

00524
81



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS ALTERNA DE DOS 1-METIL-6-CARBOXAMIDAS
BENCIMIDAZOLICAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD
ANTIPARASITARIA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
YENI ISLAS FONSECA



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003

v



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Andrés Guillermo Martínez Casas
Vocal	Prof. Ramón Marcos Soto Hernández
Secretario	Profa. María Alicia Hernández Campos
1er. Suplente	Prof. Alfonso Sebastián Lira Rocha
2o. Suplente	Prof. Héctor Ríos Olivares

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 122, Departamento de
Farmacia, Conjunto E de la Facultad de
Química, UNAM

ASESOR


M. en C. María Alicia Hernández Campos

SUPERVISOR TECNICO


M. en C. Sergio Rodríguez Morales

SUSTENTANTE


Yenislas Fonseca

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM por la formación educativa que me ha brindado y por permitirme seguir siendo parte de ella.

A mis Padres Evelio Islas y Marisela Yonseca, por que a pesar de los malos momentos siempre estuvieron apoyándome para alcanzar este sueño.

A Felipe por todo el amor, el apoyo, los momentos felices y muchísimos más cosas que me has dado.

A Ángel y Marlene por la ayuda, compañía y por ser mis hermanos.

A la M. en C. Alicia Hernández C. por haber sido más que una asesora, por los consejos, su paciencia, y comprensión, durante la realización de esta tesis. También por la ayuda incondicional que me brindó, por compartir sus conocimientos, momentos de alegría, risas apoyo y amistad.

Al Doc. Castillo por que gracias a su forma de ver la química, a su humor, y carisma, hizo que me interesara la química orgánica y la farmacia. También por los consejos que me dio al desarrollar y escribir esta tesis.

A mis compañeros del 122, Dr. Francisco, Marisela, Patricia, Víctor, Cecilia, Eduardo, y Gabriel por compartir conmigo sus experiencias, conocimientos, y hacer divertida mi estancia en el laboratorio.

A Sergio por todos los consejos que me dio, no sólo de tipo académico a lo largo del desarrollo de esta tesis.

Al personal del Centro Médico Nacional Siglo XXI, por realizar las pruebas biológicas de mis compuestos especialmente a Edmundo por dedicarles su tiempo y por su amistad.

A Nayeli por ser compañera, confidente consejera, y todo lo que una buena amiga puede ser.

A mis amigas: Elvira, Josefina, Maribel, Erica, Erika Sánchez, Matilde, Vanessa y Ana Laura, por los buenos momentos que pasamos.

A Georgina Duarte L., Rosa Isela Del Villar, Oscar Yáñez, Marisela Gutiérrez Franco, y Margarita Guzmán Villanueva, por la realización de los espectros y por la amistad y el compañerismo ofrecido, especialmente a Margaret por ser amiga, compañera y jefa en el análisis elemental. A la USAI y al Dr. Queré por recibirme en ella.

A CONACYT por la beca otorgada en la realización de esta tesis como parte del proyecto G-34851-M y a la DGAP-A por el financiamiento y beca otorgados a través del proyecto PAPIIT IN 204998.

Agradezco especialmente a mis tíos Cristina y Evencio porque siempre se preocuparon porque yo culminara mi carrera, donde quiera que se encuentren sé que estarán felices por este logro.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a:

- *A mis Padres sin ustedes esto no hubiera sido posible llegar hasta este punto de mi vida.*
- *A Felipe Armentilla porque sé que me amas tanto como yo a ti, por ser el amor de mi vida y por estar siempre a mi lado.*
- *A Luis por ser una personita muy especial e importante que me ha hecho muy feliz.*

**USTEDES SON PARTE DE ESTE LOGRO Y LA MEJOR
MOTIVACION**

LOS AMO

INDICE GENERAL

INTRODUCCION.....	1
1. ANTECEDENTES.....	3
1.1. Generalidades.....	3
1.2. Importancia de las enfermedades parasitarias.....	3
1.3. Parásitos.....	4
1.3.1. Protozoarios.....	5
1.3.1.1. <i>Giardia lamblia</i>	5
1.3.2. Helmintos.....	6
1.3.2.1. <i>Trichinella spiralis</i>	7
1.4. Fármacos antiparasitarios.....	9
1.5. Bencimidazoles.....	10
1.5.1. Bencimidazoles como agentes antihelmínticos.....	10
1.5.2. Bencimidazoles como agentes antiprotozoarios.....	13
1.5.3. Mecanismo de acción de los bencimidazoles.....	14
1.5.4. Desventajas y resistencia de los bencimidazoles.....	15
1.6. Química de bencimidazoles.....	16
1.6.1. Equilibrio tautomérico de los bencimidazoles.....	16
1.6.2. Síntesis de bencimidazoles.....	17
1.6.3. Síntesis de 1-metilbencimidazoles.....	17
1.6.3.1. Por metilación de 1 <i>H</i> -bencimidazoles.....	17
1.6.3.2. Por ciclación de <i>N</i> -metil- <i>o</i> -feniléndiaminas.....	18
1.6.4. Rutas de síntesis de carboxamidas reportadas por del Villar & Guzmán y Laguna-Martínez.....	22
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
3. OBJETIVOS.....	28
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	29
4.1. Nueva ruta de síntesis para la obtención de las carboxamidas 1 y 2.....	29
4.2. Procedimientos experimentales.....	31
4.2.1. Equipos, instrumentación y materiales.....	31

4.2.1.1. Materias primas.....	31
4.2.1.2. Cromatografía.....	31
4.2.1.3. Sistemas de elución.....	32
4.2.1.4. Equipo utilizado o instrumentación.....	32
4.2.1.5. Abreviaturas utilizadas.....	33
4.2.2. Parte sintética.....	34
4.2.2.1. Nitración de 3-Clorotolueno (4).....	34
4.2.2.2. Síntesis de Ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5).....	35
4.2.2.3. Síntesis de 3-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6).....	36
4.2.2.4. Síntesis de 3-(Metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7).....	37
4.2.2.5. Síntesis de 4-Amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8).....	37
4.2.2.6. Síntesis de 2-Mercapto-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9).....	38
4.2.2.7. Síntesis de 1-Metil-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10).....	39
4.2.2.8. Síntesis de Ácido 1-metil-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxílico (11).....	40
4.2.2.9. Síntesis de 1-Metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1 <i>H</i> -bencimidazol. (1).....	40
4.2.2.10. Síntesis de 1-Metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol (2).....	41
4.2.2.11. Síntesis de Ácido 3-acetamidobenzoico (13).....	43
4.2.2.12. Síntesis de 3-Acetamidobenzoato de metilo (14).....	43
4.2.2.13. Síntesis de 5-Acetamido-2-nitrobenzoato de metilo (15).....	44
4.2.2.14. Síntesis de 5-[Acetil(metil)amino]-2-nitrobenzoato de metilo (16).....	45
4.2.2.15. Síntesis de 5-Metilamino-2-nitrobenzoato de metilo (17).....	45
4.2.3. Parte biológica.....	46
5.RESULTADOS.....	48
5.1. Resultados de la síntesis.....	48
5.1.1. Propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas de los	

intermediarios sintetizados.....	49
5.1.2. Propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas de las carboxamidas obtenidas.....	52
5.2. Ensayo biológico.....	53
5.2.1. Actividad biológica de las carboxamidas 1 y 2 sobre <i>Trichinella spiralis</i>	53
5.2.2. Actividad biológica de las carboxamidas 1 y 2 sobre <i>Giardia lamblia</i>	54
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
6.1. Parte sintética.....	55
6.2. Parte biológica.....	68
CONCLUSIONES	70
BIBLIOGRAFIA	72
APENDICE (ESPECTROS)	76

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Giardia lamblia</i>	6
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Trichinella spiralis</i>	8
Figura 3. Estructura del bencimidazol.....	10
Figura 4. Agentes bencimidazólicos antiparasitarios.....	12
Figura 5. Compuestos bencimidazólicos sintetizados con buena actividad antiparasitaria <i>in vitro</i>	14
Figura 6. NOE diferencial de la carboxamida 1 mostrando la interacción del metilo en posición 1 con el Hidrógeno en posición 7 del anillo bencimidazólico.....	62
Figura 7. NOE diferencial de la carboxamida 2 mostrando la interacción del metilo en posición 1 con el hidrógeno en posición 7 del anillo bencimidazólico.....	63

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadística de algunas parasitosis en humanos a nivel mundial.....	4
Tabla 2. Prevalencia de algunas enfermedades parasitarias en niños estudiados	

en el Hospital Infantil de México.....	4
Tabla 3. Fármacos de elección para el tratamiento de algunas enfermedades parasitarias del hombre.....	9
Tabla 4. Carboxamidas diseñadas y sintetizadas por Del Villar & Guzmán.....	26
Tabla 5. Rendimientos reportados por Del Villar & Guzmán y Laguna-Martínez, para la síntesis de carboxamidas.....	27
Tabla 6. Sistemas de elución utilizados.....	32
Tabla 7. Abreviaturas utilizadas.....	33
Tabla 8. Características fisicoquímicas y rendimientos de los intermediarios obtenidos en la ruta 1.....	49
Tabla 9. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios sintetizados en la ruta 1.....	50
Tabla 10. Características fisicoquímicas y rendimientos de las carboxamidas 1 y 2.....	52
Tabla 11. Datos espectroscópicos y espectrométricos de las carboxamidas 1 y 2.....	52
Tabla 12. Porcentaje de reducción de la capacidad metabólica de las larvas de <i>Trichinella spiralis</i> después de colocarlas en contacto con las carboxamidas 1 y 2, teniendo como referencia al Albendazol.....	53
Tabla 13. Susceptibilidad <i>in vitro</i> de <i>Giardia lamblia</i> , después de colocarlas con las carboxamidas 1 y 2, se utilizó como referencia al Albendazol, Metronidazol y Nitazoxanida.....	54
Tabla 14. Condiciones de reacción y propiedades físicas de los productos secundarios en la reacción de formación del compuesto 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo (7).....	58
Tabla 15. Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de los productos secundarios en la reacción de formación del compuesto 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo (7).....	58
Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas y rendimientos de los intermediarios obtenidos en la ruta 2.....	66
Tabla 17. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios obtenidos en la ruta 2.....	67

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Equilibrio tautomérico de los 1 <i>H</i> -bencimidazoles.....	16
Esquema 2 Síntesis de bencimidazoles con distintos sustituyentes en posición 2.....	17
Esquema 3. Reacción de metilación de bencimidazoles.....	18
Esquema 4. Síntesis de 1-metilbencimidazoles a partir de <i>N</i> -metilnitroanilinas.....	18
Esquema 5. Preparación de <i>N</i> -metilnitroanilinas a partir de cloronitrobenzenos.....	19
Esquema 6. Preparación de <i>N</i> -metil-2-nitroanilina vía sulfonamida.....	19
Esquema 7. Obtención de <i>N</i> -metil-2-nitroanilinas usando benzotriazol.....	20
Esquema 8. Metilación directa de 2-nitroanilinas a presión.....	20
Esquema 9. <i>N</i> -Metilación de la 5-cloro-2-nitroacetanilida en glima y sin catalizador de transferencia de fases.....	21
Esquema 10. Síntesis de <i>N</i> -metilnitroanilinas por metilación directa de nitroanilinas.....	21
Esquema 11. Síntesis de <i>N</i> -metil-2-nitroanilinas, a partir de la metilación de acetanilidas con posterior nitración.....	22
Esquema 12. Ruta de síntesis de carboxamidas reportado por Del Villar & Guzmán.....	23
Esquema 13. Ruta de síntesis de carboxamidas reportado por Laguna-Martínez.....	24
Esquema 14. Nueva ruta de síntesis para obtener las carboxamidas 1 y 2.....	30
Esquema 15. Reacción de formación del pico base en espectrometría de masas de las carboxamidas 1 y 2, se observa la pérdida del hidrógeno en el anillo de la piperidina o 4-metilpiperidina.....	61
Esquema 16. Reacción de formación del ión acilio en las carboxamidas 1 y 2.....	62
Esquema 17. Ruta de síntesis 2 para la formación de las carboxamidas 1 y 2.....	65

INTRODUCCION

Las enfermedades parasitarias abarcan un grupo de padecimientos causados por diversas especies de protozoarios y helmintos. Aunque la incidencia de las parasitosis es variable, a nivel mundial se estima que 3.5 billones de personas están infectadas y cerca de 450 millones se encuentran hospitalizadas como consecuencia de alguna de estas enfermedades.¹

Estas enfermedades se presentan principalmente en países en desarrollo, como lo es México, debido a que éstos coinciden en tener bajo control sanitario, mala enseñanza de hábitos de higiene, ubicación geográfica en zonas tropicales, entre otras características, que en resumen permiten su proliferación siendo difícil su control.²

En nuestro país, la población infantil es la que se ve mayormente afectada por estas parasitosis, entre las que destacan las causadas por helmintos como *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Enterobios vermicularis*, *Himenolepis nana*, uncinarias y por protozoarios como *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis* y *Entamoeba histolytica*.²

Actualmente, la farmacoterapia es la forma común de tratamiento contra estas enfermedades. Aunque existen varios grupos de agentes antiparasitarios, los fármacos existentes en la actualidad no cubren los requerimientos necesarios para ser considerados antiparasitarios ideales; siendo su toxicidad, su bajo espectro de acción, el ser poco efectivos contra parasitosis sistémicas y costo sus mayores desventajas.

Los bencimidazoles son un grupo de fármacos que poseen amplio espectro de actividad antihelmíntica contra parasitosis gastrointestinales. Recientemente, algunos, como el Albendazol y el Mebendazol, han mostrado ser también antiprotozoarios. Desgraciadamente, debido a su baja solubilidad y, por consiguiente, pobre absorción, estos compuestos están limitados a ejercer su actividad únicamente a nivel intestinal.³⁻⁶

Estos compuestos, además de su amplio espectro de acción, presentan una gran ventaja en comparación con muchos otros antiparasitarios, y es su baja toxicidad, lo cual los convierte en moléculas líderes susceptibles a modificaciones estructurales que permitan encontrar nuevos compuestos bencimidazólicos, aún menos tóxicos, con una mayor capacidad de absorción, y en consecuencia un mejor espectro de acción extraintestinal.⁷

Se han realizado varias modificaciones a las moléculas de Albendazol, Triclabendazol y CDRI-81-144. El Triclabendazol se caracteriza por tener un grupo metilitio en posición 2, como antihelmíntico elimina todas las fases del trematodo *Fasciola hepática*.^{8, 9} El CDRI-81-144 es un antihelmíntico de amplio espectro, que posee una buena capacidad de absorción.¹⁰ Debido a sus características, estos dos compuestos fueron utilizados como modelo para el diseño de nuevas carboxamidas bencimidazólicas. Las características tomadas en cuenta para el diseño fueron el grupo amida en posición 5 ó 6 y el grupo metilitio en posición 2. Los compuestos diseñados fueron sintetizados y posteriormente se les determinó la actividad biológica. Como resultado de esta investigación se obtuvieron dos nuevas carboxamidas con actividad antihelmíntica comparable con la del Albendazol.¹¹

De lo anterior se desprende la idea de realizar otras modificaciones a estas nuevas carboxamidas, para lo cual se metiló la posición 1 de las mismas, con el propósito de conocer más sobre los requerimientos estructurales para la actividad biológica. Sin embargo, la síntesis resultó ser difícil y de muy bajo rendimiento;^{12, 13} por lo que el presente trabajo pretende buscar: primero, una ruta de síntesis distinta y con mejores rendimientos, para obtener bencimidazoles 1-metilados con un grupo carboxamida en posición 6; segundo una vez sintetizados realizar el ensayo de actividad antihelmíntica, utilizando como modelo a *Trichinella spiralis*; y antiprotozoaria, con *Giardia lamblia* como modelo.

1. ANTECEDENTES

1.1. GENERALIDADES

Las primeras relaciones huésped-parásito han sido descritas por los estudios de restos fósiles de foraminíferos (protozoarios de concha calcárea y algas marinas) que vivieron hace 530 millones de años. Los médicos chinos observaron los cuadros de paludismo pertenecientes a la relación huésped-parásito del humano-*Plasmodium*; los egipcios describieron a *Taenia saginata*; los hebreos adoptaron leyes sanitarias para evitar consumir carne contaminada por cisticercos; por otro lado, Hipócrates diagnosticó a *E. granulosus*.¹⁴

1.2. IMPORTANCIA DE LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS

Las enfermedades parasitarias o parasitosis son muy importantes debido a que ocasionan daños a la salud, que pueden ser mínimos, cuando el individuo no se da cuenta que está parasitado, o graves, cuando éstos son irreversibles. Económicamente generan pérdidas por atención hospitalaria, ausentismo en el trabajo, pérdidas de salario y defunciones.¹⁵ Considerando el aspecto fisiológico, las parasitosis provocan daños nutricionales importantes y complicaciones que pueden conducir a la muerte.²

Las parasitosis están distribuidas mundialmente de forma importante, esto se puede observar en la **Tabla 1**. Su incidencia varía de unos países a otros dependiendo de su nivel sanitario, cultural, socioeconómico y de su ubicación; pues los países situados en la franja ecuatorial, o cerca de ella, presentan una mayor incidencia. Por otro lado, la aparición de enfermedades que debilitan el sistema inmunológico, como el SIDA, ha favorecido que los pacientes con este padecimiento sufran de parasitosis que antes no tenían importancia médica como toxoplasmosis, pneurocistosis, isosporidiosis y blastocystosis, incrementando su incidencia en niños que asisten a guarderías, así como en comunidades aisladas.¹⁶

Tabla 1. Estadísticas de algunas parasitosis en humanos a nivel mundial.^{1,17}

Parasitosis	Parásito	No. de persona infectadas a nivel mundial	No. de muertes anuales a nivel mundial
Tripanosomosis	<i>Tripanosoma cruzi</i>	16-18 millones	desconocido
Giardiosis	<i>Giardia lamblia</i>	350 millones	desconocido
Entamoebosis	<i>Entamoeba histolytica</i>	≈ 48 millones (cifra real desconocida)	desconocido
Tricomoniosis	<i>Trichomonas vaginalis</i>	≈ 3 millones	desconocido
Gusanos con gancho		12 millones	desconocido
Taeniosis	<i>Taenia saginata</i>	77 millones	desconocido
Teniosis	<i>Taenia solium</i>	10 millones	desconocido
Tricocefalosis	<i>Trichiuris trichura</i>	16-18 millones	desconocido
Ascariosis	<i>Ascaris lumbricoides</i>	1.47 millones	tal vez 60,000
Fasciolosis	<i>Fasciola hepatica</i>	2.4 millones	desconocido
Schistosomosis	<i>Schistosoma mansoni</i>	201 millones	20 000

En México, las parasitosis presentan una alta incidencia, especialmente en niños, como se puede observar en la **Tabla 2**, donde se muestran los resultados de un estudio realizado en el Hospital Infantil de la Ciudad de México.²

Tabla 2. Prevalencia de algunas enfermedades parasitarias en niños estudiados en el Hospital Infantil de México.²

Parasitosis	Prevalencia
Giardiosis	18.7
Ascariosis	18.2
Tricocefalosis	15.1
Himenolepiosis	12.3
Uncinariosis	1.9
Enterobiosis	1.5
Taeniosis	0.1

1.3. PARASITOS

Por tradición solo los grupos de protozoarios y helmintos pertenecen a la disciplina biomédica de la parasitología. El parasitismo es un tipo de asociación interespecífica entre

dos seres vivos en la que el beneficio es unilateral, denominándose parásito, al ser que resulta beneficiado, y huésped u hospedero, al afectado por esta relación.¹⁶

1.3.1. PROTOZOARIOS

Los protozoarios son organismos unicelulares, eucariotes con citoplasma, organelos de locomoción, vacuolas, núcleo con membrana, cromatina y membrana citoplásmica; su metabolismo puede ser aerobio o anaerobio. Estos microorganismos deben su supervivencia a su capacidad de formar una cápsula protectora llamada quiste y a su gran poder de reproducción, pudiendo ser sexual o asexual.^{15, 18}

Existen varias especies de protozoarios relevantes en el área médica, entre las que destacan *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, y *Trichomonas vaginalis*.

1.3.1.1. Giardia lamblia

La Giardiosis es una infección común del intestino delgado en humanos, particularmente en niños, provocada por el protozoo flagelado *Giardia lamblia*. Este protozoo puede existir como trofozoito; también puede existir como quiste que, además de resistir las condiciones adversas del ambiente, es la forma infectante de la enfermedad.^{2, 4, 19} Esta enfermedad se transmite por vía fecal-oral, su ciclo biológico se muestra en la

Figura 1.

Aunque su distribución es mundial, la prevalencia varía del 11 al 50%, siendo en Portland, Oregón el mayor brote registrado con 50,000 casos por ingestión de agua contaminada.¹⁴ En México se ha encontrado una prevalencia del 0.7 al 66%, dependiendo de la zona geográfica y de la edad de los individuos, siendo mayor su efecto en niños menores de 10 años y comunidades con malas condiciones sanitarias.² Como se observa en la **Tabla 2**, la giardiosis tiene una prevalencia importante en niños mexicanos. Por esta razón es importante para nuestro grupo la investigación básica encaminado a la síntesis de nuevos compuestos con potencial actividad giardicida y qué mejor que emplear a la

Giardia lamblia como modelo para la determinación de la actividad de los compuestos sintetizados contra este parásito *in vitro*.

Los fármacos empleados para el tratamiento contra este protozoo son: Metronidazol, Quinacrina, Tinidazol, Furazolidona, Nitazoxanida,²⁰⁻²¹ y recientemente se ha incorporado el Albendazol. Sin embargo, estos fármacos presentan efectos secundarios fuertes que hacen que el paciente discontinue el tratamiento y por lo tanto no se elimine por completo la infección, y se generen entonces síntomas recurrentes de la enfermedad²¹.

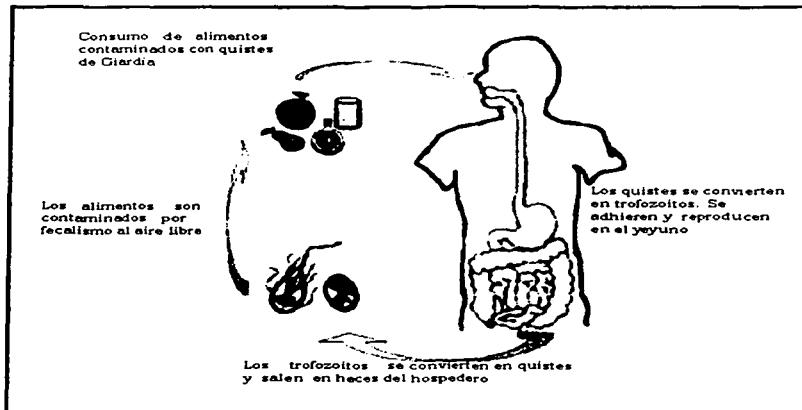


Figura 1. Ciclo biológico de *Giardia lamblia*.

1.3.2. HELMINTOS

Los helmintos o gusanos (vermes), son organismos metazoarios (pluricelulares). Se dividen en dos grupos los Nematelmintos o Nematodos y los Platelminfos que a su vez se dividen en Cestodos y Trematodos.¹⁴ Entre los Cestodos, las especies de mayor importancia

en este grupo son: *T. saginata*, *T. solium*, *H. nana* y *H. diminuta*.¹⁴ Algunas especies de Nematodos son: *T. trichura*, *A. lumbricoides*, *S. stercoralis*, *E. vermicularis*, *Trichinella spiralis* y uncinarias como *N. americanus*, y *A. duodenale*.^{14, 22} Como Trematodos, *Fasciola hepatica* es una especie representativa de este grupo junto con el género *Schistosoma* que además de reproducirse de forma sexual o dioica se caracteriza por ser monogenético.^{14-15,22}

1.3.2.1. *Trichinella spiralis*

La triquinosis o trichinellosis es producida por la especie *Trichinella spiralis* y se transmite al consumir principalmente carne de cerdo no cocida y contaminada con larvas enquistadas.²

Epidemiología. Su distribución es mundial, siendo más importante en Europa y Estados Unidos, su incidencia es menor en África y América latina, la causa principal son las costumbres alimentarias. En México se han reportado varios casos los más representativos son de músculo infectado extraído en autopsias, en las cuales, desde 1939 a 1974, se ha encontrado una frecuencia aproximada del 4.2 al 12.5%. También, de 1975 a 1995, se han registrado 25 epidemias que han afectado a 600 individuos, siendo Zacatecas el estado con mayor frecuencia de esta enfermedad.^{2, 14, 23}

Este parásito tiene gran importancia debido a su ciclo biológico; el que ha permitido que *T. spiralis* sea considerado como un buen modelo para la evaluación de la actividad antihelmíntica de compuestos.¹¹

Ciclo biológico (Figura 2). En el caso del hombre, éste puede ser hospedero intermediario y definitivo, ya que soporta todos los estadios de desarrollo. El ciclo comienza al ingerir carne infectada con larvas enquistadas, que son liberadas en la mucosa intestinal, éstas mudan e inician su diferenciación sexual (24 horas). La copulación se realiza en la mucosa duodenal (48 horas), el macho muere poco después y la hembra entra en los conductos linfáticos hasta llegar a los nódulos linfoides, ésta pone cerca de 1500

larvas (3-5 semanas). Las larvas atraviesan la mucosa intestinal, pasan al sistema circulatorio arterial y linfático distribuyéndose a todo el cuerpo, se alojan principalmente en músculo esquelético pobre en glucógeno (7 días). Las larvas mudan varias veces y alcanzan el cuarto estadio donde se vuelven infectantes (3 semanas). El ciclo se repite cuando estos quistes son ingeridos por otro huésped. En músculo esquelético, las larvas se alojan en una célula muscular, donde crecen y toman forma de espiral, midiendo hasta 1 mm de longitud. A las 8 semanas los leucocitos rodean las larvas y éstas se enquistan; la célula muscular degenera (6-18 meses). El hospedero comienza a calcificar la pared del quiste y a los gusanos (12-18 meses).^{2, 14, 23}

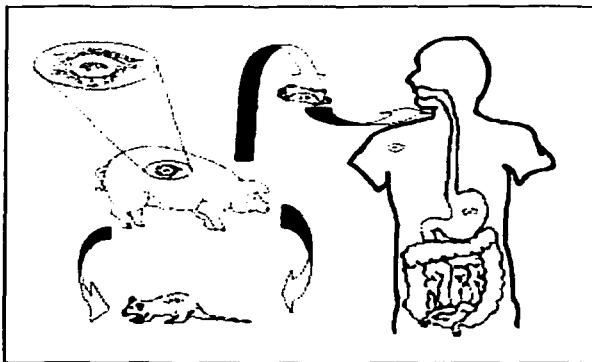


Figura 2. Ciclo biológico de *Trichinella spiralis*

Para el tratamiento de esta enfermedad se utilizan agentes como la Piperazina, Tiabendazol, Mebendazol, y Albendazol, (estos tres últimos del grupo de los bencimidazoles).²

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.4. FARMACOS ANTIPARASITARIOS

La vacunación sería la forma ideal de evitar las parasitosis ya que es potencialmente efectiva, sin embargo esto no es aplicable de forma universal; por lo que los fármacos antiparasitarios actualmente son el tratamiento ideal para las parasitosis.

Tabla 3. Fármacos de elección para el tratamiento de algunas enfermedades parasitarias del hombre. 2, 20, 25-28

Fármaco	Parasitosis	Grupo químico	Desventajas
Timidazol	Giardiasis	5-Nitroimidazol	Efectos tóxicos
Metronidazol	Entamoebosis, Giardiasis	5-Nitroimidazol	Efectos tóxicos
Nitazoxanida	Tricomoniasis, Giardiasis	Nitroimidazol	Efectos secundarios leves
Yodoquinol	Giardiasis,	Hidroxiquinolina halogenada	Neurotoxicidad grave a altas dosis
Niclosamida	Himenolepiosis, Tasciosis	Imidazol	Efectos secundarios leves
Prazicuantel	Himenolepiosis, Fasciolosis, Tasciosis	Deriv. de isoquinolina	Genera intolerancia gastrointestinal
Dehidroemetina	Himenolepiosis, Entamoebosis, Fasciolosis	Emetina	Toxicidad a altas concentraciones y en tiempos prolongados
Pamoato de pirantel	Enterobiosis, Uncinariosis, Ascariosis	Tetrahidroxi pirimidina	Cefalea, vértigo, somnia, náusea, vómito
Citrato de piperacina	Uncinariosis, Ascariosis,	Piperazina	Ocasionalmente puede causar intolerancia gastrointestinal.
Bitionol	Fasciolosis	Bitionol	Muy tóxico, contra indicado en embarazo, insuficiencia hepática, y cisticercosis ocular
Tiabendazol	Estrongiloidosis, Fasciolosis	Bencimidazol	Teratógeno y neurotóxico
Mebendazol	Enterobiosis, Uncinariosis, Tricocefalosis, Ascariosis	Bencimidazol	Teratógeno
Albendazol	Tricocefalosis, Ascariosis, Enterobiosis,	Bencimidazol	Teratógeno
Triclabendazol	Fasciolosis	Bencimidazol	Bajos efectos secundarios, no usar en embarazo

Aunque el antiparasitario ideal no existe en el mercado,²⁶ se encuentran varios que tienen efecto antiparasitario como los que se muestran en la **Tabla 3**.

Como se puede observar la mayoría tiene efectos secundarios indeseables, incluso son tóxicos, por ello es importante la constante búsqueda de nuevos y mejores agentes parasitarios que se acerquen al ideal, es decir, aquél que tenga las siguientes características: efectivo para remover al parásito, amplio espectro de acción sistémica y gastrointestinal, eficaz contra todos los estadios del parásito, seguro, uso conveniente (1 sola dosis) y bajo costo.^{24, 26}

1.5. BENCIMIDAZOLES

La fusión de un anillo de benceno al de uno de imidazol por su cara d, da origen al bencilo llamado bencimidazol el cual se muestra en la **Figura 3**.

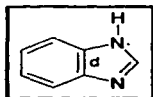


Figura 3. Estructura del bencimidazol.

Aún cuando el interés particular de esta tesis se refiere a los bencimidazoles como agentes antiparasitarios, estas moléculas también presentan actividad como antifúngicos, antiinflamatorios, herbicidas; y recientemente se estudia su actividad antimicrobiana y antiviral.²⁹

1.5.1. BENCIMIDAZOLES COMO AGENTES ANTIHELMINTICOS

El descubrimiento del Tiabendazol (**Figura 4**) abrió las puertas para el desarrollo y uso de los bencimidazoles como antihelmínticos tanto en medicina humana como veterinaria.³ Los bencimidazoles poseen amplio espectro como antihelmínticos y se utilizan para el control de parásitos como Nematodos, Cestodos y Trematodos.^{31, 32} Los

bencimidazoles de mayor importancia son el Albendazol, Flubendazol, Mebendazol y a partir de hace algunos años se ha aprobado el uso del Triclabendazol en humanos.^{8, 9, 30} (Figura 4).

El grupo carbamato de metilo en la posición 2, presente en la molécula de Mebendazol, Albendazol, y Flubendazol (Figura 4), les confiere gran polaridad, disminuyendo su absorción;²⁷ esto restringe el uso de estos compuestos para el tratamiento de parasitosis extraintestinales.

El Mebendazol, *N*-[5(6)-benzoil-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo, se considera uno de los antihelmínticos más efectivos en el área veterinaria, ya que promueve la eliminación casi completa de nematodos intestinales en ovejas, cabras y reces. Su uso en humanos ha sido reemplazado por el Albendazol.⁷

El Albendazol, *N*-[5(6)-propiltio-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo, muestra una gran actividad contra diferentes nematodos, cestodos, y trematodos entre los que destacan *Ascaris lumbricoides*, *Trichiuris Trichura*, *Taenia saginata*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis*, etc. Este ofrece la ventaja de eliminar a los helmintos intrainestinales con una sola dosis (400 mg).⁷

El Triclabendazol, 5(6)-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol, (Figura 4) se caracteriza por ser menos polar que los carbamatos bencimidazólicos, por lo tanto su biodisponibilidad es mejor debido a que tiene un grupo metiltio en posición 2, el cual es transformado por metabolismo hepático al sulfóxido (que sigue siendo activo como antihelmíntico) y a la sulfona correspondiente.³⁰ Este fármaco ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de fasciolosis pues elimina todas las fases de este helminto.⁸ Debido a que no presenta efectos secundarios como los causados por el uso de la emetina y la dehidroemetina, el Triclabendazol se está utilizando en humanos pues hasta hace unos pocos años solo tenía uso veterinario.^{8, 9, 27}

El CDRI-87-144 *N*-[5-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo, (Figura 4) otro bencimidazol que exhibe un amplio espectro de actividad antihelmíntico *in vitro* e *in vivo*, tiene una mejor capacidad de absorción debido a un grupo carboxamido en la posición 5(6).¹⁰ Los carbamatos que contienen grupos carboxamido en posición 5(6) han demostrado actividad filaricida.^{7, 10}

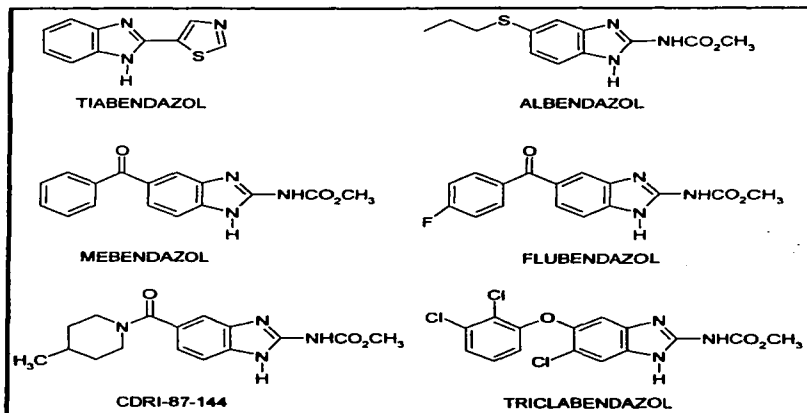


Figura 4. Agentes bencimidazólicos antiparasitarios.

Recientemente se han sintetizado bencimidazoles con grupos carboxamido, basados en las estructuras del Triclabendazol y del CDRI-87-144.¹¹ Estos compuestos, con un grupo 5-aminocarbonil en la posición 5 del anillo y un grupo metiltilio en la posición 2, tuvieron una actividad mayor a la del Albendazol en un ensayo *in vitro* contra *Trichinella spiralis*. De estos compuestos, el 2-(metiltilio)-5-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (Compuesto II, Figura 5) y el 5-cloro-2-(metiltilio)-5-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (Compuesto IV) presentaron a la concentración de 3.77 μ M, 61 y 48% de

reducción de la capacidad metabólica de este helminto respectivamente, cuando el Albendazol tuvo un 46% de actividad a la misma concentración.¹¹

1.5.2. BENCIMIDAZOLES COMO AGENTES ANTIPROTOZOARIOS

Para el tratamiento de algunas protozoosis, como la giardiosis o tricomoniosis, se utilizan fármacos como el Metronidazol, Tinidazol, Quinacrina, Furazolidona, Nitazoxanida,¹⁴ entre otros; sin embargo, como se mencionó anteriormente, presentan problemas como disminución de la actividad normal de la flora intestinal, alta absorción, limitada actividad contra infecciones intestinales y carcinogénesis potencial.²¹ Además en el caso del Metronidazol al administrarlo en dosis subletales o profilácticas puede conducir a generar resistencia.²⁸

En ensayos *in vitro*, el Albendazol ha resultado ser más efectivo como agente giardicida que el Tinidazol y el Metronidazol.^{34, 35, 4} En un estudio mexicano se encontró que el Albendazol fue 6, 10, y 20 veces más efectivo que el Mebendazol, Ornidazol, y Metronidazol respectivamente⁵, esto puede deberse a que en la estructura de *Giardia lamblia* se encuentra un prominente citoesqueleto constituido principalmente de microtúbulos, lo cual hace que los bencimidazoles puedan ser efectivos contra la giardiosis.⁵ Este es el caso del Albendazol, que ha resultado ser un agente giardicida excelente, pues se enlaza de forma irreversible a la tubulina presente en el citoesqueleto de *Giardia*.^{4, 5} Además, en ensayos *in vitro* contra *T. vaginalis*, el Mebendazol fue activo dentro de una serie de compuestos de prueba.⁶

Debido a que los bencimidazoles presentan un amplio espectro de acción antiparasitaria y baja toxicidad, actualmente están desplazando a otros antiprotozoarios como el Metronidazol.³⁶

Otro grupo de bencimidazoles, sintetizado por este grupo de trabajo son los 1-metilbencimidazoles.^{37, 38} Algunos de estos compuestos han demostrado actividad giardicida comparable con la del Albendazol. Ejemplos de estos compuestos son el 5-cloro-

1-metil-2-trifluorometil-1*H*-bencimidazol,³⁷ (Compuesto III) y el 1-metil-2-metil-5-propiltio-1*H*-bencimidazol,³⁸ (Compuesto I) los cuales se muestran en la Figura 5.

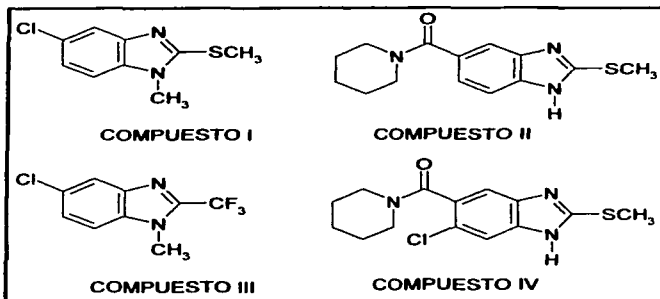


Figura 5. Compuestos bencimidazólicos sintetizados con buena actividad antiparasitaria *in vitro*.^{11, 37, 38}

1.5.3. MECANISMOS DE ACCION DE LOS BENCIMIDAZOLES

Entre los mecanismos de acción de los bencimidazoles se encuentran los siguientes:

1.- Inhibición del metabolismo de la glucosa; mediante la inhibición de la enzima fumarato reductasa, que convierte el fumarato a succinato en la mitocondria. bencimidazoles como Tiabendazol, Cambendazol, Fenbendazol, Oxfendazol, tienen este efecto en *Ascaris suum* y *Haemonchus Contortus*.⁷

2.- Inhibición de la liberación de glucosa. Solamente el Mebendazol presenta la interferencia de la liberación de glucosa en nematodos y cestodos. Al ser bloqueado el uso de la glucosa o su transporte, también se disminuye la energía del organismo.⁷

3.- Inhibición de la polimerización de la tubulina. Este es el mecanismo más importante, pues los bencimidazoles se unen a la subunidad beta de la tubulina impidiendo su polimerización, involucrada con funciones celulares como la formación del huso acromático en la división celular, transporte y secreción celular, absorción de nutrientes y mantenimiento de la forma de la célula,^{39, 40} esta unión disminuye la homeostasis de la célula, que finalmente muere.

En una investigación, sobre este último mecanismo, se comparó la afinidad de unión del Albendazol, con tubulina de mamífero (ratón), de helminto (*Ascaris suum*) y de protozoario (*Giardia lamblia*), y se observó que esta afinidad es mayor para el helminto, seguida por la del protozoario y para el mamífero fue menor, lo cual indica que el Albendazol presenta una toxicidad selectiva sobre los parásitos aún cuando se une a la tubulina de mamífero esta unión es menor.³⁹

1.5.4. DESVENTAJAS Y RESISTENCIA A LOS BENCIMIDAZOLES

La resistencia puede ser definida como una disminución de la eficiencia de un antihelmíntico contra una población de parásitos que es susceptible a un fármaco. Esto puede deberse a un cambio a nivel genético o a diferentes características del parásito tales como su estadio, sexo, variación geográfica, especie u hospedero.⁴²

En el sector ganadero la resistencia contra los antihelmínticos ha aumentado y es causa de pérdidas millonarias en ovicultura mundial.⁴³ En México se ha reportado ampliamente la resistencia de *H. contortus* a Albendazol y Febantel,⁴⁴ debido a una mutación puntual en la beta-tubulina.⁴²

Además de la resistencia, algunos bencimidazoles como son el Mebendazol, Oxfendazol, y Albendazol, ofrecen la desventaja de generar efectos teratogénicos, por lo que no se recomienda su uso en hembras preñadas o en el embarazo. Otros como el Cambendazol y Parbendazol también causan embriotoxicidad.⁷

Aunque en general los bencimidazoles no tienen efectos secundarios graves, el Albendazol y Mebendazol pueden generar alguno de los siguientes síntomas: dolor abdominal, diarrea, dolor epigástrico o de cabeza, náusea, insomnio. El Mebendazol en altas dosis puede causar reacciones alérgicas, alopecia, agranulocitosis. El Albendazol en tratamientos largos puede causar fiebre, leucopenia reversible, alopecia y hepatitis.⁷

Otro problema que presentan los bencimidazoles con un grupo carbamato de metilo en posición 2 es su pobre capacidad de absorberse; además, si no contienen sustituyente en las posiciones 5 y 2 se eliminan rápidamente por medio del metabolismo hepático,²⁷ ambos casos tienen como consecuencia el uso de una dosis mayor con el fin de lograr el efecto deseado.

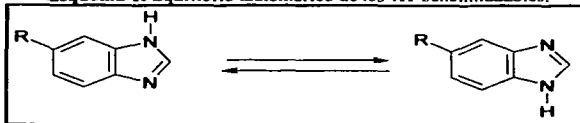
Los factores anteriores hacen que las investigaciones de nuevos agentes bencimidazólicos que no presenten las características anteriores sea un factor determinante para el mejoramiento de la economía ganadera y para la salud humana.

1.6. QUIMICA DE BENCIMIDAZOLES

1.6.1. EQUILIBRIO TAUTOMERICO DE LOS BENCIMIDAZOLES

Cuando los bencimidazoles presentan un hidrógeno en la posición 1 se encuentran en equilibrio tautomérico (**Esquema 1**); esto es, como mezcla de 2 isómeros llamados tautómeros; en ellas se afectan las posiciones 5 y 6,³² cuando la sustitución en el anillo es asimétrica.

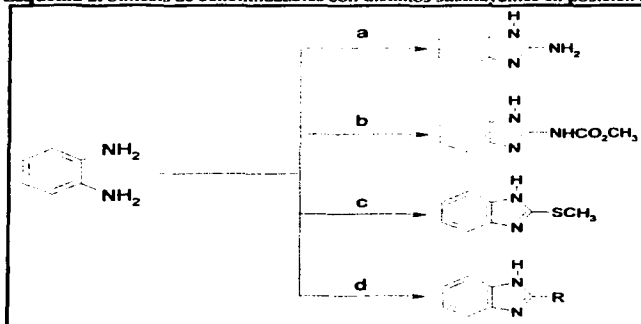
Esquema 1. Equilibrio tautomérico de los 1H-bencimidazoles.



1.6.2. SINTESIS DE BENCIMIDAZOLES

Comúnmente los bencimidazoles se sintetizan formando primero la *orto*-feniléndiamina con los sustituyentes deseados, posteriormente el anillo se cierra con algún agente condensante,³² este último se elige dependiendo del grupo deseado en posición 2. Algunos ejemplos para obtener bencimidazoles con grupo amino, metililo, carbamato de metilo o radical en posición 2 se muestran en el Esquema 2.

Esquema 2. Síntesis de bencimidazoles con distintos sustituyentes en posición 2.



(a) BrCN , H_2O , EtOH ; (b) ClCO_2CH_3 , sulfato de *s*-metilisotiouronio; (c) 1) CS_2 , $\text{KOH/EtOH/H}_2\text{O}$
2) CH_3I , $\text{KOH/acetona/H}_2\text{O}$; (d) RCOOH , calor

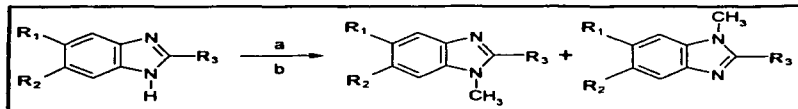
1.6.3. SINTESIS DE 1-METILBENCIMIDAZOLES

1.6.3.1. Por metilación de 1H-bencimidazoles

La metilación directa del núcleo de bencimidazol genera los 1-metilbencimidazoles. Cuando el anillo del bencimidazol está sustituido simétricamente se obtiene un solo

compuesto; sin embargo, si está sustituido asimétricamente se obtiene una mezcla de isómeros de difícil separación (Esquema 3).³²

Esquema 3. Reacción de metilación de bencimidazoles.

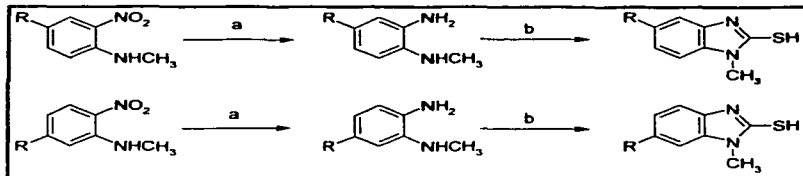


(a) 1) NaOH; 2) CH₃I; Si R₁ = R₂ se obtiene un solo compuesto monometilado; si R₁ ≠ R₂ se obtiene una mezcla de isómeros monometilados.

1.6.3.2. Por ciclación de *N*-metil-*o*-feniléndiaminas

Esta síntesis es especialmente útil para este trabajo de tesis ya que la ciclación de la *N*-metil-*o*-feniléndiamina adecuada origina el isómero bencimidazólico 1-metilado requerido. Debido a que las *N*-metil-*o*-feniléndiaminas en general son inestables, el método parte de sus precursores, las *N*-metil-2-nitroanilinas las cuales primero se reducen y después se ciclizan inmediatamente (Esquema 4).

Esquema 4. Síntesis de 1-metilbencimidazoles a partir de *N*-metilnitroanilinas.



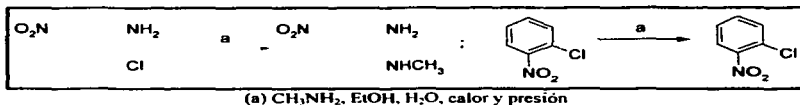
(a) H₂, Pd/C, EtOH; (b) CS₂, KOH/EtOH, H₂O, calor

Por la importancia que tienen estos precursores, a continuación se presenta una serie de métodos para su preparación:

1.- Por S_NA de 2- ó 4-clorobencenos.

Debido al carácter electroattractor del grupo nitro, los 2-cloronitrobenencos, o los 4-cloronitrobenencos, pueden sufrir la reacción de sustitución nucleofílica aromática en presencia de metilamina, en caliente, a presión (Esquema 5).⁴⁵⁻⁴⁷

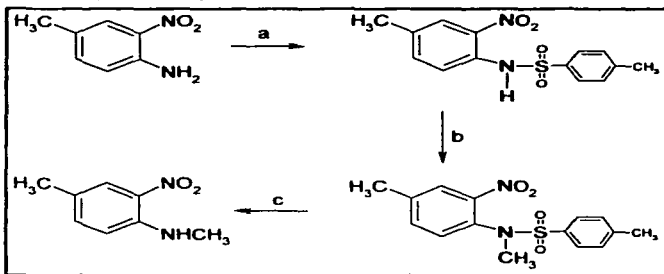
Esquema 5. Preparación de *N*-metilnitroanilinas a partir de cloronitrobenencos



2.- A partir de 2-nitroanilinas vía sulfonamida

Primera mente se protege el grupo amino con cloruro de tosilo y luego se *N*-metila con sulfato de dimetilo en medio básico; posteriormente, el tosionato se hidroliza con H_2SO_4 , para dar la *N*-metilnitroanilina correspondiente (Esquema 6).⁴⁸

Esquema 6. Preparación de *N*-metil-2-nitroanilina vía sulfonamida.

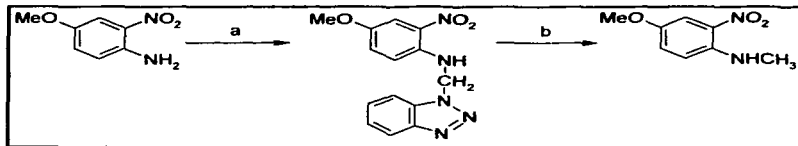


(a) cloruro de tosilo; (b) $(CH_3)_2SO$; (c) H_2SO_4 conc.

3.- A partir de 2-nitroanilinas via benzotriazometilación.

Este método es novedoso, en el se utiliza benzotriazol como un agente protector en la metilación. El acoplamiento de la 2-nitroanilina y el benzotriazol con formaldehído y posterior reacción con borohidruro de sodio da la *N*-metil-2-nitroanilina (Esquema 7).⁴⁶

Esquema 7. Obtención de *N*-metil-2-nitroanilinas usando benzotriazol.

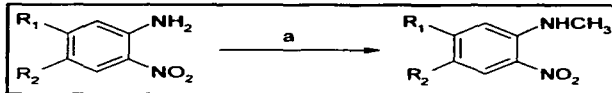


(a) benzotriazol, CH₂O; (b) NaBH₄, EtOH

4.- Por metilación directa de la 2-nitroanilina con CH₃I a presión.

Este procedimiento novedoso combina a la 2-nitroanilina y al yoduro de metilo en un reactor de presión. Se obtienen buenos rendimientos, pero la corrosión del reactor es considerable debido al HI liberado (Esquema 8).⁴⁷⁻⁴⁸

Esquema 8. Metilación directa de 2-nitroanilinas a presión.



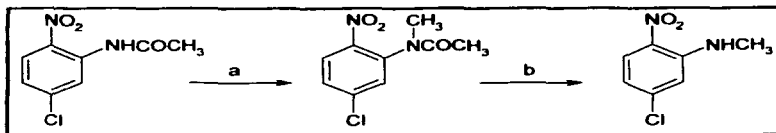
(a) CH₃I/CH₃OH, presión y calor. R₁ y R₂ pueden ser H, Cl o ambos

5.- Por metilación de acetanilidas en glicina sin catalizador de transferencia de fases.

Este método alternativo consiste en tratar a la acetanilida correspondiente disuelta en glicina, un disolvente polar aprótico, con sulfato de dimetilo y tratamiento con sosa acuosa

concentrada. Posteriormente la acetamida se hidroliza en medio ácido⁴⁷ y después se procede a la ciclación del anillo de bencimidazol (Esquema 9).

Esquema 9. *N*-Metilación de la 5-cloro-2-nitroacetanilida en glicina y sin catalizador de transferencia de fases.

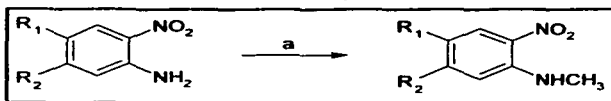


(a) 1) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4/\text{glicina}$, 2) $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$; (b) H_2SO_4 , calor

6.- Por metilación directa con sulfato de dimetilo.

Este método consiste en disolver la nitroanilina en sulfato de dimetilo, se obtienen buenos rendimientos; sin embargo, aún cuando este método es novedoso, desafortunadamente tiene la desventaja de necesitar grandes cantidades de sulfato de dimetilo (Esquema 10).⁴⁷

Esquema 10. Síntesis de *N*-metilnitroanilinas por metilación directa de nitroanilinas.

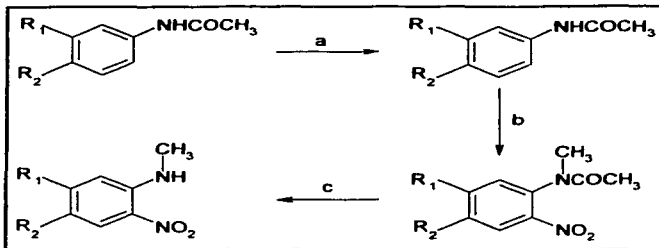


(a) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, calor

7.- Por metilación de acetanilidas con catalizador de transferencia de fase, seguido de nitración.

La acetanilida se disuelve en benceno y se trata con sulfato de dimetilo, sosa acuosa y un catalizador de transferencia de fase. Una vez formada la *N*-metilacetanilida, ésta se aísla y nitra. La hidrólisis del grupo acetamido genera la *N*-metilnitroanilina correspondiente.⁴⁹

Esquema 11. Síntesis de *N*-metil-2-nitroanilinas, a partir de la metilación de acetanilidas con posterior nitración.



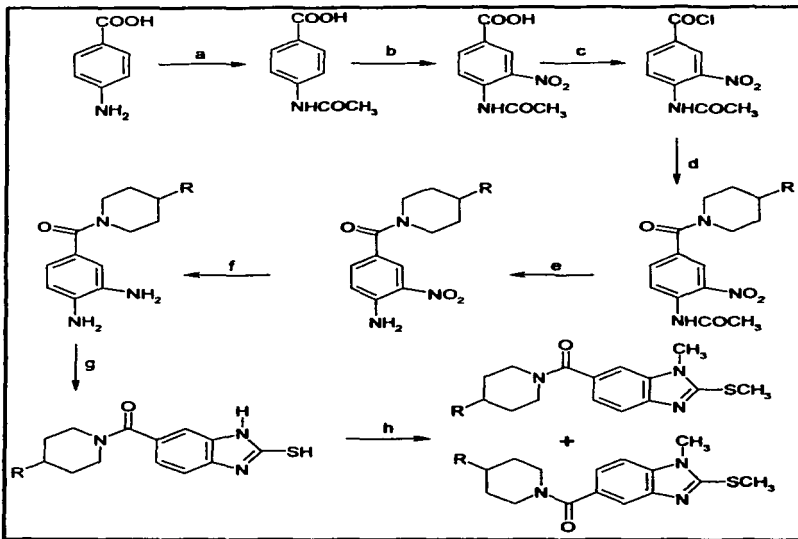
(a) 1) cloruro de trimetilbutilamonio, $(\text{CH}_3)_3\text{SO}_4$, 2) $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$; (b) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$; (c) $\text{H}_2\text{O}/\text{H}^+$

1.6.4. RUTAS DE SÍNTESIS DE LAS CARBOXAMIDAS REPORTADAS POR DEL VILLAR & GUZMÁN,¹² Y LAGUNA-MARTÍNEZ.¹³

Como se mencionó en la introducción, se han diseñado y sintetizado algunos compuestos con grupo carboxamido en posición 5 ó 6, un grupo metilto en posición 2, y un metilo en 1; las rutas de obtención de estas carboxamidas fueron realizadas por Del Villar & Guzmán¹² y Laguna-Martínez.¹³

El Esquema 12 resume la ruta sintética realizada por Del Villar & Guzmán,¹² en esta se partió del ácido *p*-aminobenzoico a través de la secuencia acetilación, nitración, formación del cloruro de ácido, tratamiento con piperidina o 4-metilpiperidina, hidrólisis selectiva de la acetanilida, reducción catalítica, ciclación con disulfuro de carbono, y finalmente metilación con yoduro de metilo. Se generaron las mezclas de los compuestos 1-metilados con el grupo carboxamido en posición 5 ó 6. Para separarlos se utilizaron técnicas como cromatografía en columna o placa preparativa, y cristalización fraccionada. Las amidas separadas se obtuvieron con un rendimiento global de 30-40%.

Esquema 12. Ruta de síntesis de carboxamidas reportado por del Villar & Guzmán.¹²

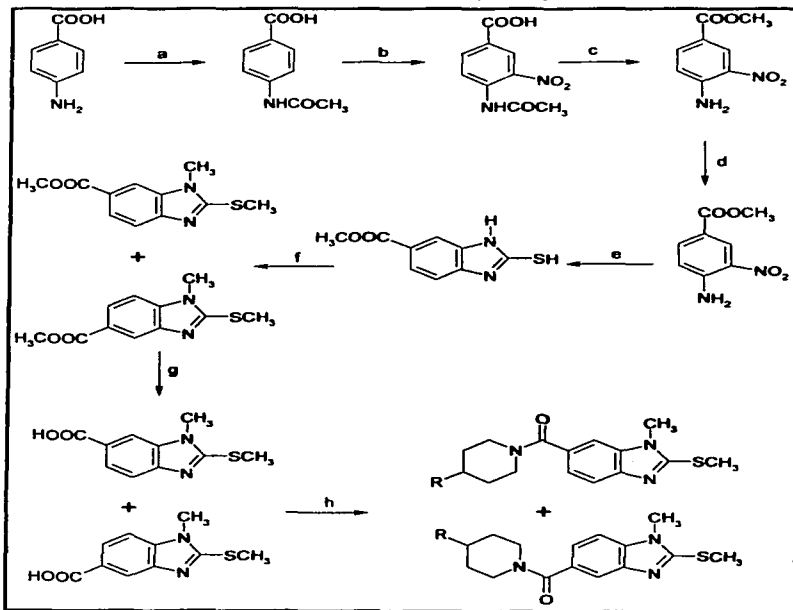


(a) Ac_2O , acetona; (b) HNO_3 , H_2SO_4 ; (c) SOCl_2 , benceno; (d) piperidina (R: H) o 4-metilpiperidina (R: CH_3) según sea el caso; ambas en benceno; (e) HCl , MeOH ; (f) H_2 , Pd/C 5%, EtOH ; (g) CS_2 , EtOH ; (h) CH_3I , EtOH , KOH .

En la ruta reportada por Laguna-Martínez¹³ (Esquema 13) también se partió del ácido *p*-aminobenzoico, el que se sometió a la siguiente secuencia de reacciones: acetilación, nitración, hidrólisis y esterificación selectiva, reducción catalítica, ciclación con disulfuro de carbono, metilación con yoduro de metilo, hidrólisis del grupo ester, y formación de las carboxamidas por tratamiento con piperidina o metilpiperidina.

En este trabajo, aunque se mejoraron los rendimientos de síntesis, la separación de las carboxamidas, aun cuando se llevó a cabo por recristalización, se logró con bajos rendimientos; sin embargo, este método tiene la ventaja de obtener el ácido carboxílico el cual sirve para obtener diferentes amidas.

Esquema 13. Ruta de síntesis de carboxamidas reportado por Laguna-Martínez.¹³



(a) Ac_2O , AcOEt ; (b) HNO_3 , H_2SO_4 ; (c) H_2SO_4 , MeOH ; (d) H_2 , Pd/C 10%, MeOH ; (e) 1) CS_2 , EtOH , KOH , 2) AcOH acuoso 20%; (f) CH_3I , $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$; (g) KOH/MeOH ; (h) 1,1'-carbonildiimidazol, CH_2Cl_2 , piperidina, (R: H) o metilpiperidina (R: CH_3).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tratamiento de las parasitosis sigue siendo mediante el uso de fármacos entre ellos los carbamatos bencimidazólicos. Éstos tienen la desventaja por un lado de ser muy efectivos y sin efectos secundarios y por otro lado la desventaja de su pobre absorción, lo que los limita para el tratamiento de enfermedades parasitarias gastrointestinales casi exclusivamente.

A diferencia de los carbamatos bencimidazólicos, el Triclabendazol es un bencimidazol que no posee el grupo carbamato de metilo en la posición 2, sino un grupo metiltio, por lo que es más absorbible, lo que le permite ser un excelente fasciolicida *in vivo*; además de ser casi exclusivo para este parásito.⁸

Por otro lado, recientemente se ha reportado que compuestos carbamatos bencimidazólicos, con grupos carboxamido en la posición 5 (CDRJ-144-87) del anillo presentan importante actividad contra helmintos extraintestinales "*in vitro*".¹⁰

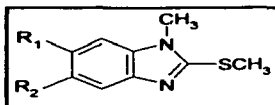
Recientemente se ha sintetizado una serie de 8 carboxamidas bencimidazólicas con un grupo metiltio en 2, como el Triclabendazol.¹¹ Estos compuestos fueron activos contra la larva muscular de *Trichinella spiralis*, particularmente el 2-(metiltio)-5-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol, el cual redujo 61% la viabilidad de la larva muscular de *T. spiralis* a 3.77 μ molar, cuando el Albendazol redujo el 46%. Sin embargo, no tuvieron actividad contra *Giardia lamblia*.





Con el propósito de conocer la importancia del Hidrógeno en la posición 1 del anillo bencimidazólico para la actividad antiparasitaria, se diseñaron 4 nuevas carboxamidas (Tabla 4); las cuales tienen un grupo metilo en vez de Hidrógeno en la posición 1 y un grupo carboxamido en 5 ó 6.

Las 4 carboxamidas fueron sintetizadas por 2 rutas distintas (del Villar & Guzmán¹² y Laguna-Martínez¹³), ambas coinciden en que se obtuvieron como la mezcla de isómeros,

con la carboxamida en posición 5 ó 6 con respecto al grupo 1-metilo, los que se separaron por técnicas de cristalización fraccionada y cromatografía en columna o placa preparativa.

Tabla 4. Carboxamidas diseñadas y sintetizadas por Del Villar y Guzmán.¹²



Compuesto	Nombre	Sustituyentes
I	1-metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-il carbonil)-1 <i>H</i> -bencimidazol	R ₁ =  R ₂ = H
2	1-metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol	R ₁ =  R ₂ = H
V	1-metil-2-(metiltio)-5-(piperidin-1-il carbonil)-1 <i>H</i> -bencimidazol	R ₁ = H R ₂ = 
VI	1-metil-5-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol	R ₁ = H R ₂ = 

Los resultados obtenidos de estas rutas también coinciden en bajos rendimientos de síntesis, principalmente de purificación (Tabla 5). Esto tuvo como consecuencia que las cantidades obtenidas en ambas rutas fuera sólo suficiente para su elucidación estructural, por ello no se realizó el ensayo biológico para el que se diseñaron.

Considerando a los resultados obtenidos en los estudios reportados por Del Villar & Guzmán,¹² y Laguna-Martínez,¹³ fue necesario desarrollar un camino diferente y práctico que nos llevara a la formación de uno de los dos isómeros por separado y así obtener estos compuestos con un mejor rendimiento y poder realizar el ensayo biológico.

Tabla 5. Rendimientos reportados por Del Villar & Guzmán,¹² y Laguna-Martínez,¹³ para la síntesis de las carboxamidas.

RUTA	COMPUESTOS 1,V	COMPUESTOS 2,VI
Del Villar & Guzmán	17.76, 64.46% respectivamente	58.92, 20.64% respectivamente
Laguna-Martínez	64.15% como mezcla	61.59% como mezcla

En este trabajo se propone una ruta de síntesis para las carboxamidas 1 y 2 por vía directa a partir del ácido 1-metil-2-metil-1-*H*-bencimidazol-6-carboxílico también se describe el método de síntesis de este ácido vía la formación de la *N*-metilnitroanilina correspondiente.

3. OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente trabajo de tesis fue sintetizar las carboxamidas 1-Metil-2-(metiltio)-5-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (**1**) y 1-Metil-5-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol (**2**) a partir del ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6 carboxílico (**11**).

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES:

Para lograr este objetivo se planteó cumplir con los siguientes objetivos particulares:

- Obtener el Ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (**11**), materia prima común para sintetizar a las carboxamidas **1** y **2**.
- Sintetizar el éster 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo precursor del ácido (**11**).
- Purificar a los compuestos sintetizados y determinar sus constantes físicas (p*f*, R_D), espectroscópicas (IR, RMN), y espectrométricas (EM).
- Comparar los rendimientos obtenidos en este trabajo contra los reportados por Del Villar & Guzmán¹² y Laguna-Martínez¹³.
- Evaluar su actividad antiparasitaria *in vitro* de las carboxamidas **1** y **2**, utilizando como modelo de helminto a *Trichinella spiralis* y Albendazol como fármaco de comparación.
- Evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* de las carboxamidas **1** y **2**, utilizando como modelo de protozoario a *Giardia lamblia* y como fármacos de comparación al Metronidazol, Albendazol y Nitazoxanida.

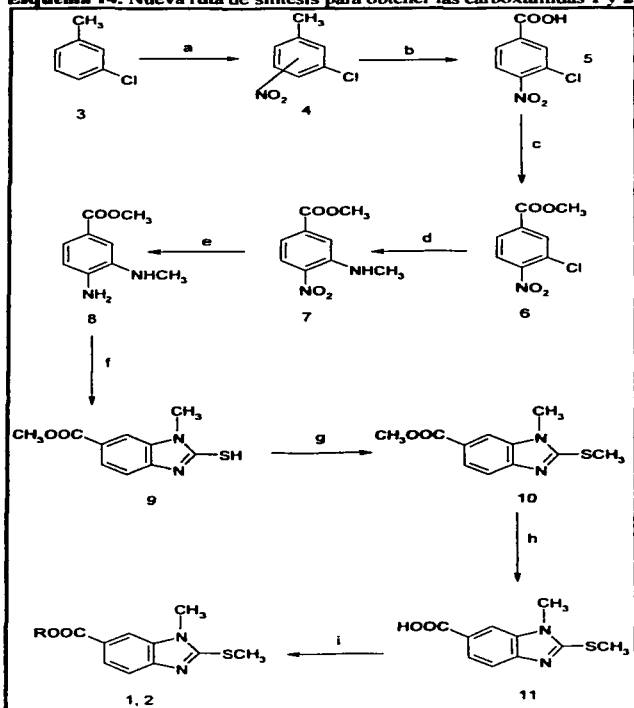
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1. NUEVA RUTA DE SINTESIS PARA LA OBTENCION DE LAS CARBOXAMIDAS 1 Y 2

Las carboxamidas 1 y 2 se sintetizaron según el **Esquema 14**. La materia prima de la cual se partió fue el 3-clorotolueno (3), el cual se sometió a una reacción de nitración, y dio una mezcla de compuestos nitrados (4). La mezcla cruda de la reacción anterior se oxidó con dicromato de potasio en medio ácido, generando principalmente al ácido carboxílico (5), el cual se trató con sulfato de dimetilo en DMF a pH 7, para dar el éster (6). Posteriormente, 6 se sometió a una reacción de S_NA con clorhidrato de metilamina y K_2CO_3 a presión, obteniendo la *N*-metilnitroanilina deseada (7). La reducción catalítica de 7 con Pd/C al 5% produjo la *orto*-feniléndiamina (8), la cual se ciclocondensó inmediatamente al bencimidazol con disulfuro de carbono, generando el tiol correspondiente (9); éste se metiló con yoduro de metilo, a temperatura ambiente, para formar al compuesto metiltio (10). El grupo éster del compuesto (10) se hidrolizó en medio básico dando el ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (11), materia prima de las carboxamidas 1 y 2, que se obtuvieron al hacerlo reaccionar con 1,1'-carbonildiimidazol en MeCN, y posterior adición de la amina piperidina o 4-metilpiperidina, obteniéndose las carboxamidas 1 y 2 (**Tabla 4**).

Se intentó obtener a las carboxamidas 1 y 2 por una segunda ruta (**Esquema 17**, Pág. 65) no obstante, aunque se obtuvieron algunos productos (13 al 17), éstos no fueron los deseados debido a que no se logró obtener el compuesto 15; en esta sección se describe la síntesis de los productos 13-17, y en la discusión se dan las razones por la que no se siguió la ruta 2 y los resultados obtenidos de la misma.

Esquema 14. Nueva ruta de síntesis para obtener las carboxamidas 1 y 2.



(a) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$; (b) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$; (c) NaHCO_3 , $(\text{CH}_3)_2\text{SO}/\text{DMF}$; (d) K_2CO_3 , $\text{CH}_3\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$, $\text{H}_2\text{O}/\text{glina}$, presión, 130°C , 3 horas; (e) H_2 , Pd/C 5%/MeOH; (f) CS_2 , KOH/MeOH ; (g) $\text{CH}_3\text{I}/\text{acetona}$; (h) $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$; (i) 1,1'-carbonildimidazol, piperidina o 4-metilpiperidina/MeCN.

4.2. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

4.2.1. EQUIPOS, INSTRUMENTACION Y MATERIALES

4.2.1.1. Materias primas

- Se utilizaron como materias primas las siguientes: 3-clorotolueno (Ruta 1) y ácido 3-aminobenzoico (Ruta 2), ambas de la marca Aldrich.
- El catalizador utilizado en la reducción fue paladio/ carbono al 5% de la marca Aldrich.
- Todos los intermediarios fueron purificados por métodos tradicionales de cristalización y se elucidaron sus estructuras por medio de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- El 1,1'-carbonildiimidazol, así como la piperidina y la 1-metilpiperidina fueron adquiridas en la casa Aldrich.
- Los disolventes fueron grado Q P o R A, según se necesitó. Los reactivos inorgánicos fueron de la marca Baker o Mallinrodt.

4.2.1.2. Cromatografía

- La pureza de los intermediarios y monitoreo de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina utilizando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice del tipo 60, GF254 de la marca Merck.
- Los productos se visualizaron utilizando una lámpara de luz UV de la marca UVP modelo UVGL-25 Mineralight y por exposición a vapores de yodo.

4.2.1.3. Sistemas de elución

Los eluyentes utilizados para la CCF se enlistan en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Sistemas de elución utilizados

Sistema	Composición	Proporción
I	CHCl₃ : éter de petróleo	99:1
II	Ácidos carboxílicos (tolueno, THF, ácido acético)	90:9:3
III	CHCl₃ : MeOH	98:2
IV	CHCl₃ : MeOH	99:1^b
V	CHCl₃ : Acetona	95:5
VI	CHCl₃ : MeOH	99.5:0.5^b
VII	CHCl₃ : MeOH	80:20^a
VIII	CHCl₃ : Acetona	90:10
IX	CHCl₃ : MeOH	90:10

^a se adicionó una gota de Ácido acético
^b se adicionó una gota de Hidróxido de amonio

4.2.1.4. Equipo utilizado o Instrumentación

- Para concentrar los disolventes se utilizó un rotaevaporador de la marca BÜCHI modelo R-114 y una bomba de vacío de la marca VWR Scientific modelo 1107.
- Para la reducción catalítica se utilizó un hidrogenador de la marca PARR modelo 3916 EG y un tanque de H₂ de la marca Infra.
- Los puntos de fusión fueron determinados por medio de un capilar en un aparato de la marca Büchi modelo B-540, y no se corrigieron.
- Para realizar la S_NA se utilizó un reactor de la marca PARR modelo M2561, a 400 watts o 115 volts, con capacidad de máxima de 300 mL y 2000 psig de presión.

- Para determinar los espectros de IR se utilizó un espectrofotómetro de la marca Perkin Elmer de transformada de Fourier, modelo FT-IR-1600, en pastilla de bromuro de potasio y película, las señales están dadas en cm^{-1} .
- Para determinar los espectros de RMN se utilizó un equipo de la marca Varian modelo Unity Inova a 300 MHz, 400 MHz para ^1H , en todos los casos se utilizó TMS como referencia interna y disolventes deuterados como cloroformo, dimetilsulfóxido, y acetona. Las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hz.
- Para determinar los espectros de Masas se utilizó un equipo de la marca Jeol modelo JMS-SX102A. la técnica utilizada fue por impacto electrónico, la forma de introducir la muestra fue de manera directa (ID) o por inyección a través de un cromatógrafo de gases (CG) de la marca Hewlett Packard modelo 5890 serie II.

4.2.1.5. Abreviaturas utilizadas

Las abreviaturas que se utilizan a lo largo de este trabajo se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Abreviaturas utilizadas.

AcOEt	acetato de etilo	DMSO	dimetilsulfóxido	ppm	partes por millón
AcOH	ácido acético	DMSO- d_6	dimetilsulfóxido deuterado	100%	pico base
Acetona- d_6	acetona deuterada	d	doblete	pf	punto de fusión
MeCN	acetonitrilo	dd	doble de dobles	m/z	relación masa-carga
D ₂ O	agua deuterada	dt	doblete tripleteado	MTT	sal de tetrazolio
Ac ₂ O	anh. acético	EtOH	etanol	s	singulete
CDI	1,1'-Carbonil diimidazol	EM	espectrometría de masas	sa	singulete amplio
J	constante de acoplamiento	R _f	Factor de referencia	S _N A	sustitución nucleofílica aromática
CG	cromatografía de gases	Hz	Hertz	S _N I	sustitución nucleofílica unimolecular
CCF	cromatografía en capa fina	IE	impacto electrónico	THF	tetrahidrofurano
c	cuadruplete	ID	introducción directa	TMS	tetrametilsilano
DMF	dimetilformamida	IR	infrarrojo	td	triplete dobleteado
		M ⁺	ión molecular	tc	triplete cuarteteado
		MeOH	metanol	t	triplete
		μM	micromolar		

4.2.2. PARTE SINTETICA

4.2.2.1. Nitración de 3-clorotolueno (4)

En un vaso de precipitados de 2 L, adaptado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 253.18g (2.0018 mol) de 3-clorotolueno (3). A este se le adicionaron, lentamente, entre 15-22 °C, 440 mL de mezcla sulfonítrica*, una vez terminada la adición, la mezcla de reacción se mantuvo en agitación por 16 horas. Terminada la reacción se separaron las dos fases en un embudo de separación,** la fase orgánica (de menor densidad) se lavó 3 veces con agua salada y una vez con una solución de NaHCO₃ al 10%. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y concentró en el rotaevaporador, obteniéndose 320 g (93.2%) de un aceite amarillo correspondiente a la mezcla de isómeros nitrados en posición 2 (cloro en 5) y 4 del 3-clorotolueno. En la CCF (sistema I) se observó dos manchas prioritarias con R_f 0.22 y 0.31, que por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas dieron una proporción de 33% y 47%, respectivamente y total de manchas pequeñas con R_f menor (9.12%) que correspondieron a los productos de dinitración. La mezcla cruda se sometió a la siguiente reacción de oxidación.

*La mezcla sulfonítrica se preparó de la siguiente forma: En un vaso de precipitados de 500 mL, adaptado con baño de hielo-sal, se enfriaron 220 mL de H₂SO₄; aparte, se colocaron 200 mL de HNO₃ en un vaso de precipitados de 1 L adaptado con termómetro, agitación magnética y baño de hielo-sal, a este se le agregó por medio de un embudo de adición el H₂SO₄ frío, de forma muy lenta y cuidando que la temperatura no rebasara los 20 °C.

**De la fase inorgánica se extrajo un sólido color naranja que correspondió a los productos dinitrados.

IR, espectro No. 4a (Película) cm⁻¹: 3012, 1607, 1572 (C=C-H); 1523 y 1344 (NO₂).
RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆), espectro No. 4b, δ ppm: (nitrado en 2) 2.48 (s, 3H, CH₃); 7.34

(m, 1H, H4); 7.51(m, 1H, H6); 7.91 (d, 1H, J=8.11, H2) (nitrado en 4) 2.36 (s, 3H, CH₃); 7.46 (m, 1H, H6); 7.56 (m, 1H, H2); 8.33 (d, 1H, J=8.71, H5). EM/CG, espectro No 4c, m/z: 171 (M⁺, 100%), 173 (M+2, 33%), 141 (M⁺-30, 65%).

4.2.2.2. Síntesis de Ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)

En un matraz de 5 L de 3 bocas esmeriladas 24/40, adaptado con baño de agua fría, agitación mecánica, termómetro y embudo de adición de 500 mL, se suspendieron 745.2 g de K₂Cr₂O₇ (2.5346 moles), 1644 mL de H₂O y 312.8 g (1.82456 mol) de la mezcla de nitrados (4). A temperatura ambiente se le adicionó lentamente durante 2.5 horas (reacción exotérmica) 1014.4 mL de H₂SO₄, cuidando que la temperatura se mantuviera entre 75 °C a 80 °C como máximo. Conforme la adición del ácido avanzó, la mezcla fue tornándose de suspensión naranja a solución roja y luego a negro-verdosa. Al término de la adición la reacción se calentó a reflujo suave (con canasta de calentamiento) por 5 horas, tiempo en el cual uno de los compuestos de la mezcla de nitrados se consumió casi completamente, este correspondió al compuesto de menor R_f (3-cloro-4-nitrotolueno). La mezcla de reacción fría se filtró separándose un sólido oscuro; el filtrado se diluyó con 1.5 L de agua helada precipitando un sólido grasoso que se juntó con el primero. El sólido oscuro se disolvió en acetato de etilo y la solución formada se lavó repetidas veces con una solución de H₂SO₄ al 5%; posteriormente se extrajo el producto con una solución de NaOH al 5%. La fase acuosa se filtró con vacío y el filtrado se llevó a pH 4 con HCl. Precipitó un sólido blanco, el cual se separó por filtración al vacío y se lavó con agua de hielo. Una vez seco, este sólido pesó 59.9 g. La CCF mostró una sola mancha con R_f de 0.5 en el sistema II. El filtrado ácido de este producto se extrajo con acetato de etilo y se trató de igual forma que el sólido obscuro. Se recuperaron 3.3 g más de producto. Se obtuvieron 63.2 g totales (17.2%). Una muestra de 1.4 g de este sólido se recrystalizó con cloroformo obteniéndose 1.1 g (78.6 %) de un polvo fino de color blanco que por CCF reveló una sola mancha y fundió a 183-184 °C (Lit.⁵⁰ 184 °C)

IR, espectro No. 5a, (KBr) cm^{-1} : 3046 (C=C-H); 2537-2837 (-COOH); 1702 (C=O, COOH); 1581, 1389 (NO_2). RMN ^1H (TMS, DMSO- d_6), espectro No 5b, δ ppm: 8.05 (dd, 1H, $J_1=8.40$ $J_2=1.80$, H6); 8.13 (dd, 1H, $J_1=1.8$, $J_2=0.3$, H2); 8.15 (dd, 1H, $J_1=8.4$, $J_2=0.3$, H5); 12.6-14.6 (sa, 1H, int. D_2O , COOH); EM/ID, espectro 5c, m/z : 201 (M^+ , 100%), 203 ($\text{M}+2$, 33%), 99 (M^+-102 , 65%).

4.2.2.3. Síntesis de 3-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

En un matraz bola (500 mL) de tres bocas 24/40 esmeriladas, adaptado con embudo de adición, columna vigreux, termómetro, agitación magnética y parrilla de calentamiento, se disolvieron 20 g (0.10126 mol) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5) en 70 mL de DMF. A la solución agitada vigorosamente se le adicionaron 19.13 g (0.30378 mol) de bicarbonato de sodio con 10 mL de agua, se observó el desprendimiento de CO_2 . Después de 15 minutos de agitación se adicionaron lentamente 14 mL (0.15189 mol) de sulfato de dimetilo y la mezcla se calentó a 60 °C durante una hora. Después de comprobar el consumo de la materia prima por CCF, la mezcla de reacción se vertió en 200 mL de agua salada y precipitó un sólido esponjoso de color amarillo, el cual se separó por filtración a vacío y lavó repetidas veces con agua helada. El sólido seco pesó 20.7 g (94.9%). La CCF, mostró una sola mancha con un R_f de 0.73 (sistema II). Una muestra de 1 g de este sólido se recrystalizó con etanol, resultando 800 mg (80.0%) de unos cristales muy finos de color amarillo pálido, que fundieron a 62.0-62.6 °C.

IR, espectro 6a, (KBr) cm^{-1} : 3103 (C=C-H); 1732 (C=O, COOCH_3); 1584, 1359 (NO_2); 1529, 1437 (C=C); 1283 (-OCH $_3$). RMN ^1H ((TMS, DMSO- d_6), espectro 6b, δ ppm: 3.90 (s, 3H, COOCH_3); 8.10 (dd, 1H, $J_1=8.40$, $J_2=1.80$, H6); 8.20 (d, 1H, $J_1=8.41$, H5); 8.21 (d, 1H, $J_1=1.80$, H2). EM/ID, espectro 6c, m/z : 215 (M^+ , 48%), 217 ($\text{M}+2$, 33%), 184 (M^+-31 , 100%).

4.2.2.4. Síntesis de 3-(Metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)

En un vaso reactor PARR de 300 mL, colocado en un baño de hielo, se adicionaron en este orden: 200 mL de glima, previamente enfriada a 0° C, 7.2 g (0.03348 mol) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6), 13.54 g (0.09811 mol) de K₂CO₃, 7.2 mL de agua, y finalmente 8.92 g (0.13214 mol) de clorhidrato de metilamina. El reactor se cerró inmediatamente de manera adecuada y se calentó a 130 °C por 3 horas con agitación. Después de comprobar el consumo de la materia prima, por CCF. La mezcla de reacción fría a temperatura ambiente se filtró por gravedad, el filtrado se concentró en el rotaevaporador obteniéndose un sólido, el cual se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Los extractos reunidos se lavaron con agua, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 6.4 g (91.03%) de un sólido anaranjado que en CCF en el sistema (IV) mostró un mancha prioritaria con un R_f 0.61 y otras dos manchas con R_f menor (0.08 y 0). Este sólido se sometió a recristalización fraccionada con isopropanol y se obtuvieron 3.8 g (59.38 %) de unos cristales finos de color naranja, que presentaron una sola mancha en CCF, con R_f de 0.61 con pf 133.3-134.0 °C.

IR, espectro 7a, (KBr) cm⁻¹: 3375 (-NH-); 2933 (-CH₃); 1730 (C=O, COOCH₃); 1502 y 1318 (NO₂); 1271 (-OCH₃); 1225 (NCH₃). RMN ¹H (TMS, CDCl₃) espectro 7b, δ ppm: 3.09 (s, 3H, NCH₃); 3.95 (s, 3H, -OCH₃); 7.24 (dd, 1H, J₁=8.99, J₂=1.50, H6); 7.55 (d, 1H, J₁=1.5, H2); 7.95 (sa, int D₂O, 1H, -NH); 8.22 (d, 1H, J₁=8.99, H5). EM/CG espectro 7c, m/z: 210 (M⁺, 100%); 161 (M⁺-49, 69%), 105 (M⁺-105, 44%).

4.2.2.5. Síntesis de 4-Amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

En una botella de hidrogenación de 500 mL se mezcló 2.95 g (0.01405 mol) de 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo (7) con 160 mL de metanol anhidro y 0.29 g de Pd/C al 5%. La botella se adaptó al hidrogenador y cubrió con la malla de calentamiento. El aire presente se eliminó mediante inyección-expulsión de 30 lb/plg² de H₂, 3 veces. Se cargó H₂ a 50 lb/plg² y calentó a 30-35 °C. Se consumieron 53 lb/plg² de H₂ durante 2 horas.

tiempo en el cual la solución se tornó incolora; posteriormente, la CCF en el sistema III mostró que la materia prima había desaparecido. El catalizador se separó por filtración a vacío utilizando un papel Watman del número 1. La solución se concentró a sequedad en el rotaevaporador, obteniéndose un sólido de color blanco brillante muy fino, que pesó 2,5 g (99.2 %). Por CCF se observó una sola mancha característica con R_f de 0.64 en el sistema III y fundió con descomposición a 121.0-121.7 °C. Este sólido, como tal, se metió a la siguiente reacción de ciclación.

IR, espectro 8a, (KBr) cm^{-1} : 3446, 3350 ($-\text{NH}_2$, NHCH_3); 1673 ($\text{C}=\text{O}$, COOCH_3); 1308 ($-\text{OCH}_3$); 1269 (NCH_3). RMN ^1H ((TMS), $\text{DMSO}-d_6$) espectro 8b, δ ppm: 2.72 (d, 3H, $J_1=5.10$, NCH_3); 3.72 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 4.79 (c, 1H, int. D_2O , $J_1=5.10$, NH); 5.35 (s, 2H, int. D_2O , NH_2); 6.53 (d, 1H, $J_1=8.11$, H5); 6.91 (d, 1H, $J_1=8.11$, H2); 7.15 (dd, 1H, $J_1=8.10$, $J_2=1.80$, H6). EM/ID espectro 8c, m/z : 180 (M^+ , 100%), 149 (M^+-31 , 54%), 165 (M^+-15 , 49%).

4.2.2.6. Síntesis de 2-Mercapto-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

En un matraz de 2 bocas esmeriladas 14/20 de 50 mL, acondicionado con agitación magnética, termómetro, refrigerante de agua, atmósfera de nitrógeno, y malla de calentamiento, se disolvieron 2.9 g (0.01611 mol) de la *orto*-fenilendiamina (8) en 40 mL metanol. A la solución agitada a temperatura ambiente se adicionaron rápidamente 2.0 mL (0.03222 mol) de CS_2 y 1.6 g (0.01785 mol) de KOH en 2 mL de H_2O . La mezcla de reacción se calentó por 6 horas; en este tiempo precipitó un sólido amarillo, la CCF presentó materia prima por lo que se agregó un exceso (0.05 mL) de CS_2 y 0.6 g de KOH para ajustar el pH ≈ 10 . Se continuó el calentamiento por 3 horas más, tiempo en el cual la materia prima se consumió totalmente. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua helada y se ajustó pH a 5 con ácido acético al 20 %. Se formó un sólido blanco muy fino, que se filtró a vacío y lavó repetidas veces con agua helada. Una vez seco el sólido pesó 2.6 g (72.8%), el cual en CCF mostró una mancha principal con un R_f de 0.66 (sistema VIII).

El producto crudo se purificó por recristalización de etanol dando 72.2% de cristales blancos en forma de agujas largas las cuales fundieron a 250.4-250.7 °C.

IR, espectro 9a, (KBr) cm^{-1} : 3129, 3064 (C=C-H); 2943 (C-C); 1712 (C=O, COOCH₃); 1460 (C=N); 1235 (-OCH₃). RMN ¹H (TMS, DMSO-*d*₆) espectro 9b, δ ppm: 3.68 (s, 3H, COOCH₃); 3.85 (s, 3H, N-CH₃); 7.24 (d, 1H, $J_1=8.41$, H4); 7.81 (dd, 1H, $J_1=8.11$, $J_2=1.5$, H5); 7.87 (d, 1H, $J_1=1.50$, H7); 13.08 (s, 1H, int D₂O, SH). EM/ID espectro 9c, m/z : 222 (M⁺, 100%), 224 (M+2, 6%), 191 (M⁺-31, 40%).

4.2.2.7. Síntesis del 1-Metil-2-(metiltio)-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (10)

En un matraz bola de 50 mL de 2 bocas 14/20, adaptado con agitación magnética, embudo de adición de 10 mL, y columna vigreux, se suspendieron 1.5 g (0.00856 mol) de (9) en 35 mL de acetona. A la suspensión se le adicionó lentamente a temperatura ambiente 0.95 g (0.01711 mol) de KOH disueltos en 1 mL de agua formándose una solución color verdoso en la que después de unos minutos precipitó un sólido blanco muy fino. A esta suspensión se le gotearon 0.7 mL (0.01711 mol) de yoduro de metilo disueltos en 5 mL de acetona. Al término de la adición se formó una solución amarilla. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos más, tiempo en el que la materia prima se consumió totalmente. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua helada precipitando un sólido de color blanco y fino, el pH se ajustó a 7 con HCl al 5%. El sólido obtenido se filtró a vacío y lavó repetidas veces con agua fría; una vez seco pesó 1.9 g (95%). Una muestra de 1 g se recristalizó de etanol. Se obtuvieron 0.6 g (60%) de unos cristales blancos en forma de agujas muy finas, con un R_f de 0.26 en el sistema V y pf de 147.5-148.6 °C.

IR, espectro 10a, (KBr) cm^{-1} : 2922, 2997 (C=C-H); 1709 (C=O, COOCH₃); 1467 (C=N); 1255 (OCH₃) RMN ¹H (TMS, DMSO-*d*₆) espectro 10b, δ 2.74 ppm: (s, 3H, SCH₃); 3.71 (s, 3H, NCH₃); 3.86 (s, 3H, COOCH₃); 7.58 (d, 1H, $J_1=8.41$, H4); 7.78 (dd, 1H,

$J_1=1.50$, $J_2=8.7$, H5); 8.06 (d, 1H, $J_1=1.50$, H7). EM/ID espectro 10c, m/z : 236 (M^+ , 100%), 238 (M+2, 8%), 203 (M^+-33 , 60%).

4.2.2.1.8. Síntesis del Ácido 1-metil-2-(metiltio)-1H-bencimidazol-6-carboxílico (11)

En un matraz bola de 1 boca esmerilada 14/20 de 50 mL, acondicionado con agitación magnética, refrigerante de agua y malla de calentamiento, se suspendieron 1.8 g (0.00762 mol) de (10), 25 mL de metanol, y 0.8542g (0.01525 mol) de KOH en solución 1:1 H₂O. La mezcla de reacción se calentó hasta alcanzar un reflujo suave, formándose una solución y se mantuvo así por 2 horas. Luego, se vertió en 80 mL de agua helada, el pH se ajustó a 3-4 con H₂SO₄ al 20%, precipitando un sólido muy fino de color blanco. El sólido formado se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua. El sólido seco pesó 1.55 g (91.2%). Una muestra analítica se recrystalizó de metanol-agua, obteniéndose un polvo fino y blanco que por CCF mostró una sola mancha con un R_f 0.3 en el sistema VII. Su *mp* fue 262.8-264.0 °C. El sólido crudo como tal se metió a la siguiente reacción de formación de la amida.

IR, espectro 11a, (KBr) cm^{-1} : 2998-2786 (OH, COOH); 1653 (C=O, COOH) RMN ¹H (TMS, DMSO-*d*₆) espectro 11b δ ppm: 2.72 (s, 3H, SCH₃); 3.71 (s, 3H, NCH₃); 7.57 (d, 1H, $J_1=8.41$, H4); 7.77 (dd, 1H, $J_1=8.41$, $J_2=1.50$, H5); 8.03 (d, 1H, $J_1=1.20$, H7); 12.74 (sa, 1H, int D₂O, COOH). EM/ID espectro 11c, m/z : 222 (M^+ , 100%), 224 (M+2, 8%), 189 (M^+-33 , 55%).

4.2.2.9. Síntesis de 1-Metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1H-bencimidazol (1).

En un matraz bola de 100 mL con 3 bocas esmeriladas 14/20 se pusieron, bajo condiciones anhidras, 1.4 g de 1,1'-carbonildiimidazol* (0.00864 mol), 1.6 g (0.00735 mol) del ácido bencimidazólico (11) y 10 mL de MeCN. Al matraz se le adaptó un refrigerante y en su extremo una trampa de humedad, un termómetro y un séptum en la otra boca. La mezcla de reacción se calentó por una hora a 70-75 °C, durante este tiempo se formó una

solución y se desprendió CO₂. Por CCF, en el sistema V, se comprobó la formación del imidazólido, caracterizado por ser una mancha que revela de forma intensa y de color azul en el UV, con un R_f de 0.2. Posteriormente se adicionaron, por medio de una jeringa, 1.7 mL (0.01469 mol) de piperidina disueltos en 3 mL de MeCN, el calentamiento se continuó por media hora a 65-70 °C. La mezcla de reacción se concentró a sequedad en el rotaevaporador, el residuo se disolvió en 30 mL de acetato de etilo, lavó dos veces con 5 mL de HCl al 5%, dos veces con 5 mL de una solución de bicarbonato al 5% y finalmente una vez con agua salada. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad en el rotaevaporador. Se obtuvieron 1.5 g (71.4%) de un sólido café claro. El producto crudo se sometió a recristalización con éter dietílico. Se obtuvieron 1.1 g (73.3%) de unos cristales pequeños y brillantes de color blanco. Este producto mostró una sola mancha en el UV y en vapores de yodo y tuvo un R_f de 0.65 en el sistema VII y un punto de fusión de 139.5-140.4 °C.

*El CDI se pesó rápidamente teniendo al frasco contenedor del reactivo bajo una corriente de nitrógeno para evitar su hidratación.

IR, espectro No 1a, (KBr) cm⁻¹: 2851-2946 (C-C-H); 1617 (C=O, CON) RMN ¹H 400 MHz (TMS, DMSO-*d*₆) espectro No 1b, δ ppm: 1.49 (sa, 4H, H3' y H5'), 1.57-1.64 (m, 2H, H4'), 2.72 (s, 3H, SCH₃); 3.35-3.60 (m, 4H, H2' y H6'), 3.67 (s, 3H, NCH₃); 7.14 (dd, 1H, J₁=8.0, J₂=1.6, H5); 7.52 (dd, 1H, J₁=1.2, J₂=0.4, H7); 7.54 (dd, 1H, J₁=8.0, J₂=0.4, H4); EM/CG espectro No 1c, m/z: 289 (M⁺, 86%), 288 (M⁺-1, 91%), 205 (M⁺-85, 100%).

4.2.2.10. Síntesis de 1-Metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2(metiltio)-1H-bencimidazol (2)

En un matraz de 3 bocas 14/20 (100 mL), se mezclaron, bajo condiciones anhidras, 1.5 g (0.00676 mol) del ácido bencimidazólico (11), 1.6 g (0.01014 mol) de 1,1'-carbonildiimidazol y 10 mL de MeCN. Al matraz se le adaptaron un refrigerante, y en su

extremo una trampa de humedad, un termómetro y un séptum. La mezcla de reacción se calentó por una hora a 60°C; durante este tiempo se formó una solución y desprendió CO₂. La CCF (sistema V) mostró la formación del imidazólido intermediario con R_f 0.2, que se caracterizó por presentar una mancha azul brillante en UV. Posteriormente la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y por medio de una jeringa se le adicionó 1.6 mL (0.01351 mol) de 4-metilpiperina disueltos en MeCN, la mezcla se calentó nuevamente a 60 °C por una hora. Terminada la reacción se concentró en el rotaevaporador hasta sequedad, el residuo se disolvió en 30 mL de AcOEt, éste se lavó dos veces con 5 mL de solución de HCl al 5%, dos veces con solución de NaHCO₃ al 5% y finalmente con agua salada. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a sequedad en el rotaevaporador. Se obtuvieron 1.3 g (65%) de un sólido rosa pálido, que en CCF (sistema V) presentó una mancha con R_f de 0.35, y en el origen otra que sólo reveló con vapores de yodo. El producto crudo se sometió al siguiente tratamiento para su purificación: tratamiento con carbón activado en MeCN a reflujo por una hora; filtración en embudo de vidrio poroso con capa de alúmina, utilizando cloroformo como fase móvil; tratamiento con carbón activado en metanol a reflujo por una hora; finalmente recrystalización con éter dietílico. De este proceso se obtuvieron 0.7 g (54%) de unos cristales fino y brillantes de color blanco. Con un R_f de 0.69 (sistema VII), y punto de fusión de 116.9-118.0 °C.

•El CDI se pesó rápidamente teniendo al frasco contenedor del reactivo bajo una corriente de gas nitrógeno para evitar su hidratación.

IR, espectro No 2a, (KBr) cm⁻¹: 2853-2945 (C-C-H); 1624 (C=O, CON) RMN ¹H (TMS, DMSO-*d*₆) espectro No 2b, δ ppm: 0.9 (d, 3H, J=6.4, 3H, CH₃ en C4'), 1.02-1.08 (m, 2H, H3' ó H5'); 1.57-1.61 (m, 3H, H4', H3' ó H5'); 2.65-2.99 (m, 2H, H2' ó H6'); 2.71 (s, 3H, SCH₃); 3.20-3.80 (m, 1H, H2' ó H6'); 7.14 (dd, 1H, J₁=8.0, J₂=1.6, H5); 7.52 (dd, 1H, J₁=1.6, J₂=8.0, H7); 7.53 (dd, 1H, J₁=0.4, J₂=8.4, H4); EM/CG espectro No 2c, m/z: 303 (M⁺, 50%); 302 (M⁺-1, 64%), 205 (M⁺-97, 100%),

4.2.2.11. Síntesis de Ácido 3-acetamidobenzoico (13)

En un matraz bola de 1L de 2 bocas 24/40, adaptado con agitación magnética, refrigerante de aire con trampa de humedad en el extremo, y embudo de adición, se suspendieron, 30.0 g (0.21897 mol) del ácido 3-aminobenzoico (12) en 500 mL de acetato de etilo. Con agitación vigorosa se adicionaron lentamente 33.5 mL de anhídrido acético (0.322845 mol); la agitación se continuó durante 15 minutos en los cuales se observó que la mezcla de reacción se hizo más densa, ya que el producto precipitó en el medio de reacción. La mezcla de reacción se filtró a vacío y lavó con 3 porciones de 150 mL de AcOEt. Una vez seco el producto crudo pesó 38.0 g (96.9%). En CCF en el sistema VI reveló una sola mancha con un R_f de 0.07. El producto crudo se purificó por recristalización con metanol obteniéndose 35 g (92.1%) de unos cristales blancos y finos con p_f de 251.5-252.1 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3335 (-NH); 2897-2574 (OH, COOH); 1705 (C=O, COOH); 1635 (C=O, HNCO). RMN ^1H (TMS, DMSO- d_6) δ ppm: 2.04 (s, 1H, CH₃); 7.39 (t, 1H, $J_1=7.80$, $J_2=8.10$, H5); 7.59 (dt, 1H, $J_1=7.80$, $J_2=2.10$, H4); 7.59 (dt, 1H, $J_1=7.79$, $J_2=1.82$, H6); 8.20 (t, 1H, $J_1=1.80$, H2); 10.09 (s, 1H, int D₂O, NH); 12.91 (s, 1H, int D₂O, COOH). EM/ID m/z : 179 (M^+ , 55%); 137 (M^+-42 , 100%), 120 (M^+-159 , 37%).

4.2.2.12. Síntesis de 3-Acetamidobenzoato de metilo (14).

En un matraz bola de 500 mL de 3 bocas 24/40, adaptado con agitación magnética, termómetro, refrigerante de aire y embudo de adición, se disolvieron 24.6 g (0.13743 mol) de (13) en 170 mL de DMF; la solución se trató con 23 g (0.27486 mol) de NaHCO₃ y 5 mL de agua, con lo cual se obtuvo un pH de 7. La mezcla anterior se calentó a 60 °C y se trató con 19.5 mL (0.20604 mol) de sulfato de dimetilo. Una vez terminada la adición se continuó agitando por 10 minutos más. La mezcla de reacción se vertió en 300 g de hielo picado y mantuvo con agitación magnética durante 30 minutos, después de los cuales precipitó un sólido de color blanco, esta suspensión se saturó con NaCl, se filtró a vacío y el residuo se lavó varias veces con agua. El producto seco mostró una sola mancha por CCF

con un R_f de 0.45 (sistema VI) y pesó 26.3 g (87.3%). Una muestra de 1 g se purificó por recristalización de metanol-agua, obteniéndose 0.7 g (70%) de unos cristales en forma de agujas finas de color blanco, con pf de 145.1-146.1 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3295 (NH); 1736 (C=O, COOCH₃), 1664 (C=O, HNCO); 1289 (OCH₃). RMN ¹H (TMS, acetona-*d*₆) presentó: δ ppm: 2.05 (s, 3H, NHCH₃); 3.83 (s, 3H, COOCH₃); 7.42 (t, 1H, $J_1=8.11$, $J_2=7.81$, H5); 7.60 (dt, 1H, $J_1=7.81$, $J_2=2.70$, H4); 7.81 (dq, 1H, $J_1=8.11$, $J_2=2.10$, H6); 8.24 (t, 1H, $J_1=2.10$, H2), 10.15 (s, 1H, int D₂O, NH). EM/ID m/z : 193 (M⁺, 46%), 151 (M⁺-42, 100%), 120 (M⁺-73, 40 %).

4.2.2.13. Síntesis de 5-Acetamido-2-nitrobenzoato de metilo (15)

En un vaso de precipitado de 400 mL, adaptado con agitación magnética, termómetro y embudo de adición, se adicionaron lentamente 24.7 g (0.12864 mol) de (14) sobre 30 mL de H₂SO₄ concentrado y frío. Una vez disuelta la materia prima, se goteo lentamente 70 mL de mezcla sulfonítrica* cuidando que la temperatura se mantuviera entre 0-3 °C. Al terminar la adición se dejó agitando por 30 minutos más. La mezcla de reacción se vertió en 500 g de hielo picado y se filtró a vacío y lavó con agua repetidas veces hasta pH neutro. El producto seco pesó 27.3 g (89.2%) de un sólido amarillo que en CCF mostró una mancha prioritaria y dos más pequeñas con R_f mayor. Los 27.3 g se sometieron a recristalización de MeOH-H₂O (2:1), de la cual se obtuvieron 12 g (43.7%) de cristales pequeños amarillo paja, una sola mancha con un R_f de 0.47 en el sistema VIII y con pf de 76-78 °C.

*En un vaso de precipitado de 100 mL se colocaron en 30 mL de H₂SO₄ concentrado y se enfriaron a 0 °C, luego se gotearon lentamente sobre 40 mL de HNO₃ concentrado previamente enfriados a 0°C. La mezcla se hizo con agitación lenta, evitando que la temperatura sobrepasara los 5 °C.

IR (KBr) cm^{-1} 3500 (NH); 1722 (C=O, COOCH₃); 1688 (C=O, HNCO); 1518 y 1338 (NO₂); 1300 (OCH₃). RMN ¹H (TMS, Acetona-*d*₆) δ ppm: 2.15 (s, 3H, COCH₃); 3.87 (s,

3H, COOCH₃), 7.90 (dd, 1H, $J_1=8.71$, $J_2=2.40$, H4); 8.05 (s, 1H, H2); 8.05 (d, 1H, $J_1=8.11$, H5); 9.94 (s, 1H, int D₂O, NH). EM m/z : 238 (M⁺, 32%), 196 (M⁺-42, 100%), 166 (M⁺-72, 26%).

4.2.2.14. Síntesis de 5-[Acetil(metil)amino]-2-nitrobenzoato de metilo (16)

En un matraz bola de 3 bocas 14/20 (50 mL), adaptado con agitación magnética, termómetro, refrigerante de aire y embudo de adición, se mezclaron 7.6 g (0.03193 mol) de (15), 7 mL de glima y 7.5 mL (0.07982 mol) de sulfato de dimetilo. La solución resultante se calentó a 30 °C y lentamente se adicionaron 2.1 mL (0.03831 mol) de una solución de KOH/H₂O 1:1, se cuidó que la temperatura no fuera mayor de 33 °C. Una vez consumida la materia prima, la mezcla de reacción se vertió en 50 mL de agua helada saturada con NaCl, precipitando un sólido de color amarillo, que se filtró con vacío y lavó con agua hasta pH neutro. El producto crudo pesó 6.2 g (77.0%) y en CCF mostró una mancha con un R_f de 0.59 en el sistema VIII. Una muestra de este sólido se recrystalizó de metanol, obteniéndose unos cristales amarillos (80.0%) con mp 114.2-115 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3060 (NH); 1736 (C=O, COOCH₃); 1653 (C=O, CHCO); 1527, 1349 (NO₂); 1268 (OCH₃). RMN ¹H (TMS, acetona-*d*₆) δ ppm: 2.03 (s, 3H, NCOCH₃); 3.27 (s, 3H, NCH₃); 3.89 (s, 3H, COOCH₃); 7.76 (dd, 1H, $J_1=2.40$, $J_2=8.41$, H4); 7.83 (d, 1H, $J_1=2.40$, H2); 8.13 (d, 1H, $J_1=8.71$, H5). EM/ID m/z : 252 (M⁺, 36%); 210 (M⁺-42, 100%), 180 (M⁺-30, 45%).

4.2.2.15. Síntesis de 5-(Metilamino)-2-nitrobenzoato de metilo (17)

En un matraz bola de 1 boca 14/20 de 50 mL, adaptado con agitación magnética, se colocaron 5.2 g de (16), 0.4 mL de H₂SO₄ y 25 mL de MeOH anhidro, la mezcla anterior se calentó a reflujo por 6 horas. Terminada la materia prima, la mezcla de reacción se vertió en 100 g de hielo picado precipitando un sólido amarillo fuerte que se filtró a vacío y lavó con agua hasta pH neutro. Una vez seco el producto pesó 4.2 g (81.4%), el cual reveló una

sola mancha con R_f de 0.62 en el sistema VIII. Los 4.2 g se sometieron a recristalización de MeOH/H₂O, y de la cual se obtuvieron 2.5 g (59.5%) de unos cristales rómbicos amarillos fuertes, con un pf 81.8-82.4 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3359 (NH); 1743 (C=O, COOCH₃); 1587, 1302 (NO₂); 1257 (OCH₃). RMN ¹H (TMS, CDCl₃) presentó: δ ppm: 2.93 (s, 3H, N-CH₃); 3.93 (s, 3H, COOCH₃), 6.61 (d, 1H, $J_1=9.61$, H15), 7.28 (s, 1H, H2), 7.99 (d, 1H, $J_1=9.01$, H4). EM/ID m/z : 210 (M⁺, 100%), 180 (M⁺-30, 48%), 106 (M⁺-104, 39%).

4.2.3. PARTE BIOLÓGICA

Para el ensayo antihelmíntico se utilizó como modelo las larvas de *Trichinella spiralis*, y se realizó de la siguiente manera: Las larvas se obtuvieron de acuerdo al procedimiento descrito por Dennis *et al*⁵¹. Para el ensayo se colocaron 1000 larvas en pozos de cultivo con medio RPMI 1640; las carboxamidas 1 y 2 sintetizadas se colocaron en 5 concentraciones $\mu M/mL$. Las larvas fueron incubadas bajo una atmósfera de CO₂ con una humedad del 5%, a 37 °C por 3 días, el medio y los compuestos se cambiaron diariamente.

El Albendazol fue utilizado como control positivo y el disolvente de la disolución de los compuestos (DMSO) como control negativo. Después de la incubación se determinó la viabilidad de los parásitos por medio de un método colorimétrico descrito por Towson *et al*⁵² y modificado por Cedillo *et al*⁵³ basado en el cambio de color debido a la reducción del MTT a formazán.

Para el ensayo antiprotozoario se utilizó como modelo biológico los trofozoitos de *Giardia lamblia*, el ensayo se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Cedillo_Rivera *et al*.⁵⁴ Los trofozoitos en una cantidad de 5×10^4 se colocaron en medio TY1-S33 modificado, fueron incubados por 48 horas, a 37 °C, con disoluciones cuya concentración de las carboxamidas fue incrementándose, el Albendazol y Metronidazol fueron el control positivo, y el DMSO el control negativo, (disolvente que se usó para la preparación de las

disoluciones de las carboxamidas). Después de la incubación los trofozoitos fueron colocados en medio libre de compuestos, y se incubaron por 48 horas más, posteriormente se contaron los trofozoitos sobrevivientes, y se obtuvo la IC₅₀, utilizando un análisis Probit. El ensayo fue realizado por triplicado en dos ocasiones distintas.

5. RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados obtenidos durante la síntesis de las carboxamidas **1** y **2**. Los resultados se encuentran divididos en tablas de acuerdo a la ruta realizada y según las características fisicoquímicas o bien espectrométricas y espectroscópicas.

5.1.1. Propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas de los intermediarios sintetizados

En la **Tabla 8** se muestran las propiedades fisicoquímicas de los intermediarios sintetizados en la ruta 2, así como los rendimientos de síntesis y recristalización. Así mismo en la **Tabla 9** se muestran los datos espectroscópicos y espectrométricos de los mismos intermediarios.

Tabla 8. Características fisicoquímicas y rendimientos de los intermediarios obtenidos en la ruta 1

Compuesto	Características	%		R _f	Pf (°C)
		Reacción	Recristalización		
Mezcla de 3-Cloronitrotolueno, (4)	Liq. Amarillo	93.2	-----	0.22, 0.31, 0.06, 0.09+	-----
Ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)	Polvo blanco	17.2	78.6, Cloroformo	0.5 (II)	183-184
3-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)	Cristales finos amarillo paja	94.9	80.0 Etanol	0.73 (II)	62.0-62.6
3-(Metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)	Cristales finos y brillantes naranja	91.03	59.4 Isopropanol	0.61 (IV)	133.3-134.0
4-Amino-3-(metilamino) benzoato de metilo (8)	Cristales pequeños y brillantes blancos	99.2	-----*	0.64 (III)	121.0-121.7
2-Mercapto-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (9)	Agujas finas blancas	60.0	72.2 Etanol	0.66 (X)	250.4-250.7
1-Metil-2-(metililo)-1H-benzimidazol-5-carboxilato de metilo (10)	Polvo blanco	95.0	60.0 Etanol	0.26 (V)	147.5-148.6
Ácido 1-metil-2-(metililo)-1H-benzimidazol-5-carboxílico (11)	Polvo blanco	91.2	-----** Etanol/Agua	0.58 (X)	262.8-264.0

*No fue realizada ya que se descompone rápidamente. **No fue cuantificado. +El R_f en negritas corresponde con el nitrado en 4.

Tabla 9. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios sintetizados en la ruta 1

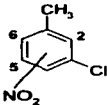
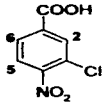
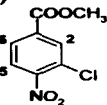
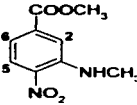
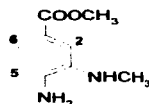
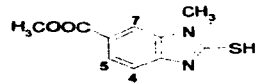
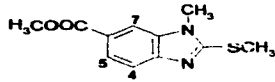
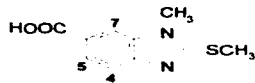
COMPUESTO	SEÑALES
<p>Mezcla de 3-cloronitrotoluenos (4)</p> 	<p>Espectro 4a, IR (Película) cm^{-1}: 3102, 1607, 1572 (C=C-H); 1523 y 1344 (NO_2).</p> <p>Espectro 4b, ^1H RMN (TMS, DMSO-d_6), ppm: 1 (nitrado en 2) 2.48 (s, 3H, CH_3); 7.34 (m, 1H, H4); 7.51 (m, 1H, H6); 7.91 (d, 1H, $J=8.11$); 2 (nitrado en 4) 2.36 (s, 3H, CH_3); 7.46 (m, 1H, H6); 7.56 (m, 1H, H2); 8.33 (d, 1H, $J_f=8.71$, H5).</p> <p>Espectro 4c, EM/CG (m/z): 171 (M^+, 100%), 173 ($M+2$, 33%), 141 (M^+-30, 65%).</p>
<p>Ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)</p> 	<p>Espectro 5a, IR (KBr) cm^{-1}: 3046 (C=C-H); 2537-2837 (-COOH); 1702 (C=O, COOH); 1581, 1359 (NO_2).</p> <p>Espectro 5b, ^1H RMN (TMS, DMSO-d_6) ppm: 8.05 (dd, 1H, $J_f=8.40$ $J_2=1.80$, H6); 8.13 (dd, 1H, $J_f=1.80$ $J_2=0.3$, H2); 8.15 (dd, 1H, $J_f=8.4$, $J_2=0.3$, H5); 12.6-14.6 (sa, 1H, int D_2O, COOH)</p> <p>Espectro 5c, EM/ID (m/z): 201 (M^+, 100%), 203 ($M+2$, 33%), 99 (M^+-102, 65%)</p>
<p>3-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)</p> 	<p>Espectro 6a, IR (KBr) cm^{-1}: 3103 (C=C-H); 1732 (C=O, COOCH_3); 1584 y 1359 (-NO_2); 1529, 1437 (C=C); 1283 (-OCH_3).</p> <p>Espectro 6b, ^1H RMN (TMS, DMSO-d_6) ppm: 3.90 (s, 3H, COOCH_3); 8.10 (dd, 1H, $J_f=8.40$, $J_2=1.80$, H6); 8.20 (d, 1H, $J_f=8.41$, H5); 8.21 (d, 1H, $J_f=1.80$, H2).</p> <p>Espectro 6c, EM/ID (m/z): 215 (M^+, 48%), 217 ($M+2$, 33%), 184 (M^+-31, 100%).</p>
<p>3-(Metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)</p> 	<p>Espectro 7a, IR (KBr) cm^{-1}: 3375 (-NH-); 2933 (-CH_3); 1730 (C=O, COOCH_3); 1502 y 1318 (NO_2); 1271 (-OCH_3); 1225 (NCH_3).</p> <p>Espectro 7b, ^1H RMN (TMS, DMSO-d_6) ppm: CDCl_3 3.09 (s, 3H, NCH_3); 3.95 (s, 3H, -OCH_3); 7.24 (dd, 1H, $J_f=8.99$ $J_2=1.50$, H6); 7.55 (d, 1H, $J_f=1.5$, H2); 7.95 (sa, int D_2O, 1H, -NH); 8.22 (d, 1H, $J_f=8.99$, H5).</p> <p>Espectro 7c, EM/ID (m/z): 210 (M^+, 100%); 161 (M^+-149, 69%) 105 (M^+-105, 44%).</p>

Tabla 9. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios sintetizados en la ruta 1 (continuación)

COMPUESTO	SEÑALES
<p>4-Amino-3-(metilamino) benzoato de metilo (8)</p> 	<p>Espectro 8a, IR (KBr) cm^{-1}: 3346, 3350 (-NH₂, NHCH₃); 1673 (C=O, COOCH₃); 1308 (-OCH₃); 1269 (NCH₃).</p> <p>Espectro 8b, ¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.72 (d, 3H, <i>J</i>=5.10, NCH₃); 3.72 (s, 3H, -OCH₃); 4.79 (c, 1H, int D₂O, <i>J</i>₁=5.10, NH); 5.35 (s, 2H, int D₂O, NH₂); 6.53 (d, 1H, <i>J</i>₁=8.11, H5); 6.91 (d, 1H, <i>J</i>₁=8.11, H2); 7.15 (dd, 1H, <i>J</i>₁=8.10, H6)</p> <p>Espectro 8c, EM/ID (<i>m/z</i>): 180 (M⁺, 100%); 149 (M⁺-31, 54%); 165 (M⁺-15, 49%)</p>
<p>2-Mercapto-1-metil-1<i>H</i>-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)</p> 	<p>Espectro 9a, IR (KBr) cm^{-1}: 3129, 3064 (C=C-H); 2943 (C-C); 1712 (COOCH₃); 1460 (C=N); 1235 (-OCH₃)</p> <p>Espectro 9b, ¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 3.68 (s, 3H, COOCH₃); 3.85 (s, 3H, N-CH₃); 7.24 (d, 1H, <i>J</i>=8.41, H4); 7.81 (dd, 1H, <i>J</i>₁=8.11, <i>J</i>₂=1.5, H5); 7.87 (d, 1H, <i>J</i>₁=1.50, H7); 13.08 (s, 1H, int D₂O, SH)</p> <p>Espectro 9c, EM/ID (<i>m/z</i>): 222 (M⁺, 100%); 224 (M+2, 6%); 191 (M⁺-31, 40%)</p>
<p>1-Metil-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (10)</p> 	<p>Espectro 10a, IR (KBr) cm^{-1}: 2922, 2997 (C=C-H); 1709 (C=O, COOCH₃); 1467 (C=N); 1255 (OCH₃).</p> <p>Espectro 10b, ¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.74 (s, 3H, SCH₃); 3.71 (s, 3H, NCH₃); 3.80 (s, 3H, COOCH₃); 7.58 (d, 1H, <i>J</i>₁=8.41, H4); 7.78 (dd, 1H, <i>J</i>₁=1.50, <i>J</i>₂=8.7, H5) 8.06 (d, 1H, <i>J</i>₁=1.50, H6)</p> <p>Espectro 10c, EM/ID (<i>m/z</i>): 236 (M⁺, 100%), 238 (M+2, 8%), 203 (M⁺-33, 60%)</p>
<p>Ácido 1-metil-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxílico (11)</p> 	<p>Espectro 11a, IR (KBr) cm^{-1}: 2998-2786 (OH, COOH); 1653 (C=O, COOH)</p> <p>Espectro 11b, ¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.72 (s, 3H, SCH₃); 3.71 (s, 3H, NCH₃); 7.57 (d, 1H, <i>J</i>₁=8.41, H4); 7.77 (dd, 1H, <i>J</i>₁=8.41, <i>J</i>₂=1.50, H5); 8.03 (d, 1H, <i>J</i>₁=1.20, H7); 12.74 (sa, 1H, int D₂O, COOH)</p> <p>Espectro 11c, EM/ID (<i>m/z</i>): 222 (M⁺, 100%), 224 (M+2, 8%), 189 (M⁺-33, 55%)</p>

5.1.2. Propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas de las carboxamidas obtenidas

Una vez sintetizados los intermediarios y comprobada su estructura se procedió a la preparación de las carboxamidas, sus características fisicoquímicas y de rendimientos, así como los datos espectroscópicos y espectrométricos se muestran en las **Tablas 10 y 11** respectivamente.

Tabla 10. Características fisicoquímicas y de rendimientos de las carboxamidas 1 y 2

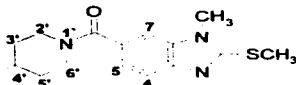
Compuesto	Características	Rendimiento (%)	Recris. (%)	PI (°C)	Rf (Xl)
1	Cristales finos blancos y brillantes	71.4	73.3 Eter dietílico	139.5-140.5	0.65
2	Cristales finos blancos y brillantes	65	54.0 Eter dietílico	116.9-118.0	0.69

Tabla 11. Datos espectroscópicos y espectrométricos de las carboxamidas 1 y 2.

COMPUESTO	SEÑALES
<p>1-Metil-6-[(piperidin)carbonil]-2-(metilitio)-1H-benzimidazol (1)</p>	<p>Espectro 1a, IR (KBr) cm^{-1}: 2851-2946 (C-C-H); 1617 (C=O, CON).</p> <p>Espectro 1b, ^1H RMN (TMS, DMSO-d_6) ppm: 1.49 (sa, 4H, H3' y H5'), 1.57-1.64 (m, 2H, H4'), 2.72 (s, 3H, SCH₃); 3.35-3.60 (m, 4H, H2' y H6'), 3.67 (s, 3H, NCH₃); 7.14 (dd, 1H, $J_1=8.0$, $J_2=1.6$, H5); 7.52 (dd, 1H, $J_1=1.2$, $J_2=0.4$, H7); 7.54 (dd, 1H, $J_1=8.0$, $J_2=0.4$, H4);</p> <p>Espectro 1c, EM/ID (m/z): 289 (M⁺, 86%), 288 (M⁺-1, 91%), 205 (M⁺-85, 100%).</p>

Tabla 9. Datos espectroscópicos y espectrométricos de las carboxamidas 1 y 2 (continuación)

COMPUESTO	SEÑALES
1-Metil-6-[(4-metilpiperidinil-1-il)carbonil]-2-(metiltio)-1 <i>H</i> -bencimidazol (2)	<p>Espectro 2a, IR (KBr) cm^{-1}: 2853-2945 (C-C-H); 1624 (C=O, CON)</p> <p>Espectro 2b, $^1\text{H RMN}$ (TMS, DMSO-d_6) ppm: 0.9 (d, 3H, $J=6.4$, 3H, CH_3 en C^4), 1.02-1.08 (m, 2H, $\text{H}3'$ o $\text{H}5'$); 1.57-1.61 (m, 3H, $\text{H}4'$, $\text{H}3'$ o $\text{H}5'$); 2.65-2.99 (m, 2H, $\text{H}2'$ o $\text{H}6'$); 2.71 (s, 3H, SCH_3); 3.20-3.80 (m, 1H, $\text{H}2'$ o $\text{H}6'$); 7.14 (dd, 1H, $J_1=8.0$, $J_2=1.6$, $\text{H}5$); 7.52 (dd, 1H, $J_1=1.6$, $J_2=8.0$, $\text{H}7$); 7.53 (dd, 1H, $J_1=0.4$, $J_2=8.4$, $\text{H}4$);</p> <p>Espectro 2c, EM/CG (m/z) 303 (M^+, 50%); 302 (M^+-1, 64%), 205 (M^+-97, 100%),</p>



5.2. ENSAYO BIOLÓGICO

5.2.1. Actividad biológica de las carboxamidas 1 y 2 sobre *Trichinella spiralis*

El porcentaje de viabilidad de las larvas de *Trichinella spiralis* se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12. Porcentaje de reducción de la capacidad metabólica de las larvas de *Trichinella spiralis* después de colocarlas en contacto con las carboxamidas 1 y 2, teniendo como referencia al Albendazol.

COMPUESTO	% DE REDUCCION DE LA CAPACIDAD METABOLICA (3.77 μM)
Carboxamida 1	10%
Carboxamida 2	10%
Albendazol	60%

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

5.2.2. Actividad biológica de las carboxamidas 1 y 2 sobre *Giardia lamblia*

La IC₅₀ calculada para la susceptibilidad *in vitro* de *Giardia lamblia* a las carboxamidas 1 y 2 sintetizadas se muestra en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Susceptibilidad *in vitro* de *Giardia lamblia*, después de colocarlas con las carboxamidas 1 y 2, se utilizó como referencia al Albendazol, Metronidazol y Nitazoxanida.

COMPUESTO	IC₅₀ (μM)
Carboxamida 1	0.256
Carboxamida 2	0.053
Albendazol	0.037
Metronidazol	1.220
Nitazoxanida	0.013

6. DISCUSION DE RESULTADOS

6.1. PARTE SINTETICA

En esta parte se discute la síntesis de cada uno de los intermediarios así como la formación de las carboxamidas 1 y 2

6.1.1. DISCUSION DE LAS RUTAS SINTETICAS

Para la síntesis de las carboxamidas 1 y 2 fue necesario, primeramente, preparar el ácido 1-metil-2-(metililo)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (11). Para ello se incursionaron dos rutas de síntesis. La ruta 1 (Esquema 14), que se presentó en la sección de desarrollo experimental, partió del 3-clorotolueno; y una segunda ruta (Esquema 17, Pág. 65), cuya materia prima fue el ácido 3-aminobenzoico (12); este último se protegió por acetilación de la amina y esterificación del ácido carboxílico para posteriormente nitrarse. El producto de nitración siempre fue el 3-acetamido-2-nitrobenzoato de metilo, aun cuando se modificaron las condiciones de reacción, esta problemática nos obligó a abandonar dicha propuesta de síntesis.

6.1.2. RUTA DE SINTESIS 1

Esta ruta fue la que nos llevó a la obtención de las carboxamidas 1 y 2. A continuación se discute la ruta de síntesis y la elucidación estructural de los compuestos obtenidos.

El primer paso de la síntesis fue la nitración del 3-clorotolueno (3) lo que llevó a una mezcla de isómeros: 3-cloro-4-nitrotolueno y 3-cloro-2-nitrotolueno (4). La reacción de sustitución electrofílica aromática se ve favorecida de igual manera en las tres posiciones, siendo muy importantes las condiciones de la reacción, esto es: la temperatura debe estar entre 15 y 22 °C, ya que si se hace por abajo, aumenta el isómero nitrado en posición 2 con cloro en 5, o bien, si el tiempo se prolonga por más de 12 horas, aumenta el isómero nitrado en 2, con cloro en 3, además de posibles dinitrados. Esto se comprobó

por espectrometría de masas, ya que en el mejor de los casos la cromatografía de gases mostró una relación de 33% para el menos polar (nitrado en 2, y cloro en 5), 43% para el compuesto nitrado en 4 y 9% para el compuesto nitrado en 2, con cloro en 3, el resto correspondió a los dinitrados.

En un intento por separar la mezcla, ésta se sometió a destilación fraccionada, a presión reducida, de la cual se obtuvieron 4 fracciones y un residuo sólido. Finalmente debido a que no fue factible la separación de los isómeros nitrados, se decidió someter tal cual, la mezcla cruda de nitración a la reacción de oxidación.

Para la oxidación del grupo metilo se realizaron dos técnicas preliminares una con KMnO_4 , y la segunda con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. En ambas se oxidó el grupo y el producto final se separó del medio de reacción. Después de las pruebas preliminares se seleccionó la reacción con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, pues fue más fácil de trabajar y se obtuvo un mejor rendimiento.

El resultado de la oxidación fue más aceptable pues conforme se llevó a cabo la reacción se observó, por CCF, que únicamente desapareció el compuesto de menor R_f y que correspondió al isómero nitrado en 4, así que al desaparecer casi al 100% se trabajó la reacción. Las trazas de materia prima e isómeros restantes se eliminaron junto con los restos de ácido y sales de cromo, obteniéndose un solo producto sólido que fue el ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5).

Las técnicas espectroscópicas y espectrométricas comprobaron la oxidación del metilo al ácido carboxílico deseado. El espectro de IR (No. 5a) mostró una banda ancha y compleja a $2537\text{-}2837\text{ cm}^{-1}$, junto con una banda larga y fina correspondiente al carbonilo del ácido a 1702 cm^{-1} , ambas características del ácido carboxílico; la ausencia de las bandas de C-H saturado indicaron la desaparición del grupo metilo. Por espectrometría de masas se observó que el peso molecular cambió de 201 a 215; también se observó el fragmento con M-44 correspondiente a la pérdida de CO_2 del ácido carboxílico. El espectro de RMN ^1H mostró la desaparición del metilo del tolueno a 2.48 ppm, además, a 13.6 ppm apareció una señal amplia que integró para un hidrógeno y que intercambió con

D₂O, lo cual comprobó la presencia del OH del ácido carboxílico. Finalmente el punto de fusión fue de 184 °C concordante con el reportado⁵⁰.

Una vez obtenido el ácido se intentó realizar con éste la S_NA del cloro por la metilamina, sin embargo, no se logró. Los rendimientos fueron muy bajos, ya que al presentar un grupo carboxílico y una amina, el compuesto es muy difícil de trabajar debido al carácter anfotérico. Para modificar las propiedades de solubilidad del compuesto anterior se decidió esterificar el ácido; el método utilizado fue una reacción tipo S_N2, con sulfato de dimetilo como reactivo metilante en DMF. Esta reacción tuvo la ventaja de ser rápida, sencilla de trabajar y cuantitativa, teniendo sólo como inconveniente la toxicidad del reactivo y el uso restringido del disolvente (DMF), ya que un exceso de éste genera la pérdida del producto en las aguas madres. A diferencia de la esterificación de Fischer, que implica el uso de grandes cantidades de disolvente y puede ser muy tardada. El compuesto esterificado presentó en el espectro de IR (No 5a) una banda larga y fina en 1732, característica del grupo carbonilo, desplazada a una menor longitud de onda, correspondiente al carbonilo de éster. La banda ancha y compleja, característica del ácido carboxílico, desapareció, y en su lugar se observó la banda de carbono saturado del metilo antes de 3000. El espectro de EM (No 5c) mostró que el peso molecular aumentó de 201 a 215 m/z; y en RMN se observó, a 3.90 ppm, un singlete que integró para los tres hidrógenos del metilo y la desaparición de la señal amplia a 13.6 ppm del OH.

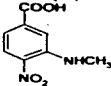
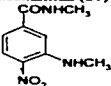
La siguiente reacción fue la sustitución nucleofílica aromática del cloro por la metil amina. Para esta reacción se usó glima como disolvente en proporción 1:20 aproximadamente, clorhidrato de metilamina y K₂CO₃, todo en un reactor a presión a 130 °C por 3 horas. Cuando se modificaron las condiciones de la reacción, la obtención de productos secundarios aumentó (todos ellos *N*-metilados). Por ejemplo, a mayor concentración de la mezcla aumentó la sustitución sólo al carbonilo del éster, generando la amida, así como la hidrólisis del mismo. Si la mezcla de reacción se diluye más, el tiempo de reacción se prolonga y aumenta el producto de hidrólisis. En las **Tablas 14 y 15** se enlistan las características físicas de los subproductos así como sus constantes

espectroscópicas y espectrométricas que nos permitieron identificar su estructura; también se muestran los datos del compuesto 7 para poder compararlos con los obtenidos de los subproductos.

Tabla 14. Condiciones de reacción y propiedades físicas de los productos secundarios en la reacción de formación del compuesto 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo

Compuesto Obtenido	Características	Read. %	Pf (°C)	Rf
Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (20)	Cristales rojo opaco	55	Desc. 260	0 (IV)
N-Metil-3-(metilamino)-4-nitrobenzenamida (21)	Agujas naranja oscuro opacas	36.14	193-194	0.08 (IV)
3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)	Cristales finos naranja brillante	91.0	133.3-134.0	0.61 (IV)

Tabla 15. Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de los productos secundarios en la reacción de formación del compuesto 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo

Compuesto obtenido	Datos espectroscópicos y espectrométricos
Acido 3-metilamino-4-nitrobenzoico (20) 	IR (KBr) cm^{-1} : 3398 (NH-CH ₃), 2959-2662, (COOH), 1696 (C=O, del ácido), 1581, 1322 (NO ₂) RMN ¹ H (DMSO) δ ppm: 2.98 (d, 1H, J = 4.8, N-CH ₃); 7.12 (dd, 1H, J ₁ = 1.80, J ₂ = 9.01, H ₆); 7.45 (d, 1H, J ₁ = 1.80, H ₂); 8.13 (d, 1H, J ₁ = 9.01, H ₅); 8.19 (dd, 1H, J = 4.8, int. con D ₂ O, N-H); 13.506 (s, 1H, int. D ₂ O, COOH) EM m/z : 196 (M ⁺ 50%), 166 (M ⁺ -30, 100%), 120 (M ⁺ -76, 70%).
N-Metil-3-metilamino-4-nitrobenzenamida (21) 	IR (KBr) cm^{-1} : 3360, 3390 (NH-R), 2930 (C-H), 1646 (C=O), 1546, 1333 (NO ₂) RMN ¹ H (DMSO) δ ppm: 2.78 (d, 3H, J = 4.5, int. D ₂ O, N-CH ₃); 2.99 (d, 3H, J ₁ = 5.10, int. D ₂ O, NH-CH ₃); 7.02 (dd, 1H, J ₁ = 1.50, J = 8.71, H ₅); 7.33 (d, 1H, J ₁ = 1.80, H ₂); 8.09 (d, 1H, J = 8.71, H ₆); 8.20 (dd, 1H, int. con D ₂ O, NH amina), 8.64 (dd, 1H, J = 4.50, int. D ₂ O, NH-amida EM m/z : 209 (M ⁺ 100%), 161 (M ⁺ -48, 40%), 105 (M ⁺ -104, 40%).

3-metilamino-4-nitrobenzoato
de metilo (7)

COOCH₃

NO₂

NHCH₃

NO₂

IR (KBr) cm^{-1} : 3375 (-NH-); 2933 (-CH₃); 1730 (-COOCH₃); 1502 y 1318 (NO₂); 1271 (-OCH₃); 1225 (NCH₃)

RMN ¹H (CDCl₃) δ ppm: 3.09 (s, 3H, NCH₃); 3.95 (s, 3H, OCH₃); 7.24 (dd, 1H, $J_1=8.99$, $J_2=1.50$, H₆); 7.55 (d, 1H, $J=1.5$, H₂); 7.95 (sa, int D₂O, 1H, -NH); 8.22 (d, 1H, $J=8.99$, H₅)

EM m/z : 210 (M⁺, 100%); 161 (M⁺ -149, 69%)

Por otro lado, se puede mencionar que el producto obtenido 7 es muy diferente al isómero con nitro en posición 2 (15) que se creyó que era el producto deseado 7, (ver discusión de ruta 1). La estructura del compuesto 7 se comprobó por sus constantes espectroscópicas las cuales mostraron las siguientes señales: en IR apareció una banda característica de amina secundaria en 3375, en EM se observó la disminución de 5 unidades de masa para el ión molecular, y la desaparición de la isotopía del cloro (M+2). Por RMN ¹H se observó la aparición de un singulete a 3.09 ppm correspondiente al metilo de la metilamina, ya que integró para 3 hidrógenos, y un singulete amplio que apareció a campo bajo (7.95 ppm), que integró para un hidrógeno, que desapareció con D₂O correspondiente al NH. Como se observa en la tabla 9, tanto el R_f y el punto de fusión correlacionaron con la menor polaridad del compuesto 7 con respecto a la amida y ácido correspondientes.

El producto 7 se redujo con H₂ y Pd/C al 5% como catalizador, la diamina se obtuvo como único producto. Debido a su inestabilidad (ya que se oxidan rápidamente) no se recrystalizó. Su identificación se realizó a partir del producto crudo; el IR mostró la desaparición de las bandas del grupo nitro (1502 y 1318) y la aparición de dos bandas a 3446 y 3350, correspondientes a la amina primaria. La EM mostró la disminución del peso de 210 a 180; además, el fragmento de m/z 165 (M-15) correspondió a la pérdida del metilo de la *N*-metilamina. La RMN ¹H presentó un singulete a campo bajo que integró para 2 hidrógenos, correspondiente al NH₂; se observó también un acoplamiento del protón de la metilamina con el grupo metilo de la misma, observándose un cuarteto para el NH y un doblete para el metilo. El rendimiento de esta reacción es muy bueno, (99.2%) lo cual se debe a que la materia prima se reduce completamente a un solo producto y al fácil manejo de la mezcla de reacción.

La diamina **8** se sometió, sin aislar, a una reacción de ciclocondensación con CS₂, KOH y EtOH, dando el tiol correspondiente (**9**). En el espectro de IR se observó la desaparición de las bandas de amina primaria (3446, 3350). La EM mostró el cambio de peso de 108 a 122 correspondientes al peso molecular del tiol y el M+2 de la isotopía del azufre. La RMN ¹H mostró la desaparición de las señales correspondientes a las aminas primarias y secundarias; únicamente se observó a 13.08 ppm una señal amplia que integró para un hidrógeno e intercambió con D₂O, la cual se asignó al protón del SH. El rendimiento de esta reacción fue moderado (60%), esto puede deberse a la descomposición de la diamina (materia prima) y también a que algo del éster se hidrolizó en la mezcla de reacción, pues al obtener el producto, parte de éste se disolvió en el agua.

El tiol (**9**) se metiló vía S_N2 con yoduro de metilo, 1.2 equivalentes de KOH y acetona como disolvente. Esta reacción se llevó a cabo rápidamente a temperatura ambiente, lo cual favoreció que el grupo éster no se hidrolizara debido al pH básico. Esta reacción fue limpia, sin productos secundarios y con buen rendimiento (95%). El IR, a excepción de la banda del carbonilo del grupo éster en 1709 cm⁻¹ y las bandas de carbono-hidrógeno saturado, no da ninguna información adicional de otros grupos en la molécula. La EM mostró el aumento de peso de 222 a 236 en el ión molecular. La desaparición del protón intercambiable con D₂O, en RMN ¹H, así como un singulete a 2.74 ppm que integró para 3 hidrógenos, confirmaron la metilación del azufre.

La hidrólisis del éster se realizó en medio básico. El rendimiento obtenido fue bueno (91.2 %), pero hay que considerar que el pH de la suspensión, al trabajar la reacción, es muy importante, pues de ser menor o mayor al reportado en esta técnica (pH 4), provoca la disolución del producto en las aguas madres y por lo tanto un rendimiento más bajo.

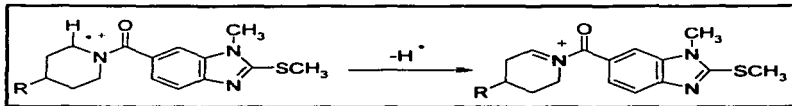
El IR mostró la aparición de la banda ancha y compleja en 2998-2786 cm⁻¹, junto con el desplazamiento de la señal del carbonilo hasta 1780 cm⁻¹, características de un ácido carboxílico aromático. La EM mostró la disminución de la masa de 237 a 222 m/z para el ión molecular. La RMN mostró la aparición de una señal amplia a 12.74 ppm que

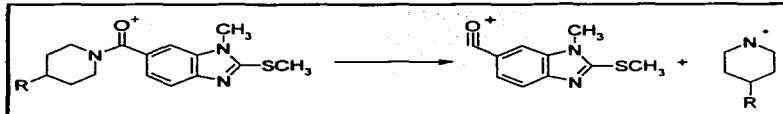
intercambió con D₂O, correspondiente al ácido carboxílico, y la desaparición de la señal del metilo del éster a 3.86 ppm.

Las carboxamidas **1** y **2** se obtuvieron utilizando como agente acoplante el 1,1'-carbonildiimidazol (CDI). Este método tiene la ventaja que permite observar la formación del intermediario imidazóolido, por la evolución de burbujas de CO₂ en el seno de la reacción. Cuando la evolución del CO₂ cesa, el ácido (materia prima) se ha consumido totalmente. La adición de la amina correspondiente generó las carboxamidas **1** ó **2** y como único producto secundario el imidazol, el cual fácilmente se eliminó de la mezcla por lavados con agua ácida.

La espectroscopia de la carboxamida **1** es contundente. El IR mostró el desplazamiento a menor longitud de onda del grupo carbonilo (1617 cm⁻¹) de la amida y no de ácido carboxílico, también se observaron las bandas características del enlace carbono-hidrógeno saturado pertenecientes a la piperidina a 2851-2946 cm⁻¹. La EM mostró un aumento de peso debido al anillo de la piperidina; el ión molecular de *m/z* 289 tiene una proporción pequeña con respecto al siguiente fragmento (M-1) de *m/z* 288, que indica la pérdida de un protón (Esquema 15). El pico base, *m/z* 205, correspondió al ión acilio como resultado de la pérdida de la piperidina (Esquema 16).

Esquema 15. Reacción de formación del pico base en espectrometría de masas de las carboxamidas **1** y **2**. Se observa pérdida del hidrógeno en el anillo de la piperidina (R: H) o 4-metilpiperidina (R:CH₃).



Esquema 16. Reacción de formación del ión acilio en las carboxamidas 1 (R:H) y 2 (R:CH₃).

La RMN ¹H mostró la aparición de un conjunto de señales a campo alto que integraron para diez protones, que demostró la unión de la piperidina con el bencimidazol, ya que estas bandas indican protones de alcanos pertenecientes al anillo de la piperidina. Para este compuesto en particular se realizó el NOE diferencial, un experimento unidimensional de RMN, que demostró la interacción del metilo en posición 1 a 3.67 ppm con el protón en posición 7 (señal sd a 7.52 ppm) (Figura 6).

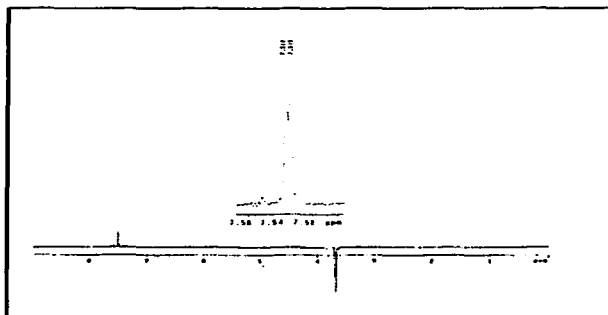


Figura 6 Noe diferencial de la carboxamida 1 mostrando la interacción del metilo en posición 1 con el Hidrógeno en posición 7 del anillo bencimidazólico.

La carboxamida 2 se obtuvo con un rendimiento bajo (65%), esto se debió a los múltiples tratamientos que se realizaron durante la extracción del producto de la mezcla de reacción y a la presencia de una pequeña impureza, que hizo necesario la realización

de varios métodos de purificación. Al igual que en la reacción anterior, el agente acoplante favoreció que la formación de la amida se realizara en un menor tiempo.

En cuanto a la espectroscopia de IR, se mostró el desplazamiento a menor longitud de onda (1624 cm^{-1}) de la banda del grupo carbonilo de la amida comparada con la del ácido carboxílico, y también la aparición de las bandas de carbono-hidrógeno saturado debidas a 4-metilpiperidina a $2897\text{-}2574\text{ cm}^{-1}$. La EM mostró un aumento de peso en el ión molecular, m/z 303, debido al anillo de 4-metilpiperidina, al igual que en la carboxamida 1, también se observó el fragmento M^+-1 , (m/z 302) generado por la pérdida de un protón del metilo en posición 1 (Esquema 15). El fragmento de m/z 205 correspondió al ión acilio como resultado de la pérdida de la 4-metilpiperidina (Esquema 16). La RMN ^1H mostró la aparición de un doblete a campo alto (0.9 ppm) correspondiente al metilo en la posición 4 de la 4-metilpiperidina. El NOE diferencial, que demostró la correlación del grupo metilo en posición 1 del anillo bencimidazólico con el protón en posición 7 que es una señal amplia a 7.51 ppm (Figura 7).

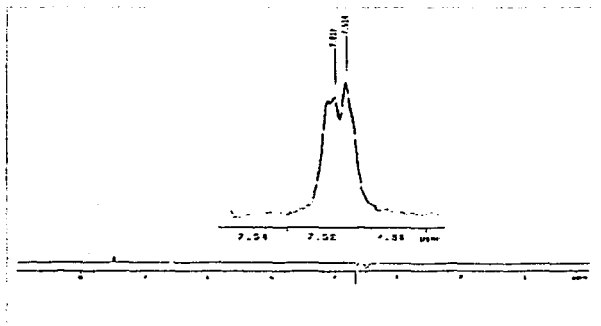


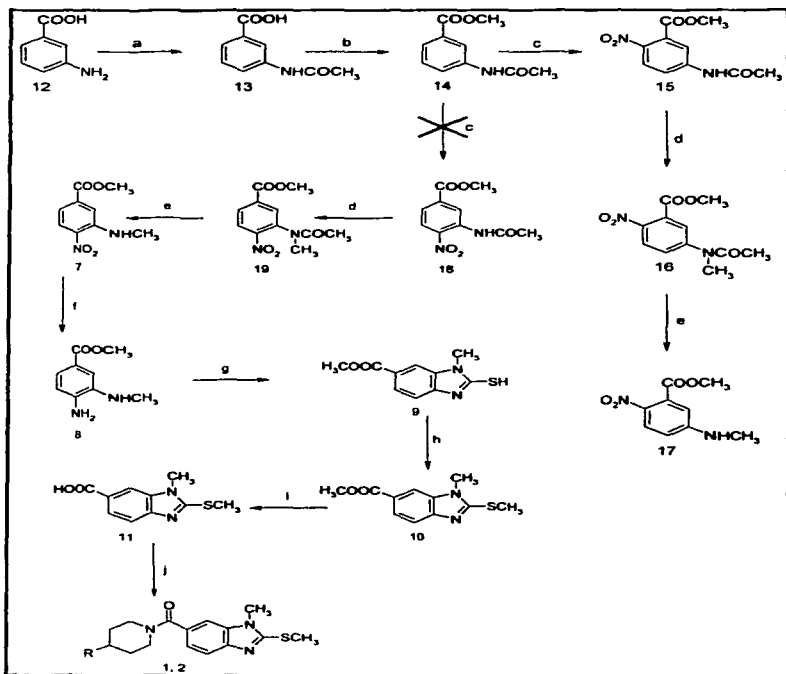
Figura 7. Noe diferencial de la carboxamida 2 mostrando la interacción del metilo en posición 1 con el hidrógeno en posición 7 del anillo bencimidazólico.

Para obtener las carboxamidas **1** y **2** se propusieron 2 rutas, la ruta **1**, de la que ya se habló, fue la que llevó a la obtención de los productos objetivo del trabajo. Una segunda ruta, **Esquema 17** cuya materia prima fue el ácido 3-aminobenzoico, se inscursionó sin éxito, debido a problemas en el paso de nitración. Esta ruta propuso la obtención de las carboxamidas, a partir del ácido 3-aminobenzoico (**12**), al cual se le sometió a la siguiente secuencia de reacciones: se acetiló con anhídrido acético a temperatura ambiente utilizando acetato de etilo como disolvente; el producto obtenido (**13**) fue sometido a esterificación con sulfato de dimetilo a pH 7 en DMF, el éster obtenido (**14**), se nitró con mezcla sulfonítrica a 0 °C. El compuesto nitrado (**15**), se *N*-metiló con sulfato de dimetilo en medio básico utilizando glicina como disolvente.

El grupo acetamido de **15** se hidrolizó selectivamente en metanol con catálisis ácida, generando la *N*-metilnitroanilina, sin embargo ya no se continuó la ruta debido a que la nitración no generó el producto **15** esperado sino su isómero. La ruta planeaba reducir la *N*-metilnitroanilina generando la diamina **16**, la cual se ciclaría en medio básico, obteniendo el tiol (**17**) que se metilaría con yoduro de metilo (**18**). La hidrólisis del éster proporcionaría al ácido correspondiente (**18**), y finalmente la formación de las carboxámidas **1** y **2**.

La nitración del 3-acetilaminobenzoato de metilo (**14**) fue el paso limitante de esta ruta, ya que no se generó el producto esperado sino su isómero con el grupo nitro en posición 2; sin embargo, antes de saber esto último, la *N*-metilación y la hidrólisis de la amida ya se había realizado; por lo que se reporta en la **Tabla 16** sus constantes físicas y en la **Tabla 17** las espectroscópicas

Esquema 17. Ruta de síntesis 2 para la formación de las carboxamidas 1 y 2



a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcOEt}$; b) NaHCO_3 , $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4/\text{DMF}$; c) HNO_3 , H_2SO_4 ; d) $\text{KOH}:\text{H}_2\text{O}$, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4/\text{glima}$; e) $[\text{H}_2\text{SO}_4]/\text{MeOH}$; f) $\text{SnCl}_2/\text{MeOH}$; g) CS_2 , KOH/MeOH ; h) $\text{CH}_3\text{I}/\text{Acetona}$; i) $\text{KOH}:\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$; j) 1,1'-carbonildiimidazol, piperidina o metilpiperidina/ CH_2Cl_2 .

Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas y rendimientos de los intermediarios obtenidos en la ruta 2.

Compuesto	Características	%	%	R _f	PF (°C)
		Reacción	Recristalización		
Ácido 3-acetamidobenzoico (13)	Cristales blancos y finos	96.9	92.1 Metanol	0.07 (VIII)	251.5-252.1
3-Acetamidobenzoato de metilo (14)	Cristales blancos	87.3	70 Metanol-agua	0.45 (VIII)	145.1-146.1
5-Acetamido-2-nitrobenzoato de metilo (15)	Cristales amarillo paja	89.2	43.7 Metanol-agua	0.47 (VIII)	76.0-78.0
5-[Acetil(metil)amino]-2-nitrobenzoato de metilo (16)	Cristales grandes amarillos	77	81.4 Metanol	0.59 (VIII)	110-115
5-Metilamino-2-nitrobenzoato de metilo (17)	Cristales amarillo fuerte	81.4%	59.5% Metanol-agua	0.62 (VIII)	81.8-82.4

Tabla 17. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios obtenidos en la ruta 2

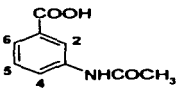
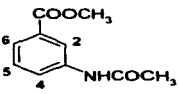
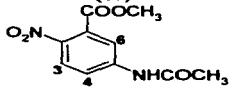
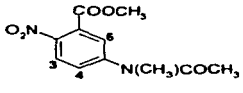
COMPUESTO	SEÑALES
<p>Acido 3-acetamidobenzoico (13)</p> 	<p>IR (KBr) cm^{-1}: 3335 (-NH); 2897-2574 (OH, COOH); 1705 (C=O, COOH); 1635 (C=O, HNCO).</p> <p>^1H RMN (DMSO-d_6) ppm: 2.04 (s, 1H, CH₃); 7.39 (t, 1H, $J_1=7.80$, $J_2=8.10$, H5); 7.59 (dt, 1H, $J_1=7.80$, $J_2=2.10$, H4); 7.59 (dt, 1H, $J_1=7.79$, $J_2=1.82$, H6); 8.20 (t, 1H, $J_1=1.80$, H2); 10.09 (s, 1H, int D₂O, NH); 12.91 (s, 1H, int D₂O, COOH)</p> <p>EM/ID (m/z): 179 (M⁺, 55%); 137 (M⁺, 100%) 120 (M⁺-159, 37%)</p>
<p>3-Acetamidobenzoato de metilo (14)</p> 	<p>IR (KBr) cm^{-1}: 3295 (NH); 1736 (C=O, COOCH₃); 1664 (C=O, HNCO); 1289 (OCH₃)</p> <p>^1H RMN (acetona-d_6) ppm: 2.05 (s, 3H, NHCH₃); 3.83 (s, 3H, COOCH₃); 7.42 (t, 1H, $J_1=8.11$, $J_2=7.81$, H5); 7.60 (dt, 1H, $J_1=7.81$, $J_2=2.70$, H4); 7.81 (dq, 1H, $J_1=8.11$, $J_2=2.10$, H6); 8.24 (t, 1H, $J_1=2.10$, H2); 10.15 (s, 1H, int D₂O, NH)</p> <p>EM/ID (m/z): 193 (M⁺, 46%); 151 (M⁺-42, 100%); 120 (M⁺-73, 40 %).</p>
<p>5-Acetamido-2-nitrobenzoato de metilo (15)</p> 	<p>IR (KBr) cm^{-1}: 3500 (NH); 1722 (C=O, COOCH₃); 1688 (C=O, HNCO); 1518, 1338 (NO₂); 1300 (OCH₃)</p> <p>^1H RMN (acetona-d_6) ppm: 2.15 (s, 3H, COCH₃); 3.87 (s, 3H, COOCH₃); 7.90 (dd, 1H, $J_1=8.71$, $J_2=2.40$, H4); 8.05 (s, 1H, H2); 8.05 (d, 1H, $J_1=8.11$, H5); 9.94 (s, 1H, int D₂O, NH)</p> <p>Espectro 15c, EM/ID (m/z): 238 (M⁺, 32%), 196 (M⁺-42, 100%), 166 (M⁺-72, 26%).</p>
<p>5-[Acetil(metil)amino]-2-nitrobenzoato de metilo (16)</p> 	<p>IR (KBr) cm^{-1}: 3060 (NH); 1736 (C=O, COOCH₃); 1653 (C=O, CHCO); 1527, 1349 (NO₂); 1268 (OCH₃)</p> <p>^1H RMN (DMSO-d_6) ppm: 2.03 (s, 3H, NCOCH₃); 3.27 (s, 3H, NCH₃); 3.89 (s, 3H, COOCH₃); 7.76 (dd, 1H, $J_1=2.40$, $J_2=8.41$, H4); 7.83 (d, 1H, $J_1=2.40$, H2); 8.13 (d, 1H, $J_1=8.71$, H5)</p> <p>EM/ID (m/z): 252 (M⁺, 36%); 210 (M⁺-42, 100%) 180 (M⁺-30, 45%).</p>

Tabla 17. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios obtenidos en la ruta 2 (continuación)

COMPUESTO	SEÑALES
5-(Metilamino)-2-nitrobenzoato de metilo (17) 	IR (KBr) cm^{-1}: 3359 (NH); 1743 (COOCH ₃); 1587, 1302 (NO ₂); 1257 (OCH ₃) ¹H RMN (CDCl₃-d₄) ppm: 2.93 (s, 3H, N-CH ₃); 3.93 (s, 3H, COOCH ₃); 6.61 (d, 1H, $J_1=9.61$, H5); 7.28 (s, 1H, H2); 7.99 (d, 1H, $J_1=9.01$, H4) EM/ID (m/z): 210 (M ⁺ , 100%) 180 (M ⁺ -30, 48%), 106 (M ⁺ -104, 39%).

6.2 PARTE BIOLÓGICA

Como se puede ver en la **Tabla 10**, las carboxamidas **1** y **2** no redujeron considerablemente la viabilidad del helminto *Trichinella spiralis*, a la concentración de 3.77 μM , su actividad estuvo muy por debajo de la presentada por el Albendazol, así como también en las carboxamidas análogas (compuesto **II** y **IV**, Pág. 14) con H en posición 1, sintetizadas en nuestro laboratorio.¹⁰ Los resultados obtenidos indican que la presencia de un grupo metilo en posición 1 inhibe la actividad antihelmíntica.

En cuanto a la actividad contra *Giardia lamblia*, las carboxamidas **1** y **2** presentaron mejor actividad comparadas con el Metronidazol, aproximadamente 5 y 12 veces respectivamente; sin embargo, su actividad fue ligeramente menor que la del Albendazol, la Nitazoxanida fue 4 veces más potente que la carboxamida 2.

Al comparar la actividad de los compuestos **1** y **2**, la carboxamida **2** fue más activa que la **1**, esto indica que el grupo metilo en posición 4 de la piperidina aumentó la actividad gárdicida.

Por otro lado, sabemos que las carboxamidas II y IV no presentaron actividad giardicida, por lo que la sustitución del Hidrógeno en la posición 1 por un metilo le confiere a la molécula actividad antiprotozoaria.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados en este trabajo las conclusiones a las que se llegó fueron las siguientes:

- Se obtuvieron las carboxamidas **1** y **2** siguiendo el **Esquema 14** con rendimientos aceptables, estos resultados se compararon con otros compuestos previamente sintetizados (**Tabla 5**) donde se observó que los compuestos sintetizados en este trabajo fueron mejores a los ya reportados.
- Todos los intermediarios de síntesis se obtuvieron con rendimientos aceptables. En el caso del 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo (**7**) y ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (**11**) se obtuvo con un buen rendimiento siendo este de importancia como precursor para la síntesis de las carboxamidas.
- Es importante mencionar que a partir del 3-metilamino-4-nitrobenzoato de metilo (**7**) y del ácido (**11**) se pueden obtener otros derivados bencimidazólicos con potencial actividad antiparasitaria.
- Todos los compuestos intermediarios así como los productos finales, se purificaron por técnicas convencionales, se caracterizaron por sus constantes físicas (punto de fusión, R_f) espectroscópicas (RMN, IR) y espectrometría de masas.
- La evaluación antihelmíntica *in vitro* sobre el parásito *Trichinella spiralis* mediante la técnica descrita⁵³ demostró que tanto la carboxamida **1** como la **2** no mostraron reducción significativa de la capacidad metabólica de este parásito, traducándose finalmente en ausencia de actividad antihelmíntica para *Trichinella spiralis*.

- La actividad antiprotozoaria *in vitro* para *Giardia lamblia* mediante la técnica de subcultivos⁵⁴ demostró que ambas carboxamidas (**1** y **2**) fueron más activas que el Metronidazol. Si embargo, tuvieron una menor actividad que la del Albendazol y la Nitazoxanida. Al comparar la actividad antiprotozoaria entre ambas carboxamidas la **2** fue más activa que la **1**.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1.- Crompton D. W. T. How much human helminthiasis in the world?. *Journal of Parasitology* **1999**, 85 (3) . pp 397-403.
- 2.- Kumate, J.; Gutiérrez, G.; Muñoz, O., *Manual de infectología clínica*. Méndez Editores. Quinceava Edición. México, **1998**, pp 101-109, 544-60.
- 3.- Horton, R. J. Benzimidazoles in a Wormy World. *Parasitology Today* **1990**, 6 (4) pp 106.
- 4.- Meloni, B. P.; Thompson, J. A.; Reynoldson J. A.; Seville, P. Albendazole: a more effective antitardial agent in vitro than metronidazole or tinidazole. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1990**, 84, pp 375-379.
- 5.- Chavez, B.; Cedillo-Rivera, R.; Martínez-Palomo, A. *Giardia lamblia*: Ultrastructural Study of the In Vitro Effect of Benzimidazoles. *J. Protozoology* **1992**, 39 (4), pp 510-515.
- 6.- Sears, S.D.; O'Hare, J. In vitro Susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to 50 Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1988**, Jan. 21, pp 144-146.
- 7.- Sharma, S. Design of New Drugs for Helminth Diseases: Lead Optimization in Benzimidazoles. *Advances in drug research* **1994**, 25, pp 110-114, 138-147, 154-157.
- 8.- Apt, W.; Aguilera, X.; Vega, F.; Miranda, C.; Zulantay, I.; Perez, C.; Gabor, M.; Apt, P. Treatment of Human Chronic Fasciolosis with Triclabendazole: Drug Efficacy and Serologic Response. *American Journal Tropical Medical Hyg.* **1995**, 52 (2), pp 532-535.
- 9.- <http://www.who.int/unif-fs/en/fact191.html> (Septiembre, 2002)
- 10.- Gupta, S.; Khan, A. M.; Jain, M. K.; Katiyar, J. C.; Shaukat, S. N.; Sing, S. K.; Sharma, S. Anthelmintic profile of methyl 5(6)-(4-methylpiperidin-1-yl) carbonylbenzimidazole-2-carbamate in experimental helminthiases. *Indian Journal of Experimental Biology* **1990**, 28, pp 475-479.
- 11.- Hernández-Campos, A.; et. al. Synthesis and anthelmintic activity of novel 5-aminocarbonyl benzimidazole derivatives. 219 th ACS National Meeting San Francisco, CA. No. 144 March 26-30, 2000.
- 12.- Del Villar, M. R.; Guzmán, V. M. Síntesis de nuevas carboxamidas bencimidazólicas con potencial actividad antihelmíntica, Tesis de Licenciatura, FESZ, UNAM, México, D.F. **1996**, pp 9-13, 30-37.
- 13.-Laguna-Martínez N. Z. Síntesis alterna para carboxamidas bencimidazólicas con potencial actividad antihelmíntica, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. **1997**, pp 1-6, 26-33.
- 14.- Tay, Z. J. Lara, A. L.; Velasco, C. O.; Gutiérrez, Q. M. *Parasitología Médica*. Méndez Editores. Quinta Edición. México, **1991**, pp 3-11, 35-38.

- 15.-Romero-Cabello, R. *Microbiología y parasitología humana*. Editorial Médica-Panamericana. Segunda Edición. México. 1999, pp 101-109
- 16.- García, P.M.; Fernández, B. M. T.; Paredes, S. F.; Editorial Díaz de Santos. *Microbiología clínica aplicada*. Tercera Edición. España. 1997, pp 317-320
- 17.- <http://www.ksu.edu/parasitology/classes/545intro.html> (Junio. 2002)
- 18.- Tórtora, R. J. *Microbiología de los microorganismos*. Editorial Acribia. Tercera Edición. España, 1993, pp 302-311
- 19.- Thompson R. C. A.; Reynolson J. A., Giardia y Giardiasis. *Advances in Parasitology*. 32, 1993, pp 70-131.
- 20.- <http://bvs.insp.mx/component/section/priori/05/0999/arti.html> (Mayo, 2002)
- 21.- Sommers, H. M.; Phair, P. J.; Shulman, T. S. *The biologic & clinical bases of infectious diseases*, W. B. Saunders Company Stanford. Cuarta Edición. Canadá. 1992, pp 301-305
- 22.- Murray, P. R. *Microbiología médica*. Ed. Mosby. Tercera Edición. España. 1996, pp 511-513, 581-582, 481-483
- 23.- Jawetz, E.; Brooks, G. F.; Microbiología Médica. *Editorial El Manual Moderno*, Catorceava Edición. México. 1992, pp 359-360, 385-394.
- 24.- <http://www.vet.purdue.edu/depts/bms/courses/chmry-anthelmj.htm> (Gordon L. Coppoc, Agosto, 2002)
- 25.- Diccionario de especialidades farmacéuticas, México, PLM Editores. No. 43, México, 1997, pp 581, 625, 679, 713, 751, 907, 2028, 2089.
- 26.- <http://escuela.med.puc.cl/paginas/Parasitologia> (Mayo, 2002)
- 27.- Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Vol. II, Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Octava Edición. México, 1996, pp 1019-1022.
- 28.- Uproft J. A.; Uproft, P. Future Therpeutic Alternatives for Combating Anaerobic Protozoa. *Parasitology Today* 1998, 14, pp 212-214.
- 29.- Kazimierczuk, Z. Uproft, J. A.; Uproft, P. Gorska, A. Synthesis, antiprotozoal and antibacterial activity of nitro- and halogeno-substituted benzimidazole derivatives. *Acta biochimica polonica* 2002, 49 (1), pp 185-195.
- 30.- <http://www.jncchem.org/documents/secta/secta010313je05.htm> (Roberts G. Agosto, 2002)
- 31.- Kátzung, G. B. *Farmacología Básica y Clínica*. Ed. Manual Moderno. Sexta Edición. México, 1996, pp 941-1000.
- 32.- Towsend, L.B.; Wise, D. S. The synthesis and Chemistry of Certain Anthelmintic Bencimidazoles. *Parasitology Today* 1990, 6 (4) pp 107-111.

- 33.- Katiyar, S. K.; Gordon, V. R.; McLaughlin, G. L.; Edlind, T. D. Antiprotozoal Activities of Benzimidazoles and Correlations with β -Tubulin Sequence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1994**, *38* (9), pp 2086-2090.
- 34.- Horton, R. J. *Parasitology today* **1990**, *6*, pp 106.
- 35.- Morgan, U. M.; Reynoldson, J. A.; Thompson, R. S. A. Activities of Several Benzimidazoles and Tubulin Inhibitors against *Giardia spp.* *In Vitro*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1993**, *37* (2), pp 328-331.
- 36.-Guyatt H. & Bundy D. Anthelmintics As comparative Review of their clinical pharmacology. *Drugs* **1997**, *53* (5), pp 769-788.
- 37.- Navarrete-Vázquez, J. G.; Cedillo R.; Hernández-Campos, M. A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Valdez, J.; Morales, R.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R.; Synthesis and Antiparasitic of 2-(Trifluoromethyl)-benzimidazoles Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, *11*, pp 187-190.
- 38.- Sánchez, D. M. R. Síntesis de derivados del 1-metilbencimidazol con actividad antihelmíntica potencial. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. **1999**, pp 8-12, 73-79, 83-85
- 39.- Alcántara P. E. Estudios de unión y afinidad del Albendazol sobre 3 modelos diferentes de tubulina. Tesis Maestría, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. **2000**, pp 123-126
- 40.- Lacey, E. Mode of Action of Bencimidazoles. *Parasitology Today*, **1990**, vol 6 no.4 pp 112-115
- 41.- Köhler, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Review International Journal of Parasitology* **2001**, *31*, pp 336-345.
- 42.- Sangster, N.C.; Gill, J. Pharmacology of Anthelmintic Resistance. *Review Parasitology Today* **1999**, *5* (4), pp 141-146.
- 43.- Prichard, R. K. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics *Trends in parasitology* **2001**, *17* (9), pp 445-453.
- 44.- Sáens, F. M.; Campos, R. R.; Ibarra, D. G.; Zapata, M. M.; Lizárraga, C. G. Diagnóstico *in vitro* de una población de *Haemonchus contortus* de caprinos resistente al tiabendazol. *Téc. Pec. Méx.* **1991**, *29* (3) pp 1-6.
- 45.- Belstein organische Chemie. Band XII, pp 730; (Blanksma, R21, 246).
- 46.-Katritzky, R.A.; Rachwal, S. New Routes to Selectively Methylated Bencimidazoles. *Journal Heterocyclic Chem.* **1994**, *31*, pp 775-779.

- 47.- Mendoza R. L. Síntesis de N-metil-2-nitroanilinas. Materias primas para la preparación de 1-metilbencimidazoles antiparasitarios. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM, México, D. F. 2001, pp 7-11, 14-17
- 48.- Castillo Bocanegra et. al. Obtención de "N-metil-2-nitroanilinas, materias primas para la obtención de 1-metilbencimidazoles sustituidos. XXXII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, 24-28. Puerto Vallarta Jalisco. Oct. 1999.
- 49.- Brehme, R. Phasentransfer-Katalysierte. *Síntesis*, 1976, pp 113.
- 50.- Dictionary of organic compounds, vol 1, 15th, USA, 1987.
- 51.-Dennis, D. L. ; Despoimner, D. D.; Davis, N. J. *Parasitology* 1970, 56, pp 974.
- 52.-Townson, D. H. ; Morris, D. L. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1989, 83, 664.
- 53.-Cedillo-Rivera, R. ; Muñoz, O. *J. Med. Microbiol.* 1992, 37, pp 221.
- 54.-Cedillo-Rivera, R. ; Ramírez A.; Muñoz O. A rapid colorimetric assay with the tetrazolium salt MTT and phenazine methosulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*. *Arch. Med. Res.* 1992, 23 (2) pp 59-61.

APENDICE

ESPECTROS REALIZADOS

ESPECTRO No 1a: IR (KBr) de 1-metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (1)

ESPECTRO No 1b: ¹H RMN (TMS, DMSO-*d*₆) de 1-metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (1)

ESPECTRO No 1c: EM (IE) de 1-metil-2-(metiltio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1*H*-bencimidazol (1)

ESPECTRO No 2a: IR (KBr) de 1-metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2(metiltio)-1*H*-bencimidazol (2)

ESPECTRO No 2b: ¹H RMN (TMS, DMSO-*d*₆) de 1-metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2(metiltio)-1*H*-bencimidazol (2)

ESPECTRO No 2c: EM (IE) de 1-metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2(metiltio)-1*H*-bencimidazol (2)

ESPECTRO No. 4a: IR (Película) de la mezcla de 5-cloro-2-nitrotolueno, 3-cloro-4-nitrotolueno (4)

ESPECTRO No. 4b: ¹H RMN (TMS, DMSO-*d*₆) de la mezcla de 5-cloro-2-nitrotolueno, 3-cloro-4-nitrotolueno (4)

ESPECTRO No. 4c: EM (IE) de 3-cloro-4-nitrotolueno (4)

ESPECTRO No. 5a: IR (KBr) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)

ESPECTRO No. 5b: ¹H RMN (TMS, DMSO-*d*₆) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)

ESPECTRO No. 5c: EM (IE) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)

ESPECTRO No. 6a: IR (KBr) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

ESPECTRO No. 6b: ¹H RMN (TMS, DMSO-*d*₆) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

ESPECTRO No. 6c: EM (IE) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

ESPECTRO No. 7a: IR (KBr) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)

ESPECTRO No. 7b: ¹H RMN (TMS, CDCl₃) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)

ESPECTRO No. 7c: EM (IE) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)

ESPECTRO No. 8a: IR (KBr) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

ESPECTRO No. 8b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

ESPECTRO No. 8c: EM (IE) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

ESPECTRO No.9a: IR (KBr) de 2-mercapto-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

ESPECTRO No.9b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de 2-mercapto-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

ESPECTRO No.9c: EM (IE) de 2-mercapto-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

ESPECTRO No 10a: IR (KBr) de 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)

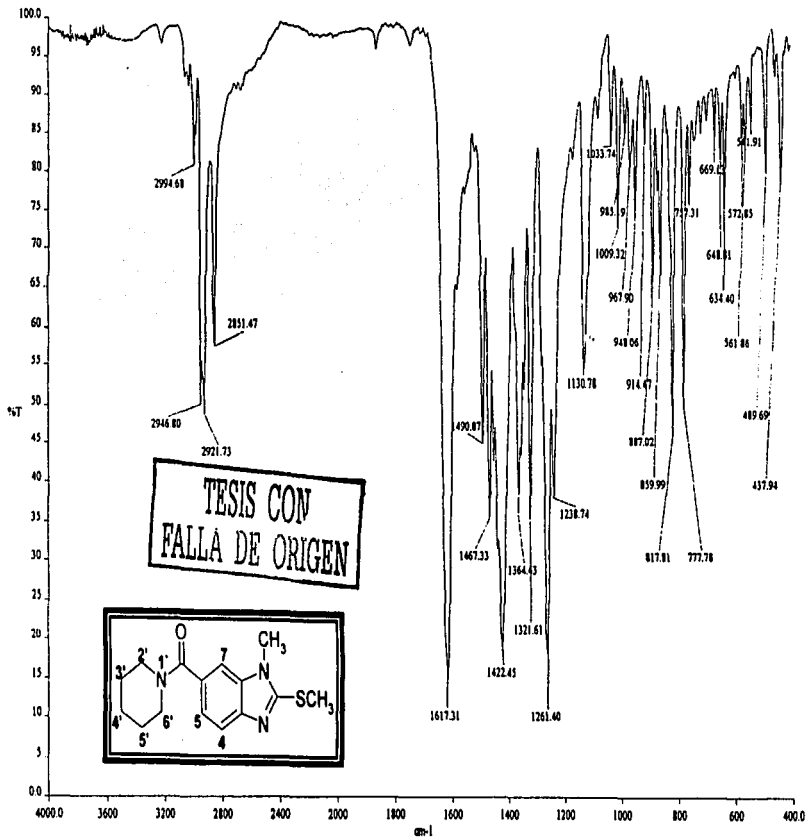
ESPECTRO No 10b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)

ESPECTRO No 10c: EM (IE) de 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)

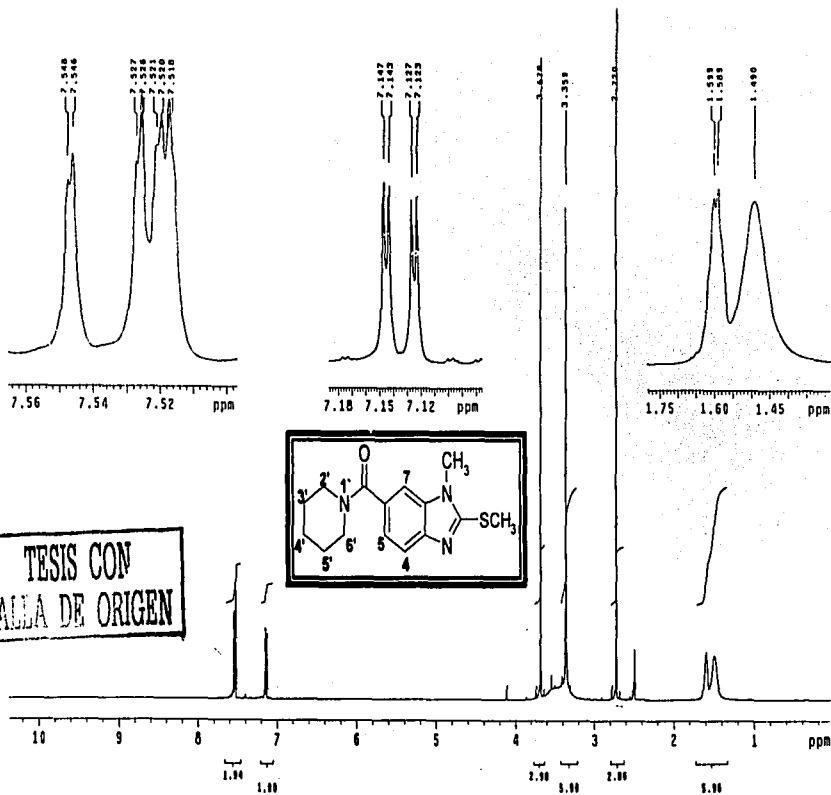
ESPECTRO No11a: IR (KBr) de ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (11)

ESPECTRO No11b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (11)

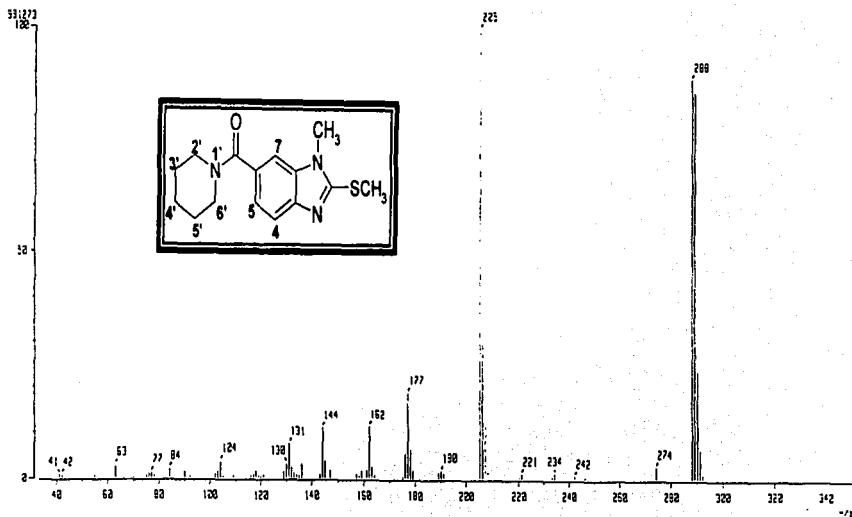
ESPECTRO No11c: EM (IE) de ácido 1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (11)



ESPECTRO No 1a: IR (KBr) de 1-metil-2-(metilitio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1H-bencimidazol (1)

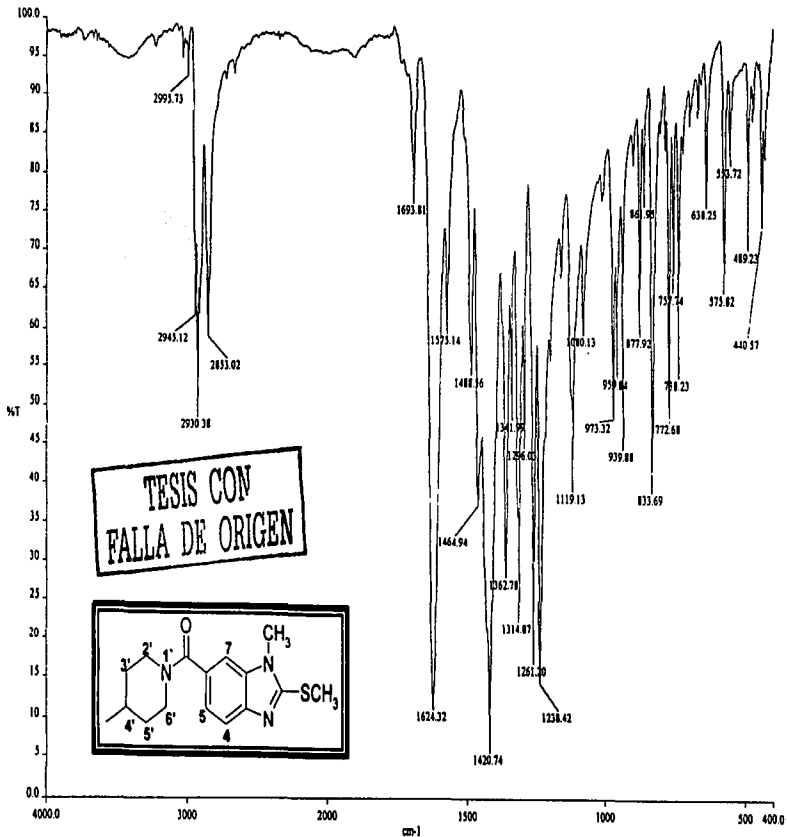


ESPECTRO No 1b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) de 1-metil-2-(metiltilio)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1H-bencimidazol (1)

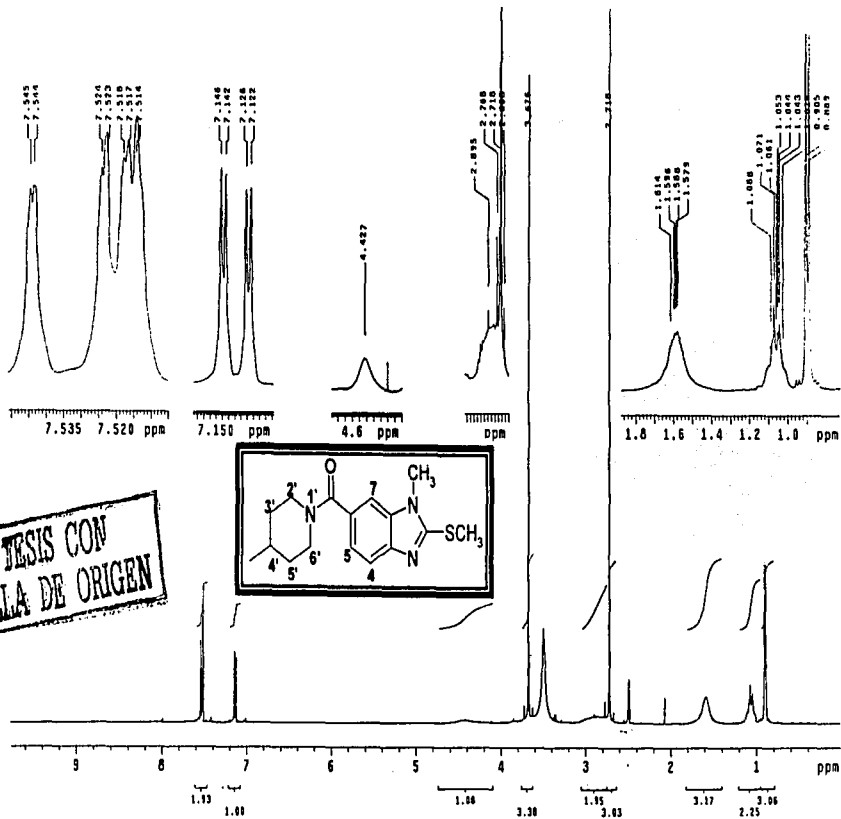


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No 1c: EM (IE) de 1-metil-2-(metilto)-6-(piperidin-1-ilcarbonil)-1H-bencimidazol (1)



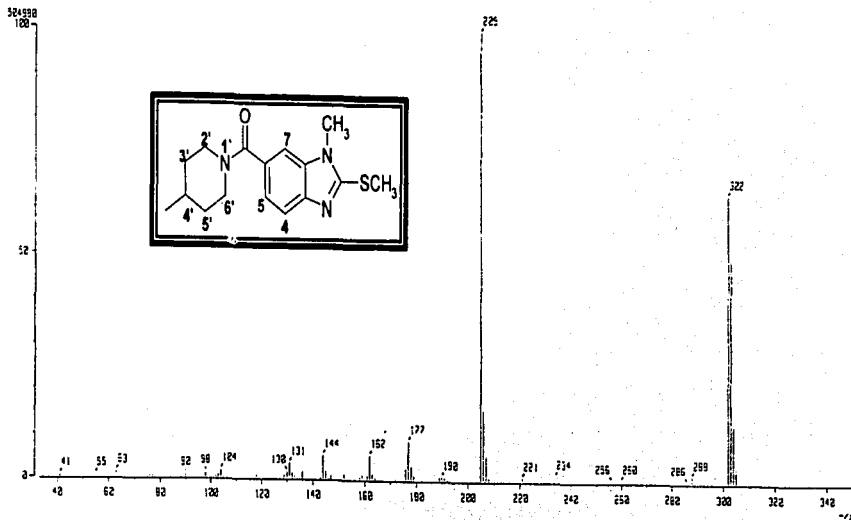
ESPECTRO No 2a: IR (KBr) de 1-metil-6-[(4-metilpiperidin-1-il)carbonil]-2-(metiltilio)-1H-bencimidazol (2)



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

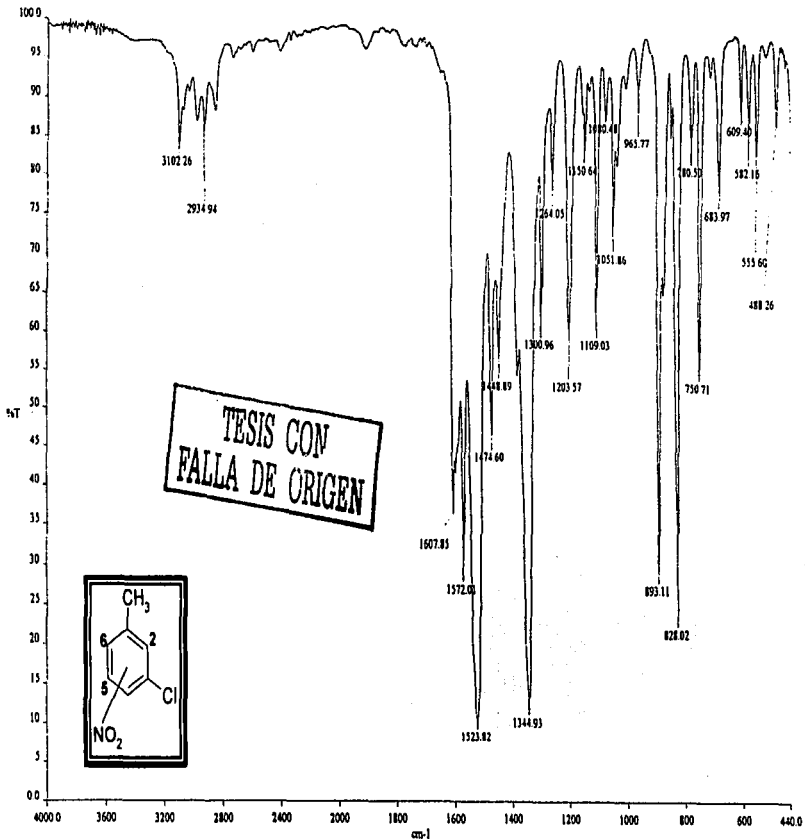
APENDICE

ESPECTRO No 2b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) de 1-metil-6-((4-metilpiperidin-1-il)carbonil)-2-(metiltio)-1H-bencimidazol (2)

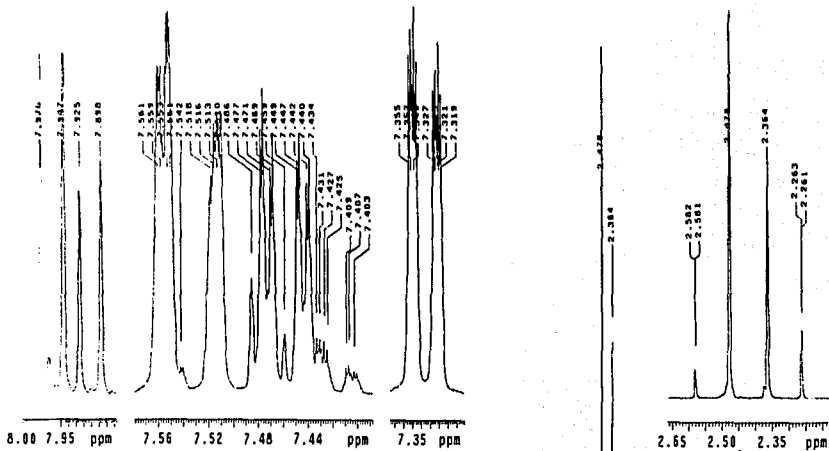


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

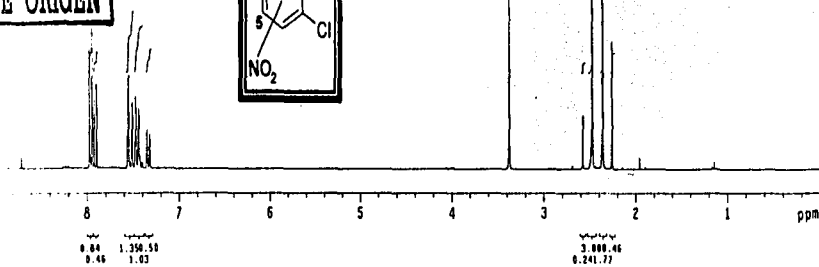
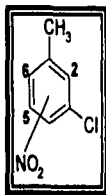
ESPECTRO No 2c: EM (IE) de 1-metil-6-((4-metilpiperidin-1-il)carbonil)-2-(metilitio)-1H-bencimidazol (2)



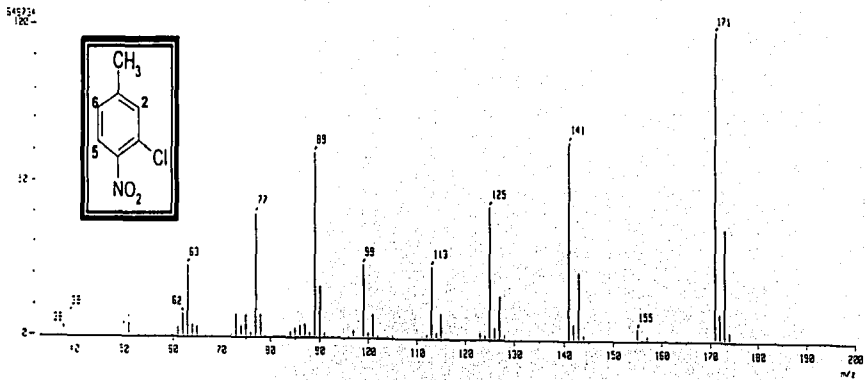
ESPECTRO No. 4a: IR (Pelicula) de la mezcla de 5-cloro-2-nitrotolueno, 3-cloro-4-nitrotolueno (4)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

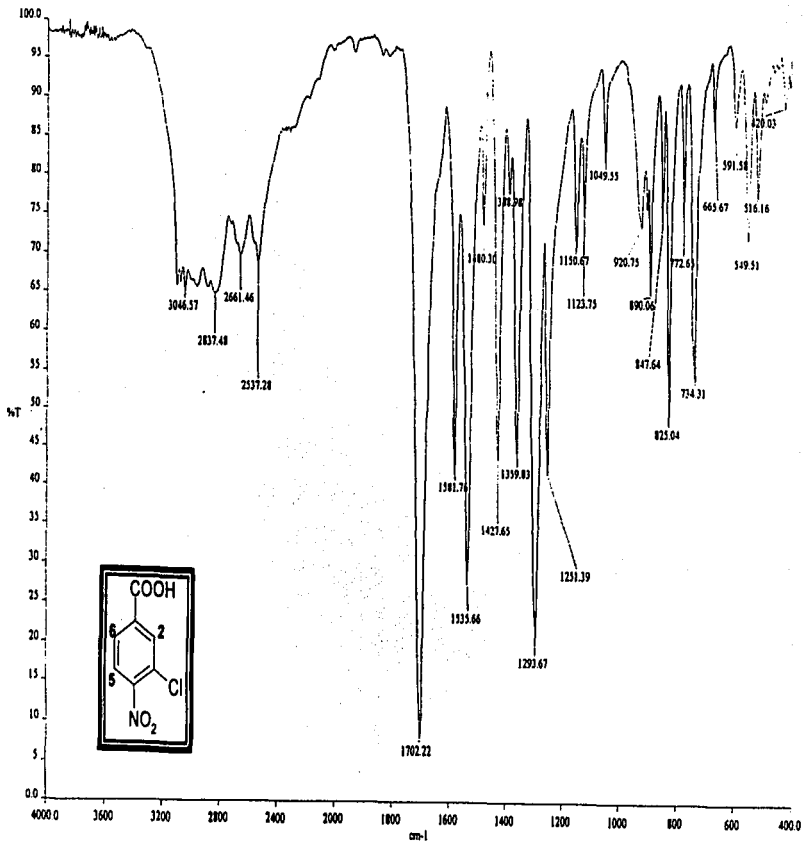


ESPECTRO No. 4b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) de la mezcla 5-cloro-2-nitrotolueno, 3-cloro-4-nitrotolueno(4)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

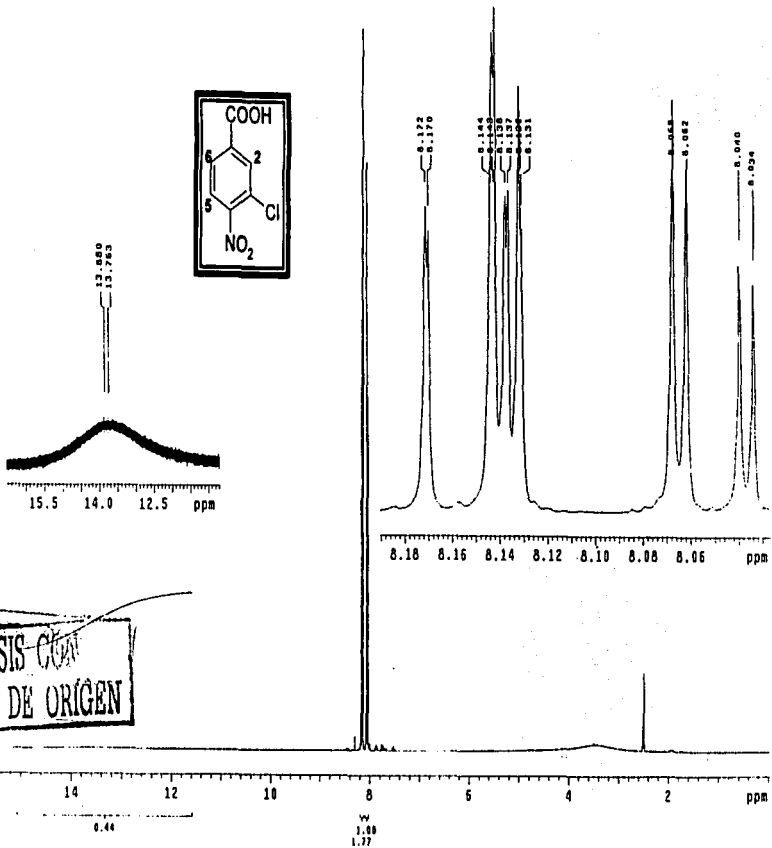
ESPECTRO No. 4c: EM (IE) de 3-cloro-4-nitrotolueno (4)



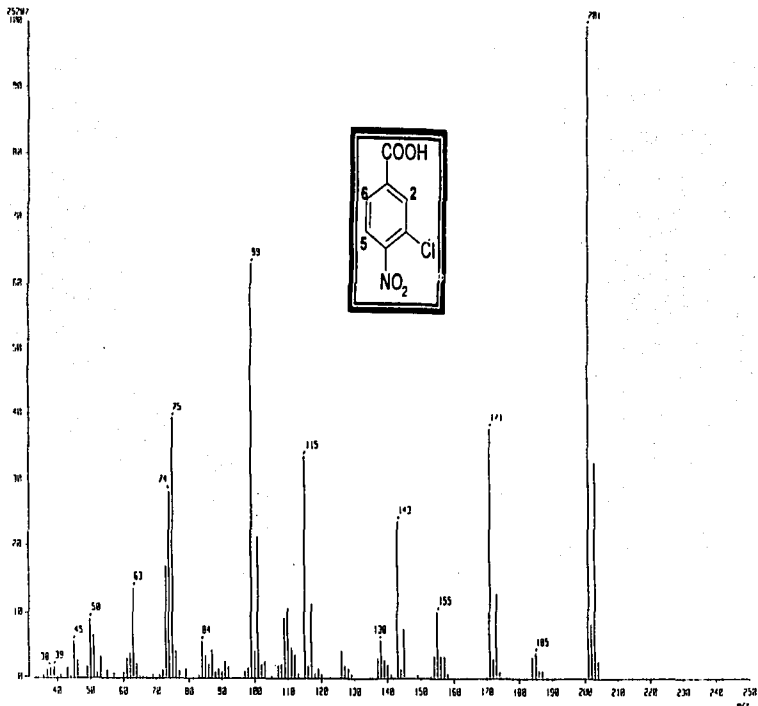
APENDICE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No. 5n: IR (KBr) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)



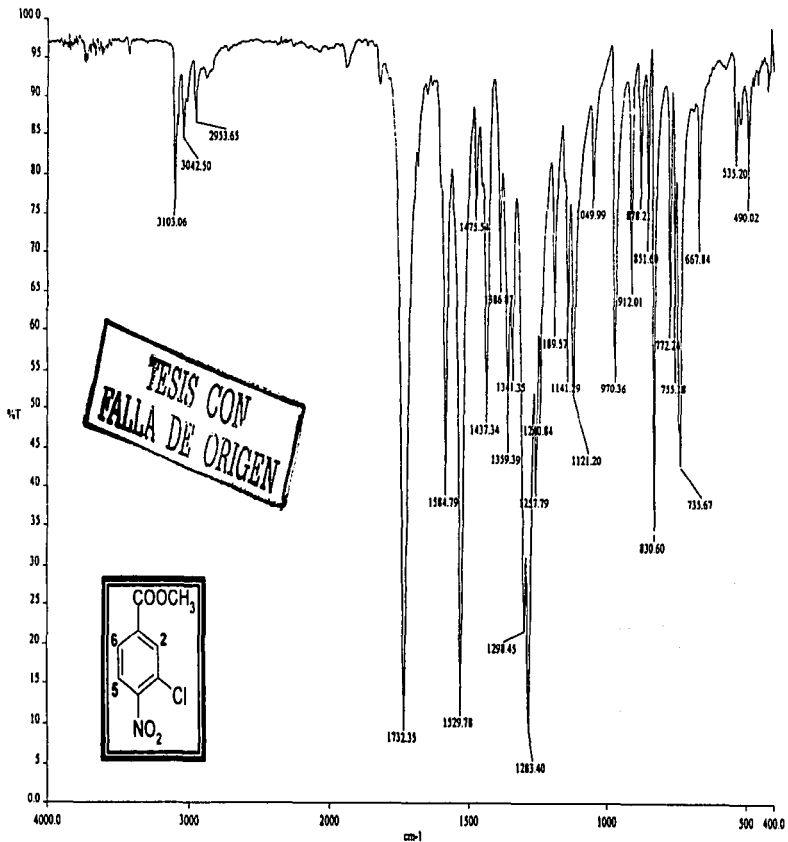
ESPECTRO No. 5b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)



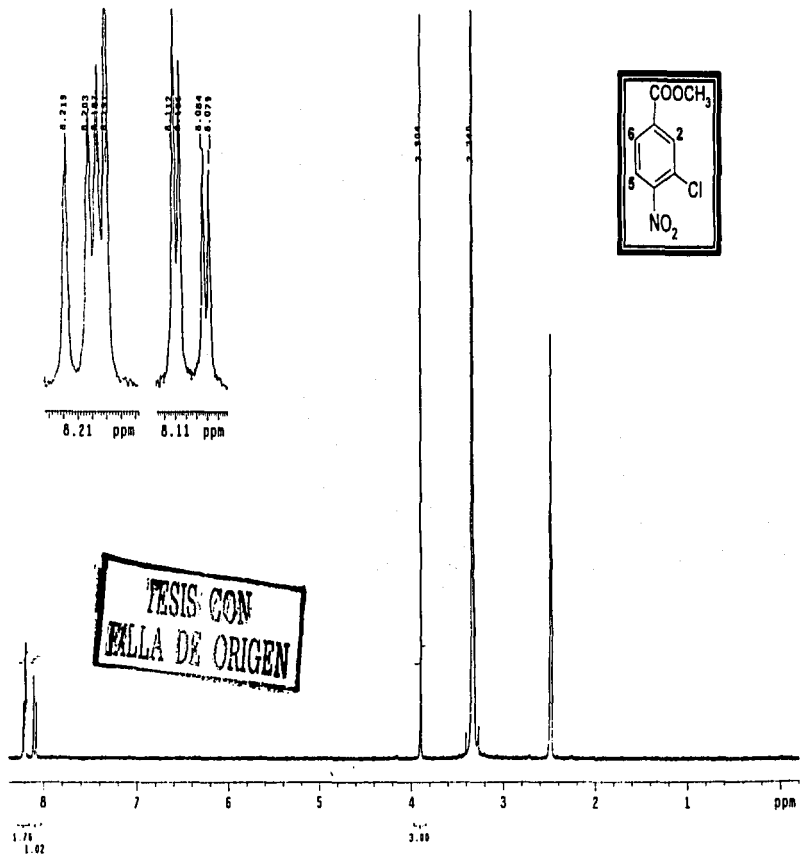
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

ESPECTRO No. 5: EM (IE) de ácido 3-cloro-4-nitrobenzoico (5)

APENDICE

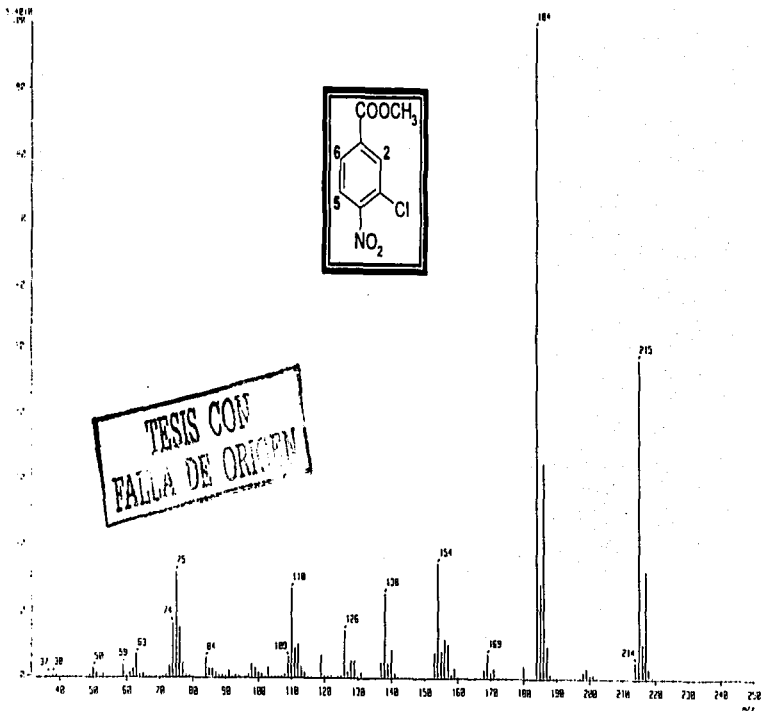


ESPECTRO No. 6a: IR (KBr) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

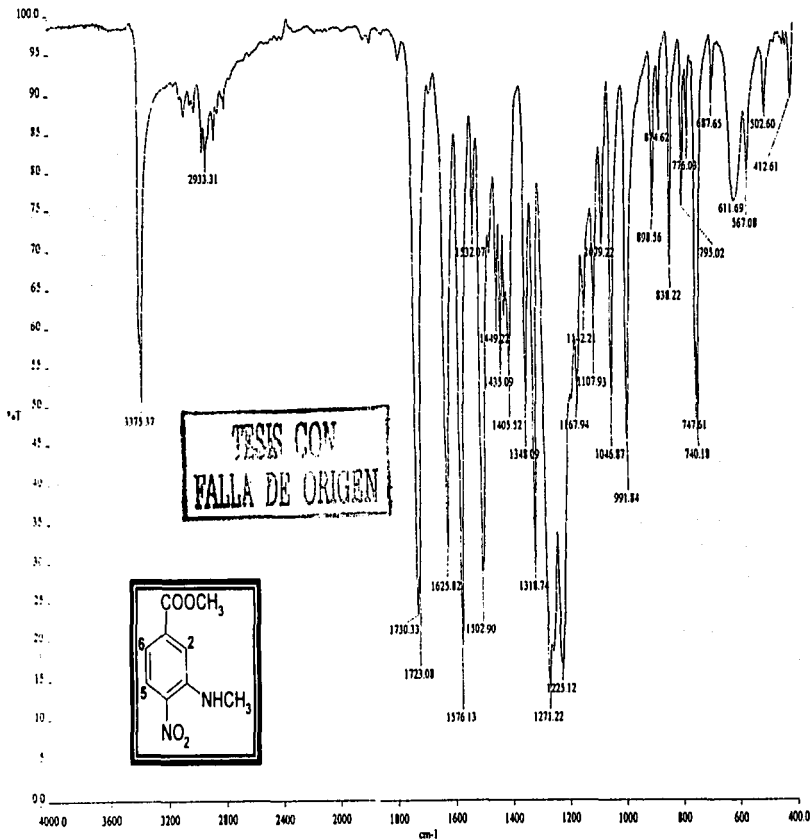


ESPECTRO No. 6b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

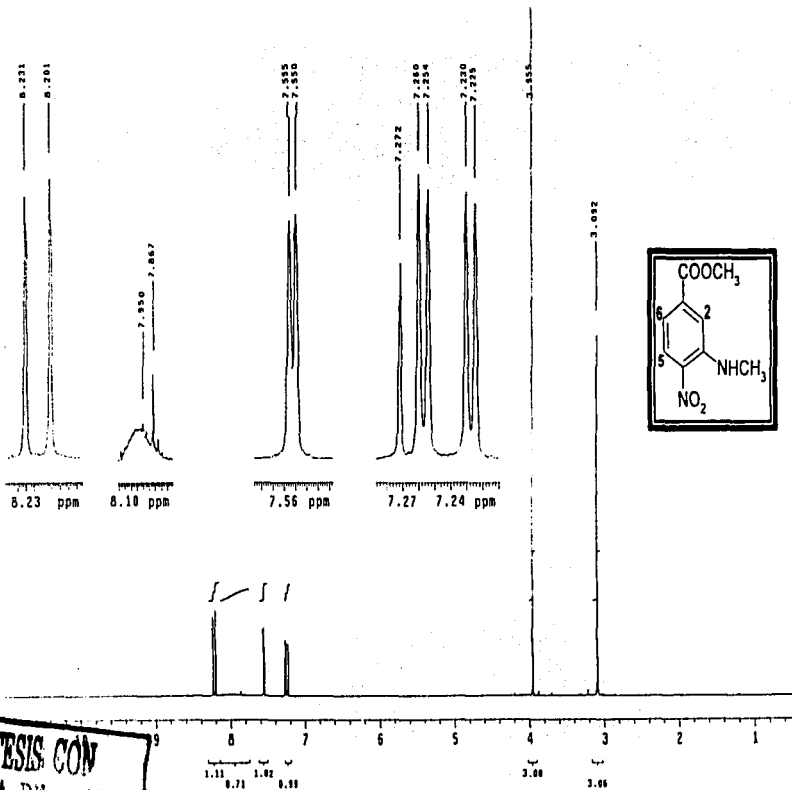
APENDICE



ESPECTRO No. 6c: EM (IE) de 3-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (6)

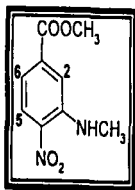
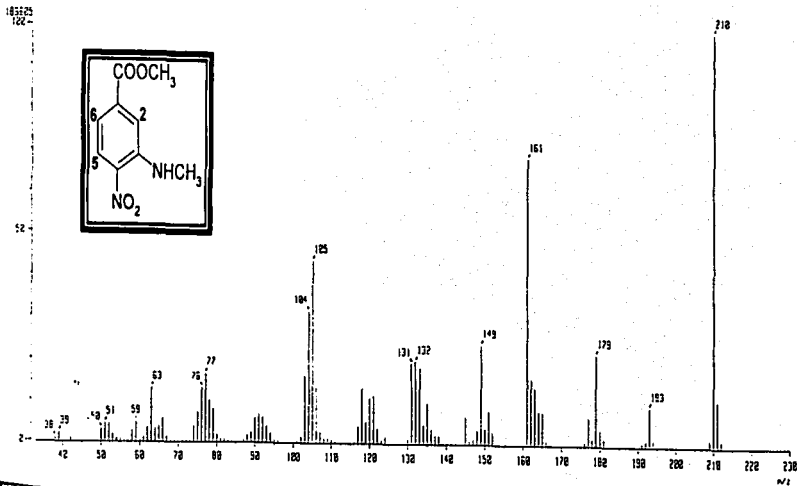


ESPECTRO No. 7a: IR (KBr) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)



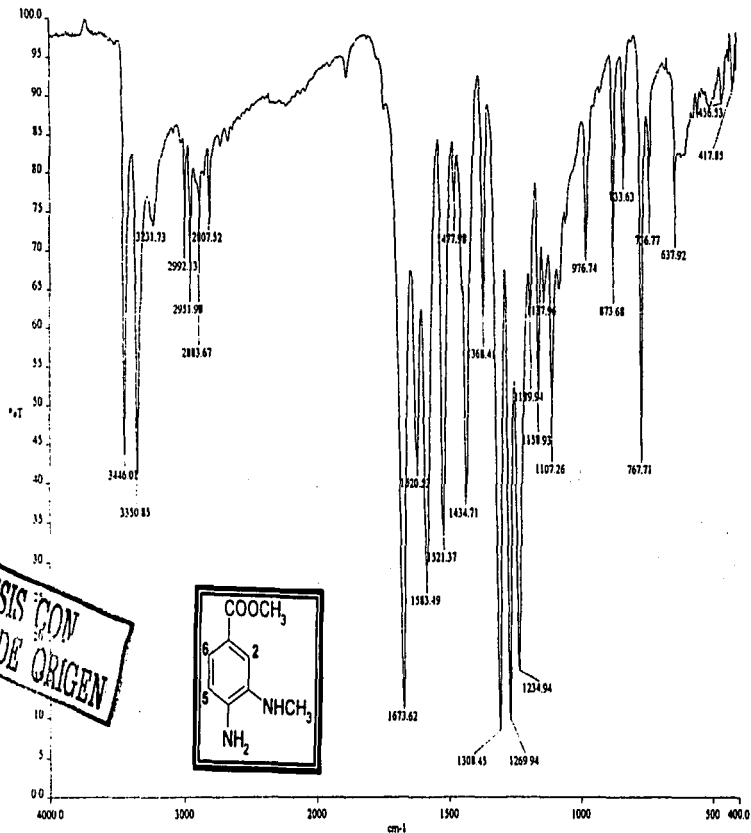
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No. 7b: ¹H RMN (TMS, CDCl₃) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

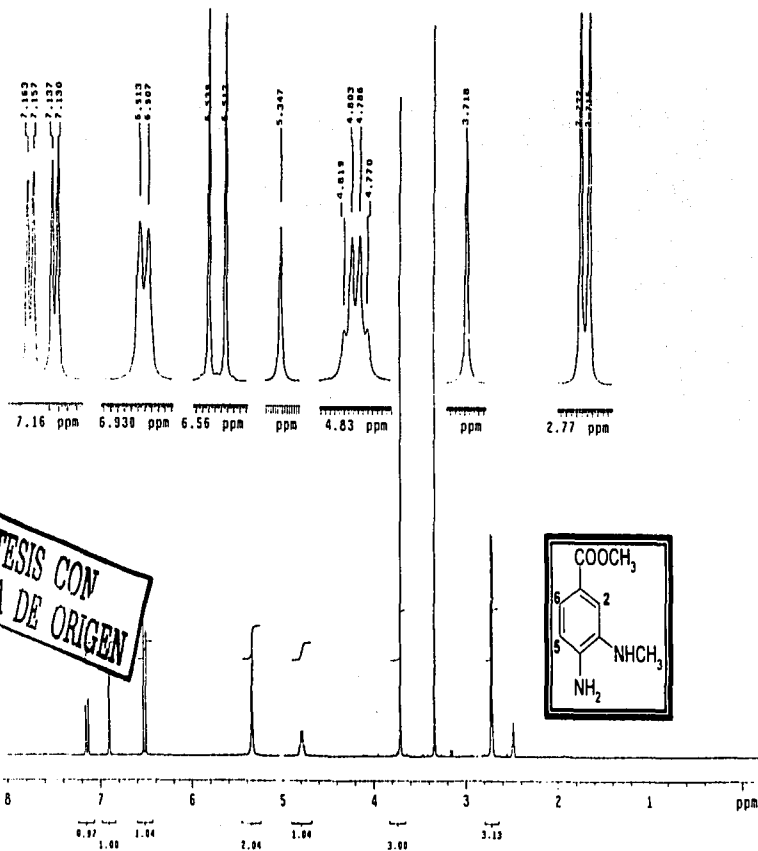
ESPECTRO No. 7c: EM (IE) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzoato de metilo (7)



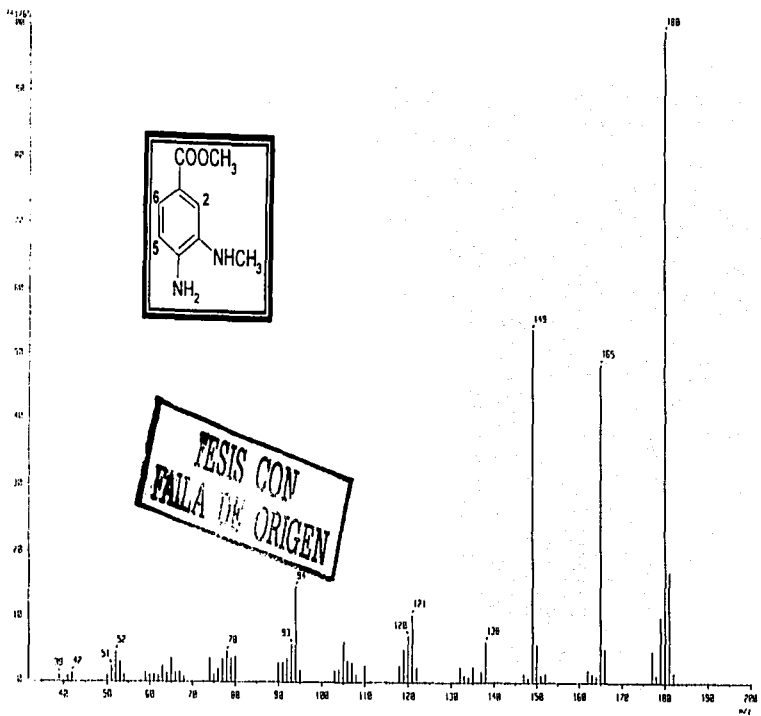
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No. 8a: IR (KBr) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

APENDICE

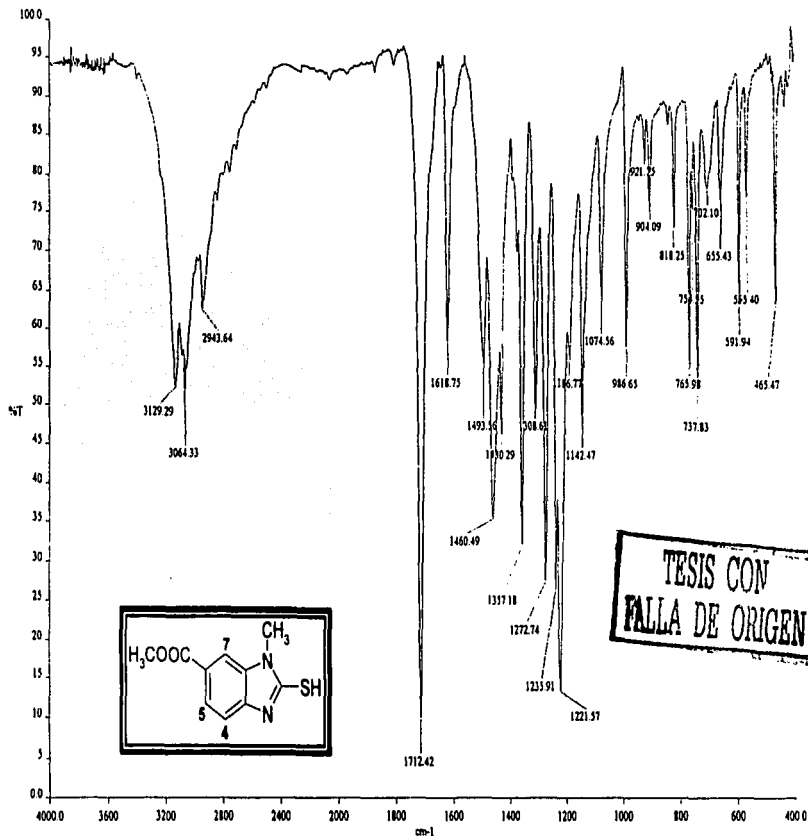


ESPECTRO No. 8b: ¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)



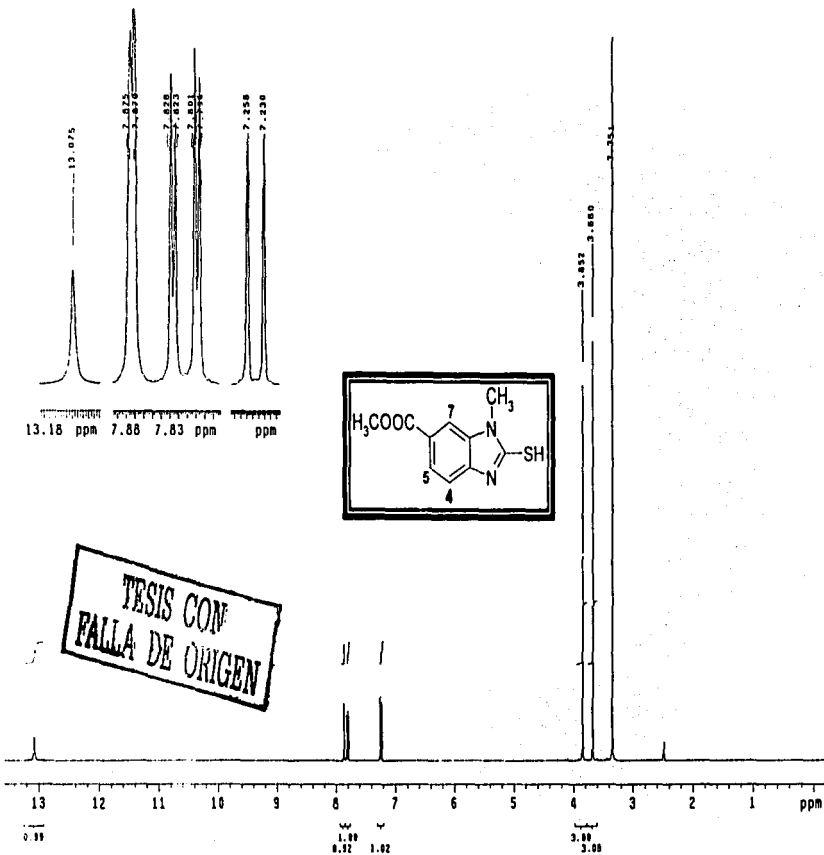
ESPECTRO No. 8c: EM (IE) de 4-amino-3-(metilamino)benzoato de metilo (8)

ANEXOS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No.9a: IR (KBr) de 2-mercapto-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

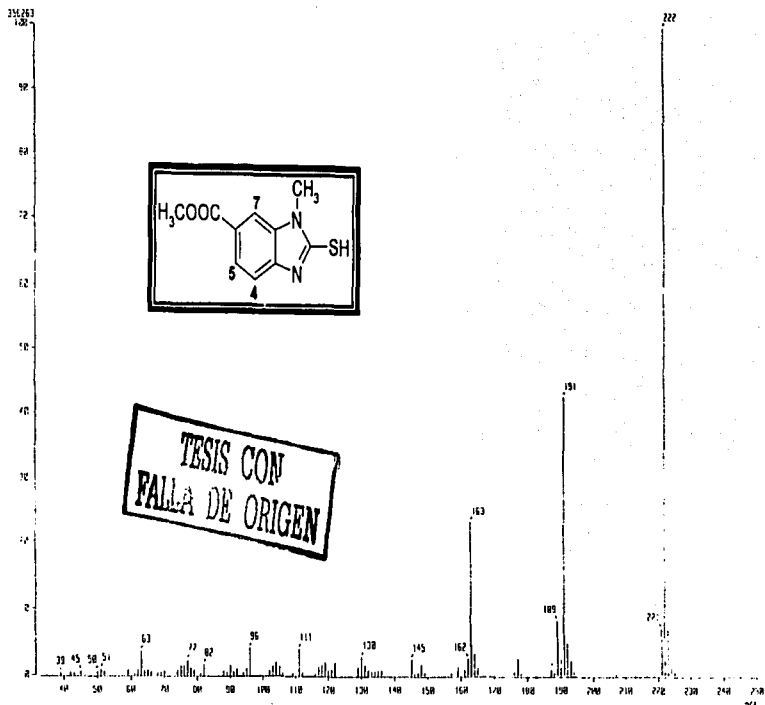


TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

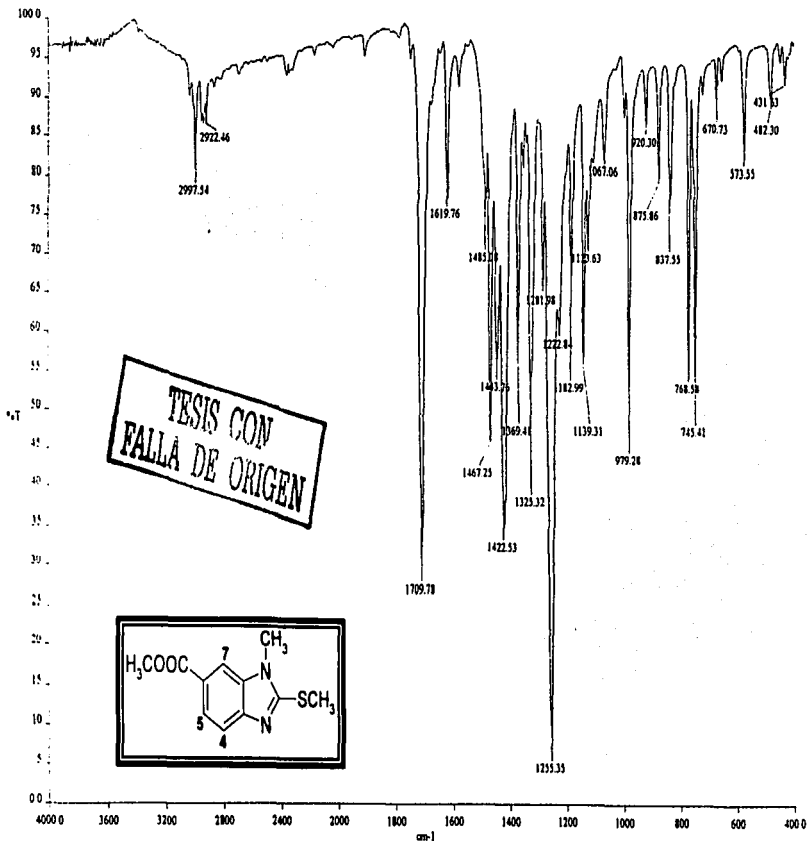
APENDICE

ESPECTRO No.9b: ^1H RMN (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) de 2-mercapto-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (9)

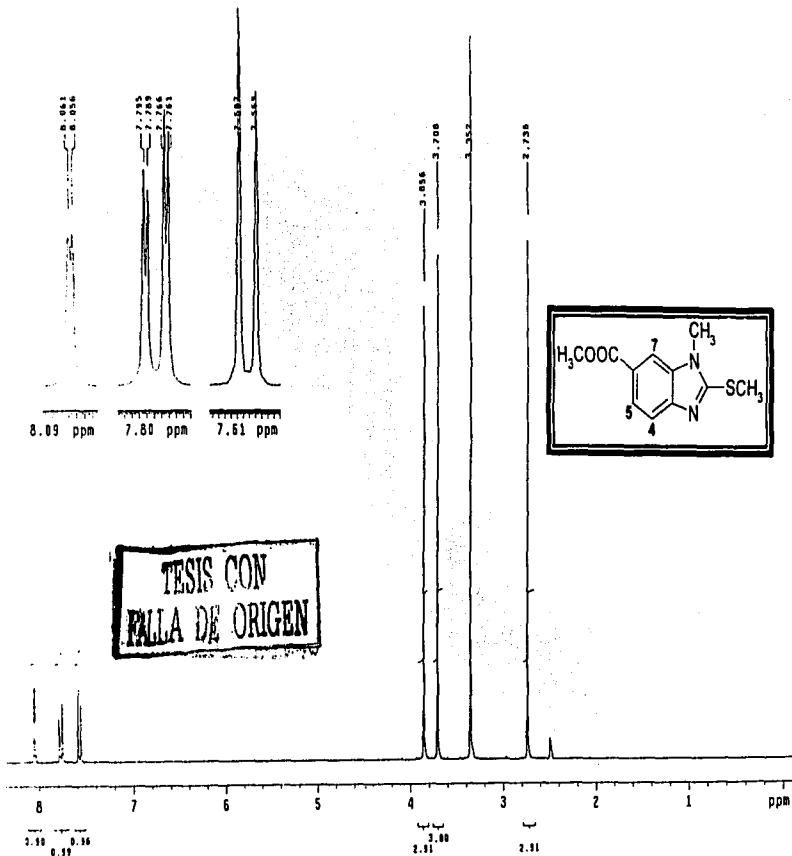
100



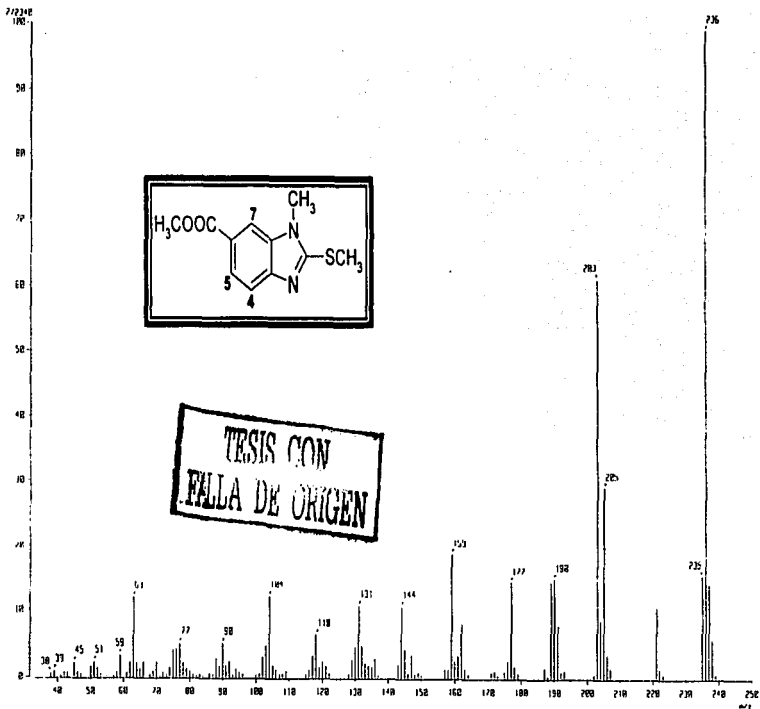
ESPECTRO No.9c: EM (IE) de 2-mercapto-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (9)



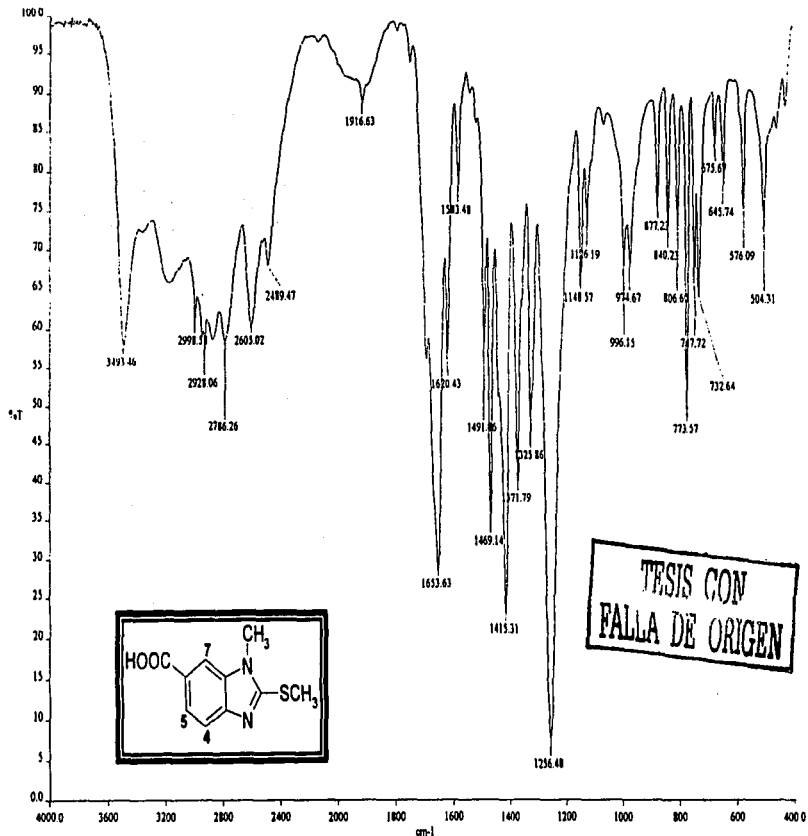
ESPECTRO No 10a: IR (KBr) de 1-metil-2-(metiltilio)-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)



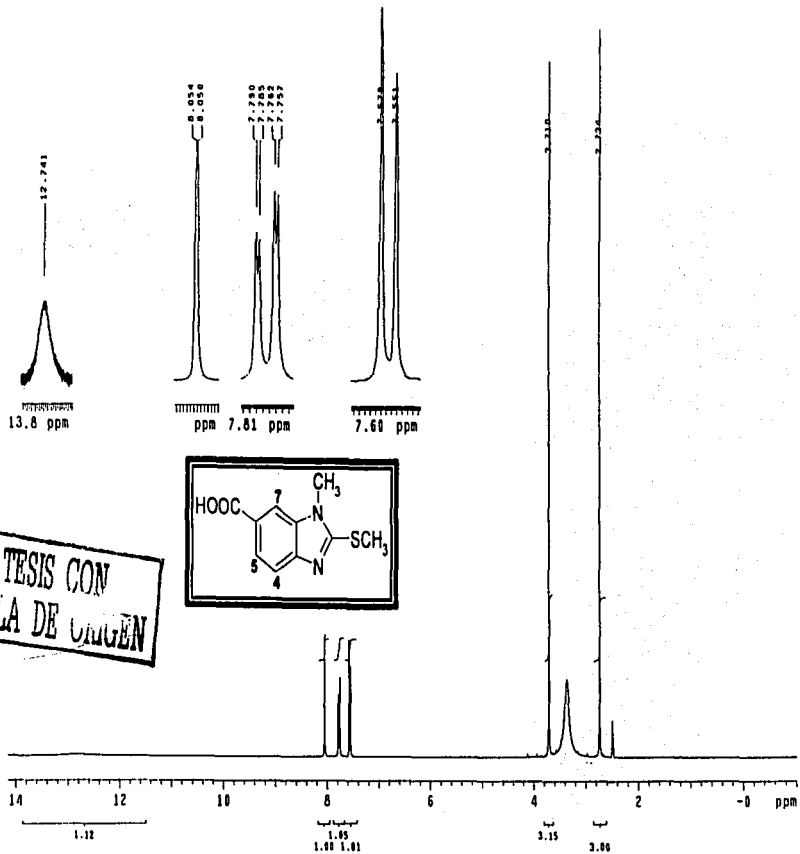
ESPECTRO No 10b: ¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) de 1-metil-2-(metilitio)-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)



ESPECTRO No 10c: EM (IE) de 1-metil-2-(metilto)-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (10)

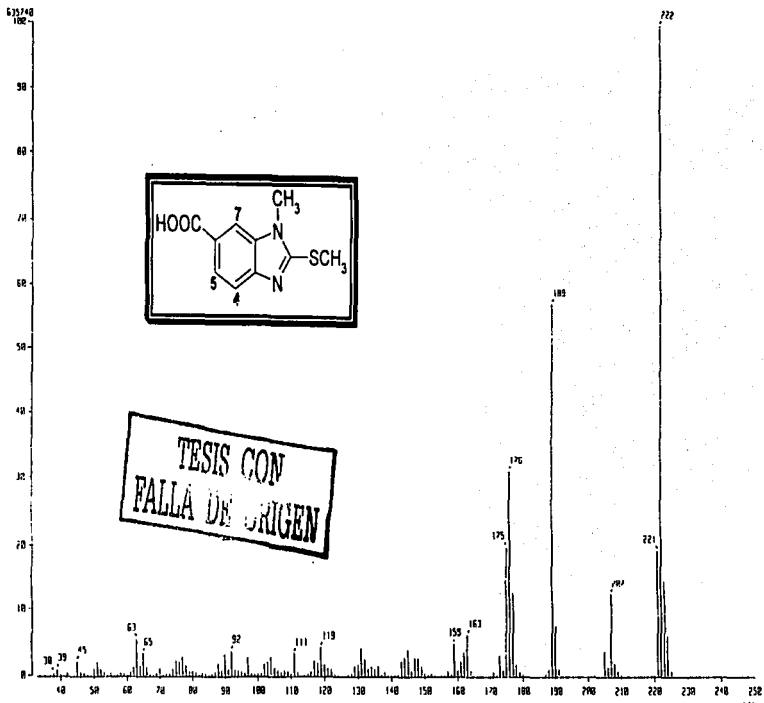


ESPECTRO No 11a: IR (KBr) de ácido 1-metil-2-(metiltio)-1H-bencimidazol-6-carboxílico (11)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No11b: ¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) de ácido 1-metil-2-(metilthio)-1H-benzimidazol-6-carboxílico (11)



APENDICE

ESPECTRO No11: EM (IE) de ácido 1-metil-2-(metiltio)-1H-bencimidazol-6-carboxílico (11)

104