



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DEL
6-CLORO-2-(METILTIO)-N-(5-NITRO-1,3-TIAZOL-2-IL)-
1H-BENCIMIDAZOL-5-CARBOXAMIDA Y SUS
DERIVADOS 1-METILADOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA

CARLOS ALBERTO MÉNDEZ CUESTA

MÉXICO D.F.

2005.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

m 346215



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).

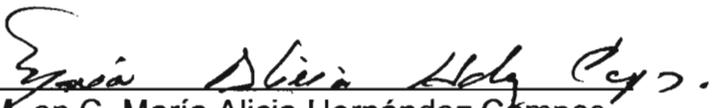
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	Prof. María Luisa García Padilla.
VOCAL	Prof. María Alicia Hernández Campos.
SECRETARIO	Prof. Francisco Hernández Luis.
1er. SUPLENTE	Prof. Héctor García Ortega.
2do. SUPLENTE	Prof. Fernando Cortés Guzmán.

Sitio en donde se desarrolló el tema: Laboratorio 122, Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

ASESOR


M. en C. María Alicia Hernández Campos

SUSTENTANTE


Carlos Alberto Méndez Cuesta

“Jesús enseñaba por parábolas muchas cosas...

Cuando estuvo solo, sus discípulos le preguntaron:

Por qué enseñas con parábolas? Y les dijo:

A vosotros os es dado saber el misterio del reino de Dios;

mas los que estan afuera, por parábolas todas las cosas;

para que viendo, vean y no perciban; y oyendo, oigan

y no entiendan...El que tenga ojos que vea y el que tenga oídos

que oiga...Y les dijo: ¿Si no sabéis esta parábola? ¿Cómo pues

entenderéis todas las parábolas?...”

Evangelio según San Marcos.

DEDICATORIAS

A Dios Padre por haberme permitido estar en este camino de la vida, para disfrutarla, gozarla, sufrirla, pero sobre todo por permitirme estudiar esta carrera para apreciar mejor su creación. Gracias Dios mío.

A mi Papa Luis, que gracias a él, a sus esfuerzos, consejos, enseñanzas y su personalidad, ahora he llegado a ser la persona que ahora soy. Gracias por enseñarme que no importa lo que uno quiera ser, siempre y cuando llegue a ser el mejor. Esta tesis representa la culminación de nuestros esfuerzos por una vida mejor.

A mi Mama Teresa, quien me dio la vida, por sus cuidados, por todos sus sacrificios, por enseñarme a querer, por su personalidad, este es el fruto de nuestro trabajo para seguir adelante.

A mis hermanos Ivone y Alex, por ser una inspiración de superación, por estar ahí conmigo y por el simple hecho de ser mis hermanos.

A todos los miembros de mi familia, por que cada uno de ustedes a contribuido a mi formación personal y he aprendido lo mejor de cada uno.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, por sus consejos, y su apoyo en la realización y revisión de esta tesis.

A la M. en C. Alicia Hernández Campos, por haberme permitido trabajar a su lado, por sus consejos, apoyo y el emprenderme en el camino de la ciencia.

Al Dr. Francisco Hernández Luis, por haberme enseñado como maestro, por sus consejos y su apoyo en la revisión de esta tesis.

A la UNAM, por haberme permitido beber de su manantial de conocimientos desde la Preparatoria.

A la Facultad de Química, por haberme formado como el profesionista que ahora soy.

Al personal de la USAI, Rosa Isela del Villar, Margarita Guzmán, Marisela Gutiérrez, Nayeli López y Georgina Duarte para la determinación de los espectros.

A la Dra. Lilián Yépez Mulia y Amparo Tapia por la determinación de la actividad antiprotozoaria, en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

Al proyecto PAPIIT IN214502-3, por el apoyo económico recibido en la realización de mi servicio social, participando en la síntesis del compuesto fasciolicida Alfa.

Al proyecto CONACYT V43629-M, por el apoyo económico recibido en para la realización de esta tesis.

A mis amigos: Betty, Alfonso, Rebeca, Letty, Vane, Edith, Mariana, Rubén, por los grandes momentos compartidos que me permitieron aprender más de la vida, a crecer como persona, aunque a veces no se vea. Gracias a todos por su amistad.

A mis amigos de la Jardinera: Caro, Edwin, Iván, Paco, Viridiana, Andrea, Bere, Jimena, Juan Manuel, Antonieta, Nayeli, Víctor, Lucia, Rosaura, Pepe, por todos esos ratos agradables en la jardinera y en la Tarahumara, y que siga la fiesta!!!

A mis amigos los P. Rones: Job, Armando, Saúl, Cristian, Luis, Iván, Cuahutemoc, Mario, Adrián, Donato, Pake, Isolda, por tantos partidos disputados, por el campeonato obtenido en la temporada 2004-2, por las borracheras que nunca paraban, demostrando que los buenos amigos también están en las canchas.

A mis compañeros del laboratorio 122: Nayeli, Paty, Víctor, Lalo, Israel, Fabián, José Luis, Sergio, por sus consejos y hacer más agradable mi estancia en el laboratorio.

Y a todos aquellos que estuvieron conmigo a lo largo de mi vida personal y académica, ya que cada uno de ellos aportó algo para mi superación perso

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Parasitosis en México.....	3
2.2. Protozoosis.....	5
2.2.1. Giardiosis.....	5
2.2.1.1. <i>Giardia intestinalis</i> como modelo de protozoario.....	7
2.2.2. Amibiosis.....	7
2.2.3. Tricomoniosis.....	8
2.2.3.1. <i>Trichomonas vaginalis</i> como modelo de protozoario.....	8
2.3. Fármacos antiparasitarios.....	10
2.3.1. Agentes antiprotozoarios.....	10
2.3.2. Los 5-Nitroimidazoles.....	11
2.3.3. 5-Nitrotiazoles como nuevos agentes terapéuticos.....	12
2.3.4. Mecanismo de acción de los 5-Nitroimidazoles.....	12
2.3.5. Bencimidazoles como agentes antiprotozoarios.....	13
2.3.6. Mecanismo de acción de los Bencimidazoles.....	15
2.4. Métodos de modificación molecular.....	16
2.4.1. Modificación molecular.....	17
2.4.2. Modificaciones estructurales de Bencimidazoles.....	18
2.5. Síntesis de Bencimidazoles.....	22
2.5.1. El Bencimidazol.....	22
2.5.2. Método de Phillips.....	23
2.5.3. Síntesis de Bencimidazoles a partir de <i>N-Acil o-feniléndiaminas</i> ...	23
2.5.4. Síntesis de <i>N-Metilbencimidazoles</i>	24
2.6. Métodos de Síntesis de Carboxamidas.....	25
2.6.1. A partir de Halogenuros de acilo.....	25
2.6.2. A partir de Ésteres.....	26
2.6.3 A partir de Ácidos utilizando un agente acoplante.....	26
2.7. Nitración de Compuestos Aromáticos y Tiazoles.....	27
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	31

ÍNDICE

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL	33
6.1. Secuencia sintética para la preparación de las tres Carboxamidas Bencimidazólicas Híbridas.....	33
6.2. Pruebas de Susceptibilidad Biológica.....	36
6.2.1. Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad antiprotozoaria contra <i>G.</i> <i>intestinales</i>	36
6.2.2. Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad antiprotozoaria contra <i>T.</i> <i>vaginalis</i>	36
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
7.1. Resultados de la Parte Química.....	37
7.2. Resultados de la Parte Biológica.....	53
7.2.1. Efecto de los híbridos sobre <i>G. intestinales</i>	53
7.2.2. Efecto de los híbridos sobre <i>T. vaginalis</i>	54
8. CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
APÉNDICE A. PARTE EXPERIMENTAL	65
A.a. Instrumentación.....	65
A.b. Cromatografía.....	65
A.c. Técnicas para la preparación de intermediarios y productos finales.....	66
APÉNDICE B. ESPECTROS	78

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones y enfermedades producidas por parásitos en seres humanos son de gran importancia médica en todos los países en desarrollo. Para nadie resulta nuevo el aseverar que las parasitosis actualmente constituyen uno de los problemas más serios de salud a nivel mundial. Aunque la mortalidad ocasionada por estas infecciones es relativamente baja, la alta prevalencia constituye un serio problema en salud pública, el cual se deberá afrontar a nivel nacional, tratando de abatir aún más las estadísticas y revirtiendo dichos resultados para poder obtener un bienestar común. La epidemiología de estas parasitosis se relaciona directamente con factores ecológicos, socioeconómicos, sanitarios, higiénicos y culturales.

Las infecciones transmitidas a través del suelo y la vía fecal-oral son en su mayoría multiparasitosis, las que se ven agravadas por la coexistencia de desnutrición o deficiencias en micronutrientes.

Los parásitos intestinales son los agentes infecciosos más comunes en los humanos. Éstos se encuentran ampliamente diseminados alrededor del mundo; sin embargo, los países tropicales y subtropicales reúnen las características geográficas y climatológicas que favorecen la prevalencia de la mayoría de estos organismos.

La prevalencia de los parásitos intestinales está relacionada con las condiciones sanitarias ambientales así como también con las condiciones de vivienda en zonas marginadas, tales como la falta de alcantarillado, falta de agua potable, acumulación de basura, entre otros. En México existen deficiencias ancestrales de atraso en zonas marginadas, que propician que las infecciones gastrointestinales se encuentren fuertemente arraigadas en diversas comunidades de nuestro país.

La magnitud del parasitismo intestinal en América Latina es enorme. La frecuencia con que las encuentra el médico que atiende niños en nuestro medio va en aumento, probablemente tanto como consecuencia de una elevación real, como porque efectúa las técnicas diagnósticas adecuadas.

La quimioterapia sigue siendo el método más eficaz y barato para controlar casi todas las parasitosis. Los fármacos disponibles son esencialmente útiles para tratar las infecciones en seres humanos causadas por parásitos intestinales.

Actualmente, se cuentan con antiparasitarios luminales y tisulares, los cuales tienen actividad contra las diferentes especies de protozoarios intestinales patógenos y no patógenos para el hombre.

Dentro de los fármacos que más se han empleado en el tratamiento de las helmintosis están los derivados bencimidazol 2-carbamato de metilo (BC), como el Mebendazol y el Albendazol. Estos fármacos han demostrado una gran actividad, así como un amplio espectro de acción en infecciones intestinales, pero su baja solubilidad en agua reduce en gran medida su capacidad de absorberse, y por tanto, su eficacia en infecciones de tipo sistémicas también se ve reducida.

Cabe mencionar que en este campo se requiere hacer una gran inversión en el desarrollo de nuevos fármacos con toxicidad baja y con menos efectos secundarios en el huésped, ya que los antiparasitarios para tratamiento de protozoarios intestinales actualmente disponibles, son poco tolerados por los pacientes y tienen una toxicidad considerable. Así mismo, se ha comprobado la resistencia a antiparasitarios por diferentes helmintos, en borregos, cabras y otro tipo de ganado.

Por estas razones, es necesario emprender la búsqueda de nuevos agentes antiparasitarios con un mayor espectro terapéutico, mejorar las propiedades intrínsecas de las moléculas, reducir la toxicidad, disminuir los costos e identificar los sitios de acción de las nuevas moléculas, las cuales son importantes para el desarrollo de tratamientos quimioterapéuticos más eficientes. Es por eso que el presente estudio pretende la síntesis de nuevos compuestos bencimidazólicos híbridos tipo carboxamidas, sus derivados 1-metilados y su evaluación biológica, utilizando *Giardia intestinalis* y *Tricomonas vaginalis* como modelos parasitarios, para contribuir de esta forma a la investigación sobre los requerimientos estructurales para la actividad antiprotozoaria y con ello acrecentar una base de datos ya existentes, para el diseño racionalizado de fármacos antiparasitarios.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. PARASITOSIS EN MÉXICO

Los parásitos intestinales que causan enfermedades en el hombre son principalmente protozoarios, nematodos y cestodos; de ellos, a nivel mundial, el protozooario *Entamoeba histolytica* y el nematodo *Schistosoma* son las principales causas de enfermedad debidas a parásitos.² Se calcula que alrededor de 3 500 millones de habitantes alrededor del mundo están parasitados y aproximadamente 450 millones padecen de alguna enfermedad parasitaria, de ellos, la proporción mayor corresponde a la población infantil. Según datos recientes aportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) 65 000 muertes anuales se atribuyen a infecciones por nematodos, en particular a *Schistosoma*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Trichiuris trichiura*, y 60 000 muertes a infección por *Ascaris lumbricoides*. Por otro lado, tanto el protozooario *E. histolytica* como *Giardia intestinalis* son la principal causa de enfermedad invasora intestinal y extraintestinal en 48 millones de personas, de las cuales mueren alrededor de 70 000 anualmente.²

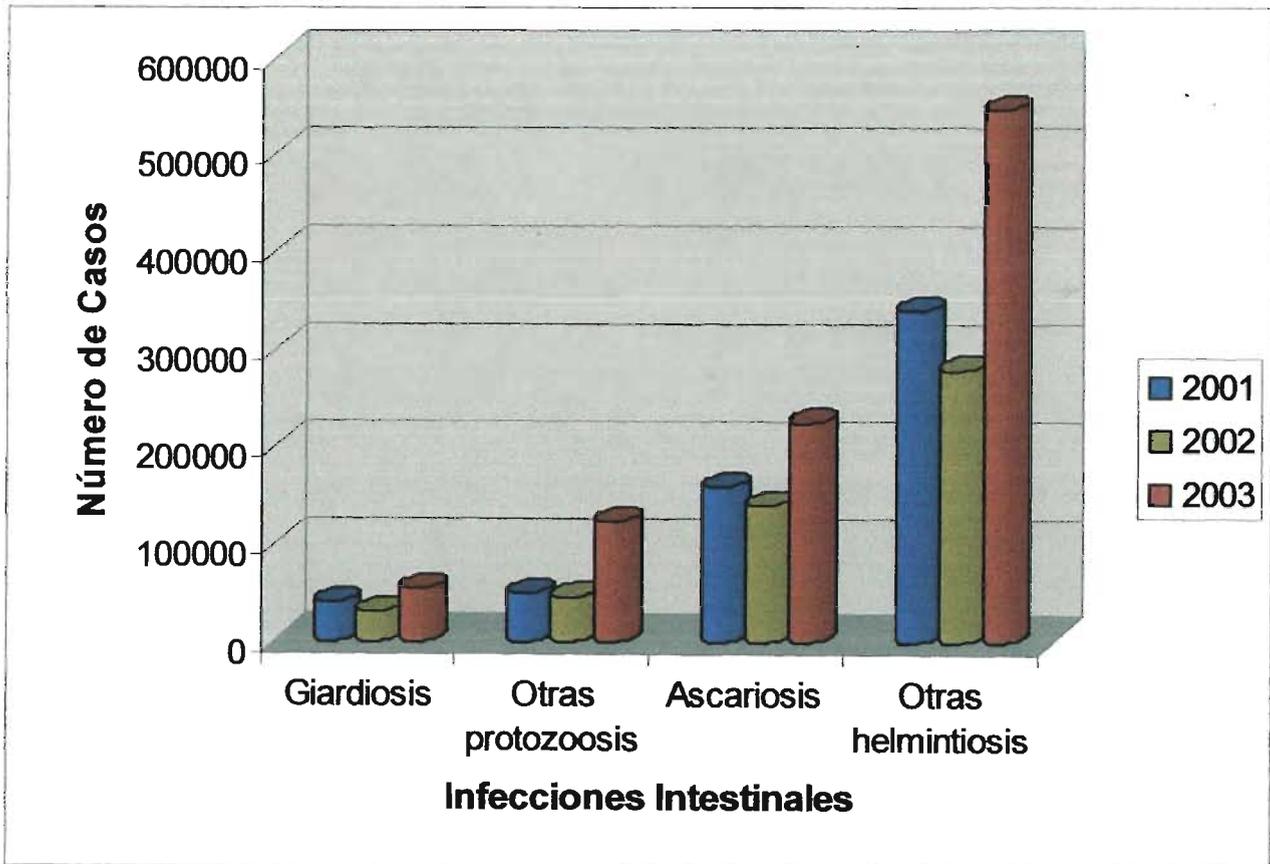
Las encuestas y estudios epidemiológicos demuestran el predominio general de parásitos intestinales en niños menores de un año, tanto protozoosis como geohelmintiosis. El poliparasitismo es frecuente, a partir del segundo año de edad abundan las infecciones con tres y cuatro especies de protozoarios, principalmente entre *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Chilomastix mesnilis* y *G. intestinalis*.⁵ La Dirección General de Epidemiología de la SSA, en el año 2003, presentó los siguientes casos en México (Tabla 1).¹

Tabla 1. Casos de Parasitosis en México

Parasitosis	Total de Casos	Tasa por 100 000 Habitantes
Amibiosis Intestinal	1 013 535	972.6
Absceso hepático amibiano	2 104	2.4
Anquilostomiasis y necatoriasis	1 142	1.4
Ascariosis	224 884	215.8
Giardiosis	53 193	51.0
Oxiuriasis	132 796	129.7
Teniosis	934	0.9
Cisticercosis	513	0.5
Triquinelosis	9 357	10.3

Marcadas como otras parasitosis intestinales	122 499	117.5
Otras infecciones intestinales	546 549	524.4

En la **Gráfica 1** se muestran las estadísticas de los últimos 3 años sobre la incidencia de algunas parasitosis en nuestro país, en donde se aprecia una ligera disminución de la tasa de morbilidad para el año 2002; sin embargo, para el 2003 aumenta en forma considerable, lo que representa un problema preocupante, ya que lejos de disminuir prometen un futuro comportamiento de persistencia con el transcurso de los años, a pesar del incremento en medidas higiénicas, sanitarias y tratamientos masivos con fármacos antiparasitarios. Esta última medida ha sido de gran utilidad en el control de las infecciones parasitarias; sin embargo, a últimas fechas, su uso ha favorecido la persistencia de parásitos resistentes.



Gráfica 1. Morbilidad por infecciones intestinales en México reportados hasta el 2003⁹.

2.2. PROTOZOOSIS

2.2.1. Giardiasis

Entre las parasitosis intestinales se encuentra la giardiasis, ésta es producida por *G. intestinales* (**Figura 1**). Afecta predominantemente a niños y presenta una prevalencia creciente. En nuestro país es la infección de más alta prevalencia distribuida homogéneamente a lo largo de la República Mexicana. En general, la enfermedad no es una causa de mortalidad importante; sin embargo, debido a su patofisiología tiene graves implicaciones en el estado nutricional y en las tasas de crecimiento de la población infantil. La giardiasis es una enfermedad transmitida por la vía fecal-oral, las fuentes de infección más importante son individuos infectados y los mantos acuíferos contaminados con aguas negras. Se sabe que más del 60% de los niños infectados desarrollan sintomatología asociada con diarrea explosiva, flatulencia y dolor epigástrico. Se ha observado que las cargas parasitarias altas interfieren con los mecanismos de absorción de grasas y vitaminas liposolubles, así como con la absorción de lactosa, glucosa, xilosa vitamina A y B₁₂. El síndrome de malabsorción puede persistir por periodos largos después de haberse erradicado la infección^{5,10,11}. En los adultos comúnmente es asintomático⁵.

El trofozoito de *G. intestinales* tiene forma piriforme, posee dos núcleos, esta compuesto de microtúbulos y tiene cuatro pares de flagelos que le dan movilidad. La concavidad constituye una ventosa o disco succionador que tiene capacidad para adherirse a la mucosa del intestino delgado^{5,11}; los quistes son la forma de resistencia del parásito.⁵

La infección inicia desde la ingesta de agua contaminada, comida o por la ruta oral-fecal, los quistes llegan al intestino delgado, el movimiento libera los trofozoítos (cada quiste produce dos trofozoítos); se multiplican por fisión binaria y permanecen en el lumen del intestino delgado, donde pueden estar libres o adherirse a la mucosa. La enquistación ocurre cuando emigra hacia el colon y son expulsados en las heces no diarreicas (**Figura 2**).⁴⁹

El diagnóstico etiológico sólo puede hacerse por identificación del parásito a través de un examen coproparasitológico, pero pueden usarse estudios alternativos de detección mediante pruebas de enzimas inmunológicas y detección de parásitos por inmunofluorescencia.⁴⁹ El estudio microscópico del líquido duodenal obtenido por sondaje, puede demostrar los trofozoitos.¹¹

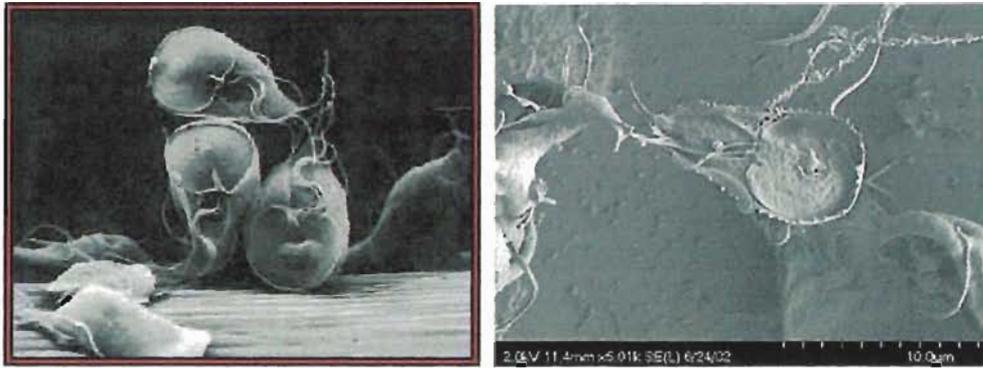


Figura 1. *Giardia intestinalis*. Fotografías de Microscopio Electrónico de Barrido de un cultivo.

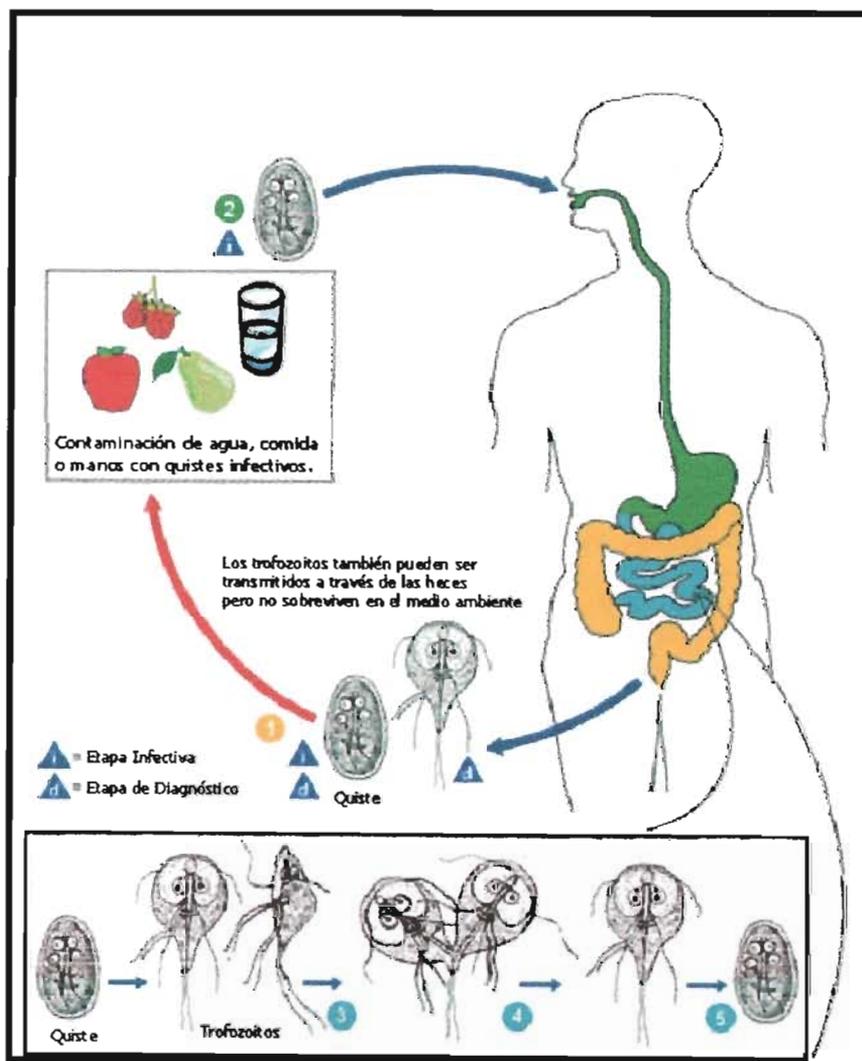


Figura 2. Ciclo de vida de *Giardia intestinalis*.

2.2.1.1. *Giardia intestinalis* como modelo de protozoario

G. intestinalis es utilizado como modelo de protozoario dado su ciclo de vida. El parásito se puede incubar fácilmente *in vitro* bajo condiciones fisiológicas; su alta tasa de crecimiento en cultivos permite evaluar alteraciones estructurales, así como la viabilidad del organismo. En esta metodología, el compuesto a probar se puede disolver en algún disolvente orgánico (por ejemplo DMSO) para ser usado como stock, para posteriormente hacer diluciones con el medio de cultivo para obtener sólo el 1% del disolvente y de esta manera evaluar únicamente el efecto del compuesto.

El tiempo relativamente corto de incubación para realizar subcultivos en un estudio *in vitro*, proporciona una ventaja más para evaluar la actividad y la eficacia que podrían mostrar nuevos agentes antiparasitarios. Los trofozoítos de *G. intestinales* se guardan a bajas temperaturas para conservar su viabilidad, cuando se requieren, se incuban a temperatura ambiente, después se hacen inóculos en medio de cultivo y se dejan incubar por 48 horas, tiempo en el cual se ha visto que alcanzan la fase logarítmica de crecimiento, esto permite estar seguros de que se cuenta con una gran cantidad de trofozoítos viables. Se toman inóculos, se agrega medio de cultivo y las diferentes concentraciones del compuesto a probar, se incuban a 37°C por 48 horas.

En esta prueba se emplea al Metronidazol como patrón de referencia por ser el fármaco de elección en el tratamiento de la giardiosis. La información proporcionada por este método y mediante el análisis Probit, se calcula la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀), la cual se define como la concentración en la que la mitad de la población de un sistema en estudio pierde viabilidad.⁵⁰

2.2.2. Amibiosis

La amebiasis es la infección producida por *E. histolytica*, especie parásita del hombre, que puede vivir como comensal en el intestino grueso e invadir la mucosa intestinal produciendo ulceraciones y además puede localizarse del intestino en abscesos hepáticos.¹¹ El grupo de edad preferentemente afectado es el de los menores de 14 años. Las tasas de morbilidad más altas corresponden a los menores de 1 año.¹⁰

2.2.3. Tricomoniosis

Otro protozooario causante de infecciones es *T. vaginalis*, protozooario de forma ovoide o piriforme, flagelado, predominante en mujeres, el cual provoca la tricomoniosis genito urinaria. La prevalencia de este flagelado en los países desarrollados, en áreas industrializadas, oscila del 5 al 20% entre las mujeres y del 2 al 10% entre los hombres.^{9,10,11}

Los quistes no existen, observándose solo el estado de trofozoítos; sin embargo, aunque carece de formas de resistencia, la quitina asociada a estructuras de superficie le permiten sobrevivir en condiciones ácidas (pH 4.0 – 4.5).⁵

T. vaginalis vive en el moco vaginal y en la secreción ventral de la mujer; en el hombre vive en la uretra, próstata y epidídimo. Se multiplica por fisión binaria longitudinal. La tricomoniosis se transmite a través de las relaciones sexuales, por lo que se considera una infección de transmisión sexual.^{5,11}

La tricomoniosis se relaciona con el cáncer cervical, enfermedad inflamatoria pelviana atípica, esterilidad, predisposición a infección con VIH debido a la acumulación local de linfocitos y macrófagos. La infección en mujeres embarazadas provoca un mayor riesgo a la ruptura prematura de las membranas de la placenta, infantes con bajo peso al nacer, además de infecciones postquirúrgicas del tracto reproductor.⁵

Las manifestaciones clínicas no son confiables para efectuar un diagnóstico exacto y la existencia de una población asintomática hace que el diagnóstico esté basado en la demostración del parásito. El frotis directo simple del exudado vaginal y la observación al microscopio de la motilidad del protozooario es el método más empleado.^{5,11} Técnicas como aglutinación, fijación del complemento, hemoaglutinación indirecta, difusión en gel, anticuerpos fluorescentes etc., se han usado para demostrar la presencia de anticuerpos antitrichomonas.¹¹

2.2.3.1. *Trichomonas vaginalis* como modelo de protozooario

Al igual que con *G. intestinalis*, *T. vaginalis* (**Figura 3**), dado su ciclo de vida (**Figura 4**), se emplea como modelo para evaluar nuevos compuestos por medio de la técnica de subcultivos, en la cual, los trofozoítos se conservan a bajas temperaturas. Cuando son requeridos, se incuban a 37°C, se resiembran en medio nuevo para favorecer su crecimiento y a las 48 horas de incubación, el

protozoo se encuentra en la fase logarítmica de crecimiento, por lo que se cuenta con una cantidad considerable de trofozoítos para evaluar la actividad del compuesto, resembrando un inóculo en medio nuevo más la concentración del compuesto a evaluar, el cual tiene 1% de disolvente orgánico para evitar su posible interferencia.

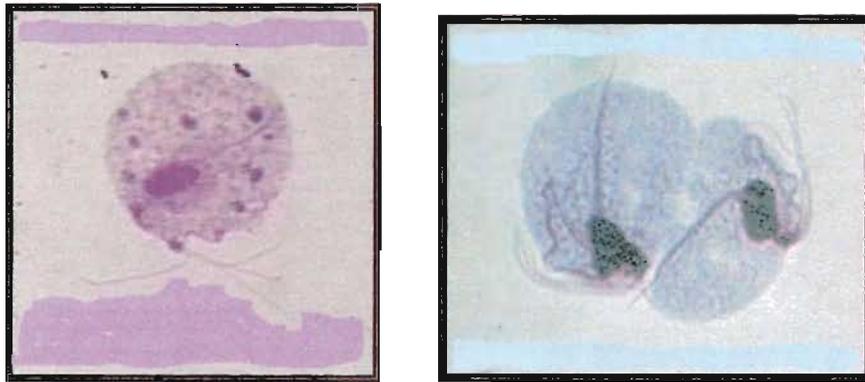


Figura 3. *Trichomonas vaginalis*. Fotografías de trofozoítos en tinción.

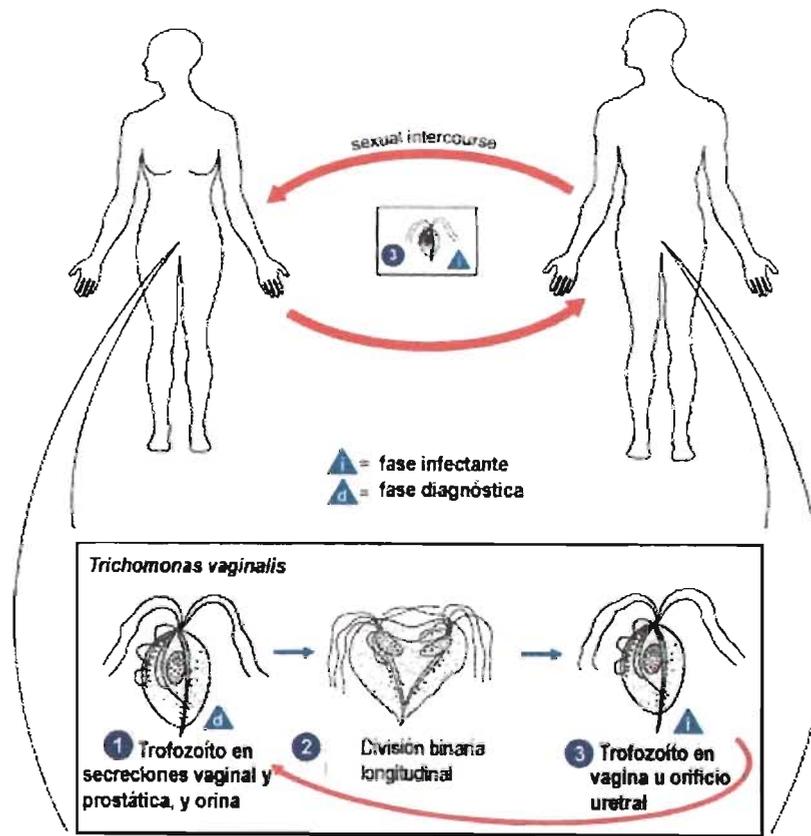


Figura 4. Ciclo de vida de *Trichomonas vaginalis*.

2.3. FÁRMACOS ANTIPARASITARIOS

2.3.1. Agentes antiprotozoarios

Los medicamentos contra protozoos son prácticamente los mismos desde hace años, porque no ha habido otros mejores que los sustituyan. No se dispone aún de compuestos para combatir algunas infecciones importantes por protozoos como la tripanosomiosis rodesiense o la enfermedad de Chagas. Además, los productos antiprotozoarios eficaces suelen ser tóxicos a dosis terapéuticas y, en muchos casos, su empleo tan amplio ha ocasionado mayor resistencia de los parásitos. Los compuestos “diseñados” recientemente, que aprovechan las diferencias perfectamente definidas entre el parásito y el huésped, no han tenido aplicación terapéutica significativa.⁶

Los principales fármacos utilizados en el tratamiento de las infecciones protozoarias son de dos tipos:

a) Tisulares: estos fármacos eliminan a los organismos principalmente en la pared intestinal, hígado y otros tejidos extraintestinales. No son eficaces contra organismos en el lumen intestinal.¹⁴ Dentro de esta clasificación se encuentran fármacos como Cloroquina, Emetina, Deshidroemetina y Nitroheterociclos, como los 5-Nitroimidazoles.

b) Luminales: estos fármacos actúan principalmente en el lumen intestinal; no son eficaces contra los organismos en la pared intestinal u otros tejidos (**Figura 5**).¹⁴ Ejemplos de esta clase son los fármacos Dicloroacetamida, Paramomicina, 8-Hidroxiquinolinas, Atovacuona, Quinacrina y Furoato de diloxanida.

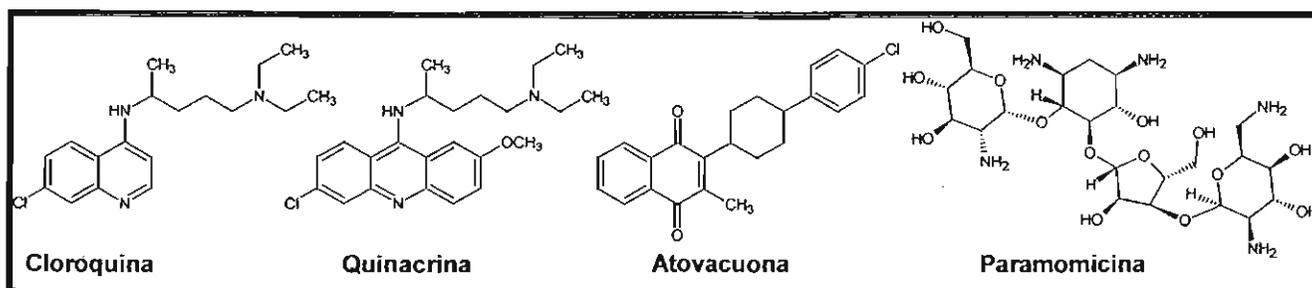


Figura 5. Algunos fármacos utilizados en el tratamiento de infecciones protozoarias.

2.3.2. Los 5-Nitroimidazoles

Los 5-Nitroimidazoles poseen una estructura heterocíclica consistente de un núcleo de imidazol con un grupo nitro en posición 5.¹⁶ Estos compuestos son los agentes terapéuticos más efectivos y ampliamente usados para el control de *G. intestinalis* y los únicos disponibles para el tratamiento de infecciones por *T. vaginalis*. Los 5-Nitroimidazoles más utilizados son el Metronidazol y el Tinidazol.^{8,17,15}

El Metronidazol tiene efectos adversos comunes: náuseas, mutagenicidad en bacterias y altas dosis pueden causar cáncer en ratones.¹⁹ Los fármacos nitroimidazólicos se han utilizado a lo largo de 20 años. Sin embargo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha incluido al Metronidazol entre los compuestos para los cuáles hay suficiente evidencia de carcinogenicidad en animales de experimentación. Desde hace tiempo, un número de otros nitroimidazoles como el Tinidazol, Nimorazol y Ornidazol se han usado en medicina humana, mientras que el Ronidazol y el Ipronidazol han tenido aplicaciones veterinarias (**Figura 6**).²⁰

El Tinidazol se usa como antiprotozoario en el tratamiento de infecciones causadas por *T. vaginalis*, *E. histolytica* y *G. intestinalis*; también contra infecciones por bacterias anaeróbicas; como profiláctico en pacientes que han sido sometidos a cistectomía o cirugía colorectal. Su rango de efectividad es tan alto como el del Metronidazol, y ha demostrado una mejor capacidad de matar bacterias anaeróbicas que éste, exhibiendo una muy alta potencia con una actividad antiparasitaria demostrada de 16 veces mayor. Se absorbe fácilmente, con una eficiente penetración al tejido, con un tiempo medio de eliminación significativamente más largo y su total purificación que los correspondientes valores de Metronidazol.²⁰

El Ornidazol es otro miembro del grupo de los 5-Nitroimidazoles, tiene el mismo efecto antimicrobiano que el Metronidazol y también se usa en el tratamiento de infecciones protozoarias susceptibles, así como para el tratamiento de profilaxis de infecciones por bacterias anaeróbicas. También es bien absorbido y distribuido después de la administración oral, su tiempo de vida media es más largo, comparado con el del Metronidazol. Exhibe una excelente tolerancia en humanos cuando se administra durante el embarazo.¹⁶

2.3.3. 5-Nitrotiazoles como nuevos agentes terapéuticos

El anillo de nitrotiazol se seleccionó para remplazar al del nitroimidazol clásico, ya que en los estudios de AMES no se encontró efecto mutagénico con el cambio. El átomo de azufre, que reemplaza al nitrógeno en el anillo, es responsable de algunas detoxificaciones en los nitroderivados de ésta familia. De esta manera, se aumenta su espectro, su eficacia, y se disminuye la toxicidad.¹

La Nitazoxanida es la 2-(acetoliloxi)-N-(5-nitrotiazol-2-il)benzamida, un derivado del 5-nitrotiazol sintetizado por primera vez por Rossignol (Figura 6).⁵³

La Nitazoxanida tiene actividad in vitro contra *E. histolytica*, *T. vaginalis*, *Cryptosporidium parvum*, *G. intestinalis* e *Isospora belli*, y los helmintos *A. lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *T. trichiura*, *Taenia sagitana*, *Hymenolepsis nana* y *Fasciola hepatica*. Recientemente ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento de giardiosis en niños y tiene la ventaja sobre el Metronidazol de presentarse en una formulación líquida.²¹

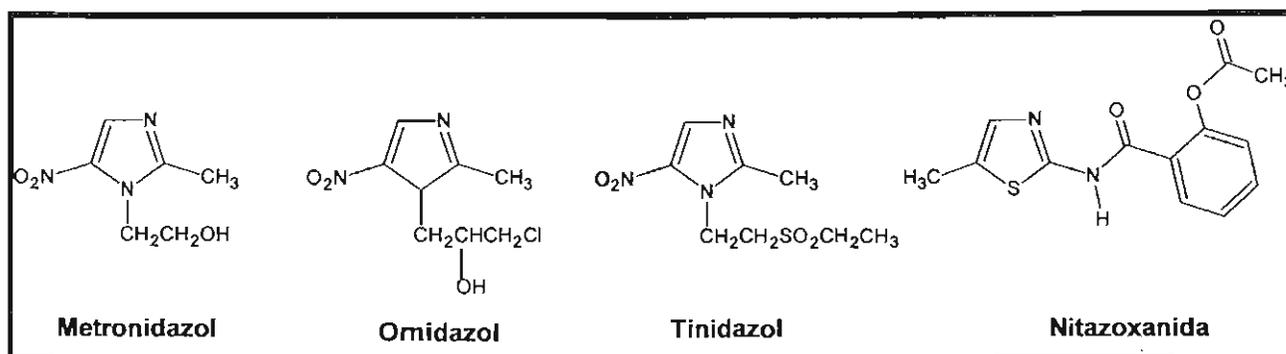


Figura 6. Agentes antiprotozoarios más empleados en la terapéutica.

2.3.4. Mecanismo de acción de los 5-Nitroimidazoles

En los parásitos anaerobios, el Metronidazol sufre una reducción por la enzima piruvato ferredoxin oxidoreductasa (PFOR), la cual transfiere un electrón al grupo nitro y forma un radical nitroanión, tóxico para el parásito.^{17,19,22,23} Este rompe los puentes disulfuro y causa la ruptura de cadenas de DNA lo que ocasiona daños celulares múltiples que llevan a la muerte del parásito (Figura 7).^{8,16}

La falla del tratamiento para la giardiosis y tricomoniosis se ha atribuido a la resistencia a los nitroimidazoles; ya sea porque se disminuye la activación del grupo nitro, porque hubo un cambio en el orden de genes en el interior del parásito e inclusive porque puede haber un cambio en el transporte de electrones.⁶

Para el caso de los helmintos, se ha estudiado que la Nitazoxanida interfiere con el metabolismo de la glucosa del parásito, por alteración de las sustancias secretadas por el Aparato de Golgi (acetilcolinesterasa) y el consumo de glucosa del parásito, creando así un agotamiento del glucógeno y una acidosis láctica en el parásito, lo que ocasiona finalmente, su muerte.¹

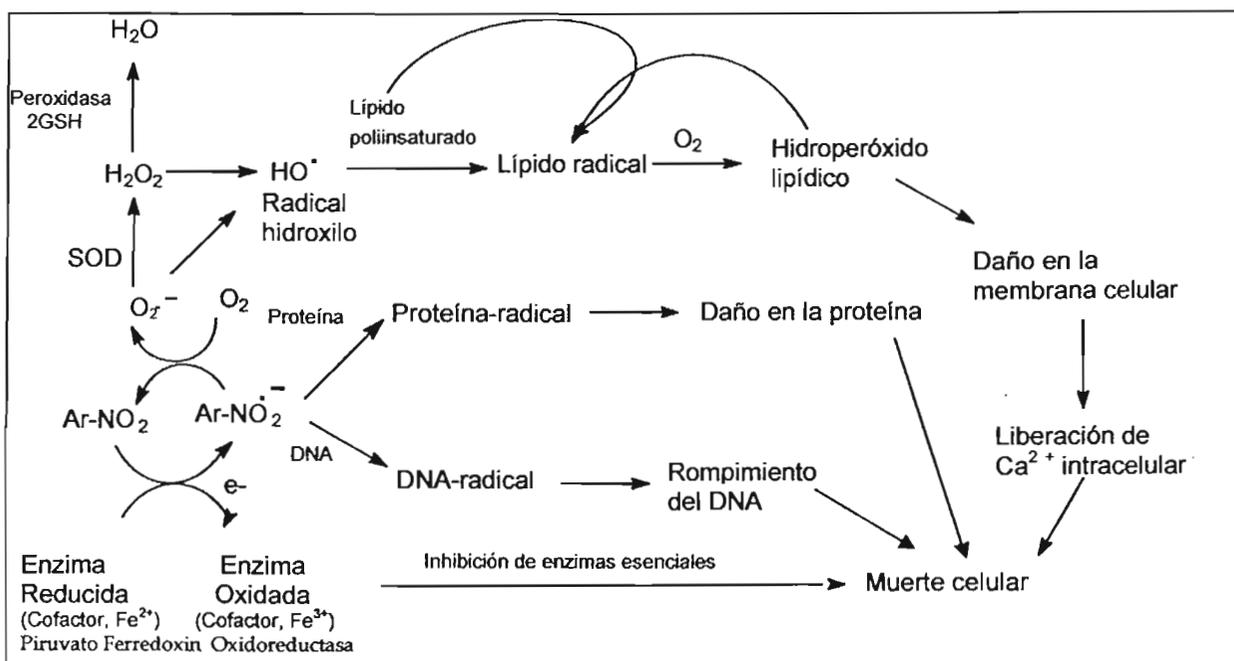


Figura 7. Mecanismo de acción de los Nitroheterociclos.

2.3.5. Bencimidazoles como agentes antiprotozoarios

Los fármacos antihelmínticos que más se han empleado son los bencimidazoles: Albendazol, Mebendazol y Tiabendazol.⁶

Los benzimidazoles, a pesar de tener un amplio espectro antiparasitario y baja toxicidad, debido a su pobre solubilidad y absorción *in vivo*, sólo se emplean para tratar enfermedades gastrointestinales por helmintos. Aunque también se han utilizado en el tratamiento de infecciones sistémicas, se requieren altas dosis y largos tratamientos.^{17,24}

El Albendazol tiene un espectro amplio antihelmíntico, alta actividad contra larvas y adultos de nematodos y céstodos, es seguro y se utiliza en la medicina humana.¹⁵ El Albendazol, al igual que el Levamisol, Mebendazol, Tiabendazol y Pirantel son los fármacos antihelmínticos incluidos en la lista de los fármacos esenciales de la OMS para el tratamiento de nematodos intestinales.²

Tabla 2. Características de algunos Bencimidazoles de mayor uso en la terapéutica

Fármaco	Ventajas	Desventajas
Tiabendazol (Mintezol) ⁴⁸	Antihelmíntico de amplio espectro. Alta biodisponibilidad. Ampliamente usado en el sector veterinario.	Corto tiempo de vida media. Mayor frecuencia de efectos secundarios. Tóxico para el humano.
Mebendazol (Vermox, Vermicol)	Antihelmíntico y antiprotozoario de amplio. Escasos efectos secundarios.	Baja solubilidad en agua y por tanto baja absorción. Dosis múltiple. Uso limitados a parasitosis gastrointestinales. Biodisponibilidad baja
Albendazol (Zentel, Vermin-plus, Vermilan)	Antihelmíntico y antiprotozoario de amplio. Escasos efectos secundarios. Utilizado tanto en parasitosis gastrointestinales como sistemáticas. Dosis única.	Baja solubilidad en agua y por lo tanto baja absorción. Biodisponibilidad baja.

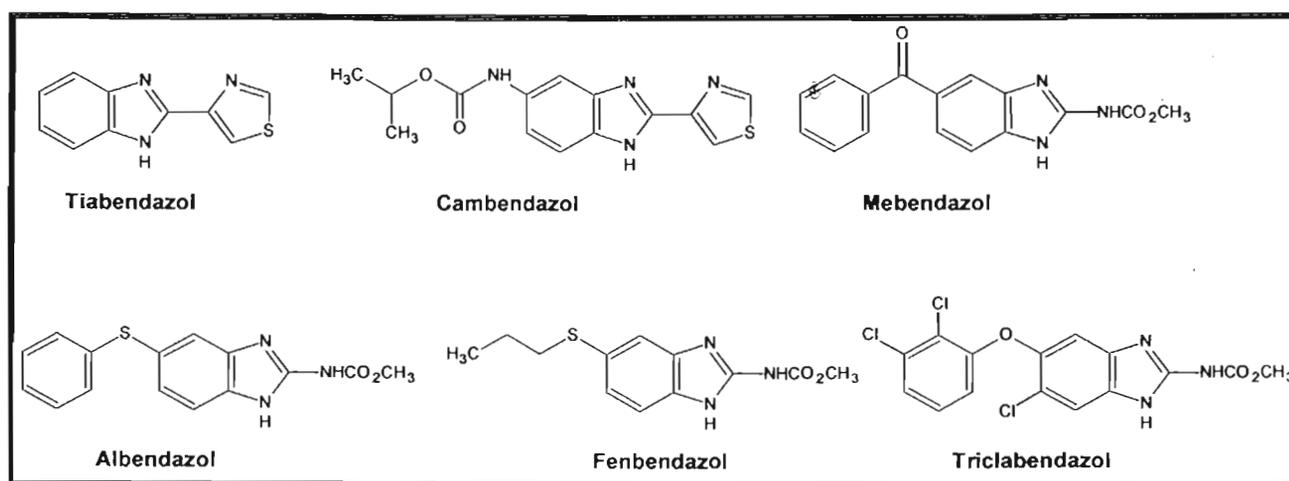


Figura 8. Algunos fármacos bencimidazólicos utilizados en el tratamiento de infecciones helmínticas.

Estudios recientes han demostrado que los compuestos bencimidazólicos 2-sustituidos, que además están halogenados en el anillo bencenoide, dan como resultado derivados con un alto índice antiprotozoario.⁷

Los BC como el Albendazol, Mebendazol, Flubendazol y Fenbendazol inhiben el crecimiento *in vitro* de *T. vaginalis* y *G. intestinalis*. El Albendazol es tan efectivo como el Metronidazol, el fármaco de elección para el tratamiento de la giardiosis, pero es poco efectivo contra *E. histolytica* y *L. donovani*.²⁴ Otros bencimidazoles como el Tiabendazol, Cambendazol y Triclabendazol también son ampliamente utilizados contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis* (**Figura 8**).⁸

2.3.6. Mecanismo de acción de los Bencimidazoles.

Los microtúbulos, componentes muy importantes de las células eucarióticas, son ensamblajes de protómeros compuestos de los polipéptidos α -tubulina y β -tubulina. La participación de los microtúbulos en el ambiente intracelular es de gran importancia, ya que están involucrados en procesos fisiológicos que se basan en su capacidad para polimerizarse y despolimerizarse, entre los que están:

- Formación del huso acromático en la división celular.
- Transporte intracelular
- Secreción celular
- Absorción de nutrientes
- Mantenimiento de la forma celular.

A pesar de la cerrada secuencia homóloga, la β -tubulina de los mamíferos y la de los nematodos son diferentes en su respuesta a los inhibidores de la tubulina: la de los nematodos se une a los bencimidazoles más fuertemente que la de los mamíferos. La unión del bencimidazol a la tubulina del nematodo altera el equilibrio tubulina-microtúbulos y causa la despolimerización de microtúbulos (**Figura 9**). Además, cuando la alta afinidad de la tubulina de una población de nematodos se pierde, aparece la resistencia.^{8,17,24}

Los bencimidazoles que actúan a este nivel tienen la característica de estar sustituidos en la posición 2 por un grupo carbamato de metilo y tener un hidrógeno en la posición 1.^{17,24}

Otro mecanismo de acción de los bencimidazoles antihelmínticos es la inhibición del metabolismo de la glucosa y en la eventual producción de energía en algunos helmintos. De acuerdo con esto,

la inhibición de la fumarato reductasa se considera como un corto circuito en el proceso energético del helminto, provocando su parálisis. De hecho, la fumarato reductasa es única en los parásitos, lo que la hace un excelente blanco para la quimioterapia.²⁵

Los bencimidazoles pueden interferir con la ruta energética de los helmintos por inhibición de la malato deshidrogenasa (MDH) citoplasmática y mitocondrial. Los bencimidazoles antihelmínticos pueden actuar como conductores protónicos liposolubles, tanto en sistemas membranales artificiales como naturales. Estos fármacos perturban severamente el gradiente protónico transmembranal, dejando una considerable caída en los niveles celulares de ATP.¹²

La acción del Albendazol contra *G. intestinalis* involucra la interacción de éste con la tubulina de su citoesqueleto.^{17,24}

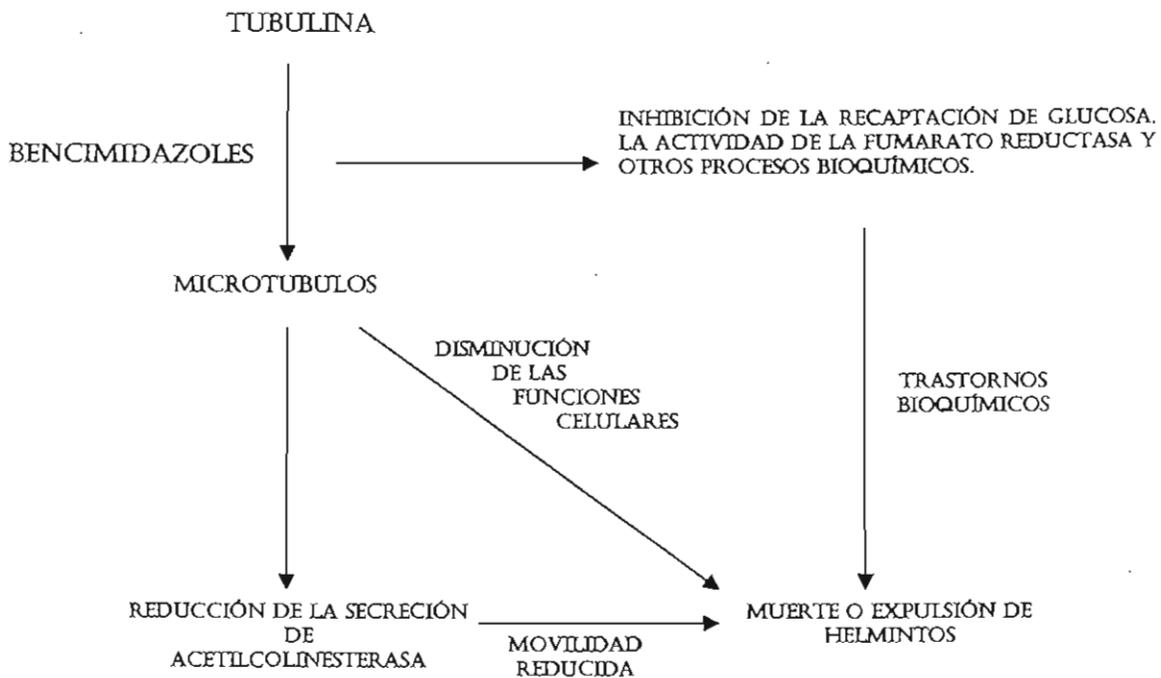


Figura 9. Mecanismo de acción de los Bencimidazoles.

2.4. MÉTODOS DE MODIFICACIÓN MOLECULAR.

La modificación molecular se realiza con el propósito de diseñar series de compuestos y conseguir optimizar la actividad farmacológica principal, disminuir su toxicidad y mejorar las propiedades farmacocinéticas o de formulación. Este método es indispensable en el diseño y desarrollo de

nuevos fármacos, además de que es más racional y productivo que el ensayo de compuestos naturales o de síntesis seleccionada al azar.²⁶

2.4.1. Modificación molecular.

La modificación molecular consiste en tomar sustancias químicas de actividad biológica conocida (prototipo) y después sintetizar y probar congéneres, homólogos o análogos estructurales. Este método también llamado manipulación molecular, método de variación, método mecanístico, proceso selectivo o aproximado, es el método más usado y el que más produce nuevos fármacos.²⁶

Schuler indicó varias ventajas de la modificación molecular.²⁶

- Grandes probabilidades de congéneres homólogos y análogos, obteniendo compuestos con propiedades farmacológicas similares a las de los prototipos.
- Probabilidad de que la producción de los nuevos fármacos sea más económica.
- Síntesis similar a la de los prototipos, que puede ahorrar tiempo y dinero.
- Los datos reunidos pueden ayudar a elucidar relaciones estructura-actividad.
- Uso de los mismos métodos biológicos de ensayos para los prototipos.

Los objetivos de este método son dos: a) descubrir el grupo farmacofórico esencial, el cual, es el rasgo de la molécula que proporciona la acción farmacológica; y b) obtener fármacos que tengan mejores propiedades que el prototipo (mayor potencia, menor toxicidad, mayor especificidad, mayor duración de acción, de fácil aplicación o administración, mayor estabilidad, menor costo de producción).²⁶

Los procesos generales que se pueden usar en el método de modificación son dos:

1) Simplificación molecular o disociación; la cual consiste en la síntesis sistemática y evaluación de análogos simples del compuesto líder. Estas son réplicas parciales o virtuales del fármaco prototipo, el cual es usualmente un producto natural de estructura química intrínseca; entre los ejemplos de fármacos de este tipo se encuentran la lidocaína y la succinilcolina.²⁶

2) Asociación molecular. El proceso de asociación molecular involucra la síntesis y evaluación de análogos más complejos que el prototipo. Estos análogos incorporan ciertas o todas las características del compuesto líder.²⁶ Existen tres tipos de asociación molecular:

- Adición Molecular:** Asociación de diferentes compuestos a través de enlaces débiles, como la atracción electrostática y puentes de hidrógeno; por ejemplo, Guaitilina (guaicolato de glicerilo + teofilina); Mandelato de metanamina (metanamina + ácido mandélico); Prednazolina (prednisolona + fenoxazolina).
- Replicación Molecular:** Asociación de compuestos idénticos a través de enlaces covalentes; la asociación de dos moléculas se llamada duplicación molecular; de tres, triplicación molecular; y así sucesivamente. Dentro de algunos fármacos obtenidos por esta vía están el Fenticlor (duplicación de la molécula del paraclorofenol); Pentaeritritol (tetraplicación del nitrato); Simeticona (n = 200 a 350 de óxido de silicio); Sorbinicato (hexaplicación de las moléculas de ácido nicotínico).
- Hibridación Molecular:** Asociación de compuestos diferentes, o mezclas, a través de enlaces covalentes. Los ejemplos más representativos son el Benorilato (aspirina con acetaminofén); Prizidilol (hidralazina con un β -bloqueador) y la Estramustina (estradiol con una mostaza nitrogenada) (**Figura 10**).²⁶

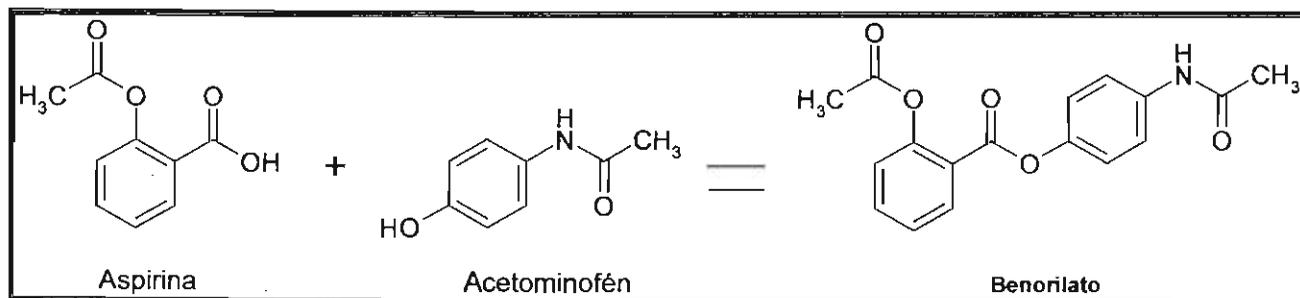


Figura 10. Compuesto obtenido por Hibridación Molecular.

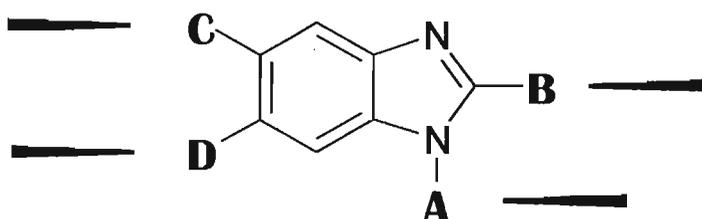
2.4.2. Modificaciones estructurales de Bencimidazoles.

Actualmente no solo se conoce que el núcleo bencimidazólico posee actividad antihelmíntica y antiprotozoaria, sino también se ha visto que esta molécula también puede tener propiedades antibacterianas, anticancerígenas, insecticidas y antifúngicas, entre otras, es por tal motivo que

este heterociclo con amplia funcionalidad ha despertado el interés de muchos investigadores para enfocarse a su estudio.²⁷

En lo que se refiere a la actividad antiparasitaria, las principales modificaciones estructurales que se han realizado se muestran en la **Tabla 3**.^{30,31}

Tabla 3. Modificaciones moleculares al anillo bencimidazólico



Sitio	Modificaciones	Comentarios
A	R= H, COR, CH ₂ OAr, COOR, CH ₃ .	La presencia de H no es esencial para la actividad antiprotozoaria, pero sí para la actividad antihelmíntica.
B	R= -NH ₂ , -SH, -SCH ₃ , -CH ₃ , -CF ₃ .	Actividad buena con los derivados azufrados, trifluorometilados y metilados, moderada con el grupo amino.
C	R= -CH ₂ -, -S-, -O-, -SO-, -CO-, -NH-CO-, alquilos, cicloalquilos, alquenos, arilos, heteroarilos.	La posición (5 y/ó 6) es importante en la selectividad contra protozoarios y helmintos intestinales y sistémicos. Grupos voluminosos determinan el perfil antihelmíntico.
D	R= H, Cl.	Define requerimientos estereoelectrónicos e impide la desactivación metabólica.

En este sentido se han realizado una gran cantidad de modificaciones al anillo de bencimidazol, principalmente en las posiciones 1, 2, 5 y 6, con la finalidad de encontrar la relación estructural que permita obtener fármacos con mejor actividad antiparasitaria y amplio espectro de acción. De un gran número de derivados probados, se encontró que la modificación del grupo carbamato de metilo de los BC por un metilitio, tal como se observa en el Triclabendazol, ha permitido mejorar la solubilidad y con ello la absorción de este fármaco.^{32,33} Por otro lado, con la sustitución isostérica del grupo diclorofenoxi de esta molécula por un grupo naftiloxi, se ha logrado obtener a un compuesto denominado ALFA, el cual ahora resulta una nueva alternativa para el tratamiento de la fasciolosis en animales (**Figura 11**).³⁴

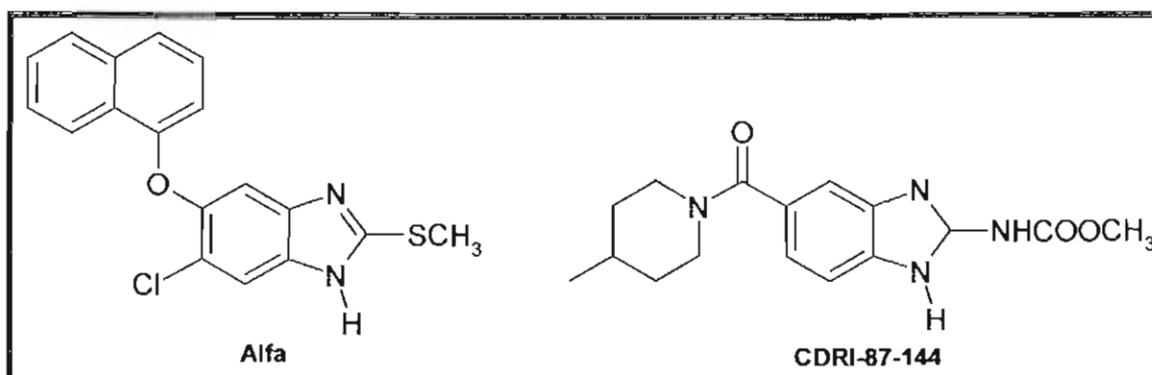
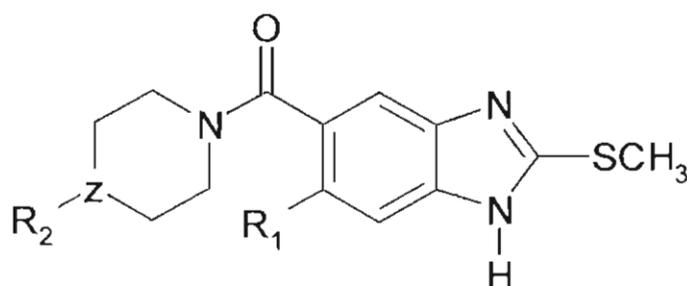


Figura 11. Modificaciones moleculares al anillo bencimidazólico.

Otras modificaciones que se han realizado son en la posición 5, con la finalidad de evitar el metabolismo en esta posición y para incrementar la respuesta antihelmíntica con parásitos que habitan, tanto en el tracto gastrointestinal, como aquellos que tienen diseminación sistémica, es la adición de un grupo carboxamida en dicha posición. Así surgió un compuesto de amplio espectro antihelmíntico *in vivo* llamado CDRI-87-144 que posee un grupo aminocarbonilo en la posición 5 (**Figura 11**).³⁵ La presencia de este grupo voluminoso fue de interés para la síntesis de nuevos compuestos en nuestro laboratorio, modificando el grupo carbamato de metilo por un grupo metiltio para conferir mayor solubilidad (como el Triclabendazol) y conservando el grupo aminocarbonilo de la posición 5. La introducción de un halógeno como el cloro en la posición 6, permite prolongar el tiempo de vida del compuesto al impedir la desactivación metabólica. La sustitución del carbamato de metilo en el CDRI-87-144 por un grupo metiltio como en el Triclabendazol, y, además, la introducción de cloro en la posición 6, generó la serie de compuestos que se muestran en la **Tabla 4**, éstos presentaron una actividad equiparable con el Albendazol sobre *T. spiralis* *in vitro*.³⁶

Tabla 4. Actividad antihelmíntica de 1*H*-bencimidazoles con modificaciones en la posición 5 del núcleo bencimidazólico



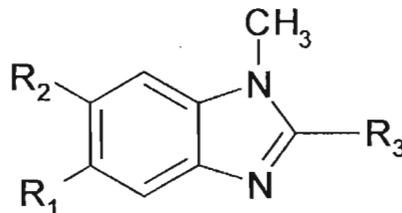
Compuesto	R ₁	R ₂	Z	% Reducción de <i>T. spiralis</i> *	Cl ₅₀ μM <i>G. intestinalis</i>	Cl ₅₀ μM <i>T. vaginalis</i>
I	H	H	CH	61	0.368	8.051
II	Cl	H	CH	48	0.359	1.281
III	H	CH ₃	CH	27	3.918	4.009
IV	Cl	CH ₃	CH	35	2.095	5.955
ABZ				46	0.037	1.592

*% de reducción de la capacidad metabólica de *T. spiralis* a 3.77 μM.

ABZ = Albendazol

La introducción de un grupo metilo en la posición 1 mejoró la actividad antiprotozoaria con respecto a sus análogos 1H bencimidazólicos. Tal es el caso de los compuestos presentados en la **Tabla 5** donde se observó que el patrón de sustitución conservado en el anillo de bencimidazol mostró una mayor actividad que el Metronidazol contra los trofozoítos de *Giardia intestinalis*³⁷.

Tabla 5. Actividad antiprotozoaria de los 1-metilbencimidazoles sobre *T. vaginalis* y *G. intestinalis*



Compuesto	R1	R2	R3	DL ₅₀ (μM) <i>T. vaginalis</i>	DL ₅₀ (μM) <i>G. intestinales</i>
IX	Cl	H	CH ₃	3.277	0.044
X	Cl	H	NH ₂	142.760	0.132
XI	Cl	H	SH	0.505	0.020
XII	Cl	H	SCH ₃	1.094	0.122
XIII	Cl	Cl	CH ₃	17.705	0.056
XIV	Cl	Cl	NH ₂	4.883	0.074
XV	Cl	Cl	SH	26.426	0.008
XVI	Cl	Cl	SCH ₃	8.455	0.024
NLB13	Piperidinilcarbonil	Cl	SCH ₃	0.046	0.122
NLB15	4-metilpiperidinilcarbonil	Cl	SCH ₃	0.111	0.099
ESR 37	Cl	Piperidinilcarbonil	SCH ₃	NR	7.013
ESR 38	Cl	4-metilpiperidinilcarbonil	SCH ₃	NR	4.226

Nitazoxanida				0.110	0.013
Albendazol				1.592	0.037
Metronidazol				0.216	1.228

2.5. SÍNTESIS DE BENCIMIDAZOLES

2.5.1. El Bencimidazol

La estructura del bencimidazol consiste de un sistema anular bicíclico, en donde un anillo de benceno se encuentra unido a las posiciones 4 y 5 de un anillo de imidazol. La molécula de bencimidazol se encuentra en equilibrio tautomérico protónico, donde el protón de la posición 1 migra a la posición 3. Cuando el anillo bencenoide está sustituido asimétricamente, el equilibrio tautomérico se establece entre dos tautómeros con una relación del sustituyente 1,5 y 1,6 (Figura 12).¹²

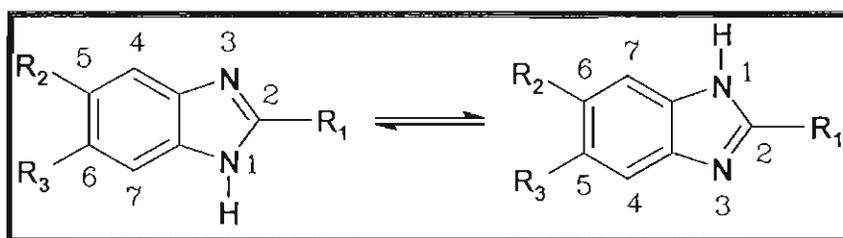


Figura 12. Tautomerismo del anillo de Bencimidazol.

Sin embargo, en bencimidazoles *N*-sustituídos el tautomerismo no es posible y cuando el anillo bencenoide está sustituido asimétricamente se pueden aislar y caracterizar dos compuestos distintos, isómeros no equivalentes. Así, la *N*-metilación del 5(6)-clorobencimidazol produce una mezcla de metilbencimidazoles, con la relación estructural 1,5 y 1,6 (Figura 13).¹²

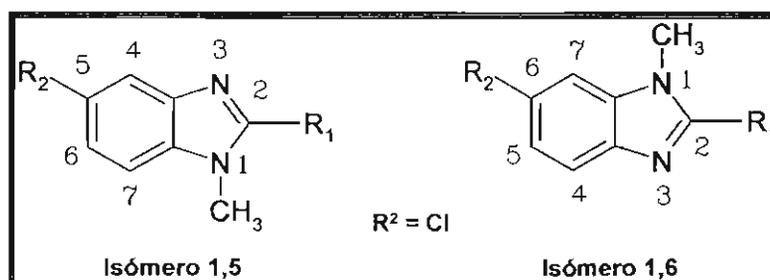


Figura 13. Isómeros del 1-metilbencimidazol.

2.5.2. Método de Phillips

Es el método más importante de síntesis de una amplia variedad de bencimidazoles 2-H o 2-alkilsustituídos por el método de Phillips, en la cual se ciclocondensa una *o*-feniléndiamina con ácidos carboxílicos o sus derivados. El bencimidazol puede hacerse con un 80% de rendimiento colocando una mezcla de *o*-feniléndiamina y ácido fórmico a temperatura ambiente por 5 días. A 100 °C el proceso toma lugar en 2 horas. Las condiciones de reacción son esenciales para obtener buenos rendimientos.³⁸

Las condiciones más utilizadas en el método de Phillips consiste en calentar los reactivos en presencia de ácido clorhídrico 4 M (Figura 14).³⁸

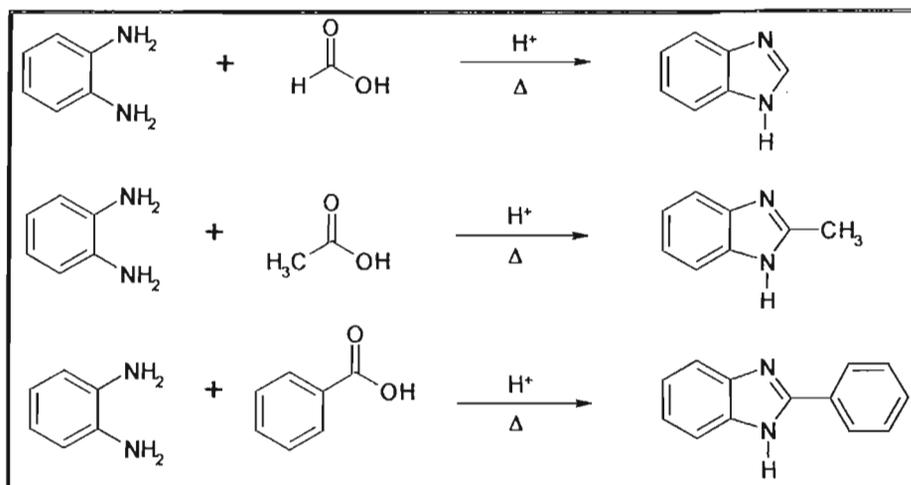


Figura 14. Método de Phillips para la síntesis de Bencimidazoles.

2.5.3. Síntesis de Bencimidazoles a partir de *N*-Acil o feniléndiaminas

Otra de las rutas más comunes de síntesis de bencimidazoles emplea un compuesto de tipo *o*-ariléndiamina, en el cual uno de los grupos amino ha sido acilado o tioacilado, se cicla por termólisis, o con ácido acuoso o etanólico, o cloruro de fosforilo (Figura 15), o por calentamiento bajo reflujo en etanol.³⁸

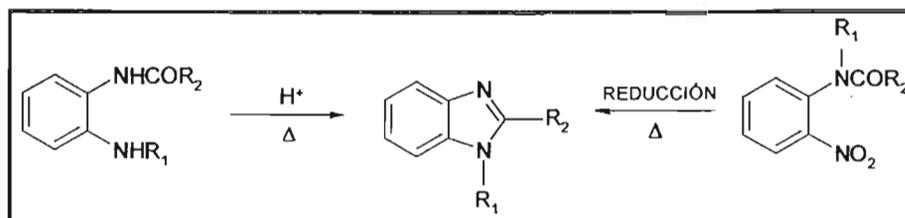


Figura 15. Síntesis de Bencimidazoles.

Esta técnica se extiende al uso de *o*-nitroacilaminoarenos, los cuales ciclan a medida que se reduce el grupo NO₂ química o catalíticamente. Los rendimientos generalmente son buenos y en ocasiones superiores a los obtenidos de la reacción entre una *o*-aminoanilina y un ácido carboxílico (Figura 15).³⁸

2.5.4. Síntesis de *N*-Metilbencimidazoles

La síntesis de *N*-metilbencimidazoles se puede lograr cuando una vez obtenido el anillo bencimidazólico, éste se hace reaccionar con yoduro de metilo en medio básico, generando una mezcla de isómeros en relación 1:1 (Figura 16).³⁹

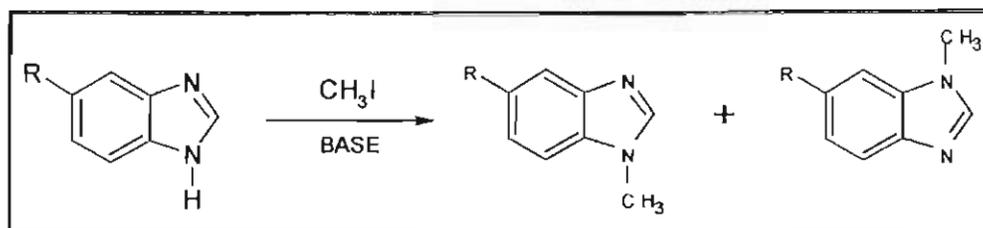


Figura 16. Metilación de Bencimidazoles 5(6)-sustituídos.

La mezcla de isómeros sólo se obtiene cuando los sustituyentes en 5 y 6 son diferentes, de lo contrario cuando la sustitución del bencimidazol es simétrica, la metilación directa lleva a la formación de un solo derivado.

La *N*-metilación directa del anillo bencimidazólico utilizando acetales dimetilados de dimetilformamida bajo condiciones anhidras, representa otra alternativa cuando la molécula de bencimidazol es simétrica (Figura 17).⁴⁰

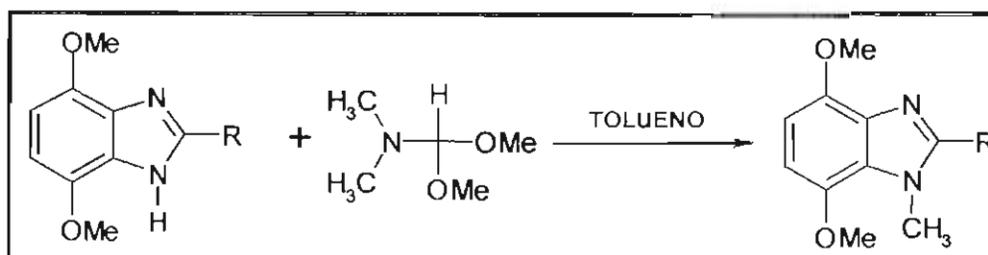


Figura 17. Metilación de Bencimidazoles con acetales dimetilados.

Esta técnica puede resultar con gran ventaja, ya que se alcanzan mayores rendimientos que cuando se usa sulfato de dimetilo o yoduro de metilo en medio básico; además, la preparación del acetal se realiza sin dificultad o incluso están disponibles comercialmente.

La reacción de metilación vía aminación reductiva usando paraformaldehído y cianoborohidruro de sodio en ácido acético es otra alternativa atractiva para la formación de 1-metilbencimidazoles con rendimientos aceptables (Figura 18).⁴¹

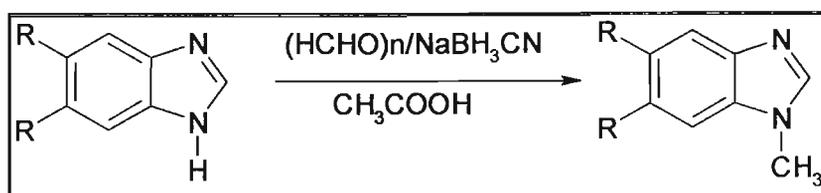


Figura 18. Metilación de Bencimidazoles vía aminación reductiva.

2.6. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE CARBOXAMIDAS

El grupo funcional amida ($-\text{CONR}_2$) constituye la base de la estructura de las proteínas. Muchos compuestos de interés farmacéutico y productos naturales poseen un grupo amida como parte de su estructura.⁴² Carboxamida es el término utilizado como sufijo en la formación de la nomenclatura sistemática para denotar el grupo $-\text{CONH}_2$.

La elaboración de estos compuestos resulta un poco difícil cuando directamente se hacen reaccionar ácidos carboxílicos y aminas, debido a que la reacción ácido-base entre ellos da como resultado la formación de la sal⁴³. Entre los procedimientos reportados para la preparación de las carboxamidas se han adoptado las condensaciones entre ácidos carboxílicos y aminas, vía la activación del ácido. Estas reacciones involucran el aislamiento o formación *in situ* de derivados reactivos de ácidos, por ejemplo halogenuros de ácido, anhídridos, amidas activadas y ésteres activados.⁴⁴

2.6.1. A partir de Halogenuros de acilo

El método más común consiste en la reacción de halogenuros de acilo con amoníaco o aminas. Su preparación involucra el empleo de dos equivalentes de la amina o alguna otra base como piridina o NaOH (reacción de Schotten-Bauman) para captar el ácido producido en la reacción. En general,

la reacción entre el cloruro de acilo y la amina tiene lugar a temperatura ambiente y produce un buen rendimiento (Figura 19).⁴⁵

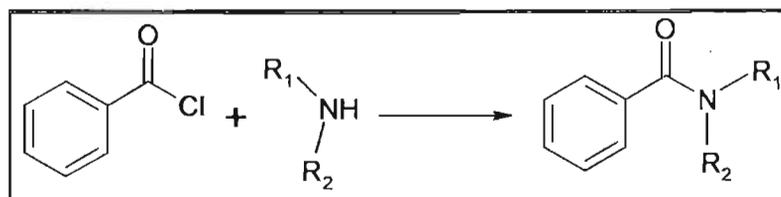


Figura 19. Formación de Carboxamidas a partir de Halogenuros de Ácido.

2.6.2. A partir de Ésteres

Los ésteres sufren sustitución nucleofílica en sus carbonos acílicos cuando se les trata con amoníaco o con aminas primarias y secundarias. Estas reacciones ocurren con más lentitud que las de los cloruros y anhídridos de acilo, por lo que generalmente no se utiliza (Figura 20).⁴⁴

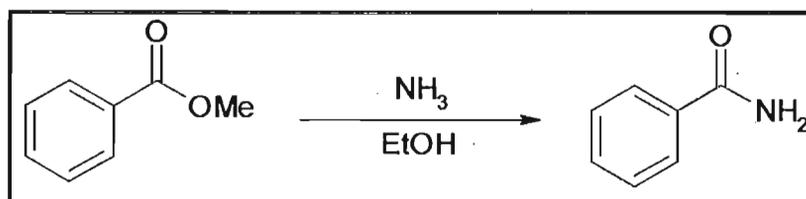


Figura 20. Formación de Carboxamidas a partir de Ésteres.

2.6.3. A partir de Ácidos utilizando un agente acoplante

Un método excelente para la preparación de amidas a partir de aminas y ácidos carboxílicos utiliza *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) como reactivo activante. Los rendimientos son generalmente elevados y las condiciones sumamente suaves como para permitir la utilización de este reactivo muy costoso en muchas síntesis de péptidos complejos (Figura 21).^{44,45}

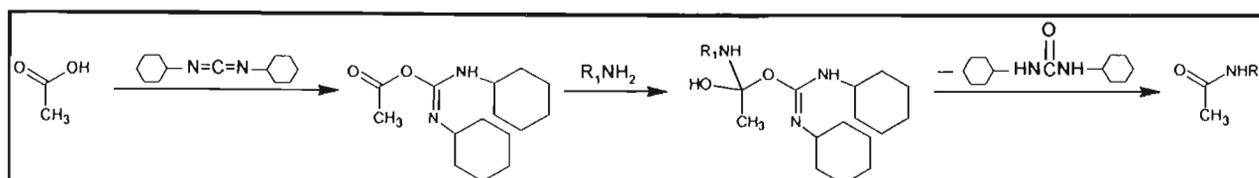


Figura 21. Formación de Carboxamidas utilizando DCC como agente acoplante.

Otro método de preparación de carboxamidas, utilizando un agente acoplante, consiste en la reacción de ácidos carboxílicos con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI). Se forma un intermediario imidazólico, al cual, posteriormente se le adiciona la amina, para finalmente obtener la amida correspondiente. Este método reporta buenos rendimientos y es relativamente fácil (Figura 22).⁴⁷

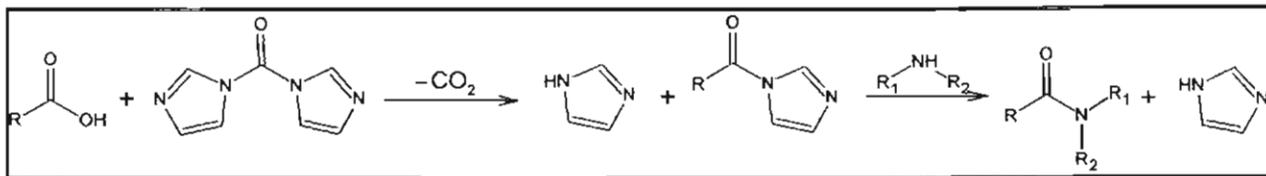


Figura 22. Formación de Carboxamidas utilizando CDI como agente acoplante.

2.7. NITRACIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS Y TIAZOLES.

La nitración de tiazol con la mayoría de los agentes nitrantes da el derivado 5 sustituido más que el 4, la posición 2 no se nitra.⁴⁸

Para sustratos de baja reactividad, el reactivo más común es una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico concentrados, pero para sustratos activados, la reacción puede llevarse a cabo con ácido nítrico concentrado, en agua, en ácido acético o en anhídrido acético.⁴⁸

El 2-aminotiazol se nitra en la posición 5 con buenos rendimientos utilizando la mezcla sulfonítrica (Figura 23).⁴⁷

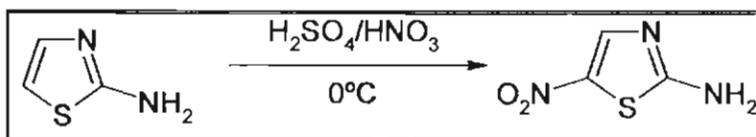


Figura 23. Nitración de Tiazoles utilizando mezcla sulfonítrica.

Si las condiciones anhidras son requeridas, la nitración puede ser efectuada con N_2O_5 , el cual remueve el agua formada en la reacción. La nitración en medio alcalino puede ser acompañada con ésteres de ácido nítrico, como el nitrato de etilo ($EtONO_2$) (Figura 24). Este reactivo también se emplea con ácidos de Lewis.⁴³

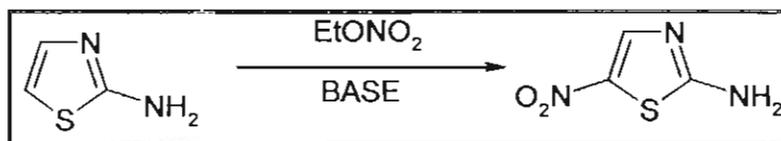


Figura 24. Nitración de Tiazoles utilizando Nitrato de Etilo.

Otros agentes nitrantes son NaNO₂ y ácido trifluoroacético, N₂O₄ (el cual da buenos rendimientos con hidrocarburos policíclicos), VO(NO₃)₃, y sales de nitronio, así como NO₂⁺BF₄⁻, NO₂⁺PF₆⁻, y NO₂⁺CF₃SO₃⁻. Una mezcla de HNO₃/anhídrido acético en una β-ceolita da una buena selectividad en la orientación 5 en la nitración (**Figura 25**).⁴⁸

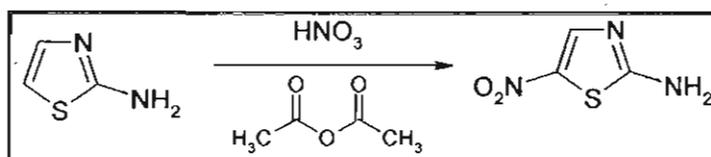


Figura 25. Nitración de Tiazoles utilizando ácido nítrico y anhídrido acético.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aún cuando en la actualidad existen fármacos disponibles para combatir enfermedades causadas por helmintos y protozoarios, algunos estudios relacionados con su toxicidad, baja absorción y la generación de resistencia hacia los fármacos de elección, hacen indispensable el continuar con la búsqueda de moléculas con actividad antiparasitaria.

Hoy se conoce por nuestro grupo de investigación, que los derivados 1-metilbencimidazólicos, entre ellos las 2-metiltio-5(6)-carboxamidas, han mostrado importante actividad antiprotozoaria. También se sabe que la Nitazoxanida, cuyo farmacóforo reside en el la parte de la amida formada por el 2-amino-5-nitrotiazol, es un antiparasitario de amplio espectro. Además, está establecido que un método para el diseño de fármacos es la asociación de compuestos diferentes a través de enlaces covalentes.

Con estas premisas en mente surge el siguiente planteamiento:

¿Es posible que la combinación de las moléculas 5(6)-cloro-1-metil-2-metiltio-1H-bencimidazol y 2-amino-5-nitrotiazol, unidas a través de un enlace carboxamida, genere una molécula híbrida que potencie el efecto antiparasitario de sus precursores?

De esta forma se pretende sintetizar tres nuevos compuestos bencimidazólicos considerando las siguientes variables:

- 1) La introducción de un grupo farmacofórico tipo 5-nitrotiazol (derivado de la Nitazoxanida), mediante un enlace covalente de tipo carboxamida, en la posición 5 ó 6.
- 2) Un grupo metiltio en la posición 2, para mejorar las características de solubilidad y por tanto la absorción del fármaco, basándose en el diseño del Triclabendazol.
- 3) Un átomo de cloro en la posición 5 para definir los requerimientos estereoelectrónicos e impedir la desactivación metabólica.
- 4) La introducción de un grupo metilo en la posición 1 con la finalidad de evitar el efecto tautomérico que sufre la molécula del bencimidazol e impedir la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares. De esta forma se pretende tener regioisómeros que al evaluarse frente a *G. intestinalis* y *T. vaginalis*, hagan ver cuál regioisómero es más activo y

cómo varía la actividad con respecto a sus análogos 1H-bencimidazoles que han mostrado actividad antihelmíntica; además, incrementar la solubilidad para mejorar la absorción.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos híbridos entre el 2-amino-5-nitrotiazol y el bencimidazol unidos por un enlace carboxamido tendrán mejor actividad antiprotozoaria contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis* que la Nitazoxanida y los 1*H*- y 1-metilbencimidazoles del tipo carboxamida ya conocidos.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Sintetizar la carboxamida 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida, sus análogos 1-metilados y evaluar su actividad antiprotozoaria.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- 5.2.1. Síntesis de los compuestos: 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**12**), 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**19**), y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**20**) a partir de sus ácidos carboxílicos correspondientes.
- 5.2.2. Síntesis de los ácidos: 6-cloro-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**10**), 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**15**), y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (**16**).
- 5.2.3. Purificar y caracterizar los intermediarios y productos finales, mediante el empleo de las diferentes técnicas de separación y purificación convencionales, así como de técnicas espectroscópicas con la finalidad de comprobar su estructura química.
- 5.2.4. Evaluar la actividad antiprotozoaria de las carboxamidas híbridas **12**, **19** y **20**, así como la de sus precursores inmediatos **11**, **17** y **18**, utilizando como modelos de protozoarios a *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

- 5.2.5. Analizar y comparar los resultados de la actividad antiparasitaria con sus análogos 1H-bencimidazoles y otros bencimidazoles 1-metilados reportados por nuestro grupo de investigación.

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para una mejor comprensión de las actividades llevadas a cabo, el presente trabajo se divide en dos partes: la primera comprende la secuencia de síntesis que llevó a la preparación de los compuestos de interés, así como una breve descripción de la misma; y la segunda, que presenta la descripción de los ensayos preliminares de la actividad biológica a las que se sometieron los compuestos sintetizados. Las metodologías involucradas para la preparación de cada uno de los intermediarios y productos finales, así como la comprobación estructural realizada por métodos espectroscópicos, se presentan en el Anexo A.

6.1. SECUENCIA SINTÉTICA PARA LA PREPARACIÓN DE LAS TRES CARBOXAMIDAS BENCIMIDAZÓLICAS HÍBRIDAS

La síntesis de las carboxamidas **12**, **19** y **20** se dividió en 3 partes. Primero se obtuvo el intermediario 6-cloro-2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**8**), como se muestra en el **Esquema 1**, el cual se utilizó como precursor común para sintetizar **12**, **19** y **20**. En una segunda etapa se preparó la carboxamida **12** según el procedimiento que se muestra en el **Esquema 2**. Finalmente, siguiendo la misma ruta de síntesis empleada para **12**, en la tercera etapa se sintetizaron los compuestos **19** y **20** (**Esquema 3**).

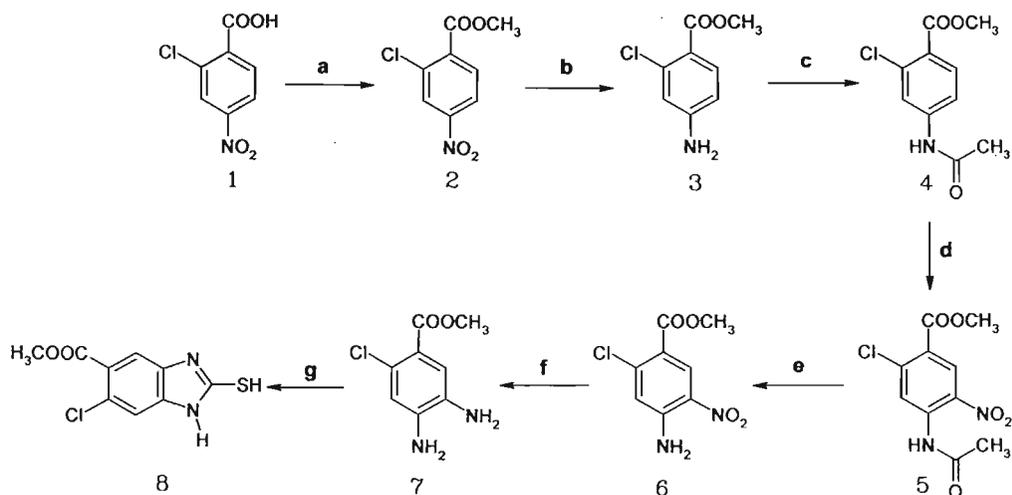
Para obtener el intermediario **8** se partió del ácido 2-cloro-4-nitrobenzoico comercial (**1**), el cual se esterificó con sulfato de dimetilo en medio básico para dar el 2-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (**2**). La reducción catalítica de **2** llevó al 4-amino-2-clorobenzoato de metilo (**3**). Este compuesto se acetiló inmediatamente y se trató con ácido nítrico a bajas temperaturas (0–5°C) para dar el 4-acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (**5**). La posterior hidrólisis selectiva del grupo acetamido y la reducción del grupo nitro por medio de una hidrogenación catalítica a temperatura ambiente, generó el 4,5-diamino-2-clorobenzoato de metilo (**7**), que inmediatamente se ciclocondensó con disulfuro de carbono en medio básico para dar el par de tautómeros del 2-mercapto-6-clorobencimidazol-5-carboxilato de metilo, el intermediario requerido **8**.

Para preparar **12**, el precursor **8** se trató con un equivalente de CH₃I en medio básico, procedimiento por el cual la metilación selectiva del azufre llevó al 6-cloro-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**9**), el cual se sometió a una hidrólisis alcalina para dar el ácido 6-cloro-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**10**). El ácido **10** se trató con cloruro de tionilo en exceso para dar el cloruro correspondiente, cloruro de 6-cloro-2-(metiltio)-1*H*-

bencimidazol-5-carbonilo, el cual se trató con 2-aminotiazol y dio origen a la 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**11**). Finalmente, la nitración de **11** con una mezcla de anhídrido acético y ácido nítrico fumante permitió obtener el compuesto esperado, 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**12**), como mezcla de tautómeros.

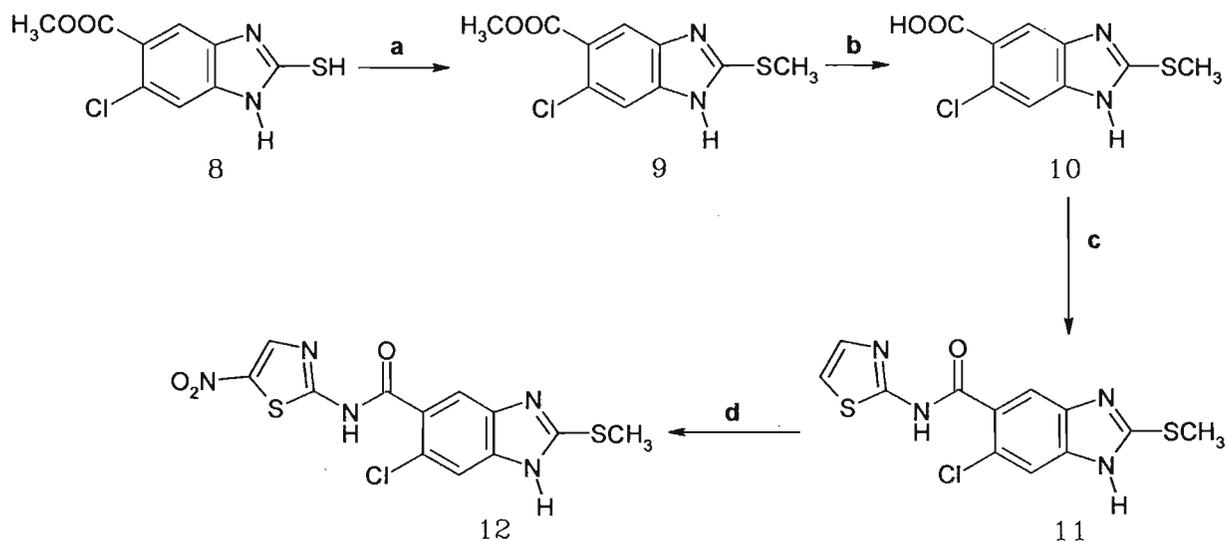
En la tercera etapa del trabajo sintético, el intermediario **8** se trató con 2 equivalentes de CH₃I en medio básico, lo que originó la mezcla de isómeros: 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**13**) y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (**14**). Dichos isómeros se separaron por cromatografía en columna flash. A los isómeros **13** y **14**, por separado, se les sometió a la hidrólisis básica del éster para dar los correspondientes ácidos bencimidazólicos: 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**15**) y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (**16**). Posteriormente, cada ácido por separado se trató con cloruro de tionilo y se obtuvieron los correspondientes cloruros de ácido: cloruro de 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo y cloruro de 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carbonilo. El posterior tratamiento de cada cloruro de ácido con 2-aminotiazol dio las carboxamidas correspondientes: 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**17**) y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**18**). Finalmente, **17** y **18** se nitraron de igual forma que **11** y se obtuvieron las nitrocarboxamidas 1-metiladas: 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**19**) y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**20**).

Esquema 1. Secuencia de síntesis para la preparación del compuesto intermediario **8**



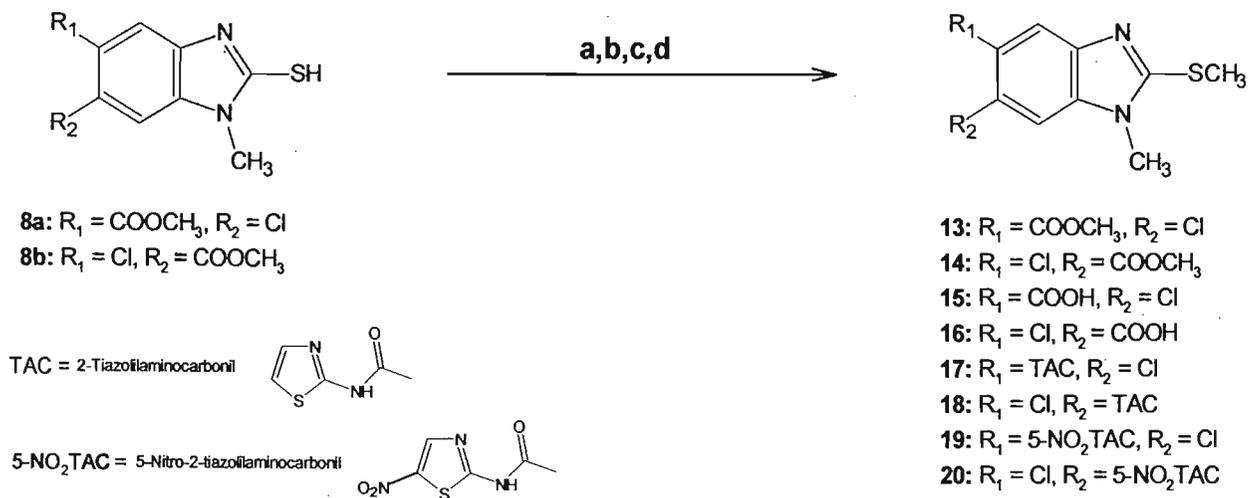
(a) (CH₃)₂SO₄, DMF/NaHCO₃, calor; (b) H₂, Ni-Raney, MeOH; (c) Ac₂O; (d) HNO₃, 5°C; (e) NaOH/MeOH; (f) H₂, Ni-Raney, MeOH/AcOEt; (g) CS₂, EtOH, H₂O, KOH, calor.

Esquema 2. Secuencia de Síntesis de la Formación del Compuesto 12



(a) 1 eq. $\text{CH}_3\text{I}/\text{KOHAc}$, EtOH; (b) KOH/MeOH; (c) SOCl_2 , 2-Aminotiazol, Acetonitrilo, NaHCO_3 ; (d) HNO_3 , Ac_2O .

Esquema 3. Secuencia de síntesis para obtener los compuestos 19 y 20



(a) 2 eq. CH_3I , KOH, H_2O , EtOH; (b) KOH, MeOH; (c) 1) SOCl_2 , 2) 2-aminotiazol, CH_3CN , NaHCO_3 ; (d) HNO_3 , Ac_2O .

6.2. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD BIOLÓGICA

6.2.1. Evaluación *in vitro* de la actividad antiprotozoaria contra *G. intestinalis*

El ensayo biológico para la determinación de la actividad antiprotozoaria se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del IMSS, Centro Médico Siglo XXI, bajo la dirección de la Dra. Lilián Yépez Mulia. Para estos ensayos se siguió el método descrito por Cedillo-Rivera y Muñoz (1992)^{50,55}, con algunas modificaciones. Brevemente se incubaron de 5×10^4 trofozoítos/mL de *G. intestinalis* a 37°C por 48 h con diferentes concentraciones del compuesto prueba (0.5, 0.1, 0.050, 0.010, 0.005 µg/mL); paralelamente, también se incubaron Albendazol, Metronidazol y Nitazoxanida a las mismas concentraciones como controles positivos, así como un control negativo donde sólo se incorporó el inóculo correspondiente a 5×10^4 trofozoítos/mL con el disolvente utilizado (DMSO). Después de este periodo de tiempo, los trofozoítos se sembraron en medio de cultivo fresco y se incubaron a 37°C por 48 h. Al final de este periodo se contaron los trofozoítos y finalmente se analizaron los datos por el método estadístico Probit.

6.2.2. Evaluación *in vitro* de la actividad antiprotozoaria contra *T. vaginalis*

Para el ensayo de la actividad antiprotozoaria se llevó a cabo el mismo procedimiento que el utilizado para *G. intestinalis*, en el mismo Centro Médico. Se incubaron de 5×10^4 trofozoítos/mL de *T. vaginalis* a 37°C por 48 h con diferentes concentraciones del compuesto prueba (0.5, 0.1, 0.050, 0.010, 0.005 µg/mL); paralelamente, también se incubaron Albendazol, Metronidazol y Nitazoxanida a las mismas concentraciones como controles positivos, así como un control negativo donde sólo se incorporó el inóculo correspondiente a 5×10^4 trofozoítos/mL con el disolvente utilizado (DMSO). Después de este periodo de tiempo, los trofozoítos se sembraron en medio de cultivo fresco y se incubaron a 37°C por 48 h. Al final de este periodo, se contaron los trofozoítos y finalmente se analizaron los datos por el método estadístico Probit.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. RESULTADOS DE LA PARTE QUÍMICA

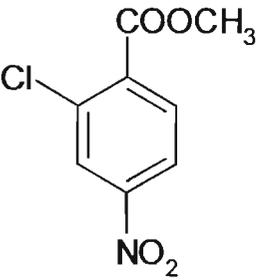
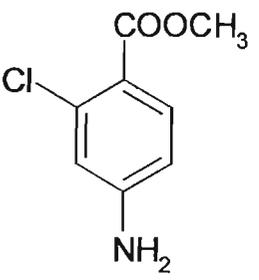
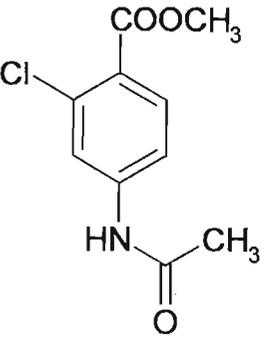
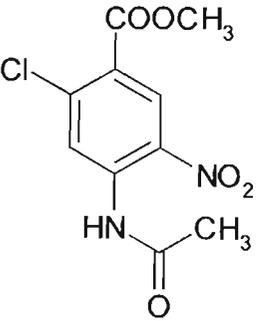
En la **Tabla 6** se presentan las constantes físicas de los intermediarios y los productos finales sintetizados en este trabajo así como los rendimientos. En la **Tabla 7** se resume las constantes espectroscópicas de IR, RMN ^1H y espectrometría de masas así como las asignaciones realizadas para cada compuesto.

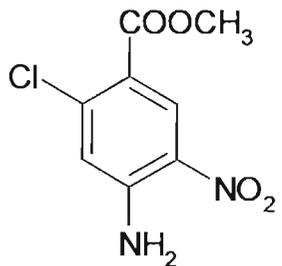
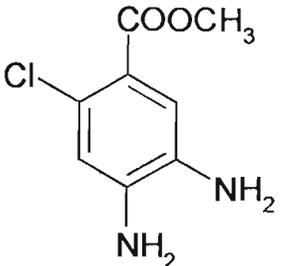
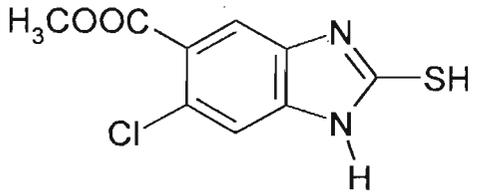
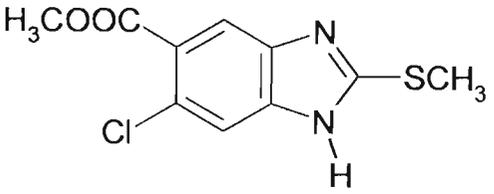
Tabla 6. Constantes físicas de los compuestos sintetizados

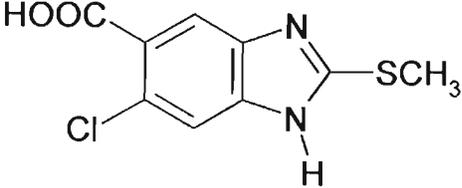
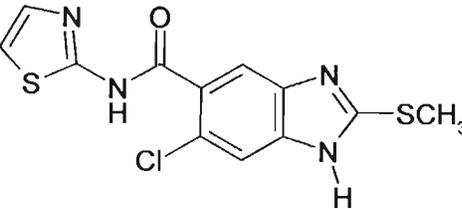
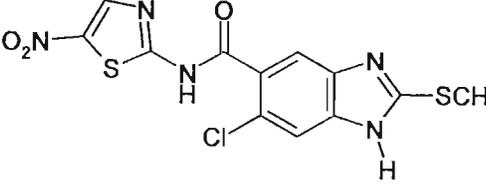
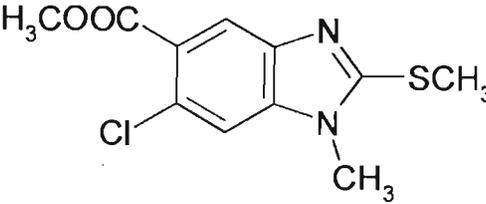
Compuesto	Rendimiento Crudo (%)	Rendimiento Recristalizado (%)	Punto de fusión (°C)	Solvente	Índice de refracción
2	97.61	93.12	76 – 76.5	Etanol	0.64 (I)
3	99.86	92.34	108.5 – 109.5	Agua	0.55 (I)
4	96.86	85.45	114.8 – 115.4	Tolueno	0.38 (I)
5	100.00	80.67	138.9 – 139.7	Acetato de etilo	0.72 (I)
6	85.54	92.13	219.9 – 221	Etanol	0.64 (I)
7	98.92	—	—	—	0.23 (I)
8	83.63	86.58	250.1 – 251	Etanol – DMF	0.33 (I)
9	96.06	86.42	91.4 – 92.3	Etanol	0.38 (I)
10	95.50	88.62	220.1 – 221	Etanol	0.06 (I)
11	71.13	71.57	224.3 – 225.1	Etanol	0.36 (III)
12	80.23	64.82	217.5 – 218.5	Etanol – DMF	0.47 (IV)
13	44*	86.35	113.3 – 114.3	Etanol	0.39(II)
14	30*	93.83	125.6 – 127	Etanol	0.43(II)
15	51.44	92.11	252 – 253	Etanol	0.02(I)
16	92.28	90.47	300.8 – 301.1	Etanol	0.02(I)
17	50.14	98.51	307 – 308	Acetato de etilo	0.46(I)
18	62.89	97.38	250 – 251	Acetato de etilo	0.50(I)
19	67.87	58.35	275.7 – 276.7	Etanol – DMF	0.30(I)
20	70.08	33.15	259.6 – 260.4	Etanol – DMF	0.31(I)

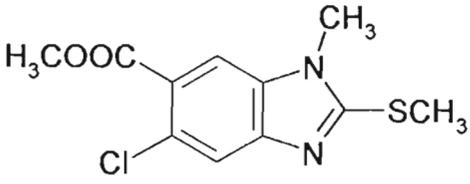
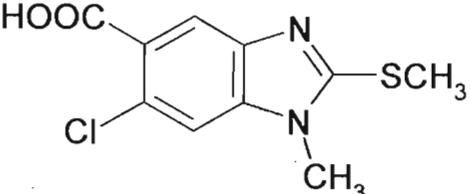
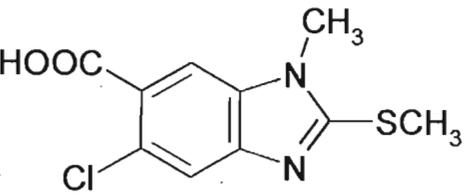
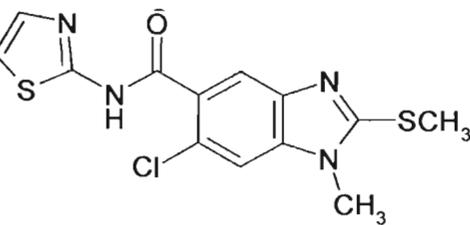
*Obtenidos por cromatografía en columna flash.

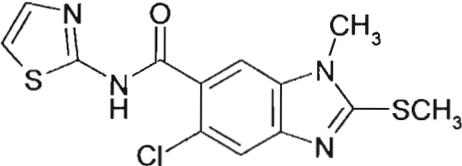
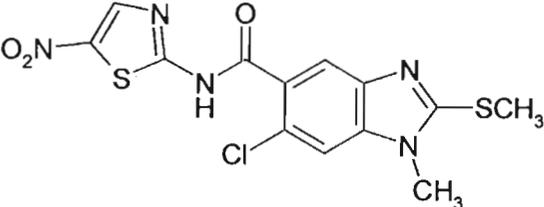
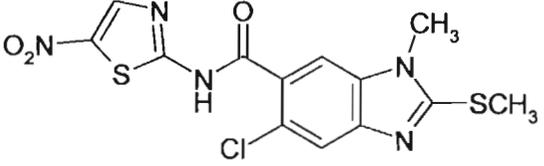
Tabla 7. Constantes espectroscópicas de los compuestos sintetizados.

COMPUESTO	SEÑALES
<p>2-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (2)</p> 	<p>Espectro 1, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3099 (C-H Aromático), 2965 (-CH₃), 1719 (C=O de éster), 1527 y 1356 (Ar-NO₂), 1297 (C-O-C, de éster),</p> <p>Espectro 2, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 3.995 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.978 (dd, $J_1=8.7$, $J_2=0.3$ Hz, 1H, H-6); 8.167 (dd, $J_1=8.7$ Hz, $J_2=2.1$ Hz, 1H, H-5); 8.317 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, H-3).</p> <p>Espectro 3, EM: IE/ID m/z: 215 (M⁺, 32%); 217 (M+2, 10%); 184 (M-31, 100%).</p>
<p>4-Amino-2-clorobenzoato de metilo (3)</p> 	<p>Espectro 4, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3426 y 3336 (Ar-NH₂), 3221 (C-H Aromático), 2951 (-CH₃), 1702 (C=O de éster), 1264 (C-O-C, de éster).</p> <p>Espectro 5, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 3.714 (s, 3H, CH₃ de éster); 6.171 (sa, 2H, int. con D₂O, NH₂); 6.496 (dd, $J_1=8.7$ Hz, $J_2=2.4$ Hz, 1H, H-5); 6.617 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-3); 7.626 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-6).</p> <p>Espectro 6, EM: IE/ID m/z: 185 (M⁺, 55%); (M+2, 18%); 154 (M-31, 100%).</p>
<p>4-Acetamido-2-clorobenzoato de metilo (4)</p> 	<p>Espectro 7, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3308 (NH), 3106 (C-H Aromático), 2947 (-CH₃), 1724 (C=O de éster), 1678 (C=O de amida), 1592 (N-C=O), 1251 (C-O-C, de éster).</p> <p>Espectro 8, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 2.208 (s, 3H, CH₃CO); 3.910 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.499 (dd, $J_1=8.7$ Hz, $J_2=2.1$ Hz, 1H, H-5); 7.713 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, H-3); 7.791 (sa, 1H, int. con D₂O, -NH-); 7.841 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-6).</p> <p>Espectro 9, EM: IE/ID m/z: 227 (M⁺, 39%); 229 (M+2, 13%); 185 (M-42, 68%); 154 (M-73, 100%).</p>
<p>4-Acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (5)</p> 	<p>Espectro 10, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3343 (R-NH-C=O), 3123 (C-H Aromático), 2952 (-CH₃), 1732 (C=O de éster), 1529 y 1335 (Ar-NO₂), 1230 (C-O-C de éster).</p> <p>Espectro 11, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 2.337 (s, 3H, CH₃CO); 3.963 (s, 3H, OCH₃ de éster); 8.824 (s, 1H, H-3); 9.054 (s, 1H, H-6); 10.523 (s, 1H, int. con D₂O, -NH-).</p> <p>Espectro 12, EM: IE/ID m/z: 272 (M⁺, 17%); 274 (M+2, 26%); 230 (M-42, 100%); 226 (M-46, 17%).</p>

<p>4-Amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6)</p> 	<p>Espectro 13, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3453 y 3348 (Ar-NH₂), 3245 (C-H Aromático), 2950 (-CH₃), 1707 (C=O de éster), 1627 (-NH₂), 1534 (Ar-NO₂), 1369 (C-O-C de éster).</p> <p>Espectro 14, RMN ¹H: (TMS, acetona-<i>d</i>₆) ppm: 3.856 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.218 (s, 1H, H-3); 7.562 (sa, 2H, int. con D₂O, -NH₂); 8.705 (s, 1H, H-6).</p> <p>Espectro 15, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 230 (M⁺, 77%); 232 (M+2, 24%), 199 (M-31, 100%).</p>
<p>4,5-Diamino-2-clorobenzoato de metilo (7)</p> 	<p>Espectro 16, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3403.55 y 3324.89 (Ar-NH₂), 3081.16 (C-H, Aromático); 2952 (-CH₃), 1716 (C=O de éster), 1362 (C-O-C, de éster), 1534.07 (Ar-NO₂), 1641.09 (-NH₂).</p> <p>Espectro 17, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 3.704 (s, 3H, CH₃ de éster); 4.782 (sa, 1H, int. con D₂O, -NH₂); 5.487 (sa, 1H, int. con D₂O, -NH₂); 6.537 (s, 1H, H-3); 7.104 (s, 1H, H-6).</p> <p>Espectro 18, EM: IE/CG <i>m/z</i>: 200 (M⁺, 100%); 202 (M+2, 33%); 169 (M-31, 90%).</p>
<p>6-Cloro-2-mercapto-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (8)</p> 	<p>Espectro 19, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3241 (Ar-NH-R), 3042 (C-H Aromático), 2912 (-CH₃), 1704 (C=O de éster), 1632 (C=N), 1253 (C=S), 1182 (C-O-CH₃ de éster).</p> <p>Espectro 20, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 3.827 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.216 (s, 1H, H-7); 7.522 (s, 1H, H-4); 12.898 (s, 2H, int. con D₂O, N-H, de la tiona).</p> <p>Espectro 21, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 242 (M+100%); 244 (M+2, 37%); 211 (M-31, 72%).</p>
<p>6-Cloro-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (9)</p> 	<p>Espectro 22, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3319 (Ar-NH-R), 2839 (-CH₃), 3010 (C-H Aromático), 1710.04 (C=O de éster), 1624.49 (C=N), 1292 (S-CH₃), 1186.85 (C-O-C de éster).</p> <p>Espectro 23, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 2.712 (s, 3H, -SCH₃); 3.839 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.571 (s, 1H, H-7); 7.870 (s, 1H, H-4); 8.255 (s, 2H, int. con D₂O, N-H).</p> <p>Espectro 24, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 256 (M⁺, 100%); 258 (M+2, 36%); 225 (M-31, 66%).</p>

<p>Ácido 6-cloro-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxílico (10)</p> 	<p>Espectro 25, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3497 (Ar-NH-R), 3257.84 (C-H Aromático), 2933 (-CH₃), 2464.96 (HOOC-), 1706 (C=O); 1617.45 (C=N).</p> <p>Espectro 26, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.695 (s, 3H, -SCH₃); 7.548 (s, 1H, H-7); 7.853 (s, 1H, H-4); 12.953 (sa, 2H, int. con D₂O, O-H de ácido y NH).</p> <p>Espectro 27, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 242 (M⁺, 100%); 244 (M+2, 34%), 209 (M-33, 65%).</p>
<p>6-Cloro-2-(metiltio)-<i>N</i>-(1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxamida (11)</p> 	<p>Espectro 28, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3109 (Ar-NH-R, de amida), >3000 (C-H Aromático), 2849 (-CH₃), 1665 (C=O de amida).</p> <p>Espectro 29, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.702 (s, 3H, -SCH₃); 7.289 (sd, 1H, H-4'); 7.524 (sd, 1H, H-5'); 7.595 (s, 1H, H-7); 7.670 (s, 1H, H-4); 12.632 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida).</p> <p>Espectro 30, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 324 (M⁺, 0.7%); 326 (M+2, 0.11%); 289(M-35, 70%); 225 (M-99,100%).</p>
<p>6-Cloro-2-(metiltio)-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxamida (12)</p> 	<p>Espectro 31, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3112 (Ar-NH-R), >3000 (C-H Aromático), 1724 (C=O de amida), 1539.75 y 1352.51 (Ar-NO₂), 1303 (S-CH₃).</p> <p>Espectro 32, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.636 (s, 3H, -SCH₃); 7.940 (s, 1H, H-4); 7.863 (s, 1H, H-7); 8.698 (s, 1H, H-4'); 12.995 (s, 1H, int. con D₂O); 13.084 (s, 1H, int. con D₂O); 13.746 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida). Más otras señales correspondientes a impurezas: 2.719 (s, 3H); 2.860 (s, 3H); 2.879 (s, 3H).</p> <p>Espectro 33, EM: FAB+1 <i>m/z</i>: 370 (M+1, 7.5%); 225 (M-145, 40%); 154 (100%).</p>
<p>6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13)</p> 	<p>Espectro 34, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3001 (C-H Aromático), 2928 (-CH₃), 1724 (C=O de éster), 1620 (C=N), 1237 (C-O-C de éster).</p> <p>Espectro 35, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 2.748 (s, 3H, SCH₃); 3.690 (s, 3H, NCH₃); 3.867 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.757 (s, 1H, H-7); 7.963 (s, 1H, H-4).</p> <p>Espectro 36, EM: IE/ID <i>m/z</i>: 270 (M⁺, 100%); 272 (M+2, 38%); 239 (M-31, 47%).</p>

<p>5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1<i>H</i>-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (14)</p> 	<p>Espectro 37, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: >3000 (C-H Aromático), 2925 (-CH₃), 1722 (C=O de éster), 1616 (C=N), 1269 (C-O-C de éster).</p> <p>Espectro 38, RMN ¹H: (TMS, CDCl₃) ppm: 2.784 (s, 3H, SCH₃); 3.700 (s, 3H, NCH₃); 3.875 (s, 3H, CH₃ de éster); 7.977 (s, 1H, H-7); 7.684 (s, 1H, H-4).</p> <p>Espectro 39, EM: IE/ID m/z: 270 (M⁺, 100%); 272 (M+2, 36%); 239 (M-31, 47%).</p>
<p>Ácido 6-cloro-1-metil-2-metiltio-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxílico (15)</p> 	<p>Espectro 40, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3450 (HO-), >3000 (C-H Aromático), 2933 y 256 (-CH₃), 1699 (C=O), 1613.95 (C=N), 1255 (S-CH₃).</p> <p>Espectro 41, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.719 (s, 3H, SCH₃); 3.662 (s, 3H, NCH₃); 7.703 (s, 1H, H-7); 7.929 (s, 1H, H-4); 13.191 (sa, 1H, int. con D₂O, O-H de ácido).</p> <p>Espectro 42, EM: IE/ID m/z: 256 (M⁺, 100%); 258 (M+2, 36%); 223 (M-33, 66%).</p>
<p>Ácido 5-cloro-1-metil-2-metiltio-1<i>H</i>-bencimidazol-6-carboxílico (16)</p> 	<p>Espectro 43, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3433 (HO-), >3000 (C-H Aromático), 1479 (-CH₃), 1699 (C=O), 1614 (C=N), 1350 (C-O-H), 1266 (C-S).</p> <p>Espectro 44, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.723 (s, 3H, SCH₃); 3.679 (s, 3H, NCH₃); 7.629 (s, 1H, H-4); 7.950 (s, 1H, H-7); 13.109 (sa, 1H, int. con D₂O, O-H de ácido).</p> <p>Espectro 45, EM: IE/ID m/z: 256 (M⁺, 100%); 258 (M+2, 36%); 223 (M-33, 60%).</p>
<p>6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-<i>N</i>-(1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxamida (17)</p> 	<p>Espectro 46, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3422 (NH- de amida), 3084 (C-H Aromático), 2930 (-CH₃), 1665 (C=O de amida), 1307 (Ar-N-R).</p> <p>Espectro 47, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.733 (s, 3H, -SCH₃); 3.695 (s, 3H, NCH₃); 7.250 (d, <i>J</i>=3.3 Hz, 1H, H-4'); 7.505 (d, <i>J</i>=3.6 Hz, 1H, H-5'); 7.750 (s, 2H, H-4, H-7); 12.572 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida).</p> <p>Espectro 48, EM: FAB+1 m/z: 339 (M+1, 33%).</p>

<p>5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-<i>N</i>-(1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-6-carboxamida (18)</p>	<p>Espectro 49, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3406 (NH- de amida), 3057 (C-H Aromático), 2928 (-CH₃), 1679 (C=O de amida), 1308 (Ar-N-R).</p>
	<p>Espectro 50, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.745 (s, 3H, -SCH₃); 3.701 (s, 3H, NCH₃); 7.300 (d, <i>J</i>=3.6 Hz, 1H, H-4'); 7.587 (d, <i>J</i>=3.6 Hz, 1H, H-5'); 7.700 (s, 1H, H-4); 7.882 (s, 1H, H-7); 12.602 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida).</p>
<p>6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5-carboxamida (19)</p>	<p>Espectro 52, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3417 (NH- de amida), 3135 (C-H Aromático), 2927 (-CH₃), 1671 (C=O de amida), 1540 y 1350 (Ar-NO₂), 1308 (Ar-N-R).</p>
	<p>Espectro 53, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.748 (s, 3H, -SCH₃); 3.716 (s, 3H, NCH₃); 7.890 (s, 1H, H-4); 7.839 (s, 1H, H-7); 8.696 (s, 1H, H-4'); 13.664 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida).</p>
<p>5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-6-carboxamida (20)</p>	<p>Espectro 55, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1}: 3387 (NH- de amida), >3000 (C-H Aromático), 2927 (-CH₃), 1672.16 (C=O de amida), 1539.52 y 1337.54 (Ar-NO₂), 1303.21 (Ar-N-R).</p>
	<p>Espectro 56, RMN ¹H: (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) ppm: 2.763 (s, 3H, -SCH₃); 3.717 (s, 3H, NCH₃); 7.759 (s, 1H, H-4); 7.990 (s, 1H, H-7); 8.701 (s, 1H, H-4'); 13.652 (sa, 1H, int. con D₂O, N-H de amida).</p>
	<p>Espectro 57, EM: FAB+1 <i>m/z</i>: 384 (M+1, 10%).</p>

Para la obtención del compuesto **12**, se partió del ácido 2-cloro-4-nitrobenzoico comercial (**1**), el cual se esterificó con sulfato de dimetilo en medio básico, una reacción rápida y con altos rendimientos. El cambio estructural fue fácilmente identificado a través de la espectroscopia de RMN ¹H, donde se demostró la presencia del metilo de éster por un singulete a 3.995 ppm. La espectrometría de masas confirmó la masa molecular del compuesto con *m/z* de 215 (32%), así como el fragmento de *m/z* 184 que correspondió a la pérdida del -OCH₃ que originó el pico base del espectro.

La hidrogenación catalítica del éster **2**, empleando Ni-Raney como catalizador a temperatura ambiente, dio origen a la amina correspondiente con un buen rendimiento del producto crudo. La selección del catalizador fue un aspecto importante para la preparación de este compuesto, ya que

se ha visto que al usar Pd/Carbono se promueve la eliminación del cloro de la posición 2, por ser este catalizador muy agresivo. El análisis espectroscópico de IR mostró las dos bandas amplias a 3426 y 3336 cm^{-1} característicos del grupo amino. La espectroscopia de RMN ^1H mostró una señal amplia a 6.171 ppm que integró para 2H y desapareció cuando se intercambió con D_2O ; esta señal se asignó a la amina primaria. El espectro de masas mostró el ion molecular con m/z 185 (55%) concordante con la masa molecular esperada, también se observó la señal de $\text{M}+2$ con una abundancia relativa del 18%, debida a la presencia del cloro y un pico base de m/z 154 (M^+-31) generado por la pérdida del $-\text{OCH}_3$.

La acetamida **4** se obtuvo a partir de **3** mediante la adición de anhídrido acético a temperatura ambiente. Esta reacción procedió rápidamente dando muy buenos rendimientos. El espectro de IR mostró, además del carbonilo del éster a 1724 cm^{-1} , una banda característica del carbonilo de la acetanilida a 1678 cm^{-1} . El espectro de RMN ^1H mostró un singulete a 2.208 ppm que integró para 3H, correspondiente al metilo de la acetanilida, así como una señal amplia a 10.38 ppm característica del N-H de la acetanilida, la cual desapareció cuando se hizo el intercambio con D_2O . En el espectro de masas se observó el ion molecular con una relación m/z de 227 (39%) que correspondió a la masa molecular. El pico base del espectro apareció en una relación m/z de 154 generado a partir de la pérdida del acetilo de la amida y del $-\text{OCH}_3$ del éster.

El siguiente paso fue la nitración de la acetamida **4**, la cual se realizó por adición directa del ácido nítrico sobre la acetanilida disuelta en H_2SO_4 entre 0 y 5°C. En estas condiciones se obtuvo muy poca formación del isómero nitrado en la posición 3, el cual se eliminó mediante cristalización fraccionada con AcOEt dando un buen rendimiento para el producto esperado (**5**). El IR mostró las bandas características del grupo nitro en 1529 y 1335 cm^{-1} . En el análisis espectroscópico de RMN ^1H se comprobó el cambio estructural por la pérdida del sistema ABX, apareciendo únicamente dos señales simples a 8.824 y 9.054 ppm correspondientes a los hidrógenos H-3 y H-6, respectivamente. El espectro de masas mostró el ion molecular con m/z 272 (17%) confirmado por la pérdida del grupo nitro por el fragmento de m/z de 226; además el pico base del espectro fue el fragmento con m/z de 230, que equivale a la molécula cuando se ha roto el enlace de la acetanilida.

La hidrólisis básica de la acetamida **5**, a temperatura ambiente, produjo el compuesto 4-amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (**6**) con un buen rendimiento. El espectro de IR mostró dos bandas intensas en 3453 y 3348 cm^{-1} correspondientes a la amina primaria y la desaparición de las bandas de C=O de amida a 1678 cm^{-1} . En el espectro de RMN ^1H , la presencia de la amina se

comprobó por un singulete amplio a 7.562 ppm, la cual desapareció cuando se realizó el intercambio con D₂O; así como la presencia de un singulete a 3.856 ppm, que integró para 3H, probó la presencia del grupo éster no hidrolizado. La espectrometría de masas señaló la presencia del ion molecular con m/z de 230 (77%) y un pico base con una relación m/z de 199 (M+31). La fácil hidrólisis del acetamida demostró la influencia del grupo NO₂ en *orto* aumentando la electrofilia del C=O de la acetamida.

La diamina **7** se obtuvo a través de la reducción catalítica del grupo nitro a temperatura ambiente; ésta se procesó rápidamente para evitar su oxidación, por lo que inmediatamente se sometió a la siguiente reacción. Una muestra se separó para hacer análisis espectroscópico. En el IR se observó la desaparición de las bandas del grupo nitro a 1529 y 1335 cm⁻¹. En el espectro de RMN ¹H, las dos señales aisladas a 4.782 y 5.487 ppm que integraron para 2H cada una, que además desaparecieron al realizar el intercambio con D₂O; demostró la presencia de las dos amina primarias. En espectrometría de masas el ion molecular con m/z de 200 correspondió al pico base del espectro y a la masa molecular del compuesto.

El 2-mercaptobencimidazol **8** se obtuvo a través de la ciclocondensación de la *o*-fenilendiamina **7** con disulfuro de carbono en medio básico, tomándose en cuenta que el proceso de formación del xantato de etilo se realizó en el mismo medio de reacción. La temperatura por debajo de 65°C y el pH de 9 fueron importantes para evitar la hidrólisis del éster. El espectro de IR mostró unas señales a 3241 cm⁻¹ correspondiente al enlace N-H del anillo de imidazol, y una banda de mediana intensidad a 1253 cm⁻¹ que se asignó al grupo C=S de la forma de tiona. En el espectro de RMN ¹H los singuletes a 7.216 ppm y 7.522 ppm correspondieron a los protones aromáticos H-7 y H-4 respectivamente; y la señal simple a 12.898 ppm que integró para dos hidrógenos y desapareció con el intercambio con D₂O, comprobó los hidrógenos unidos a nitrógenos en posición 1,3 del anillo de bencimidazol, cuando se encuentra en forma de tiona. El espectro de masas mostró el ion molecular con m/z de 242 que correspondió al pico base del espectro, además de la señal M+2 con una abundancia del 37%, indicativo de los efectos sumados de los isótopos cloro y azufre para este compuesto.

La metilación del tiol **8** con un equivalente de yoduro de metilo en medio básico, a bajas temperaturas para evitar la metilación en el NH del anillo de bencimidazol, dio origen al compuesto **9**. El espectro de IR reveló la presencia de una banda de intensidad débil a 3319 cm⁻¹ señalando la presencia del enlace N-H del bencimidazol, así como la banda correspondiente a los enlaces C-H de tipo alifático se observó a 2839 cm⁻¹. En el espectro de RMN ¹H la señal a 2.712 que integró

para 3H, correspondió al metilo unido a azufre; se observaron también los singuletes a 7.571 y 7.870, ppm que integraron para un hidrógeno, correspondientes a los hidrógenos H-7 y H-4 respectivamente del anillo bencimidazólico; además, a 3.839 ppm, un singulete característico del grupo carbometoxi. En el espectro de masas se comprobó la masa molecular del compuesto por el ión con m/z de 256, que también originó al pico base del espectro.

El ácido 6-cloro-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**10**) se obtuvo mediante hidrólisis básica a 60 – 65°C de **9**. El espectro de IR mostró una banda amplia a 2464 cm^{-1} que comprobó el grupo hidroxilo del ácido; así mismo se observó una banda intensa característica del carbonilo del grupo COOH a 1706 cm^{-1} . El espectro de RMN ^1H mostró un singulete amplio a 12.953 ppm correspondiente al OH del grupo COOH y que desapareció cuando se le realizó el intercambio con D_2O . El espectro de masas mostró el ión molecular con m/z de 242 y correspondió al pico base del mismo; además se comprobó la presencia del sulfuro por el fragmento m/z 209 ($\text{M}^+ - 33$), característico de sulfuros aromáticos.

La síntesis de la carboxamida **11** se obtuvo a partir del ácido obtenido en la reacción anterior, vía la formación del cloruro de ácido correspondiente con cloruro de tionilo a 60 – 65°C, el cual posteriormente se hizo reaccionar con el 2-aminotiazol para formar la carboxamida con un rendimiento del 75%. En el espectro de IR se observó una banda a 1665 cm^{-1} , la cual se asignó al grupo carbonilo de amida. En el espectro de RMN ^1H aparte de los singuletes a 7.670 y 7.595 ppm, correspondientes a los hidrógenos H-4 y H-7 del anillo bencimidazólico, aparecieron dos dobletes a 7.518 y 7.295 ppm con $J=3.6$ Hz que integraron para un hidrógeno, correspondientes a los hidrógenos H-4' y H-5' respectivamente del anillo de tiazol; además, una señal aislada a 2.702 para grupo metiltio y una señal débil a 12.632 correspondiente al hidrógeno del grupo N-H de la carboxamida, la cual desapareció cuando se hizo el intercambio con D_2O . El espectro de masas mostró el ion molecular poco estable con una relación m/z de 324 y una abundancia del 0.7%; el fragmento de m/z 225 correspondió al pico base, característico de la pérdida del aminotiazol por ruptura del enlace carboxamida.

La carboxamida **11** se nitró con HNO_3 fumante y anhídrido acético entre 40 – 50°C, dando el producto 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**12**). El espectro de IR mostró las bandas características del grupo nitro en 1539 y 1352 cm^{-1} . En el espectro de RMN ^1H se observaron los singuletes a 7.940 y 7.863 ppm que integraron para un hidrógeno respectivamente, correspondiendo a los hidrógenos H-4 y H-7 del anillo bencimidazólico, una señal desplazada a campo bajo a 8.698 ppm que integró para un hidrógeno,

correspondiente al H-4' del anillo de tiazol, lo que evidenció la presencia del grupo nitro en la posición 5'; sin embargo, se observó también un singulete a 8.172 ppm que no se pudo asignar a ningún protón en particular, se observó un singulete a 2.719 ppm que integró para 3 hidrógenos, característicos del grupo metiltilio; además, un singulete amplio a 13.746 correspondiente al hidrógeno del grupo N-H de la carboxamida; también se observó un singulete más a 2.879 ppm, que integró para 3 hidrógenos del grupo metiltilio; lo cual nos hace suponer que el producto obtenido tal vez sea una mezcla del compuesto **12** y la carboxamida dinitrada en las posiciones 4 y 5 del anillo de tiazol. El espectro de masas se determinó por la técnica de ionización FAB+ dada la baja estabilidad del ion molecular, en este espectro se observó el ion molecular a 370 correspondiente al M+1 característico de esta técnica, además, se observó un ion de $m/z=415$ con un abundancia del 4%, el cual corresponde al M+1 del producto dinitrado; así como un ion de $m/z=369$ que correspondería a la pérdida de un grupo nitro. La formación del compuesto dinitrado se debió posiblemente a las condiciones de reacción de nitración, ya que se calentó entre 40 – 50°C durante la reacción.

Para la obtención de las carboxamidas 1-metiladas, **19** y **20** (Esquema 3), el compuesto **8** se dimetiló con dos equivalentes de yoduro de metilo en medio básico; se obtuvo una mezcla de isómeros (**13** y **14**) debido al efecto tautomérico intrínseco del anillo bencimidazólico. La mezcla se separó mediante la técnica de Cromatografía en Columna Flash.⁵⁶ El compuesto de Rf mayor (**14**) se obtuvo en un 30%, mientras que el de Rf menor (**13**) con 44%. Ambos isómeros presentaron espectros muy parecidos, en el IR se observó la banda del carbonilo del éster a 1724 (**14**) y 1722 cm^{-1} (**13**); además, una banda muy intensa a 1237 (**13**) y 1269 cm^{-1} (**14**) asignada a la vibración del $\text{CH}_3\text{-S}$ y $\text{CH}_3\text{-N}$. En el espectro de RMN ^1H se observaron las señales simples que integraban para 3H cada uno a 2.748, 3.690 y 3.867 ppm, para el compuesto **13** y a 2.784, 3.700 y 3.875 ppm para el compuesto **14**, correspondientes a los CH_3 unidos a S, N y O respectivamente. La espectrometría de masas comprobó la masa molecular de ambos isómeros por el ion molecular a 270 que también originó el pico base de ambos espectros; además, la alquilación del compuesto se demostró por el ion m/z 239 (M^+-31), correspondiente a la pérdida de un metilo.

Para confirmar la estructura de estos compuestos y diferenciarlos uno de otro, se recurrió al experimento NOE diferencial de RMN (análisis unidimensional), donde se mostró la correlación del H-7 (7.764 ppm) del anillo aromático con el N-metilo (3.690 ppm) en el caso del isómero 1-metil,5-carboxilato de metilo y la correlación del H-7 (7.977 ppm) con el N-metilo (3.701 ppm) en el isómero 1-metil,6-carboxilato de metilo, como se muestra en las Figuras 26 y 27. Además la CCD corroboró que los compuestos obtenidos por columna fueron diferentes entre sí.

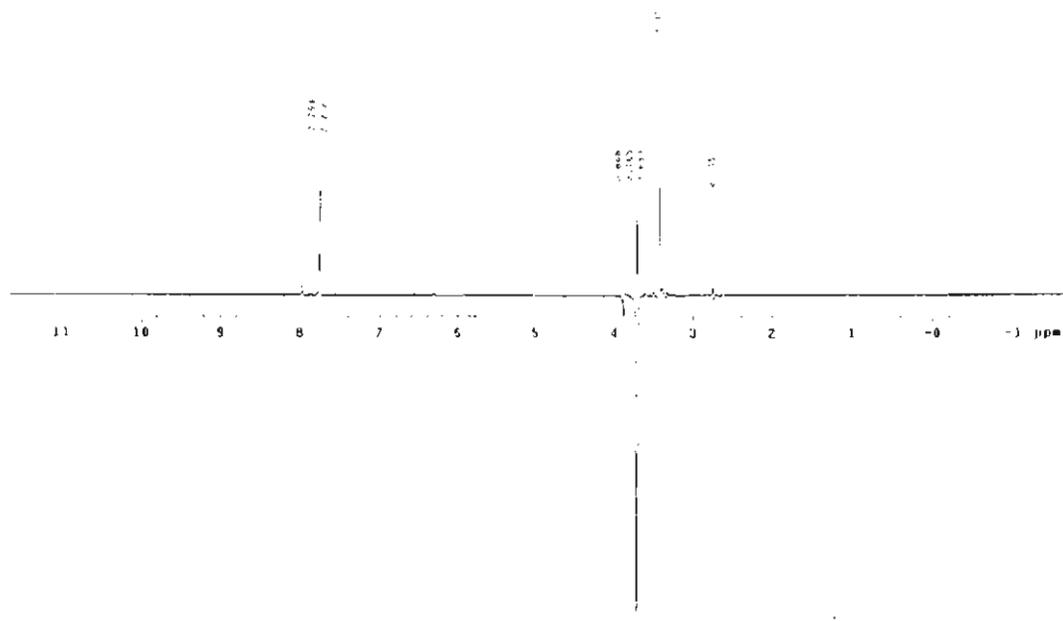


Figura 26. Espectro de NOE diferencial del compuesto **13**.

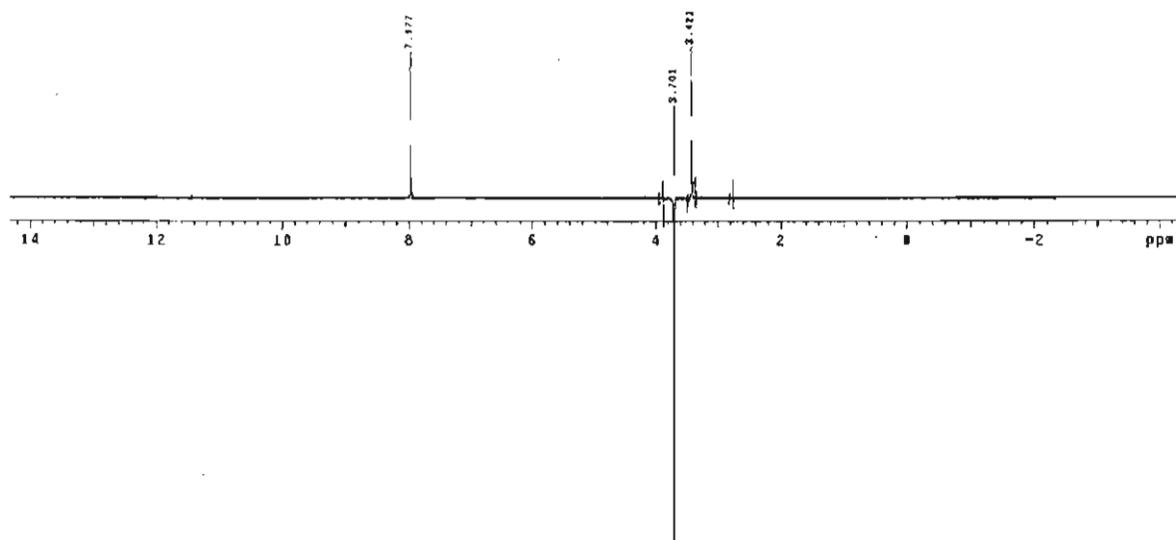


Figura 27. Espectro de NOE diferencial del compuesto **14**.

La técnica de NOE diferencial, es un análisis unidimensional que consiste en irradiar selectivamente a una cierta frecuencia una de las señales de H de interés del espectro original, a tal grado que dicha señal desaparezca, provocando que los H cercanos que estén interaccionando con este aparezcan en este nuevo espectro y tengan un desplazamiento similar al del espectro

original, indicando que hay una relación directa entre estos 2H. De esta manera se pudo determinar con mayor precisión la identificación de cada isómero.

Los ácidos carboxílicos **15** y **16**, por separado, se obtuvieron mediante hidrólisis básica a 65 – 75°C de los ésteres **13** y **14**. El IR para **15** mostró bandas intensas en 3450 (**15**) y 3433 cm⁻¹ (**16**) características del grupo HO- del ácido carboxílico, así como señales en 1699 cm⁻¹ (**15** y **16**) correspondientes al grupo C=O de los ácidos. En el espectro de RMN ¹H se comprobó la presencia del ácido se comprobó por una singulete débil a 13.191 ppm (**15**) y 13.109 ppm (**16**), la cual desapareció en el intercambio con D₂O; únicamente se observaron dos singuletes a 2.719 y 3.662 ppm para **15**, 2.723 y 3.679 ppm para **16**, integrando para 3H cada uno, correspondientes a los CH₃ unidos a S y N. En la espectrometría de masas, la presencia del ion molecular *m/z* de 256, correspondió al pico base, así como a la masa molecular del compuesto para ambos isómeros.

Las carboxamidas 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**17**) y 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**18**) se obtuvieron a partir de los ácidos **15** y **16** respectivamente. Los ácidos por separado se hicieron reaccionar con cloruro de tionilo a una temperatura de 65 – 70°C para formar el cloruro del ácido, para posteriormente hacerlo reaccionar con el 2-aminotiazol y obtener la carboxamida correspondiente (**17** y **18**). El espectro de IR para ambas carboxamidas presentó bandas intensas a 3422 (**17**) y 3406 cm⁻¹ (**18**) características del grupo carboxamido (-HN-C=O). La RMN ¹H reveló la presencia de una banda de baja intensidad en 12.572 ppm en **17** y 12.602 ppm en **18**, que integró para 1H del N-H de la amida, la cual desapareció después del intercambio con D₂O; ambos compuestos presentaron dos dobletes en 7.250 y 7.505 ppm (**17**) con *J*=3.6 Hz, 7.300 y 7.587 ppm (**18**) con *J*=3.6 Hz, correspondientes a los hidrógenos H-4' y H-5' respectivamente del anillo de tiazol; los dos hidrógenos del bencimidazol aparecieron en 7.750 ppm para el compuesto **17** como una señal simple que integró para 2H, y dos singuletes en 7.700 y 7.882 ppm para **18**. En el Espectro de Masas, determinado en la modalidad de FAB, se observó el ion molecular con una relación *m/z* de 339 M+1 y una abundancia de 33% para el isómero **17**, y del 100% para el isómero **18**, que correspondió a la masa molecular esperada.

Finalmente, para obtener los dos últimos compuestos, se hicieron reaccionar, por separado, las carboxamidas **17** y **18** con ácido nítrico fumante en anhídrido acético, a una temperatura de 40 – 50°C, dando los productos finales nitrados en la posición 5 del anillo de tiazol (isómeros **19** y **20**). Para comprobar que realmente fueran los compuestos deseados se recurrió a las técnicas espectroscópicas y espectrométricas anteriores. En el espectro de IR para el isómero **19**, 6-cloro-

1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida, así como para el isómero **20**, 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida, se observaron las bandas características al grupo nitro en 1540 y 1350 cm^{-1} (**19**); 1539 y 1337 cm^{-1} (**20**). En el espectro de RMN ^1H se observaron los singuletes en 7.890 y 7.839 ppm para **19**, para **20** en 7.759 y 7.990 ppm, que integraban para un hidrógeno, correspondientes a los hidrógenos H-4 y H-7 respectivamente del anillo bencimidazólico; las señales simples a 8.696 ppm (**19**) y 8.701 ppm (**20**), que integraban para un hidrógeno, correspondieron al hidrógeno H-4 del anillo de tiazol, lo que evidenció la presencia del grupo nitro en la posición 5 y una señal débil a 13.664 ppm (**19**) y 13.652 ppm (**20**) integró para 1H correspondiente al hidrógeno del grupo N-H de la carboxamida, la cual desapareció en el intercambio con D_2O . En el espectro de masas se observó el ion con una relación m/z de 384 y una abundancia relativa del 18% (**19**) y 10% (**20**), que correspondió a la masa molecular esperada ($M+1$).

Finalmente, para asignar correctamente las señales correspondientes a estos compuestos se realizó el experimento NOE diferencial para los isómeros **19** y **20** (Figuras 28 y 29).

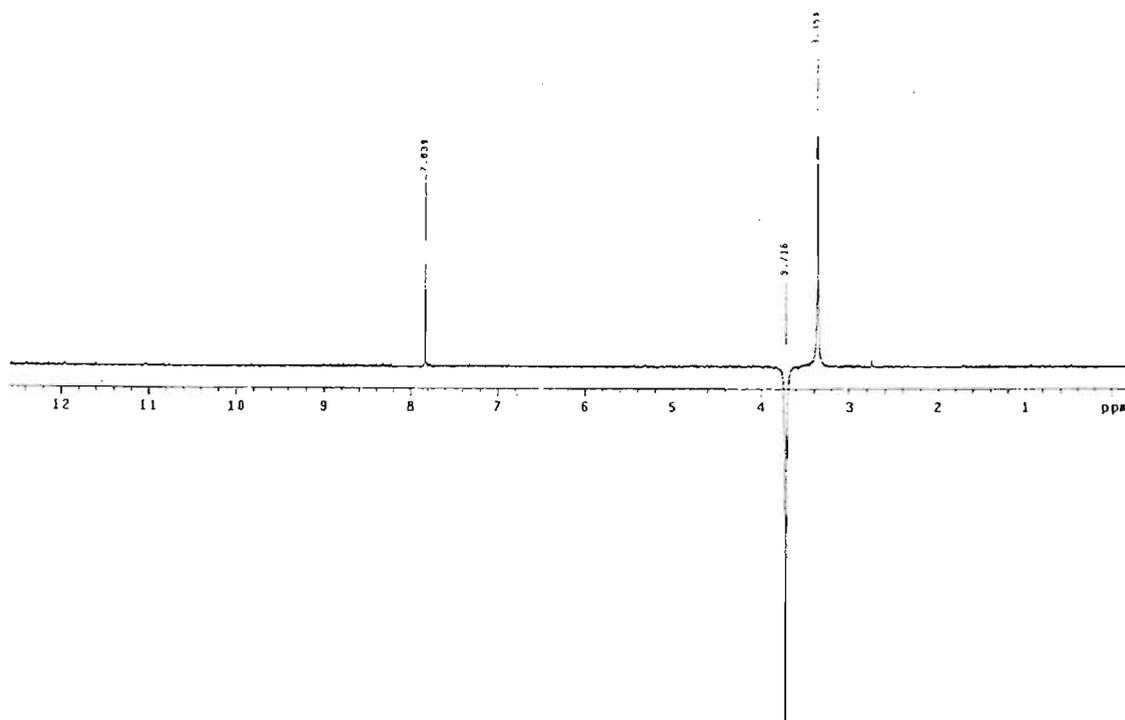


Figura 28. Espectro de NOE diferencial del compuesto **19**.

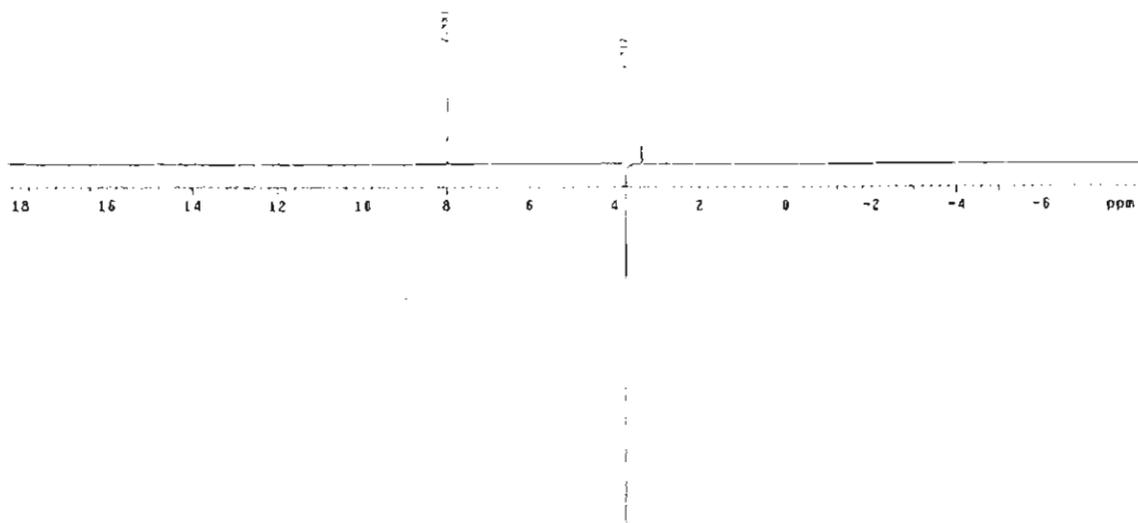


Figura 29. Espectro de NOE diferencial del compuesto **20**.

Como se observa, el Espectro **28** mostró la correlación del grupo metilo de la posición 1 (3.716 ppm) con el hidrógeno de la posición 7 del anillo bencimidazólico (7.839 ppm), obteniéndose al compuesto que guarda relación 1,5 con respecto a la amida. De la misma forma, en el espectro **29**, se observa la correlación que existe entre el grupo metilo de la posición 1 (3.717 ppm) y el hidrógeno de la posición 7 del anillo bencimidazólico (7.991 ppm), dando el compuesto 1,6 respecto a la amida.

Para establecer la metodología para la obtención de las carboximadas **12**, **19** y **20** a partir de sus ácidos se estudió en primer lugar la formación de **12**. La **Tabla 8** resume el estudio realizado para la obtención de la amida precursora **11** y la **Tabla 9**, los experimentos que se llevaron a cabo para la reacción final de nitración para obtener el compuesto final **12**.

Tabla 8. Ensayos de síntesis de la carboxamida **11**.

Formación del Cloruro de Ácido	Formación de la Carboxamida	Tiempo de reacción para la formación del cloruro de ácido	Rendimiento	Pureza
Tolueno, SOCl ₂ (6 eq).	Acetona, NaHCO ₃ , 2-aminotiazol.	24 h	6.3 %	Impuro
Benceno, SOCl ₂ (6 eq).	Acetona, NaHCO ₃ , 2-aminotiazol.	36 h	16.56 %	Impuro

Carbonildiimidazol (CDI), acetonitrilo	DMF, NaHCO ₃ , 2-aminotiazol.	24 h	2.98 %	Puro
SOCl ₂ (6 eq.)	Acetonitrilo, NaHCO ₃ , 2-aminotiazol.	4 h	75.19 %	Puro

La reacción de la formación de la carboxamida **11** en tolueno procedió lentamente, debido a que nunca hubo una mezcla homogénea, lo que provocó que la reacción no se llevara a cabo eficientemente. Después de 24 horas se observó la formación de un producto diferente al ácido materia prima y al cloruro del ácido; por lo que se detuvo la reacción, destilando el exceso de cloruro de tionilo con tolueno para posteriormente formar la amida en acetona, pero debido a lo anterior, el rendimiento de la carboxamida **11** fue muy bajo (6.3%) y el producto presentó impurezas difíciles de eliminar. Cuando se cambió el disolvente por benceno se obtuvieron resultados semejantes y el tiempo de reacción de formación del cloruro de ácido aumentó a 36 h.

En el tercer ensayo se utilizó *N,N*-carbonildiimidazol (CDI) como agente acoplante, la reacción fue lenta por la baja solubilidad de **10** en acetonitrilo. Después de 24 horas aún con la presencia del ácido materia prima, el producto se hizo reaccionar con el 2-aminotiazol en dimetilformamida. Esta vez se obtuvo un producto más limpio, pero con un rendimiento mucho más bajo que el de las dos reacciones anteriores (2.98%).

Finalmente se decidió hacer reaccionar el ácido carboxílico directamente con 6 equivalentes de cloruro de tionilo, sin disolvente, observándose que la formación del cloruro del ácido procedió en un tiempo de 3 - 4 horas con consumo total del ácido y ningún otro producto secundario, lo que permitió formar la carboxamida en acetonitrilo, dando el compuesto **11** puro y con un rendimiento del 75.19%. Este procedimiento se siguió para la obtención de las amidas **17** y **18**.

Con respecto al estudio de la reacción de nitración se ensayaron varios métodos que se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Ensayos de nitración para obtener el compuesto **12**.

Disolvente	Agente Nitrante	Tiempo de Reacción	Temperatura (°C)	Rendimiento	Pureza
Ácido sulfúrico	Ácido nítrico conc.	12 h.	-5 – 0°C	45 %	Mezcla de isómeros

Ácido acético, acetona.	Ácido nítrico conc.	8 h.	50 – 60°C	0 %	No se obtuvo
Anhídrido acético.	Ácido nítrico fumante.	4 h.	40 – 50°C	80.24 %	Buena Pureza

Cuando se utilizó mezcla sulfonítrica, dada las fuertes condiciones, a pesar de que la reacción se hizo en frío se formó la mezcla de los isómeros nitrados en 5' y 4', aún empleando un solo equivalente de ácido nítrico concentrado; la reacción fue muy lenta (12 h) y no hubo consumo total de la materia prima.

Se intentó disolver la materia prima en ácido acético para suavizar las condiciones de la reacción y se agregó un solo equivalente de ácido nítrico concentrado a temperatura ambiente; sin embargo, fue necesario agregar acetona para tratar de homogeneizar el medio de reacción. Al cabo de 3 horas no se observó reacción, por lo que se calentó a 50-60° C sin ningún avance. Esto se debió a que el ácido acético no es lo suficientemente fuerte para formar el ion nitronio en el medio para llevar a cabo la nitración.

El procedimiento que dio mejores resultados fue emplear como mezcla nitrante ácido nítrico fumante/anhídrido acético, para lo cual se suspendió la amida **11** en el anhídrido acético y a esta suspensión se le agregó un equivalente de ácido nítrico fumante, a temperatura ambiente. Cuando la mezcla se calentó a 40 – 50°C se observó un progreso rápido de la reacción. La reacción se completó en 4 horas y la CCD mostró una sola mancha. Este método de nitración se empleó para la obtención de los híbridos **19** y **20**. Desgraciadamente el espectro de masas y de RMN ¹H para el compuesto **12** mostró contaminación con posible compuesto dinitrado más otra impureza, lo que sugiere mayor estudio de la técnica de nitración. En el caso de los isómeros **19** y **20** los productos mostraron buena pureza.

7.2. RESULTADOS DE LA PARTE BIOLÓGICA

7.2.1. Efecto de los híbridos sobre *G. intestinalis*

Los compuestos híbridos, las carboxamidas **12**, **19** y **20**, así como sus precursores sin nitrar **11**, **17** y **18**, se sometieron a la prueba de actividad *in vitro* contra *G. intestinales*; Los resultados se muestran en la **Tabla 10** y la **Gráfica 2**. En éstas se observa que todos los compuestos fueron más potentes que el Metronidazol, entre 12 y 245 veces más activos. Los compuestos **11**, **17** y **18** fueron semejantes al Albendazol y **12**, **19** y **20**, 3.4 a 7.4 veces más potentes que la Nitazoxanida.

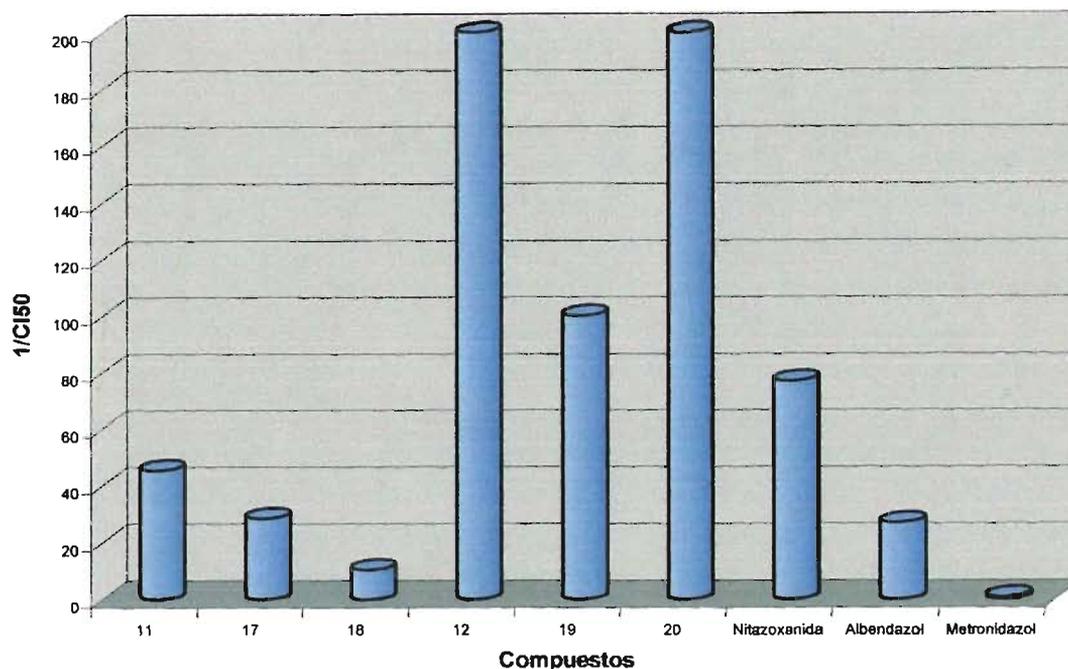
Tabla 10. Evaluación antiprotozoaria de **11**, **17**, **18**, **12**, **19** y **20** sobre *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

	<i>G. intestinalis</i>	<i>T. vaginalis</i>
Compuesto	CI ₅₀ (μM)	CI ₅₀ (μM)
11	0.022	0.012
17	0.035	0.015
18	0.095	0.018
12	0.005	0.019
19	0.010	0.016
20	0.005	0.010
Nitazoxanida	0.013	0.110
Albendazol	0.037	1.592
Metronidazol	1.228	0.216

En este estudio también se evaluaron las carboxamidas precursoras (**11**, **17** y **18**) de los híbridos finales. Esto se hizo con la finalidad de conocer el efecto antiprotozoario que la carboxamida no nitrada como tal tiene, y compararlo con el efecto de las carboxamidas híbridas. Los resultados obtenidos claramente indican que las carboxamidas nitradas, los híbridos **12**, **19** y **20**, fueron más potentes, lo que indica una importante contribución del grupo nitro en el incremento de la potencia observada, muy probablemente debido al efecto oxidante de este grupo, discutido con anterioridad en los antecedentes.

Con relación a la actividad de los isómeros 1-metilados se observó una diferencia importante en la potencia de **19** y **20**, siendo este último, el isómero más potente. También se observó que la

potencia de **20** es la misma que la del compuesto **12**, sin el metilo en la posición 1, lo que hace suponer que la relación 1,6 (con respecto a la amida) ejerce una gran influencia sobre la actividad antiprotozoaria sobre *G. intestinalis* y demostrar que el H en la posición 1 del bencimidazol no es esencial para la actividad antiprotozoaria.

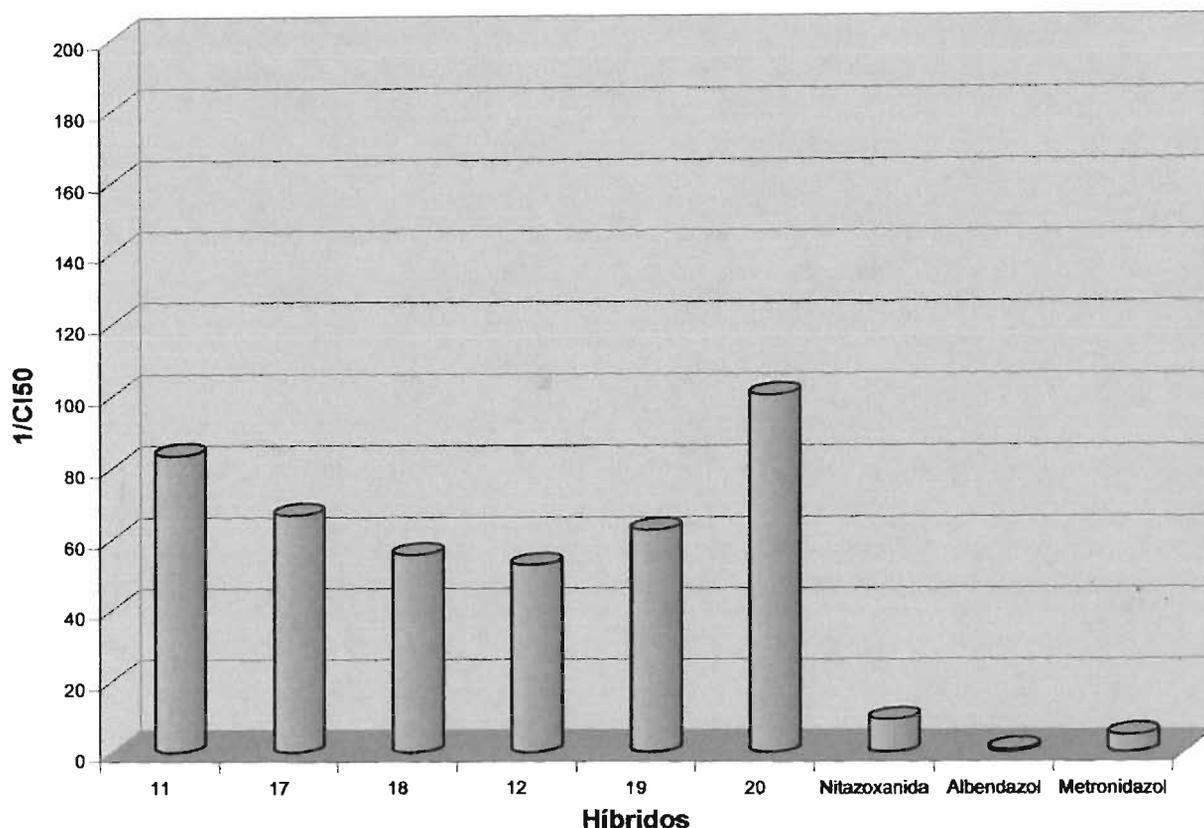


Gráfica 2. Comparación de las CI_{50} de los híbridos en *G. intestinalis*.

7.2.2. Efecto de los híbridas sobre *T. vaginalis*

Tanto las carboxamidas **12**, **19** y **20**, así como sus precursores sin nitrar **11**, **17** y **18**, se sometieron a pruebas de actividad *in vitro* contra *T. vaginalis*. Los resultados se muestran en la **Tabla 10** y **Gráfica 3**. En éstas se puede apreciar que las carboxamidas nitradas (**12**, **19** y **20**), al igual que las no nitradas (**11**, **17** y **18**), mostraron una potencia superior a la del Metronidazol (21 veces mayor); muy superior a la del Albendazol (160 veces mayor), y superior a la de la Nitazoxanida (11 veces mayor). Aquí también se observó el efecto que tiene el grupo nitro en la actividad antiprotozoaria, aunque no fue tan marcado como en el caso de *Giardia*, ya que no hubo una diferencia significativa entre las actividades de **11**, **17** y **18** comparada con las de **12**, **19** y **20**. Estos resultados son muy importantes debido a que son pocos los compuestos, aparte de los comerciales, que tienen efecto sobre este protozoario. Los resultados hasta ahora obtenidos

indican que estos compuestos son buenos candidatos para continuarse estudiando como posibles prototipos de nuevos y mejores tratamientos de las protozoosis.

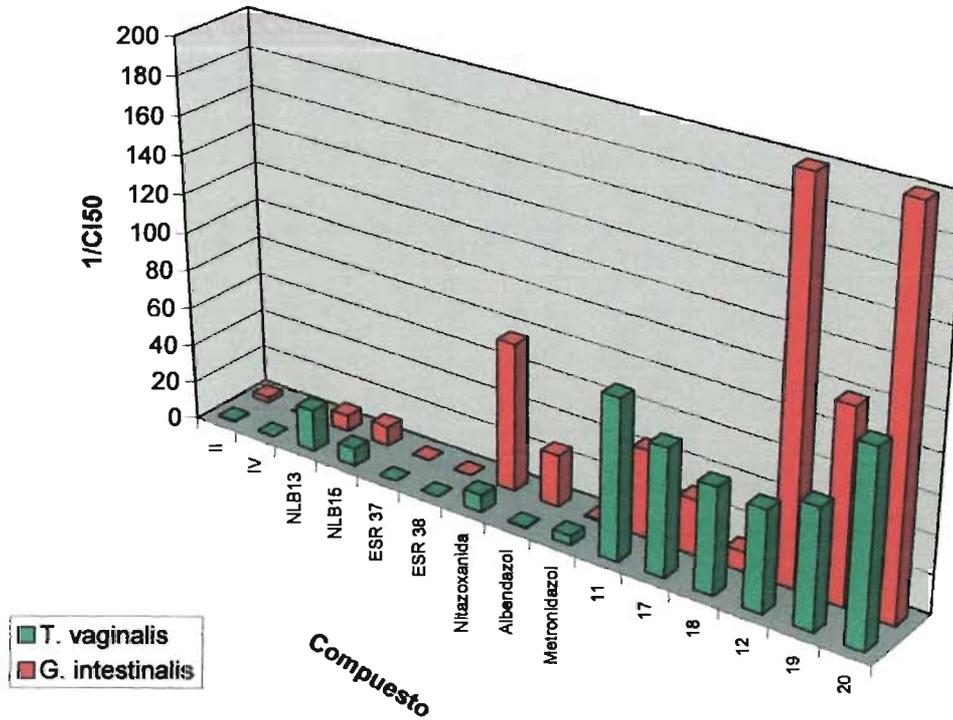


Gráfica 3. Comparación de las CI_{50} de los híbridos en *T. vaginalis*.

En la **Gráfica 4** se muestra una comparación de las actividades de las carboxamidas sin nitrar **11**, **17** y **18**, las nitradas **12**, **19** y **20**, los antiparasitarios de elección y algunas carboxamidas sintetizadas por nuestro grupo de trabajo, que previamente se mostraron en las **Tablas 4** y **5**, para los dos protozoarios de prueba.

En esta gráfica es evidente que la actividad antiprotozoaria que presentan los híbridos sintetizados es mucho mayor que la que presentan los fármacos de elección, así como las carboxamidas sintetizadas anteriormente; pero esto no quiere decir que dichos compuestos no sean de utilidad, por el contrario, han servido como base de precursores de nuevos compuestos antiparasitarios, como es el caso del compuesto NLB13, que ha demostrado una actividad superior al de la Nitazoxanida para el caso de *T. vaginalis*.

Además, se puede observar que específicamente contra *T. vaginalis* es difícil encontrar un compuesto activo y con una CI_{50} por debajo de $0.1 \mu M$, por lo que la actividad tricomonocida de las nuevas carboxamidas híbridas sintetizadas en esta tesis representa un importante avance en el estudio de las correlaciones estructura-actividad biológica en el campo de las protozoosis.



Gráfica 4. Comparación de los híbridos con otras carboxamidas y fármacos de elección.

8. CONCLUSIONES

- Los 3 compuestos híbridos sintetizados presentaron una mayor actividad antiprotozoaria que la Nitazoxanida y los 1-metilbencimidazoles.
- Se sintetizaron las tres carboxamidas propuestas: 6-cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**12**), 6-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**19**), 5-cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**20**), así como sus ácidos carboxílicos correspondientes; donde el paso limitante fue la separación de los isómeros 1,5 y 1,6 por Cromatografía en Columna Flash, previo la formación de los ácidos carboxílicos. En general, todas las reacciones tuvieron rendimientos cercanos al 80%, excepto la reacción de nitración del tiazol donde el rendimiento fue bajo.
- Se obtuvieron estructuras bien definidas de las 3 carboxamidas propuestas y se caracterizaron usando métodos espectroscópicos, como Infrarrojo y RMN ¹H, así como técnicas espectrométricas, como la Espectrometría de Masas.
- Se evaluó la actividad biológica de los compuestos finales **12**, **19** y **20**, así como sus precursores no nitrados **11**, **17** y **18**, contra protozoarios de importancia clínica, como fueron *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.
 - ◆ En general, se obtuvieron CI₅₀ más pequeñas en relación a otros antiparasitarios (Metronidazol, Albendazol y Nitazoxanida), tanto para *G. intestinalis*, como para *T. vaginalis*, lo que representó una mayor actividad de los nuevos compuestos.
 - ◆ Para el caso específico de *G. intestinalis*, los híbridos **12**, **19** y **20** fueron más activos que sus precursores **11**, **17** y **18**, lo que parece indicar una potenciación de la actividad antiprotozoaria por el grupo 5-nitro.
 - ◆ En el caso de *T. vaginalis* la actividad entre los compuestos **12**, **19** y **20** no presentó una diferencia significativa con respecto a la de sus precursores **11**, **17** y **18**, por lo que el efecto de potenciación no fue apreciable.

- Se puede decir que el híbrido 1-metil con la relación 1,6 (con respecto a la amida) ejerce una gran influencia sobre la actividad antiprotozoaria sobre *G. intestinalis* y que el H en la posición 1 del benzimidazol no es esencial para la actividad antiprotozoaria. Se puede especular que el tautómero 1,6 del compuesto **12** podría ser su forma activa.
- El estudio y actividad biológica de los compuestos híbridos sintetizados en este trabajo, es la base de futuras modificaciones para obtener mejores principios activos, que puedan servir como alternativas a tratamientos contra enfermedades parasitarias.
- Se adquirió el conocimiento para aplicar las herramientas de química farmacéutica, así como la experiencia en química orgánica para la obtención de nuevos compuestos de interés farmacéutico en el campo de la parasitosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daxón, Nitazoxanida. Monografía. Lanac, Columbia.
2. <http://www.monografias.com/trabajos12/enfin/enfin.shtml>
3. Dagci, H.; Ustun, S.; Taner, M.; Ersoz, G.; Karacasu, F.; Budak, S.; Protozoon infections and intestinal permeability; *Acta Tropica*; **2002**, **81**: 1 – 5.
4. Youssef, M.; Shurman, A.; Bougnoux, M.; Rawashdeh, M.; Bretagne, S.; Strockbine, N.; Bacterial, viral and parasitic enteric pathogens associated with acute diarrhea in hospitalized children from northern Jordan; *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **2000**, **28**: 257 – 263.
5. <http://www.parasitosis.galeon.com>
6. Goodman and Gilman; Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica Vol. II; Ed. McGraw-Hill Interamericana; México, 1996, 9ª. Edición; pp. 1017 – 1088.
7. Andrzejewska, M.; Yopez-Mulia, L.; Tapia, A.; Cedillo-Rivera, R.; Laudy, A.; Starosciak, B.; Kazimierczuk, Z.; Synthesis, and antiprotozoal and antibacterial activities of S-substituted 4,6-dibromo- and 4,6-dichloro-2-mercaptobenzimidazoles; *European Journal of Pharmaceutical Sciences*; **2004**, **21**: 323 – 329.
8. Sangster, N.; Batterham, P.; Chapman, D.; Duraisingh, M.; Jambre, L.; Shirley, M.; Upcroft, J.; Upcroft, P.; Resistance to antiparasitic drugs: the role of molecular diagnosis; *International Journal of Parasitology*, **2002**, **32**: 637 – 653.
9. Boletín de Vigilancia Epidemiológica del IMSS, 2002. <http://www.ssa.gob.mx>
10. Ximénez, G. C.; Las Parasitosis Intestinales en México. Cuadernos Funsalud No. 36. Fundación Mexicana para la Salud; 2002; <http://www.funsalud.org.mx>.
11. Botero, D.; Restrepo, M.; Parasitosis Humanas; Ed. Corporación para Investigaciones Biológicas; Colombia; 3ª. Edición, 1999; pp. 61 – 70.

12. Horton, R.J.; Benzimidazoles in a Wormy World; *Parasitology Today*, **1990**, **6**: 106.
13. Crompton, D. W. T.; How much human helminthiasis is there in the world?; *Journal of Parasitology*, **1999**, **85**: 397 – 403.
14. Katzung, Bertram G.; Farmacología Básica y Clínica; Ed. El Manual Moderno; México, 1994, 5ª Edición; pp. 925 – 961
15. Reynoldson, J.; Behnke, M.; Gracey, M.; Horton, R.; Spargo, R.; Hopkins, R.; Constantine, C.; Gilbert, F.; Stead, C.; Hobbs, R.; Thompson, R.; Efficacy of Albendazole against *Giardia* and hookworm in a remote Aboriginal community in the north of Western Australia; *Acta Tropica*; **1998**, **71**: 27 – 44.
16. López Nigro, M.; Palermo, A.; Mudry, M.; Carballo, M.; Cytogenetic evaluation of two nitroimidazole derivatives; *Toxicology in Vitro*; **2003**, **17**: 35 – 40.
17. Navarrete-Vázquez, G.; Cedillo, R.; Hernández-Campos, A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Valdez, J.; Morales, R.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R.; Synthesis and antiparasitic activity of 2-(trifluoromethyl)-benzimidazole derivatives; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; **2001**, **11**: 187 – 190.
18. O'Handley, R.; Buret, A.; McAllister, T.; Jelinski, M.; Olson, M.; Giardiasis in dairy calves: effects of Fenbendazole treatment on intestinal structure and function; *International Journal for Parasitology*; **2001**, **31**: 73 – 79.
19. Bharti, N.; Husain, K.; Gonzalez, M.; Cruz-Vega, D.; Castro-Garza, J.; Mata-Cardenas, B.; Naqvi, F.; Azam, A.; Synthesis and *in vitro* antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone derivatives; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; **2002**, **12**: 3475 – 3478.
20. López, M.; Gadano, A.; Carballo, M.; Evaluation of genetic damage induced by a nitroimidazole derivative in human lymphocytes: Tinidazole (TNZ); *Toxicology in Vitro*; **2001**, **15**: 209 – 213.
21. Petri Jr, W.; Therapy of intestinal protozoa; *Trends in Parasitology*; **2003**, **19**(11): 523 – 526.

22. Liu, S.; Brown, D.; O'Donoghue, P.; Upcroft, P.; Upcroft, J.; Ferredoxin involvement in Metronidazole resistance of *Giardia duodenalis*; *Molecular and Biochemical Parasitology*, **2000**, **108**: 137 – 140.
23. Upcroft, J.; Upcroft, P.; Future therapeutic alternatives for combating anaerobic protozoa; *Parasitology Today*, **1998**, **6**(14): 212 – 214.
24. Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández-Campos, A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Navarrete-Vázquez, G.; Tapia, A.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R.; Synthesis and antiparasitic activity of 1*H*-benzimidazole derivatives; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; **2002**, **12**: 2221 – 2224.
25. Anand, Nitya; Approaches to design and synthesis of antiparasitic drugs; Ed. Elsevier; Holanda, 1997, 1a. Edición; pp 195 – 225.
26. Korolkovas, Andrejus; Essentials of Medicinal Chemistry; Ed. Wiley-Interscience Publication; EUA, 1988; 2ª Edición; pp. 67 – 76.
27. Kus, C.; Göker, H.; Altanlar, N.; Synthesis and antimicrobial activities of 5-fluoro-1,2,6-trisubstituted benzimidazole carboxamide and acetamide derivatives; *Archiv der Pharmazie Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, **2001**; **334**: 361 – 365.
28. Townsed, L.; Wise, D.; The synthesis and chemistry of certain antihelmintic benzimidazoles, *Parasitology Today*, **1990**, **6**(4):107.
29. Sharma, S.; Design new drugs for helminth diseases: lead optimization in benzimidazoles, *Advances in Drug Research*; **1994**, **25**: 105 – 163.
30. Sharma, S.; Abuzar Syed; The benzimidazole antihelmintics – chemistry and biological activity; *Advances in Drug Research*; **1982**: 85 – 161.
31. Lacey, E.; The role of the cytoskeletal protein, tubulin in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles; *International Journal for Parasitology*, **1998**, **18**(7): 885.

32. Boray, J.; Crowfoot, P.; Strong, M.; Schellenbaum, M.; Vonorelli, M.; Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with Triclabendazole; *Veterinary Record*, **1983**, **113**: 315 – 317.
33. Turner, K.; Armour, J.; Richards, R.; Antihelmintic efficacy of Triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheeps; *Veterinary Record*, **1984**, **114**: 41 – 42.
34. Hernández Campos, A.; Ibarra velarde, F.; Vera Montenegro, Y.; Rivera Fernández, N.; Castillo, R.; Synthesis and fasciolicidal activity of 5-chloro-2-methylthio-6-(1-naphthyloxy)-1H-benzimidazole; *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, **2002**, **50**(5):649 – 652.
35. Gupta, S.; Khan, A.; Jain, M.; katiyar, J.; Antihelmintic profile of methyl 5(6)-(4-methylpiperidin-1-yl)carbonylbenzimidazole-2-carbamate in experimental helminthiases, *Indian Journal of Experimental Biology*, **1990**, **28**: 475.
36. Hernández Campos, A.; Castillo R.; Hernández, F.; González, M.; Yépez, L.; Cedillo, R.; Synthesis and antihelmintic activity of novel 5-(aminocarbonyl)benzimidazole derivates; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2002**, **12**: 2221.
37. Sánchez Díaz, M.; Tesis de Maestría. Síntesis de derivados del 1-metilbencimidazol con actividad antihelmíntica potencial. Facultad de Química, UNAM, México, D.F.; 1999.
38. Grimmett, Ross; Imidazole and Benzimidazole Synthesis; Ed. Academic Press; Inglaterra, 1997, 1ª Edición; pp. 19 – 32.
39. Katritzky, A.R.; Rachwal, S.; New routes to selectively methylated benzimidazoles; *Journal Heterocyclic Chemistry*, **1994**, **31**: 775.
40. Middleton, R.W.; Monney, H.; N-Methylation of Heterocycles with Dimethylformamide Dimethyl Acetal; *Synthesis Communications*, **1984**: 740 – 743.
41. Kasturi. T.R.; Jois, H.R.; Mathew, L.; A novel transformation of 3-alkoxyisoquinolines to 3-chloroisoquinolines and a unusual decyanation of 1,3-dialkoxy-4-cyano-5,6,7,8-tetrahydroisoquinolines under Vilsmeier-Haack Conditions; *Synthesis Communications*; **1987**: 708 – 715.

42. Kunishima, M.; Kawachi, C.; Hioki, K.; Terao, T.; Tani, S.; Formation of carboxamides by direct condensation of carboxylic acids and amines in alcohols using a new-alcohol and water-soluble condensing agent: DMT-MM; *Tetrahedron Letters*; **2001**, **57**: 1551 – 1558.
43. Mc.Murry; *Química Orgánica*; 1999; Ed. Iberoamericana; pp. 781 – 793.
44. Solomons, G.; *Fundamentos de Química Orgánica*; Ed. Limusa, México, 1990.
45. Pine, S.; Hedrickson, J.; Cram, D.J.; Hammond, G.S.; *Química Orgánica*, 4ª. Edición; Ed. McGrawHill; pp. 346 – 348.
46. Fox, M.; Whitesell, J.; *Química Orgánica*; Ed. Pearson Educación; México, 2000, 2ª. Edición; pp. 504 – 505.
47. Staab, H. A.; Shyntesen mit heterocyclischen amidien (Azoliden); *Angew Chemistry*, **1962**, **12**: 407 – 423.
48. Smith, Michael; March Jerry; *March's Advanced Organic Chemistry*; Ed. Wiley-Interscience Publication Jhon Wiley and Sons, Inc.; Canada, 2001, 5ª Edición; pp. 696 – 698.
49. <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx>
50. Cedillo, R.; Chávez, B.; González, A.; Tapia, A.; Yépez, L.; *In vitro* effect of Nitazoxanide against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis* trophozoites; *Journal Eukaryot Microbiology*, **2002**, **49**(3): 201 – 208.
51. Basilio Espeites, P. Tesis de Licenciatura. Evaluación de la actividad biológica de compuestos derivados del Triclabendazol empleando a *T. spiralis* como modelo experimental. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México, D.F., 1998.
52. Cedillo-Rivera, R.; Ramírez, A.; Muñóz, O.; A rapid colorimetric assay with the tetrazolium SALT MTT and phenazine methasulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*; *Archives of Medical Research*; **1992**, **23**: 59 – 61.

53. Rossignol, J.F.; Maisonneuve, H.; Cho, Y.; Nitroimidazoles in the treatment of trichomoniasis, giardiasis and amebiasis; *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*; **1984**, **22**: 6372.
54. Towson, D.H. & Morris, D.L.; *Onchocerca gutturosa* and *O. volvulus*: studies on the viability and drug responses of cryopreserved adult worms *in vitro*; *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine & Hygiene*; **1989**, **83**: 664 – 669.
55. Dennis, D.T.; Despommier, D.; Davis, N.; Infectivity of the newborn larva of *Trichinella spiralis* in the rat; *Journal of Parasitology*; **1970**, **56**: 974 – 977.
56. Leonard, Lygo, Procter; *Advanced Practical Organic Chemistry*; Ed. Blackie Academic & Professional; 2ª Edición; 204 – 223.
57. Sandoval Rivera, E.; Tesis de Licenciatura. Síntesis de carboxamidas 1-metilbencimidazólicas con potencial actividad antiparasitaria. Facultad de Química, UNAM.; México, D.F., 2003.
58. Rodríguez Morales, S.; Tesis de Maestría. Síntesis y actividad biológica de *N*-fenilcarbamatos de metilo 4-sustituidos como antihelmínticos y herbicidas. Facultad de Química, UNAM.; México, D.F., 1998.
59. Islas Fonseca, Y.; Tesis de Licenciatura. Síntesis alterna de dos 1-metil-6-carboxamidas con potencial actividad antiparasitaria. Facultad de Química, UNAM.; México, D.F., 2003.
60. López Balbiaux, N.; Tesis de Licenciatura. Síntesis y actividad antiparasitaria de nuevos derivados bencimidazólicos 1-metilados. Facultad de Química, UNAM.; México, D.F., 2003.

APÉNDICE A. PARTE EXPERIMENTAL

A.a. INSTRUMENTACIÓN

- Las hidrogenaciones catalíticas se realizaron en un hidrogenador marca Parr Modelo 3916EG con 60 lb/in² y 80°C como capacidad máxima, adaptado a un tanque de hidrógeno INFRA y como catalizador Ni-Raney marca Aldrich.
- Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato Büchi Modelo B-540, utilizando capilares de vidrio y no están corregidos.
- La concentración de las soluciones se llevó a cabo en un rotaevaporador marca Büchi Modelo R-144 con vacío generado con bomba de vacío marca GAST modelo 0523-V4F y compresora VWR Scientific Modelo 1107.
- Los espectros de masas por Impacto Electrónico (IE) se determinaron por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM), por Introducción Directa de la muestra (ID) o mediante la técnica de FAB+1, en un aparato marca Jeol Modelo JMS-SX102A. La simbología utilizada es M⁺ = ion molecular, m/z = relación masa/carga y p.b. = pico base.
- Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier, marca Pekín Elmer Modelo 1605, en pastilla de bromuro de potasio. Las señales se reportan en cm⁻¹.
- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN ¹H), de 300 MHz así como la técnica de NOE diferencial, se determinaron en un equipo Varian Modelo VRX-300 MHz utilizando como disolventes sulfóxido de dimetilo deuterado (DMSO-d₆), acetona deuterada (acetona-d₆) y deuterocloroformo (CDCl₃). Como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm). La simbología empleada es: s = singulete, d = doblete, sd = singulete doblete, sa = singulete amplio, dd = doble de dobles, m = multiplete.

A.b. CROMATOLOGRAFÍA

- El avance de las reacciones y la pureza de los compuestos se analizó por cromatografía en capa delgada (CCD), utilizando placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60, GF-254

(Merck). Los compuestos orgánicos se visualizaron con luz ultravioleta (UV) y/o por exposición a vapores de yodo. Los sistemas de elución utilizados fueron los siguientes:

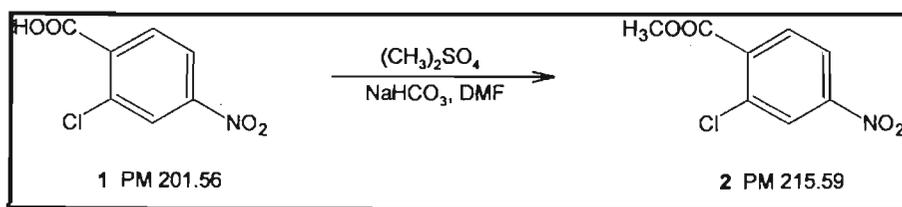
Sistema	Composición	Proporción
I	Cloroformo-Metanol	95:5
II	Hexano-Cloroformo-Acetato de Etilo	50:35:15
III	Cloroformo-Acetona	65:35
IV	Cloroformo-Metanol	80:20

- Para la separación cromatográfica por la técnica de Cromatografía en Columna Flash se utilizó una columna de vidrio empacada con gel de sílice 60 (Merck), con un tamaño de partícula de 0.04 – 0.063 mm y malla 230 – 400. La velocidad de flujo se ajustó a 0.07 in²/min mediante una bomba calibrada a 4.0 lb/in² de presión.

A.c. TÉCNICAS PARA LA PREPARACIÓN DE INTERMEDIARIOS Y PRODUCTOS FINALES

2-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (2)

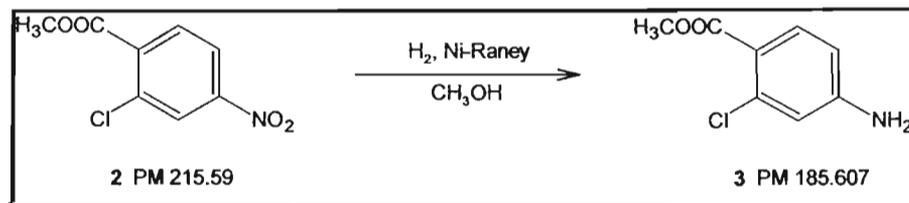
Esterificación



En un matraz de 1 L con 3 bocas, provisto de termómetro, columna Vigreux y embudo de adición, se disolvieron 50 g (0.2481 mol) del ácido 2-cloro-4-nitrobenzoico (1) en 150 mL de DMF a 50°C. Posteriormente, se adicionaron 41.7 g (2 equivalentes, 0.4962 mol) de NaHCO₃ en suspensión acuosa; se verificó que el pH estuviera en 7 y se agregaron, gota a gota, 35.2 mL (1.5 equivalentes, 0.3722 mol) de sulfato de dimetilo, a una temperatura de 60-62°C. Terminada la adición, se dejó reaccionando por 20 minutos. Después de este tiempo, la CCD indicó el consumo total de 1 (Rf = 0.64, Sistema I), por lo que la mezcla de reacción se vertió en agua, se filtró al vacío y se lavó repetidas veces con agua. El producto crudo, un sólido color amarillo claro, pesó 52.2 g (97.61%); una pequeña parte se recristalizó de EtOH dando unos cristales amarillos brillantes (93.12%) con p.f. de 76-76.5°C.

4-amino-2-clorobenzoato de metilo (3)

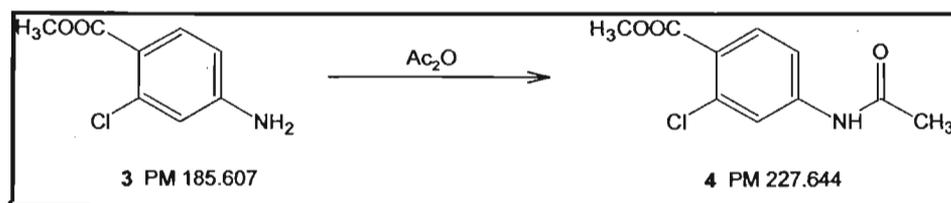
Hidrogenación catalítica



En un frasco de hidrogenación de 500 mL se suspendieron 30 g (0.1392 mol) de 2-cloro-4-nitrobenzoato de metilo (**2**) y 9 g (30%) de catalizador Ni-Raney, previamente lavado con agua y MeOH, en 230 mL de MeOH. El frasco se colocó en el hidrogenador y se purgó mediante tres lavados de 30 lb/in² de hidrógeno; después, el frasco se cargó con hidrógeno hasta una presión de 60 lb/in². La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente por 4 horas, consumiéndose 685 lb/in² de hidrógeno. La suspensión translúcida, incolora, se filtró con vacío a través de un Büchner con celita. El filtrado resultante se concentró en el rotaevaporador dando 25.8 g (99.86 %) de un sólido blanco con R_f = 0.55 (Sistema I). Una pequeña parte se recrystalizó de agua obteniéndose de esta forma un sólido blanco cristalino (92.34%) con un p.f. de 108.5-109.5°C

4-Acetamido-2-clorobenzoato de metilo (4)

Acetilación

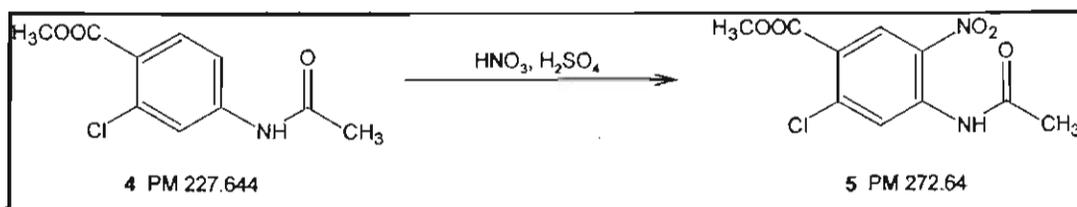


En un vaso de precipitados de 250 mL, provisto de termómetro, varilla de agitación de teflón y baño de agua con hielo, se colocaron 26.6 g (0.1433 mol) del 4-amino-2-clorobenzoato de metilo (**3**) y se le adicionaron 90 mL de anhídrido acético con agitación vigorosa, sin que la temperatura rebasara los 40°C, luego, se dejó reaccionar por 20 minutos. Después de este tiempo, la CCD reveló el consumo total de la materia prima, por lo que la mezcla de reacción se vertió en 300 mL de agua helada. El sólido blanco que precipitó se separó por filtración con vacío, se lavó con agua

y se dejó secar al aire. El producto crudo con un $R_f = 0.38$ (Sistema I) pesó 31.6 g (96.86%). Una pequeña parte se recrystalizó de tolueno. El p.f. determinado fue de 114.8 – 115.4°C.

4-Acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (5)

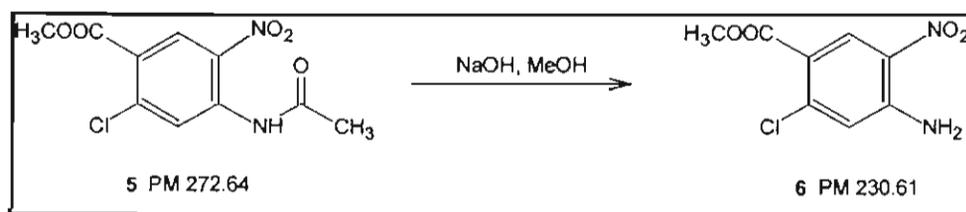
Nitración con ácido nítrico/ácido sulfúrico



En un vaso de precipitados de 250 mL, acondicionado con termómetro, embudo de adición y sumergido en un baño de hielo con sal, se disolvieron 30 g (0.1318 mol) del 4-acetamido-2-clorobenzoato de metilo (**4**) en 60 mL de H₂SO₄ concentrado, a una temperatura entre 0-3°C. Una vez disuelto el sustrato, se le adicionaron poco a poco 20 mL de ácido nítrico concentrado. La adición del HNO₃ se hizo de tal manera que la temperatura no rebasara los 3-5°C (aproximadamente 2 h). Después de este tiempo, la CCD indicó el consumo total de **4** y la formación de dos productos en la relación de 8:2, por lo que la mezcla se vertió sobre 200 mL de agua con hielo picado. El sólido que precipitó se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se dejó secar al aire. Se obtuvieron 35.94 g (100 %) de un sólido amarillo claro. El producto crudo se recrystalizó de AcOEt dando unos cristales amarillos brillantes con un $R_f = 0.72$ (Sistema I), los cuales pesaron 29.0 g (80.70 %). El p.f. determinado fue de 138.9 – 139.7°C.

4-Amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6)

Hidrólisis

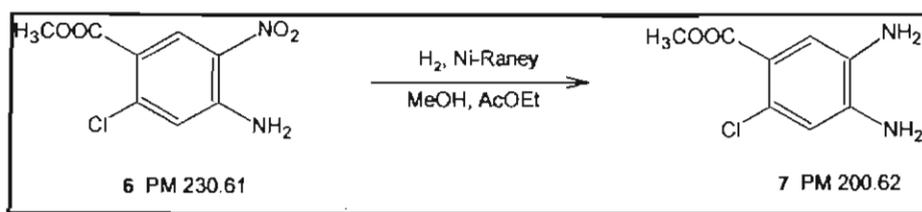


En un vaso de precipitados de 1 L, adaptado con termómetro y agitación magnética, se suspendieron 58.6 g (0.2149 mol) del 4-acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (**5**) en 586 mL de MeOH. Después, la mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente y con agitación

constante se le incorporaron 8.6 g (1 equivalente) de NaOH acuoso (1:1), cuidando que la temperatura no se elevara más de 40°C. Después de 20 minutos se formó un precipitado. Una CCD mostró el consumo total de materia prima. La mezcla se filtró con succión y se lavó con MeOH frío repetidas veces. De esta forma se obtuvieron 42.4 g (85.54%) de un sólido color amarillo limón, que en CCD presentó una sola mancha (Rf = 0.64, Sistema I). Una pequeña parte se recrystalizó de EtOH dando 92.13% de rendimiento. El p.f. encontrado fue de 219.9 – 221°C

4,5-Diamino-2-clorobenzoato de metilo (7)

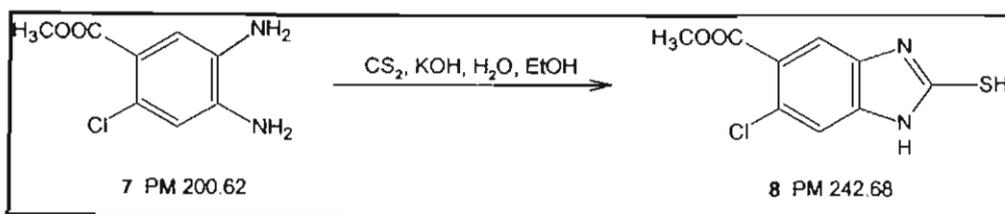
Reducción catalítica



En un frasco de hidrogenación de 500 mL se suspendieron 15 g (0.0650 mol) del 4-amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6) en una mezcla de MeOH/AcOEt (150 mL/100 mL) y 4.5 g (30%) de catalizador Ni-Raney, previamente lavado 3 veces con agua y MeOH. Una vez instalado el frasco en el sistema de hidrogenación, se le colocó una camisa de calentamiento, la cual sólo se usó para conservar el calor de la reacción, el aire del matraz se eliminó por tres lavados de aproximadamente 30 lb/in² de hidrógeno. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente por 2½ horas, consumiéndose 355 lb/in² de hidrógeno. La CCD reveló una mancha principal con un Rf = 0.23 (Sistema I), por lo que la mezcla de reacción se procesó filtrando el catalizador al vacío, el filtrado resultante se concentró en el rotaevaporador, obteniéndose un sólido color morado, el cual pesó 12.9 g (98.92%).

6-Cloro-2-mercapto-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (8)

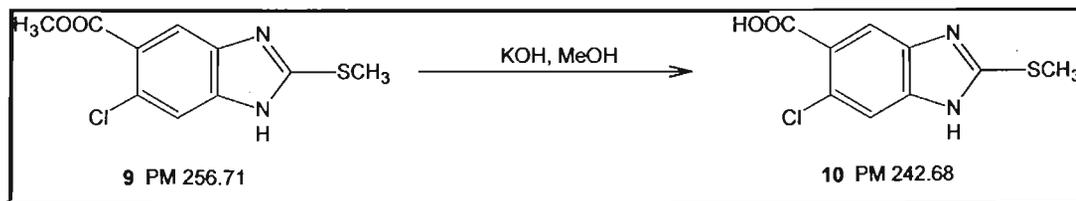
Ciclocondensación



claro que pesó 10.16 g (96.06%), con un $R_f = 0.38$ (Sistema I). Una parte del producto crudo se recrystalizó de etanol dando cristales blancos con un rendimiento de 86.42%, con un p.f. de 91.4 – 92.3°C.

Ácido 6-cloro-2-metiltio-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (10)

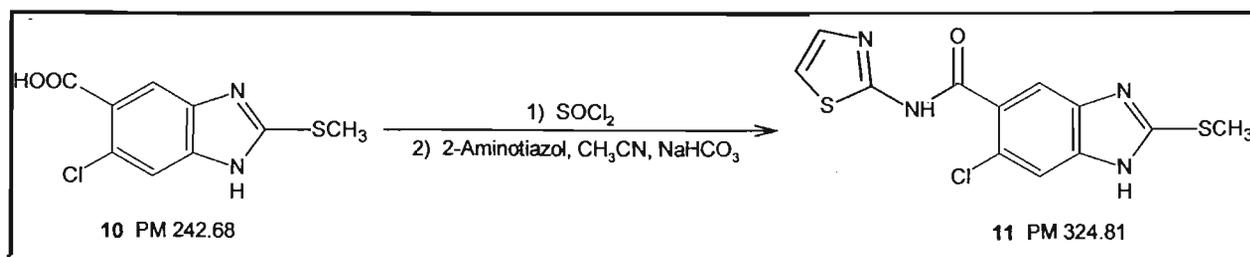
Hidrólisis



En un matraz “Kontes Taper” de 100 mL con 3 bocas, acondicionado con termómetro, embudo de adición y condensador en posición de reflujo, se suspendieron 8.2 g (0.0319 mol) del compuesto 9 en 32.8 mL de MeOH. A temperatura ambiente se adicionaron 3.6 g (2 equivalentes, 0.0639 mol) de KOH en solución acuosa (1:1) y se observó disolución total del sustrato en el medio de reacción. Posteriormente, la mezcla se calentó a 60 – 65°C por 1 ½ horas. Después de consumida toda la materia prima, la reacción se vertió en 120 mL de agua y se aciduló con H₂SO₄ al 20% a pH de 4. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire, dando 7.36 g (95.50%) de un sólido color crema que analizado por CCD presentó una mancha con $R_f = 0.06$ (Sistema I). Una parte del producto crudo se recrystalizó de etanol dando unos cristales blancos brillantes con un rendimiento de 88.62%. El punto de fusión determinado fue de 220.1 – 221°C.

6-Cloro-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (11)

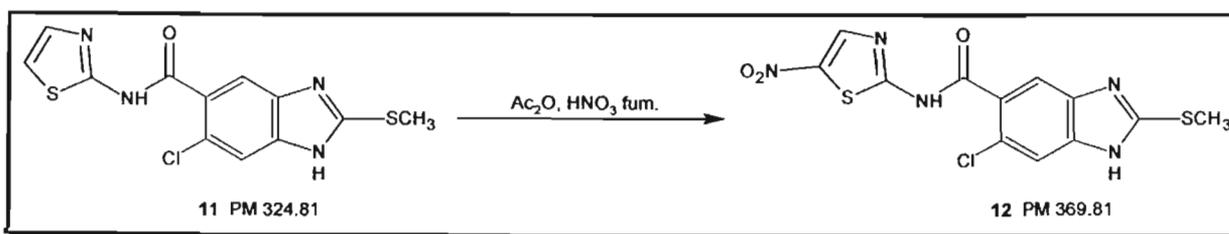
Sustitución



En un matraz bola de 50 mL con dos bocas, provisto de termómetro, un condensador en posición de reflujo acondicionado con trampas de NaOH y sumergido en un baño de aceite, se mezclaron 1 g (0.0041 mol) del compuesto **10** seco y 1.8 mL de SOCl₂ (6 equivalentes, 0.0246 mol). Posteriormente se calentó a 50 – 60°C y se mantuvo en agitación por 3 horas. Una CCD reveló la ausencia de materia prima, lo que indicó que se había formado el cloruro del ácido. El exceso de SOCl₂ se eliminó por codestilación con benceno (4 x 25 mL). Después, la mezcla seca inmediatamente se sometió a la siguiente reacción. Al matraz, conteniendo al cloruro de ácido, se le acondicionó con un refrigerante en posición de reflujo, termómetro y trampa de humedad. Después se le agregaron 12 mL de acetonitrilo, 0.7 g (0.008 mol) de NaHCO₃ y 0.3 g (0.8 equivalentes, 0.003 mol) de 2-aminotiazol. La mezcla se calentó a 65 – 70°C y se mantuvo en agitación por 4 horas. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con acetonitrilo y se secó al aire. El sólido seco se resuspendió en agua para eliminar el excedente de bicarbonato de sodio, la suspensión se filtró al vacío, se lavó con agua y se secó al aire dando 0.952 g (71.13%) de un sólido color café claro, que analizado por CCD presentó una mancha con R_f = 0.36 (Sistema III). El producto crudo se recrystalizó de etanol dando un sólido blanco con un rendimiento de 71.57%. El punto de fusión determinado fue de 224.3 – 225.1°C.

6-Cloro-2-(metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (12)

Nitración con nitrato de acetilo



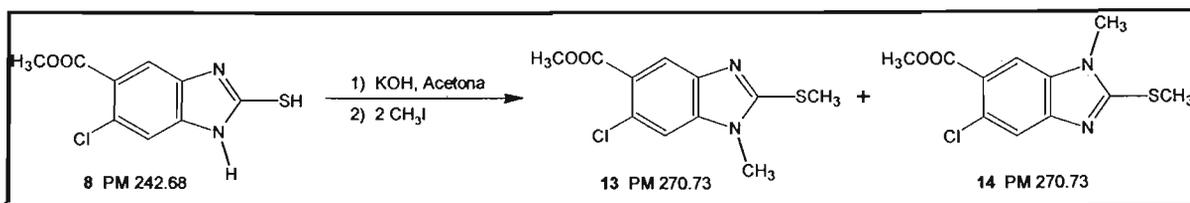
En un vaso de precipitados de 10 mL, acondicionado con termómetro y agitación magnética, se suspendieron 0.2 g (0.0006 mol) del compuesto **11** en 5 mL de anhídrido acético. Posteriormente se le adicionaron, poco a poco, 0.05 mL (2 equivalentes, 0.0012 mol) de ácido nítrico fumante. Una vez terminada la adición, se calentó hasta una temperatura de 40-50°C por aproximadamente 4 horas. Después, una CCD mostró la formación de un solo producto de reacción, así como una pequeña cantidad de materia prima menor al 5%. Seguidamente, la mezcla se vertió en 20 mL de agua helada, se mantuvo en agitación y luego se calentó a 30°C por 15 minutos, para eliminar el posible producto de acetilación. Enseguida, la mezcla se neutralizó y el sólido formado se separó por filtración al vacío y se lavó con agua. De esta forma se obtuvieron 0.1827 g de un sólido

amarillo-naranja (80.23%). El producto se recristalizó de EtOH-DMF dando unos cristales de color amarillo-naranja claro que pesaron 0.1184 g (64.82%) y con un $R_f = 0.47$ (Sistema IV). El p.f. determinado fue de 217.5 – 218.5°C.

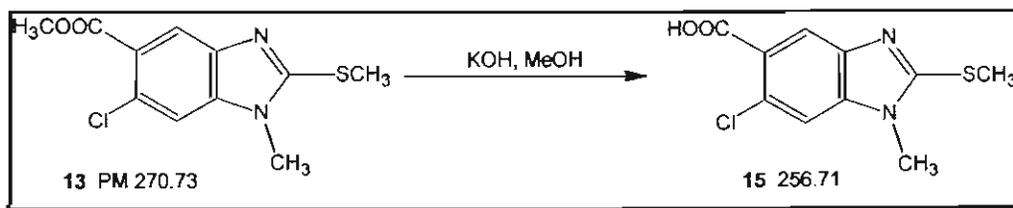
6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13)

5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (14)

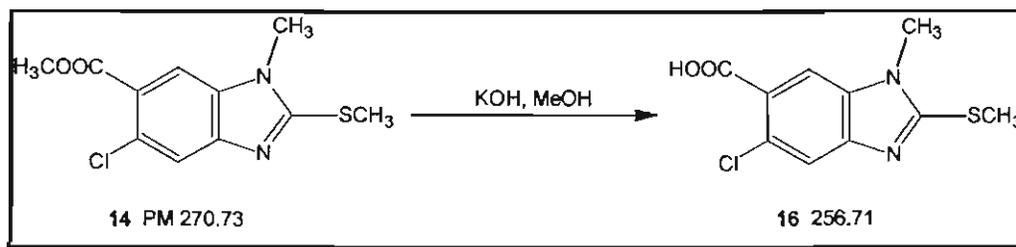
Dimetilación



En un matraz bola de 250 mL, provisto de termómetro, embudo de adición, atmósfera de nitrógeno y sumergido en un baño de agua helada, se disolvieron 50 g (0.2060 mol) del compuesto **8** en 350 mL de acetona junto con 24.3 g (2.1 eq, 0.433 mol) de KOH acuosa (1:1). Posteriormente, a una temperatura de 10-12°C, se adicionaron, gota a gota, 27 mL (2.1 eq, 0.433 mol) de CH₃I. Terminada la adición, se dejó en agitación por 3 horas. La CCD reveló la presencia de los dos productos, así como la ausencia de materia prima, por lo que la mezcla de reacción se vertió en 750 mL de agua fría, se ajustó el pH con ácido acético hasta un valor neutro. El sólido formado se separó por filtración al vacío y se lavó repetidas veces con agua. El producto crudo obtenido fue una mezcla de dos sólidos de color café oscuro, cuyo peso fue de 48.3 g (86.61%). Al analizar la mezcla por CCD se observaron 2 manchas con un $R_{f1} = 0.39$ y $R_{f2} = 0.43$ (Sistema II). 5 g del producto crudo se sometieron a una cromatografía en columna flash, utilizando CHCl₃ como fase móvil y gel de sílice como fase estacionaria, con un flujo de 0.7 in/min. Se obtuvieron 1.5 g (30%) del compuesto con R_f mayor y 2.2 g (44%) del otro con el R_f menor. Cada uno se recristalizó de etanol. Se obtuvieron unos cristales blancos brillantes para el caso del isómero (**14**) con el $R_f = 0.43$ (Sistema II), los cuales fundieron a 125.6 – 127°C; mientras que para el isómero (**13**) con $R_f = 0.39$ (Sistema III), se obtuvieron unos cristales blancos nacarados cuyo p.f. fue de 113.3 – 114.3°C.

Ácido 6-cloro-1-metil-2-metiltio-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (15)*Hidrólisis*

En un matraz "Kontes Taper" de 100 mL con 3 bocas, acondicionado con termómetro, embudo de adición y condensador en posición de reflujo, se suspendieron 8.2 g (0.0303 mol) del éster **13** en 33 mL de MeOH. A temperatura ambiente se adicionaron 3.4 g (2 equivalentes, 0.0606 mol) de KOH en solución acuosa (1:1), se observó disolución total del sustrato en el medio de reacción. Posteriormente, la mezcla se calentó a 60-65°C por 2 horas. Consumida la materia prima, la reacción se vertió en 120 mL de agua y se aciduló con ácido acético al 20% a pH de 4. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire dando 4 g (51.44%) de un sólido amarillo claro, que analizado por CCD presentó una mancha con $R_f = 0.02$ (Sistema I). Una parte del producto crudo se recristalizó de etanol dando unos cristales amarillo claro brillantes con un rendimiento de 92.11%. El punto de fusión fue de 252 – 253°C.

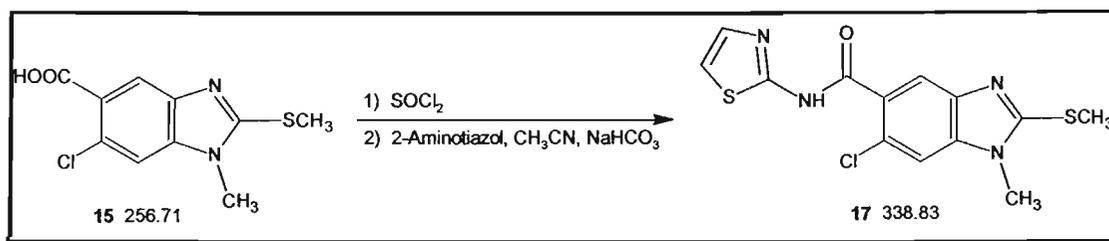
Ácido 5-cloro-1-metil-2-metiltio-1*H*-bencimidazol-6-carboxílico (16)*Hidrólisis*

En un matraz "Kontes Taper" de 50 mL con 3 bocas, acondicionado con termómetro, embudo de adición y condensador en posición de reflujo, se suspendieron 4 g (0.0148 mol) del éster **14** en 18 mL de MeOH. A temperatura ambiente y con agitación constante se incorporaron 1.7 g (2 equivalentes, 0.0296 mol) de KOH acuoso (1:1), después, la reacción se calentó a una temperatura de 60-65°C por 2 horas. Una CCD mostró el consumo total de materia prima, por lo que la reacción se vertió en 70 mL de agua y se aciduló con ácido acético al 20% a pH de 4. El

sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. De esta forma se obtuvieron 3.5 g (92.28%) de un sólido color blanco que en CCD presentó una sola mancha ($R_f = 0.02$, Sistema I). Una pequeña parte se recrystalizó de EtOH dando 90.47% de rendimiento. El p.f. encontrado fue de 300.8 – 301.1 °C

6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (17)

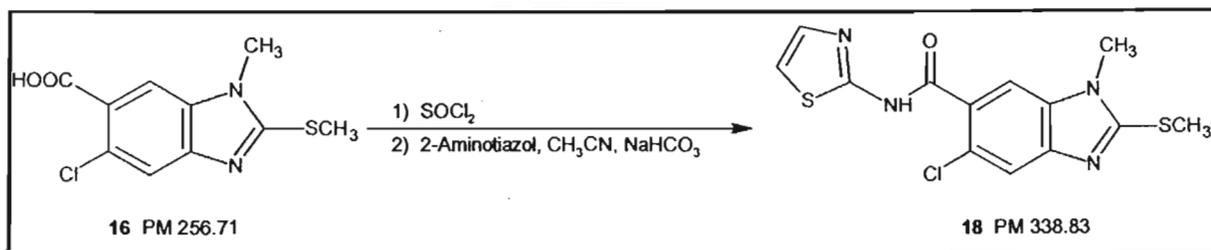
Sustitución



En un matraz bola de 50 mL con dos bocas, provisto de termómetro, un refrigerante en posición de reflujo acondicionado con trampas de NaOH y sumergido en un baño de aceite, se mezclaron 1 g (0.0039 mol) del compuesto 15 seco y 1.7 mL de SOCl_2 (6 equivalentes, 0.0234 mol). Posteriormente, la mezcla se calentó a 50 – 55°C por 3 horas. Una CCD reveló la ausencia de materia prima, lo que indicó que se había formado el cloruro del ácido. El exceso de SOCl_2 se eliminó por codestilación con benceno (4 x 25 mL). Después, la mezcla seca se sometió a la siguiente reacción. Al matraz con el producto, se le adicionaron 12 mL de acetonitrilo, 0.7 g (2 equivalentes, 0.008 mol) de NaHCO_3 y 0.3 g (0.8 equivalentes, 0.003 mol) de 2-aminotiazol en condiciones anhidras. La mezcla de reacción se calentó a 65 – 70°C por 4 horas. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con acetonitrilo y se secó al aire. El sólido seco se resuspendió en agua para eliminar el excedente de bicarbonato de sodio, la suspensión se filtró al vacío, se lavó con agua y se secó al aire, dando 0.6618 g (50.14%) de un sólido color café claro, que analizado por CCD presentó una mancha con $R_f = 0.50$ (Sistema I). Una parte del producto crudo se recrystalizó de acetato de etilo, dando un sólido blanco nacarado con un rendimiento de 98.51%. El punto de fusión fue de 307 – 308°C.

5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (18)

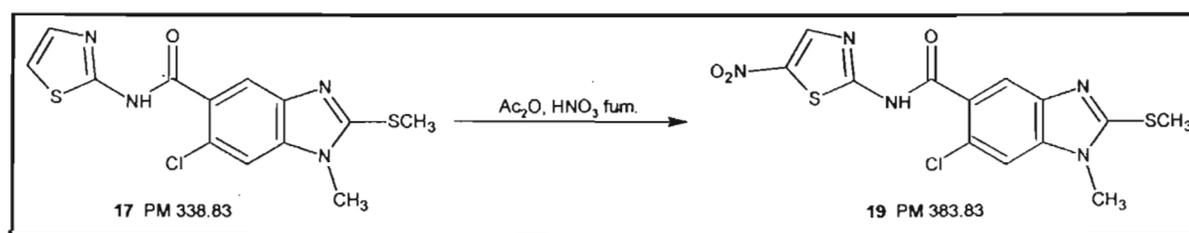
Sustitución



En un matraz bola de 50 mL con dos bocas, provisto de termómetro, un refrigerante en posición de reflujo acondicionado con trampas de NaOH y sumergido en un baño de aceite, se colocaron 1 g (0.0039 mol) del compuesto **16** seco y 1.7 mL de SOCl_2 (6 equivalentes, 0.0234 mol). Posteriormente, la mezcla se calentó a 50 – 55°C por 3 horas. Una CCD reveló la ausencia de materia prima, lo que indicó que se había formado el cloruro del ácido. El exceso de SOCl_2 se eliminó por codestilación con benceno (4 x 25 mL). Después, la mezcla seca se sometió a la siguiente reacción. Al matraz, se le adicionaron 12 mL de acetonitrilo, 0.7 g (2 equivalentes, 0.008 mol) de NaHCO_3 y 0.3 g (0.8 equivalentes, 0.003 mol) de 2-aminotiazol en condiciones anhidras, se calentó a 70°C y se mantuvo en agitación por 4 horas. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con acetonitrilo y se secó al aire. El sólido seco se resuspendió en agua para eliminar el excedente de bicarbonato de sodio, la suspensión se filtró al vacío, se lavó con agua y se secó al aire dando 0.8302 g (62.89%) de un sólido color café claro, que analizado por CCD presentó una mancha con $R_f = 0.46$ (Sistema I). Una parte del producto crudo se recristalizó de acetato de etilo dando un sólido blanco nacarado con un rendimiento de 97.38%. El punto de fusión fue de 250 – 251°C.

6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (19)

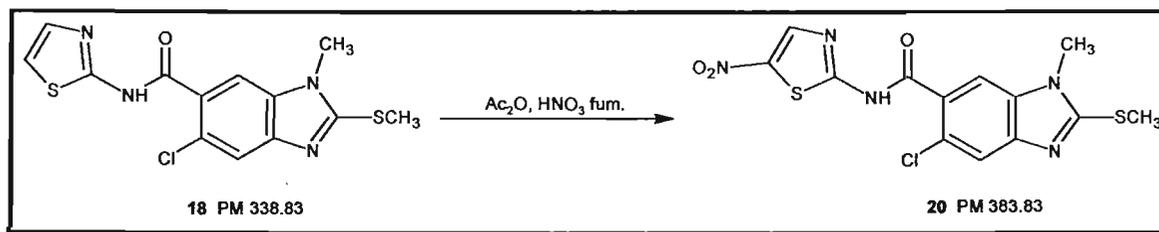
Nitración con ácido nítrico fumante



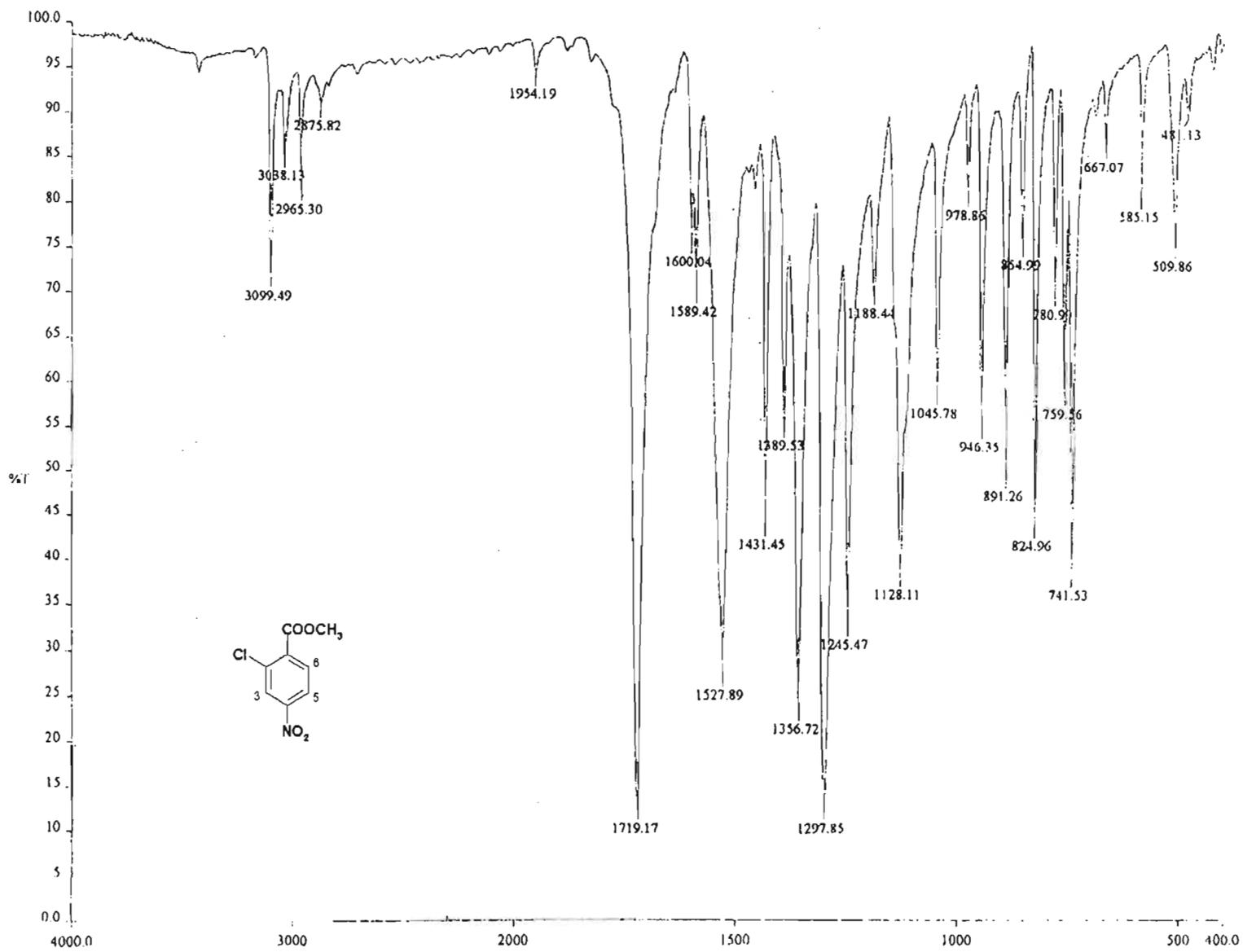
En un vaso de precipitados de 10 mL, acondicionado con termómetro y agitación magnética, se suspendieron 0.2 g (0.0006 mol) del compuesto **17** en 3 mL de anhídrido acético. Posteriormente, se adicionó, poco a poco, y a temperatura ambiente, 0.05 mL (2 equivalentes, 0.0012 mol) de ácido nítrico fumante. Una vez terminada la adición, se calentó hasta una temperatura de 50-60°C por aproximadamente 4 horas; después, se realizó una CCD donde se mostró la formación de un solo producto de reacción, así como una pequeña cantidad de materia prima, menor al 10%. La mezcla se vertió en 20 mL de agua helada y se mantuvo en agitación por 15 minutos para eliminar el posible producto de acetilación. Posteriormente, la mezcla se neutralizó con una solución de NaOH al 25% y el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron 0.1563 g de un sólido amarillo canario (67.87%). El producto crudo se recristalizó de EtOH-DMF, dando un sólido amarillo canario que pesó 0.0912 g (58.35%). La CCD presentó una mancha con Rf = 0.31 (Sistema I). El p.f. fue de 275.5 – 276.5°C.

5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-6-carboxamida (20)

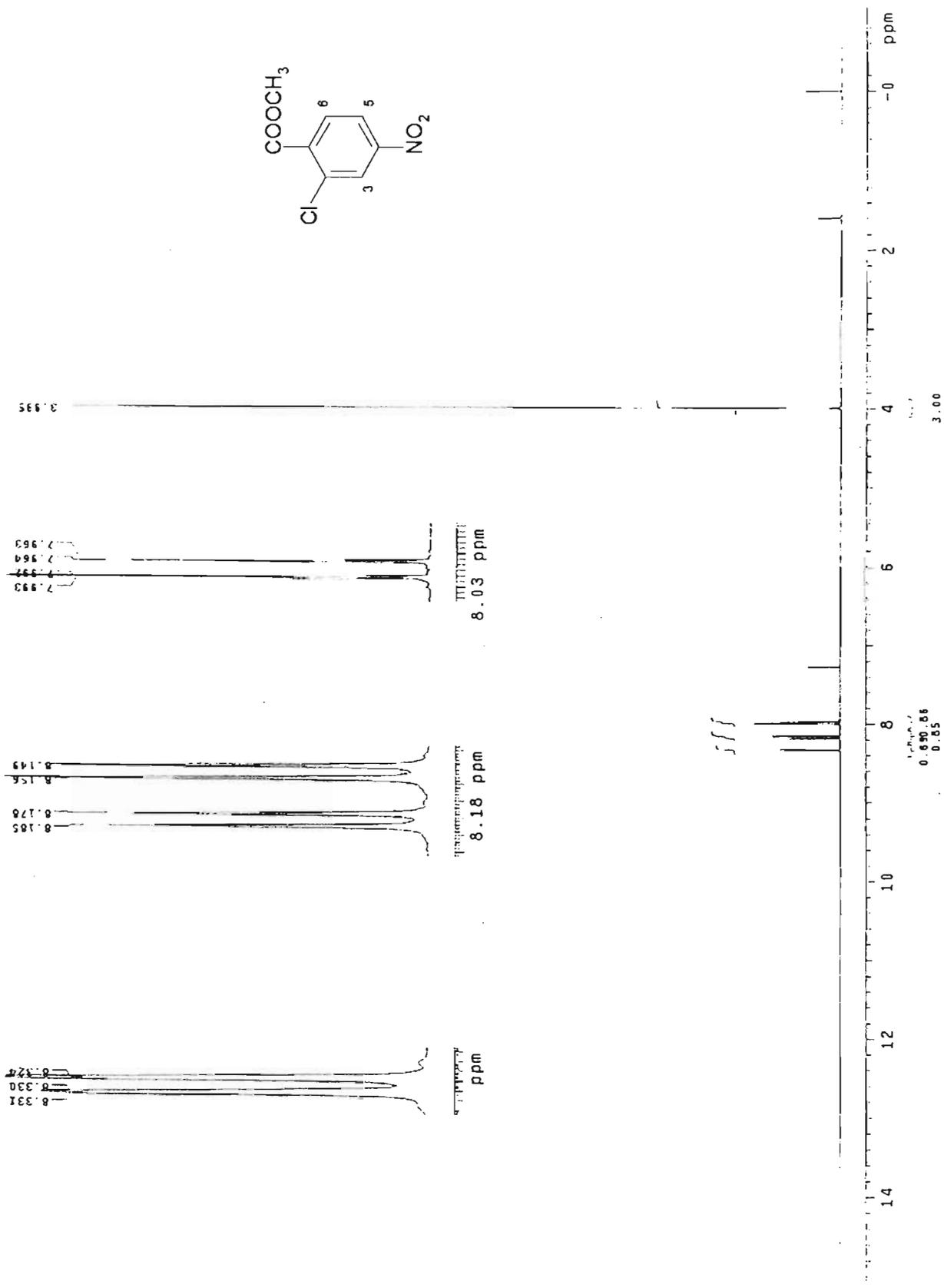
Nitración con ácido nítrico fumante



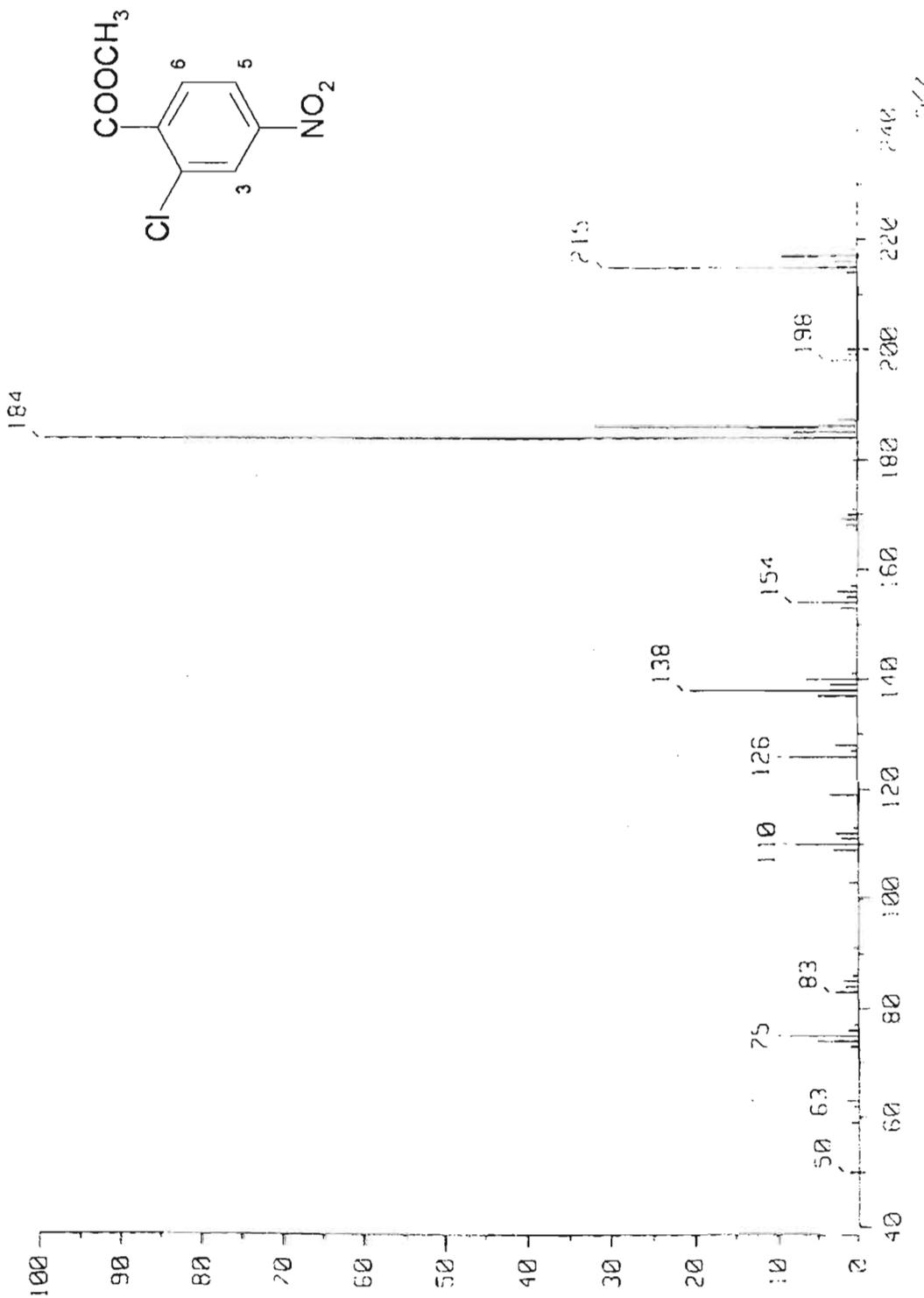
En un vaso de precipitados de 10 mL, acondicionado con termómetro y agitación magnética, se suspendieron 0.2 g (0.0006 mol) del compuesto **18** en 3 mL de anhídrido acético. Posteriormente, se le adicionaron, poco a poco, y a temperatura ambiente, 0.05 mL (2 equivalentes, 0.0012 mol) de ácido nítrico fumante. Una vez terminada la adición, se calentó hasta una temperatura de 60°C por aproximadamente 5 horas; después, se realizó una CCD donde se mostró la formación de un solo producto de reacción así como una pequeña cantidad de materia prima, menor al 5%. La mezcla se vertió en 20 mL de agua helada y se mantuvo en agitación por 15 minutos para eliminar el posible producto de acetilación. Posteriormente, la mezcla se neutralizó con una solución de NaOH al 25% y el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron 0.1614 g de un sólido amarillo oscuro (70.08%). Todo el producto crudo se recristalizó de EtOH-DMF dando un sólido amarillo canario que pesó 0.0535 g (33.15%) y con un Rf = 0.30 (Sistema I). El p.f. fue de 259.6 – 260.4°C.



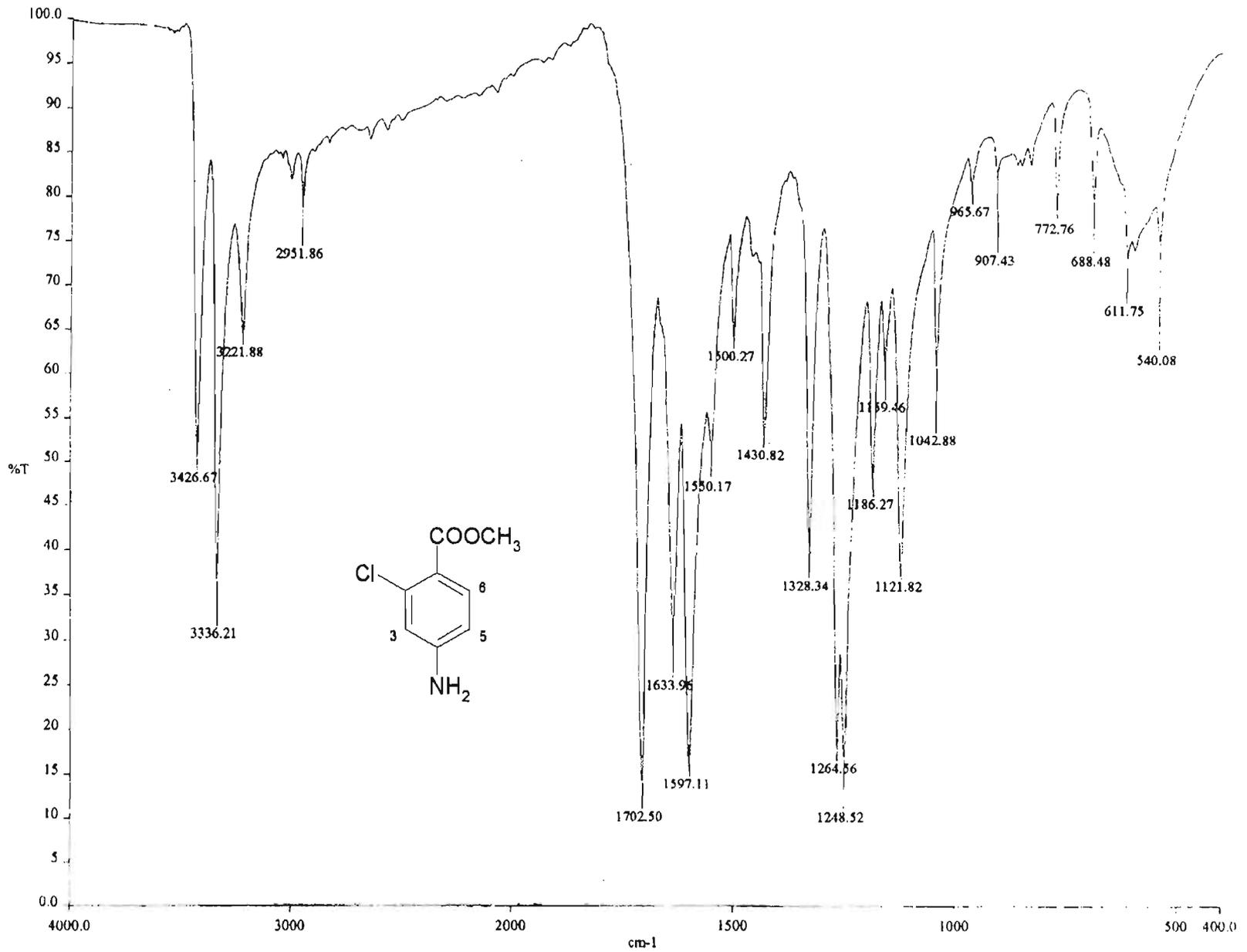
Espectro 1, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1} : 2-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (2).



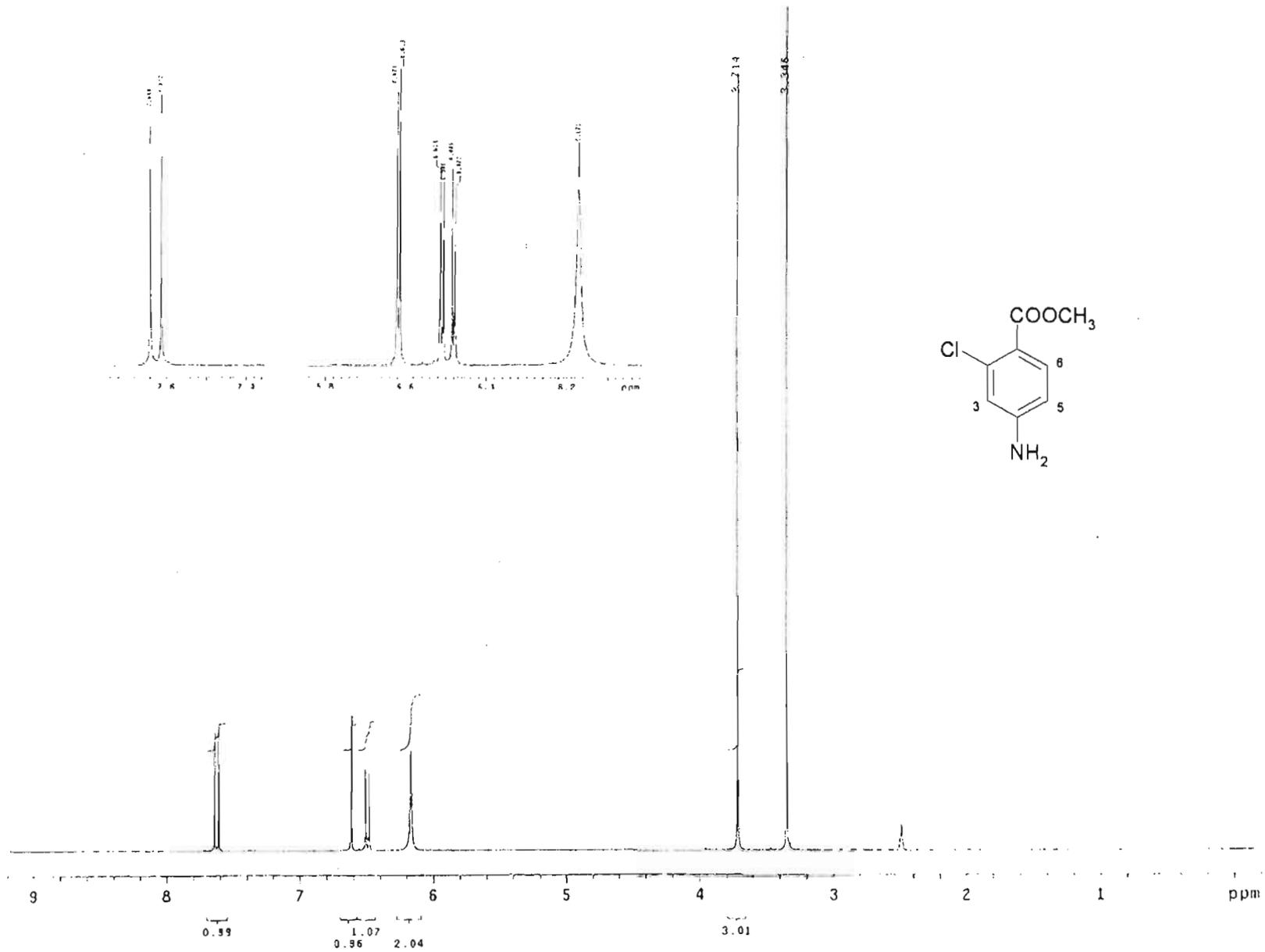
Espectro 2, RMN¹H. (TMS, CDCl₃) ppm: 2-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (2).



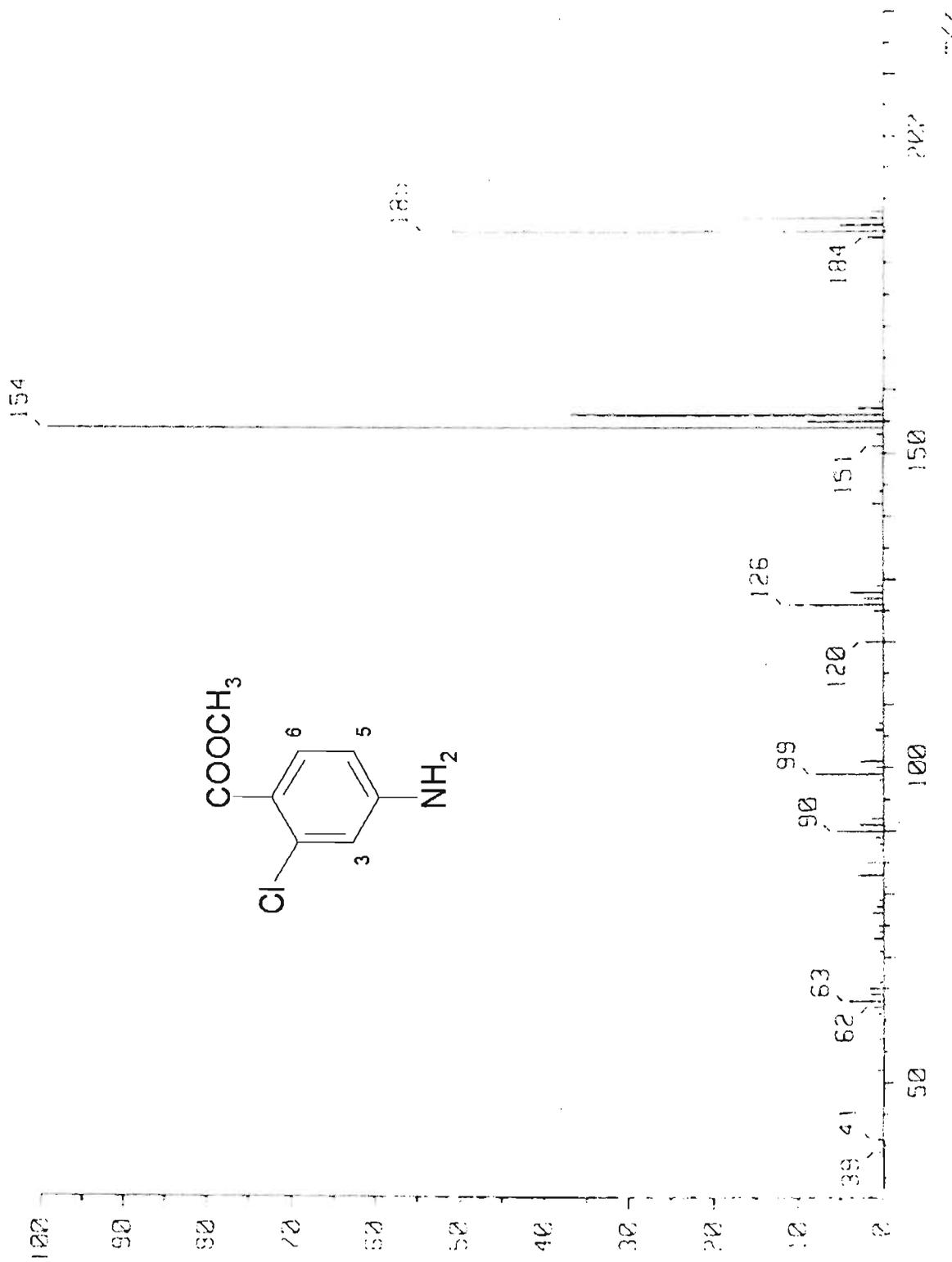
Espectro 3, EM. (IE/ID) m/z: 2-Cloro-4-nitrobenzoato de metilo (2).



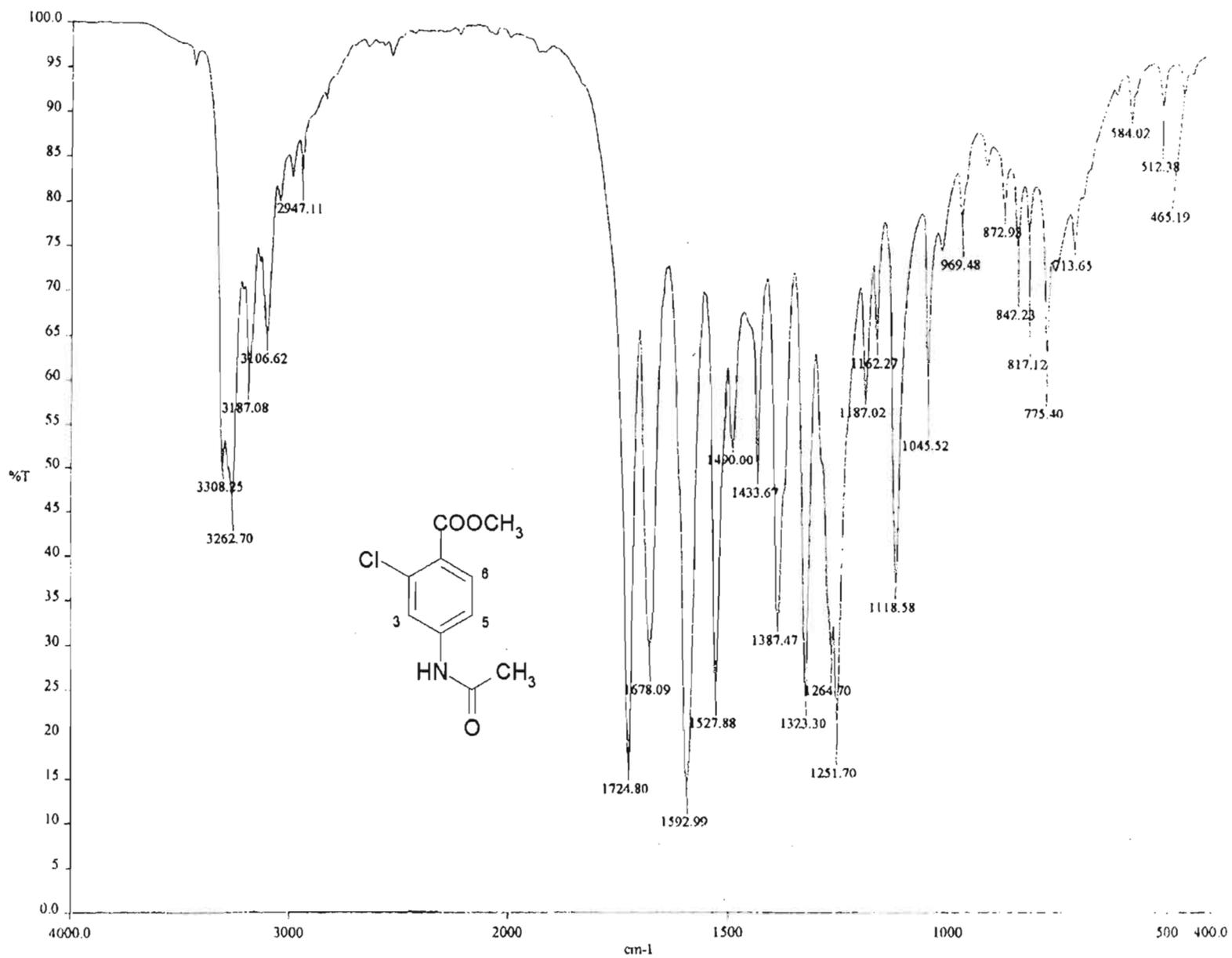
Espectro 4, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 4-Amino-2-clorobenzoato de metilo (3).



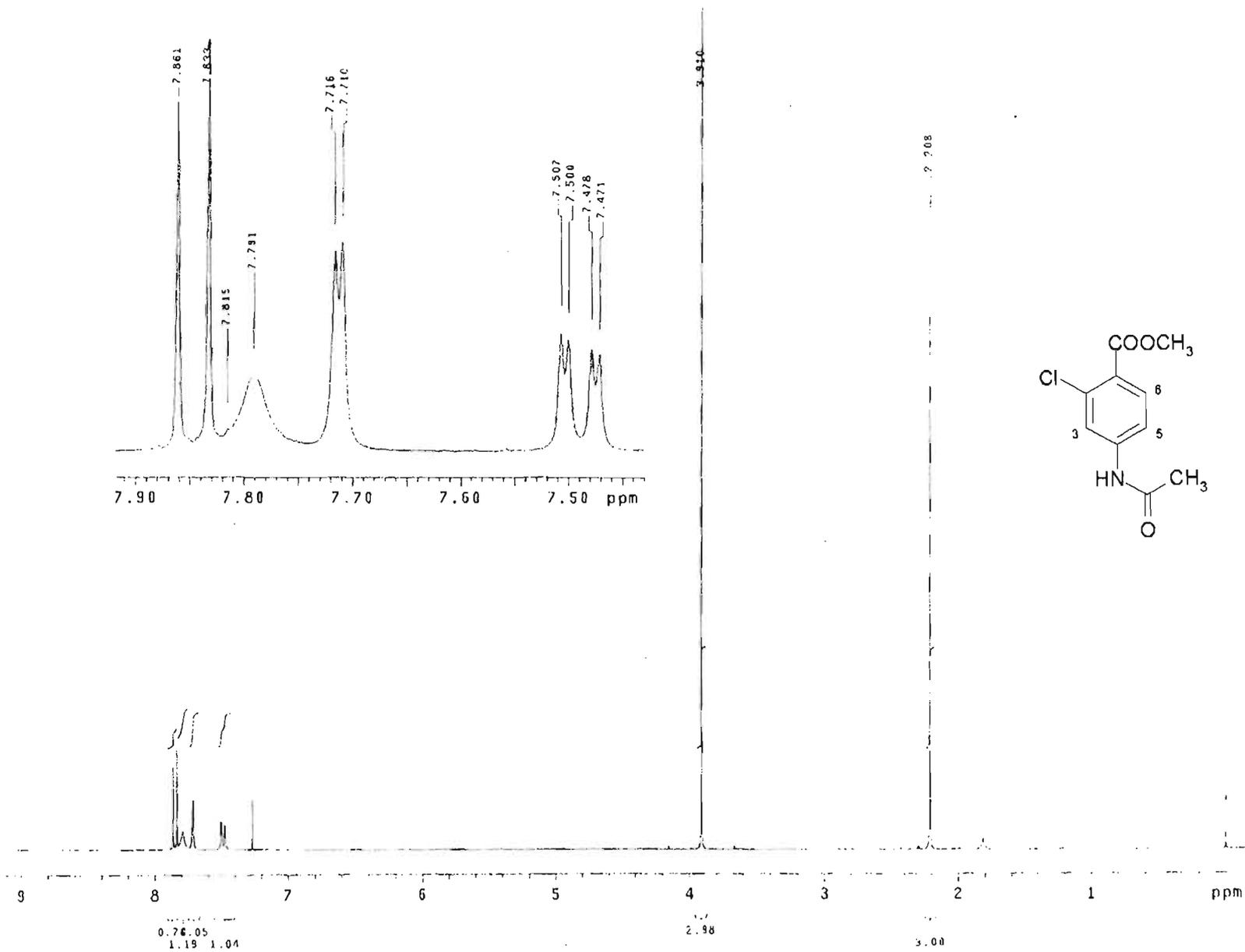
Espectro 5, RMN^1H . (TMS, CDCl_3) ppm: 4-Amino-2-clorobenzoato de metilo (3).



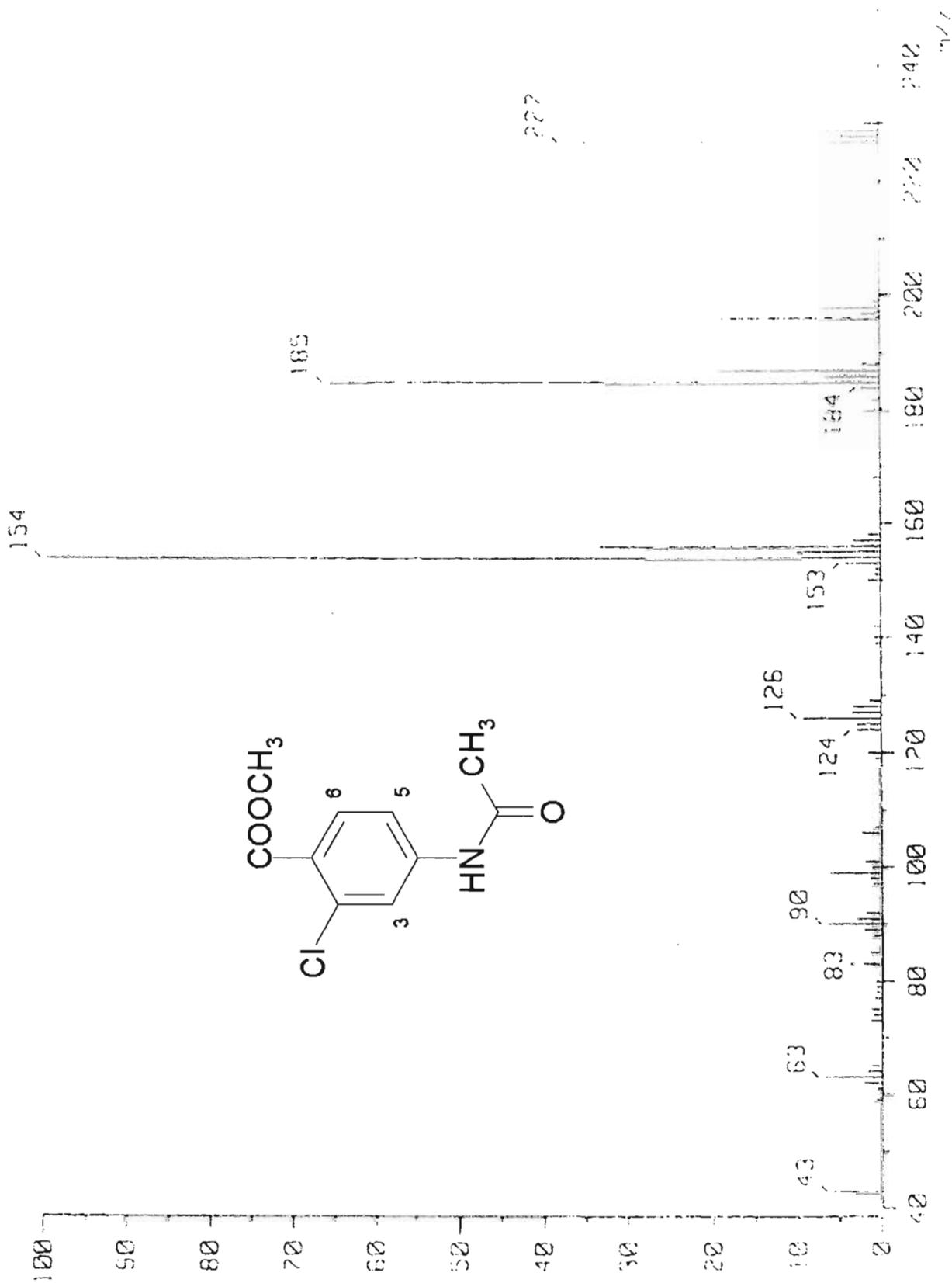
Espectro 6, EM. (IE/ID) m/z: 4-Amino-2-clorobenzoato de metilo (3).



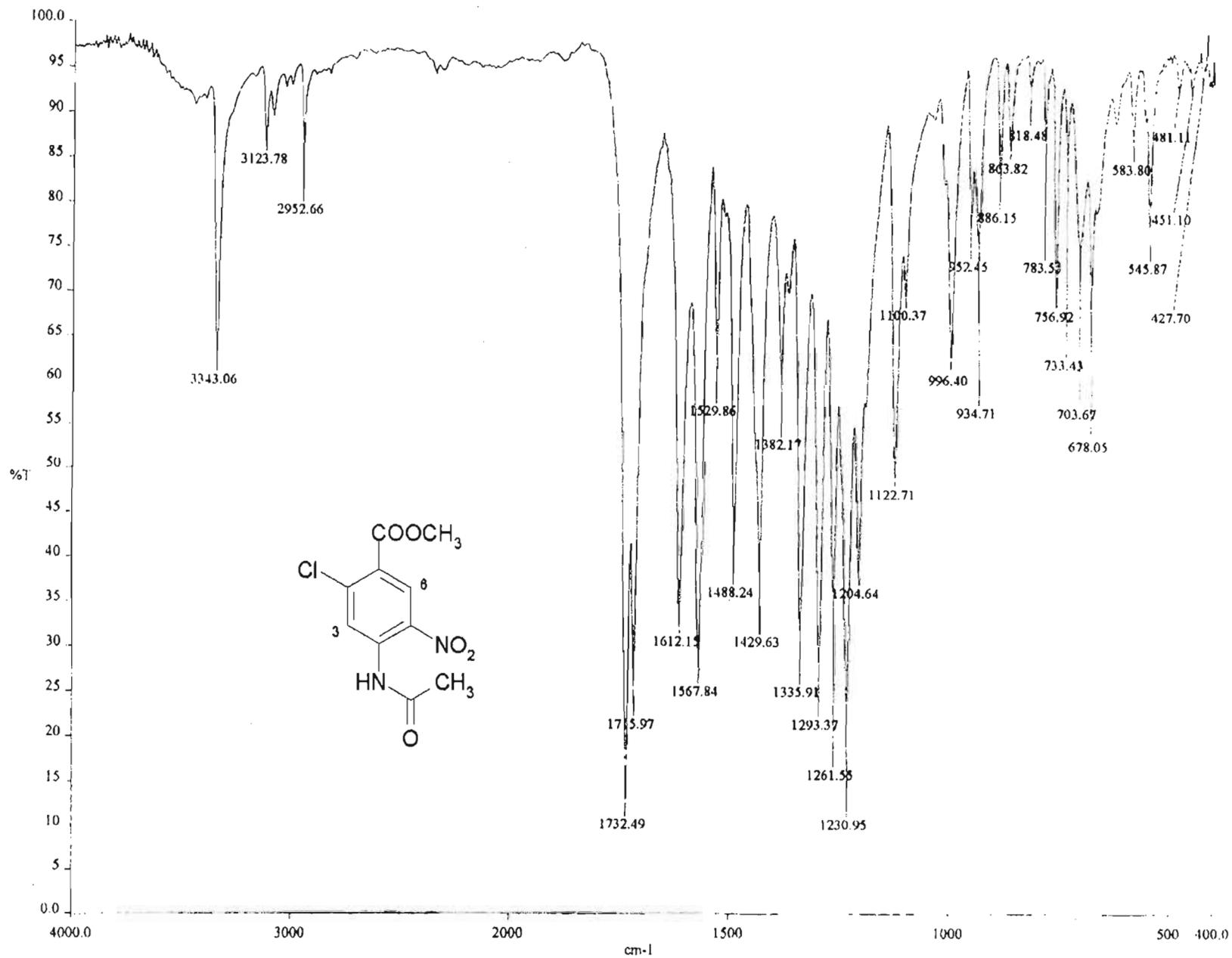
Espectro 7, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1} : 4-Acetamido-2-clorobenzoato de metilo (4).



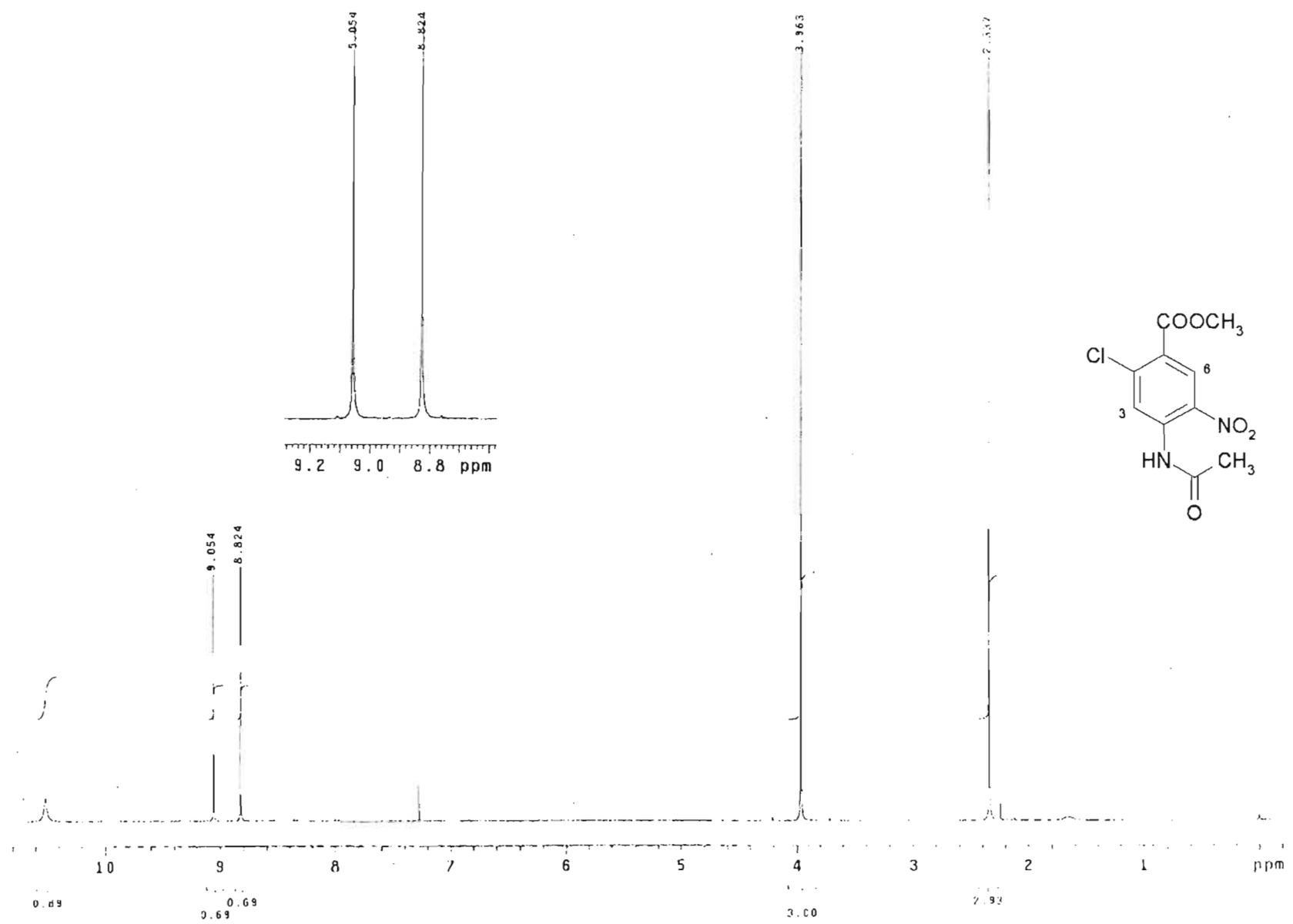
Espectro 8, RMN^1H . (TMS, CDCl_3) ppm: 4-Acetamido-2-clorobenzoato de metilo (4).



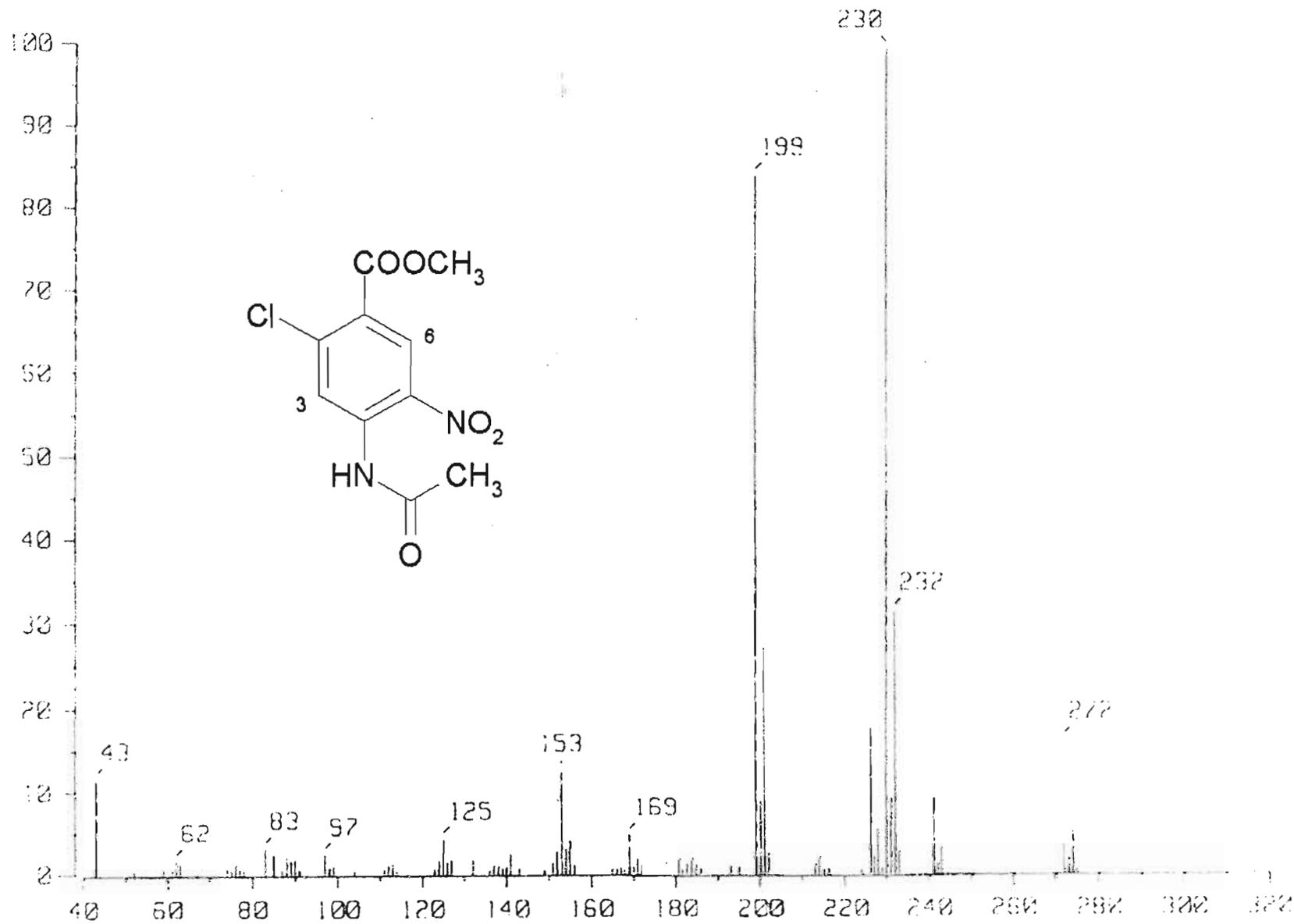
Espectro 9, EM. (IE/ID) m/z: 4-Acetamido-2-clorobenzoato de metilo (4).



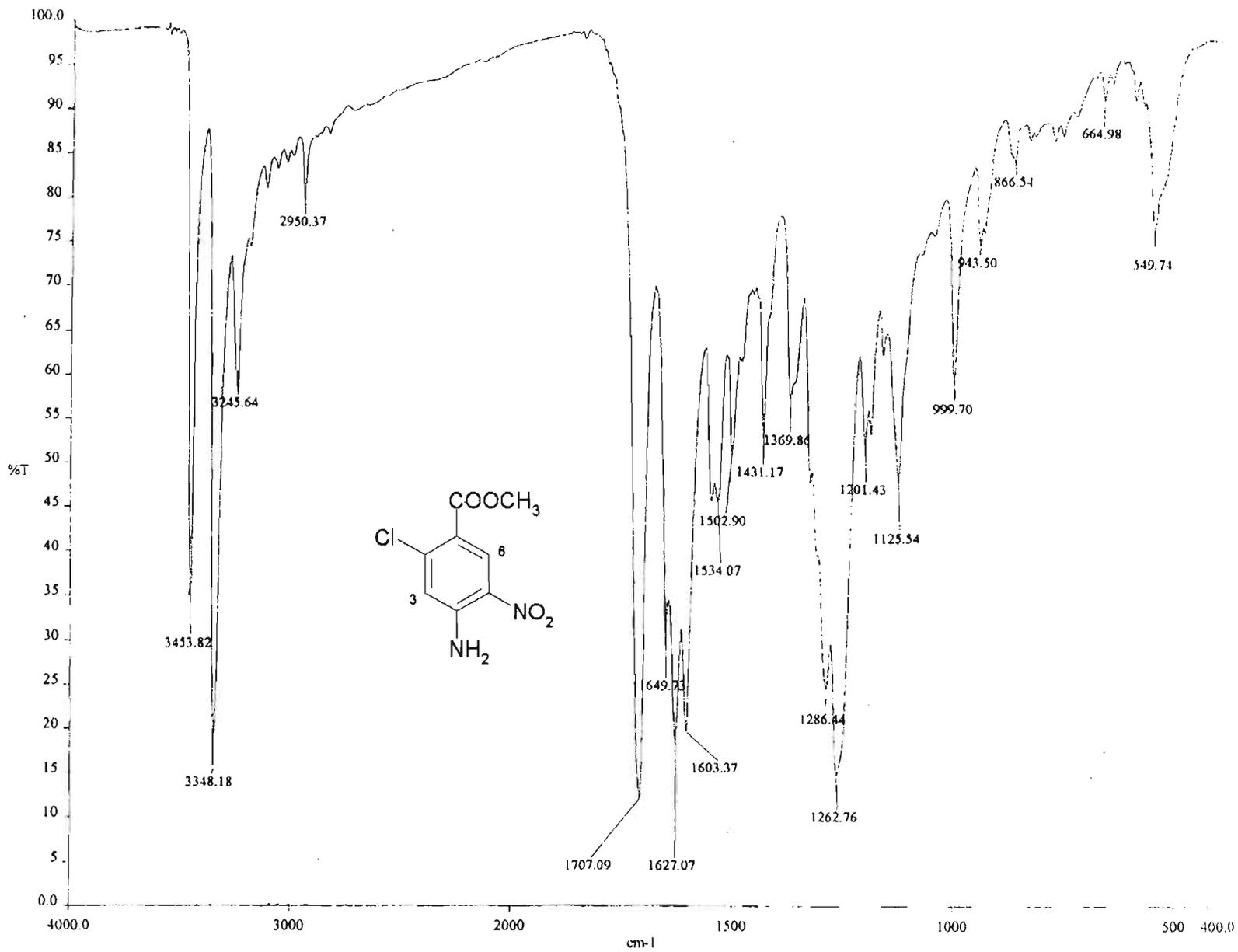
Espectro 10, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 4-Acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (5).



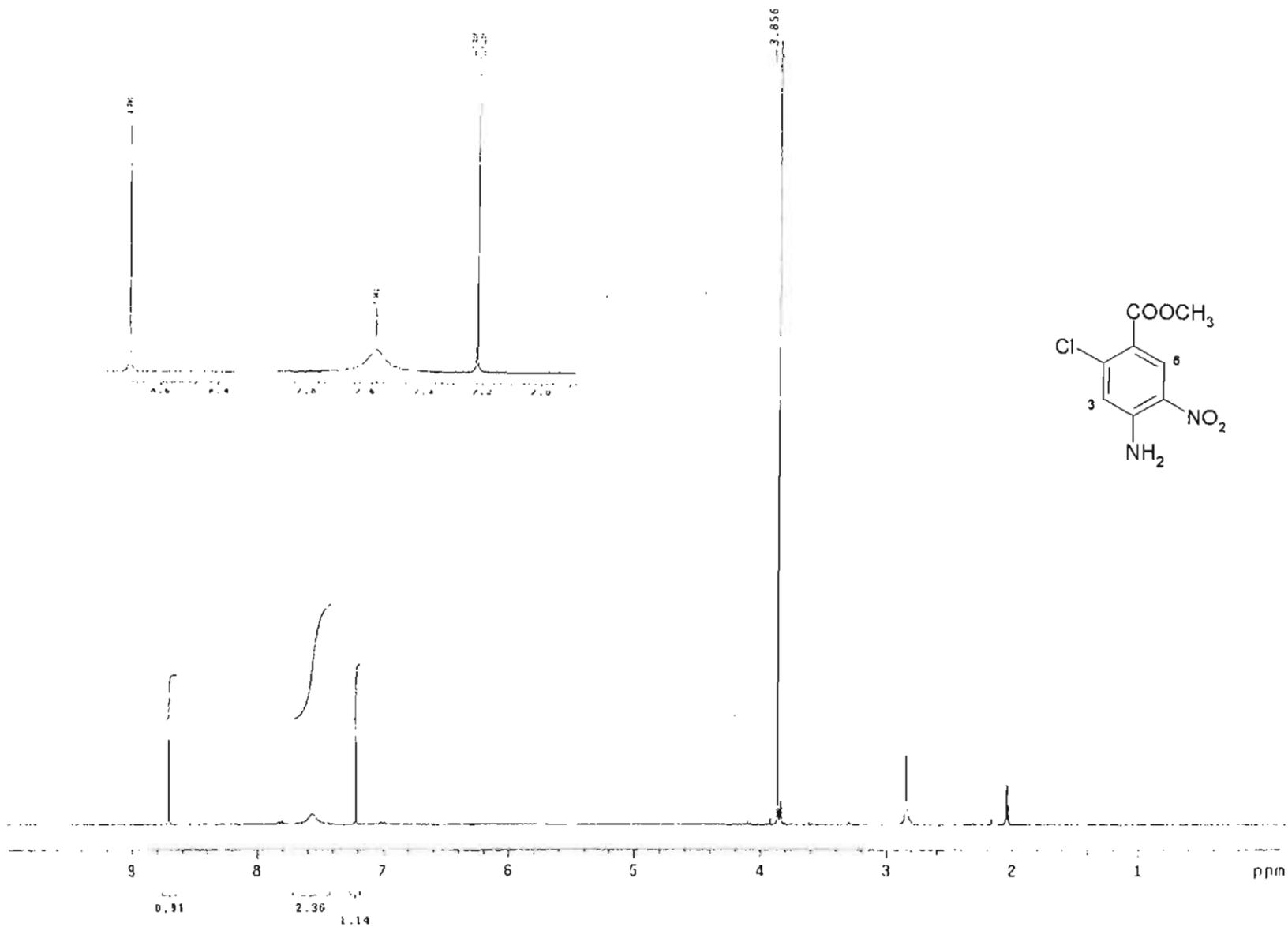
Espectro 11, RMN¹H. (TMS, CDCl₃) ppm: 4-Acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (5).



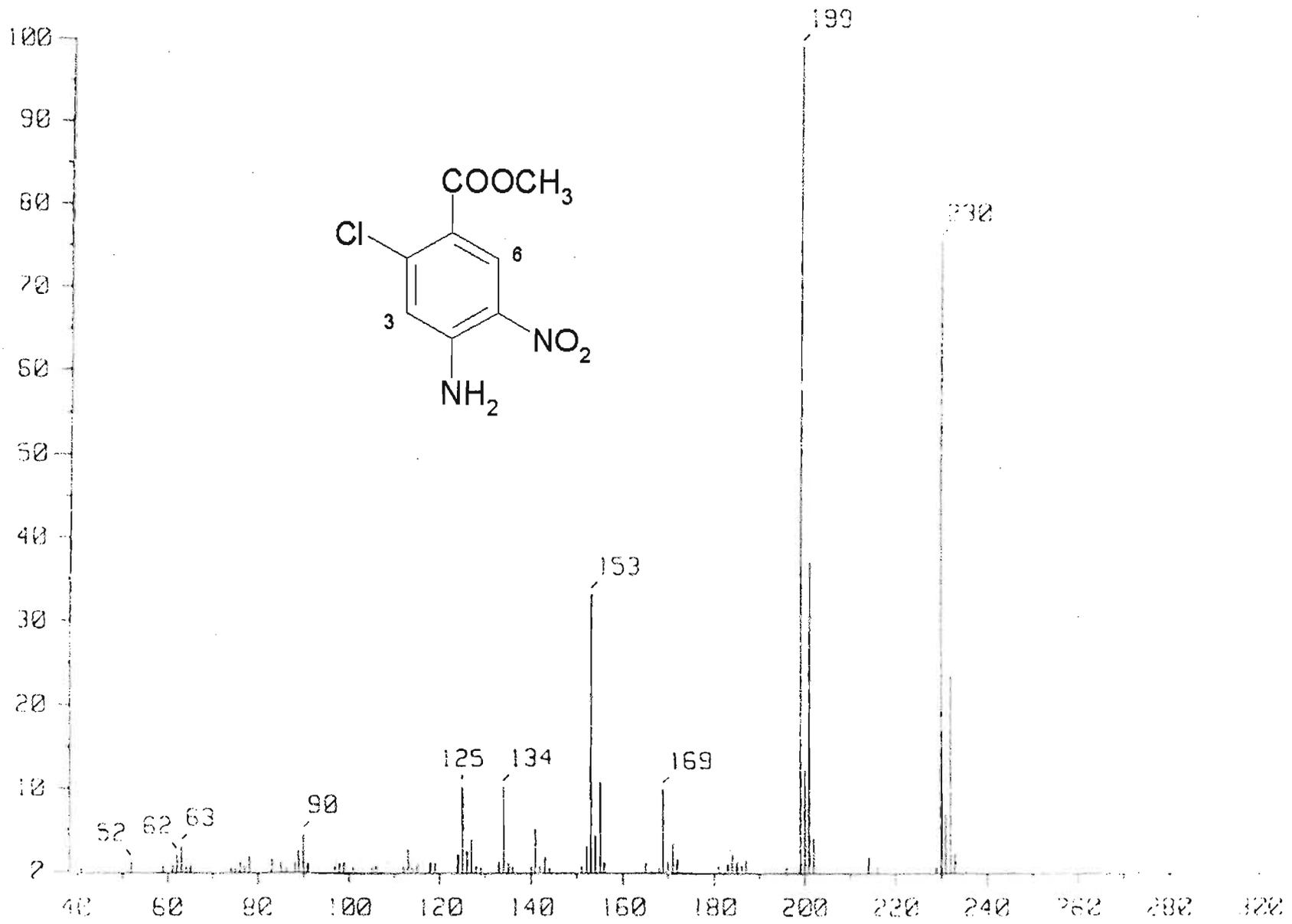
Espectro 12, EM. (IE/ID) *m/z*: 4-Acetamido-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (5).



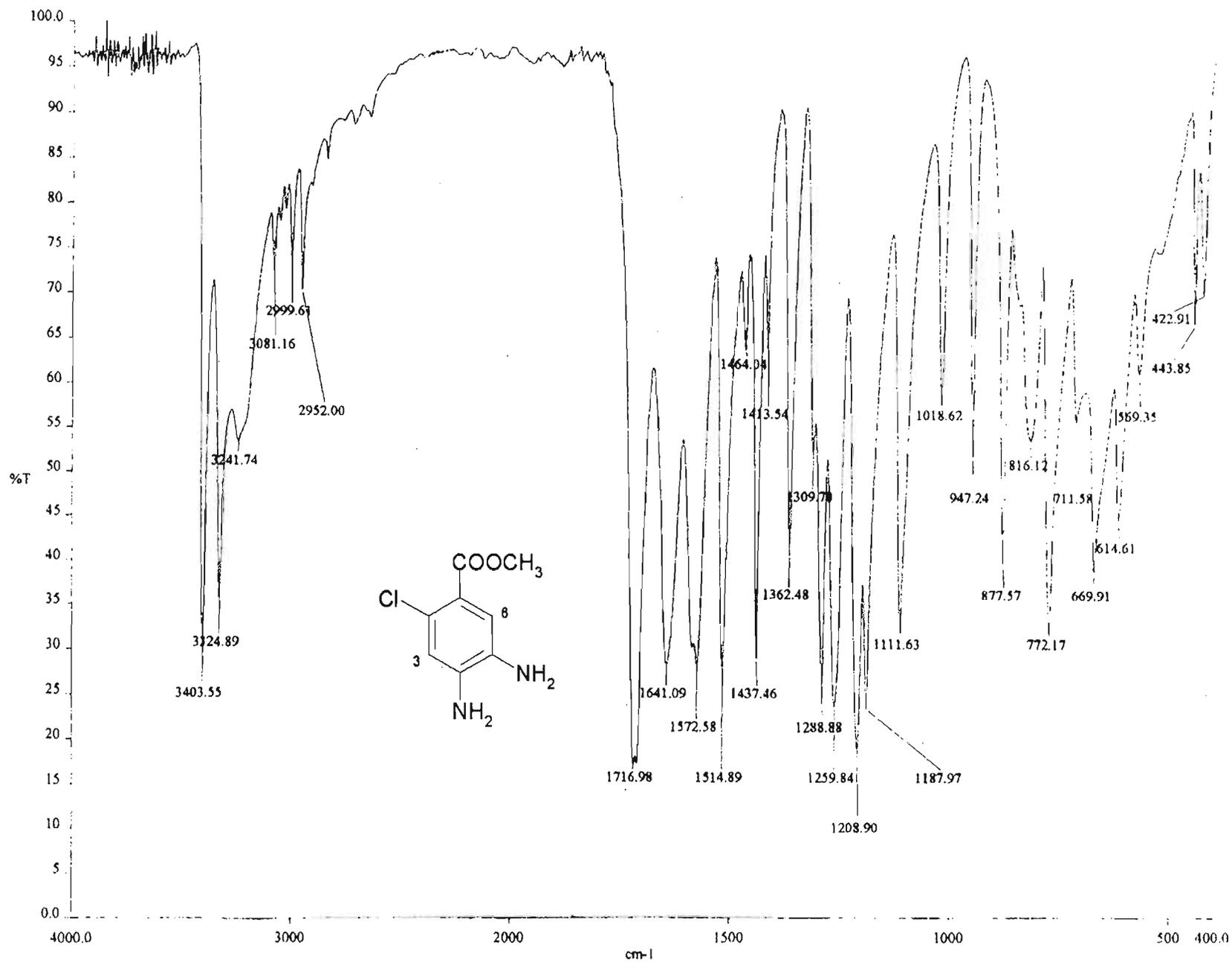
Espectro 13, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 4-Amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6).



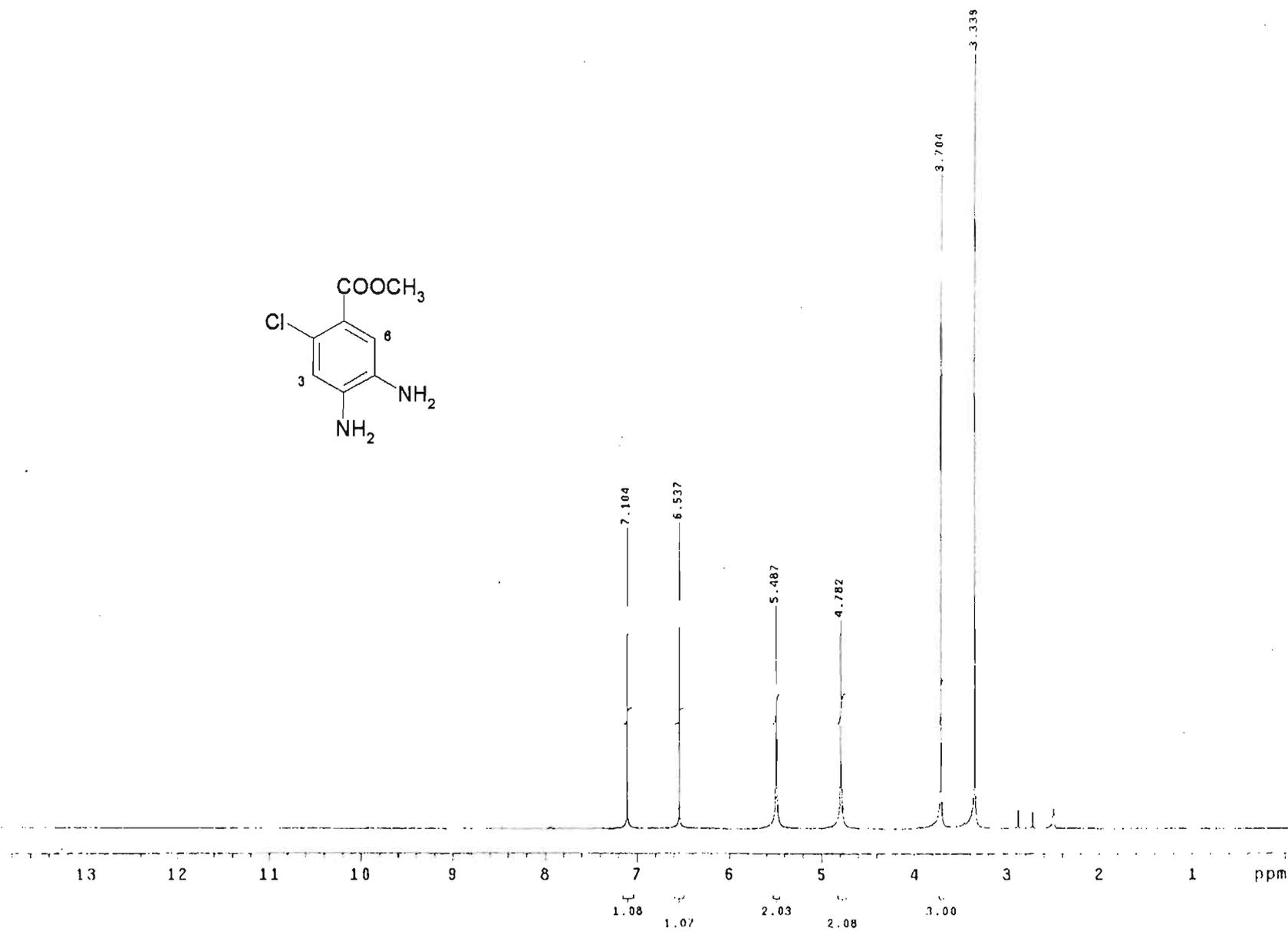
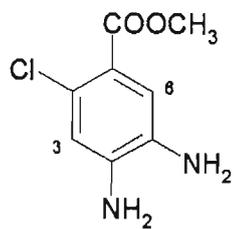
Espectro 14, RMN^1H . (TMS, acetona- d_6) ppm: 4-Amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6).



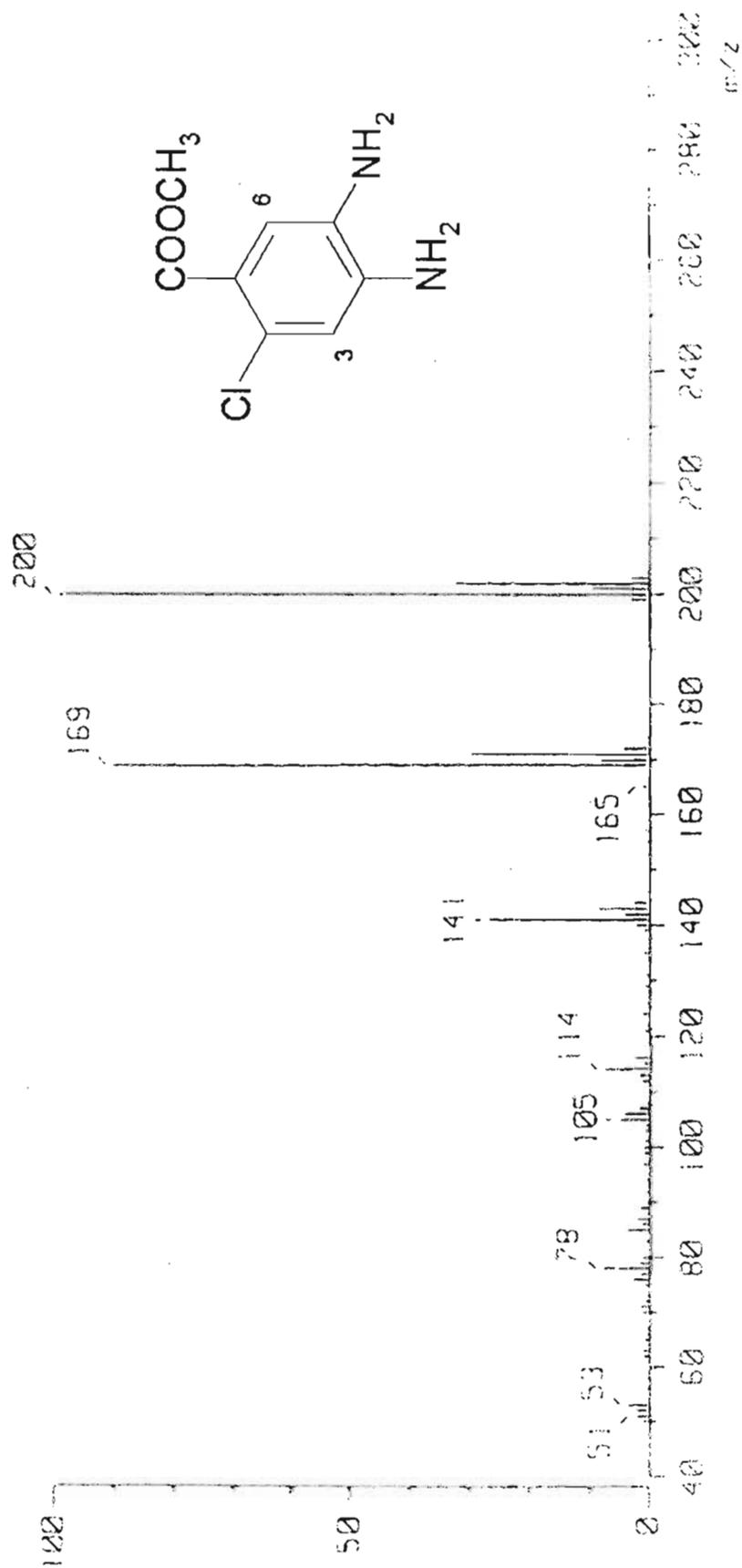
Espectro 15, EM. (IE/ID) *m/z*: 4-Amino-2-cloro-5-nitrobenzoato de metilo (6).



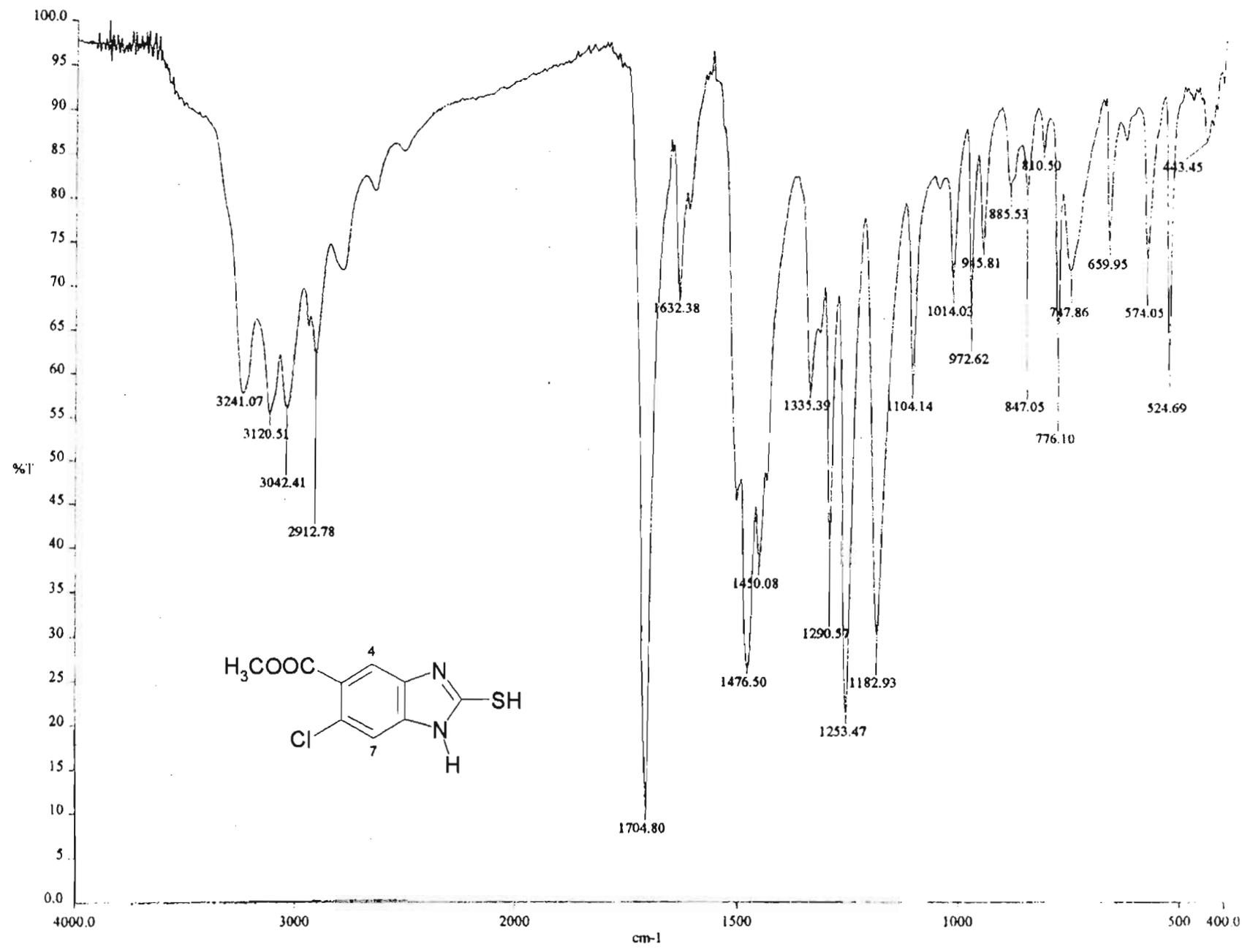
Espectro 16, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 4,5-Diamina-2-clorobenzoato de metilo (7).



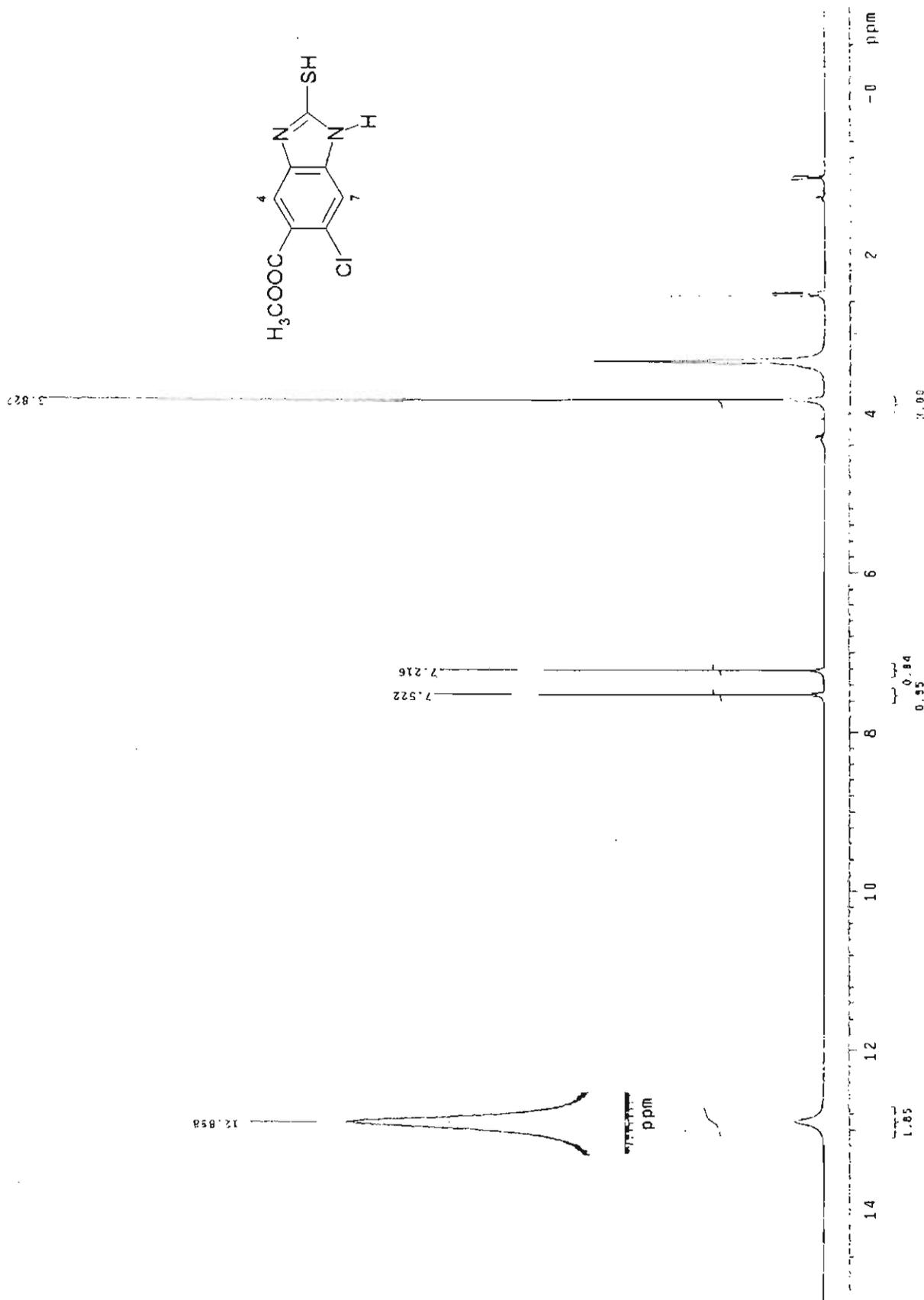
Espectro 17, RMN¹H. (TMS, DMSO-*d*₆) ppm: 4,5-Diamina-2-clorobenzoato de metilo (7).



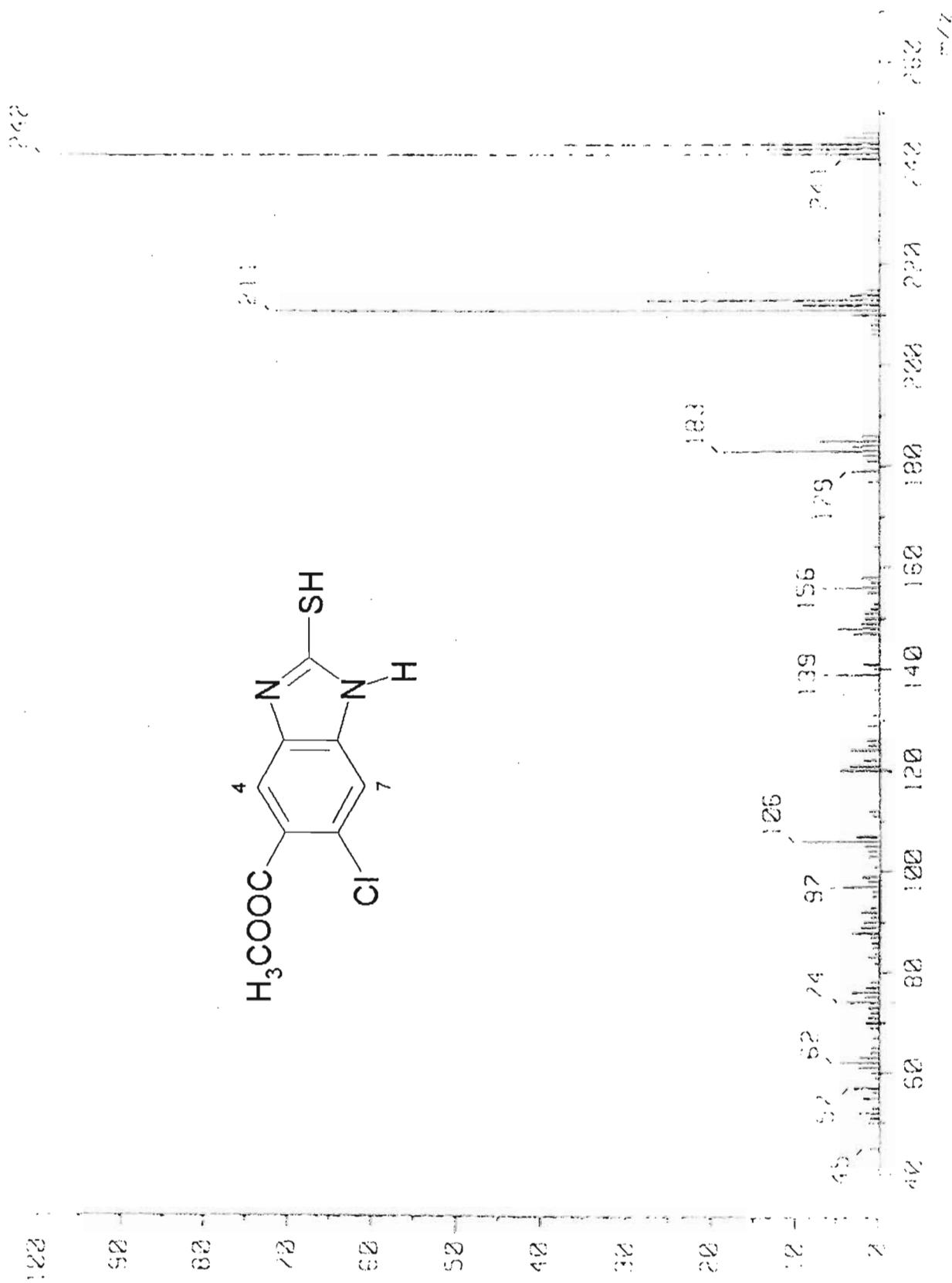
Espectro 18, EM. (IE/CG) m/z: 4,5-Diamina-2-clorobenzoato de metilo (7).



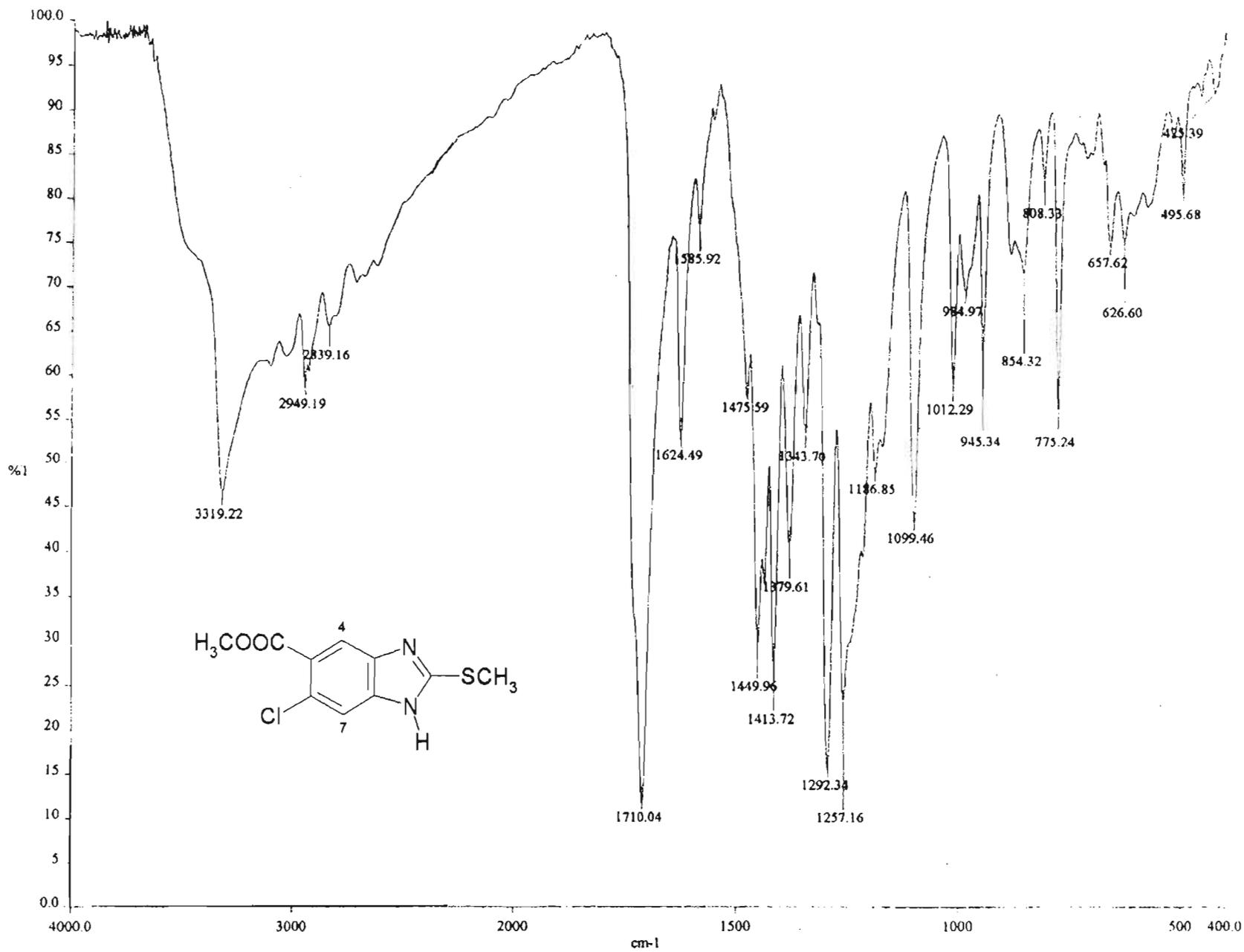
Espectro 19, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 6-Cloro-2-mercapto-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (8).



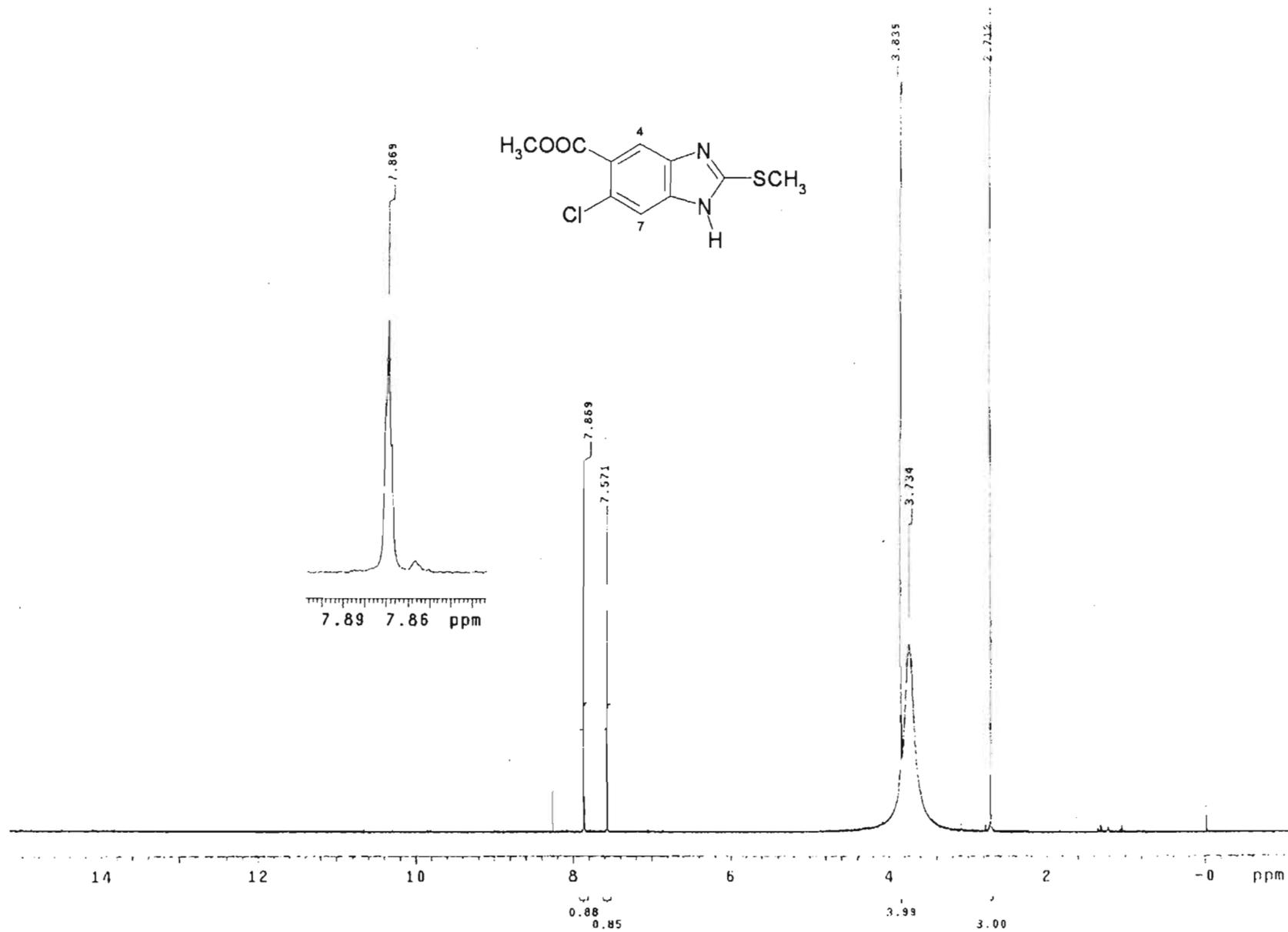
Espectro 20, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: 6-Cloro-2-mercapto-1H-benzimidazol-5-carboxilato de metilo (8).



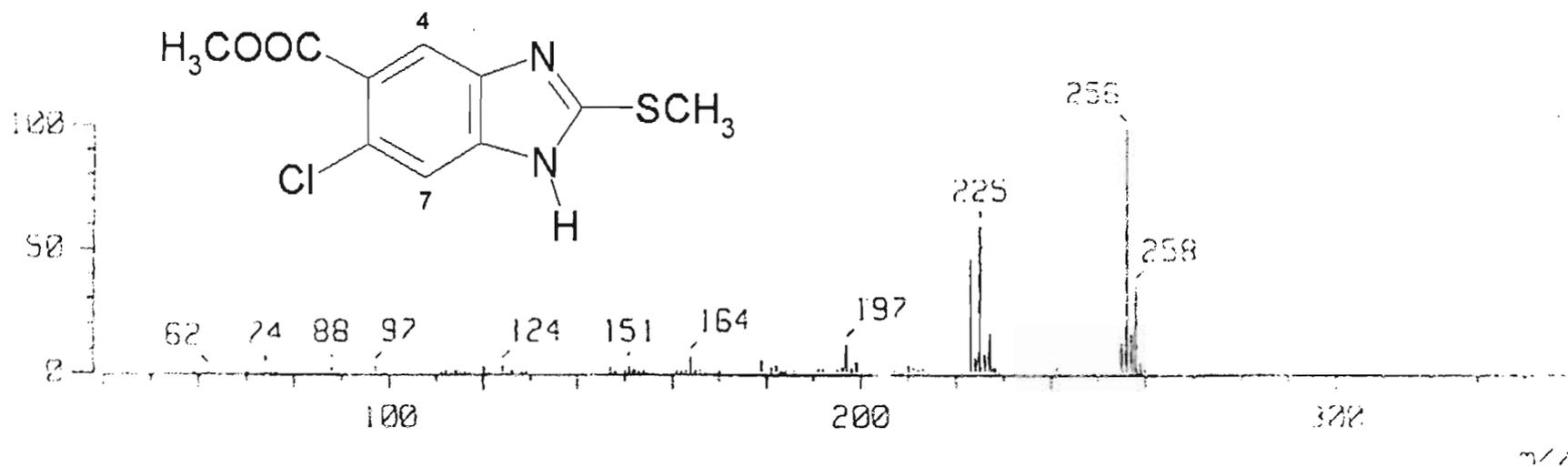
Espectro 21, EM. (IE/ID) m/z: 6-Cloro-2-mercapto-1H-benzimidazol-5-carboxilato de metilo (8).



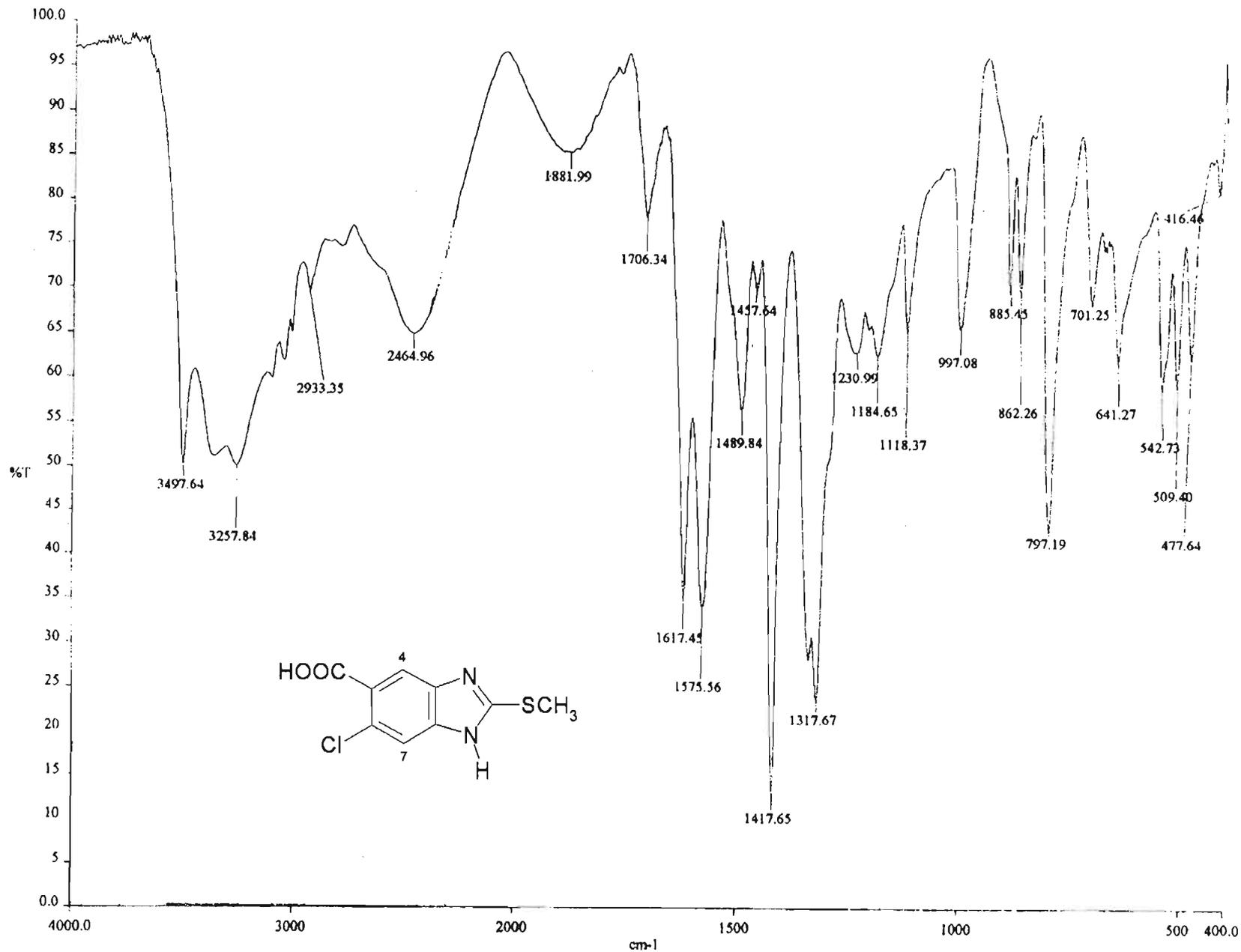
Espectro 22, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 6-Cloro-2-metilthio-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (9).



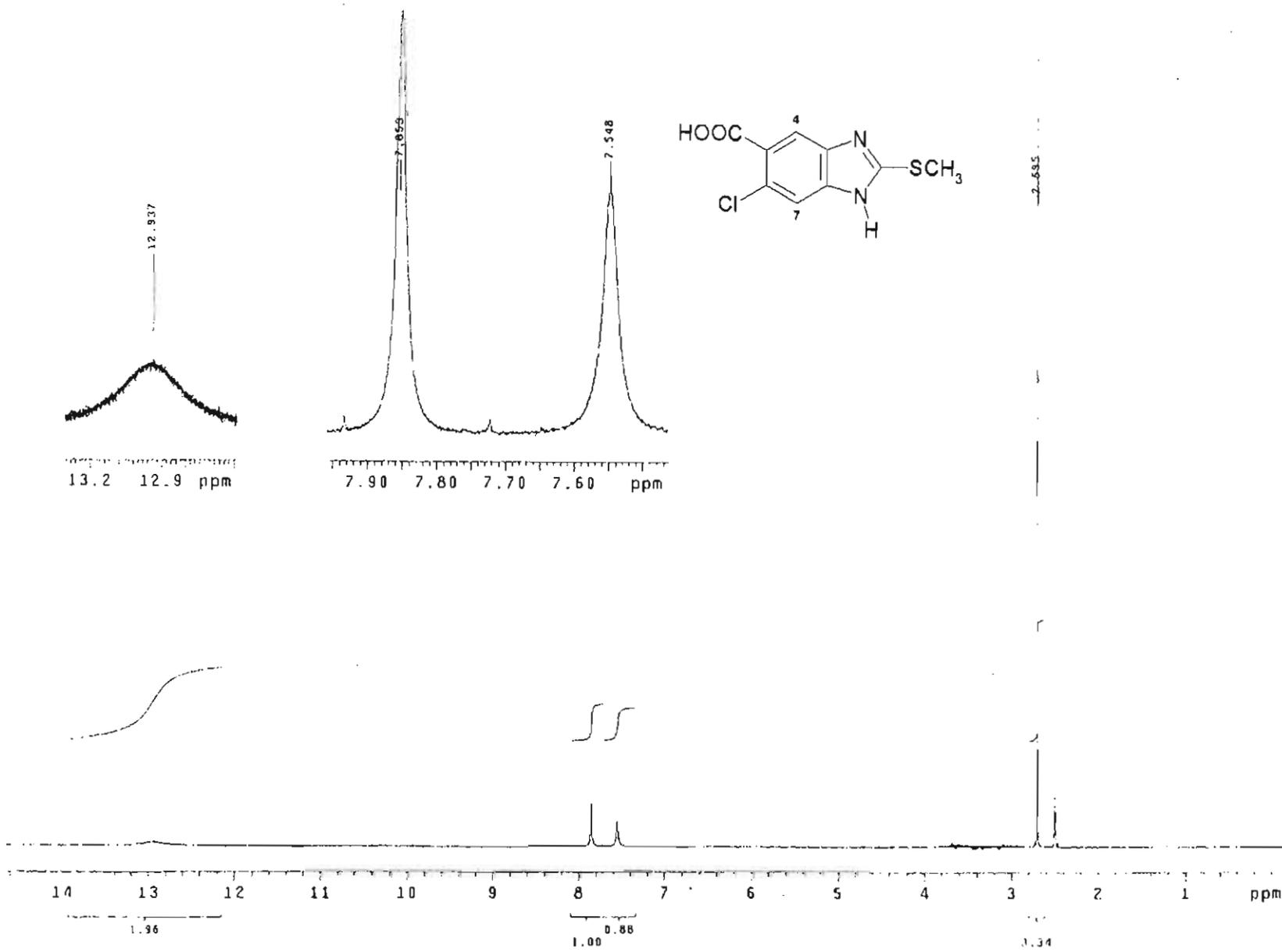
Espectro 23, RMN ^1H . (TMS, CDCl_3) ppm: 6-Cloro-2-metiltio-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**9**).



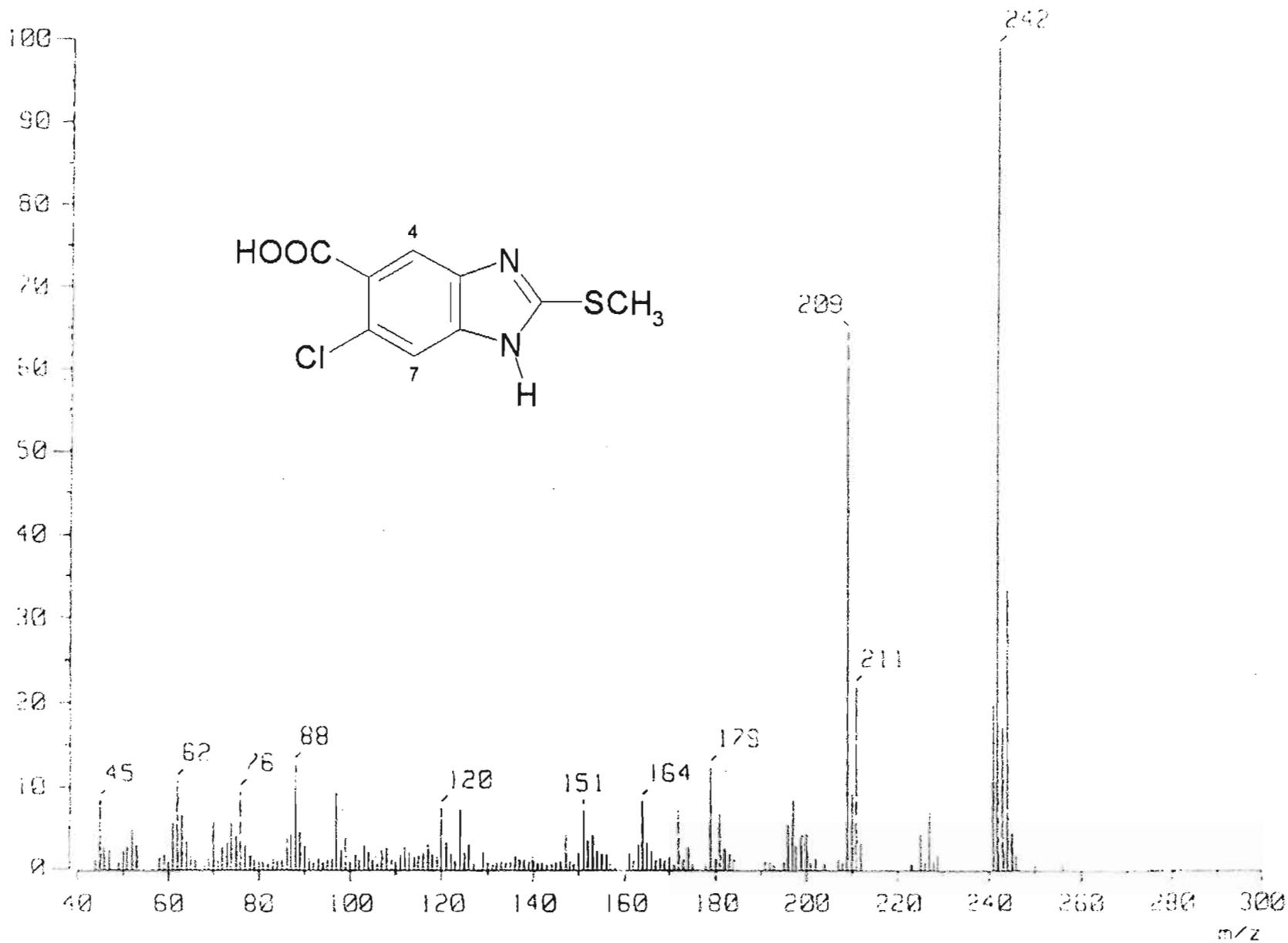
Espectro 24, EM. (IE/ID) m/z : 6-Cloro-2-metiltio-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (9).



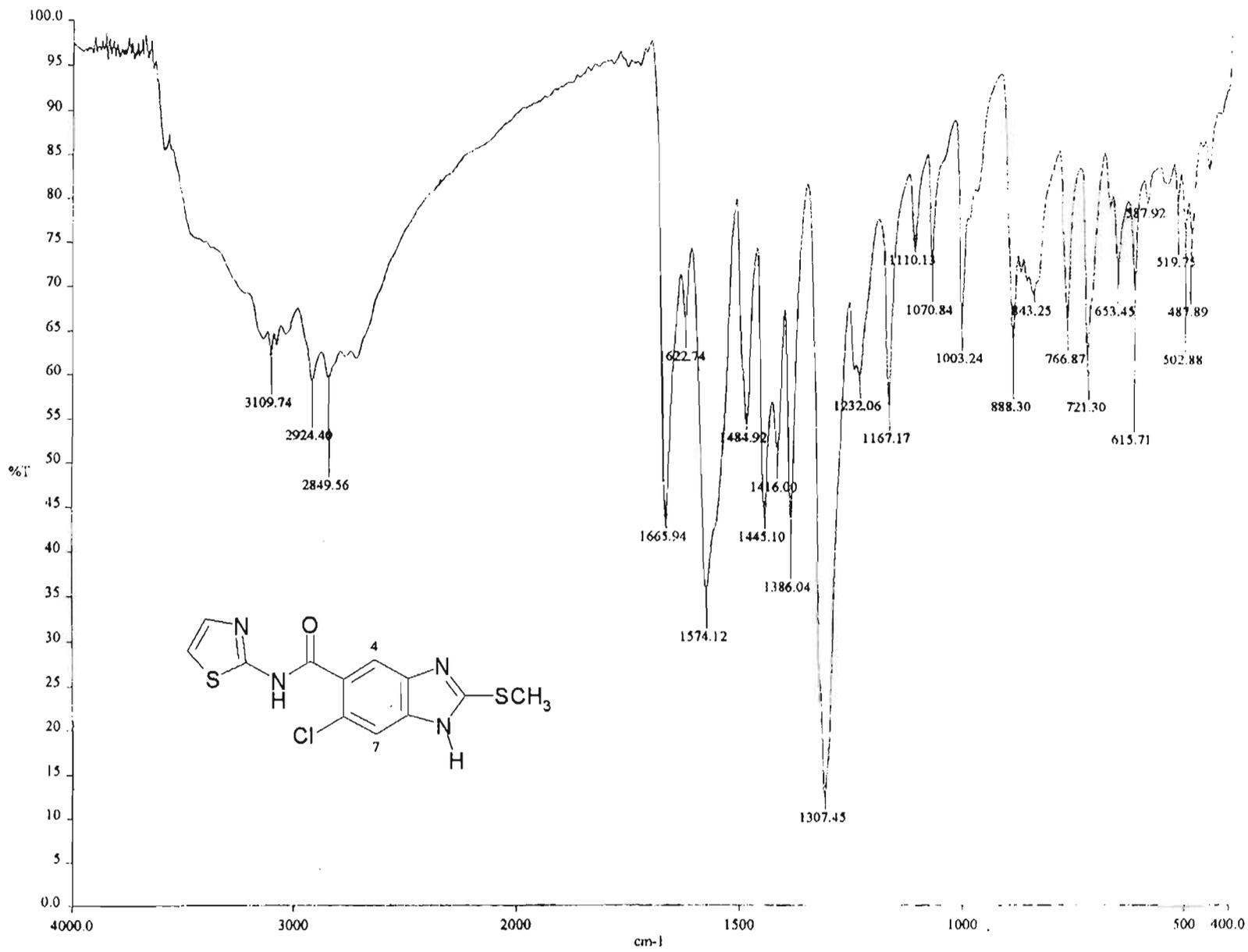
Espectro 25, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1} : Ácido 6-cloro-2-metilthio-1H-benzimidazol-5-carboxílico (10).



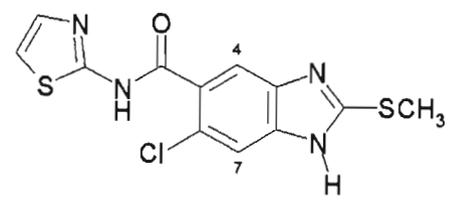
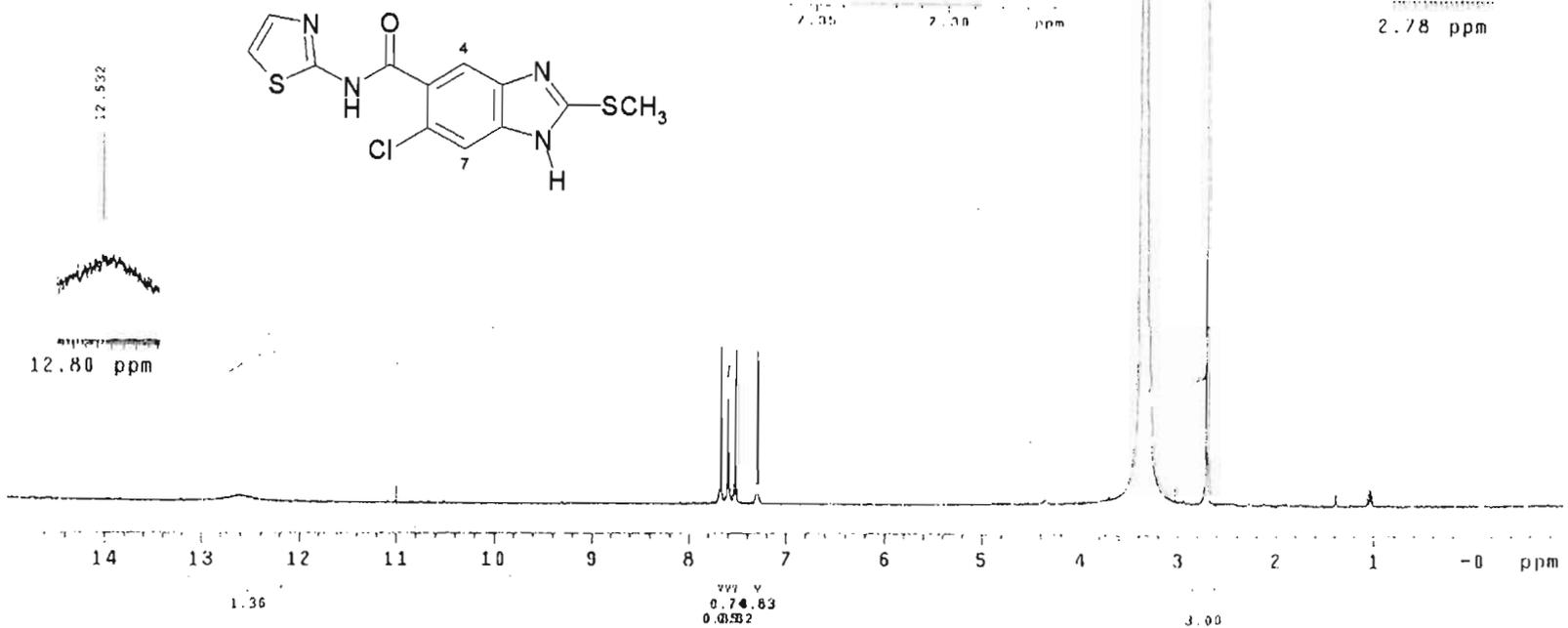
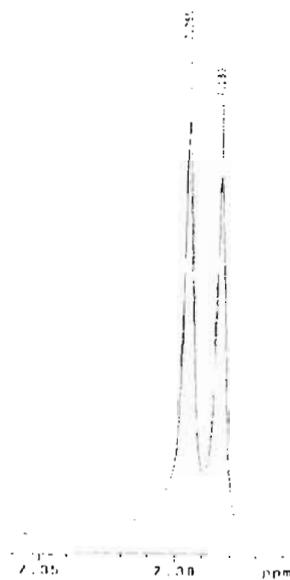
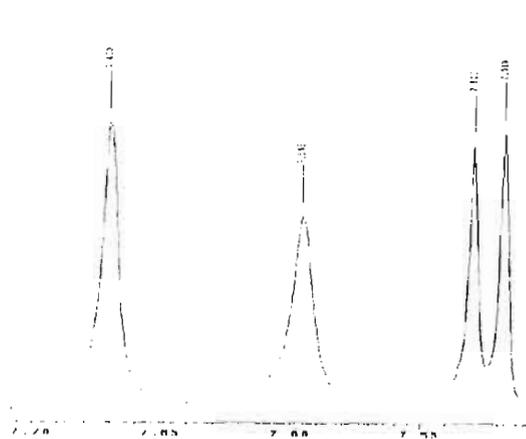
Espectro 26, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: Ácido 6-cloro-2-metiltio-1H-benzimidazol-5-carboxílico (10).



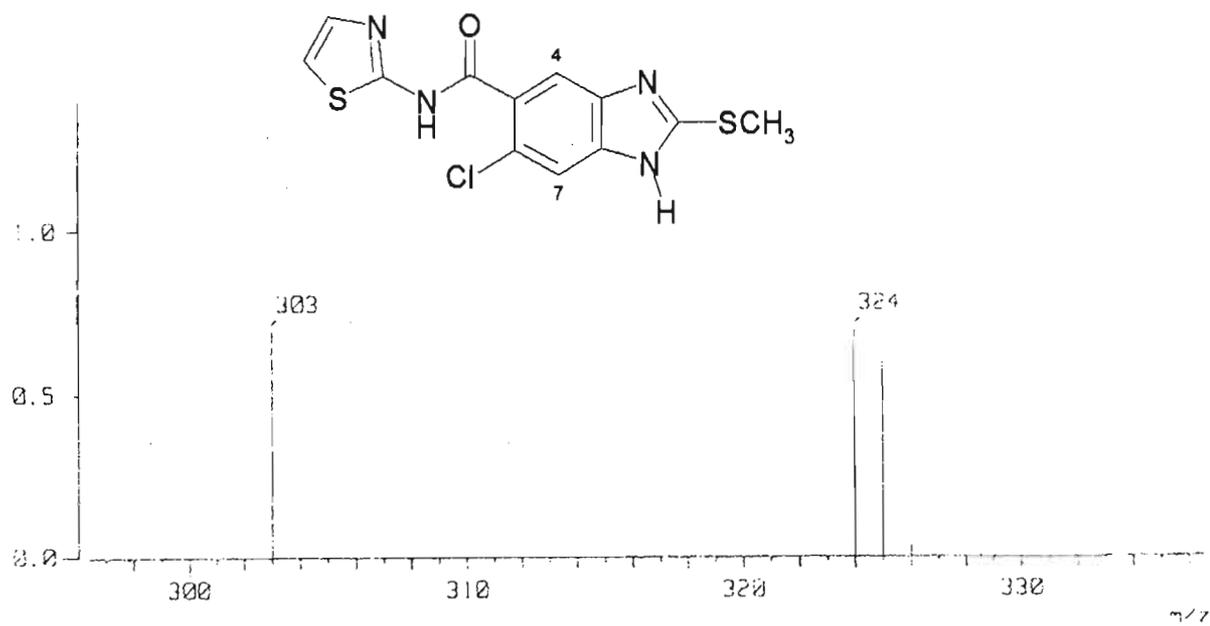
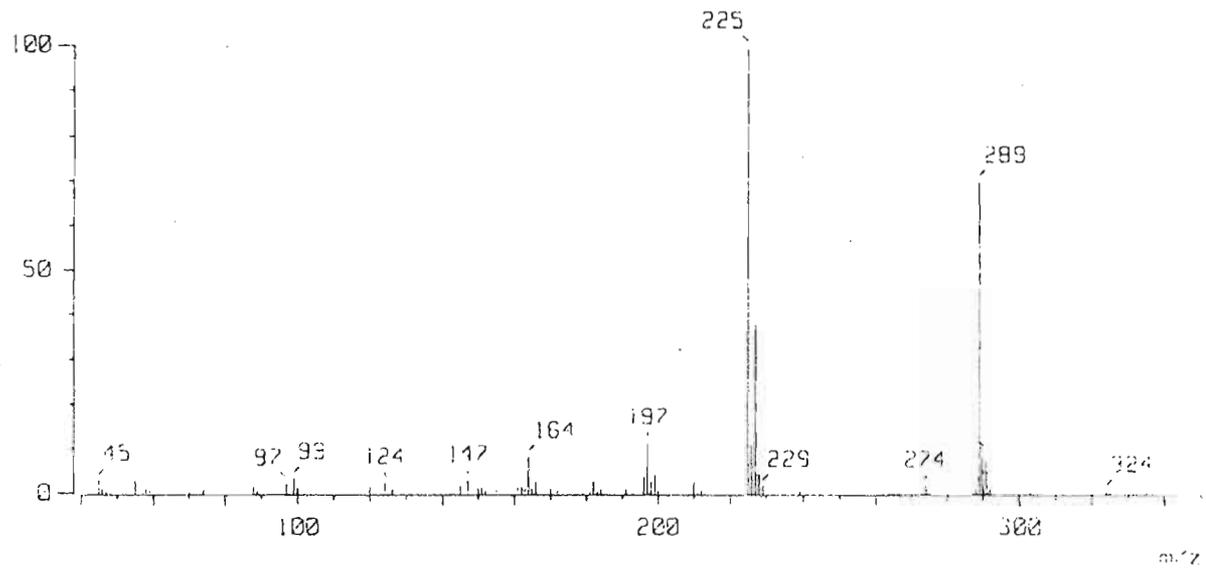
Espectro 27, EM. (IE/ID) m/z : Ácido 6-cloro-2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico (10).



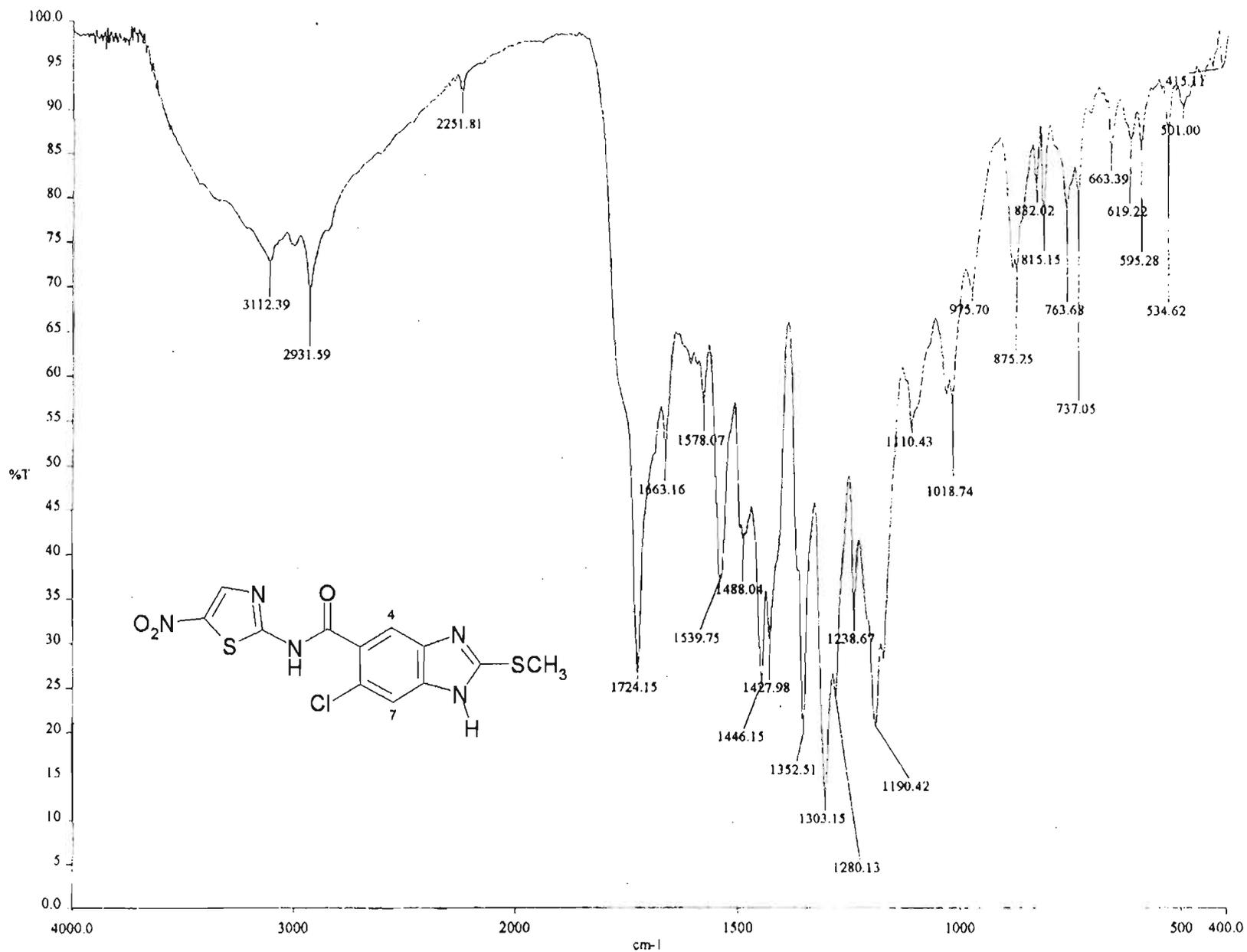
Espectro 28, IR: Pastilla (KBr) cm^{-1} : 6-Cloro-2-(metiltio)-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (11).



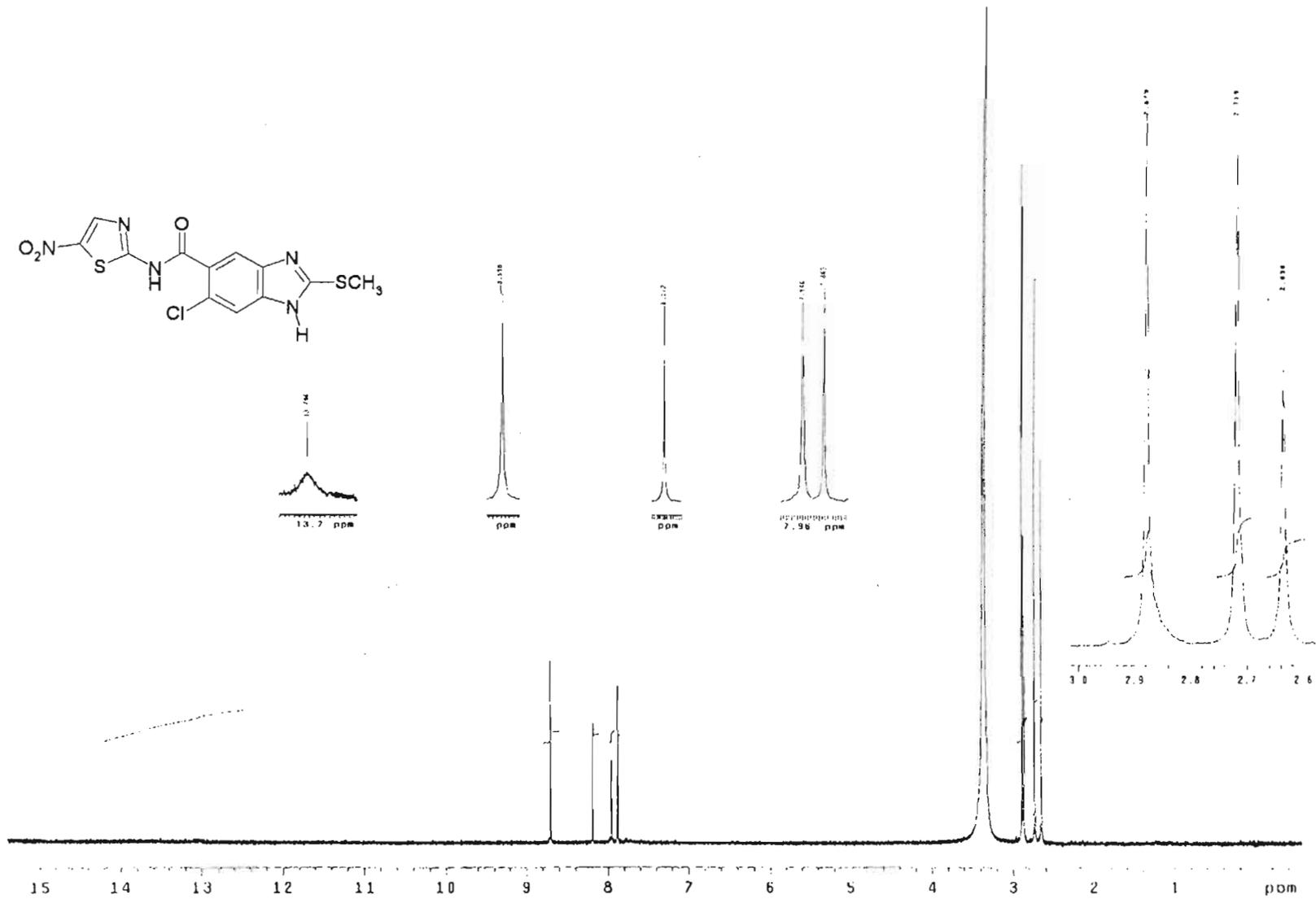
Espectro 29, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: 6-Cloro-2-(metilitio)-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (11).



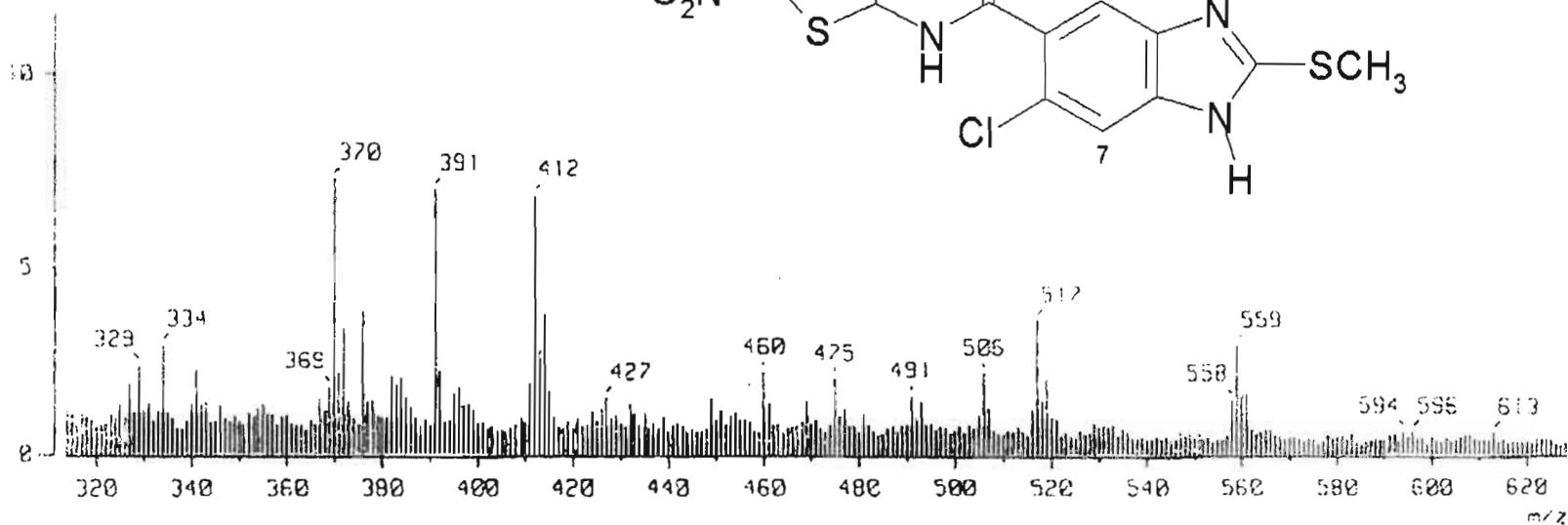
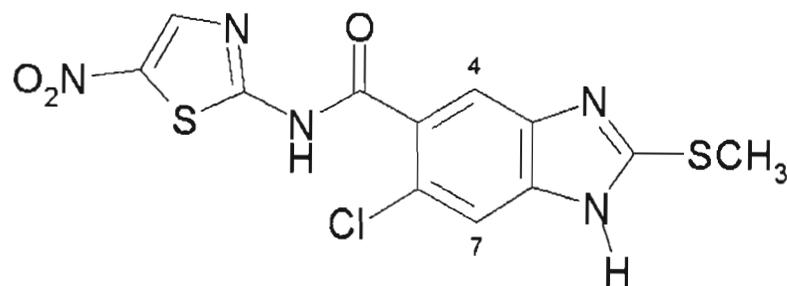
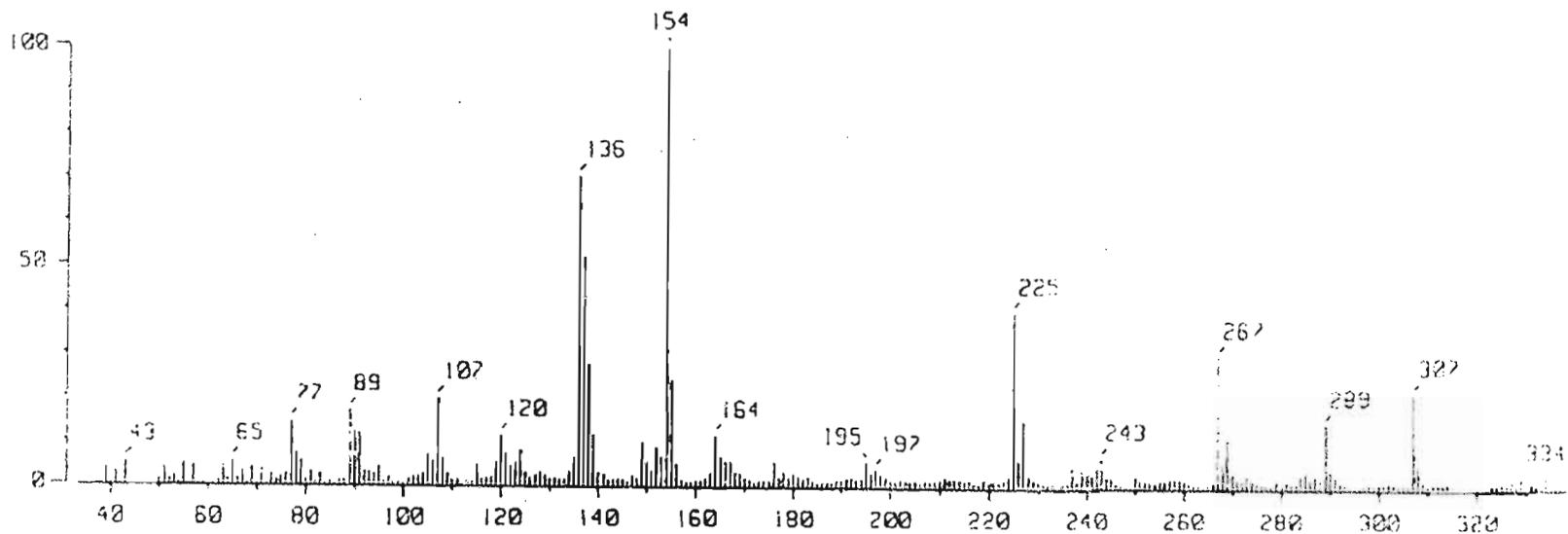
Espectro 30, EM. (IE/ID) m/z : 6-Cloro-2-(metiltio)-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (11).



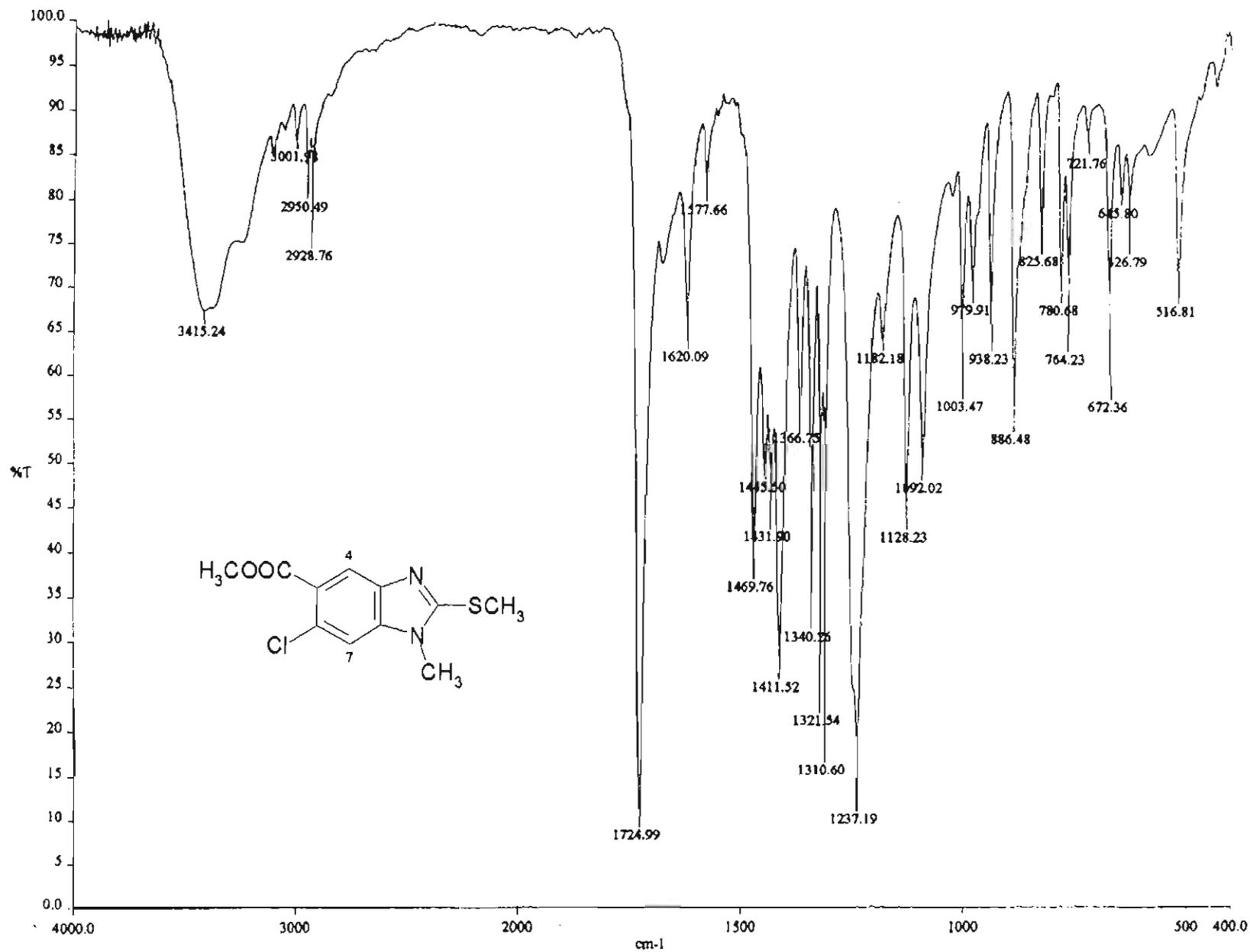
Espectro 31, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 6-Cloro-2-(metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (12).



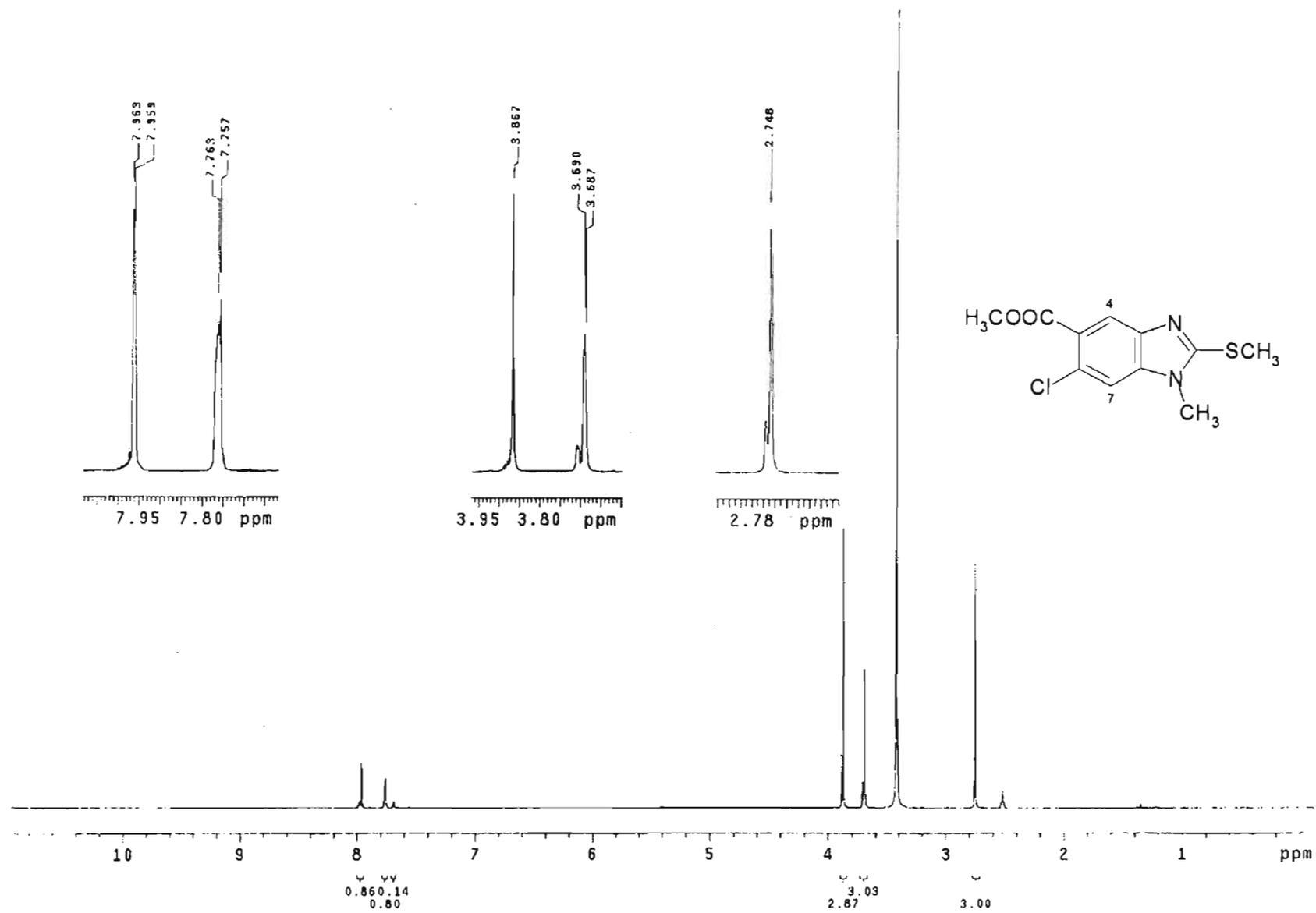
Espectro 32, RMN¹H: (TMS, DMSO-*d*₆) ppm: 6-Cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (12).



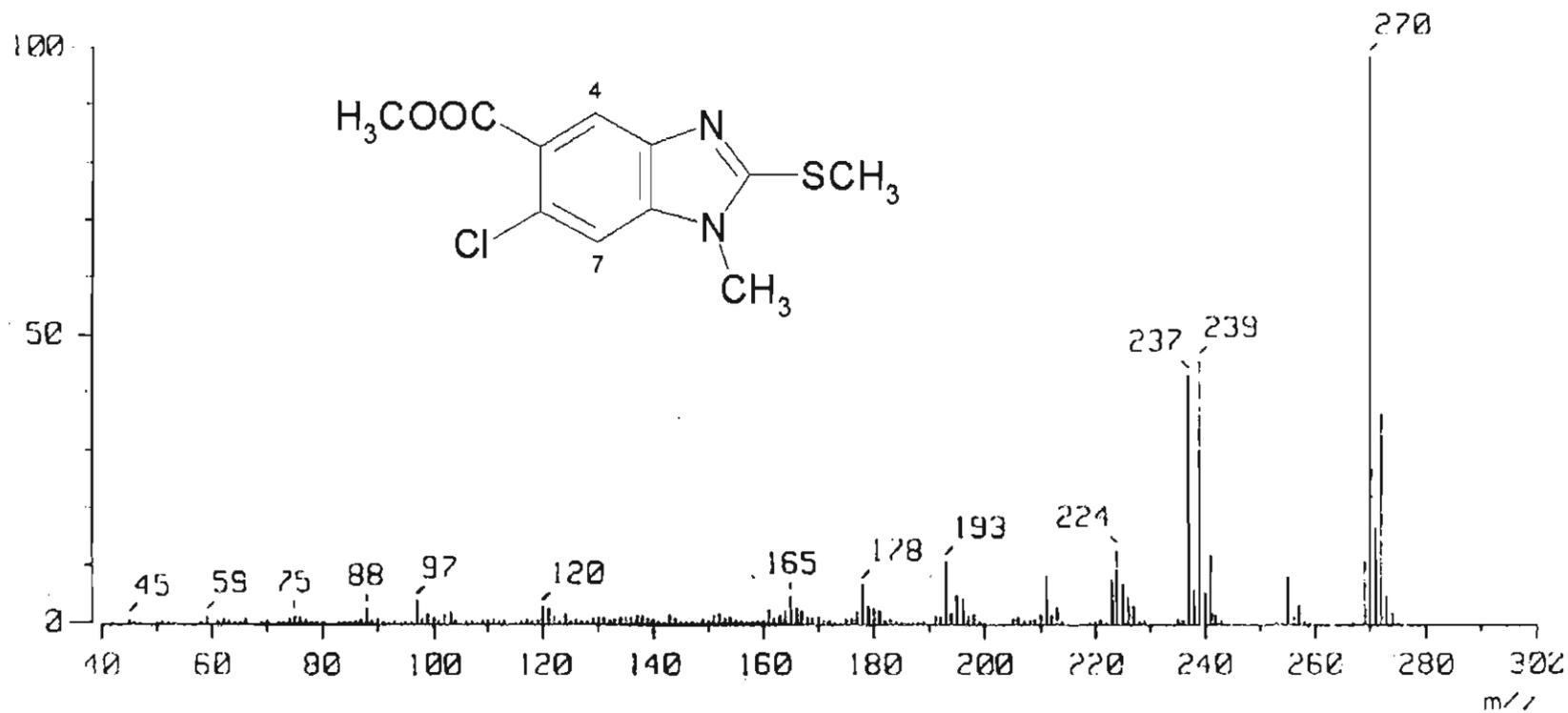
Espectro 33, EM. (FAB+1) m/z : 6-Cloro-2-(metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (12).



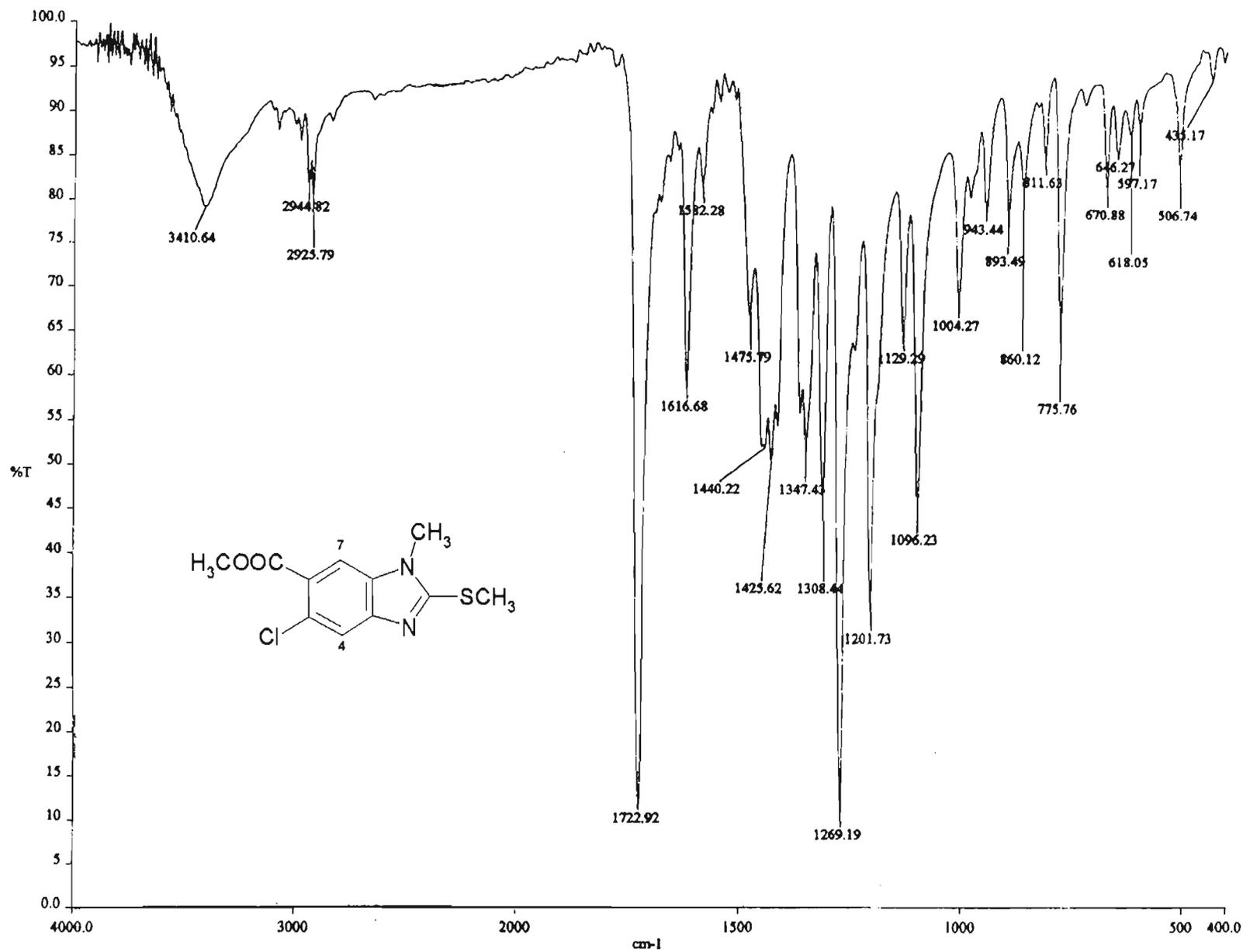
Espectro 34, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 6-Cloro-1-metil-2-(metilitio)-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13).



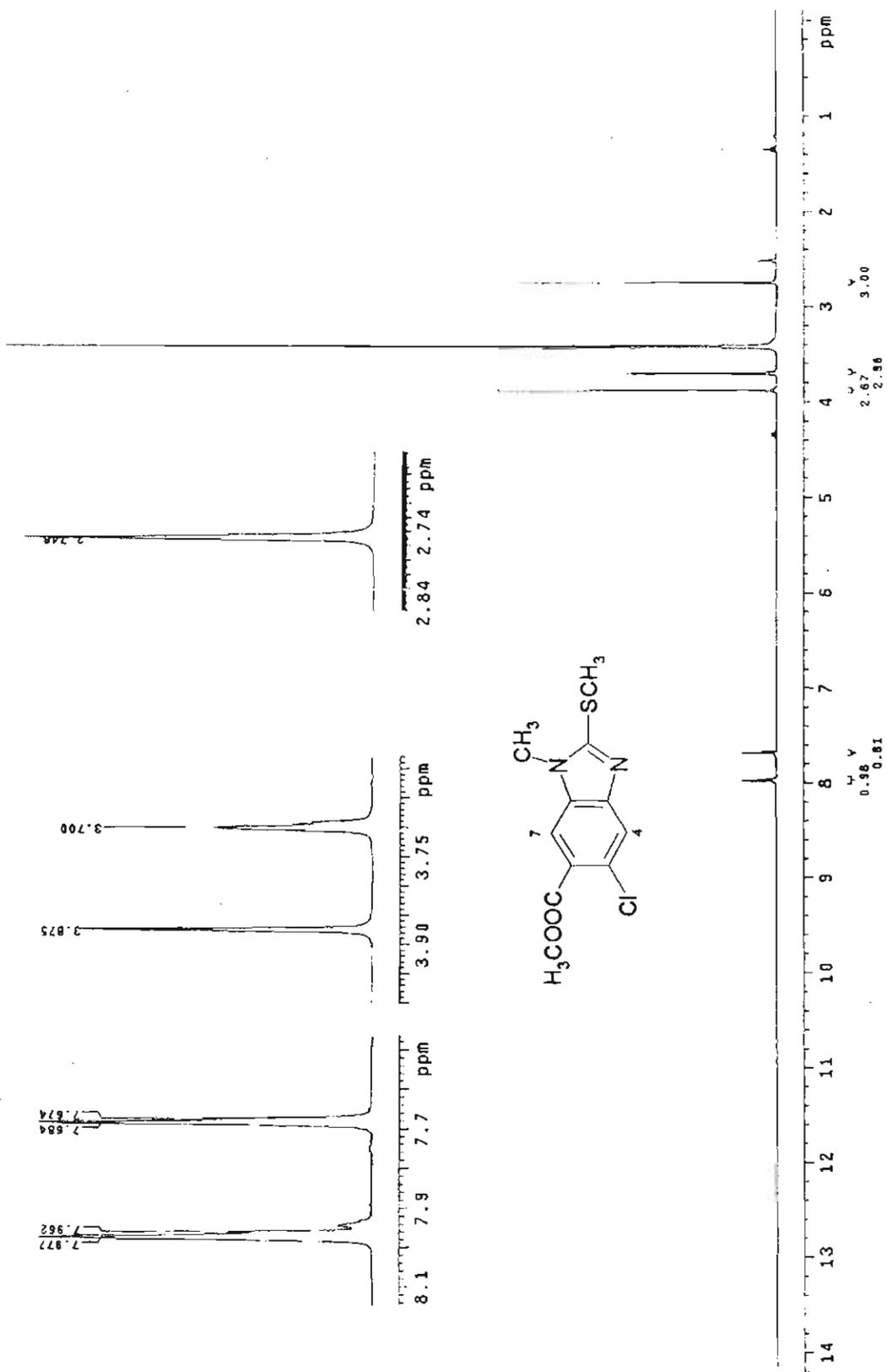
Espectro 35, RMN¹H. (TMS, CDCl₃) ppm: 6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13).



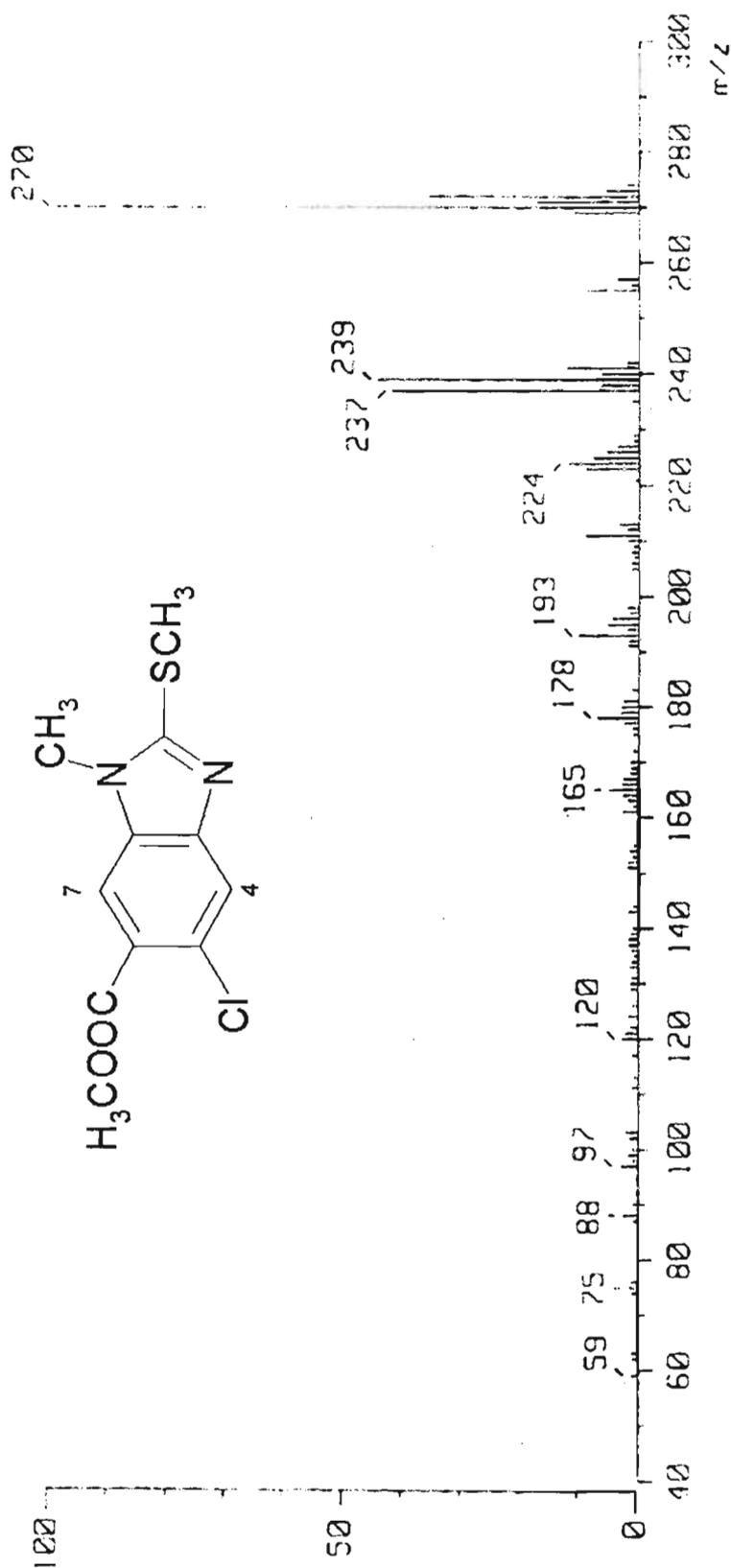
Espectro 36, EM. (IE/ID) m/z : 6-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13).



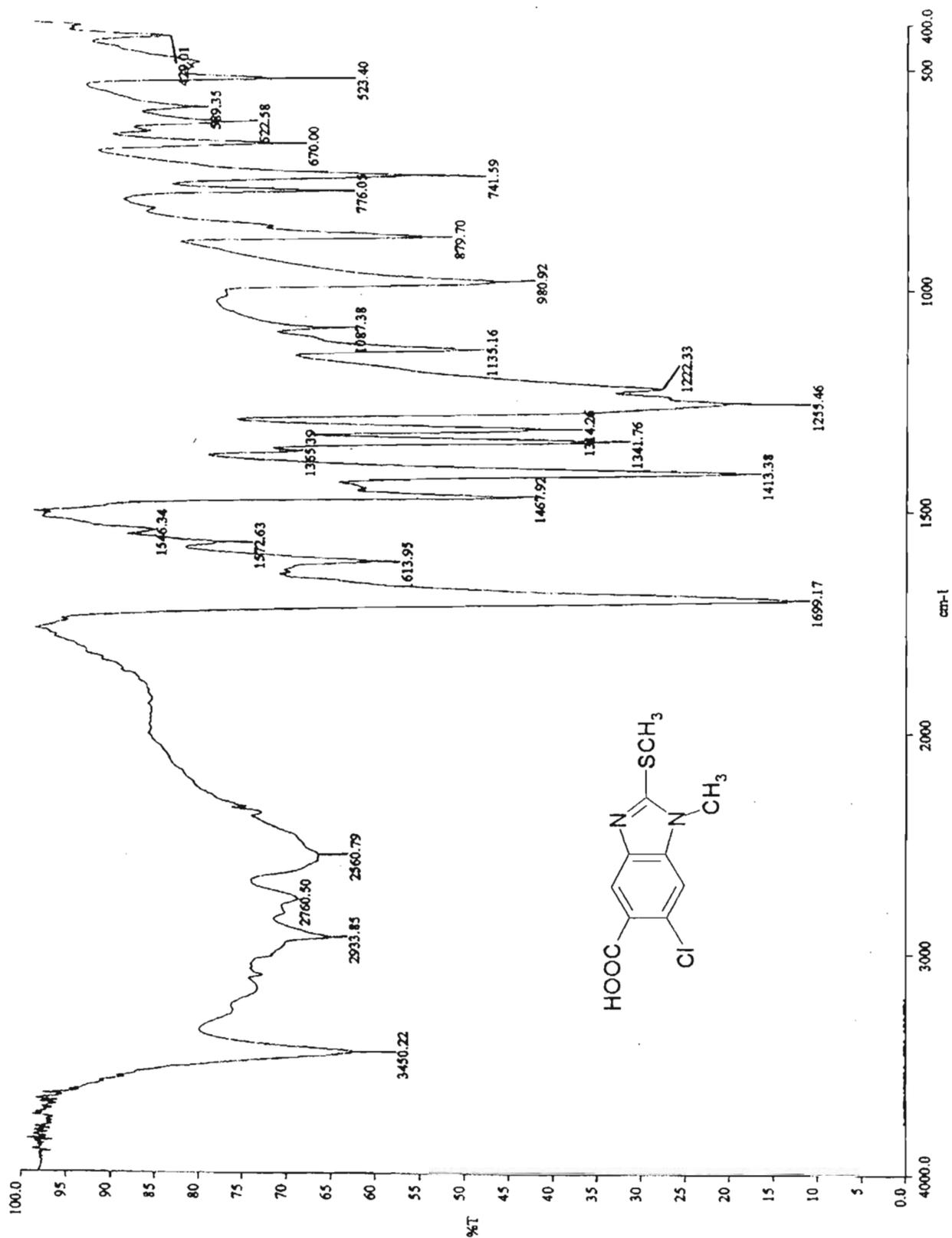
Espectro 37, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 5-Cloro-1-metil-2-(metilitio)-1H-bencimidazol-6-carboxilato de metilo (14).



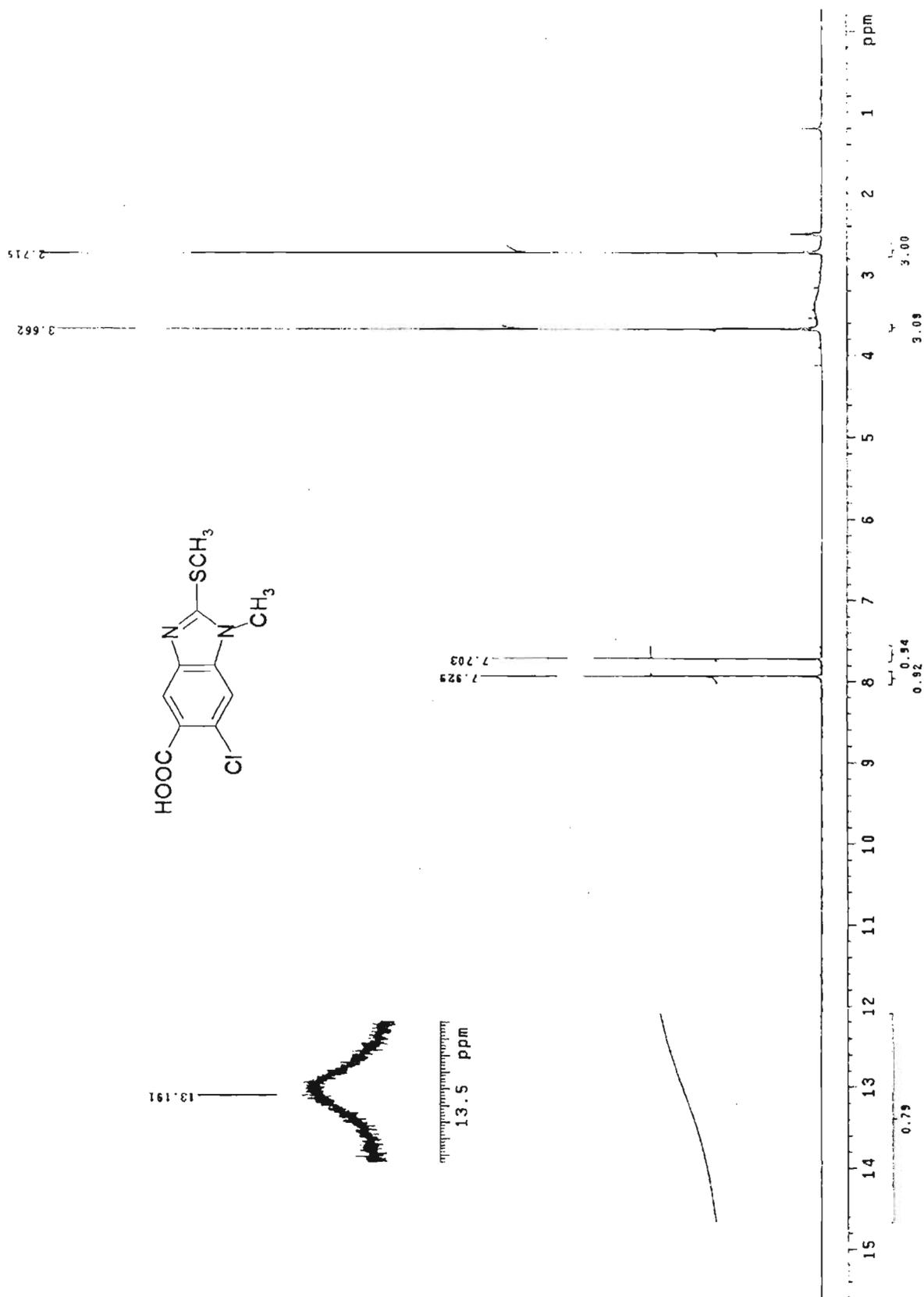
Espectro 38, RMN¹H. (TMS, CDCl₃) ppm: 5-Cloro-1-metil-2-(metilitio)-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (14).



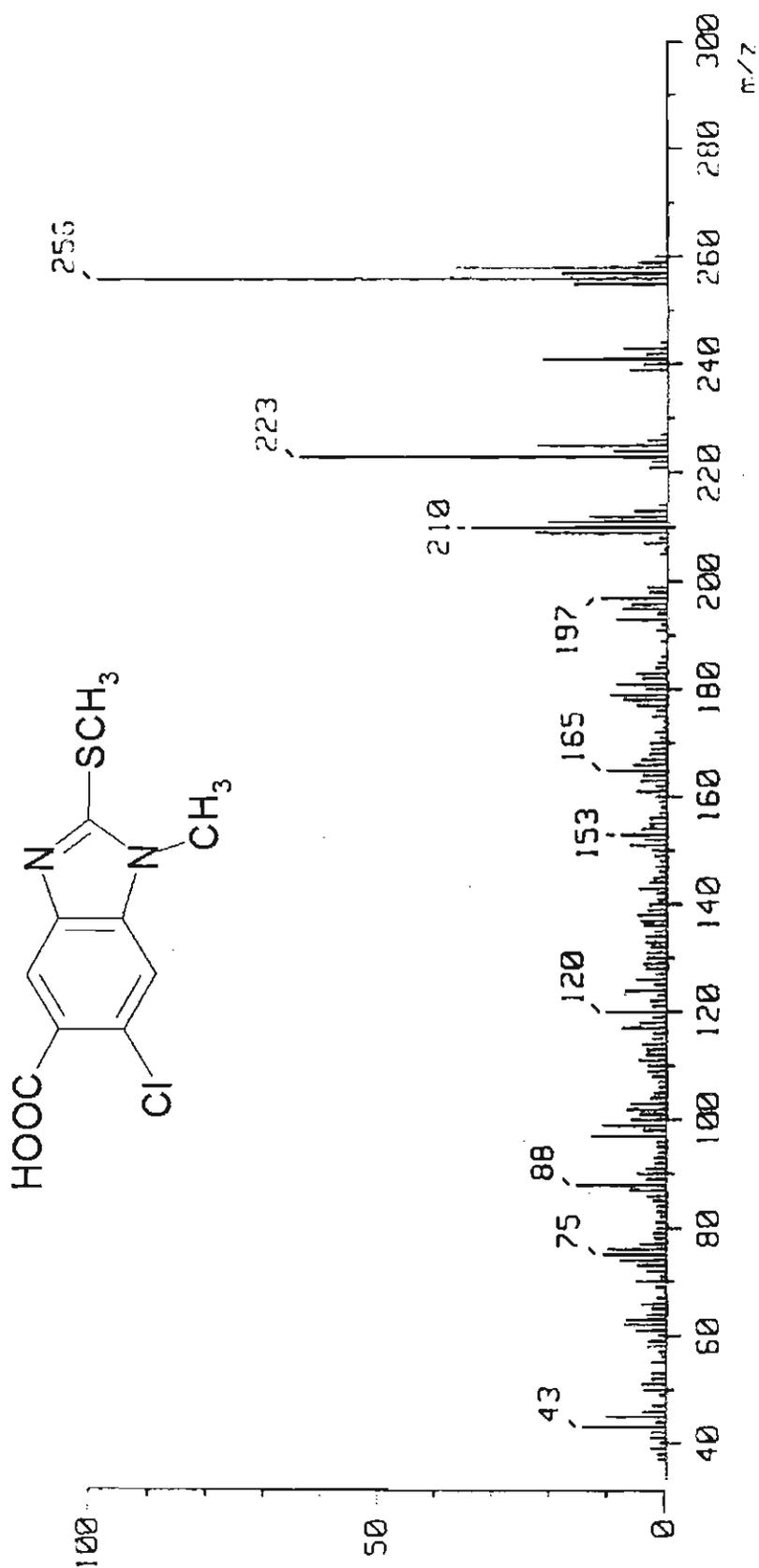
Espectro 39, EM. (IE/ID) m/z: 5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-1H-benzimidazol-6-carboxilato de metilo (14).



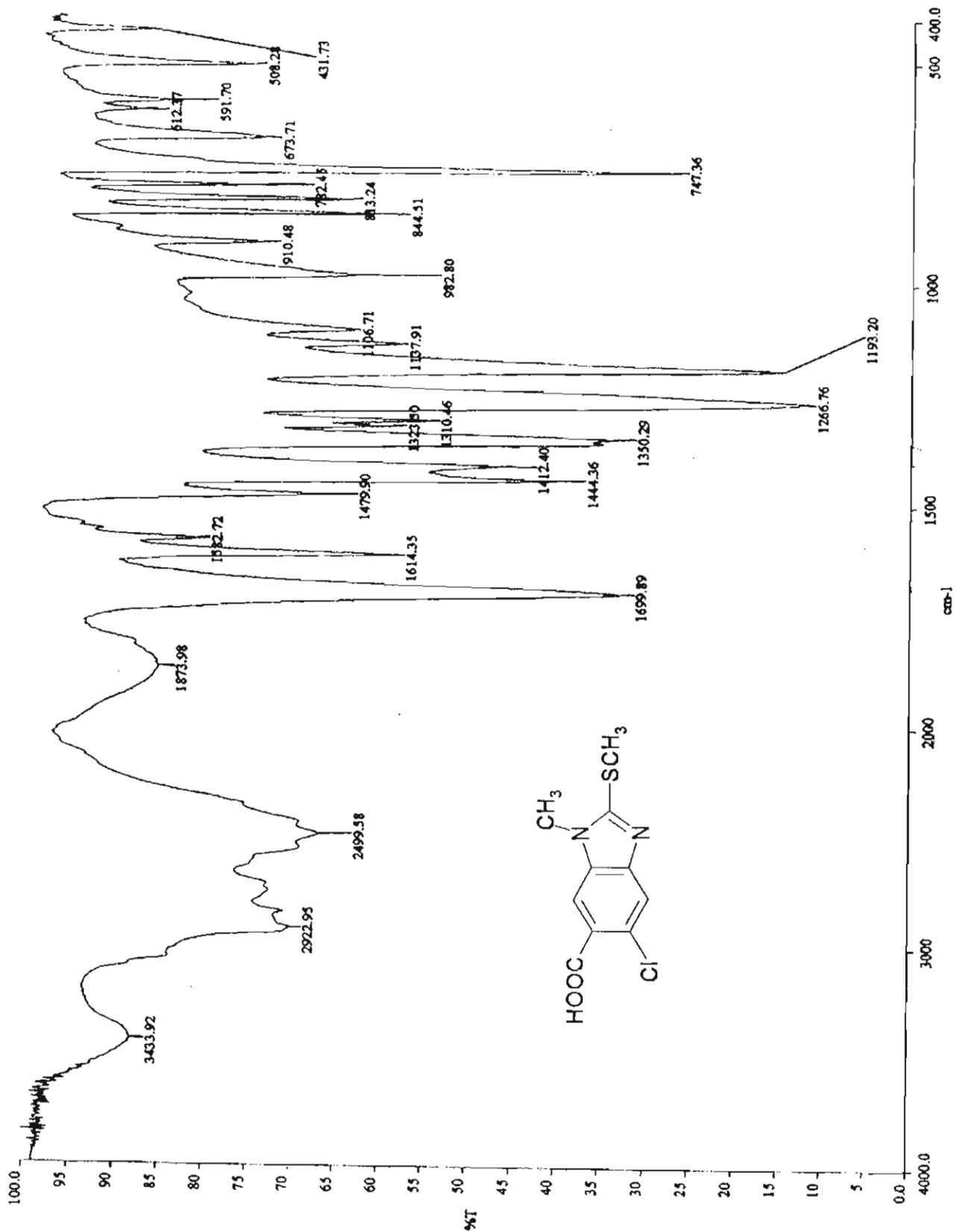
Espectro 40, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: Ácido 6-cloro-1-metil-2-metil-5-(4-cloro-6-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico) (15).



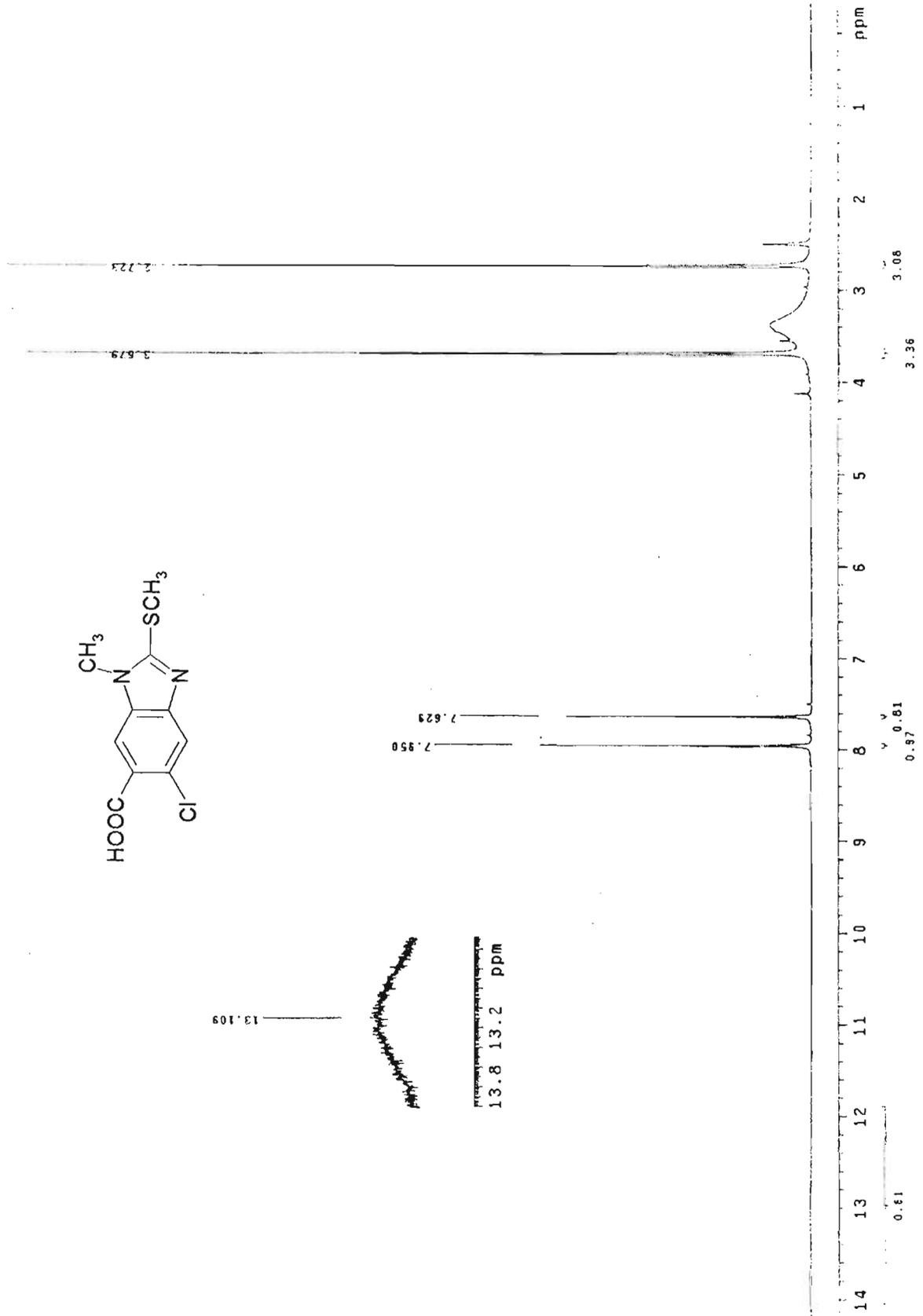
Espectro 41, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: Ácido 6-cloro-1-metil-2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico (15).



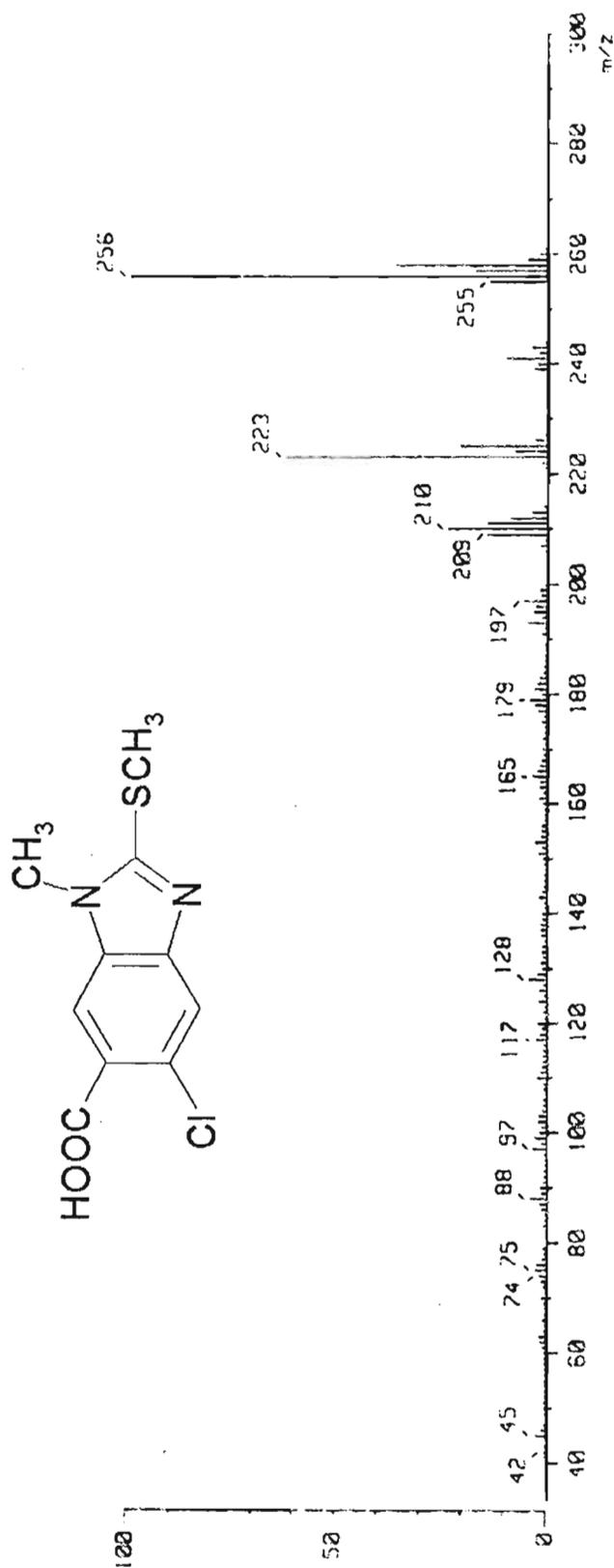
Espectro 42, EM. (IE/ID) *m/z*: Ácido 6-cloro-1-metil-2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (15).



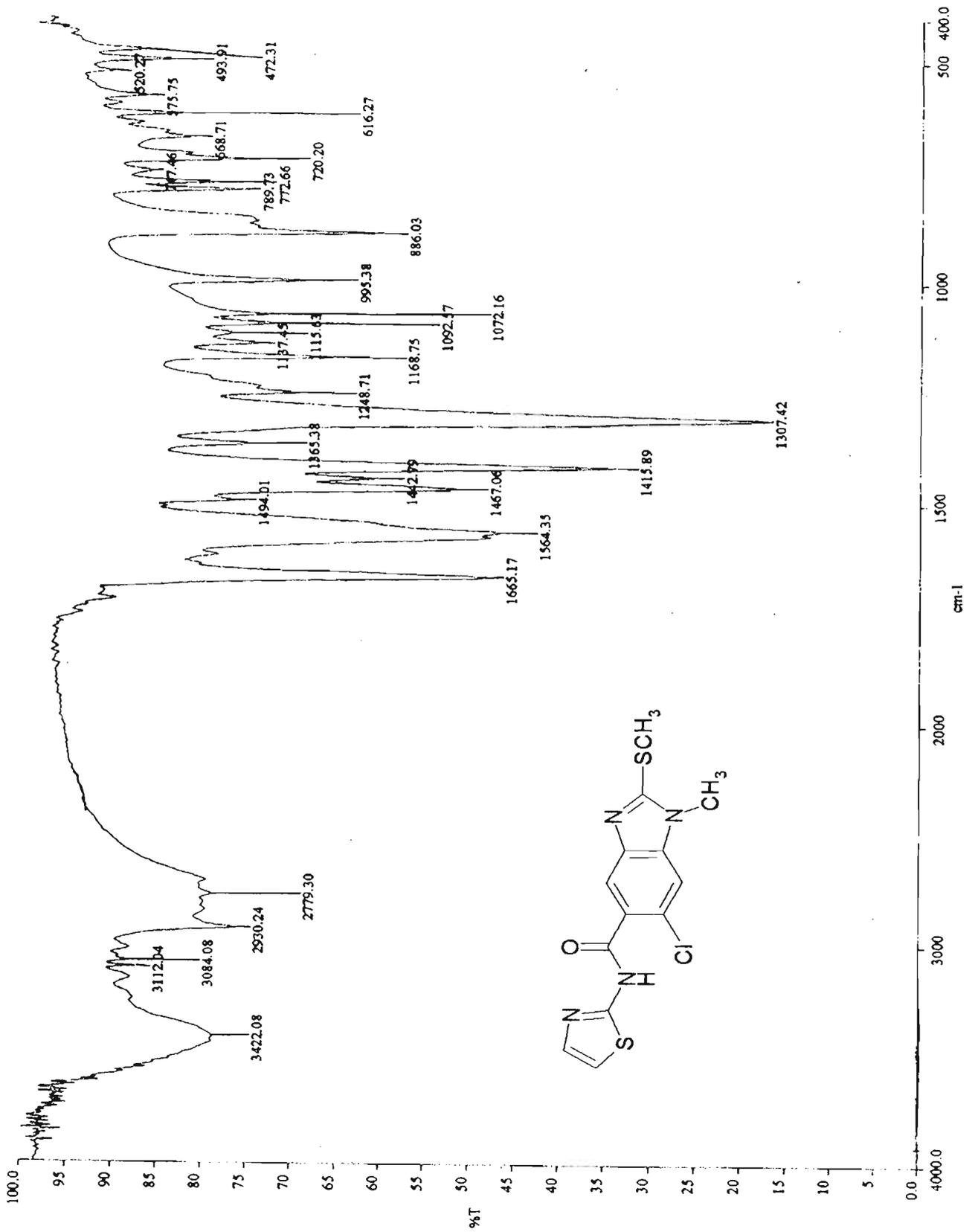
Espectro 43, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: Ácido 5-cloro-1-metil-2-metil-1H-benzimidazol-6-carboxílico (16).



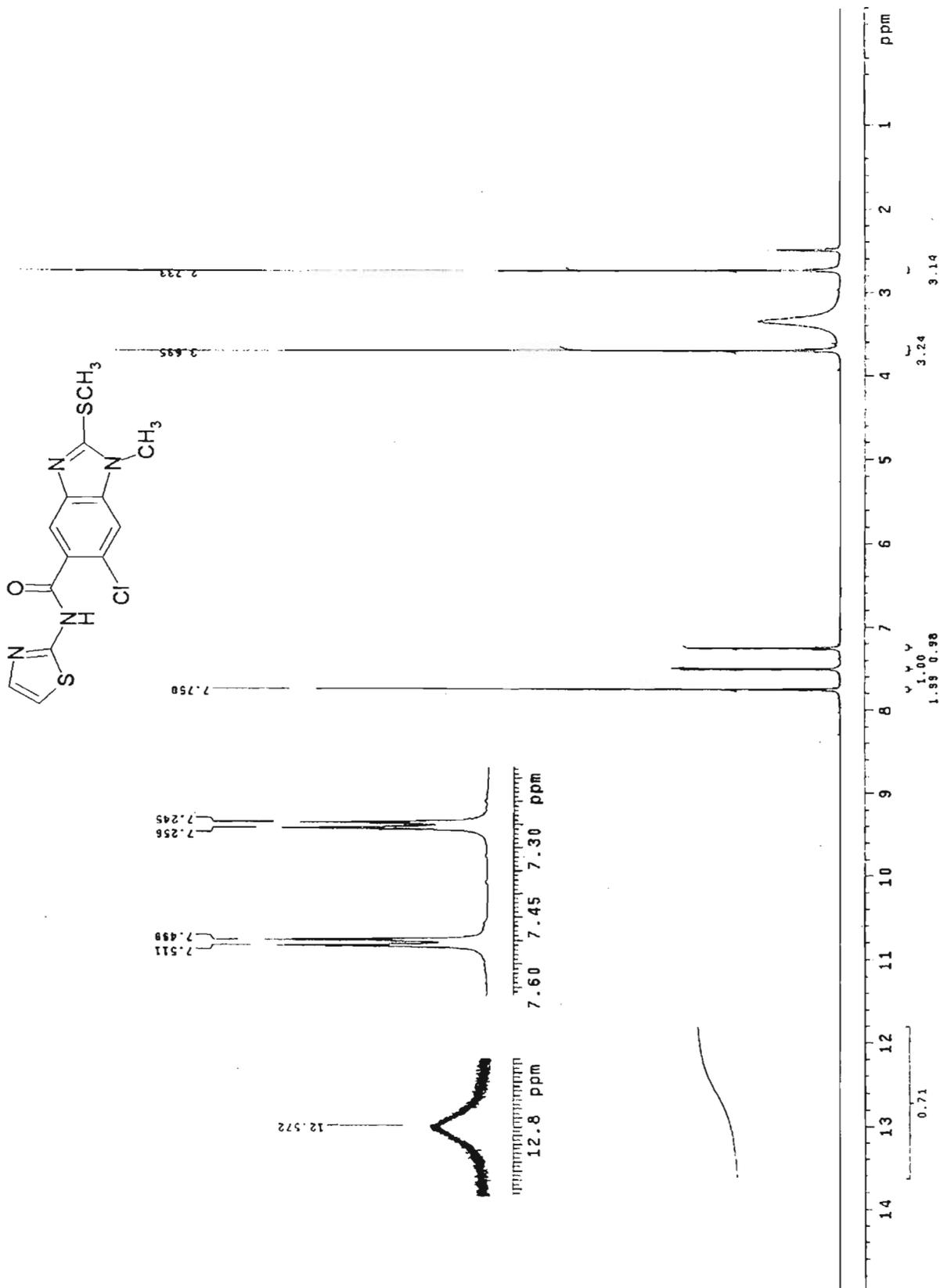
Espectro 44, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: Ácido 5-cloro-1-metil-2-metil-1H-benzimidazol-6-carboxílico (16).



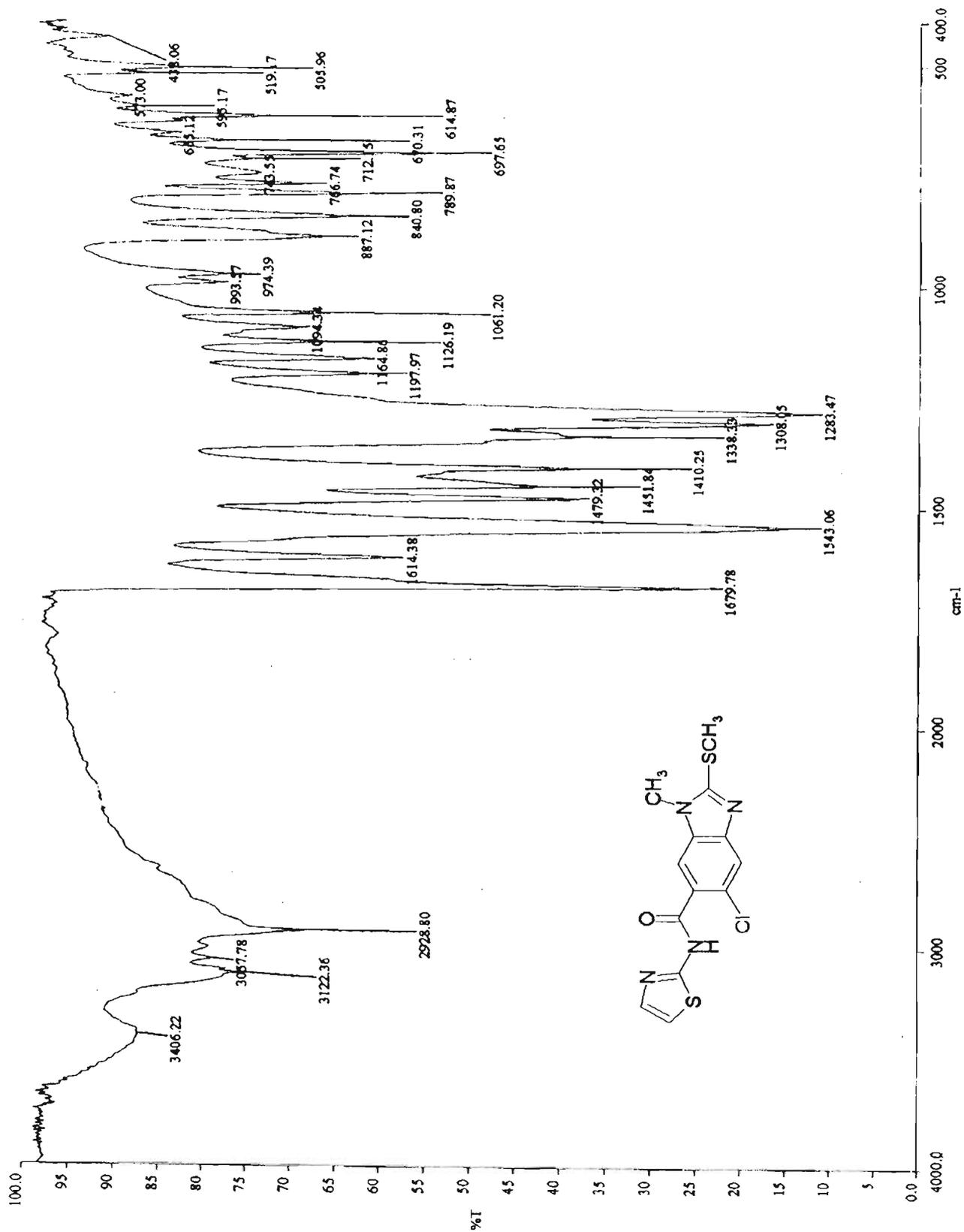
Espectro 45, EM. (IE/ID) m/z: Ácido 5-cloro-1-metil-2-metil-1H-benzimidazol-6-carboxílico (16).



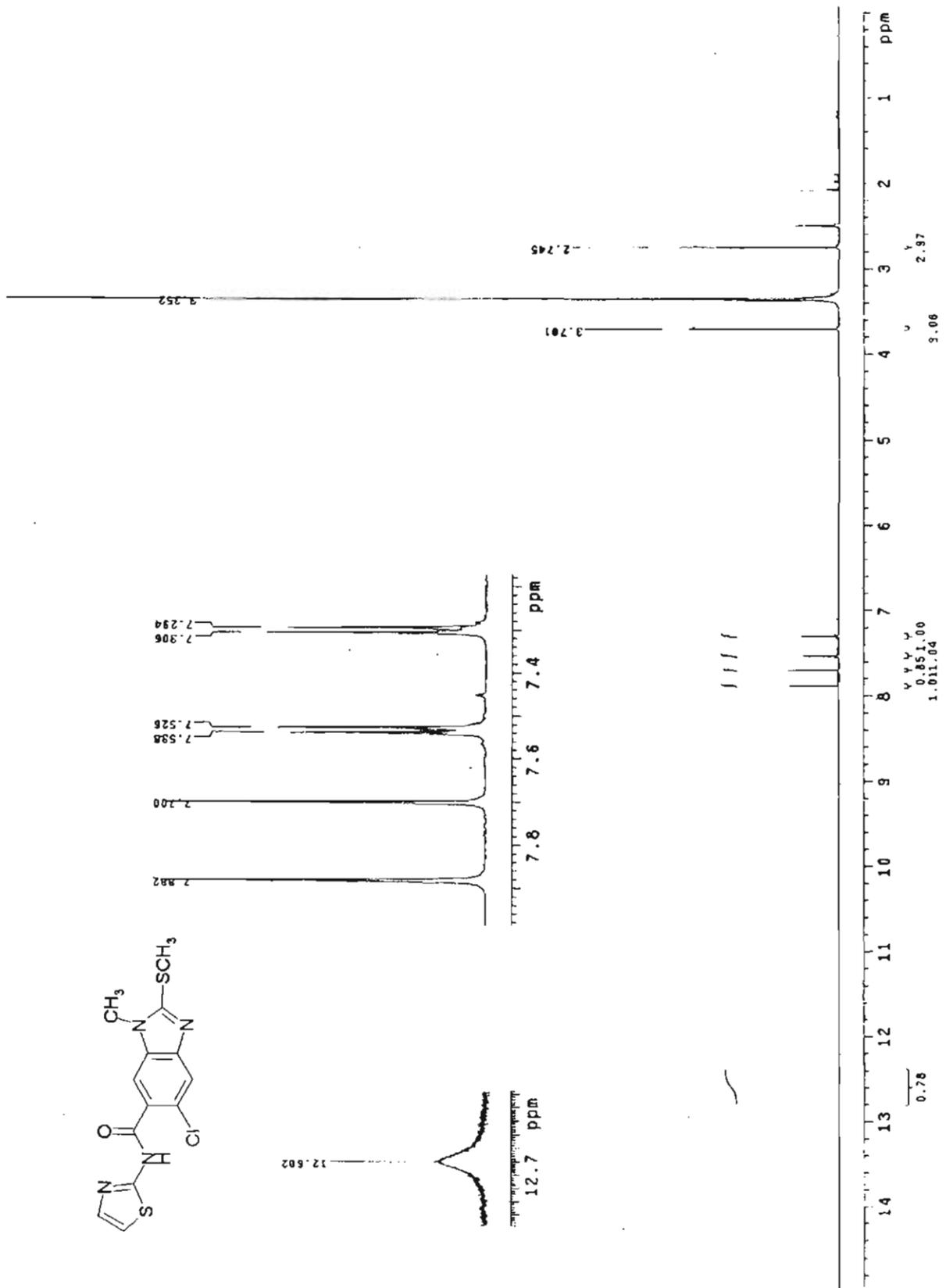
Espectro 46, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 6-Cloro-1-metil-2-(metilto)-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (17).



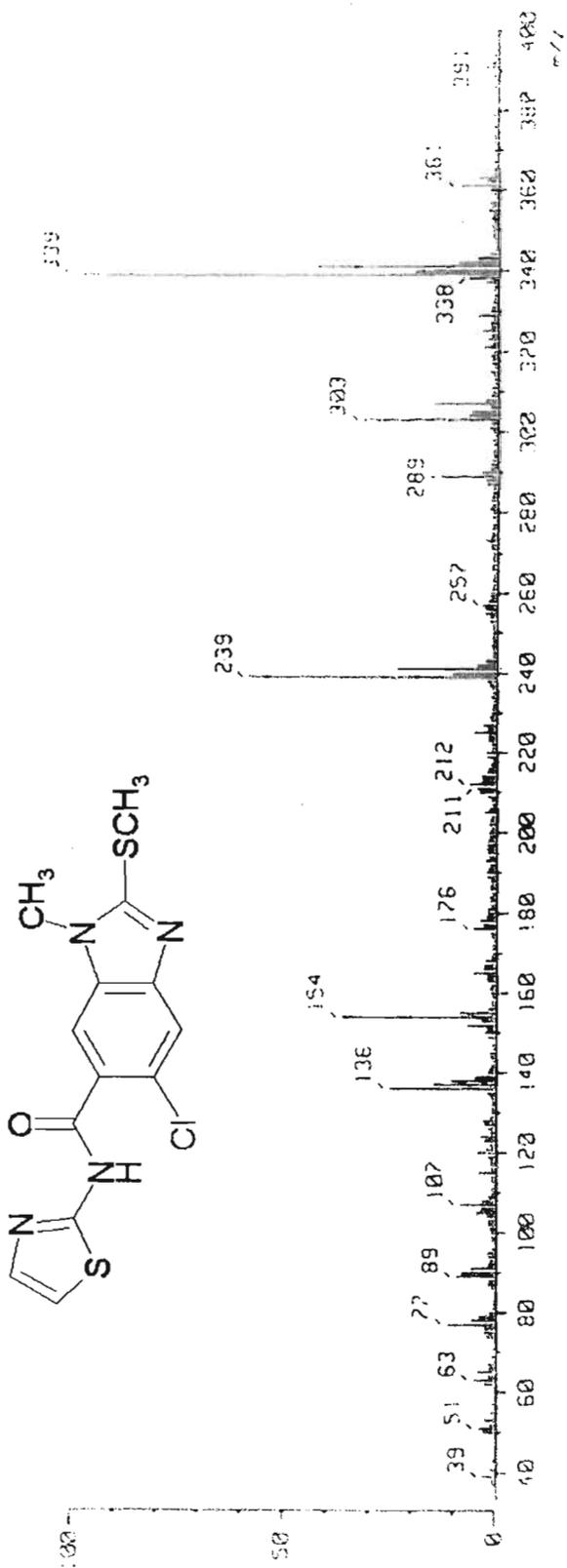
Espectro 47, RMN¹H. (TMS, DMSO-*d*₆) ppm: 6-Cloro-1-metil-2-(metil-2-il)-1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (**17**).



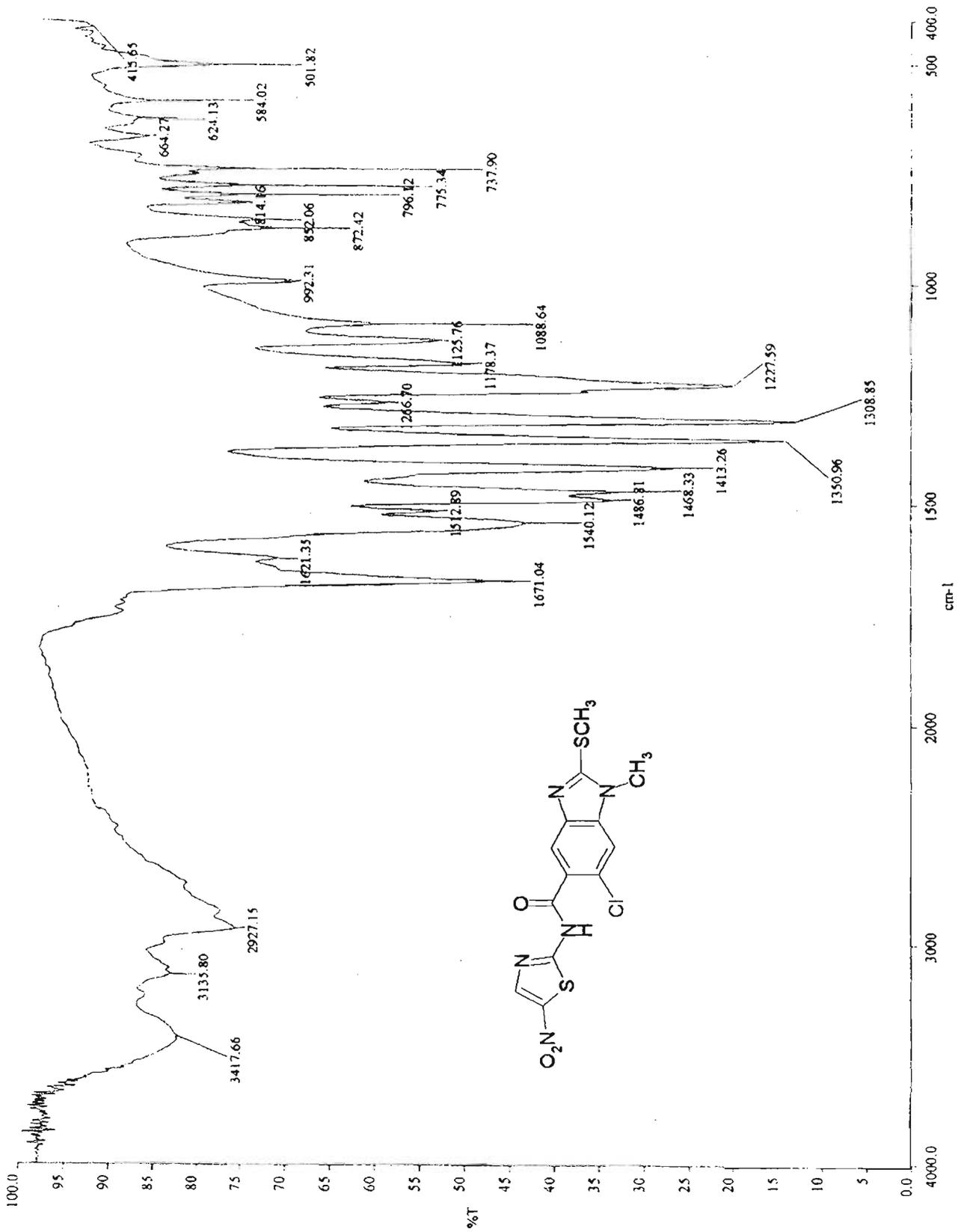
Espectro 49, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 5-Cloro-1-metil-2-(metil-2-(metil-2-(1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-6-carboxamida (18).

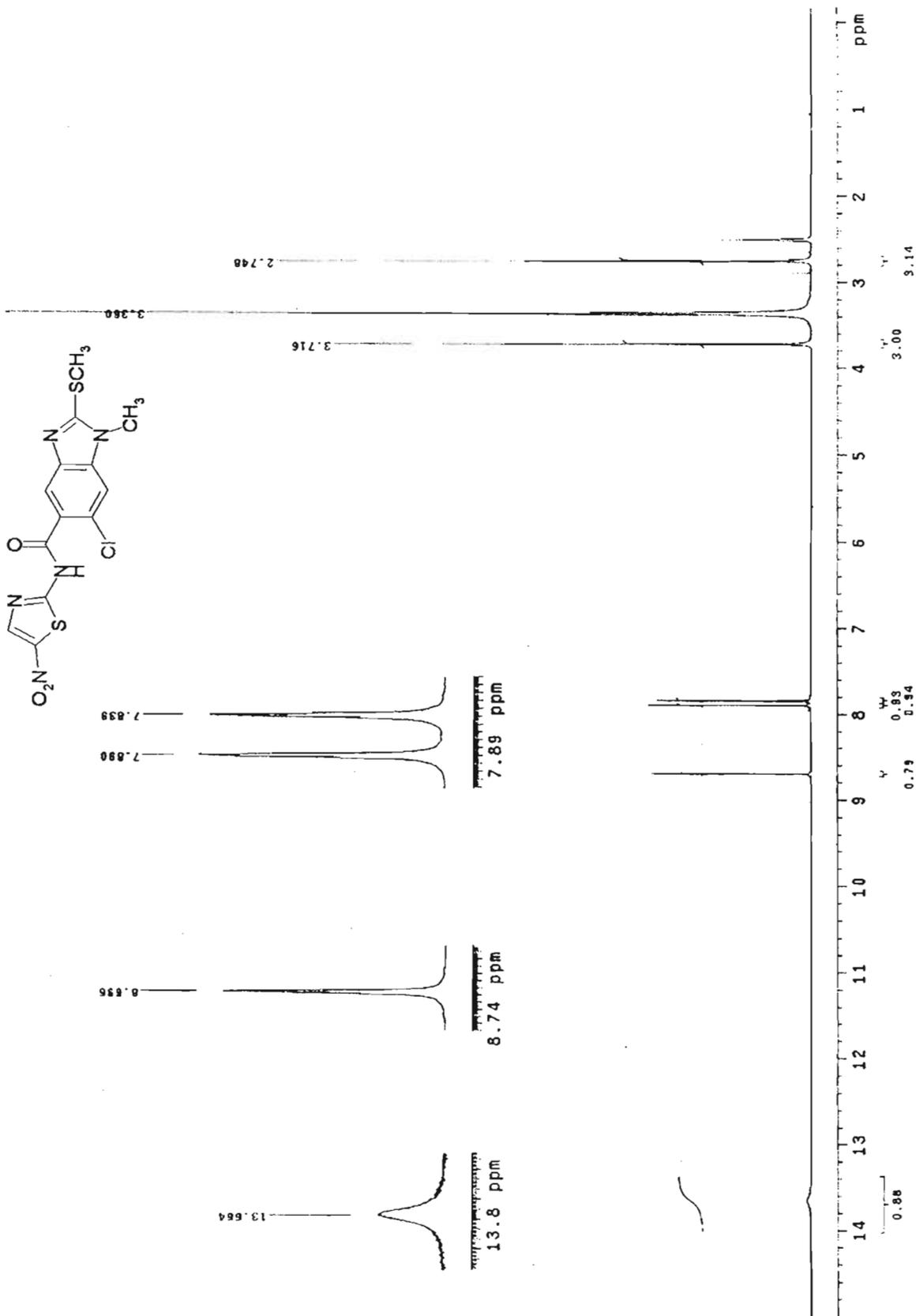


Espectro 50, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: 5-Cloro-1-metil-2-(metil-2-(1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-6-carboxamida (18).

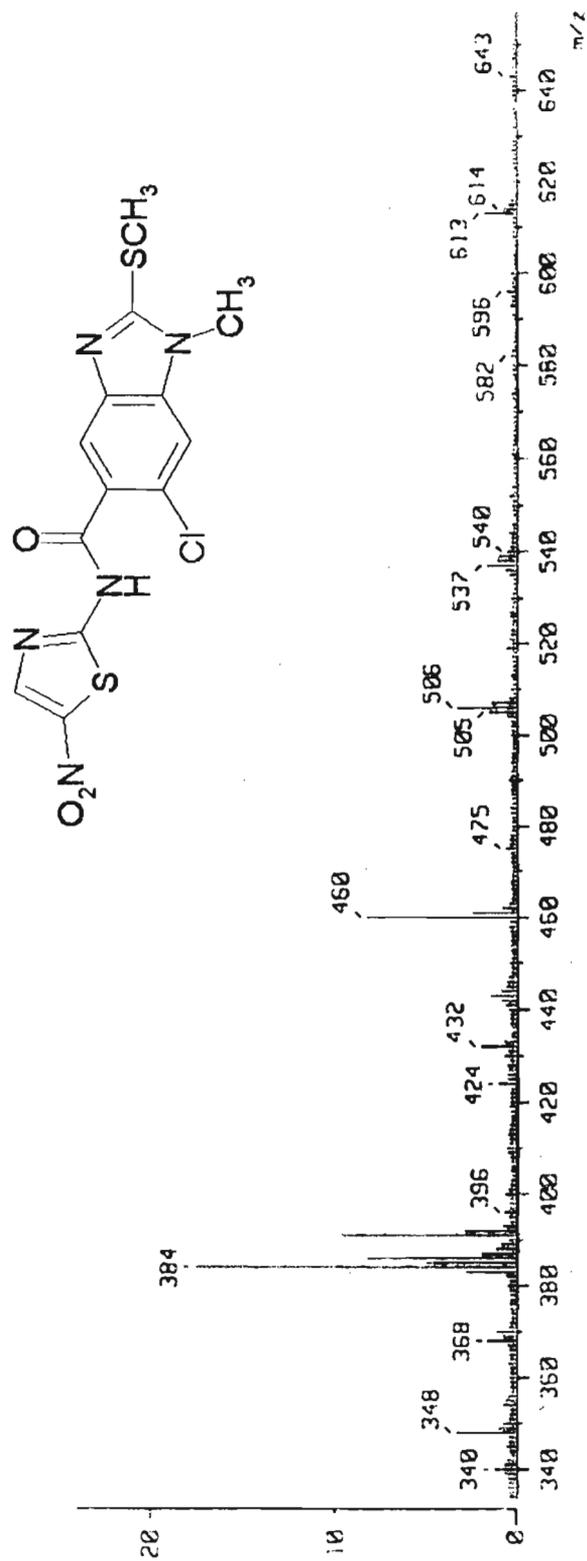


Espectro 51, EM. (FAB+1) m/z: 5-Cloro-1-metil-2-(metiltio)-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-6-carboxamida (18).

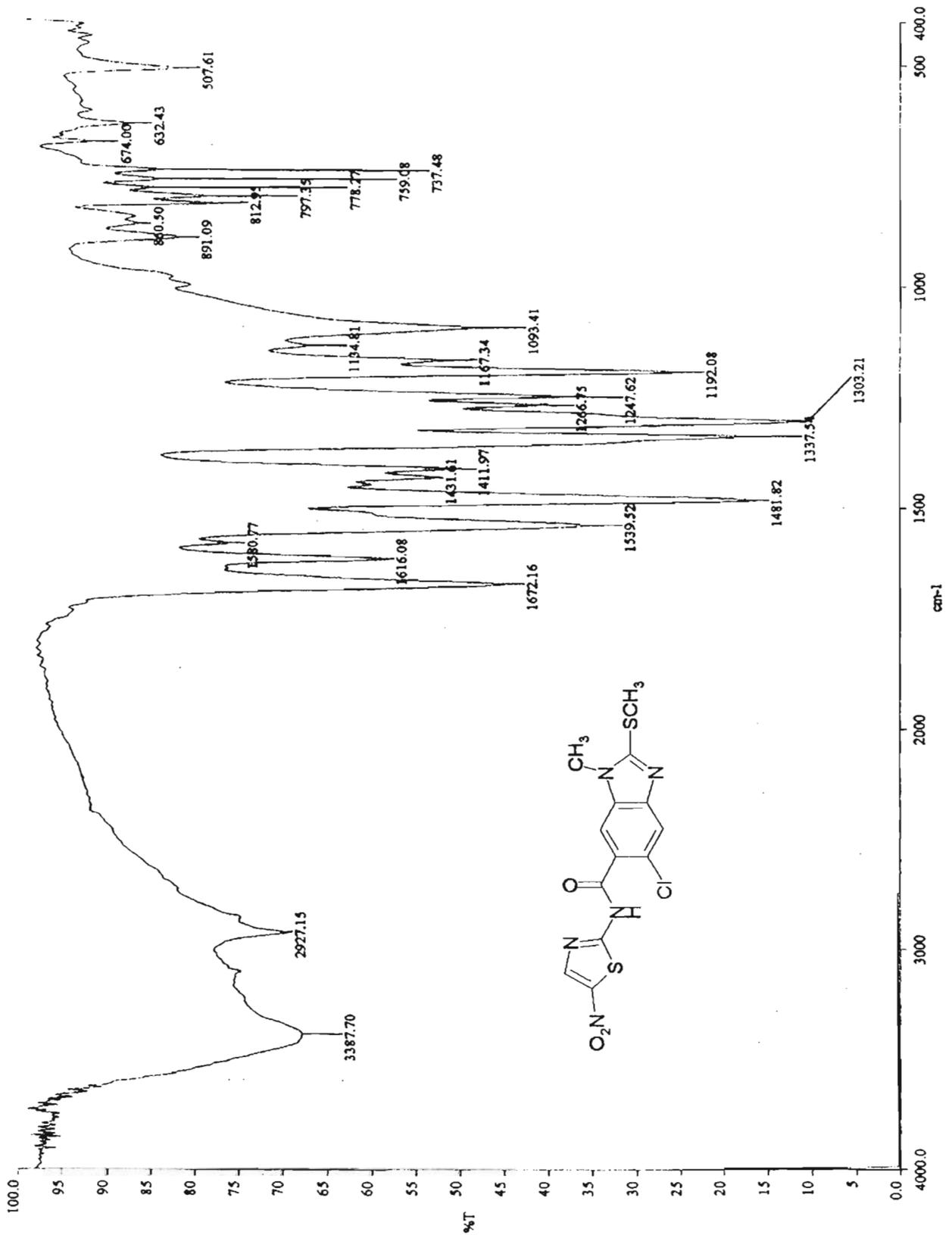




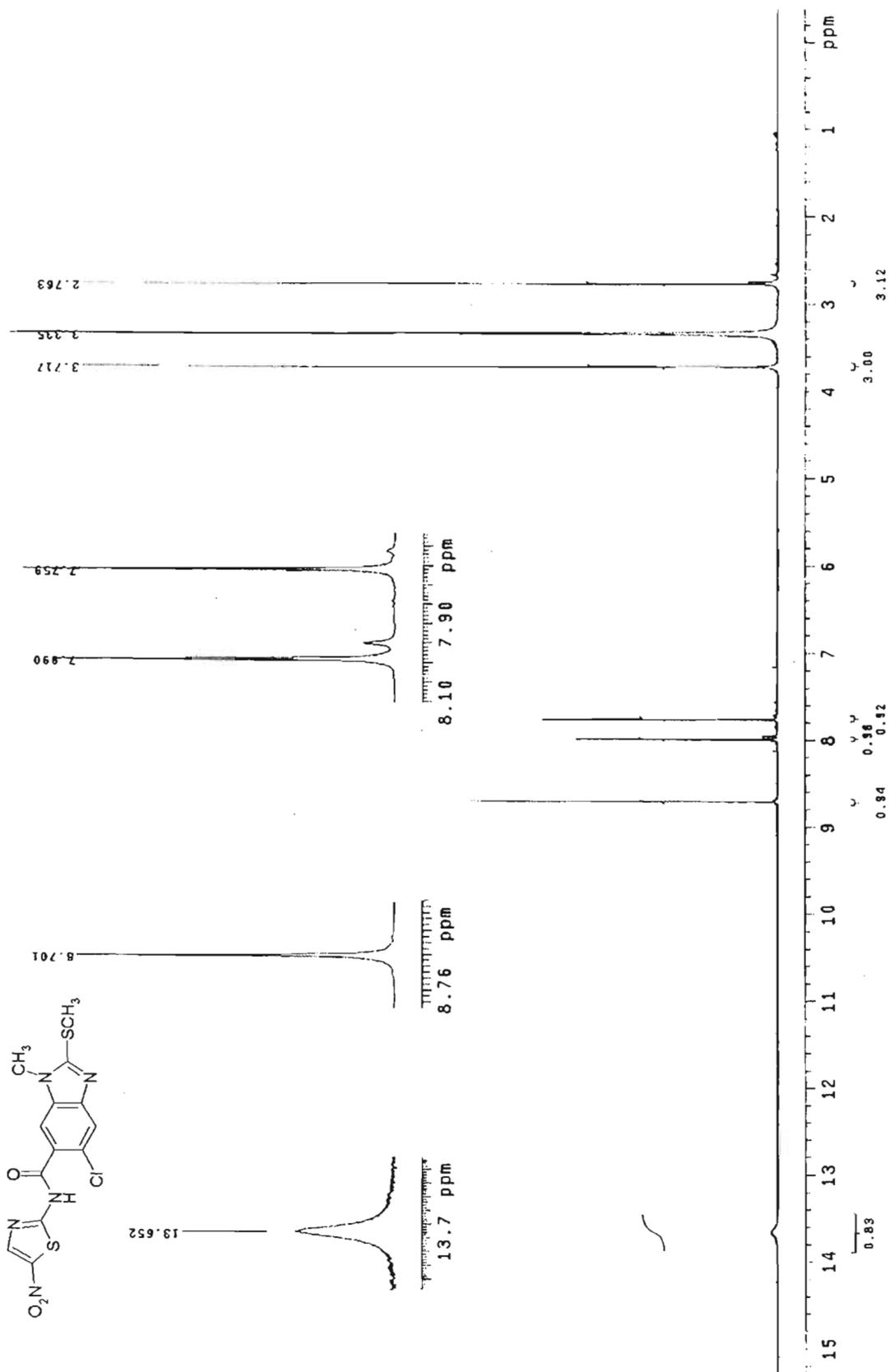
Espectro 53, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: 6-Cloro-1-metil-2-(metilitio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (19).



Espectro 54, EM. (FAB+1) m/z: 6-Cloro-1-metil-2-(metil-5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (19).



Espectro 55, IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹: 5-Cloro-1-metil-2-(metil-2-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-6-carboxamida (20).



Espectro 56, RMN¹H. (TMS, DMSO-d₆) ppm: 5-Cloro-1-metil-2-(metilitio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-benzimidazol-6-carboxamida (20).

