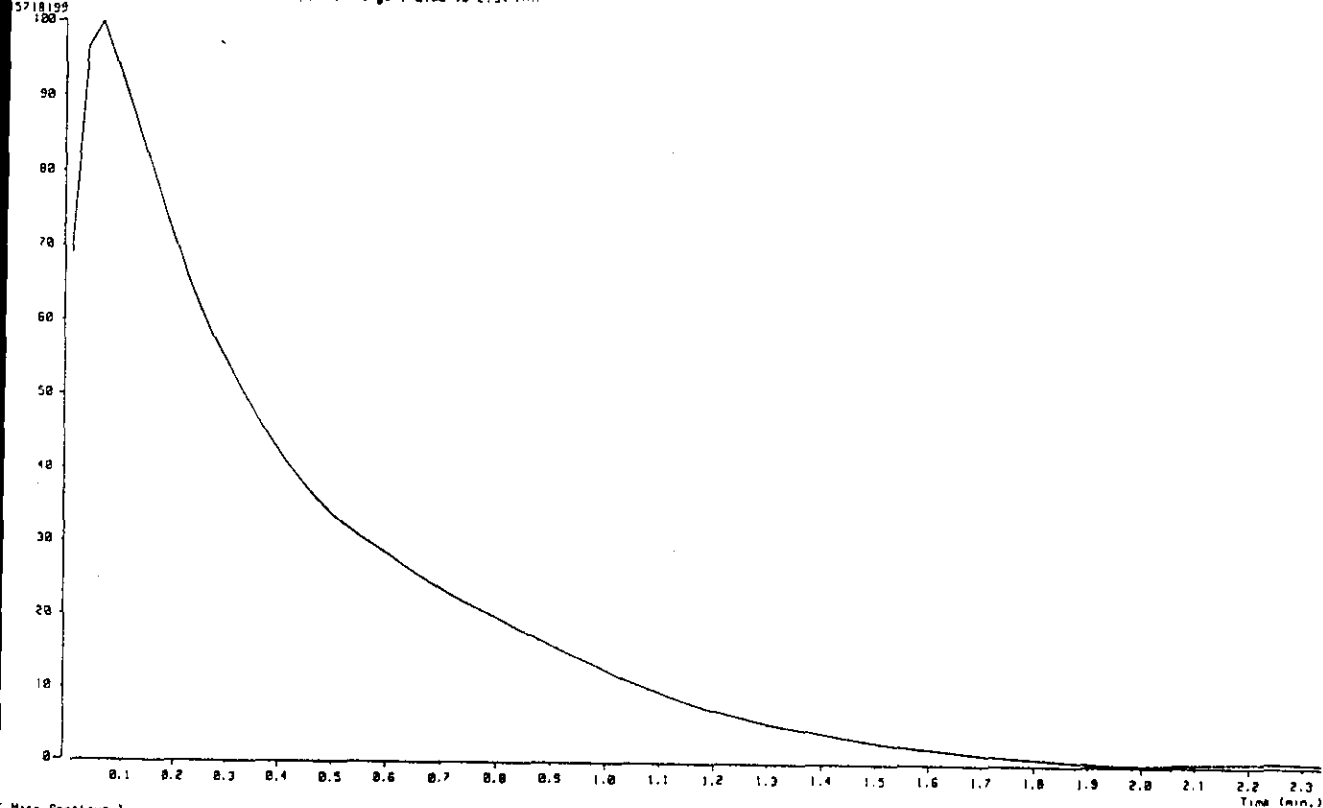


USAI
 IH 283.7 MHz
 300-2
 14/OCTUBRE/1985
 Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
 GNV-4/CDC13-DMSO
 Ref. TMS 0 ppm
 r dm

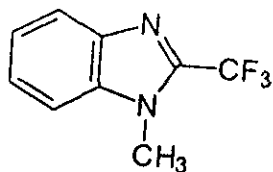
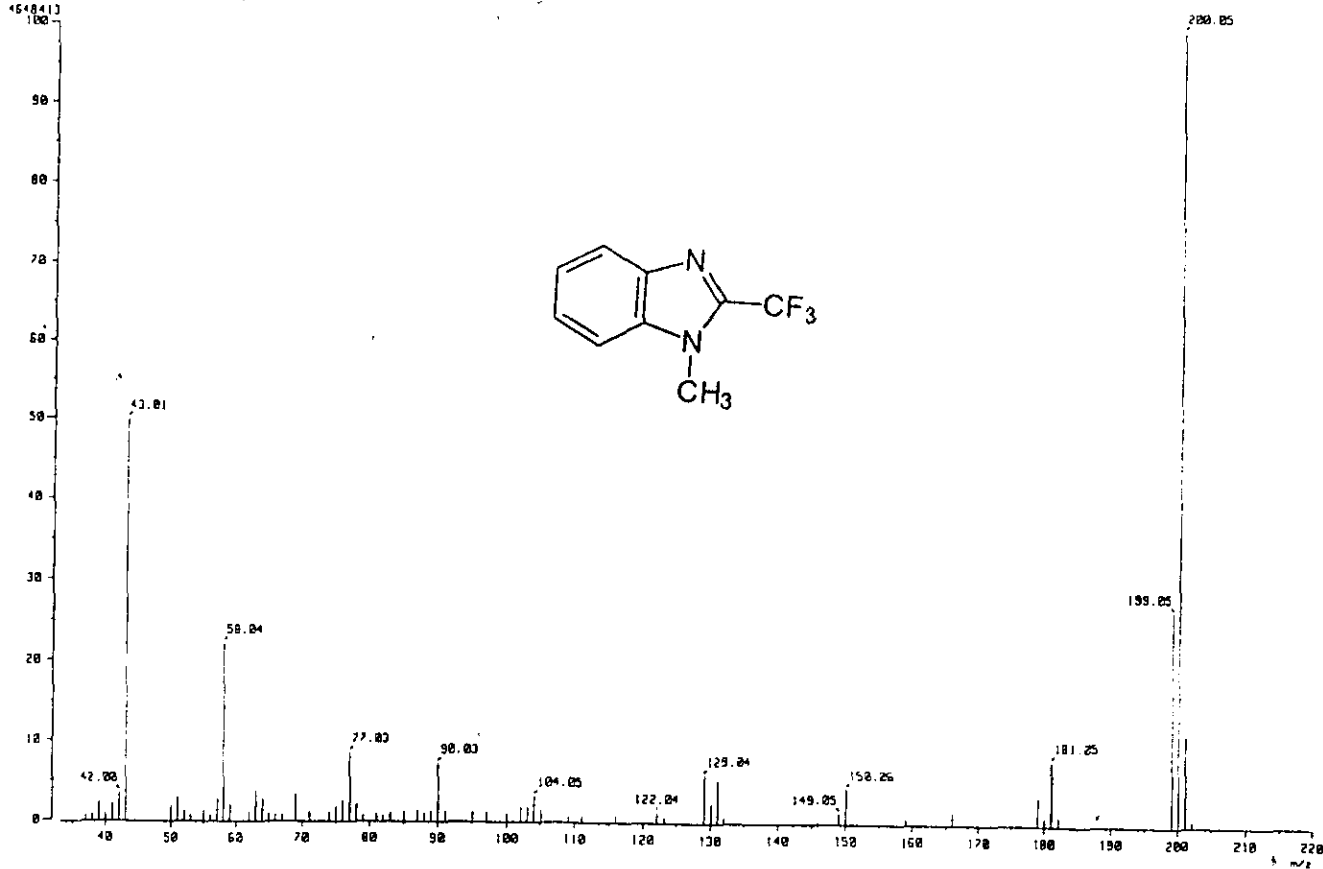


ESPECTRO No. 11 . ESPECTRO DE IR DE 1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (4).

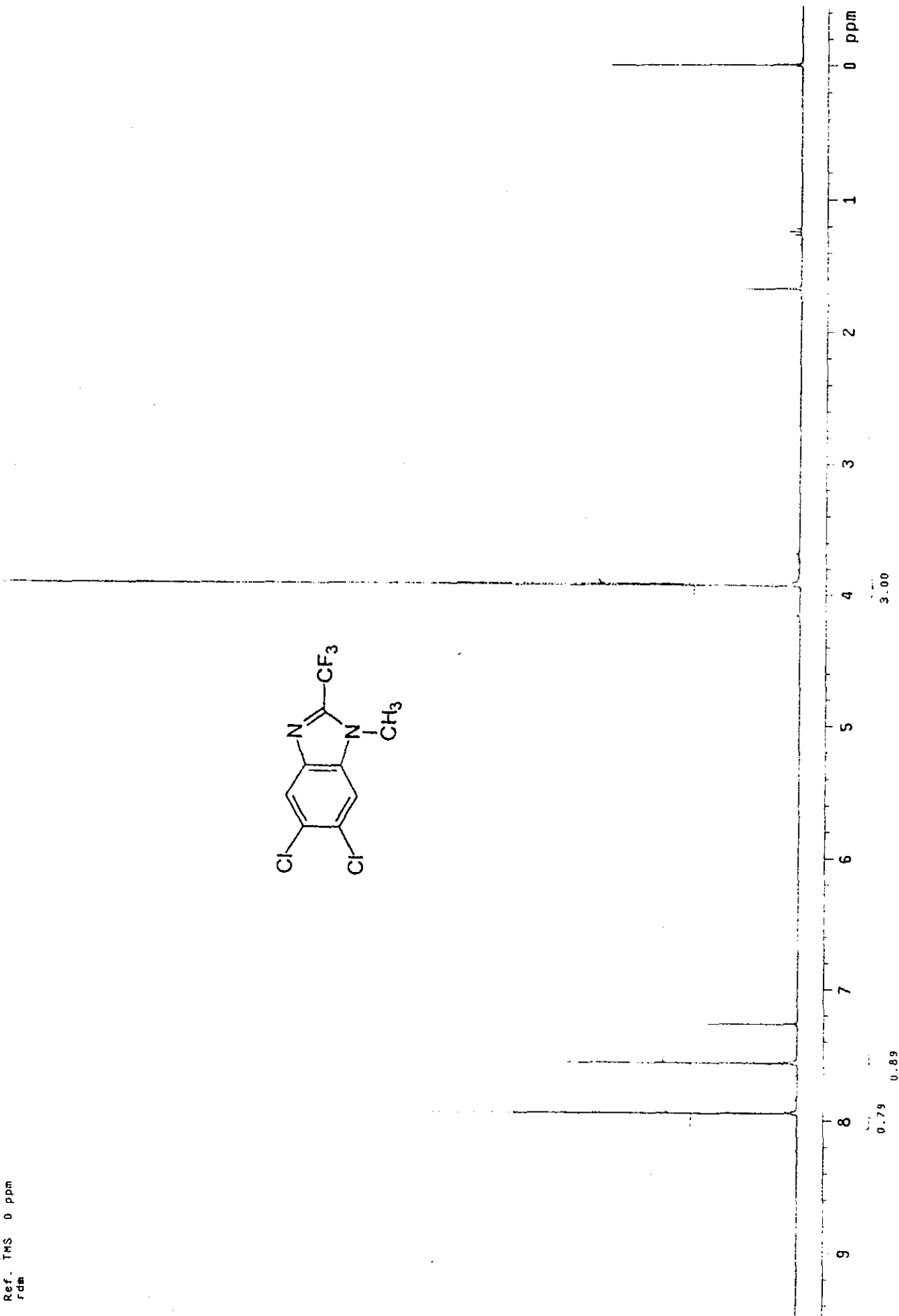
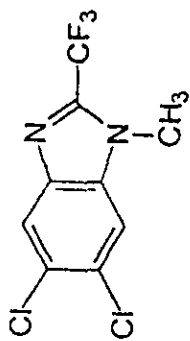
TIC)
 Data : 011951_QW-4_002 Date : 20-Feb-99 18:24
 Sample :
 Site : USRI, Fac. de Quimica, UNAM.
 Method : Direct Ion Mode : CI+
 Scan Speed : Normal Ion (MF-Linear)
 GC Range : m/z 33 to 800 Output RT Range : 0.00 to 2.34 min



Mass Spectrum)
 RT : 0.06 min Scan# : (2,4)-(50,86) Temp : (21) deg.C
 Ion Mode : CI+ Int. : 443.31

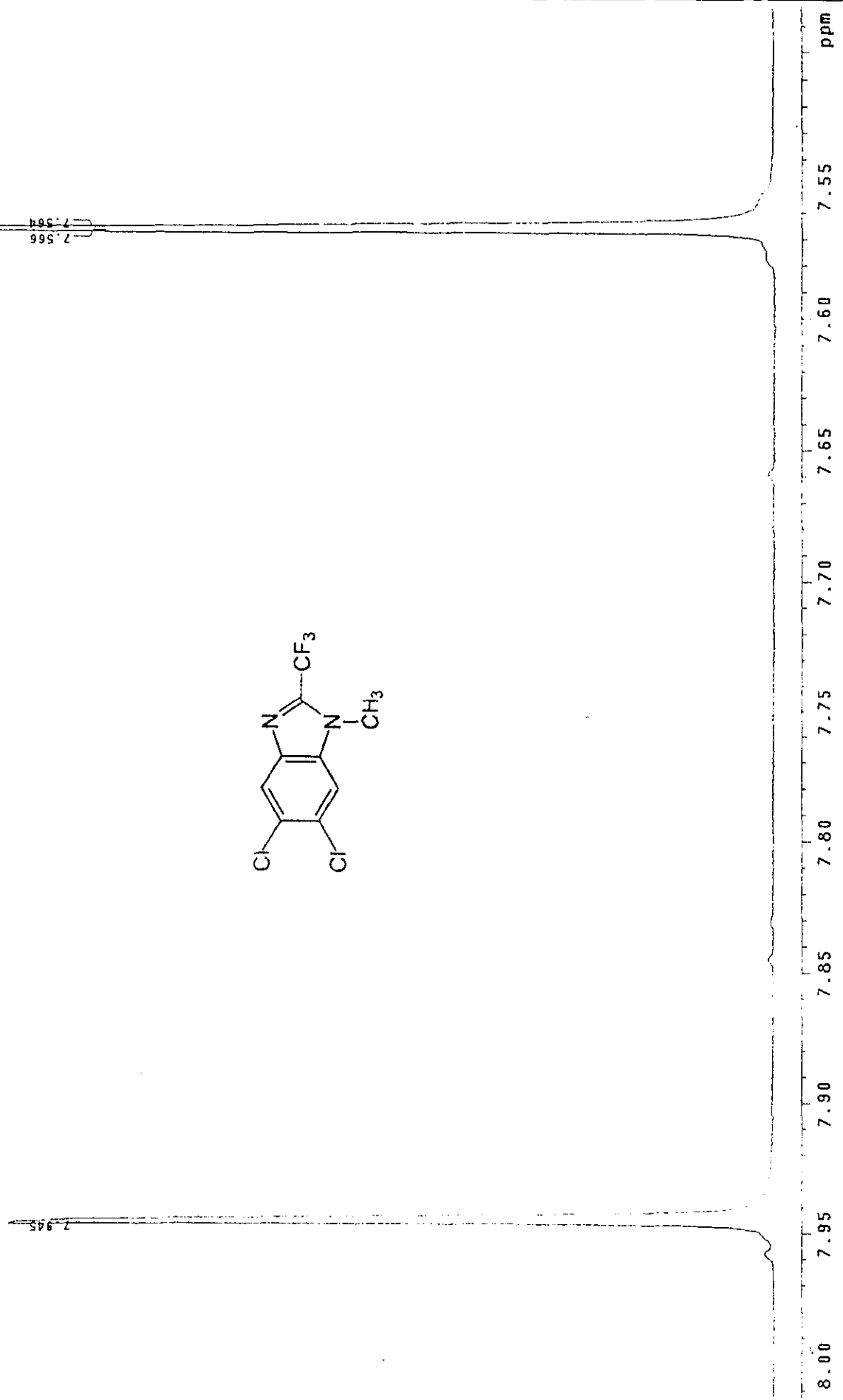
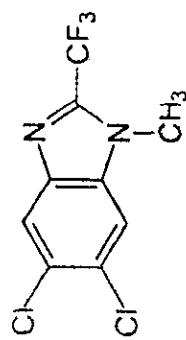


ESPECTRO No. 12. ESPECTRO DE MASAS DE 1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (4).



77 ESPECTRO No . 13 . ESPECTRO DE ¹ H RMN DE 5,6-DICLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (5).

3007
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
GMV-5/CDC13
Ref. TMS 0 ppm
rdm

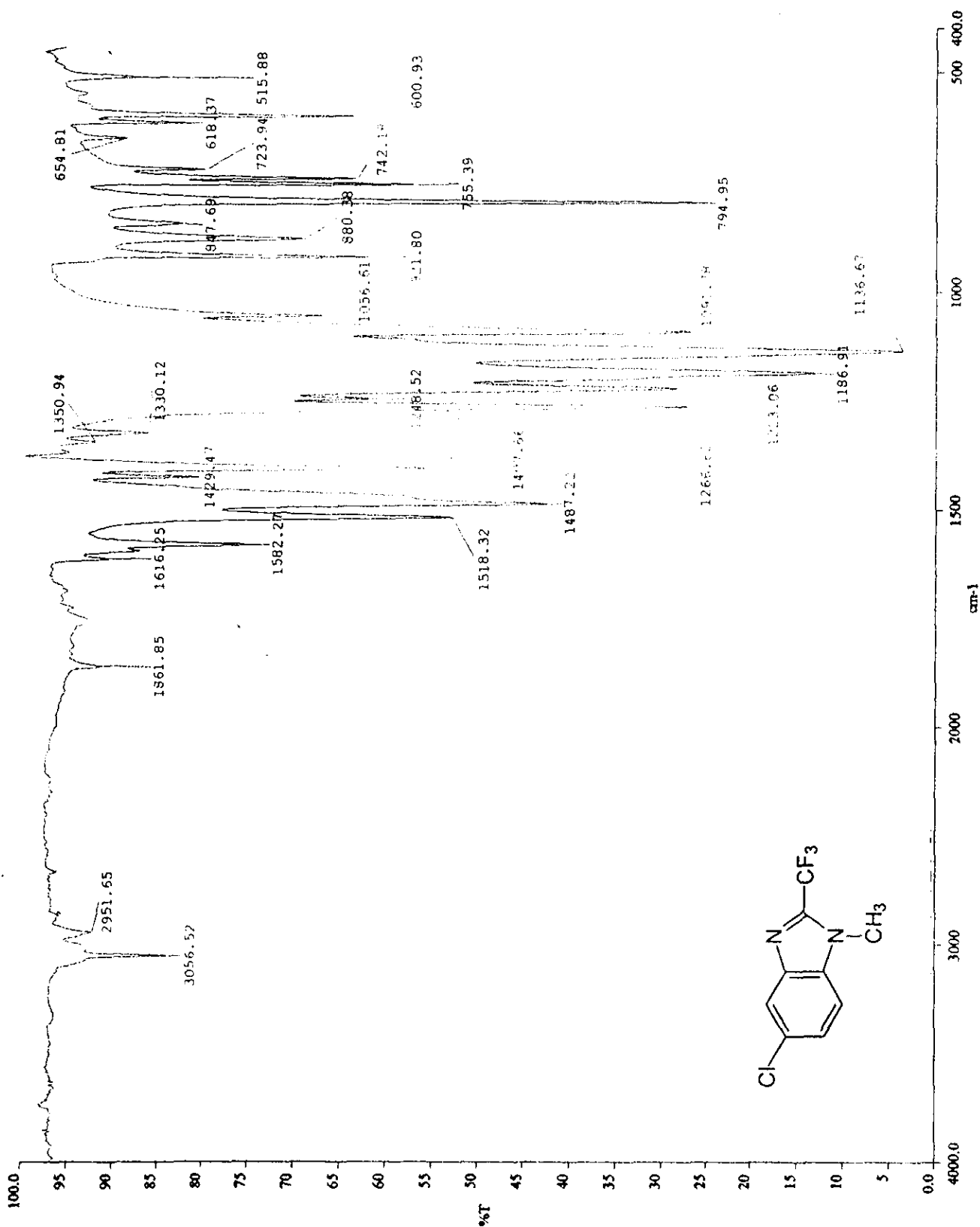


78 ESPECTRO No. 13. ESPECTRO DE 1H RMN DE 5,6-DICLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (5).

300-2
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
GNV-5/CDC13
Ref. TMS 0 ppm
rdm

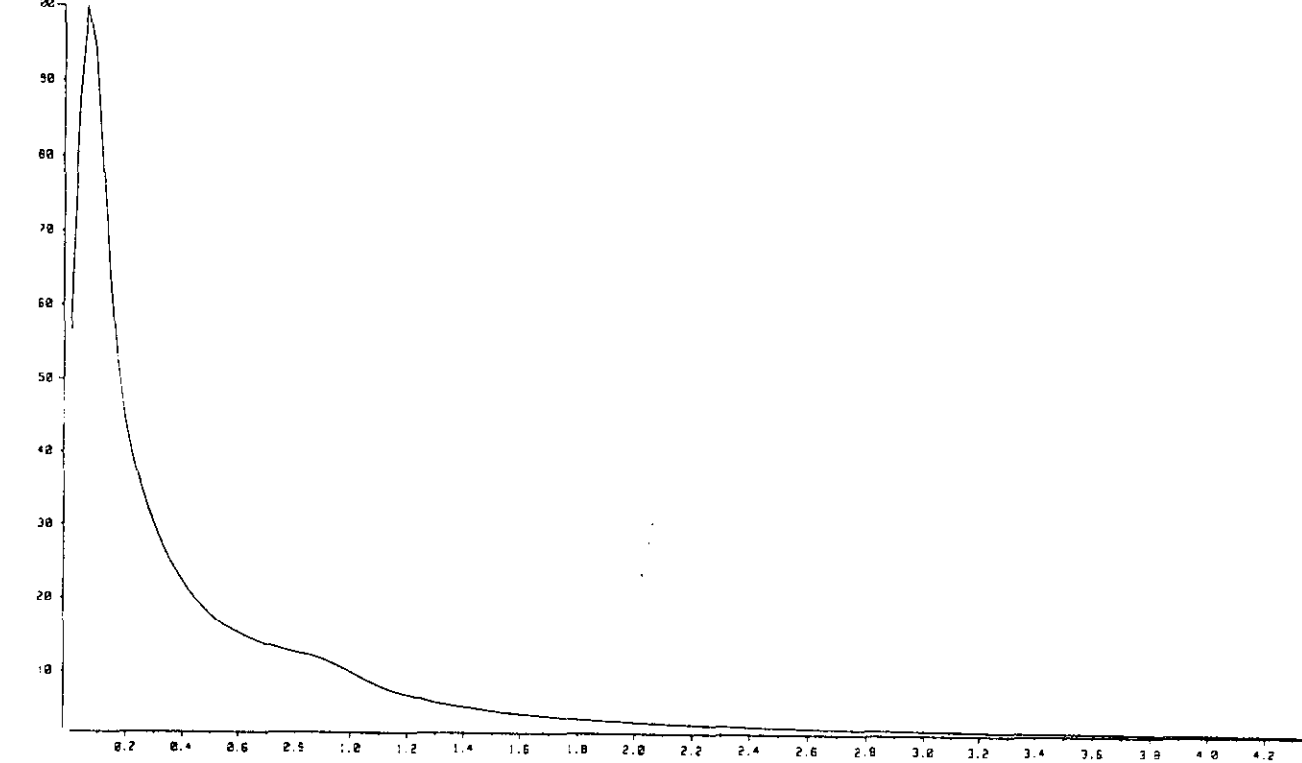
ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

ESPECTROS

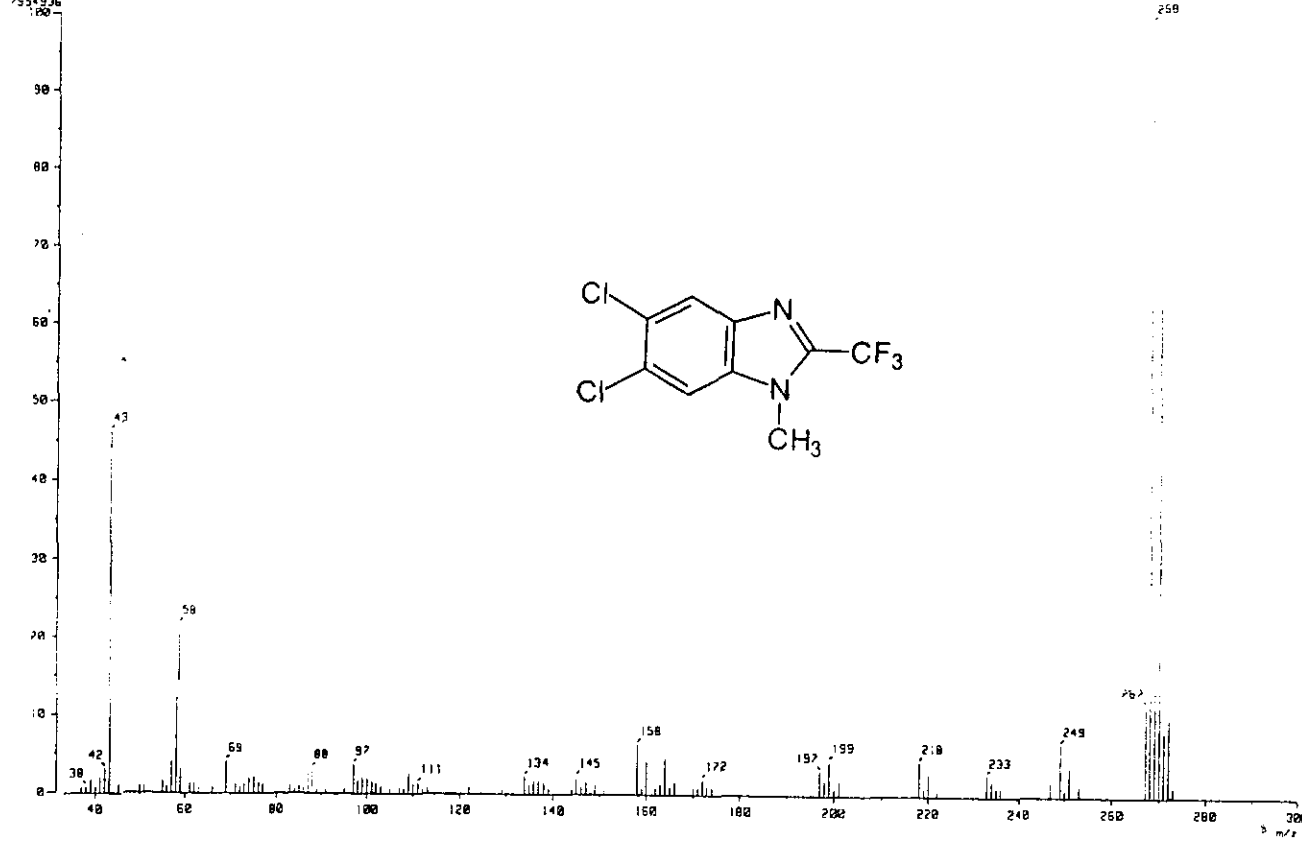


ESPECTRO No. 14. ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (5).

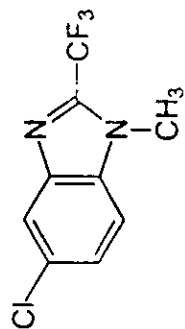
(FIC)
 Data: 011963_GW-5_002 Date: 28-Feb-99 15:11
 Sample:
 Note: USPFI, Fac. de Quimica UNFM
 Ion Mode: Direct Ion Mode: (1)
 Ion Scavenger: Normal Ion (19+) Near
 TIC Range: m/z 33 to 322 Output: RI Range: 2.22 to 6.26 min
 1000000



(Mass Spectrum)
 RT: 0.05 min Scan #: (3,4)-(168, 22) Temp: 150.1 deg.C
 Ion Mode: (1) Int: 758.64

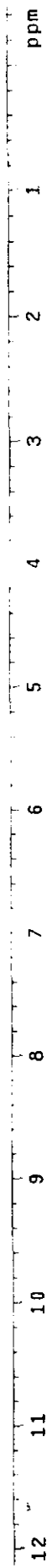


USAI
1H 299.7 MHz
300-2
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo/Navarrete
GMV-6/CDC13
Ref. TMS 0 ppm
rdm

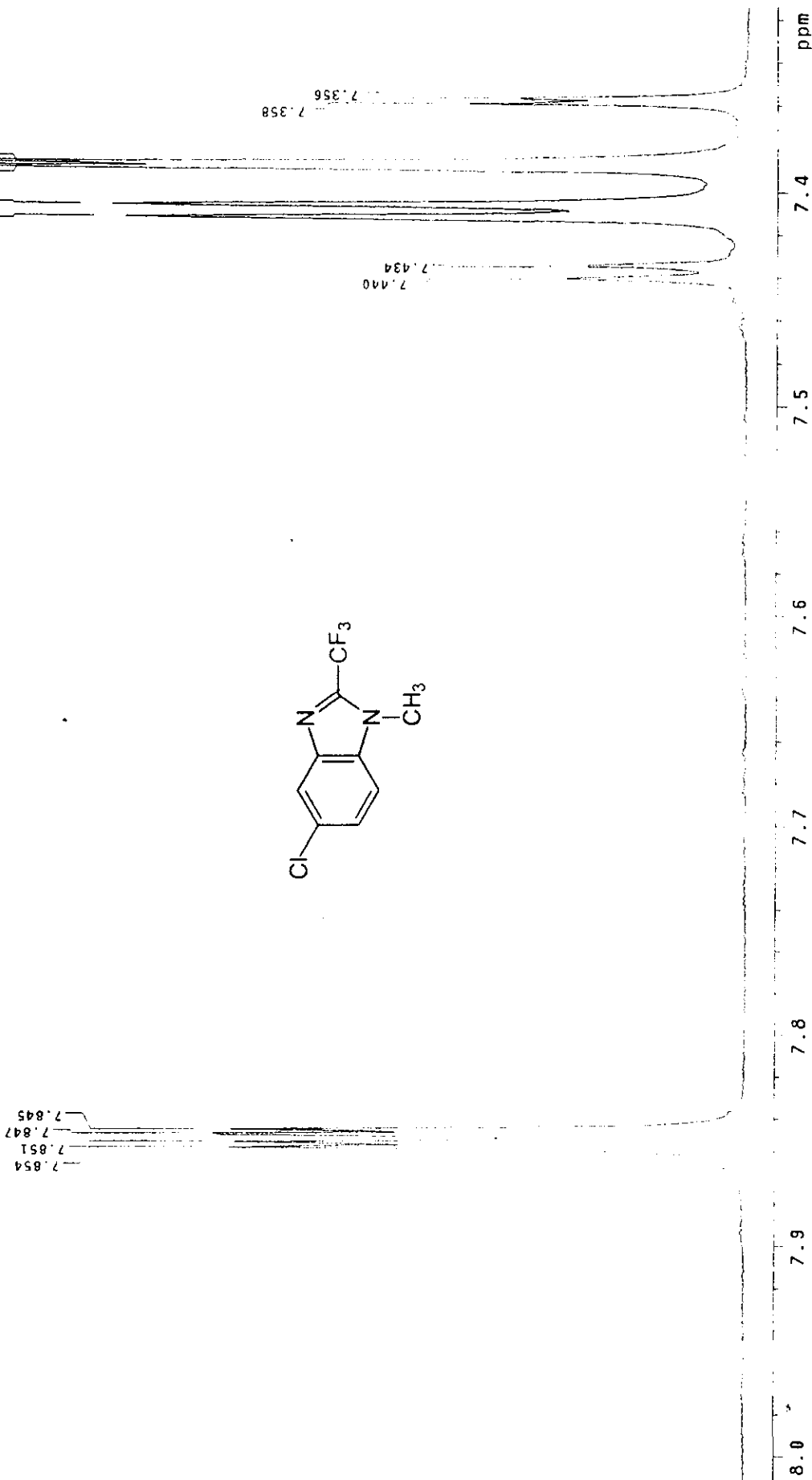
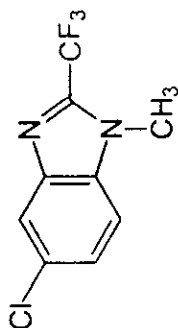


3.945

ESPECTROS

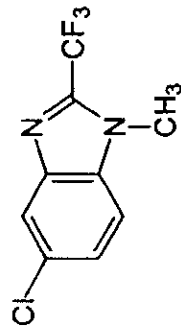
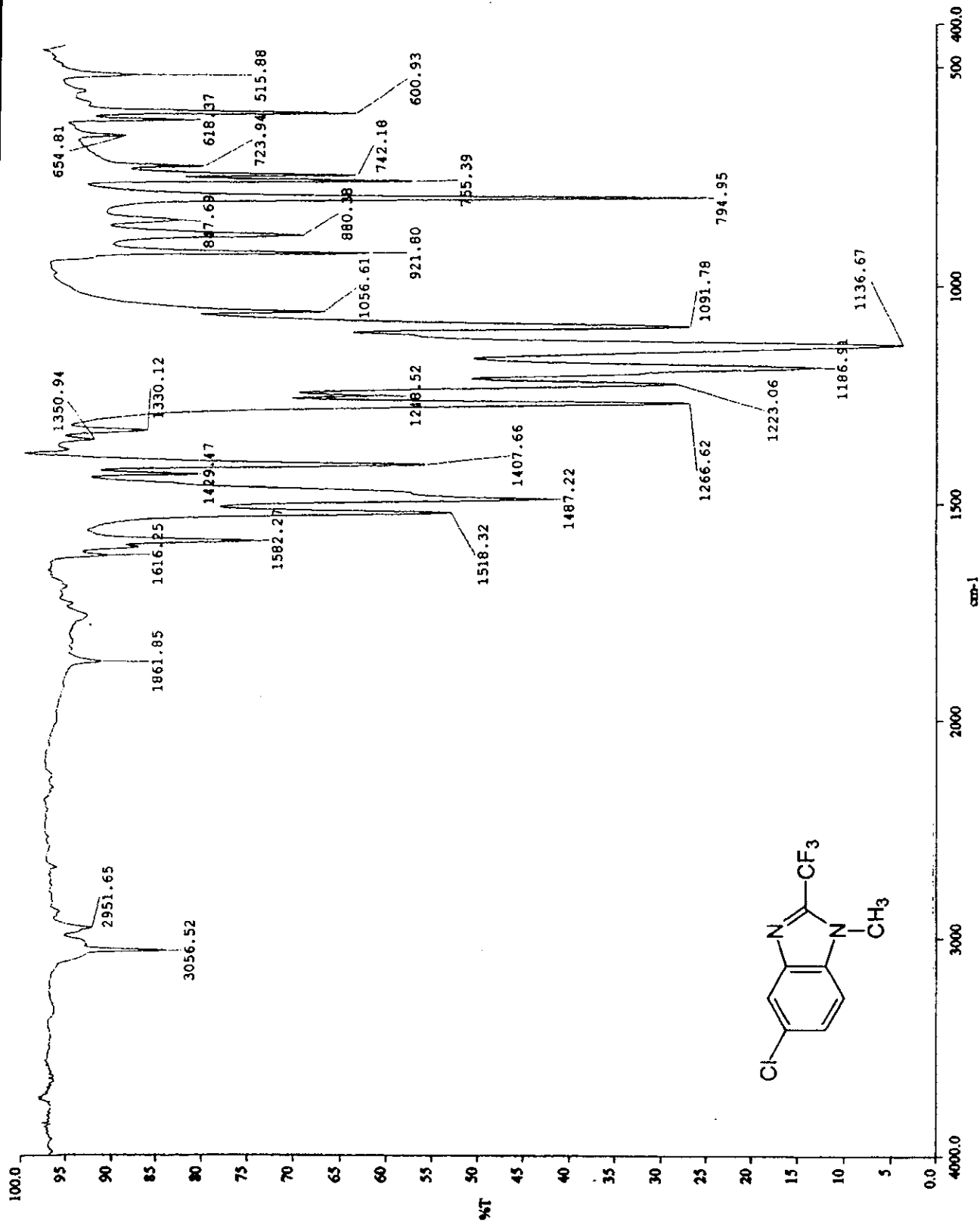


ESPECTRO No. 16. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (6).



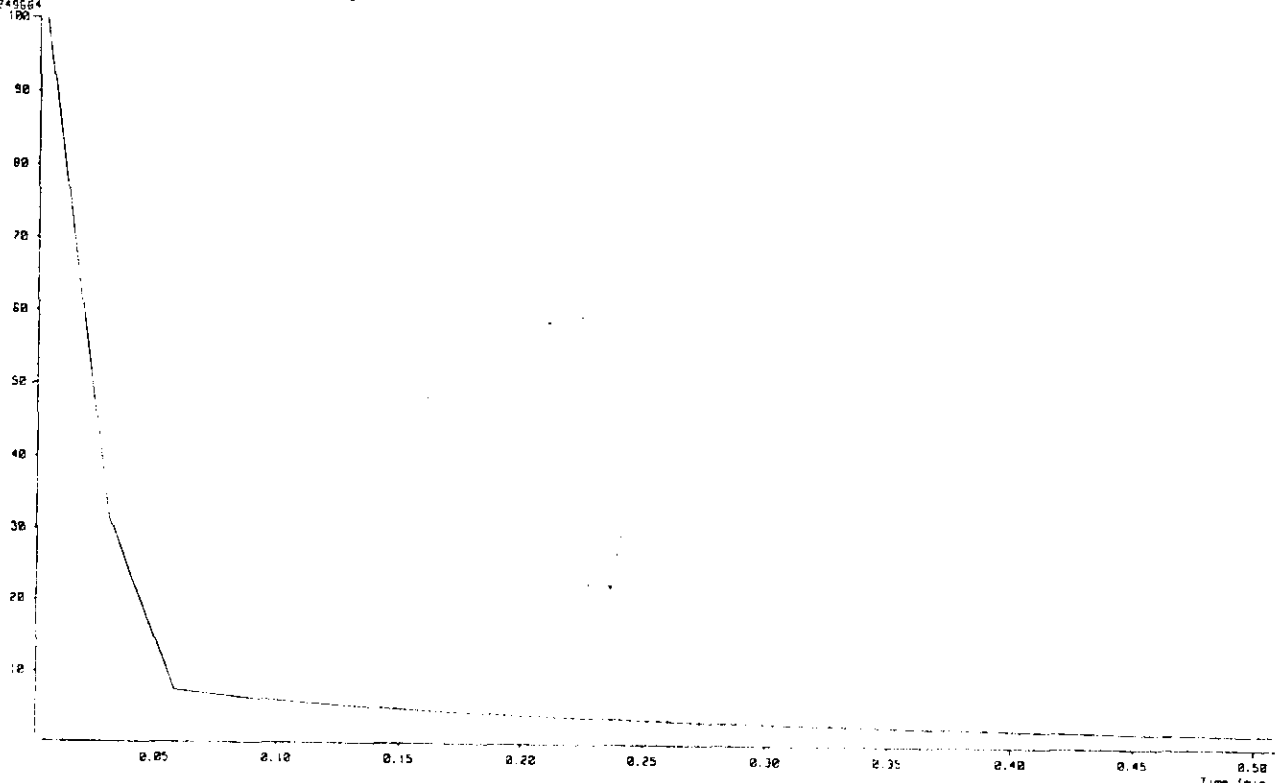
300-2
 14/DICIEMBRE/1999
 Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
 CNV-6/CDC13
 Ref. TMS 0 ppm
 rdm

82 ESPECTRO No. 16. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (6).

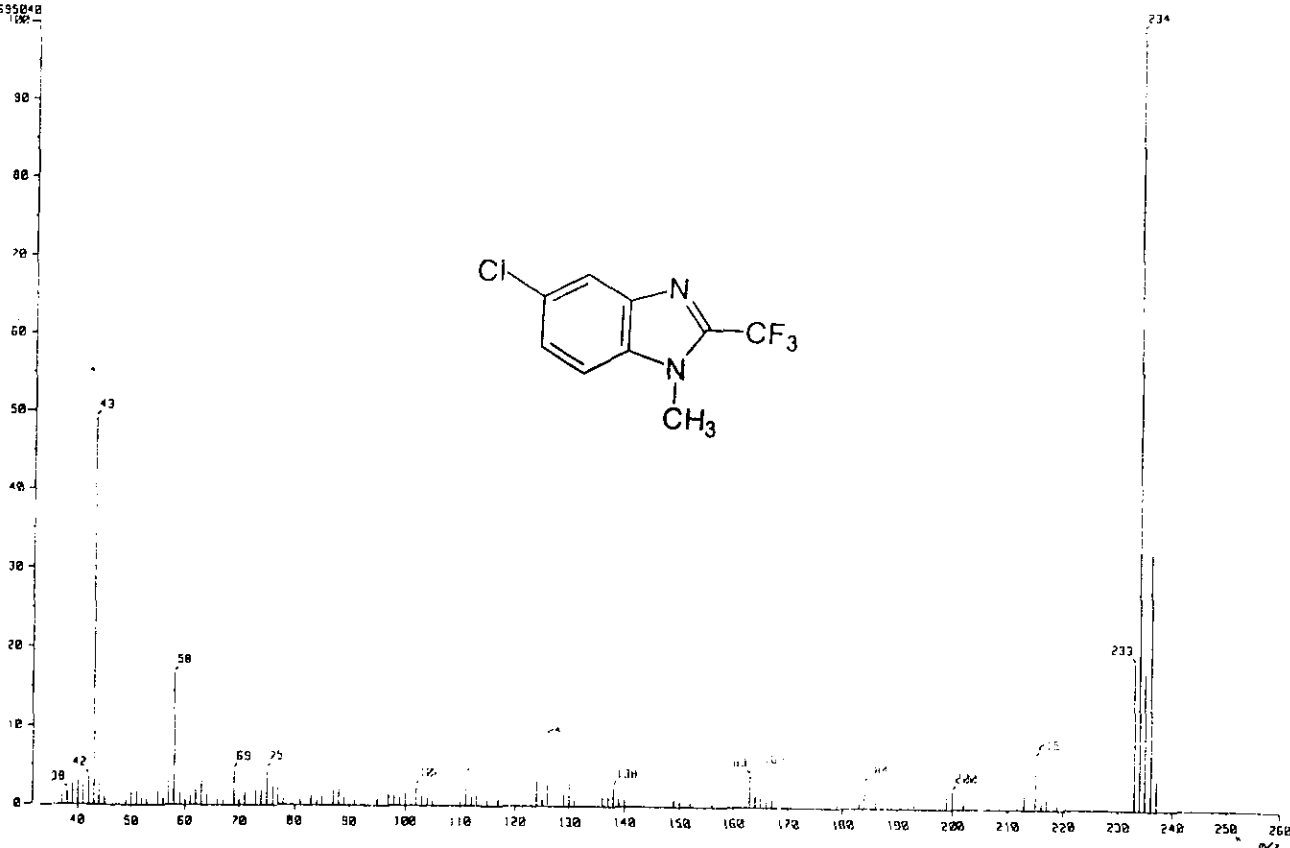


ESPECTRO No . 17 . ESPECTRO DE IR DE 5-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (6).

(TIC)
 Data : 071564_GW-5_001 Date : 28-Feb-99 19:31
 Sample:
 Note : USAI, Fac. de Quimica, UNAM.
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Ion Species : Normal Ion (M+H+ base)
 TIC Range : 40 to 820 Output RI Range : 2.20 to 2.30 min
 152245564

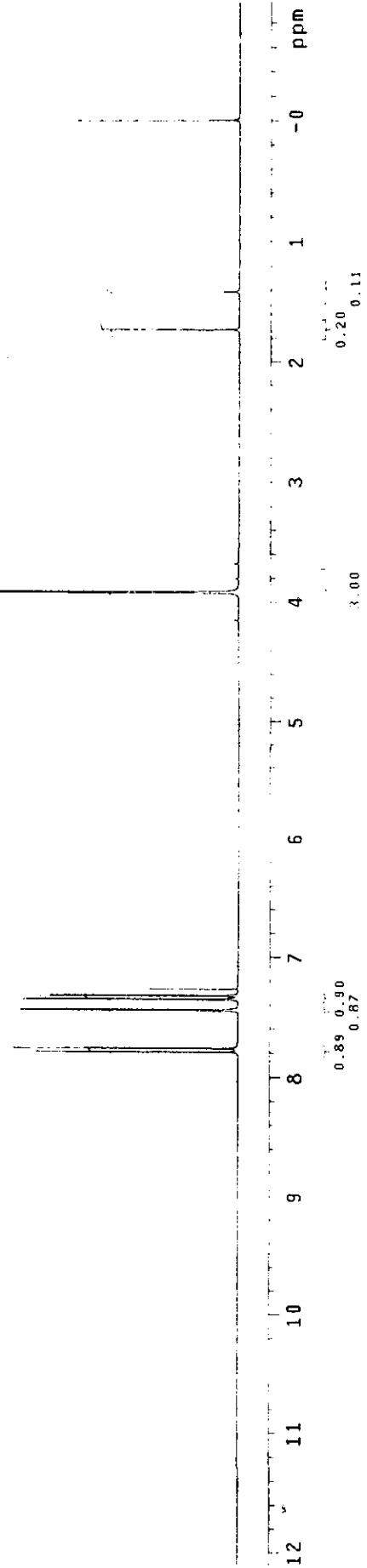
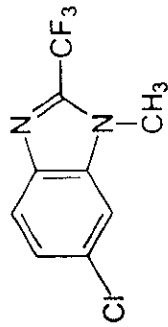


[Mass Spectrum]
 RT : 0.00 min Scan# : 1 Temp : 18.6 deg.C
 Ion Mode : EI+ Int. : 638.49



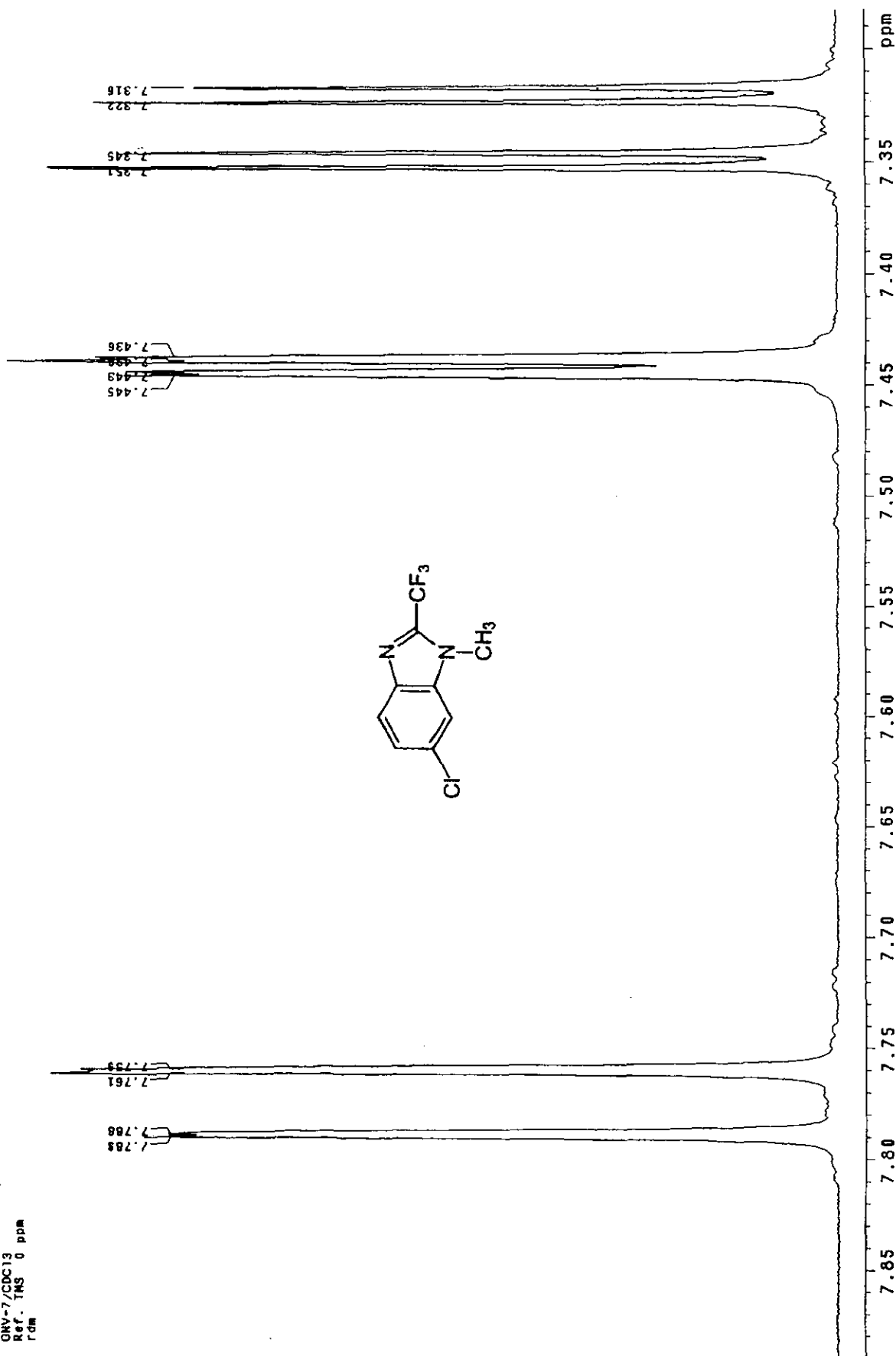
ESPECTRO No. 18. ESPECTRO DE MASAS DE 5-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (6).

USAI
IR 299.7 MHz
300-2
14/DICIEMBRE/1999
Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
GNU-7/CDC13
Ref. TMS 0 ppm
rdm



ESPECTROS

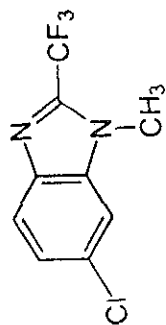
85 ESPECTRO No. 19. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 6-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (7).



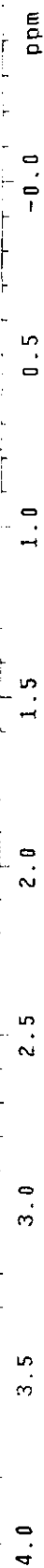
USAI
 1H 299.7 MHz
 300-2
 14/DICIEMBRE/1999
 Dr. Basilio Castillo/Gabriel Navarrete
 ONV-7/CDC13
 Ref. TMS 0 ppm
 Tdm

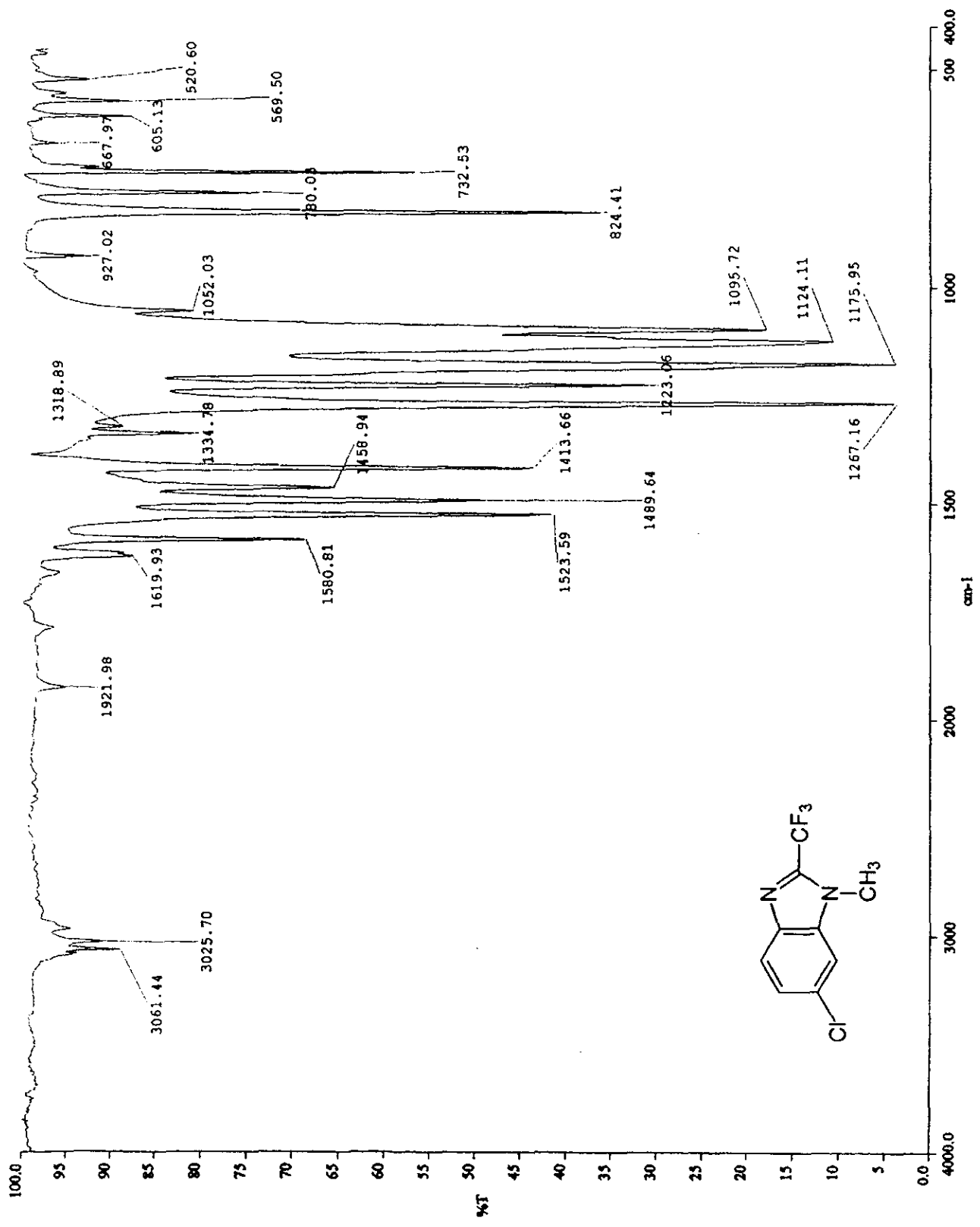
86 ESPECTRO No. 19. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 6-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (7).

USAI 299.7 MHz
 300-2
 14/DICIEMBRE/1999
 Dr. Rafael Castillo/Gabriel Navarrete
 GNV-7/CDC13
 Ref. TMS 0 ppm
 rdm



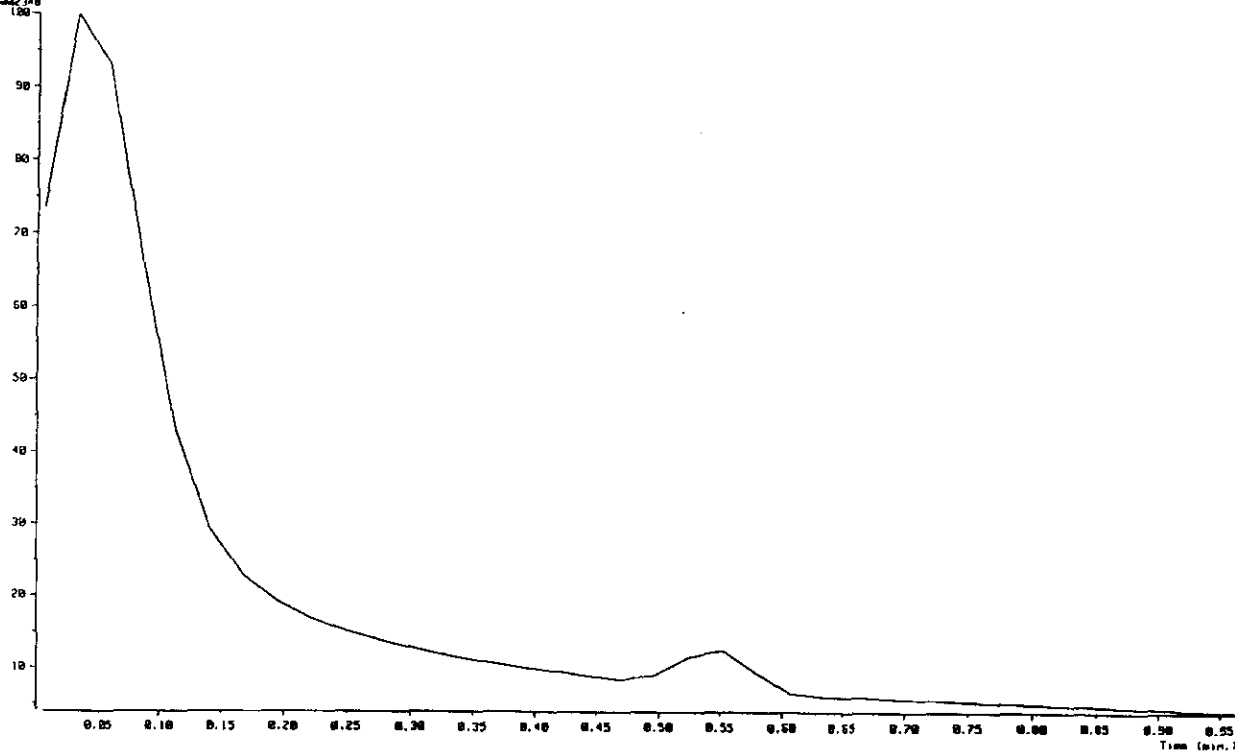
3.916



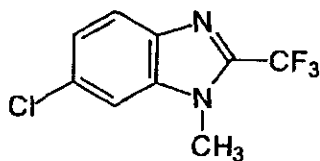
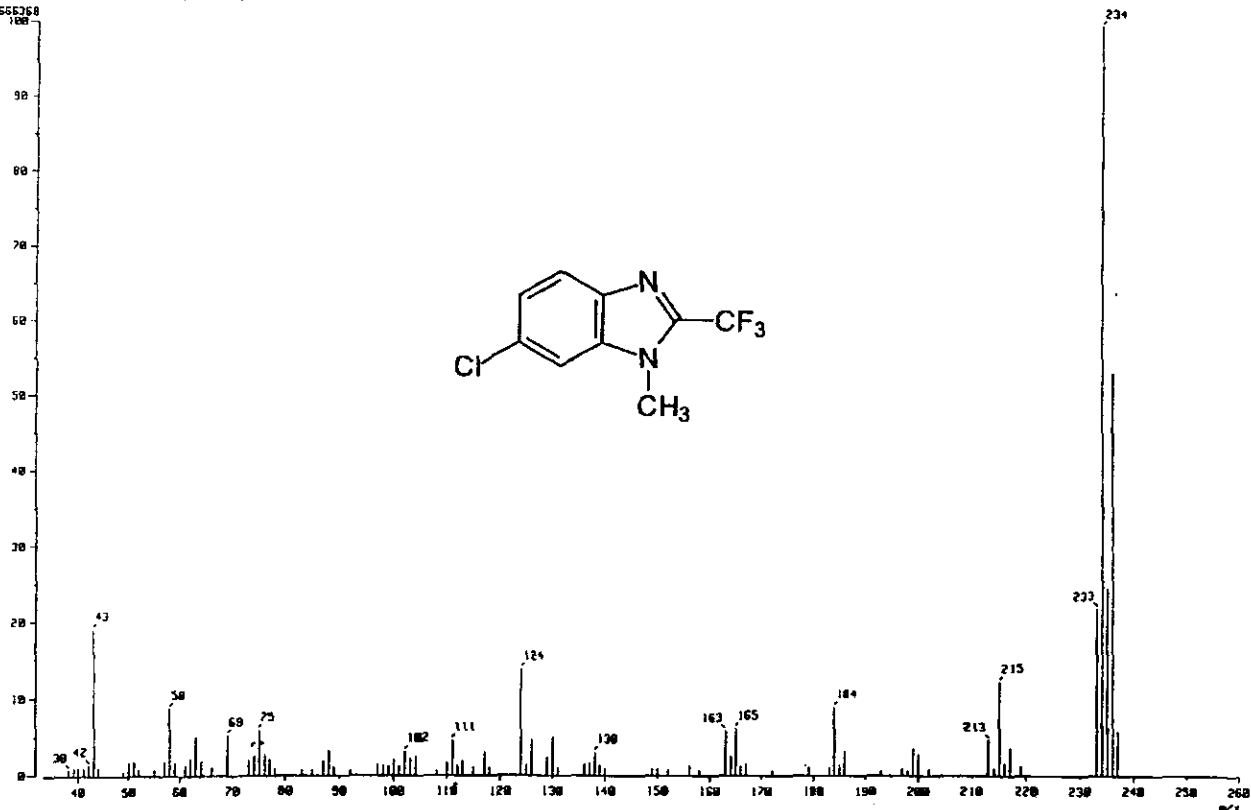


ESPECTRO No . 20 . ESPECTRO DE IR DE 6-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (7).

[TIC]
 Date : 01/05_QW-7_002 Date : 28-Feb-99 19:50
 Sample :
 Note : USF, Fac. de Quimica, UNFM.
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Ion Species : Normal Ion (MF-Linear)
 TIC Range : m/z 33 to 800 Output RT Range : 0.80 to 0.96 min
 16662346



[Mass Spectrum]
 RT : 0.80 min Scan# : (2,3)
 Ion Mode : EI+ Int. : 1589.43
 Temp : 13.5 deg.C
 16662346



ESPECTRO No. 21 . ESPECTRO DE MASAS DE 6-CLORO-1-METIL-2-(TRIFLUOROMETIL)BENCIMIDAZOL (7).

7. BIBLIOGRAFIA

Al-Waili, N. S. (1990). Mebendazole in Giardial Infections: Inappropriate Doses. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **84**: 753-754.

Al-Waili, N. S. and Salomon K. Y. (1988). Therapeutic Uses of Mebendazole in Giardial Infections. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **82**: 438.

Belstein Organische Chemie. Band XII, pp. 626.

Belstein Organische Chemie. Band XII, pp. 729-731.

Belstein Organische Chemie. Band XII, pp. 733-734.

Boray, J. C. (1986). Trematode Infections of Domestic Animals. In *Chemotherapy of Parasitic Diseases*, W. C. Campbell and R. S. Rew (Eds.). Plenum Press. New York, p. 401-425.

Brooker, P. J., Goose, J. and Percival, A. (1977). Brit. Pat. 1,464,553; *Chem. Abstr.* **87**, 79680z (1977).

Brooker, P. J., Goose, J. and Percival, A. (1977). Ger. Offen. 2,462,392; *Chem. Abstr.* **86**, 127307m (1977).

Brown H.D., Matzuk A.R., Ilves I.R., Peterson L. H., Harris S A, Sarret L.H., Egerton J.R., Yakstis J.J., Campbell W.C., Cuckler A.C. (1961). Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazole, A New Anthelmintic. *J. Am. Chem. Soc.* **83**: 1764-1765.

Buechel, K. H., Flucke, W. and Schulz, H. P. (1971). Ger. Offen. 2,016,622; *Chem. Abstr.* **76**, 69180v (1972).

Castillo-Bocanegra, R. , Sánchez Díaz R. (1994). Synthesis and Biological Activity of Metilbencimidazoles against *Trichinella spiralis*. Papers of Abstracts

Catalogo Aldrich ; 1996-1997 ; pp. 492 y 494.

Cedillo-Rivera R., Muñoz O. (1992). *In vitro* Susceptibility of *Giardia lamblia* to Albendazole, Mebendazole and other Chemotherapeutic Agents. *J. Med. Microbiol.* **37**:221-224.

Cedillo-Rivera R., Ramírez A., Muñoz O. (1992). A rapid colorimetric assay with the tetrazolium salt MTT and phenazine methosulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*. *Arch. Med. Res.* **23**:59-61 (Special issue).

Chávez B., Cedillo-Rivera R., Martínez-Palomo A. (1992). *Giardia lamblia*: Ultrastructural study of the *in vitro* effect of benzimidazoles. *J. Protozool.* **39**:510-515.

Chavez, B., Espinoza, M., Cedillo, R., Ramirez, A., Martinez, A. (1992). Effects of Albendazole on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* Trophozoites. *Archives of Medical Research*, **23** (2): 63-67.

Corbett, J. R. and Percival, A. (1972). *Ger. Offen.* 2,137,508; *Chem. Abstr.* **76**, 140831r (1972).

Corbett, J. R. and Percival, A. (1974) *Brit. Pat.* 1,356,245; *Chem. Abstr.* **81**, 91521g (1974).

Corbett, J. R. and Percival, A. (1974). *Brit. Pat.* 1,356,245; *Chem. Abstr.* **81**, 91521g (1974)].

De la Torre, R.A., Cortinas de Nava, C. (1994). Genotoxic activity of mebendazole in *A. nidulans*. *Mutation Research*. **305** : 139-144.

Dennis, D.T., Despommier, D.D., Davis, N. (1970). Infectivity of the newborn larvae of *Trichinella spiralis* in the rat. *J. Parasitol.* **56**(5): 974-977.

Fears, S.D., O'Jare, J. (1998). *In vitro* Susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to Fifty Antimicrobial Agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **32**: 144-146.

Fischer , M. H. (1973). US Pat. 3,749,789; *Chem. Abstr.* **79**, 115880 (1973).

Fischer, M. H., Hoff , D.R. (1972). US Pat. 3,705,174; *Chem. Abstr.* **78**, 58419v (1973).

Fitton A.O., Smalley R K. *Practical Heterocyclic Chemistry*. Academic Press, London 1968; pp. 59.

Friedman, P. A., Platzer, E.G. (1990). Interaction of Anthelmintic Benzimidazoles with *Ascaris suum* Embryonic Tubulin. *Biochem. Biophys. Acta*, **630**: 271-278.

Gottschall, D.W., Theodorides, V. and Wang, R. The metabolism of bencimidazole anthelmintics. *Parasitology Today*. **6** : 115-124.

Hall, A., Nahar, Q. (1993). Albendazole as a Treatment for Infections with *Giardia duodenalis* in Children in Bangladesh. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **87**: 84-86.

Hannah, J., Graham, D. W. (1973). US Pat. 3,749,734; *Chem. Abstr.* **79**, 78802p (1973).

Holan, G., Samuel, E.L., Ennis, B.C., Hinde, R.W. (1967). 2-Trihalogenomethylbenzazoles. Part I. Formation. *J. Chem. Soc.*, (C): 20-25.

Horton, R.J. (1990). Bencimidazole in a wormy World. *Parasitology Today*. **6** :106.

Kassai T., Cordero del Campillo M., Euzeby J., Gaafar S., Himonas C.A.,(1988) Standardized Nomenclature of Animal Parasitic Diseases (SNOAPAD). *Veterinary Parasitology*; **29**: 299-326.

Korolkovas A. Essentials of Molecular Pharmacology. Wiley-Interscience, EUA, 1970, pp. 54-55.

Lacey E. (1988). The Role of Cytoskeletal Protein, Tubulin, in the Mode of Action and Mechanism of Drugs Resistance to Benzimidazoles. *Int J Parasitol*; **18**: 885-936.

Lacey E. (1990). Mode of Action of Benzimidazoles. *Parasitol. Today* **6**: 112-115.

Lacey E, Watson T R. (1985). Structure-Activity Relationships of Benzimidazoles Carbamates as Inhibitors of Mammalian Tubulin, *in vitro*. *Biochem Pharmacol*. **34**: 1073-1077.

McCracken R. O. (1978). Efficacy of mebendazole and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice. *J Parasitol*. **64**(2), 214-219.

Morgan, U.M., Reynoldson, J.A., Thompson,R . (1993). Activities of several benzimidazoles and tubulin inhibitors against *Giardia spp*. *In vitro*. *Antimicrobial Agents Chemother*. **37** :328-331.

PLM. Diccionario de Especialidades Farmaceuticas. (1998). pp 50, 158, 680, 1527, 1604.

Roberts *et al.* (1959); *J. Org. Chem.* **24**, 654-659.

Rodriguez-Garcia R., Aburto-Bandala, M., Sanchez-Maldonado, M. (1996). Eficacia del Albendazol en el Tratamiento de la Giardiasis en Niños. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* **53**: 173-177.

Roger, E. F., Hannah, J. and Graham, D. W. (1973). Fr. Demande 2,145,633; *Chem. Abstr.* **79**, 53322v (1973).

Romero-Cabello, R., Robert, L., Muñoz-Garcia, R., Tanaka, J. (1996). Estudio Aleatorio para Comparar Seguridad y Eficacia del Albendazol y Metronidazol en el Tratamiento de Giardiosis en Niños. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.*, **37**: 315-323.

Sánchez, D.M.R. Síntesis Total de Derivados Clorados del 1-Metilbencimidazol con Actividad Antihelmíntica Potencial. Tesis de Licenciatura de Q.B. , Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca, 1991.

Sánchez-Díaz María Remedios (1999). Síntesis de Derivados del 1-Metilbencimidazol con Actividad Antihelmíntica Potencial. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.

Sharma S, Abuzar S. (1983). The Benzimidazole Anthelmintics-Chemistry and Biological Activity. *Prog. Drug. Res.*; **27**: 85-161.

Sharma, S. (1994). Design of new drugs for helminth diseases. Lead optimization in Benzimidazole. *Adv.in Drug Res.*; **25**: 104-172.

Townson, D.H, Morris, D.L. (1989). *Echinococcus granulosus*: *in vitro* maintenance of whole cysts and the assessment of effects of albendazole sulphoxide and praziquantel on the germinal layer, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **83**:664-669.

Traber, W. and Aufdehaar, E. (1975). Ger. Offen. 2,502,116; *Chem. Abstr.* **83**, 209468x (1975).

Vanden Bossche, H. (1985). Pharmacology of Anthelmintics, p. 125-171. In *Chemotherapy of Gastrointestinal Helminths*. Springer-Verlag, Berlin.