



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA
DE ANÁLOGOS DEL 1H-BENCIMIDAZOL-2-ILCARBAMATO DE METILO”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.I. PAOLA BUSTOS SALGADO



TUTOR: Dr. Rafael Castillo Bocanegra

AÑO: 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

Vocal: Dr. Benjamín Noguera Torres

Secretario: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

Primer suplente: Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Segundo suplente: Dr. René Miranda Ruvalcaba

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio L-122 del edificio E de la Facultad de Química, UNAM; y se presentó en el 19th International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis en Gdansk, Polonia 8-12 Junio de 2008.

Asesor:

Dr. Rafael Castillo Bocanegra

Sustentante:

Q.I. Paola Bustos Salgado

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Caro, Pablo y Luis Miguel por ser la mejor familia que hubiera deseado

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Castillo Bocanegra por aceptarme en su grupo de trabajo y por compartirme su experiencia, conocimientos científicos y sus consejos.

A la Dra. Lilián Tépez Mulia, al Biol. Jesús Azucena y a la Biol. Amparo Tapia, por la determinación de la actividad antiparasitaria llevada a cabo en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Antiparasitarias del IMSS, Centro Médico Siglo XXI.

Al personal de la USAI, Rosa Isela del Villar, Georgina Duarte, Margarita Guzmán, Marisela Gutiérrez y Toño Hernández, por las determinaciones espectroscópicas y espectrométricas.

A CONACyT por la beca otorgada.

A toda mi familia y amigos por sus mimos, oraciones, preocupaciones y consejos durante toda mi vida.

A Doña Pilla por haber sido como una madre y ser mi ángel en esta gran ciudad.

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se describe la síntesis y evaluación antiparasitaria de los siguientes análogos del triclabendazol: *N*-[5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (**17**); *N*-[5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (**18**); *N*-[5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (**19**); *N*-[5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (**20**); 6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-2-il-carbamato de metilo (**21**); 6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-2-il-metilcarbamato de metilo (**22**); 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-2-il-carbamato de metilo (**23**); 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-2-il-metilcarbamato de metilo (**24**). La estructura de estos compuestos se determinó por los datos de los espectros de IR, masas, RMN ¹H y RMN ¹³C. La solubilidad de **17-24** frente a la mayoría de los disolventes orgánicos y agua fue pobre.

Dichos compuestos se sometieron a evaluaciones *in vitro* contra *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*. Los resultados obtenidos indican que **17-24** presentaron actividad en concentración micromolar contra *G. intestinalis* y fueron 20, 19, 17, 51, 9, 45, 2 y 3 veces más potentes que el metronidazol (MTZ), respectivamente. Únicamente los compuestos **20** y **22** tuvieron una actividad parecida a la del albendazol (ABZ), siendo 1.6 y 1.3 veces más activos, respectivamente. Contra *E. histolytica* se observó que **18** y **20** fueron 4 y 10 veces más activos respectivamente que el MTZ (fármaco de elección). Los compuestos **17-24** manifestaron una actividad mayor que la del ABZ en el orden de 3 a 58 veces frente a *T. vaginalis*. Y solamente **18-22** fueron un poco más activos que el metronidazol (1, 2, 4, 1 y 3 veces más respectivamente). Destacan los compuestos **20** y **22** que resultaron ser los más activos frente a los tres protozoarios evaluados y conteniendo estos grupos metilo en la posición 1; se concluye que no es esencial la presencia de un H en 1 y que los compuestos 2-(*N*-metil)carbamatos resultaron mejores.

Adicionalmente, los compuestos **17-24** fueron evaluados *in vitro* e *in vivo* contra la fase adulta del helminto *Trichinella spiralis*. Los resultados muestran que únicamente **21** y **22** fueron más activos que el ABZ, *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. Los demás compuestos no presentaron una reducción significativa del parásito. Los resultados corroboran que para tener una mejor actividad antihelmíntica, el BZC debe contener un H en la posición 1.

ABSTRACT

In this thesis are described the synthesis and antiparasitic activity of the following triclabendazole derivatives: methyl *N*-[5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamate (**17**); methyl *N*-[5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1*H*-benzimidazol-2-yl]methylcarbamate (**18**); methyl *N*-[5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamate (**19**); methyl *N*-[5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl]methylcarbamate (**20**); methyl 6-(2,3-dichlorophenoxy)-1*H*-2-yl-carbamate (**21**); methyl 6-(2,3-dichlorophenoxy)-1*H*-2-yl-methylcarbamate (**22**); methyl 6-(2,3-dichlorophenoxy)-1-methyl-1*H*-2-yl-carbamate (**23**); methyl 6-(2,3-dichlorophenoxy)-1-methyl-1*H*-2-yl-methylcarbamate (**24**). All compounds were consistent with IR, mass spectrometry, ¹H NMR and ¹³C NMR data. The solubility of **17-24** was low in water and most organic solvents.

The compounds synthesized in this work were tested in vitro against *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytic* and *Trichomonas vaginalis*. All the compounds (**17-24**) had a good micromolar activity against *G. intestinalis* and they were 20, 19, 17, 51, 9, 45, 2 and 3 times more potent than metronidazole. Only **20** and **22** had an activity similar to albendazole, 1.6 and 1.3 times more active. Against *E. histolytica* **18** and **20** were 4 and 10 times more active than MTZ (the drug of choice). On the other hand, **17-24** were 3 to 58 times more active than ABZ against *T. vaginalis* and **18-22** were more active than metronidazole (1, 2, 4, 1 and 3 times). Compounds **20** y **22** were the most active than all of them against the three protozoa with a methyl group at position 1. It is concluded that the presence of an atom of H at position 1 of the benzimidazole nucleus is not essential for antiprotozoal activity.

Additionally, compounds **17-24** were tested in vitro and in vivo against adult helminth *Trichinella spiralis*. The results obtained show that only **21** y **22** were more active than ABZ, in vitro e in vivo, respectively. For an anthelmintic activity is important that the BZC has a H atom at position 1 of the benzimidazole nucleus.

ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	3
2.1.	Problemática general	3
2.2.	Tratamiento de las enfermedades parasitarias y su problemática actual	5
2.3.	Benzimidazol 2-carbamato de metilo como agente antiprotozoarios	7
2.4.	Mecanismo de acción de los bencimidazol 2-carbamato de metilo frente a helmintos	7
2.5.	Métodos de síntesis de los bencimidazol 2-carbamato de metilo	8
2.6.	Condiciones para el diseño o relación Estructura-Actividad	11
3.	HIPÓTESIS	13
4.	OBJETIVOS	13
4.1.	Objetivo General	13
4.2.	Objetivos específicos	13
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.1.	Parte química	15
5.2.	Parte biológica	19
5.2.1.	Parásitos	20
5.2.2.	Obtención de las larvas musculares de <i>Trichinella spiralis</i>	20
5.2.3.	Ensayo in vivo de derivados del triclabendazol sobre la fase adulto de <i>Trichinella spiralis</i>	20
5.2.4.	Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre la fase adulto de <i>Trichinella spiralis</i>	21
5.2.5.	Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre <i>Giardia intestinalis</i> y <i>T. vaginalis</i>	21
5.2.6.	Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre <i>Entamoeba histolytica</i>	22
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
6.1.	Parte química	23
6.2.	Parte biológica	42
6.2.1.	Evaluación de la actividad antiprotozoaria de los compuestos contra <i>Giardia intestinalis</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> y <i>Trichomonas vaginalis</i>	42
6.2.2.	Evaluación de la actividad antihelmíntica de los compuestos contra <i>Trichinella spiralis</i>	45
7.	CONCLUSIONES	47
8.	PARTE EXPERIMENTAL	49
8.1.	Información general	49
8.2.	Sistemas cromatográficos	50
8.3.	Métodos sintéticos	50
8.3.1.	<i>N</i> -(3,4-Diclorofenil)acetamida (32)	50
8.3.2.	<i>N</i> -(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)acetamida (33)	51
8.3.3.	4,5-Dicloro-2-nitroanilina (25)	51
8.3.4.	4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)	52
8.3.5.	4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina (27)	53
8.3.6.	<i>N</i> -[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]carbamato	54

	de metilo (17)	
8.3.7.	1,3-(Dimetoxicarbonil)- <i>S</i> -metilisotiourea (44)	54
8.3.8.	<i>N</i> -[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (18)	55
8.3.9.	<i>N</i> -(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (28)	56
8.3.10.	4,5-Dicloro- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (45)	57
8.3.11.	4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (29)	57
8.3.12.	4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-1,2-fenilendiamina (30)	58
8.3.13.	<i>N</i> -[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (19)	59
8.3.14.	<i>N</i> -[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (20)	60
8.3.15.	<i>N</i> -(5-Cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)	61
8.3.16.	<i>N</i> -[5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (35)	61
8.3.17.	5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)	62
8.3.18.	4-(2,3-Diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina (36)	63
8.3.19.	5(6)-(2,3-Diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo (21)	63
8.3.20.	5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (22)	64
8.3.21.	<i>N</i> -(5-Cloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (42)	65
8.3.22.	<i>N</i> -[5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- <i>N</i> -metilacetamida (43)	66
8.3.23.	5-(2,3-Diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (38)	67
8.3.24.	5-(2,3-Diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-1,2-fenilendiamina (39)	67
8.3.25.	5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (23)	68
8.3.26.	5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo (24)	69
9.	BIBLIOGRAFÍA	70
10.	ESPECTROS	71
	Espectro 1. IR de <i>N</i> -(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (33)	71
	Espectro 2. EM (IE) de <i>N</i> -(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (33)	71
	Espectro 3. RMN ¹ H de <i>N</i> -(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (33)	72
	Espectro 4. IR de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (25)	72
	Espectro 5. EM (IE) de ,5-dicloro-2-nitroanilina (25)	73
	Espectro 6. RMN ¹ H de ,5-dicloro-2-nitroanilina (25)	73
	Espectro 7. IR de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)	74
	Espectro 8. EM (IE) de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)	74
	Espectro 9. RMN ¹ H de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)	75
	Espectro 10. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)	75
	Espectro 11. EM (FAB ⁺) de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)	76
	Espectro 12. RMN ¹ H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)	76
	Espectro 13. RMN ¹³ C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)	77
	Espectro 14. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)	77
	Espectro 15. EM (FAB ⁺) de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)	78

Espectro 16. RMN ¹ H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)	78
Espectro 17. RMN ¹³ C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)	79
Espectro 18. NOESY de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)	80
Espectro 19. IR de <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (28)	81
Espectro 20. EM (FAB ⁺) de <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (28)	81
Espectro 21. RMN ¹ H de <i>N</i> -(4,5-dicloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (28)	82
Espectro 22. IR de 4,5-dicloro- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (45)	82
Espectro 23. EM (IE) de 4,5-dicloro- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (45)	83
Espectro 24. RMN ¹ H de 4,5-dicloro- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (45)	83
Espectro 25. IR de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (29)	84
Espectro 26. EM (IE) de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (29)	84
Espectro 27. RMN ¹ H de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (29)	85
Espectro 28. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)	85
Espectro 29. EM (FAB ⁺) de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)	86
Espectro 30. RMN ¹ H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)	86
Espectro 31. RMN ¹³ C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)	87
Espectro 32. NOESY de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)	87
Espectro 33. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (20)	88
Espectro 34. EM (FAB ⁺) de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (20)	88
Espectro 35. RMN ¹ H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (20)	89
Espectro 36. RMN ¹³ C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (20)	89
Espectro 37. RMN ¹³ C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (20)	90
Espectro 38. IR de <i>N</i> -(3-clorofenil)acetamida (40)	91
Espectro 39. EM (IE) de <i>N</i> -(3-clorofenil)acetamida (40)	91
Espectro 40. RMN ¹ H de <i>N</i> -(3-clorofenil)acetamida (40)	92
Espectro 41. IR de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)	92
Espectro 42. EM (IE) de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)	93
Espectro 43. RMN ¹ H de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)	93
Espectro 44. IR de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (35)	94
Espectro 45. EM (IE) de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (35)	94
Espectro 46. RMN ¹ H de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (35)	95
Espectro 47. IR de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)	95
Espectro 48. EM (IE) de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)	96
Espectro 49. RMN ¹ H de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)	96
Espectro 50. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)	97
Espectro 51. EM (FAB ⁺) de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)	97
Espectro 52. RMN ¹ H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)	98
Espectro 53. RMN ¹³ C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)	98
Espectro 54. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)	99

Espectro 55. EM (FAB ⁺) de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)	99
Espectro 56. RMN ¹ H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)	100
Espectro 57. RMN ¹³ C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)	100
Espectro 58. RMN ¹³ C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)	101
Espectro 59. IR de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (42)	102
Espectro 60. EM (IE) de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (42)	102
Espectro 61. RMN ¹ H de <i>N</i> -(5-cloro-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (42)	103
Espectro 62. IR de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- <i>N</i> -metilacetamida (43)	103
Espectro 63. EM (FAB ⁺) de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- <i>N</i> -metilacetamida (43)	104
Espectro 64. RMN ¹ H de <i>N</i> -[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- <i>N</i> -metilacetamida (43)	104
Espectro 65. IR de 5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (38)	105
Espectro 66. EM (IE) de 5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (38)	105
Espectro 67. RMN ¹ H de 5-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina (38)	106
Espectro 68. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (23)	106
Espectro 69. EM (FAB ⁺) de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (23)	107
Espectro 70. RMN ¹ H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (23)	107
Espectro 71. RMN ¹³ C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (23)	108
Espectro 72. NOESY de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (23)	109
Espectro 73. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (24)	110
Espectro 74. EM (FAB ⁺) de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (24)	110
Espectro 75. RMN ¹ H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (24)	111
Espectro 76. RMN ¹³ C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (24)	111

ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Tabla 1. Principales parasitosis, sus agentes y distribución mundial	4
Tabla 2. Principales parasitosis y los tratamientos de elección	5
Tabla 3. Compuestos para sintetizar	14
Tabla 4. Rendimiento y propiedades físicas de los productos de S _N A	25
Tabla 5. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios 26, 29, 35, 38, 41 y 43	25
Tabla 6. Propiedades físicas y rendimientos de los BZC finales	30
Tabla 7. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los BZC finales	30
Tabla 8. Actividad antiprotozoaria in vitro de los compuestos sintetizados, MTZ y ABZ	43
Tabla 9. Actividad in vivo de los compuestos sintetizados sobre el adulto de <i>T. spiralis</i>	45
Tabla 10. Actividad in vitro de los compuestos sintetizados sobre el adulto de <i>T. spiralis</i>	46
Figura 1. Algunos fármacos antiparasitarios	5
Figura 2. Espectro de RMN ¹ H de 18.	35

Figura 3. Espectro de NOESY de 18 .	36
Figura 4. Espectros de NOESY de 19 .	37
Figura 5. Espectro de NOESY de 20 .	38
Figura 6. Espectro de NOESY de 22 .	39
Figura 7. Espectro de NOESY de 23 .	40
Figura 8. Espectro de RMN ¹³ C de 18 .	41
Figura 9. Espectro de RMN ¹³ C de 19 .	42
Gráfica 1. Potencia contra <i>G. intestinalis</i> de los compuestos sintetizados en comparación con albendazol (ABZ) y metronidazol (MTZ).	43
Gráfica 2. Potencia contra <i>T. vaginalis</i> de los compuestos sintetizados en comparación con albendazol (ABZ) y metronidazol (MTZ).	44
Gráfica 3. Porcentaje de reducción in vivo de los adultos de <i>T. spiralis</i> frente a 17-24 y ABZ.	45
Gráfica 4. Porcentaje de reducción <i>in vitro</i> de las larvas de <i>T. spiralis</i> frente a 17-22 y ABZ.	46

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por parásitos, tanto protozoarios (protozoosis) como helmintos (helminthiasis), siguen siendo uno de los principales problemas de salud en países en desarrollo, entre ellos México. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, más de la mitad de la población mundial presenta una infección parasitaria. Aunque los índices de mortalidad de estas enfermedades son relativamente bajos, comparados con otros padecimientos mundiales, los daños que causan a la salud afectan principalmente a la población infantil, mientras que en personas mayores estas enfermedades pueden afectar su calidad de vida. El sector veterinario también se ve afectado por el incremento del deterioro de la salud en los animales domésticos y silvestres causando una merma considerable en la economía del sector pecuario.

Una de estas parasitosis es la paramfistomosis, enfermedad de los rumiantes causada por parásitos del rumen e intestino delgado principalmente. La infección no ha sido estudiada exhaustivamente a nivel mundial ni en México; a pesar de afectar a la zona sureste de nuestro país, y no se cuenta con un fármaco eficiente para su combate.

Se vislumbra que la prevención en este tipo de enfermedades a largo plazo se logrará con la creación de vacunas. Mientras tanto, la administración de fármacos es la mejor opción actual. Dentro de los fármacos de elección para el combate de este tipo de infecciones se encuentran los nitroheterociclos, como el metronidazol (MTZ); sin embargo, efectos colaterales y secundarios son observados experimentalmente con su administración tales como mutagénesis en bacterias y teratogénesis en ratas. Por otro lado, el tratamiento empleado para el combate de las helmintiasis ha sido a base de derivados de bencimidazol 2-carbamatos (BZC). Dentro de este tipo de compuestos se pueden destacar el albendazol, mebendazol y triclabendazol, entre otros; los cuales han estado en el mercado por más de 30 años. Se ha observado que para tener una actividad antihelmíntica óptima, el BZC debe tener un H en la posición 1, este hecho y el grupo carbamato en la posición 2- hacen a este tipo de compuestos muy polares, insolubles en fluidos biológicos y con una absorción limitada; por tanto, su efectividad en infecciones sistémicas se logra con dosis altas y tratamientos prolongados. Sin embargo; dada la pobre solubilidad y absorción de los BZC, éstos se emplean eficientemente en el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales. Debido a que los parásitos están bien adaptados a sus modos de vida son difíciles de destruir, desarrollan

estrategias para evitar los mecanismos de defensa de sus huéspedes, y muchos han conseguido ser resistentes a los medicamentos que se aplican para su control.

Por lo anterior, es de la mayor importancia contar con nuevos agentes antiparasitarios. Es imprescindible continuar con la búsqueda de compuestos con un mayor espectro terapéutico y propiedades biofarmacéuticas que permitan mejorar las propiedades intrínsecas de las moléculas encontradas, para que puedan ser útiles en el tratamiento de las parasitosis intestinales y/o sistémicas.

En el presente trabajo de tesis se realizó la síntesis, caracterización y evaluación antiparasitaria de compuestos derivados del bencimidazol, análogos del triclabendazol, pero con menor solubilidad para restringir su actividad a nivel intestinal.

2. ANTECEDENTES

2.1. Problemática general

Las parasitosis intestinales son un grave problema de salud a nivel mundial. Según datos de la OMS más de la mitad de la población mundial, estimada en 6500 millones, sufre de alguna enfermedad parasitaria; aunque existen otras estimaciones que sugieren que el número puede ser mayor.¹ Las poblaciones más afectadas son las más pobres y vulnerables ubicadas en países llamados del tercer mundo. Se trata de enfermedades de distribución global pero se encuentran principalmente en áreas tropicales y subtropicales, donde las altas temperaturas y las condiciones de humedad favorecen el desarrollo y la supervivencia de los parásitos. Algunas de estas enfermedades causan un alto grado de morbilidad e inhabilidad física. Otras infecciones agudas causan resultados fatales, no sólo en la población humana, sino también en los animales domésticos y silvestres que se convierten en una fuente de infección de la población humana. El impacto económico en el sector pecuario se debe a las pérdidas por la baja producción de leche, lana, carne y bajos índices de reproducción de los animales domésticos. La proliferación de parásitos, especialmente los que afectan el tracto gastrointestinal de los rumiantes, es una de las limitantes para la productividad de los rebaños bovinos en trópico húmedo; esto trae como consecuencia la mortalidad de animales, mermas en las capacidades zootécnicas de producción y además, altos costos de profilaxis y/o tratamiento.

Las parasitosis intestinales causadas por protozoarios y helmintos siguen siendo en nuestro país unas de las primeras 20 causas de enfermedad en los seres humanos. Según datos reportados por la Dirección General de Epidemiología, la amoebiosis, helmintiosis, ascariosis, giardiosis y oxiuriasis son las parasitosis intestinales más frecuentes.

Dentro de la variedad de enfermedades parasitarias causadas por helmintos y protozoarios podemos destacar algunas de ellas resumidas en la Tabla 1, donde se puede ver la especie de parásito que la causa, su tipo de infección (intestinal o sistémica), los síntomas que causa, en qué países se distribuye y la estadística que afecta a las personas a nivel mundial y/o en México.

Tabla 1. Principales parasitosis, sus agentes y distribución mundial

ENFERMEDAD	PARÁSITO (P, H) ^a	INFECCIÓN	SÍNTOMAS	DISTRIBUCIÓN	ESTADÍSTICA
Giardiosis	<i>G. intestinalis</i> (P)	Intestinal	Diarrea aguda o crónica, síndrome de absorción deficiente, alteraciones del crecimiento.	Países en desarrollo y subdesarrollados	280 millones de personas en todo el mundo. 40 mil casos en México por año.
Entamoebosis	<i>Entamoeba histolytica</i> (P)	Intestinal y sistémica (hígado)	Diarrea aguda, colitis	Zonas tropicales, países en desarrollo y subdesarrollados	50 millones de personas en todo el mundo. 1 millón por año en México.
Trichomonosis	<i>Trichomonas Vaginalis</i> (P)	Sistémica	Flujo abundante de color crema, mal olor genital, prurito, dolor en las relaciones sexuales y al orinar.	Cosmopolita	180 millones de casos a nivel mundial
Trichinellosis	<i>Trichinella spiralis</i> (H)	Intestinal y sistémica	Pérdida de apetito, vómitos, dolor abdominal y diarrea.	<u>Europa del este, África:</u> Algunos países de Asia; Canadá, E.U. sudamericana, México (Zacateca, Durango, D.F.).	
Paramfistomosis	<i>Paramphistomum spp. (P. cervi)</i> (H)	Intestinal	Diarrea fétida, debilidad, depresión, deshidratación, anorexia, pérdida de peso	África principalmente. En México (Veracruz, Tabasco, Edo. De México, Campeche y Chiapas)	No reportada

^aP = Protozooario, H = Helminto

Es de importancia mencionar que la paramfistomosis es una enfermedad parasitaria poco estudiada a nivel mundial y en nuestro país, a pesar de las pérdidas económicas que ocasiona. Es causada por un trematodo del género *Paramphistomum* que se aloja en el rumen e intestino delgado del ganado ovino y bovino. La presencia de paramfistomos adultos alojados en el rumen o en el retículo es relativamente inofensiva y una infección leve no causa serios daños. Sin embargo; una infección masiva de estadios juveniles del parásito puede migrar a la parte superior del intestino causando enfermedades gastrointestinales significativas e incluso la muerte, principalmente en animales jóvenes.²

2.2. Tratamiento de enfermedades parasitarias y su problemática actual

Los fármacos de elección que se emplean actualmente para el combate de las parasitosis causadas tanto por helmintos y protozoarios consisten en derivados nitroimidazolicos y del bencimidazol principalmente, algunos ejemplos se enlistan en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales parasitosis y los tratamientos de elección

Parasitosis	Tratamiento
Giardiosis	Metronidazol, nitaxozanida, albendazol, mebendazol.
Entamoebosis	Metronidazol, nitaxozanida.
Trichomonosis	Metronidazol
Trichinellosis	Albendazol, mebendazol
Paramfistomosis	Triclabendazol

Si bien, dichos fármacos están incluidos en la lista de fármacos esenciales de la OMS para las parasitosis intestinales, presentan algunas desventajas tales como:

- Efectos adversos molestos.
- Efectividad sobre ciertas fases del parásito.
- Resistencia.

Los fármacos nitroimidazolicos, como el metronidazol, presentan efectos adversos: náuseas, mutagenicidad en bacterias y altas dosis pueden causar cáncer en ratones. A su vez, algunos bencimidazoles (cambendazol, parabendazol, oxfendazol y albendazol) producen malformaciones fetales; es decir, son teratogénicos y por tanto, se contraindican en vacas y otros animales en estado de gestación.³

Algunos bencimidazol carbamatos (BZC) antihelmínticos sólo son efectivos sobre fases adultas y no sobre fases juveniles de los parásitos, siendo éstos, en la mayoría de los casos, los que causan mayor daño; por ejemplo: *Paramphistomum spp.* Otro ejemplo de efectividad de BZC en ciertas fases del parásito se presenta con la *Fasciola hepatica* donde el ABZ sólo es efectivo contra este parásito en su fase adulta y no en su fase juvenil.⁴

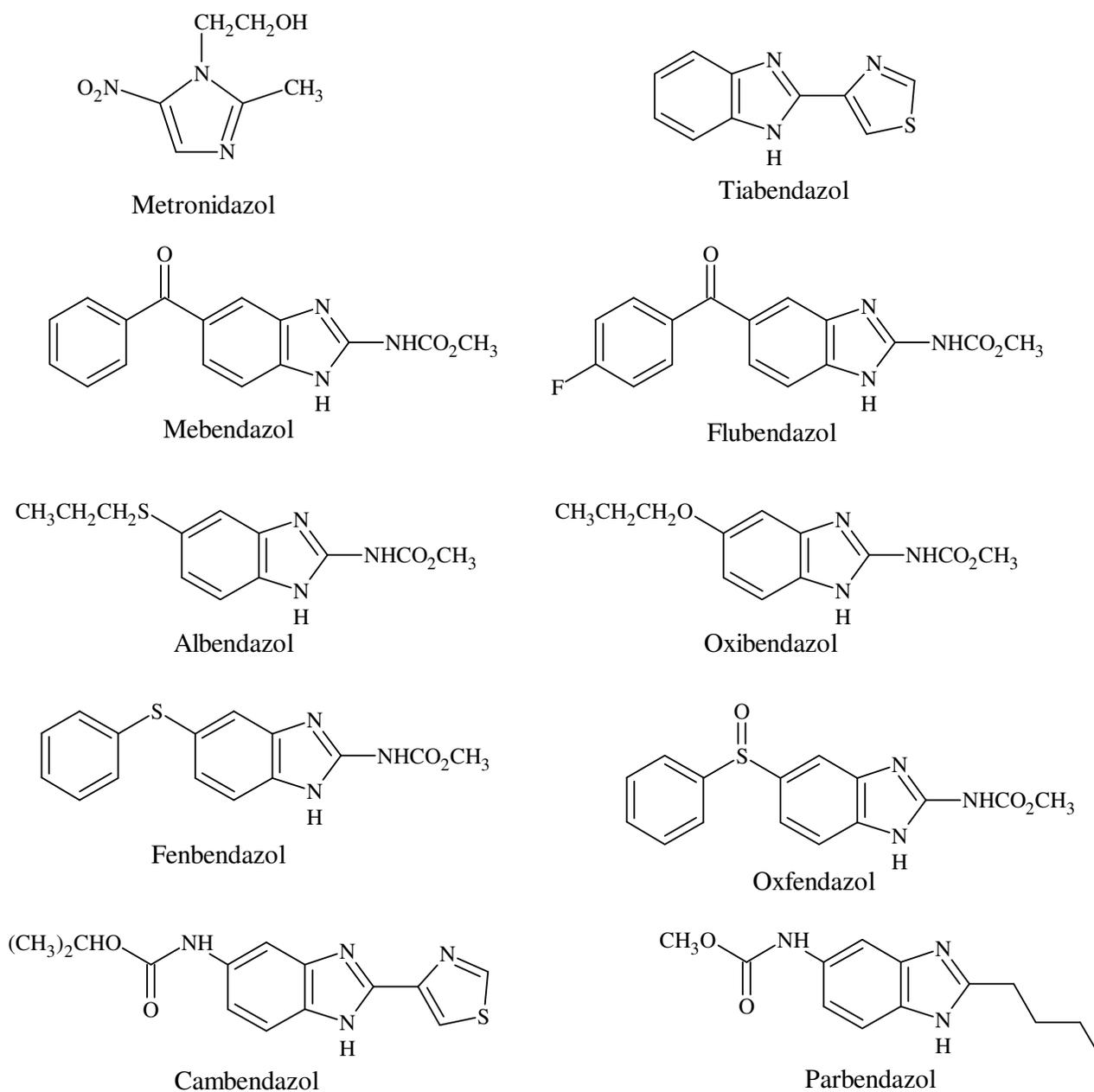
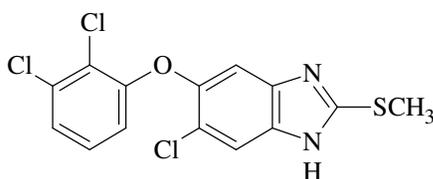


Figura 1. Algunos fármacos antiparasitarios

Otro compuesto antihelmíntico de distribución universal es el triclabendazol (TCBZ), fármaco utilizado para el tratamiento de la fasciolosis. Esta enfermedad de los animales causada por el trematodo *Fasciola hepatica*, o duela del hígado, causa pérdidas considerables en la producción de ganado bovino, ovino y caprino alrededor del mundo. Este fasciolicida derivado del bencimidazol tiene un grupo metiltio en la posición 2 en lugar del carbamato de metilo, lo cual le confiere mayor lipofilia, absorción y biodisponibilidad. Aunque el TCBZ es el único fármaco disponible en la actualidad que tiene buena actividad contra los estadios juveniles y maduros del parásito, por lo

que es el fasciolicida de elección, tiene el inconveniente de que por el uso indiscriminado ha dado pie a que se hayan generado cepas resistentes de *F. hepatica* en algunos países Europeos (Australia, Irlanda, España e Inglaterra) desde mediados de los 1990's.⁵



Triclabendazol

Este fármaco tiene un estrecho margen de actividad pero también se utiliza para el combate de la paramfistomosis; sin embargo no es 100% eficiente en el control de esta enfermedad.

Por todo lo anterior, es de la mayor importancia contar con nuevos agentes antiparasitarios ya que el fármaco ideal con actividad antiparasitaria de amplio espectro no ha sido descubierto aún.

2.3. Bencimidazol 2-carbamatos de metilo como agentes antiprotozoarios

Desde que surgió el interés en el núcleo de bencimidazol como potencial agente terapéutico, debido a que se encontraba como parte integral de la vitamina B₁₂, y el descubrimiento del 2-(1,3-tiazol-4-il)-1*H*-bencimidazol (tiabendazol) en 1961; el uso de derivados del bencimidazol en el tratamiento de enfermedades parasitarias se ha ido desarrollando con el propósito de mejorar su actividad. Dentro de este gran grupo de fármacos bencimidazólicos podemos encontrar a los bencimidazol 2-carbamatos de metilo (BZC), como el albendazol, mebendazol, flubendazol y fenbendazol (Figura 1), que se han empleado como agentes antihelmínticos principalmente; sin embargo, en estudios recientes se ha establecido que inhiben el crecimiento de algunos protozoarios como *Trichomonas vaginalis* y *G. intestinalis* in vitro. Algunas evaluaciones biológicas sugieren que el mecanismo de acción antiprotozoaria de los BZC es diferente al mecanismo de acción antihelmíntica.⁶

2.4. Mecanismo de acción de los bencimidazol 2-carbamato de metilo frente a helmintos

El modo primario de acción de los BZC es su interacción con una proteína eucariótica citoesquelética llamada tubulina. La tubulina es una subunidad del microtúbulo, es una proteína dimerica con unidades α - y β -. Los microtúbulos existen en un equilibrio dinámico con la tubulina, la proporción de tubulina dimerica con los microtúbulos poliméricos es controlada por

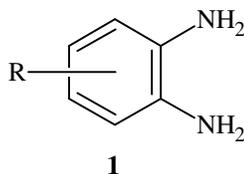
proteínas endógenas regulatorias y co- factores. Este equilibrio puede ser alterado, in vivo e in vitro, mediante sustancias exógenas conocidas como inhibidores de la formación de microtúbulos. Los BZC ejercen su acción mediante la unión con la β -tubulina, lo que impide la asociación de subunidades para formar el microtúbulo, mientras que por el otro extremo del microtúbulo, éste se está despolimerizando ocasionando una pérdida neta de su longitud. La perturbación del equilibrio tubulina-microtúbulo desencadena una cascada de cambios bioquímicos y fisiológicos, y como resultado de esto un desequilibrio celular.

El éxito central de los bencimidazoles es su selectiva toxicidad hacia los parásitos que al parecer se debe a su mayor afinidad por la β -tubulina de éstos en comparación a la de los mamíferos.

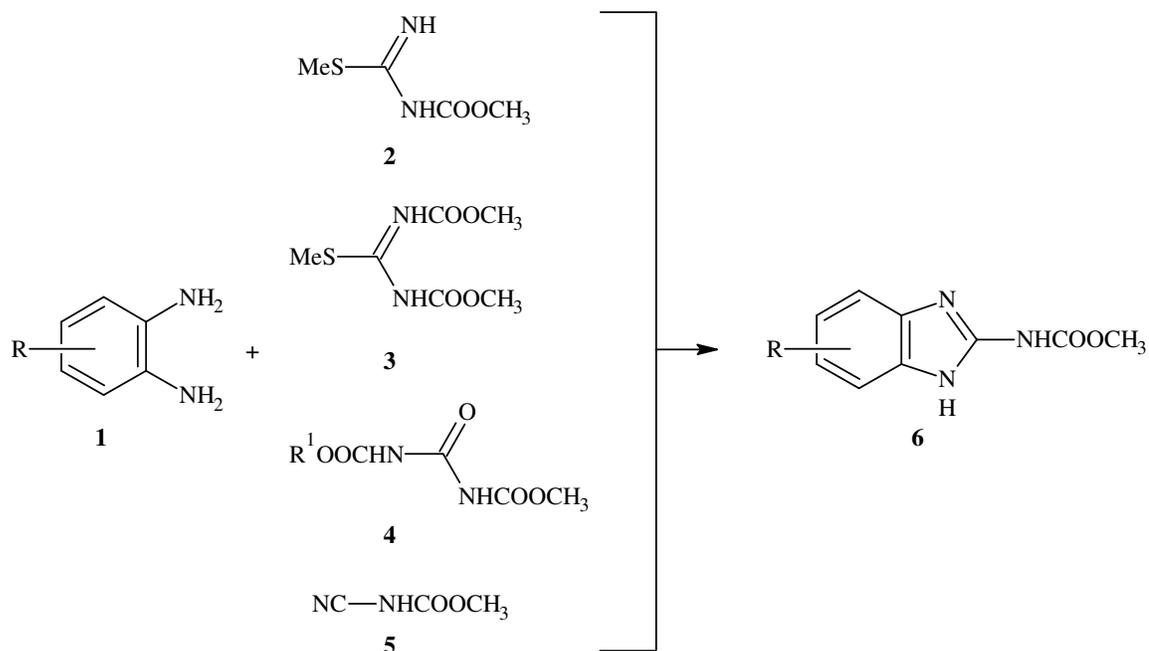
Existen algunos estudios basados en la interacción de los BZC con fracciones de proteína de tubulina de algunos parásitos que han permitido mostrar que las poblaciones resistentes han reducido la afinidad del enlace. Lo anterior implica que han ocurrido cambios estructurales en la molécula de la β -tubulina. Tales cambios estructurales pueden deberse en gran medida a mecanismos genéticos como resultado de la sobreexpresión o deficiencia de las proteínas blanco y un enlace débil del fármaco con la proteína blanco. Más de uno de estos mecanismos puede estar involucrado en la resistencia de los bencimidazoles antihelmínticos.⁷

2.5. Métodos de síntesis de los bencimidazol 2-carbamato de metilo

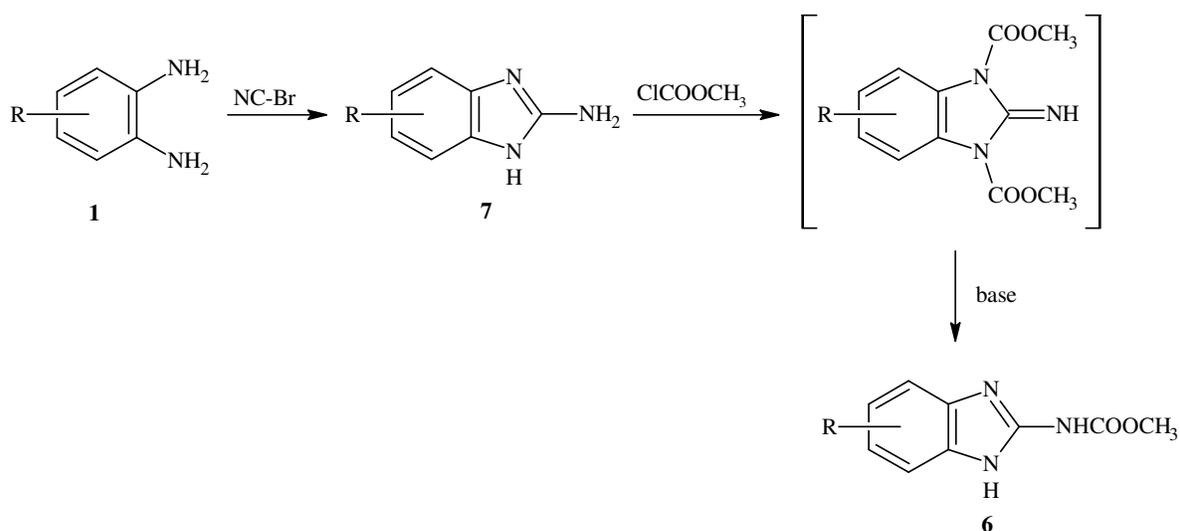
Prácticamente todas las síntesis de bencimidazoles utilizan como material de partida derivados de la *o*-fenilendiamina **1**.



Los alquilbenzimidazol 2-carbamatos de metilo (**6**) generalmente se sintetizan por la ciclocondensación de la *o*-fenilendiamina requerida **1** con 1-carboalcoxy-*S*-metilisotiourea **2**; 1,3-dicarbalcoxi-*S*-metilisotiourea **3**; 1,3-dicarboxiurea **4** o *N*-carboxicianamida **5**.⁸

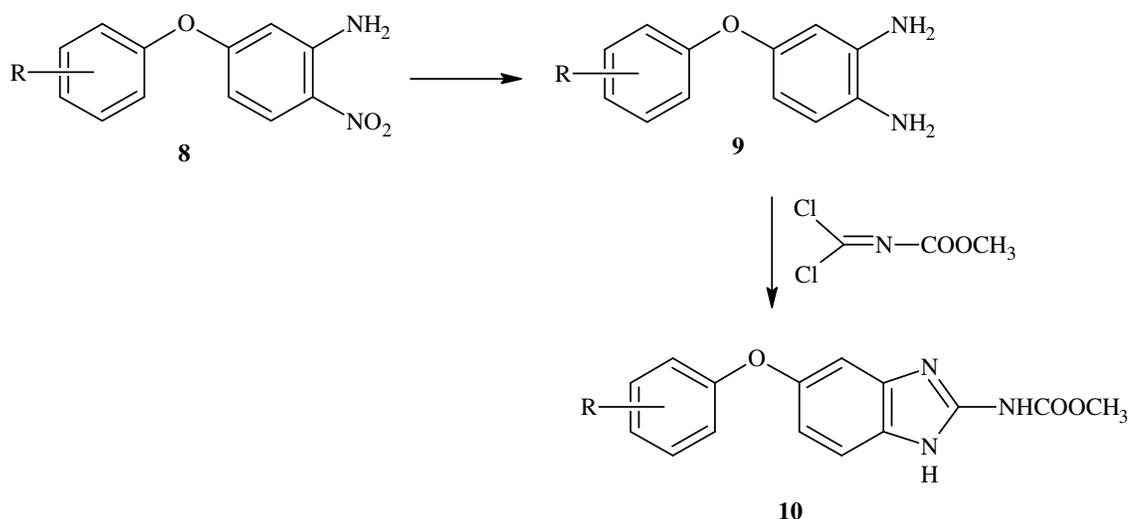


Como método alternativo se puede preparar el 2-aminobenzimidazol **7** por reacción de la *o*-fenilendiamina con bromuro de cianógeno, y, después, la adición de cloroformiato de metilo o un acetal da el carbamato **6**.⁸

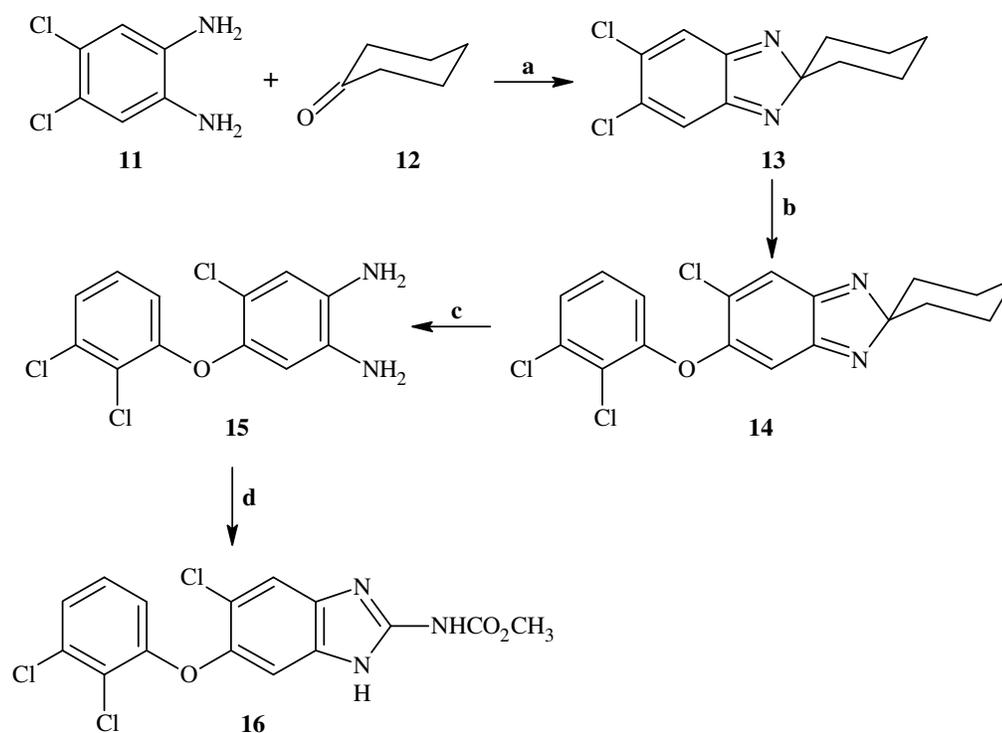


Algunos de los derivados de benzimidazol **5** ó **6** fenoxi sustituidos (**10**) se han sintetizado mediante la reducción de la correspondiente 2-nitroanilina (**8**), obtenida por reacción del fenol con

5-cloro-2-nitroanilina, para dar la diamina **9**, la cual, por ciclocondensación con *N*-carbalcoxi-1,1-diclorometilimina ($\text{Cl}_2\text{C}=\text{N}-\text{COOR}$) o $(\text{MeS})_2\text{C}=\text{N}-\text{COOCH}_3$ da **10**.⁸



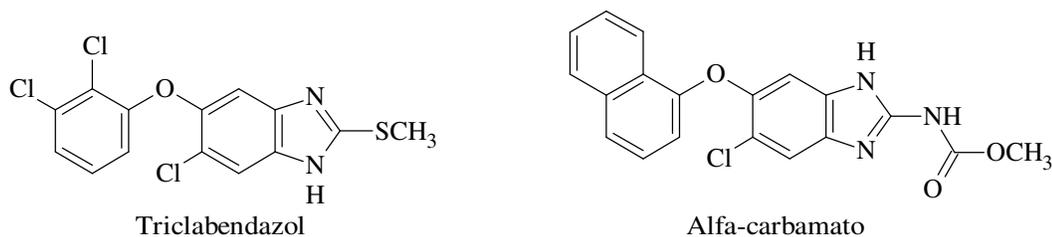
Brian, Iddon y colaboradores reportaron la síntesis de [5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il] carbamato de metilo (**16**), que es uno de los compuestos preparados en esta tesis. Ellos utilizaron una metodología novedosa con un 2*H*-bencimidazol-2-espirociclohexano **13** como uno de las materias primas. El compuesto **13** lo trataron con 1.5 mol de 2,3-diclorofenóxido de sodio en metanol a ebullición para obtener el 2*H*-bencimidazol mono sustituido **14** con un 62% de rendimiento. La apertura reductiva del anillo **14** con ditionita de sodio en etanol acuoso ocurrió rápidamente para dar la *o*-fenilendiamina **15** (85%). Finalmente la diamina **15** la hicieron reaccionar con metoxicarbonilisotiocianato y dicitclohexilcarbodiimida en acetonitrilo obteniendo un precipitado del bencimidazol **16** con un rendimiento del 80%.⁹



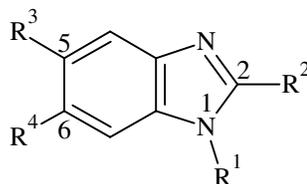
a) MnO_2 , Calor; b) $2,3\text{-Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{ONa}$; c) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$; d) CH_3OCONCS , DCC, Acetonitrilo.

2.6. Consideraciones para el diseño o relación Estructura-Actividad

Los compuestos preparados en este trabajo se diseñaron tomando como base la estructura del triclabendazol y del compuesto alfa-carbamato. En el caso del triclabendazol se tomó en consideración el hecho de ser el fármaco de elección contra la fasciolosis y uno de los pocos fármacos que se emplean para el combate de la paramfistomosis, aunque en este caso no tiene una eficacia del 100%. Recientemente se sintetizó el compuesto llamado alfa-carbamato y se evaluó in vivo como paramfistomicida, obteniendo alta eficacia en este estudio.¹⁰ Se consideró que la sustitución del grupo metililo del triclabendazol, o del compuesto-alfa, por un grupo carbamato de metilo conferiría a la molécula diseñada mayor polaridad y como consecuencia una menor solubilidad y absorción, permitiéndole actuar por más tiempo en el rumen de los animales infectados con el *Paramphistomum spp* o algún otro parásito gastrointestinal.



Se ha observado que ciertos sustituyentes en las posiciones 1, 2, 5 y 6 del núcleo bencimidazólico influyen para aumentar o disminuir la actividad antiparasitaria.



Se ha visto que para tener una actividad antihelmíntica óptima se requiere de hidrógeno en la posición 1 y de un grupo carbamato de metilo en 2.¹¹ Por otro lado, en el caso de la actividad antiprotozoaria, el H en la posición 1 no se requiere necesariamente, según se ha mostrado en estudios previos.¹² La introducción del grupo metilo en posición 1 y *N*-carbamato fue considerada para brindar una mejor información sobre los requerimientos estructurales para la acción antiparasitaria. Además de que se evitaría el efecto tautomérico por migración del hidrógeno de la posición 1 a la 3 e incrementaría la solubilidad en comparación con el compuesto no metilado. Adicionalmente podría ser evaluado biológicamente contra algunos protozoarios.

La sustitución en las posiciones 5 y/6 de un bencimidazol inactivan la hidroxilación enzimática (parte del metabolismo del fármaco), lo que le confiere a la molécula un tiempo de vida media mayor.¹² Estudios realizados por Valdez y colaboradores mencionan que un átomo de cloro en el anillo bencenoide mejora la actividad antiparasitaria.⁶

Otros estudios desarrollados por López-Vallejo y colaboradores indican que el incremento del tamaño del sustituyente en la posición 5 favorece la actividad biológica contra *E. histolytica*.¹³ Los mejores resultados con sustituyentes en las posiciones 5 ó 6 se han dado cuando el átomo que los une con el bencimidazol es un átomo de oxígeno, azufre o un grupo carbonilo.

3. HIPÓTESIS

Considerando que el TCBZ se absorbe fácilmente y ejerce su acción fasciolicida, los análogos del TCBZ con un 2-carbamato de metilo serán menos solubles, lo que les permitirá una menor absorción y ejercerán su actividad antiparasitaria preferentemente en el tracto gastrointestinal. Los análogos 1-metil y 2-(*N*-metil)carbamatos de metilo del TCBZ serán un poco más solubles que los análogos 1*H*- del TCBZ y podrán presentar actividad antiprotozoaria.

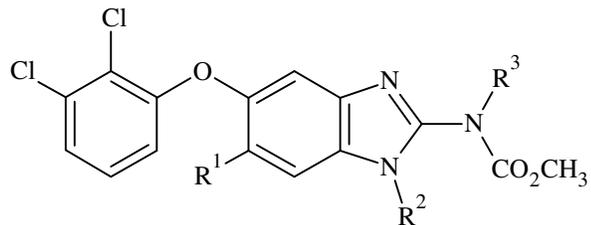
4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar la importancia que tiene el hidrógeno en las posiciones 1 y *N*-carbamato (NHCO_2CH_3) de un derivado del bencimidazol en la actividad antiparasitaria, conocimiento que a la fecha ha sido poco estudiado. De esta manera se pretende contribuir al conocimiento básico sobre los requerimientos estructurales para la actividad antiparasitaria de derivados del bencimidazol.

4.2 Objetivos particulares

- Preparar 8 derivados 2-carbamato de metilo del triclabendazol (Tabla 3: **17-24**).
- Determinar las constantes físicas de p_f , R_f y rendimiento de los compuestos sintetizados.
- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos (RMN e IR) y espectrométricos.
- Suministrar los compuestos sintetizados para evaluar su actividad antiparasitaria en los modelos in vivo e in vitro que se encuentren disponibles, entre ellos: *Paramphistomum spp*, *Trichinella spiralis*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*.

Tabla 3. Compuestos para sintetizar

Compuesto	R ¹	R ²	R ³
17	Cl	H	H
18	Cl	H	CH ₃
19	Cl	CH ₃	H
20	Cl	CH ₃	CH ₃
21	H	H	H
22	H	H	CH ₃
23	H	CH ₃	H
24	H	CH ₃	CH ₃

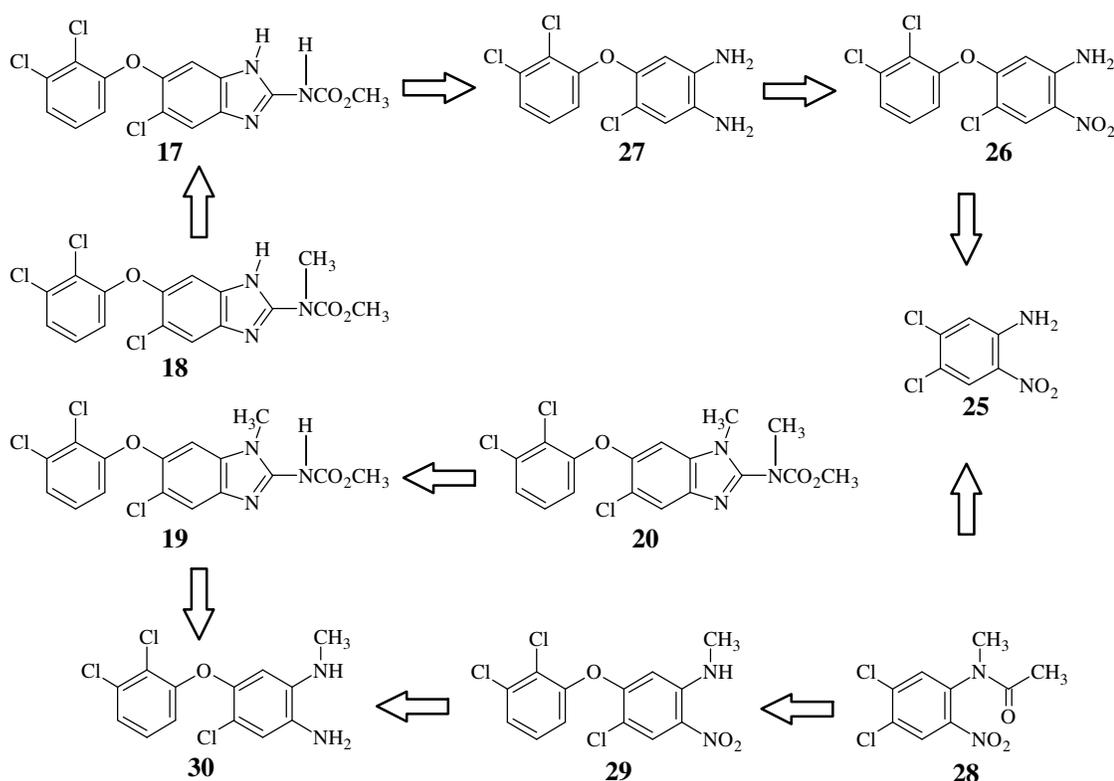
5. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo del trabajo realizado en esta tesis se divide en dos partes, la química y la biológica. A continuación se describe cada una de estas partes.

5.1. Parte Química

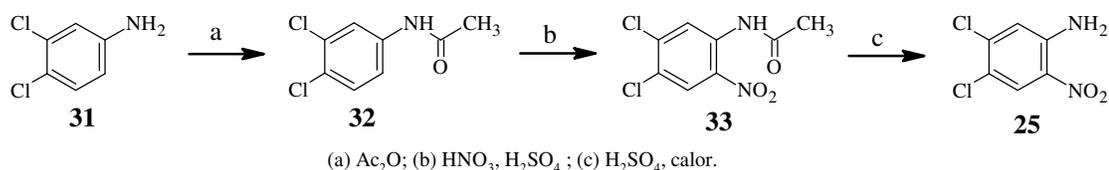
En esta sección se describen las rutas sintéticas seguidas para obtener los compuestos planteados en la Tabla 3. Este trabajo se realizó en la Facultad de Química, Departamento de Farmacia, laboratorio L-122 del edificio E, UNAM.

Para establecer un esquema de reacción que llevara a los compuestos análogos del triclabendazol **17-20** diseñados, se planteó el siguiente esquema de retrosíntesis:



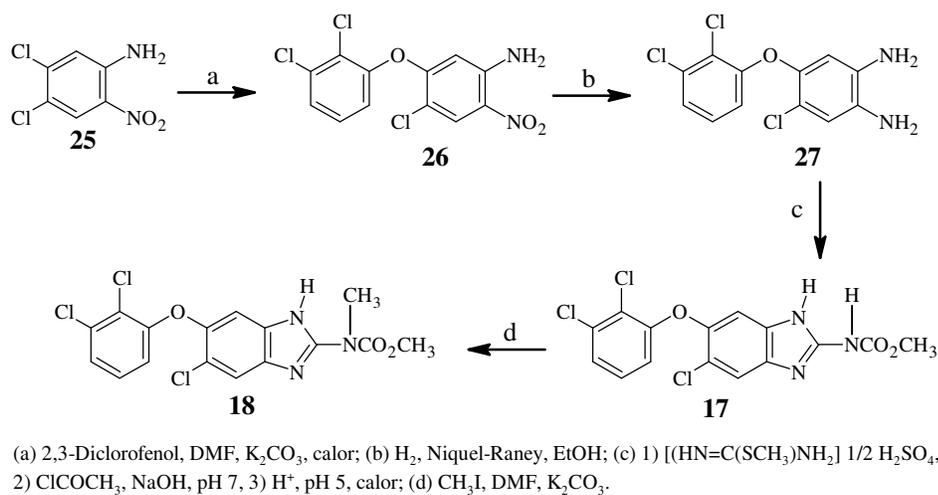
El trabajo inició con el tratamiento de la 3,4-dicloroanilina comercial (**31**) con Ac_2O para dar la 3,4-dicloroacetanilida (**32**), que sometida a nitración con mezcla sulfonítrica en frío dio la 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida (**33**): La posterior hidrólisis de **33** con H_2SO_4 en caliente llevó al primer intermediario, la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (**25**), según se aprecia en el Esquema 1.

Esquema 1



Posteriormente, **25** se sometió a una reacción de sustitución nucleofílica aromática con 2,3-diclorofenol y K₂CO₃ en DMF en caliente para dar la 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (**26**), que sometida a una reducción catalítica con H₂ y Ni-Raney permitió la obtención de la 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)benceno-1,2-diamina (**27**). La ciclocondensación de **27** con el 1,3-dimetoxicarbonil-*S*-metiltioisourea generó el [5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (**17**), el cual se trató con CH₃I en presencia de K₂CO₃ y dio uno de los compuestos esperados, el [5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]metil carbamato de metilo (**18**), como se muestra en el Esquema 2.

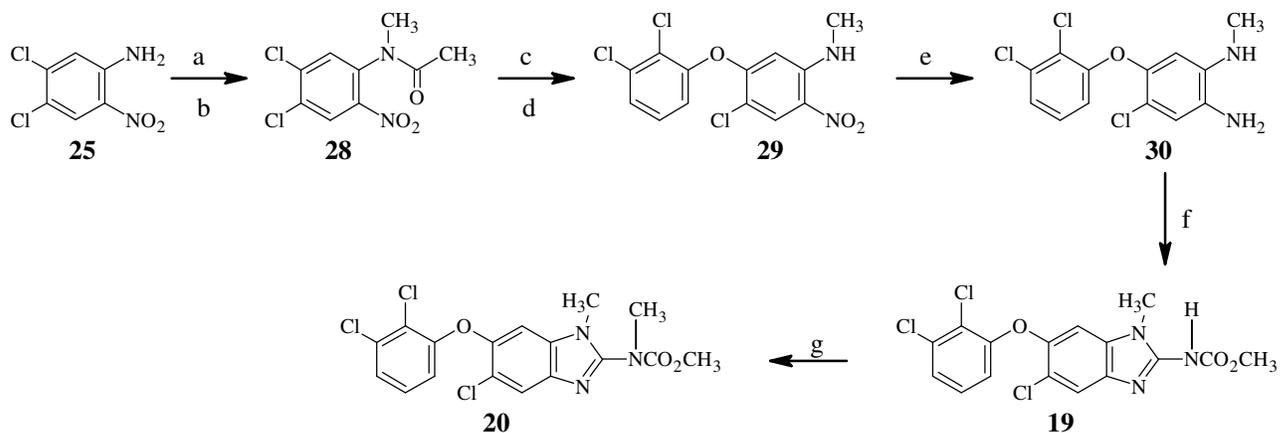
Esquema 2



Por otro lado, **25** se *N*-acetiló con anhídrido acético en exceso y una gota de H₂SO₄ como catalizador y el producto obtenido, la 4,5-dicloro-2-nitrofenilacetamida, se *N*-metiló con (CH₃)₂SO₄ y sosa acuosa para dar la *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**28**). A partir de **28** se hicieron reacciones similares a las mostradas en el Esquema 2, esto es: sustitución nucleofílica aromática, hidrólisis, reducción catalítica, ciclocondensación y *N*-metilación, para dar los análogos [5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo

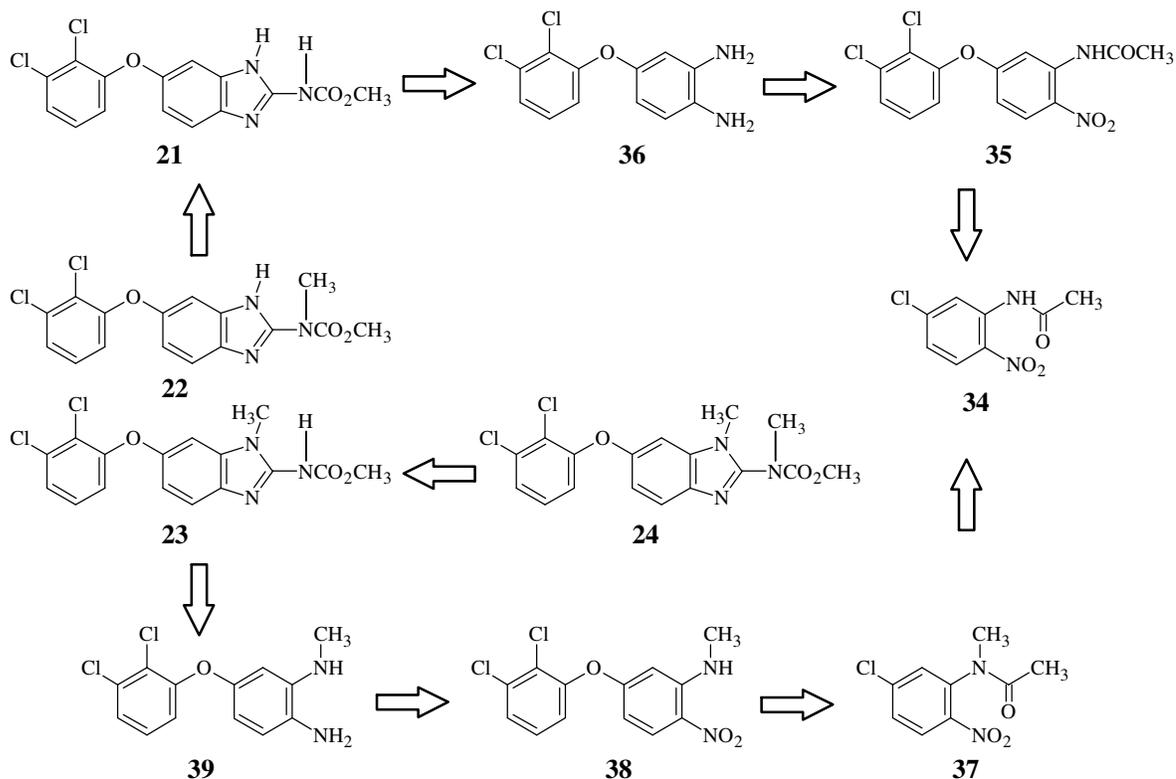
(19) y [5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]metil carbamato de metilo (20) del Esquema 3.

Esquema 3



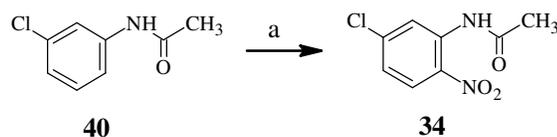
(a) Ac_2O ; (b) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, NaOH, H_2O ; (c) H_2SO_4 , calor; (d) 2,3-Diclorofenol, DMF, K_2CO_3 , calor; (e) H_2 , Niquel-Raney, EtOH; (f) 1) $[(\text{HN}=\text{C}(\text{SCH}_3)\text{NH}_2)]$ 1/2 H_2SO_4 , 2) ClCO_2CH_3 , NaOH, pH 7, 3) H^+ , pH 5, calor; (g) CH_3I , DMF, K_2CO_3 .

Para la preparación de los compuestos 21-24 se planteó la siguiente retrosíntesis:



Para la síntesis del material de partida 34, la 3-cloroacetanilida 40 se nitró con HNO_3 fumante en presencia de anhídrido acético según puede verse en el Esquema 4.

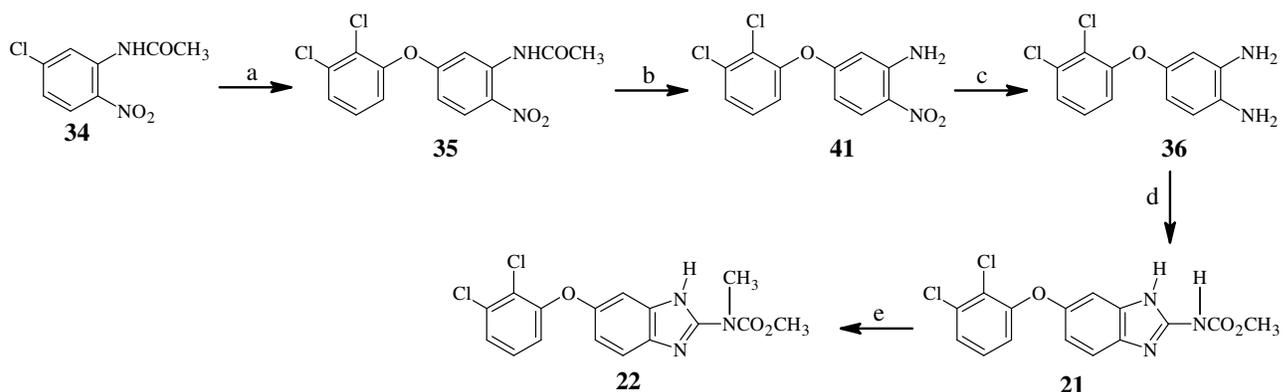
Esquema 4



(a) HNO₃ fum., Ac₂O.

Con la *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida **34** se realizó la sustitución nucleofílica aromática empleando 2,3-diclorofenol para obtener el éter correspondiente *N*-[5(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida **35**, que seguido de una hidrólisis en medio ácido y una reducción del grupo nitro utilizando Ni-Raney como catalizador generó la 4-(2,3-diclorofenoxi)1,2-fenilendiamina **36**. La ciclación también se llevó a cabo con el intermediario 1,3-dimetoxicarbonil-*S*-metiltioisourea preparado previamente, dando origen al BZC 6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo **21**. Para obtener el 6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo **22**, **21** se *N*-metiló con CH₃I y carbonato de potasio como base (Esquema 5).

Esquema 5

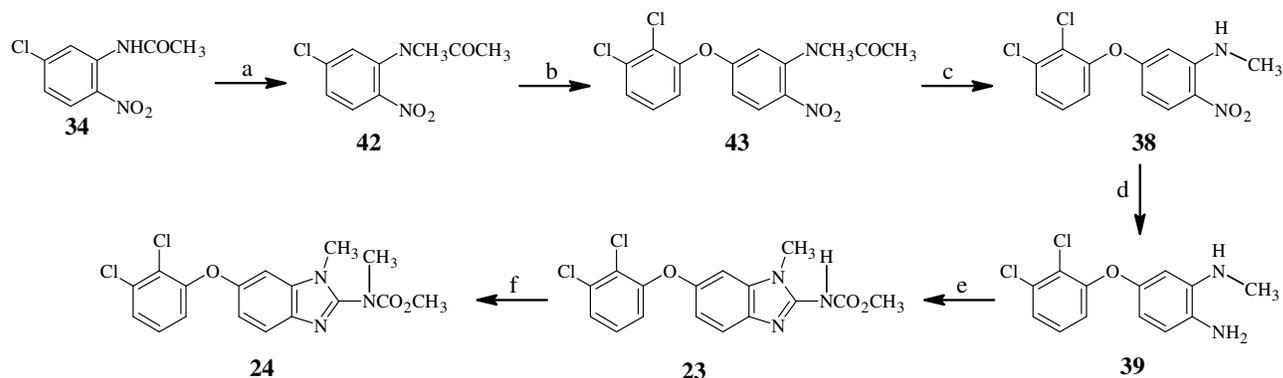


(a) 2,3-Diclorofenol, DMF, K₂CO₃, calor; (b) H₂SO₄, calor; (c) H₂, Niquel-Raney, EtOH, AcOEt; (d) 1) [(HN=C(SCH₃)NH₂)] 1/2 H₂SO₄, 2) ClCO₂CH₃, NaOH, pH 7, 3) H⁺, pH 5, calor; (e) CH₃I, DMF, K₂CO₃.

Finalmente, para la síntesis de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo **23** y 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo **24** se siguió la metodología descrita en el Esquema 6, en donde primeramente la *N*-(5-cloro-2-

nitrofenil)acetamida **34** sufrió una *N*-metilación para generar la *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)*N*-metilacetamida **42**. Posteriormente se llevaron a cabo nuevamente la secuencia de reacciones siguientes: sustitución nucleofílica aromática, hidrólisis del grupo carboxamido, reducción del grupo nitro y ciclación para la formación del BZC, luego, *N*-metilación.

Esquema 6



(a) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, KOH, H_2O ; (b) 2,3-Diclorofenol, DMF, K_2CO_3 , calor; (c) H_2SO_4 , calor; (d) H_2 , Niquel-Raney, EtOH, AcOEt; (e) 1) $[(\text{HN}=\text{C}(\text{SCH}_3)\text{NH}_2)]$ $1/2$ H_2SO_4 , 2) ClCOCH_3 , NaOH, pH 7, 3) H^+ , pH 5, calor; (f) CH_3I , DMF, K_2CO_3 .

5.2. Parte Biológica

Uno de los propósitos del presente trabajo de investigación fue la evaluación de los compuestos sintetizados frente al tremátodo *Paramphistomum spp*; sin embargo, la falta de disponibilidad de las metacercarias para los ensayos nos hizo realizar las pruebas con otro tipo de parásitos y la metodología se describe a continuación.

En esta sección se describen los ensayos de evaluación antihelmíntica de los compuestos **17-24**; in vitro e in vivo sobre el parásito *Trichinella spiralis*. Adicionalmente se describen los ensayos de actividad antiprotozoaria in vitro de los compuestos **17-24** sobre *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Dichos ensayos se realizaron en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Centro Médico Nacional Siglo XXI (IMSS), a cargo de la Dra. Lilián Yépez Mulia.

5.2.1. Parásitos

Se empleó una cepa de *Trichinella spiralis* que fue aislada de cerdo por el Dr. Martínez-Marañón del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas (INDRE). Con objeto de mantener el ciclo de vida de este parásito, ratas de la cepa Sprague-Dawley de 2 a 3 meses de edad

fueron infectadas con 5000 larvas musculares resuspendidas en Bacto agar al 0.02%. La infección se realizó por vía intragástrica con cánula y jeringa. Por otro lado, se emplearon cepas de *Giardia intestinalis* IMSS:0989:1, *Entamoeba histolytica* HM1 y *Trichomonas vaginalis* GT3; las cuales se mantuvieron en condiciones axénicas en medio TYI-S-33 modificado, suplementado con suero de bovino al 10%.

5.2.2. Obtención de las larvas musculares de *Trichinella spiralis*

Las larvas musculares se obtuvieron mediante el método descrito por Dennis, *et al.*¹⁴ En breve, ratas de la cepa Sprague-Dawley se infectaron con 5000 larvas musculares de *T. spiralis*, se sacrificaron a los 28 días post-infección y el músculo esquelético se trituró y se dejó incubando en una solución de pepsina-HCl al 1% durante 3 h a 37 °C con agitación constante. Posteriormente, la solución se pasó a través de un tamiz, dejando que las larvas se sedimentaran por 20 min. Las larvas obtenidas se lavaron con amortiguador de fosfatos salino pH 7.2 (PBS) hasta que no quedaran restos de carne y se les adicionaron 500 U/mL de penicilina y 500 µg/mL de estreptomicina. Con la finalidad de determinar el número de larvas obtenidas, la larvas se lavaron con PBS y se resuspendieron en Bacto agar al 0.02%.

5.2.3. Ensayo in vivo de derivados del triclabendazol sobre la fase adulto de *Trichinella spiralis*

Se emplearon ratones de la cepa BALB/c de cuatro a seis semanas de edad de 20 a 25 g que se infectaron vía intragástrica con 500 larvas de *T. spiralis*. Como control positivo se utilizó albendazol a una dosis de 75 mg/kg de peso. Al tercer día post infección, los ratones se traron con los compuestos a evaluar en una dosis equimolar con respecto al ABZ y se resuspendieron en una formulación de cremofor/etanol/agua (1:1:8). Como control negativo se emplearon ratones administrándoles únicamente formulación de cremofor/etanol/agua. Al tercer día después de la medicación, los ratones se sacrificaron, se siguió la metodología descrita por Dennis *et al.* A dichos ratones se les extrajo el intestino delgado; el cual se abrió longitudinalmente y se cortó en segmentos de aproximadamente 2 cm de largo. Los segmentos se incuban por 3 h a 37 °C con una solución de PBS. Los adultos se recuperaron del fondo del tubo y se lavaron con PBS; finalmente para su conteo se resuspendieron en Bactoagar.

5.2.4. Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre la fase adulto de *Trichinella spiralis*

Se colocaron 1000 larvas musculares por pozo en cajas de cultivo de 24 pozos (Nuclon) en medio RPMI 1640 conteniendo el compuesto a evaluar a 5 concentraciones crecientes de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 $\mu\text{g/mL}$. Los parásitos se incubaron por 48 h a 37 °C en una atmósfera de CO_2 al 5%, con cambio diario del medio de cultivo suplementado con el compuesto de prueba. Como control positivo se incluyeron los parásitos en presencia del albendazol a las mismas concentraciones y como control negativo, larvas incubadas sólo con medio RPMI 1640. Después de la incubación se determinó la viabilidad de los parásitos mediante un método colorimétrico basado en la reducción de la sal de tetrazolio (MTT, Sigma) a formazán de acuerdo a lo descrito por Townson y col.¹⁵ con algunas modificaciones. Los parásitos cultivados con los diferentes compuestos se transfirieron a tubos de microcentrífuga de 2 mL y se centrifugaron a 2500 rpm por 2 min. Posteriormente se realizó un lavado con PBS y se añadió 1 mL de una solución de MTT al 0.75%, 50 μL de una solución de metasulfato de fenazina al 0.025% (PMS, Sigma) como catalizador y 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma). Los tubos se incubaron a 37 °C durante 50 min y después de la incubación se realizó otro lavado con PBS y se agregaron 500 μL de DMSO, los parásitos se resuspendieron y se dejaron a temperatura ambiente por 1 h. Al finalizar este tiempo, los tubos se centrifugaron y el sobrenadante se transfirió a placas de ELISA, las cuales se leyeron a 492 nm. Se calculó el porcentaje de reducción de la densidad óptica en comparación con el control negativo y de acuerdo a esto se calculó el porcentaje de reducción de la viabilidad. Se realizaron 3 experimentos por triplicado cada uno de ellos.

5.2.5. Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre *Giardia intestinalis* y *T. vaginalis*

Para estos ensayos se siguió el método descrito por Cedillo Rivera.¹⁶ Se incubaron 5×10^4 trofozoítos/mL para *G. intestinalis* y 6×10^3 trofozoítos/mL para *T. vaginalis* a 37 °C por 48 h en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes compuestos a evaluar (0.005, 0.01, 0.050, 0.1 y 0.5 $\mu\text{g/mL}$), además del albendazol que sirvió como control positivo y los trofozoítos en medio libre de fármacos como control negativo. Después de la incubación, se sembraron 50 μL de los trofozoítos tratados en medio fresco y sin la adición de los compuestos, y se incubaron por otras 48 h. El número final de trofozoítos se determinó en una cámara Neubauer. Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control negativo y posteriormente

mediante un análisis Probit se calculó la CI_{50} que corresponde a la concentración del compuesto que inhibió en 50% el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.

5.2.6. Ensayo in vitro de derivados del triclabendazol sobre *Entamoeba histolytica*

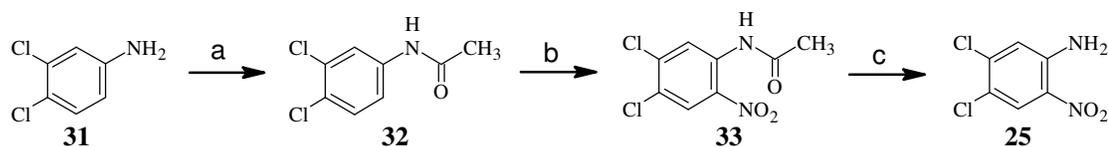
Para este ensayo también se siguió el método descrito por Cedillo Rivera.¹⁶ Se incubaron 6×10^3 trofozoítos/mL para *E. histolytica* a 37 °C por 72 h en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes compuestos a evaluar (0.005, 0.01, 0.050, 0.1 y 0.5 µg/mL), además del albendazol que sirvió como control positivo y los trofozoítos en medio libre de fármacos como control negativo. Después de la incubación se determinó el número final de trofozoítos en una cámara Neubauer. Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control negativo y posteriormente mediante un análisis Probit se calculó la CI_{50} que corresponde a la concentración del compuesto que inhibió en 50% el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Parte química

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados, se dio inicio con la preparación de las materias primas **25** y **34**, tal como se muestra en los Esquemas 7 y 9.

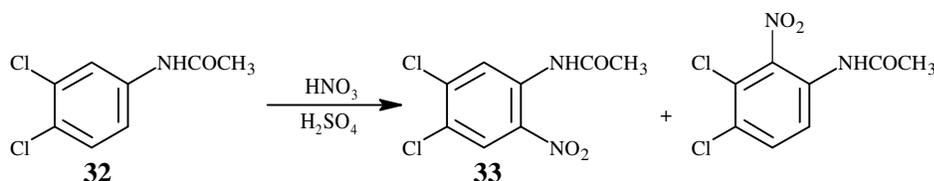
Esquema 7



(a) Ac_2O ; (b) HNO_3 , H_2SO_4 ; (c) H_2SO_4 , calor.

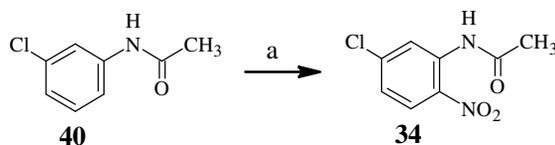
En el esquema 7, la primera reacción de acetilación para la formación de **32** ocurrió sin mayor complicación y se obtuvieron rendimientos cuantitativos, lo mismo sucedió con la reacción de hidrólisis de **33** para generar **25**. Sin embargo, durante el curso de la nitración de **32** se obtuvieron dos productos entre ellos **33** (Esquema 8). La purificación del compuesto deseado implicó una recrystalización de metanol para finalmente obtenerse cristales amarillos de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida **33** con un rendimiento del 87%.

Esquema 8



Para la preparación de **34** (Esquema 9), **40** se trató con ácido nítrico fumante, generando un único producto con buenos rendimientos.

Esquema 9

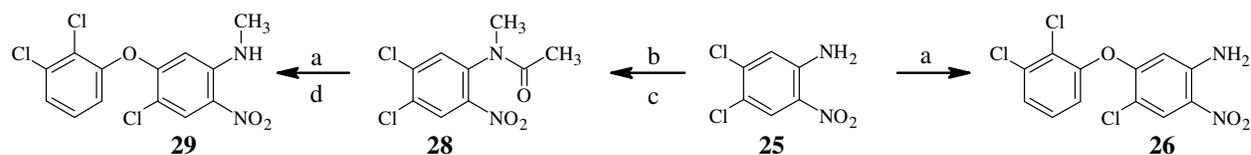


(a) HNO_3 fum., Ac_2O .

Las constantes físicas de los materiales de partida mencionados anteriormente coincidieron con los datos ya reportados en la literatura, es decir, aspecto físico y pf así como datos espectroscópicos y espectrométricos.

Una vez obtenidos los materiales de partida **25** y **34** se prosiguió con la reacción de sustitución nucleofílica aromática, la cual permitiría la formación del grupo 2,3-diclorofenol en las posiciones 5 ó 6 de los productos finales. Dicha reacción presentó algunos inconvenientes ya que la temperatura y el tiempo de reacción fueron relativamente altos ($115\text{ }^\circ\text{C}$ y 7h) dando origen a productos de sustitución impuros y muy coloridos que después de un tratamiento de recristalización y resuspenderlo en el disolvente adecuado pudieron obtenerse sólidos cristalinos con un alto grado de pureza. Es así como siguiendo el procedimiento descrito en el esquema 10 se obtuvieron las nitroanilinas sustituidas **26** y **29**. Cabe mencionar que para la formación de **29**, previamente se realizó una reacción de *N*-metilación del producto acetilado de **25** obteniéndose buenos rendimientos.

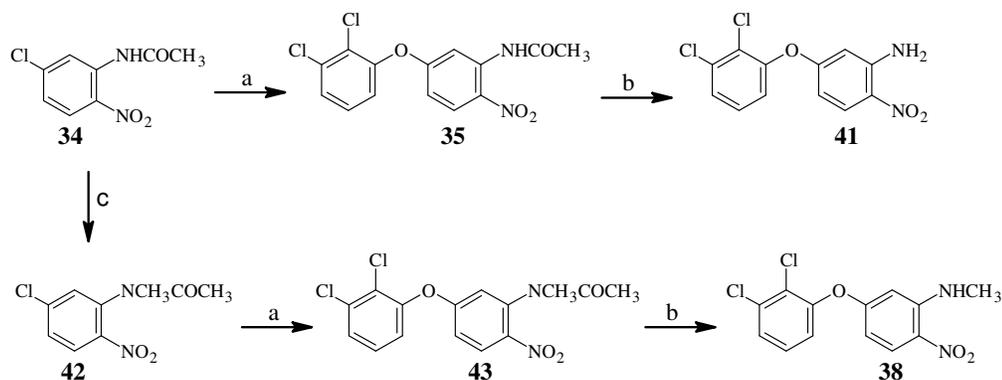
Esquema 10



(a) 2,3-Diclorofenol, DMF, K_2CO_3 , calor; (b) Ac_2O ; (c) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, NaOH, H_2O ; (d) H_2SO_4 , calor

Debido a estos inconvenientes y con el objeto de mejorar las condiciones de reacción y el rendimiento de la reacción de sustitución nucleofílica aromática se trabajó con la acetamida y una vez realizada la $\text{S}_{\text{N}}\text{A}$ se llevó a cabo la hidrólisis del grupo acetamido para finalmente obtener las nitroanilinas **41** y **38** con tiempos de reacción más cortos (3 h) y productos menos impuros que facilitaban su purificación (Esquema 11 y Tabla 4).

Esquema 11



(a) 2,3-Diclorofenol, DMF, K_2CO_3 , calor; (b) H_2SO_4 , calor; (c) $(CH_3)_2SO_4$, KOH, H_2O .

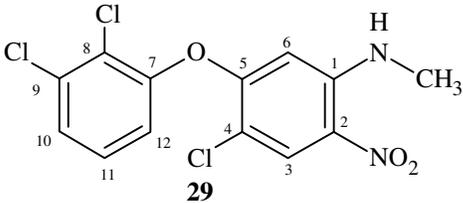
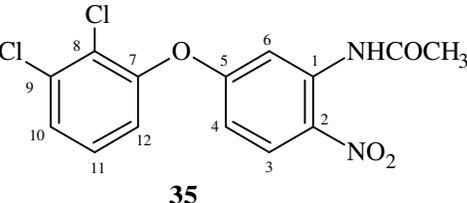
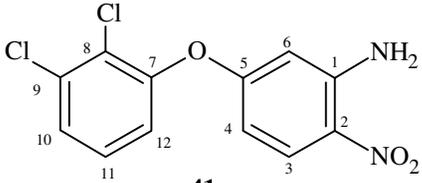
Tabla 4. Rendimiento y propiedades físicas de los productos de S_{NA}

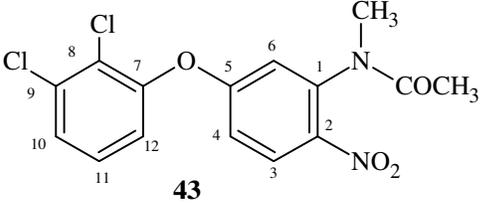
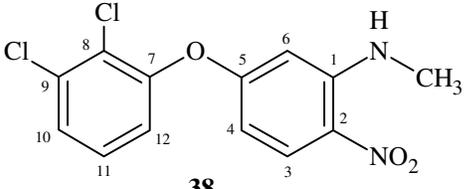
Compuesto	PM	Estado físico	Rend. (%)	pf (°C)	Tiempo de reacción (h)
26	332.0	cristales amarillos	85	151.0-152.6	7
29	347.6	cristales amarillos	72	187.1-187.3	7
38	313.2	cristales amarillos	63	127.3-127.5	3
41	299.1	cristales amarillos	50	163.2-164.1	3

En la Tabla 5 se pueden ver los datos obtenidos de los espectros de IR, EM y RMN 1H para los intermediarios **26**, **29**, **35**, **38**, **41** y **43**. En el caso de los espectros de IR se pudieron observar bandas de 3334-3436, 1321-800 y 1030-460 cm^{-1} que corroboran la presencia de grupos Ar-NH₂, NO₂ y Cl respectivamente. A su vez, en el espectro de **38** y **41** desaparecieron las señales de C=O contenidas en los espectros de **43** y **35** respectivamente.

Tabla 5. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los intermediarios **26**, **29**, **35**, **38**, **41** y **43**

Compuesto	Espectroscopia
<p>26</p>	IR (KBr) en cm^{-1} : 3468, 3348.65 (Ar-NH ₂), 3172.92 (Ar-H), 1623.26, 1560 (Ar-NO ₂), 1496 (Ar-H), 1377.94, 1321.29 (C-NO ₂), 1242.23 (C-O-C), 1030.82 (C-Cl), 798 (NO ₂), 460 (C-Cl). EMIE m/z (% ar) [asignación]: 332 (10) [M] ⁺ ; 262 [M-70] ⁺ (100); 251 (33) [M-81] ⁺ ; 216 (10) [M-116] ⁺ ; 131 (11) [M-201] ⁺ , 125 (13) [M-207] ⁺ ; 109 (10) [M-223] ⁺ .

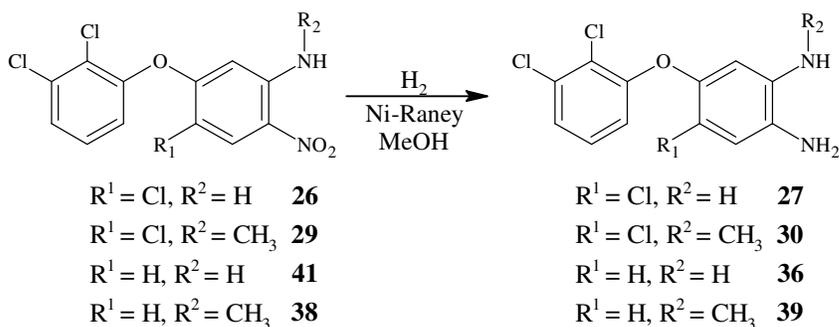
	<p>RMN ^1H (CDCl_3, 300 MHz, δ ppm): 5.197 (s, 1H, Ar-H_6); 6.091 (s, 2H, Ar-NH_2); 7.082 (dd, 1H, Ar-H_{12}, $J = 1.6, 8.2$ Hz); 7.294 (t, 1H, Ar-H_{11}, $J = 8.2$ Hz); 7.431 (dd, 1H, Ar-H_{10}, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 8.284 (s, 1H, Ar-H_3).</p>
 <p style="text-align: center;">29</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3365.3 (Ar-NH), 3078.13 (Ar-H), 1566.85 (Ar-NO_2), 1445.38 (Ar-H), 1235.15 (C-O-C), 909.68 (C-Cl), 801 (NO_2), 541 (C-Cl).</p> <p>EMIE m/z (% ar) [asignación]: 346 (100) $[\text{M}]^+$; 276 (30) $[\text{M}-70]^+$; 265 (20) $[\text{M}-81]^+$; 258 (22) $[\text{M}-88]^+$; 183 (43) $[\text{M}-163]^+$; 155 (19) $[\text{M}-191]^+$; 139 (30) $[\text{M}-207]^+$.</p> <p>RMN ^1H (CDCl_3, 300 MHz, δ ppm): 2.811 (s, 3H, N-CH_3); 6.006 (s, 2H, Ar-H_6); 7.033 (dd, 1H, Ar-H_{12}, $J = 1.7, 8.4$ Hz); 7.273 (dd, 1H, Ar-H_{11}, $J = 8.3, 8.4$ Hz); 7.407 (dd, 1H, Ar-H_{10}, $J = 1.7, 8.3$ Hz); 8.151 (s, 1H, NH), 8.346 (s, 1H, Ar-H_3).</p>
 <p style="text-align: center;">35</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3334.27 (Ar-NH), 3129.88 (Ar-H), 2932.38 ($-\text{CH}_3$), 1701.61 (C=O), 1595.71 (Ar-NO_2), 1493.85 (Ar-H), 1335.23 (Ar-NH), 1266.32, 982.68 (C-N), 452.45 (C-Cl).</p> <p>EMIE m/z (% ar) [asignación]: 340 (9) $[\text{M}]^+$; 294 (100) $[\text{M}-46]^+$; 245 (21) $[\text{M}-95]^+$; 217 (80) $[\text{M}-123]^+$.</p> <p>RMN ^1H (CDCl_3, 300 MHz, δ ppm): 2.275 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); 6.661 (dd, 1H, Ar-H_4, $J = 2.8, 9.3$ Hz); 7.126 (dd, 1H, Ar-H_{12}, $J = 1.3, 8.1$ Hz); 7.305 (t, 1H, Ar-H_{11}, $J = 8.1$ Hz); 7.431 (dd, 1H, Ar-H_{10}, $J = 1.3, 8.1$ Hz); 8.253 (d, 1H, Ar-H_3, $J = 9.3$ Hz), 8.402 (d, 1H, Ar-H_6, $J = 2.8$), 10.644 (s, 1H, -NH).</p>
 <p style="text-align: center;">41</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3354.55-3332.62 (Ar-NH), 3178.21 (Ar-H), 1567.91 (Ar-NO_2), 1446.88 (Ar-H), 1337.26 (Ar-NH), 1241.21 (C-N), 979.67 (NO_2), 495.53 (C-Cl).</p> <p>EMIE m/z (% ar) [asignación]: 300 (26) $[\text{M}]^+$; 217 (100)</p>

	<p>[M-83]⁺; 162 (12) [M-138]⁺; 109 (36) [M-191]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 5.520 (s, 3H, -NH); 6.121 (d, 1H, Ar-H₆, <i>J</i> = 2.4 Hz); 6.299 (dd, 1H, Ar-H₄, <i>J</i> = 2.8, 9.6 Hz); 7.076 (dd, 1H, Ar-H₁₂, <i>J</i> = 1.4, 8.2 Hz); 7.268 (t, 1H, Ar-H₁₁, <i>J</i> = 8.2 Hz); 7.399 (dd, 1H, Ar-H₁₀, <i>J</i> = 1.4, 8.2 Hz); 8.125 (d, 1H, Ar-H₃, <i>J</i> = 9.6 Hz).</p>
 <p style="text-align: center;">43</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3436.34 (C-N), 3073.32 (Ar-H), 2936.49 (CH₃), 1666.06 (C=O), 1599.5 (Ar-H), 1524.59 (Ar-NO₂), 1450.69 (Ar-H), 1342.30 (Ar-N), 1059.57 (C-N), 544.28 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 355 (96) [M+1]⁺; 313 (100) [M+1-42]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 1.843 (s, 3H, N-CH₃); 3.187 (s, 3H, COCH₃); 6.803 (d, 1H, Ar-H₆, <i>J</i> = 2.8 Hz); 6.997 (dd, 1H, Ar-H₄, <i>J</i> = 2.8, 9.4 Hz); 7.136 (dd, 1H, Ar-H₁₂, <i>J</i> = 1.6, 8.4 Hz); 7.337 (t, 1H, Ar-H₁₁, <i>J</i> = 8.2 Hz); 7.480 (dd, 1H, Ar-H₁₀, <i>J</i> = 1.6, 8.4 Hz); 8.106 (d, 1H, Ar-H₃, <i>J</i> = 9.4 Hz).</p>
 <p style="text-align: center;">38</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3387.94 -NH, 3080.40 (Ar-H), 2929.04 (CH₃), 1631.04 (Ar-NO₂), 1448.55 (Ar-H), 1258.63 (Ar-NH), 1219.74, 1052.28 (C-N), 554.32 (C-Cl).</p> <p>EMIE m/z (% ar) [asignación]: 312 (90) [M]⁺; 279 (68) [M-32]⁺; 243 (46) [M-69]⁺; 224 (84) [M-88]⁺; 202 (40) [M-110]⁺; 49 (100) [M-163]⁺; 116 (44) [M-196]⁺; 105 (46) [M-207]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 1.7 (s, 1H, NH); 2.943 (s, 3H, -CH₃); 6.133 (dd, 1H, Ar-H₄, <i>J</i> = 2.6, 9.5 Hz); 6.279 (d, 1H, Ar-H₆, <i>J</i> = 2.6 Hz); 7.073 (dd, 1H, Ar-H₁₀, <i>J</i> = 1.7, 8 Hz); 7.262 (t, 1H, Ar-H₁₁, <i>J</i> = 8 Hz); 7.397 (dd, 1H, Ar-H₁₂, <i>J</i> = 1.7, 8 Hz); 8.169 (d, 1H, Ar-H₃, <i>J</i> = 9.5 Hz).</p>

En los espectros de masas se observaron en todos los casos picos isotópicos correspondientes a dos y tres átomos de cloro y las principales fragmentaciones fueron precisamente las pérdidas de átomos de Cl con picos de $[M-70]^+$ y pérdida de NO_2 con picos de $[M-46]^+$. En RMN ^1H aparecieron todas las señales correspondientes a los protones aromáticos y con los compuestos **29**, **38** y **43** la señal alrededor de 3 ppm corroboró la presencia del grupo metilo.

Una vez lograda la preparación de las nitroanilinas **26**, **29**, **38** y **41** y para continuar con el proyecto de investigación se prosiguió con la reacción de hidrogenación utilizando Ni-Raney como catalizador ya que se ha observado en reacciones anteriormente realizadas en nuestro grupo de investigación que el uso de Pd/C como catalizador promueve la hidrogenólisis del átomo de Cl. De dicha reducción se obtuvieron las o-fenilendiaminas **27**, **30**, **36** y **39** (Esquema 12) que debido a su inestabilidad se emplearon en la reacción de ciclocondensación inmediatamente para generar los BZC **17**, **19**, **21** y **23** respectivamente (Esquema 13).

Esquema 12



En la reacción de ciclocondensación para obtener el BZC deseado (Esquema 13) se utilizó el intermediario **44** [1,3-(dimetoxicarbonil)-S-metilisotiourea] preparado según se muestra en el Esquema 14.

con excepción de DMF y DMSO. Como era de esperarse, los puntos de fusión más altos correspondieron a los BZC (**17** y **21**) que contenían hidrógeno en la posición 1, debido a la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno. Los puntos de fusión más bajos corresponden a los BZC (**20** y **24**) que tienen en la misma posición y en el carbamato un grupo CH₃- el cual evita la formación de puentes intermoleculares.

Tabla 6. Propiedades físicas y rendimientos de los BZC finales

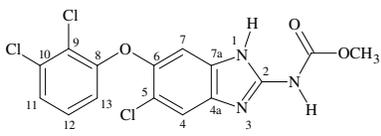
Compuesto	PM	Estado físico	Rend. (%) [*]	pf (°C)	R _f ^{**}
17	385	Sólido amorfo café-rosado	80	304-310	0.6
18	399	Sólido amorfo blanco	40	182.2-184	0.63
19	399	Sólido amorfo rosa-pálido	71	201.4-205	0.53
20	413	Sólido amorfo amarillo-pálido	60	113.9-114.7	0.38
21	350	Sólido amorfo amarillo-pálido	72	227.5-228.9	0.4
22	365	Sólido amorfo amarillo	30	162.6-163.4	0.6
23	365	Sólido amorfo rosa-pálido	84	163.2-167.2	0.45
24	379	Sólido amorfo blanco	30	113.9-114.7	0.51

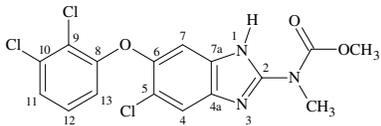
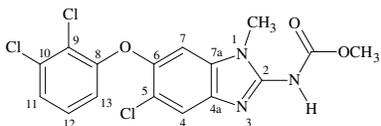
^{*}Los rendimientos son de la última reacción, no son globales.

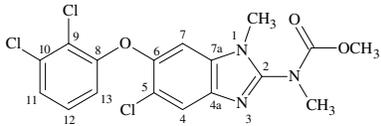
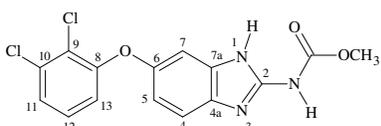
^{**}Se determinó en el sistema IV.

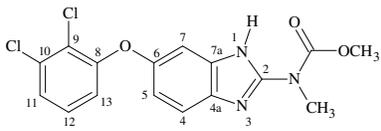
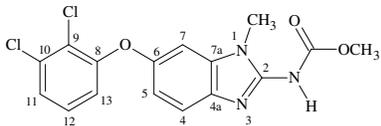
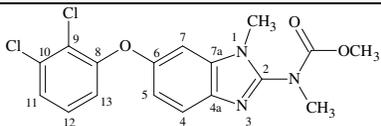
La identificación estructural de los BZC **17-24** se realizó mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos resumidos en la Tabla 7.

Tabla 7. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los BZC finales

Compuesto	Espectroscopia
 <p style="text-align: center;">17</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3370.58 (NH), 2954.91 (Ar-H), 2669.11 (-CH₃), 1702.47 (C=O), 1648.65 (NH), 1449.78 (Ar-C-C), 1254.07 (C-O-C), 1098.64 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 386 (89) [M+1]⁺.</p> <p>RMN ¹H (DMSO d⁶, 400 MHz, δ ppm): 3.757 (s, 3H, -OCH₃); 6.652</p>

	<p>(d, 1H, Ar-H₁₃, $J = 8.4$ Hz); 7.250(s, 1H, Ar-H₇); 7.252 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 8.0, 8.4$ Hz); 7.354(d, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.0$ Hz); 7.599 (s, 1H, Ar-H₄); 11.819 (s, 2H, NH).</p> <p>RMN ¹³C (DMSO d⁶, 75 MHz, δ ppm): 52.74 (OCH₃), 115.26 (Ar-C₇), 115.53 (Ar-C₅), 117.76 (Ar-C₁₃), 117.99 (Ar-C₉), 124.24 (Ar-C₄), 124.90 (Ar-C_{4a}), 128.75 (Ar-C₁₁), 132.82 (Ar-C₁₂), 135.39 (Ar-C_{7a}), 137.66 (Ar-C₁₀), 144.37 (Ar-C₂), 148.71 (Ar-C₆), 154.22(Ar-C₈), 154.73 (C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">18</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3389.9, 3364.5 (NH), 2958.2 (Ar-H), 1711.53 (C=O), 1631.39 (NH), 1551.6 (Ar-C-C), 1259.53 (C-O-C), 1148.79 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 400 (100) [M+1]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.619 (s, 3H, -OCH₃); 3.935 (s, 3H, -N-CH₃); 6.609 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 7.058 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.4$); 7.188 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 7.352 (s, 1H, Ar-H₇); 7.481 (s, 1H, Ar-H₄); 11.011 (s, 1H, NH).</p> <p>RMN ¹³C (DMSO d⁶, 75 MHz, δ ppm): 33.267 (CH₃NC=O), 54.085 (OCH₃), 103.524 (Ar-C₇), 111.698 (Ar-C₄), 115.676 (Ar-C₁₃), 119.486 (Ar-C₅), 120.505 (Ar-C₉), 124.465 (Ar-C₁₁), 127.273(Ar-C₁₂), 129.780 (Ar-C_{4a}), 134.254 (Ar-C_{7a}), 138.837(Ar-C₁₀), 146.734 (Ar-C₆), 150.784 (Ar-C₂), 154.458 (Ar-C₈), 155.595 (C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">19</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3315.07 (NH), 2949.72 (Ar-H), 1767.95 (C=O), 1599.23 (NH), 1576.31 (Ar-H), 1442.6 (Ar-C-C), 1210.87 (C-O-C), 1097.35 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 400 (100) [M+1]⁺.</p> <p>RMN ¹H (DMSO d⁶, 300 MHz, δ ppm): 3.446 (s, 3H, -OCH₃); 3.628 (s, 3H, -N-CH₃); 6.671 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.5, 8.4$ Hz); 7.262 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.4$); 7.373 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.5, 8.4$ Hz); 7.518 (s, 1H, Ar-H₇); 7.558 (s, 1H, Ar-H₄); 12.170 (s, 1H, NH).</p> <p>RMN ¹³C (DMSO d⁶, 75 MHz, δ ppm): 27.75 (CH₃N), 51.76 (OCH₃), 103.34 (Ar-C₇), 112.70 (Ar-C₅), 114.41 (Ar-C₁₃), 119.21</p>

	<p>(Ar-C₄), 121.09 (Ar-C₁₉), 123.69 (Ar-C_{7a}), 123.92 (Ar-C₁₁), 125.84 (Ar-C_{4a}), 127,15 (Ar-C₁₀), 127.85 (Ar-C₁₂), 130.16 (Ar-C₂), 133.08 (Ar-C₈), 145.19 (Ar-C₆), 154.47(C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">20</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3432.62 (NH), 2955.59 (Ar-H), 1729.85 (C=O), 1440.38 (Ar-C-C), 1253.05 (C-O-C), 911.73 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 414 (100) [M+1]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.448 (s, 3H, -OCH₃); 3.572 (s, 3H, -N-CH₃); 3.806 (s, 3H, CH₃-NCO); 6.627 (dd, 1H, Ar-H₁₃, J = 1.4, 8.2 Hz); 7.004 (s, 1H, Ar-H₇); 7.097 (t, 1H, Ar-H₁₂, J = 8.2); 7.228 (dd, 1H, Ar-H₁₁, J = 1.4, 8.2 Hz); 7.831 (s, 1H, Ar-H₄).</p> <p>RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ ppm): 30.667 (CH₃NC=O), 37.243 (CH₃N), 54.032 (OCH₃), 102.466 (Ar-C₇), 115.997 (Ar-C₁₃), 121.418 (Ar-C₄), 121.932 (Ar-C₅), 123.748 (Ar-C₉), 125.054 (Ar-C₁₁), 127.607 (Ar-C₁₂), 133.779 (Ar-C_{7a}), 134.780 (Ar-C₁₀), 137.661 (Ar-C_{4a}), 148.124 (Ar-C₈), 150.40(Ar-C₂), 155.19 (Ar-C₆), 155.38 (C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">21</p>	<p>IR (KBr) en cm⁻¹: 3405.8 (NH), 3076.21 (Ar-H), 2742.86 (-CH₃), 1719.64 (C=O), 1652.76 (N-H), 1446.92 (Ar-C-C), 1256.32 (C-O-C), 1093.61 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 352 (100) [M+1]⁺.</p> <p>RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.752 (s, 3H, -OCH₃); 6.842 (dd, 1H, Ar-H₅, J = 2.4, 8.4 Hz); 6.854 (dd, 1H, Ar-H₁₃, J = 1.6, 8.4 Hz); 7.075 (d, 1H, Ar-H₇, J = 2.4 Hz); 7.286 (t, 1H, Ar-H₁₂, J = 8.4 Hz); 7.368 (dd, 1H, Ar-H₁₁, J = 1.6, 8.4 Hz); 7.435 (d, 1H, Ar-H₄, J = 8.4 Hz); 11.763 (s, 2H, -NH).</p> <p>RMN ¹³C (DMSO d⁶, 100 MHz, δ ppm): 52.457 (OCH₃), 104.518 (Ar-C₇), 112.865 (Ar-C₅), 114.481 (Ar-C₄), 117.134 (Ar-C₁₃), 121.981 (Ar-C₉), 124.325 (Ar-C₁₁), 127.5 (Ar-C_{4a}), 128.690 (Ar-C₁₂), 132.736 (Ar-C₁₀), 133 (Ar-C_{7a}), 148.096 (Ar-C₂), 150.089 (Ar-C₆), 154.549 (Ar-C₈), 155.232 (C=O).</p>

 <p style="text-align: center;">22</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3394.29 (NH), 3073.99 (Ar-H), 2957.29 ($-\text{CH}_3$), 1697.97 (C=O), 1578.01 (N-H), 1447.86 (Ar-C-C), 1348.25 (C-O-C), 1141.4 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 366.1 (100) $[\text{M}+1]^+$.</p> <p>RMN ¹H (CDCl_3, 400 MHz, δ ppm): 3.628 (s, 3H, N-CH_3); 3.927 (s, 3H, COCH_3); 6.773 (dd, 1H, Ar-H_{13}, $J = 1.4, 8$ Hz); 6.914 (dd, 1H, Ar-H_5, $J = 2.4, 8.4$ Hz); 7.065 (t, 1H, Ar-H_{12}, $J = 8$ Hz); 7.136 (d, 1H, Ar-H_7, $J = 2.4$ Hz); 7.183 (dd, 1H, Ar-H_{11}, $J = 1.4, 8$ Hz); 7.439 (d, 1H, Ar-H_4, $J = 8.4$ Hz).</p> <p>RMN ¹³C ($\text{DMSO } d_6$, 100 MHz, δ ppm): 33.55 ($\text{CH}_3\text{NC}=\text{O}$), 54.248 ($\text{OCH}_3$), 104.31 (Ar-$\text{C}_7$), 117.06 (Ar-$\text{C}_5$), 119.4 (Ar-$\text{C}_{13}$), 124 (Ar-$\text{C}_9$), 127.48 (Ar-$\text{C}_{11}$), 127.5 (Ar-$\text{C}_{12}$), 129.3 (Ar-$\text{C}_4$), 132.21 (Ar-$\text{C}_{10}$), 133 (Ar-$\text{C}_{4a}$), 141.7 (Ar-$\text{C}_{7a}$), 150.22 (Ar-$\text{C}_6$), 151.62 (Ar-$\text{C}_2$), 155.64 (Ar-$\text{C}_8$), 158.2 (C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">23</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3308.69 (NH), 3066.33 (Ar-H), 2946.90 ($-\text{CH}_3$), 1733.11 (C=O), 1595.36 (N-H), 1446.84 (Ar-C-C), 1286.68 (C-O-C), 1080.57 (C-Cl).</p> <p>EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 366.1 (100) $[\text{M}+1]^+$.</p> <p>RMN ¹H (CDCl_3, 400 MHz, δ ppm): 3.575 (s, 3H, N-CH_3); 3.802 (s, 3H, COCH_3); 6.828 (dd, 1H, Ar-H_{13}, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 6.862 (dd, 1H, Ar-H_5, $J = 2.4, 8.8$ Hz); 6.866 (d, 1H, Ar-H_7, $J = 2.4$ Hz); 7.145 (t, 1H, Ar-H_{12}, $J = 8.4$ Hz); 7.225 (d, 1H, Ar-H_4, $J = 8.8$ Hz); 7.258 (dd, 1H, Ar-H_{11}, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 8.639 (s, 1H, -NH).</p> <p>RMN ¹³C (CDCl_3, 50 MHz, δ ppm): 28.71 (CH_3N), 54.88 (OCH_3), 100.35 (Ar-C_7), 111.62 (Ar-C_5), 113.83 (Ar-C_{13}), 117.617 (Ar-C_4), 124.44 (Ar-C_9), 125.01 (Ar-C_{4a}), 125.32 (Ar-C_{11}), 127.66 (Ar-C_{12}), 131.73 (Ar-C_{7a}), 134.491 (Ar-C_{10}), 152.65 (Ar-C_2), 154.69 (Ar-C_8), 154.97 (Ar-C_6), 163.95 (C=O).</p>
 <p style="text-align: center;">24</p>	<p>IR (KBr) en cm^{-1}: 3421.89 (NH), 3076.30 (Ar-H), 2955.14 ($-\text{CH}_3$), 1724.47 (C=O), 1576 (N-H), 1449.02 (Ar-C-C), 1248.72 (C-O-C), 965.02 (C-Cl).</p>

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 380 (100) [M+1]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.42 (s, 3H, N-CH₃); 3.58 (s, 3H, CONCH₃); 3.79 (s, 3H, OCH₃); 6.814 (dd, 1H, Ar-H₁₃, *J* = 2, 10.8 Hz); 6.973 (dd, 1H, Ar-H₇, *J* = 0.8, 3.2 Hz); 7.001 (dd, 1H, Ar-H₅, *J* = 3.2, 11.2 Hz); 7.117(t, 1H, Ar-H₁₂, *J* = 10.8 Hz); 7.232 (dd, 1H, Ar-H₁₁, *J* = 2, 10.8 Hz); 7.678 (dd, 1H, Ar-H₄, *J* = 0.8, 11.2 Hz).

RMN ¹³C (DMSO d₆, 100 MHz, δ ppm): 30.34 (CH₃NC=O), 37.17 (CH₃N), 53.98 (OCH₃), 100.41 (Ar-C₇), 115.01 (Ar-C₅), 117.52 (Ar-C₁₃), 121.03 (Ar-C₄), 124.39 (Ar-C₉), 125.03 (Ar-C₁₁), 127.71 (Ar-C₁₂), 134.54 (Ar-C_{4a}), 135.33 (Ar-C₁₀), 137.71 (Ar-C_{7a}), 149.58 (Ar-C₈), 152.83 (Ar-C₂), 155.51 (Ar-C₆), 155.72 (C=O).

La espectroscopia de IR mostró para todos los compuestos bandas características para alargamientos de compuestos aromáticos correspondientes a los bencimidazoles a 1480-1440 cm⁻¹ y para aminas (NH) un estiramiento a 3400-3300 cm⁻¹ que con las bandas alrededor de 1700 cm⁻¹ (C=O), confirman la presencia del grupo carbamato. Las bandas de alargamiento del enlace C-Cl en 1088-1007 y alrededor de 400 cm⁻¹ son prueba clara de que la molécula contiene cloro. Las bandas de estiramiento C-O, correspondientes al éter aromático, se mostraron alrededor de 1200 cm⁻¹.

En el caso de los productos finales, se determinó el espectro de masas con la técnica de bombardeo con átomos rápidos (FAB) debido a que con la técnica de IE no se podía observar el ión molecular. El [M+2]⁺ y [M+4]⁺ demostraron la presencia de 2 ó 3 átomos de cloro en la molécula con una relación 9:6:1 y 3:3:1 respectivamente.

Los espectros de RMN de ¹H correspondieron a las estructuras asignadas a los compuestos sintetizados. En el caso particular de **18**, las señales están duplicadas debido al efecto tautomérico del protón en 1- (Figura 2). Para los compuestos **18**, **19**, **22** y **23**, fue necesaria la realización de experimentos NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy) para discriminar la posición en la cual se encuentran los grupos metilo. Con estos experimentos se pudieron observar correlaciones entre los hidrógenos del grupo metilo y los protones que están cercanos en el espacio.

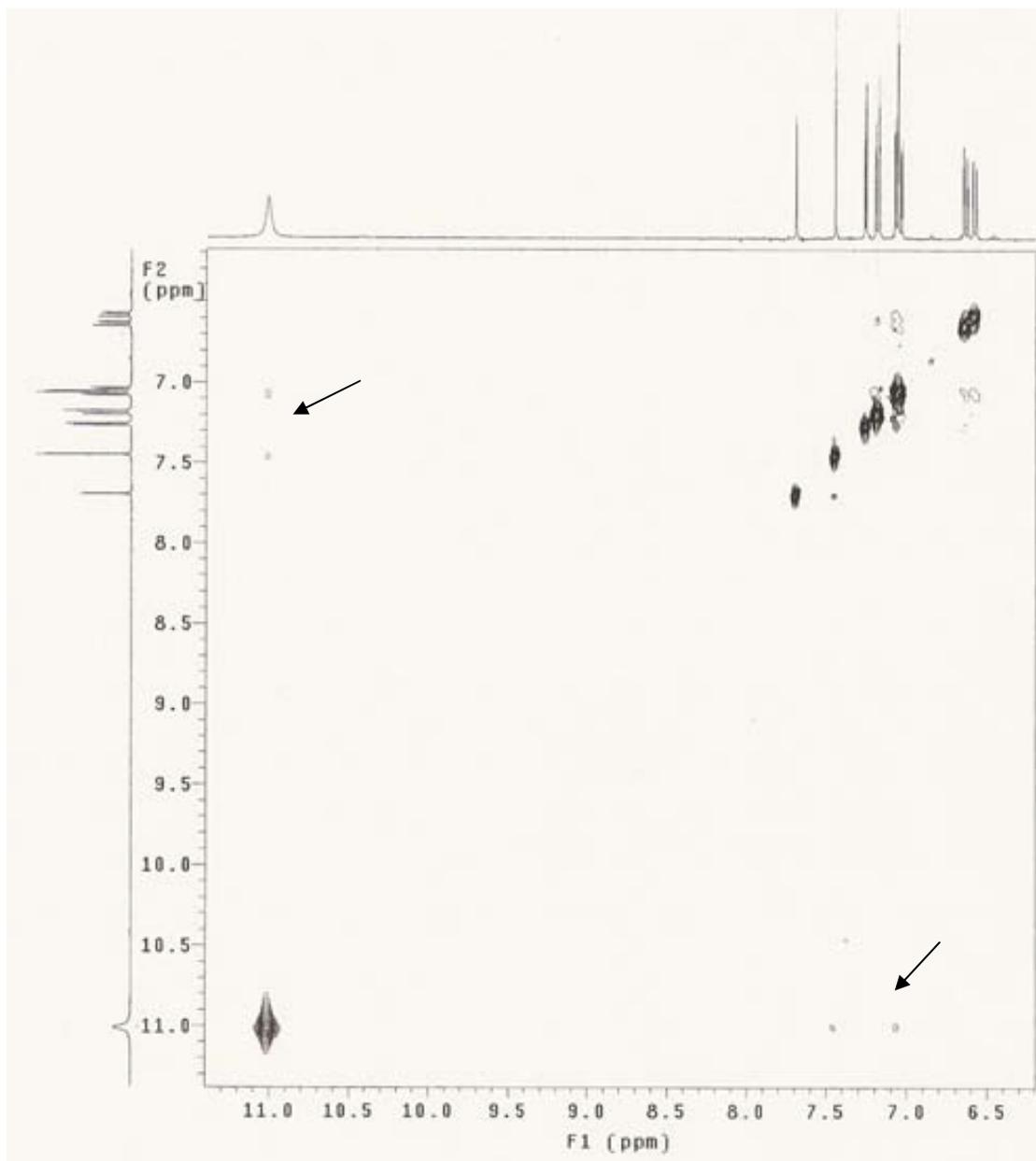
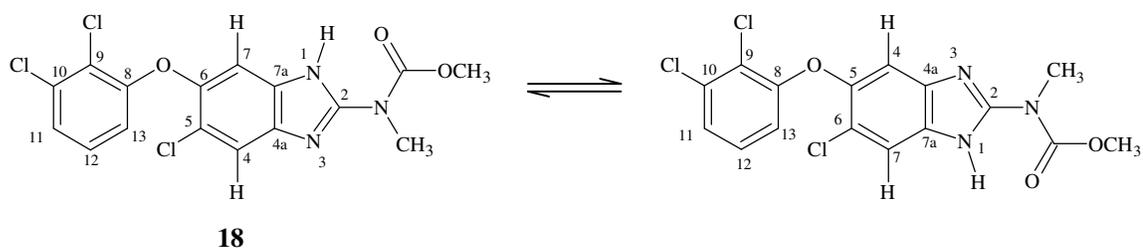


Figura 3. Espectro de NOESY de **18**.

En el espectro de NOESY del compuesto **19** se puede ver una correlación de la señal correspondiente a los protones del metilo (NCH_3) con el protón aromático que corresponde al H_7 , además de que también hay una correlación de NH con NCH_3 (Figura 4)

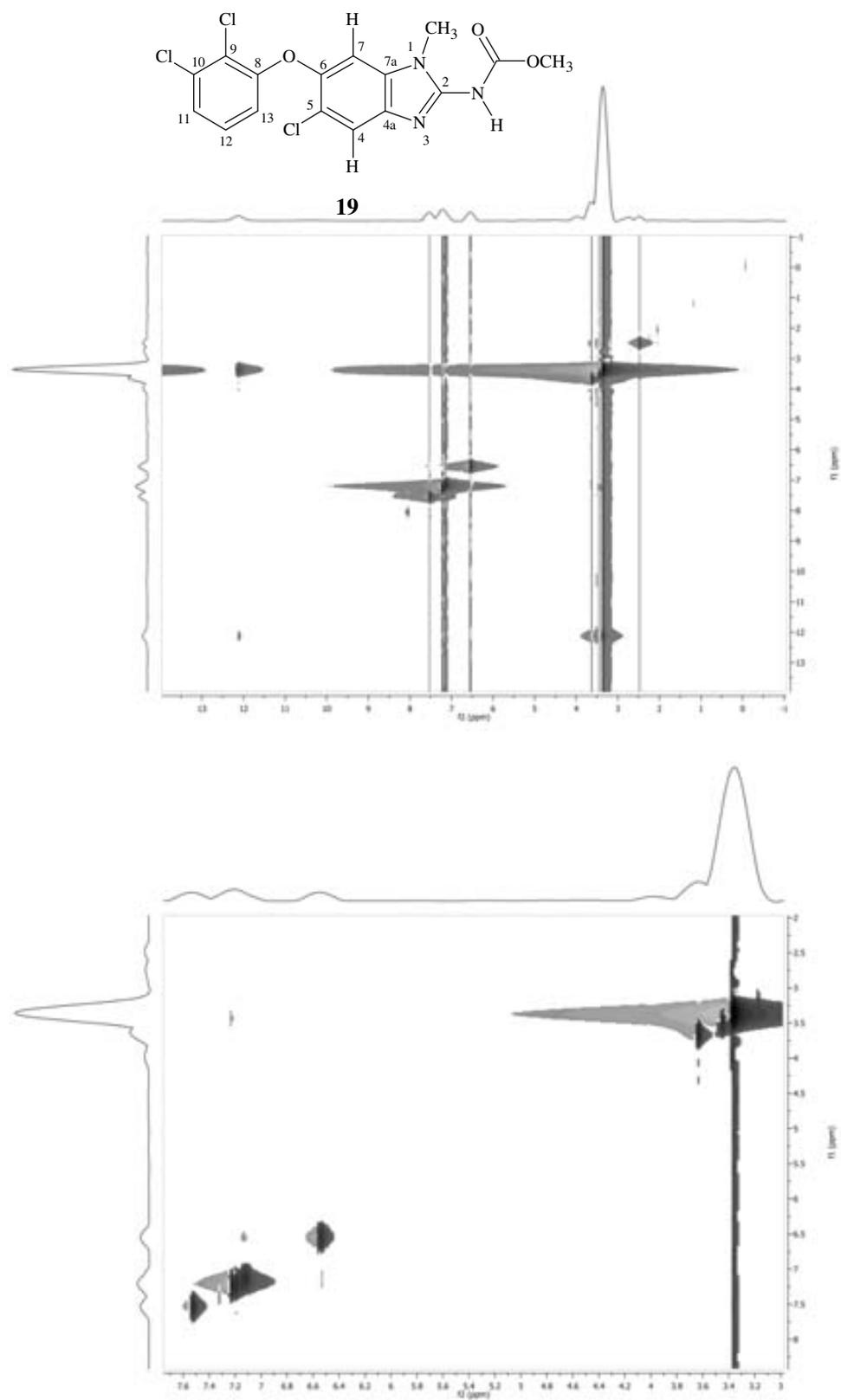


Figura 4. Espectros de NOESY de 19.

En el caso del compuesto **20**, que está dimetilado, se puede apreciar las correlaciones entre protones correspondientes a protones del metilo con un protón aromático en 7 ppm (H_7) y el desplazamiento corrobora que se obtuvo el compuesto con sustitución en 1,6- (Figura 5).

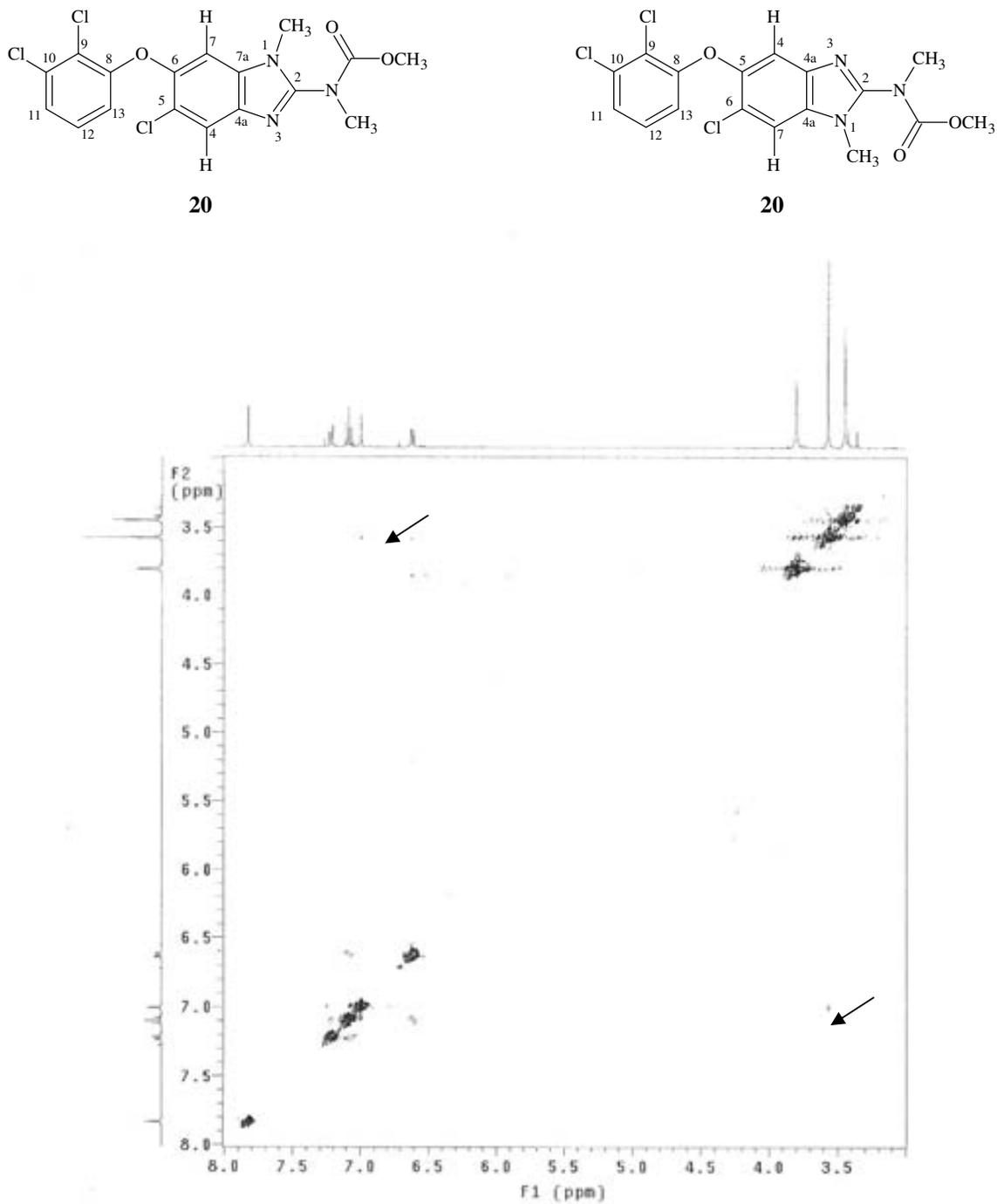


Figura 5. Espectro de NOESY de **20**.

Para el compuesto **22** se observó únicamente la correlación entre H₁₃, protón del anillo del diclorofenoxi, con H₅, un protón del sistema bencimidazólico. Otra correlación observada fue la de los protones de los grupos metilo entre sí. La señal del grupo -NH no apareció en el espectro (Figura 6).

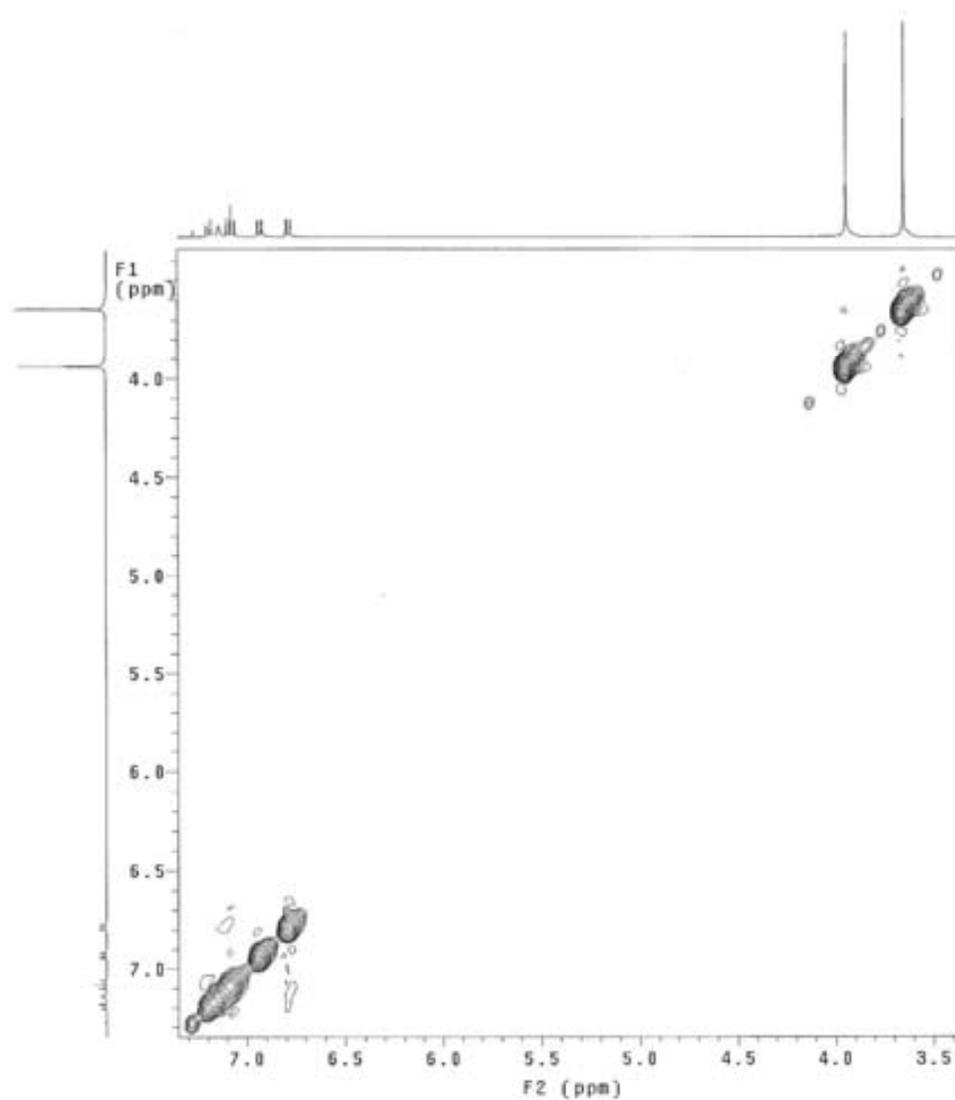
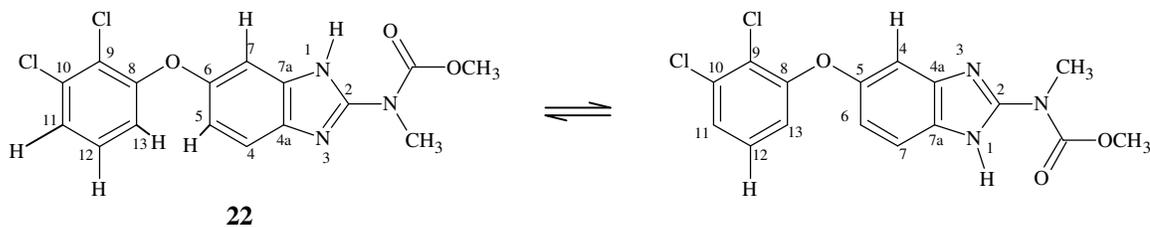


Figura 6. Espectro de NOESY de **22**.

En el caso del compuesto que contiene un metilo en posición 1- (**23**), el espectro de NOESY reveló la correlación existente entre esos protones de metilo con un protón aromático que según su desplazamiento corresponde a H₇. Además de que no se observa ninguna correlación de NH con protones aromáticos. Y también resultó una correlación de los protones de ambos grupos metilos (Figura 7).

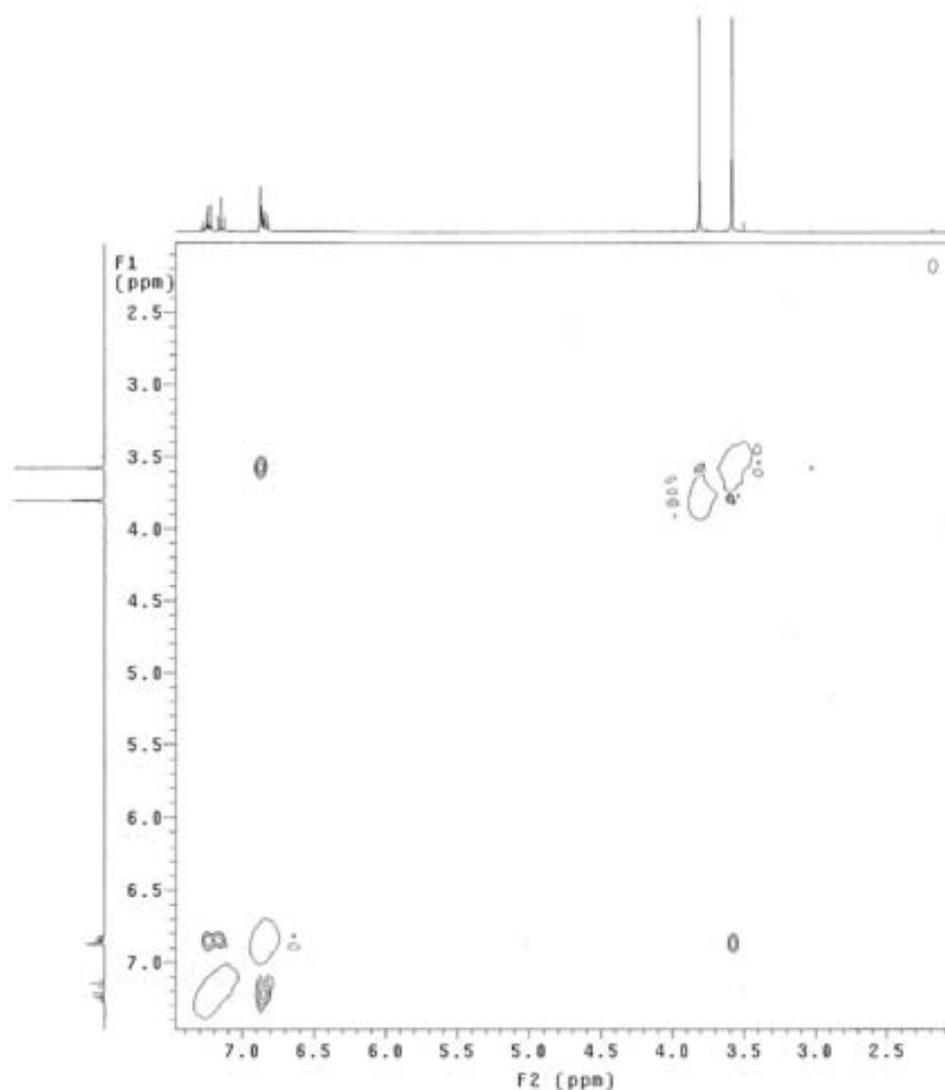
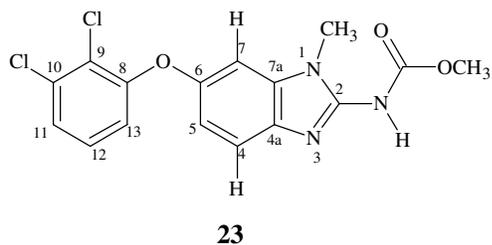


Figura 7. Espectro de NOESY de **23**.

En los espectros de RMN ^{13}C , los compuestos tuvieron el número de átomos de carbono y los desplazamientos químicos esperados con las estructuras planteadas. Sin embargo, para el compuesto **18** (Figura 8) se observan señales duplicadas lo cual se debe al equilibrio tautomérico del anillo de bencimidazol. Este efecto no se observa en el resto de los compuestos, ya que se encuentran metilados en posición 1, presentando así una evidencia más sobre la posición del grupo metilo en este compuesto. Para algunos compuestos las señales correspondientes a carbonos cuaternarios no aparecen en el espectro posiblemente debido a que estos carbonos necesitan tiempos de relajación más largos y el experimento realizado no pudo detectarlos.

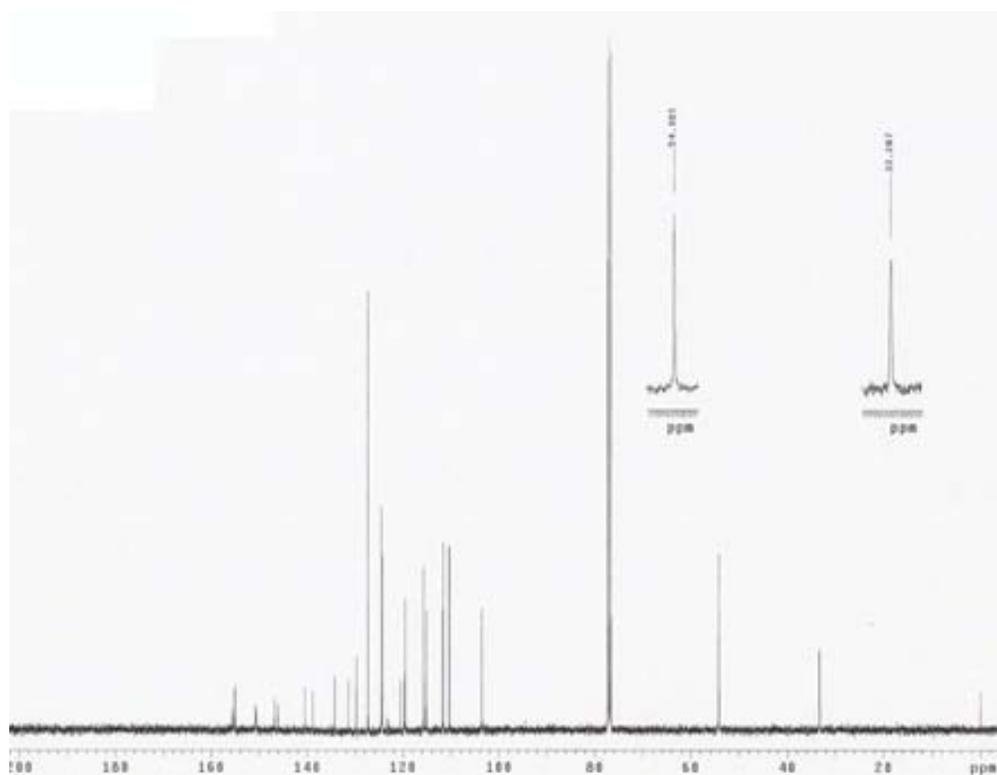


Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C de **18**.

Para algunos compuestos, como por ejemplo **19**, algunos picos del espectro de ^{13}C presentaron una altura pequeñas, dichas señales corresponden a carbonos aromáticos sustituidos; y al ser cuaternarios, sus tiempos de relajación son mayores y durante el experimento no se alcanzaron totalmente (Figura 9).

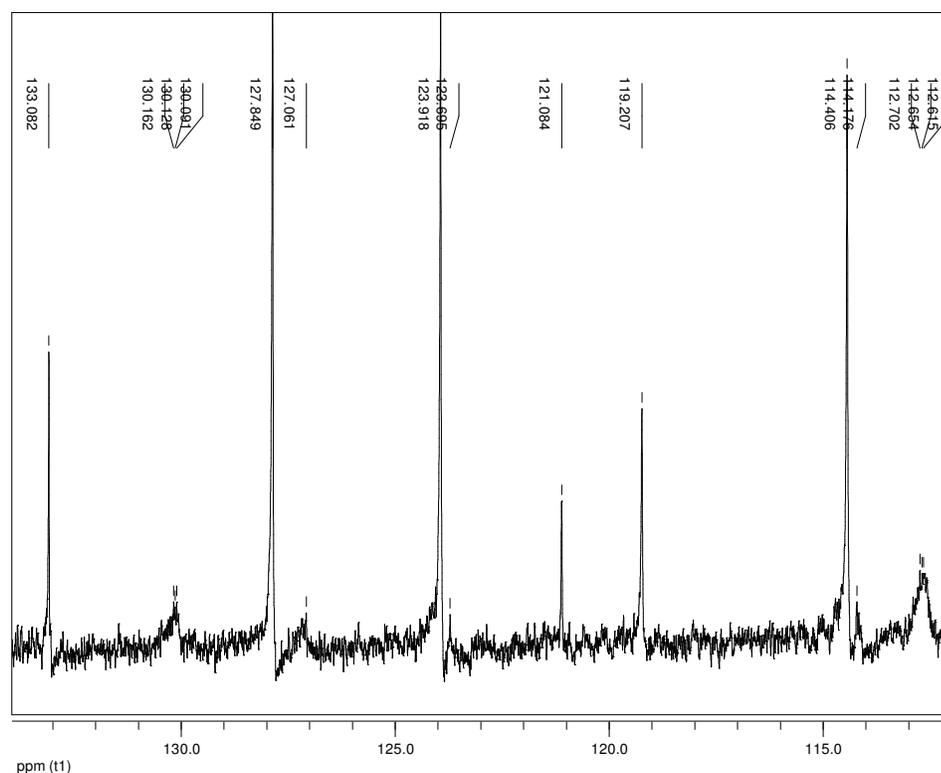


Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C de **19**.

6.2. Parte biológica

Los compuestos preparados en el presente trabajo de investigación tenían el propósito de ser evaluados frente al tremátodo *Paramphistomum spp*; sin embargo, la falta de disponibilidad de las metacercarias para los ensayos nos hizo realizar las pruebas con los modelos a nuestra disposición; los resultados a estas pruebas biológicas contra protozoarios y helmintos también resultan de interés debido a la versatilidad de actividad que presentan los derivados del bencimidazol. Los estudios de evaluación se discuten a continuación.

6.2.1. Evaluación de la actividad antiprotozoaria de los compuestos contra *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*

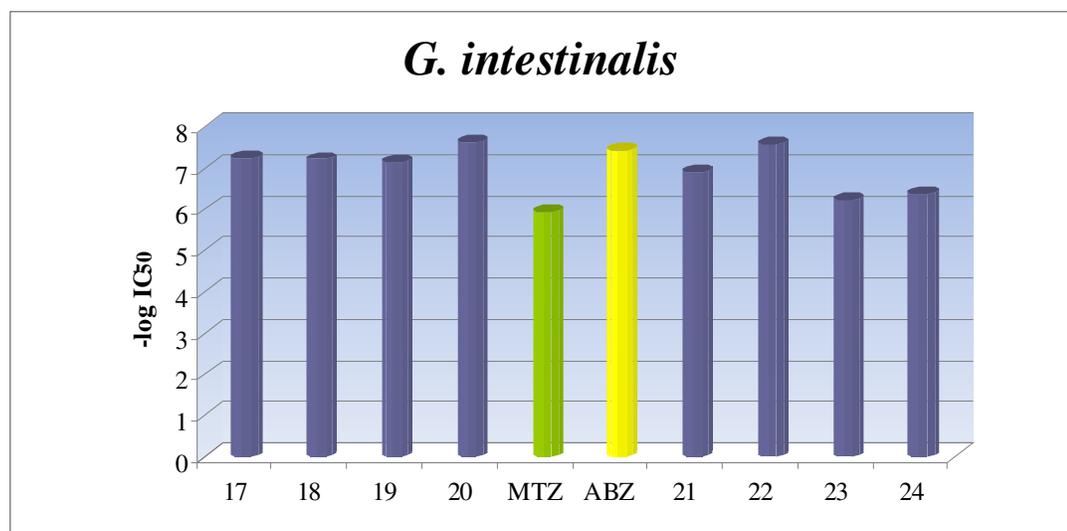
En la Tabla 8 se resume la actividad antiprotozoaria mostrada por los compuestos sintetizados en este trabajo de tesis.

Tabla 8. Actividad antiprotozoaria in vitro de los compuestos sintetizados, MTZ y ABZ

Compuestos	<i>G. intestinalis</i>	<i>E. histolytica</i>	<i>T. vaginalis</i>
	CI ₅₀ , μM	CI ₅₀ , μM	CI ₅₀ , μM
17	0.062	0.551	1.374
18	0.063	0.097	0.219
19	0.072	Nd	0.107
20	0.024	0.036	0.058
MTZ	1.226	0.350	0.236
ABZ	0.038	56.33	3.390
21	0.131	Nd	0.202
22	0.027	Nd	0.079
23	0.623	Nd	0.330
24	0.452	Nd	1.013

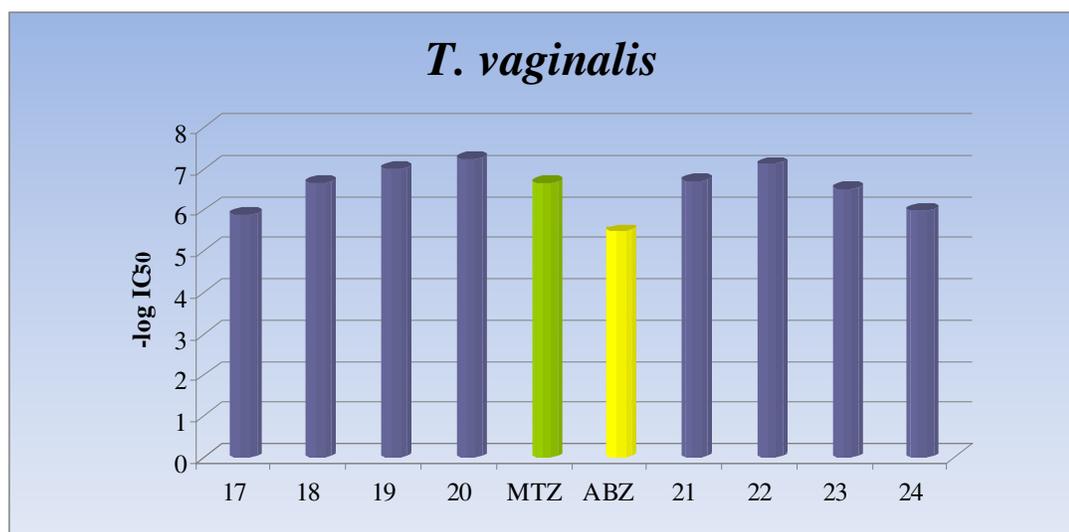
Nd = no determinado

Todos los compuestos sintetizados (**17-24**) tuvieron una actividad micromolar contra *G. intestinalis* y fueron 20, 19, 17, 51, 9, 45, 2 y 3 veces más potentes que el metronidazol, respectivamente. Únicamente los compuestos **20** y **22** tuvieron una actividad parecida a la del albendazol, siendo 1.6 y 1.3 veces más activos, respectivamente. Los demás compuestos no presentaron una actividad significativa. Es importante resaltar que aquellos derivados 2-(*N*-metil)carbamatos fueron mejores que los que no contienen la *N*-metilación; por ejemplo, **18** resultó mejor que **17**, **20** mejor que **19**, **22** mejor que **21** y **24** mejor que **23**. Los resultados se graficaron con los valores de $-\log \text{CI}_{50}$ (Gráfica 1).

**Gráfica 1.** Potencia contra *G. intestinalis* de los compuestos sintetizados en comparación con albendazol (ABZ) y metronidazol (MTZ).

Debido a la falta de disponibilidad de amibas, el ensayo contra *E. histolytica* no se realizó para todos los compuestos. Sin embargo, de los ensayos realizados se observó que **18** y **20** fueron 4 y 10 veces más activos respectivamente que el MTZ (medicamento de elección).

En relación con *T. vaginalis* se siguió el siguiente patrón de actividades: todos los compuestos **17-24** manifestaron una actividad mayor que la del ABZ en el orden de 3 a 58 veces. Y solamente **18-22** fueron un poco más activos que el metronidazol (1, 2, 4, 1 y 3 veces más respectivamente). Los resultados se graficaron en función de $-\log \text{CI}_{50}$ tal como se muestran en la Gráfica 2.



Gráfica 2. Potencia contra *T. vaginalis* de los compuestos sintetizados en comparación con albendazol (ABZ) y metronidazol (MTZ).

De manera general se puede apreciar que los compuestos **20** y **22** resultaron ser los más activos frente a los protozoarios evaluados. Dichos compuestos contienen grupos metilos en las posiciones 1- y *N*-carbamato para **20** y sólo un metilo en el carbamato para el **22**. De estos dos el más activo fue el **20**. Tal parece que el átomo de cloro juega un papel importante en la actividad efectuando mejor su acción antiprotozoaria. El hecho de que algunos de los compuestos con CH_3 en 1- confirman que no se requiere la presencia de un átomo de H en esa posición para manifestar una actividad antiprotozoaria.

6.2.2. Evaluación de la actividad antihelmíntica de los compuestos contra *Trichinella spiralis*

Los compuestos **17-24** fueron evaluados tanto in vivo como in vitro contra la fase adulta de la *T. spiralis* y los resultados se muestran en las Tablas 8 y 9.

Como podemos observar, únicamente **22** redujo a los adultos del parásito in vivo con un porcentaje ligeramente mayor que el albendazol; en contraste con **24** el cual no registró reducción de la presencia de éstos (Tabla 9 y Gráfica 3).

Tabla 9. Actividad in vivo de los compuestos sintetizados sobre el adulto de *T. spiralis*

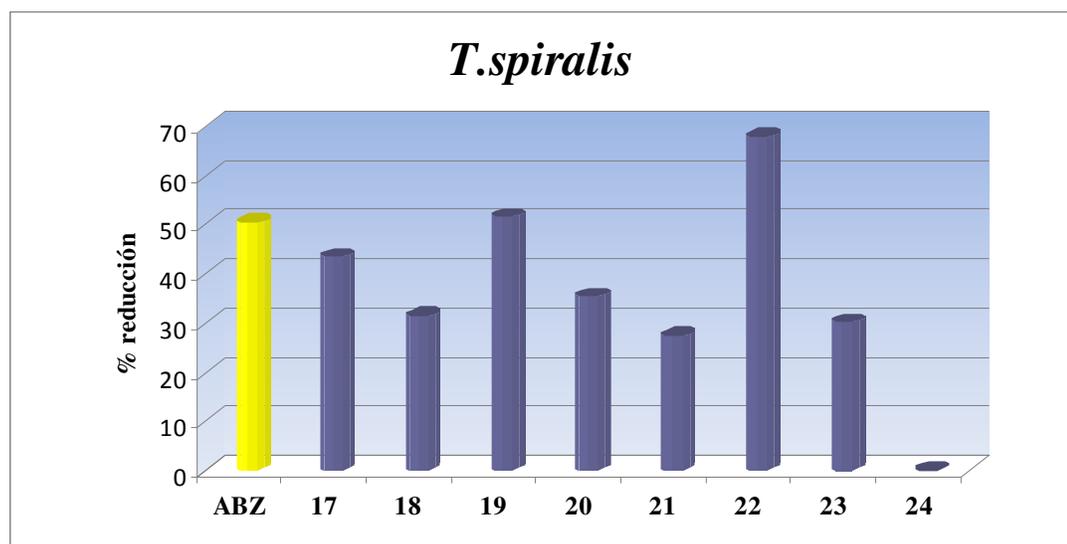
Compuesto	<i>T. spiralis</i> % reducción
17	43.5 ^a
18	31.5 ^a
19	51.71 ^c
20	35.5 ^a
ABZ	55.9
21	27.43 ^c
22	67.94 ^d
23	30.16 ^b
24	0

^a Se realizó sólo 1 ensayo con 10 ratones.

^b Se realizaron 2 ensayos con 10 ratones c/u.

^c Se realizaron 3 ensayos con 10 ratones c/u.

^d Se realizaron 4 ensayos con 10 ratones c/u.



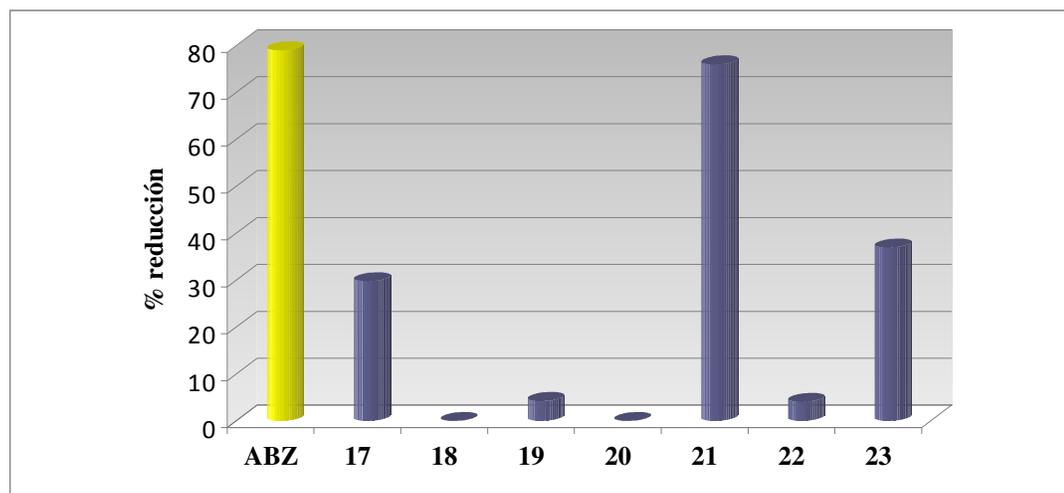
Gráfica 3. Porcentaje de reducción in vivo de los adultos de *T. spiralis* frente a **17-24** y ABZ.

Cuando el ensayo se llevó a cabo *in vitro*, ninguno de los compuestos preparados en esta tesis resultó con mayor actividad de reducción de los parásitos que el albendazol; sin embargo, **21** presentó un porcentaje de reducción significativo (Tabla 10 y Gráfica 4).

Tabla 10. Actividad *in vitro* de los compuestos sintetizados sobre el adulto de *T. spiralis*

Compuestos	% reducción <i>T. spiralis</i>
ABZ	77.83*
17	29.74
18	0
19	4.22
20	Nd
21	75.98
22	4.05
23	36.97
24	Nd

Nd= no determinado
*Promedio de todos los ensayos realizados



Gráfica 4. Porcentaje de reducción *in vitro* de las larvas de *T. spiralis* frente a **17-22** y ABZ.

A pesar de que los compuestos sintetizados fueron diseñados para su evaluación contra *Paramphistomum spp*, y que la poca solubilidad de éstos dificultó en muchos de los casos su administración *in vivo*, los resultados en general fueron muy interesantes.

7. CONCLUSIONES

Se logró la preparación de los 8 análogos del triclabendazol (**17-24**) con un buen rendimiento químico a partir de sustancias simples y en cantidades suficientes para ser evaluados contra algunos parásitos.

Se logró la caracterización de los 8 compuestos preparados en esta tesis utilizando técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Se logró establecer mejores condiciones de reacción de SNA al reducir los tiempos de reacción y facilitando la purificación de los compuestos de interés.

La hipótesis planteada no se puede aceptar del todo, ya que no fue posible la evaluación biológica de **17-24** frente al tremátodo *Paramphistomum spp* que es un parásito que afecta el rumen de los animales, por lo tanto no podemos saber si **17-24** presentarían una actividad preferente en el tracto gastrointestinal en comparación con el triclabendazol.

Cualitativamente, **17-24** presentaron una baja solubilidad frente a la mayoría de los disolventes orgánicos (excepto DMF y DMSO) y agua; además, aquellos compuestos metilados (**18, 19, 20, 22, 23 y 24**) resultaron más solubles que los no metilados (**17 y 21**).

Los parásitos en los cuales se pudieron realizar las pruebas de evaluación antiparasitaria fueron el helminto *Trichinella spiralis* y los protozoarios *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis* presentando una actividad antiparasitaria moderada para algunos de los compuestos sintetizados.

En cuanto a la actividad antihelmíntica frente a adultos de *T. spiralis*, los compuestos más activos fueron **22** en los ensayos in vivo y **21** en los ensayos in vitro. Con esto puede corroborarse las observaciones hechas hasta este momento que para tener una mejor actividad antihelmíntica, el BZC debe contener un H en la posición 1.

Adicionalmente, todos los derivados *N*-metilados sintetizados mostraron actividad contra los parásitos *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*. El hecho de que estos compuestos *N*-metilados en posición 1 resultaran activos frente a los protozoarios evaluados, confirman que para tener una acción antiprotozoaria aceptable no es esencial el H en 1. Cabe señalar que **20** fue el más activo en los tres ensayos; de este resultado se concluye que la actividad contra los protozoarios se incrementa en gran medida al metilar los nitrógenos del análogo del triclabendazol.

Los compuestos *N*-metilados son de interés, ya que presentan buena actividad contra los tres protozoarios en que fueron evaluados; adicionalmente los derivados 2-(*N*-metil)carbamatos al ser mejores que los no metilados en esa posición podrían seguir estudiándose para conocer el papel que tiene el hidrógeno del carbamato de metilo (NHCO_2CH_3) en la actividad tanto antiprotozoaria como antihelmíntica al ser éste un conocimiento poco estudiado hasta la fecha.

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1. Información general

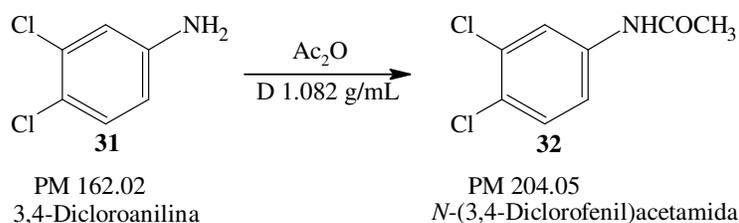
Los reactivos empleados en la síntesis de los compuestos de este trabajo fueron de la casa de Aldrich. El peso de las sustancias se determinó en una balanza granataria E4000 y en una analítica Sartorius A210P. Para llevar a cabo las reacciones se empleó una parrilla automática IKA modelo IKAMAG RET básica con sensor de temperatura modelo IKATRON ETS-D4 fuzzy. El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (ccf) utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice; para visualizar las placas se utilizó luz ultravioleta y vapores de yodo. Algunos productos obtenidos se purificaron por cromatografía en columna flash, utilizando gel de sílice Merck (230-400 mm) como fase estacionaria y disolventes grado Q.P. (acetato de etilo y hexano) como eluyentes. La destilación de disolventes a presión reducida se realizó en un rotaevaporador Büchi R-114 con baño B-480 acoplado a una bomba de vacío marca Gast 0523-V47-6528DX ajustada a 50 mmHg y un condensador de eficiencia conectado a un enfriador VWR Scientific modelo 1107, o bien, acoplado a un condensador de dedo frío enfriado por un elemento refrigerante en espiral Brinkman modelo IC30. Para disminuir la presión del sistema se utilizó una bomba de vacío marca Vaccubrand modelo PC 610 con regulador de vacío integrado CVC2. La hidrogenación catalítica se realizó empleando un hidrogenador marca Parr modelo 3916 EG con 60 lb/pulg² y 250 mL como máximo de capacidad, utilizando un tanque de hidrógeno de la casa INFRA y como catalizador Ni-Raney de la casa de Aldrich. La determinación de los espectros de RMN ¹H y ¹³C se realizó en un espectrómetro Varian modelo Unity Inova de 300 y 400 MHz usando como disolventes deuterados cloroformo y dimetilsulfóxido, y agua para el intercambio de hidrógeno. El tetrametilsilano se usó como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se dan en ppm. La multiplicidad de las señales se denotaron con las siguientes abreviaturas: s para indicar una señal simple, d para una señal doble, t para una señal triple, dd para una señal doble de dobles, m para señales múltiples, empleando en ocasiones combinaciones de ellas. Las constantes de acoplamiento están dadas en Hertz (Hz). Los puntos de fusión no corregidos de los productos se determinaron en un aparato Büchi B-540, utilizando capilares de vidrio. Los análisis de masas (EM) se llevaron a cabo en un equipo JEOL modelo JMS-SX102A con la técnica de impacto electrónico o con la técnica de FAB⁺. La simbología empelada es: m/z (masa/carga), M⁺ (ión molecular), [M+1]⁺ y [M+2]⁺ (picos isotópicos). Los espectros de IR fueron obtenidos con el espectrofotómetro FTIR modelo spectrom RxI Perkin Elmer y modelo 1605 en pastilla de bromuro de potasio, la frecuencia de las señales se reportan en cm⁻¹.

8.2. Sistemas cromatográficos usados en este trabajo:

Sistema	Componentes	Proporción
I	Hexano:Cloroformo:Acetato de etilo	50:35:15
II	Cloroformo: Metanol	99.5: 0.5
III	Hexano:Acetato de etilo:Metanol	75:15:5
IV	Acetato de Etilo: Hexano	80:20
V	Hexano: Acetato de Etilo	90:10
VI	Hexano: Acetato de Etilo	85:15
VII	Cloroformo: Metanol	98:02
VIII	Hexano:Acetato de Etilo	80:20
IX	Hexano: Acetato de Etilo	70:30

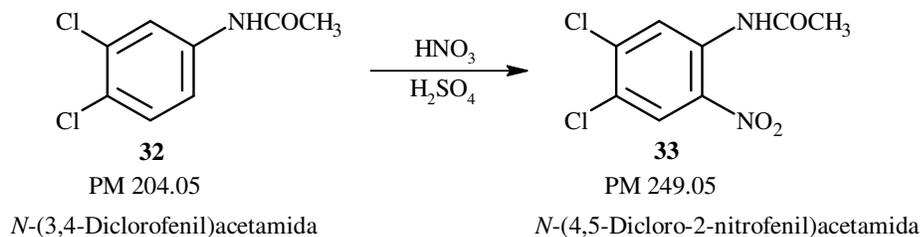
8.3. Métodos sintéticos

8.3.1 *N*-(3,4-Diclorofenil)acetamida



En un vaso de precipitados de 50 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 7 mL de Ac_2O . Dicho vaso de reacción se enfrió por medio de un baño de hielo. Se adicionaron lentamente y con agitación constante 7.6 g (0.046 mol, 1.0 eq) de 3,4-dicloroanilina **31**, de tal forma que la temperatura no excediera los 70 °C. Una vez terminada la adición, la mezcla de reacción se agitó por 10 minutos y se adicionaron 15 mL de H_2O , se pulverizó, filtró y lavó con agua fría hasta pH neutro. Finalmente se secó al vacío. Se recristalizó con etanol y se obtuvieron cristales blancos de **32** con un punto de fusión de 121-122.8 °C y un rendimiento del 95.08%. El sólido mostró ser un solo compuesto con un R_f de 0.16 en el Sistema I.

8.3.2 *N*-(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)acetamida



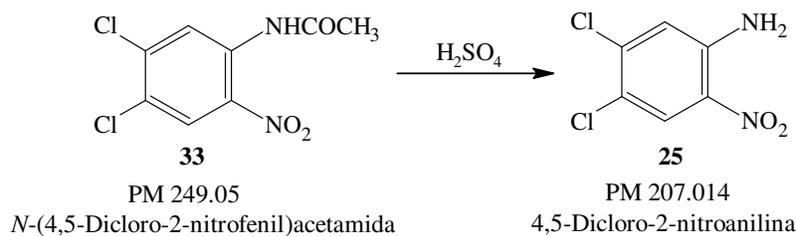
En un vaso de precipitados de 4000 mL, equipado con agitación mecánica, termómetro y un baño de hielo-sal, se colocaron 1000 mL de H₂SO₄ conc. a los cuales se les adicionaron poco a poco 290 g (1.421 mol, 1.0 eq) de *N*-(3,4-diclorofenil)acetamida. La adición se realizó de tal forma que la temperatura de reacción no excediera 10 °C. Terminada la adición se gotearon 117.8 mL de HNO₃ (conc. Baker: D 1.402 g/mL Pureza = 65.3%) cuidando que la temperatura se mantuviera entre 5-10 °C. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 15 minutos aproximadamente, se comprobó por ccf el completo consumo de la materia prima y la mezcla se vertió sobre una cubeta de hielo-agua. El sólido formado se separó mediante filtración al vacío, se lavó con agua repetidas veces hasta pH neutro y se dejó secar al aire. El sólido amarillo formado se recrystalizó de metanol-agua dando cristales amarillos que mostraron ser un solo compuesto por ccf con *R_f* de 0.48 (Sistema I) con un punto de fusión de 125.1-126 °C y un rendimiento del 87%.

IR (KBr) en cm⁻¹: 3214(NH), 3143 (Ar-H), 1678 (C=O), 1575 (Ar-H), 1545 (Ar-NO₂), 1494 (Ar-H), 1335.3 (Ar-NH), 1272, 886 (CN).

EMIE *m/z* (% ar) [asignación]: 248 (15) [M]⁺; 206 (100) [M-42]⁺; 176 (20) [M-72]⁺; 160 (30) [M-88]⁺; 97 (30) [M-151]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 2.312 (s, 3H, CO-CH₃); 8.339 (s, 1H, Ar-H); 9.067 (s, 1H, Ar-H); 10.321 (s, 1H, NH).

8.3.3. 4,5-Dicloro-2-nitroanilina



En un vaso de precipitados de 250 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 10 mL de H₂SO₄ conc. y se adicionaron 10 g (0.040 mol) de *N*-(4,5-dicloro-2-

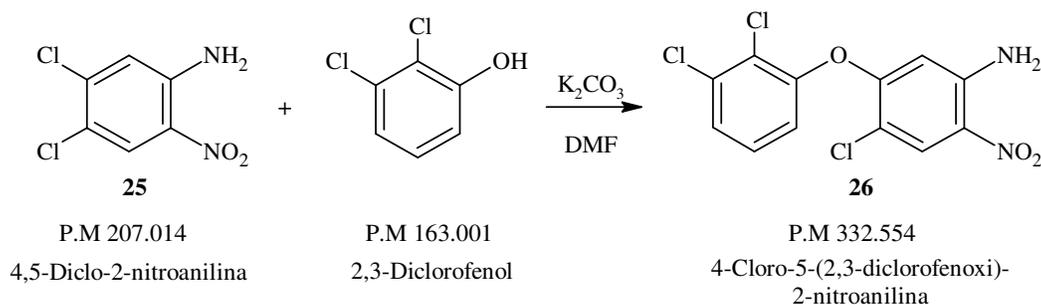
nitrofenil)acetamida. La mezcla se calentó a 70-80 °C durante 1 hora. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar hasta 45 °C y se vertió sobre hielo-agua. El sólido amarillo-naranja formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro. Se recrystalizó de ácido acético y se obtuvieron cristales amarillo-naranja con un R_f de 0.47 (Sistema II) y punto de fusión de 178.7-179.1 °C (rendimiento del 80%).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3481.89 (NH_2), 3359.42 (Ar-NH_2), 3173.38, 1623.26 (Ar-H), 1574.13 (Ar-NO_2), 1486.97 (Ar-H), 1245.23 (C-N), 886 (CN).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 206 (100) $[\text{M}]^+$; 160 (78) $[\text{M}-46]^+$; 133 (76) $[\text{M}-127]^+$; 97 (21) $[\text{M}-163]^+$; 62 (21) $[\text{M}-198]^+$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): 6.097 (s, 1H, NH_2); 6.978 (s, 1H, Ar-H); 8.244 (s, 1H, Ar-H).

8.3.4. 4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxy)-2-nitroanilina



En un matraz redondo de tres bocas, provisto de una barra magnética de agitación, refrigerante en posición de reflujo y termómetro, se colocaron 20 g (0.096 mol, 1.0 eq) de 4,5-dicloro-2-nitroanilina, 22.05 g (0.135 mol, 1.1 eq) de 2,3-diclorofenol, 24.02 g (0.017 mol, 1.5 eq) de K_2CO_3 y 200 mL de dimetilformamida (DMF). Dicha mezcla de reacción se calentó a 115 °C con un baño de aceite por 7 horas bajo atmósfera de nitrógeno. Mediante ccf se verificó el fin de la reacción. El matraz se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró al vacío para eliminar las sales formadas y se evaporó la DMF a presión reducida en el rotaevaporador. El líquido viscoso color café intenso obtenido se suspendió en metanol, se agitó y enfrió en un baño de hielo-sal; se obtuvo un precipitado que al filtrarse al vacío generó 13.3 g de cristales amarillos. Las aguas madres se suspendieron en H_2O (aprox. 200 mL), se agitó en frío por 1 hora y se filtró, obteniéndose un sólido color café (17.8 g) que presentaba algunas impurezas según lo que mostró la ccf, por lo que se prosiguió con la recrystalización de tolueno y carbón activado. Se obtuvieron 7.9 g de cristales amarillos con un punto de fusión de 151-152.6 °C y R_f de 0.18

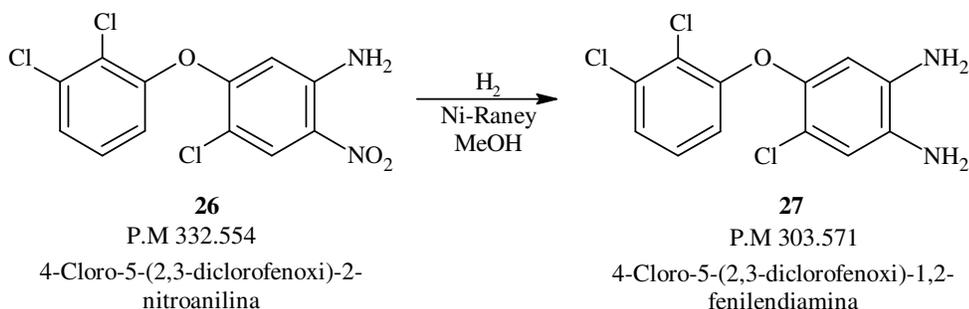
(Sistema I). Las aguas madres se evaporaron para reducir el volumen del tolueno y se colocaron en el congelador obteniéndose 5.9 g más de cristales.

IR (KBr) en cm^{-1} : 3468, 3348.65 (Ar-NH₂), 3172.92 (Ar-H), 1623.26, 1560 (Ar-NO₂), 1496 (Ar-H), 1377.94, 1321.29 (C-NO₂), 1242.23 (C-O-C), 1030.82 (C-Cl), 798 (NO₂), 460 (C-Cl).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 332 (10) [M]⁺; 262 (100) [M-70]⁺; 251 (33) [M-81]⁺; 216 (10) [M-116]⁺; 131 (11) [M-201]⁺; 125 (13) [M-207]⁺; 109 (10) [M-223]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 5.197 (s, 1H, Ar-H); 6.091 (s, 2H, Ar-NH₂); 7.082 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.6, 8.2$ Hz); 7.294(t, 1H, Ar-H, $J = 8.2$ Hz); 7.431 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 8.284 (s, 1H, Ar-H).

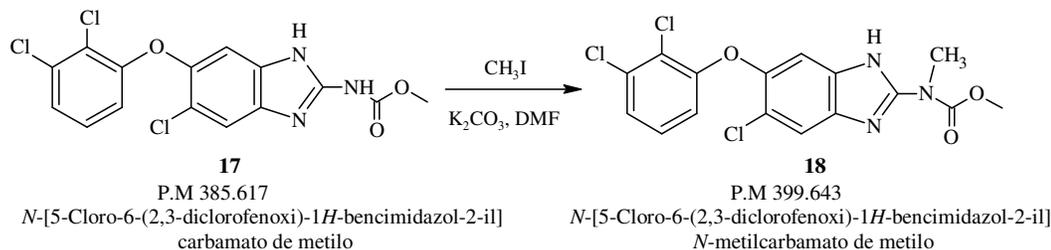
8.3.5. 4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 3.0 g (8.99 mmol) de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina, 60 mL de metanol grado Q.P. y 0.9 g de catalizador Ni-Raney. El Ni-Raney se lavó previamente con H₂O y MeOH (2 veces con cada uno) y decantó. La botella de reacción se colocó en el hidrogenador y se cargó con hidrógeno hasta 30 lb/pulg² succionando posteriormente con el vacío. Esta última operación se repitió tres veces. Finalmente, la botella se llenó con hidrógeno hasta 60 lb/pulg² y se agitó a temperatura ambiente hasta que no se consumió más hidrógeno (23 lb/pulg² en 1 hora 20 minutos). La mezcla de reacción resultante con un aspecto verdoso translúcido se filtró al vacío usando celita suspendida en MeOH para eliminar el catalizador restante. El filtrado se evaporó hasta un volumen de aproximadamente 70 mL para usarse inmediatamente en la siguiente reacción. El producto mostró un R_f de 0.12 con el Sistema III.

En un matraz redondo de 2000 mL de 3 bocas, equipado con agitación magnética, termómetro y potenciómetro, se colocaron 150 g (1.079 mol) de sulfato de 2-metil-2-tiopseudourea y 650 mL de H₂O. Se agitó hasta disolución total a temperatura ambiente, una vez disuelto se adicionaron lentamente 166 mL (203.95 g, 2.158 mol) de cloroformiato de metilo mediante un embudo de adición. Por otro lado se prepararon 690 mL de una disolución de NaOH al 25% (4.317 mol). Dicha disolución se adicionó gota a gota a la mezcla de reacción anterior, cuidando que el pH oscilara entre 7-7.5 y la temperatura entre 10-12 °C utilizando un baño de hielo agua para conservar la temperatura requerida. El producto se extrajo con cloroformo (6 x 150 mL), el extracto orgánico se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a presión reducida. Se obtuvieron 160 g de un sólido blanco que en la ccf mostró la presencia de un producto principal y una impureza, por lo que se recristalizó de metanol y se obtuvieron cristales blancos con un punto de fusión de 99.1-100.8 °C y un rendimiento del 70% ($R_f = 0.73$ Sistema IV).

8.3.8. *N*-[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL se colocaron 5.0 g (12.932 mmol, 1.0 eq) del BZC **17**, 3.575 g (25.866 mmol, 2.0 eq) de carbonato de potasio y 80 mL de dimetilformamida grado R.A. A dicho matraz y bajo atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.8 mL (1.835 g, 12.932 mmol, 1.0 eq) de yodometano. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días hasta agotar la materia prima; posteriormente, se filtró al vacío para eliminar las sales y se evaporó a presión reducida. Se obtuvo un sólido color café intenso, el cual se purificó mediante la técnica de cromatografía por columna. Se usó una columna de 3 cm de diámetro empacada con 150 g de gel de sílice y se usó el Sistema V de elución. Se obtuvieron 2.012 g de un sólido blanco que después de su recristalización de metanol presentó un pf de 182.2-184.0 °C (40% rendimiento, R_f de 0.63 Sistema IV).

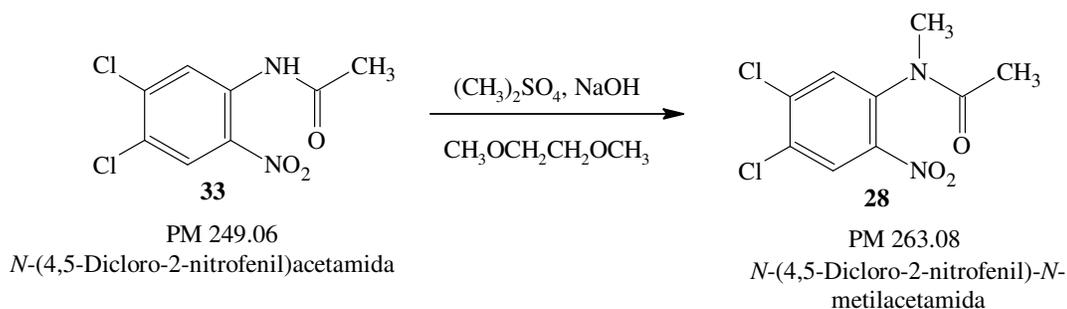
IR (KBr) en cm^{-1} : 3389.9, 3364.5 (NH), 2958.2 (Ar-H), 1711.53 (C=O), 1631.39 (NH), 1551.6 (Ar-C-C), 1259.53 (C-O-C), 1148.79 (C-Cl).

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 400 (100) [M+1]⁺.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 3.619 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$); 3.935 (s, 3H, $-\text{N-CH}_3$); 6.609 (dd, 1H, Ar- H_{13} , $J = 1.4, 8.4$ Hz); 7.058 (t, 1H, Ar- H_{12} , $J = 8.4$); 7.188 (dd, 1H, Ar- H_{11} , $J = 1.4, 8.4$ Hz); 7.352 (s, 1H, Ar- H_7); 7.481 (s, 1H, Ar- H_4); 11.011 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO } d^6$, 75 MHz, δ ppm): 33.267 ($\text{CH}_3\text{NC=O}$), 54.085 (OCH_3), 103.524 (Ar- C_7), 111.698 (Ar- C_4), 115.676 (Ar- C_{13}), 119.486 (Ar- C_5), 120.505 (Ar- C_9), 124.465 (Ar- C_{11}), 127.273 (Ar- C_{12}), 129.780 (Ar- C_{4a}), 134.254 (Ar- C_{7a}), 138.837 (Ar- C_{10}), 146.734 (Ar- C_6), 150.784 (Ar- C_2), 154.458 (Ar- C_8), 155.595 (C=O).

8.3.9. *N*-(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida



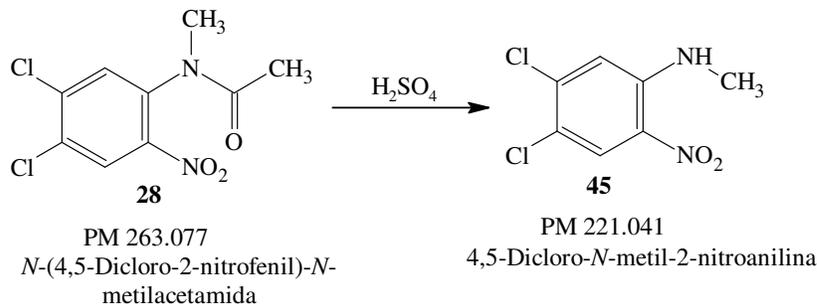
En un matraz redondo de 250 mL de 2 bocas, equipado con agitación magnética y un termómetro, se colocaron 1g (4.015 mmol, 1.0 eq) de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida y 5 mL de monoglima. Posteriormente se adicionaron 0.6 mL (0.759 g, 6 mmol, 1.5 eq) de sulfato de dimetilo y la mezcla de reacción se sumergió en un baño de agua caliente hasta alcanzar una temperatura de 30 °C y se agitó vigorosamente, luego, comenzó la adición gota a gota de una disolución acuosa de NaOH al 50% m/v (0.24 g, 6.0 mmol, 1.5 eq) manteniendo la temperatura entre 30-35 °C. Terminada la adición se comprobó el consumo total de la materia prima mediante ccf. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua y se agitó hasta la aparición de un sólido amarillo, el cual se separó por filtración al vacío, filtró al vacío, se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro y se dejó secar al aire. Finalmente se recristalizó de metanol obteniéndose un sólido color amarillo, el cual mostró por ccf un R_f de 0.18 con el Sistema I y un pf de 95.7-96 °C con un rendimiento del 80%.

IR (KBr) en cm^{-1} : 3092-3012 (Ar-H), 2928 (CH), 1675.71 (N-CO), 1527 (Ar- NO_2), 1494 (Ar-H), 896 (CN).

EMFAB $^+$ m/z (% ar) [asignación]: 263 (70) $[\text{M}]^+$; 221 (30) $[\text{M}-42]^+$; 154 (100) $[\text{M}-109]^+$; 136 (75) $[\text{M}-127]^+$; 89 (20) $[\text{M}-174]^+$.

RMN ^1H (Acetona- d^6 , 300 MHz, δ ppm): 1.805 (s, 1H, $-\text{OCH}_3$); 2.177 (s, 1H, $-\text{NCH}_3$); 7.810 (s, 1H, Ar-H); 8.04 (s, 1H, Ar-H).

8.3.10. 4,5-Dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina



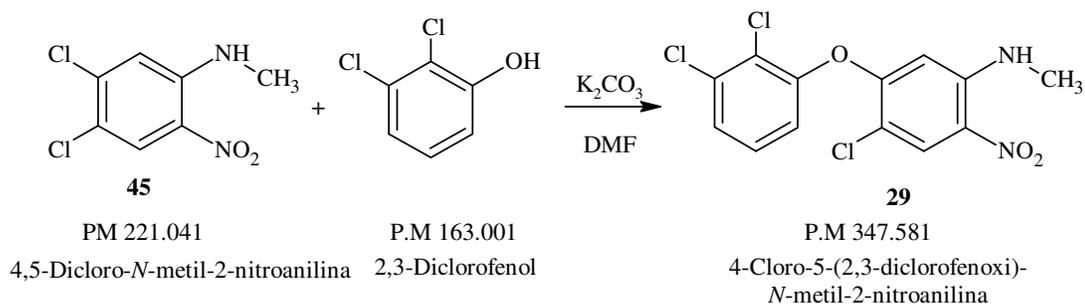
En un vaso de precipitados de 600 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 40 mL de H_2SO_4 conc. y se adicionaron 20.229 g (0.047 mol) de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida. La mezcla de reacción se calentó a 70-80 °C durante 2 horas hasta que por ccf se verificó la desaparición de la materia prima. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar hasta 45 °C y se vertió sobre hielo-agua. El sólido amarillo-naranja formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro. Se recrystalizó de ácido acético y se obtuvieron cristales color naranja con un punto de fusión de 148.3-148.9 °C y un rendimiento cuantitativo (R_f de 0.56 con el Sistema I).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3389 (NH), 3075 (Ar-H), 2909 (-CH₃), 1623.26 (Ar-H), 1614 (Ar-NO₂), 1560, 1486.97 (Ar-H), 904.34 (C-N).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 220 (80) [M]⁺; 147 (55) [M-73]⁺, 139 (100) [M-81]⁺; 160 (30) [M-88]⁺; 97 (30) [M-151]⁺.

RMN ¹H (Acetona- d⁶, 300 MHz, δ ppm): 2.995 (s, 1H, -CH₃); 7.242 (s, 1H, Ar-H); 8.182 (s, 1H, -NH), 8.235(s, 1H, Ar-H).

8.3.11. 4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina



En un matraz redondo de tres bocas, provisto de agitación magnética y termómetro, se colocaron 1 g (4.524 mmol, 1.0 eq) de 4,5-dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina, 0.81 g (4.9693 mmol, 1.1 eq) de 2,3-diclorofenol, 0.94 g (6.8012 mmol, 1.5 eq) de K_2CO_3 y 20 mL de dimetilformamida (DMF). Dicha mezcla de reacción se calentó a 115 °C con un baño de aceite

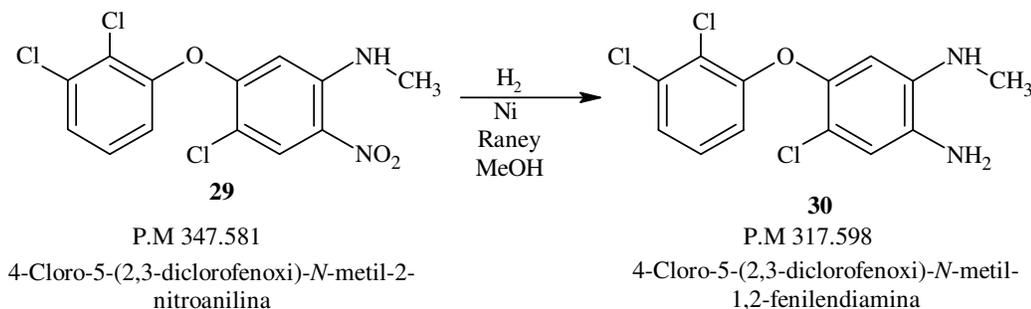
por 3 horas bajo atmósfera de nitrógeno. Mediante ccf se verificó el fin de la reacción y el matraz se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró al vacío para eliminar las sales formadas y se evaporó la DMF a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvo un sólido amarillo-café que se suspendió en metanol helado y se recrystalizó de tolueno. Se obtuvieron 1.123 g de cristales amarillos con un pf de 187.1-187.3 °C y un rendimiento de 72% (R_f de 0.53 en Sistema I).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3365.3 (Ar-NH), 3078.13 (Ar-H), 1566.85 (Ar-NO₂), 1445.38 (Ar-H), 1235.15 (C-O-C), 909.68 (C-Cl), 801 (NO₂), 541 (C-Cl).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 346 (100) [M]⁺; 276 (30) [M-70]⁺; 265 (20) [M-81]⁺; 258 (22) [M-88]⁺; 183 (43) [M-163]⁺; 155 (19) [M-191]⁺; 139 (30) [M-207]⁺.

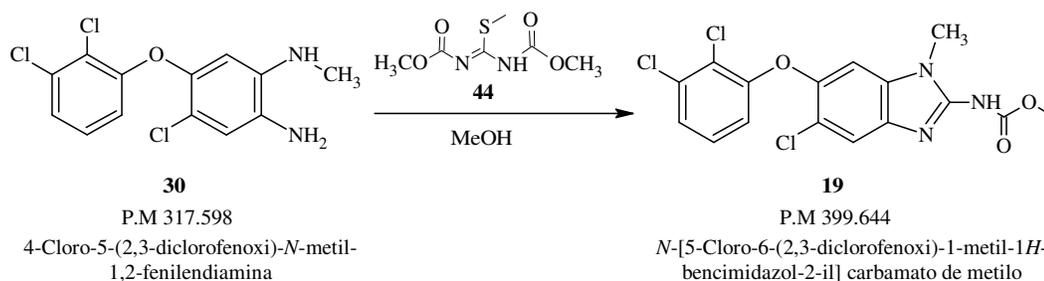
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 2.811 (s, 3H, N-CH₃); 6.006 (s, 2H, Ar-H); 7.033 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.7, 8.4$ Hz); 7.273 (dd, 1H, Ar-H, $J = 8.3, 8.4$ Hz); 7.407 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.7, 8.3$ Hz); 8.151 (s, 1H, Ar-H), 8.346 (s, 1H, Ar-H).

8.3.12. 4-Cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-1,2-fenilendiamina



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 5.0 g (0.0144 mol) de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina, 60 mL de metanol grado Q.P., 140 mL de acetato de etilo grado Q.P. y 3 g de Ni-Raney. El Ni-Raney se lavó previamente con H₂O y MeOH (2 veces con cada uno) y decantó. La botella de reacción se colocó en el hidrogenador y se cargó con hidrógeno hasta 30 lb/pulg² succionando posteriormente con el vacío. Esta última operación se repitió tres veces. Finalmente, la botella se llenó con hidrógeno hasta 60 lb/pulg² y se agitó a 22 °C durante 3 horas hasta que no se consumió más hidrógeno. La mezcla de reacción resultante, con un aspecto verdoso translúcido, se filtró al vacío usando celita suspendida en MeOH para eliminar el catalizador restante. El filtrado se evaporó hasta un volumen de aproximadamente 70 mL para usarse inmediatamente en la siguiente reacción. El producto mostró un R_f de 0.28 con el Sistema I.

8.3.13. *N*-[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il] carbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL con tres bocas, adaptado con tapón de hule, termómetro, refrigerante en posición de reflujo conectado a trampas de hipoclorito al 13% y agitación magnética, se mezclaron 0.91 g (2.9 mmol, 1 eq) de la 1,2-fenilendiamina, 0.65 g (3.15 mmol, 1.1 eq) del intermediario (1,3-dimetoxicarbonil-*S*-metiltioisourea), 10 mL de agua, 10 mL de metanol y 0.3 mL de ácido acético como catalizador ácido. Dicho matraz de reacción se agitó y calentó a reflujo con un baño de aceite (durante 4 horas aproximadamente). Una vez agotada la materia prima se enfrió el matraz y la mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua y se neutralizó con 0.3 g de bicarbonato de sodio. Finalmente se filtró al vacío obteniéndose un sólido color rosa, que se recristalizó de tolueno y dio un sólido blanco-rosado con un rendimiento del 71%, R_f de 0.53 (Sistema IV) y un punto de fusión de 163.2-167.2 °C.

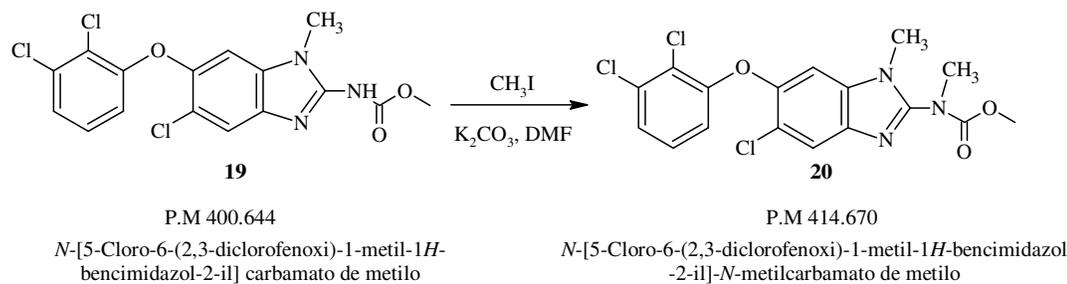
IR (KBr) en cm^{-1} : 3315.07 (NH), 2949.72 (Ar-H), 1767.95 (C=O), 1599.23 (NH), 1576.31 (Ar-H), 1442.6 (Ar-C-C), 1210.87 (C-O-C), 1097.35 (C-Cl).

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 400 [M+1]⁺, 100.

RMN ¹H (DMSO d_6 , 300 MHz, δ ppm): 3.446 (s, 3H, -OCH₃); 3.628 (s, 3H, -N-CH₃); 6.671 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.5, 8.4$ Hz); 7.262 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.4$); 7.373 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.5, 8.4$ Hz); 7.518 (s, 1H, Ar-H₇); 7.558 (s, 1H, Ar-H₄); 12.170 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO d_6 , 75 MHz, δ ppm): 27.75 (CH₃N), 51.76 (OCH₃), 103.34 (Ar-C₇), 112.70 (Ar-C₅), 114.41 (Ar-C₁₃), 119.21 (Ar-C₄), 121.09 (Ar-C₁₉), 123.69 (Ar-C_{7a}), 123.92 (Ar-C₁₁), 125.84 (Ar-C_{4a}), 127.15 (Ar-C₁₀), 127.85 (Ar-C₁₂), 130.16 (Ar-C₂), 133.08 (Ar-C₈), 145.19 (Ar-C₆), 154.47 (C=O).

8.3.14. *N*-[5-Cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il] metilcarbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL se colocaron 3.45 g (8.6 mmol, 1.0 eq) del carbamato de metilo **19**, 2.38 g (17.22 mmol, 2.0 eq) de carbonato de potasio y 50 mL de dimetilformamida grado R.A. A dicho matraz y bajo atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.54 mL (1.222 g, 8.6 mmol, 1.0 eq) de yodometano. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días hasta agotar la materia prima (ccf); posteriormente, se filtró al vacío para eliminar las sales y se evaporó a presión reducida obteniéndose un sólido color amarillo, el cual se purificó mediante la técnica de cromatografía por columna. Se usó una columna de 3 cm de diámetro empacada con 150 g de gel de sílice y se usó el Sistema IV de elución. Se obtuvieron 2.08 g de un sólido blanco amarillento que presentó un pf de 113.9-114.7 °C (60% rendimiento, R_f de 0.38 Sistema IV).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3432.62 (NH), 2955.59 (Ar-H), 1729.85 (C=O), 1440.38 (Ar-C-C), 1253.05 (C-O-C), 911.73 (C-Cl).

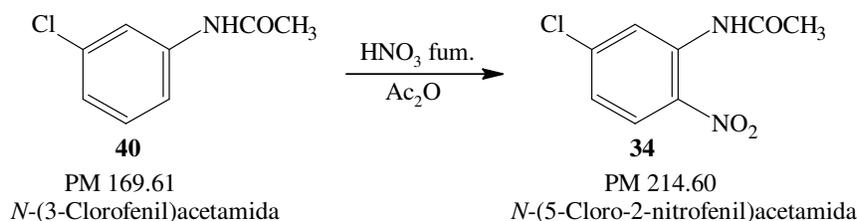
EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 414 [M+1]⁺, 100.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.448 (s, 3H, -OCH₃); 3.572 (s, 3H, -N-CH₃); 3.806 (s, 3H, CH₃-NCO); 6.627 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.4, 8.2$ Hz); 7.004 (s, 1H, Ar-H₇); 7.097 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.2$); 7.228 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.4, 8.2$ Hz); 7.831 (s, 1H, Ar-H₄).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ ppm):

30.667 (CH₃NC=O), 37.243 (CH₃N), 54.032 (OCH₃), 102.466 (Ar-C₇), 115.997 (Ar-C₁₃), 121.418 (Ar-C₄), 121.932 (Ar-C₅), 123.748 (Ar-C₉), 125.054 (Ar-C₁₁), 127.607 (Ar-C₁₂), 133.779 (Ar-C_{7a}), 134.780 (Ar-C₁₀), 137.661 (Ar-C_{4a}), 148.124 (Ar-C₈), 150.40 (Ar-C₂), 155.19 (Ar-C₆), 155.38 (C=O).

8.3.15. *N*-(5-Cloro-2-nitrofenil)acetamida



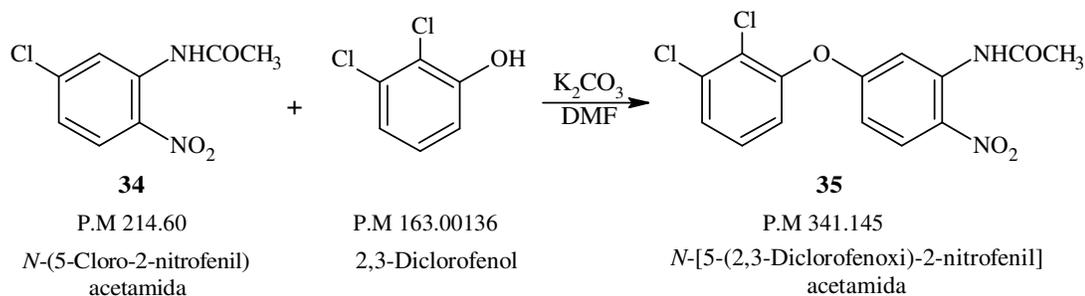
En un vaso de precipitados de 500 mL se enfriaron 40 mL de anhídrido acético a 0-5 °C y enseguida se gotearon 7.4 mL (10.403 g, 0.165 mol, 1.4 eq, D = 1.4 g/mL) de ácido nítrico rojo fumante procurando que la temperatura no se elevara a más de 10 °C. Dicha mezcla de reacción se dejó agitando durante 15 minutos y posteriormente se incorporaron lentamente 20 g (0.118 mol, 1 eq) de *N*-(3-clorofenil)acetamida cuidando que la temperatura oscilara entre 10 y 12 °C. En el transcurso de la reacción se formó un sólido amarillo, al final, se vertió sobre hielo-agua y se neutralizó con 1g de carbonato de potasio. Finalmente, el sólido amarillo se filtró al vacío y se recristalizó de metanol. Se obtuvieron 12.13 g de cristales amarillos, un solo compuesto por ccf con R_f de 0.5 (Sistema II) y p.f. de 118.2-118.7 °C (50% de rendimiento).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3331.60 (Ar-NH), 3143.11 (Ar-H), 3089.35 (CH_3 -), 1695.72 (C=O) 1579.01 (Ar- NO_2), 1493.59 (Ar-H), 1332.14 (Ar-NH), 1257018, 868.06 (C-N), 441.59 (C-Cl).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 214 (12) $[\text{M}]^+$; 172 (100) $[\text{M}-42]^+$; 168 (22) $[\text{M}-46]^+$; 142 (11) $[\text{M}-72]^+$; 126 (22) $[\text{M}-88]^+$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): 2.310 (s, 3H, $-\text{CH}_3$); 7.144 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2, 9$ Hz); 8.175 (d, 1H, Ar-H, $J = 9$ Hz); 8.899 (d, 1H, Ar-H, $J = 2$ Hz); 10.431 (s, (s, 1H, -NH).

8.3.16. *N*-[5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida



En un matraz redondo de 125 mL con tres bocas se colocaron 8.17 g (0.038 mol, 1.0 eq) de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida, 6.198 g (0.038 mol, 1.0 eq) de 2,3-diclorofenol, 7.88 g (0.057 mol, 1.5 eq) de K_2CO_3 y 40 mL de dimetilformamida anhídrida (DMF) provisto de una barra magnética de agitación, termómetro y refrigerante en posición de reflujo. Dicha mezcla de reacción se calentó a 115 °C por 4 horas bajo atmósfera de nitrógeno. Mediante ccf se verificó el consumo total de la acetamida. La mezcla de reacción caliente se vertió sobre 150 mL de

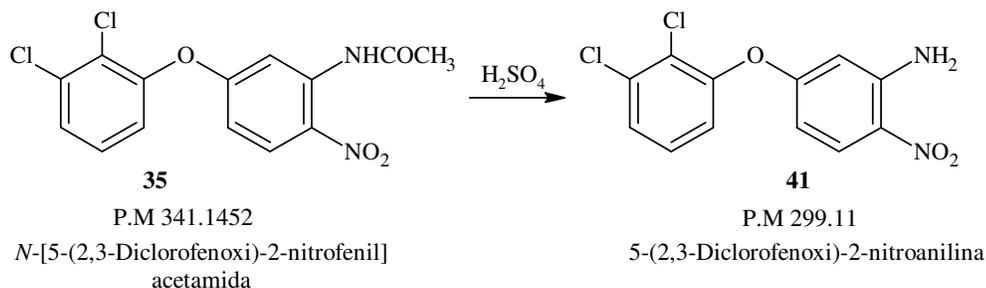
agua hirviendo en agitación y precipitó un sólido amarillo que se filtró al vacío; el precipitado obtenido se recrystalizó de etanol. Se obtuvieron 5.7 g de cristales amarillos con un punto de fusión de 131.7-132.1 °C y R_f de 0.15 (Sistema VI).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3334.27 (Ar-NH), 3129.88 (Ar-H), 2932.38 (-CH₃), 1701.61 (C=O), 1595.71 (Ar-NO₂), 1493.85 (Ar-H), 1335.23 (Ar-NH), 1266.32, 982.68 (C-N), 452.45 (C-Cl).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 340 (9) [M]⁺; 294 (100) [M-46]⁺; 245 (21) [M-95]⁺; 217 (80) [M-123]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 2.275 (s, 3H, -CH₃); 6.661 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2.8, 9.3$ Hz); 7.126 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.3, 8.1$ Hz); 7.305 (t, 1H, Ar-H, $J = 8.1$ Hz); 7.431 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.3, 8.1$ Hz); 8.253 (d, 1H, Ar-H, $J = 9.3$ Hz), 8.402 (d, 1H, Ar-H, $J = 2.8$), 10.644 (s, 1H, -NH).

8.3.17. 5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitroanilina



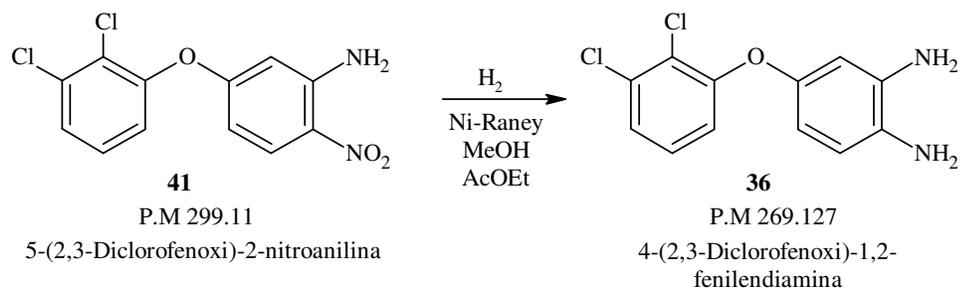
En un vaso de precipitados de 250 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 23 mL de H₂SO₄ conc. y se adicionaron 11.57 g (0.034 mol) de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida. La mezcla se calentó a 70-80 °C durante 1 hora, después, se dejó enfriar hasta 45 °C y se vertió sobre hielo-agua. El sólido amarillo formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro y se dejó secar al aire. Se recrystalizó de metanol-agua y se obtuvieron cristales amarillos con un R_f de 0.16 (Sistema VI) y punto de fusión de 163.2-164.1 °C (rendimiento del 68%).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3354.55-3332.62 (Ar-NH), 3178.21 (Ar-H), 1567.91 (Ar-NO₂), 1446.88 (Ar-H), 1337.26 (Ar-NH), 1241.21 (C-N), 979.67 (NO₂), 495.53 (C-Cl).

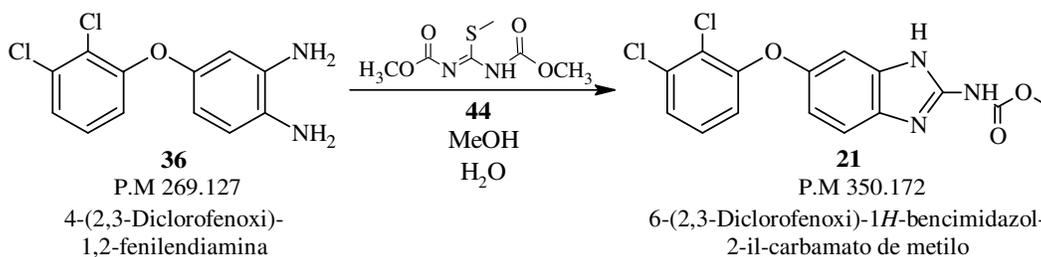
EMIE m/z (% ar) [asignación]: 300 (26) [M]⁺; 217 (100) [M-83]⁺; 162 (12) [M-138]⁺; 109 (36) [M-191]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 5.520 (s, 3H, -NH); 6.121 (d, 1H, Ar-H, $J = 2.4$ Hz); 6.299 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2.8, 9.6$ Hz); 7.076 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.4, 8.2$ Hz); 7.268 (t, 1H, Ar-H, $J = 8.2$ Hz); 7.399 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.4, 8.2$ Hz); 8.125 (d, 1H, Ar-H, $J = 9.6$ Hz).

8.3.18. 4-(2,3-Diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 4.7 g (0.016 mol) de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina, 40 mL de metanol, 40 mL de acetato de etilo grado Q.P. y 1.41 g de catalizador Ni-Raney previamente lavado con H₂O y MeOH (2 veces con cada uno). La botella se colocó en el hidrogenador y se cargó con hidrógeno hasta 30 lb/pulg² succionando posteriormente con el vacío. Esta última operación se repitió tres veces. Finalmente, la botella se llenó con hidrógeno hasta 60 lb/pulg² y se agitó a una temperatura de 28-30 °C con ayuda de un reóstato hasta que no se consumió más hidrógeno (70 lb/pulg² en 2 horas). La mezcla de reacción resultante con un aspecto verdoso translúcido se filtró al vacío usando celita suspendida en MeOH para eliminar el catalizador restante. El filtrado se evaporó hasta un volumen de aproximadamente 70 mL para usarse inmediatamente en la siguiente reacción. El producto mostró un *R_f* de 0.47 con el Sistema IV.

8.3.19. 5(6)-(2,3-Diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo

En un matraz redondo de 250 mL con tres bocas, adaptado con tapón de hule, termómetro, refrigerante en posición de reflujo conectado a trampas de hipoclorito al 13% y agitación magnética, se mezclaron 4.228 g (0.016 mol, 1 eq) de la 1,2-fenilendiamina, 3.56 g (0.017 mmol, 1.1 eq) del intermediario (1,3-dimetoxicarbonil-*S*-metiltioisourea), 40 mL de agua, 40 mL de metanol y 0.6 mL de ácido acético como catalizador ácido. Dicho matraz de reacción se agitó y calentó a reflujo con un baño de aceite (durante 4 horas aproximadamente). Una vez

agotada la materia prima se enfrió el matraz y la mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua y se neutralizó con 0.3 g de bicarbonato de sodio. Finalmente, se filtró al vacío obteniéndose un sólido color rosado que se recrystalizó de tolueno originando un sólido blanco amarillento, el cual se purificó mediante la técnica de cromatografía por columna. Se usó una columna de 3 cm de diámetro empacada con 100 g de gel de sílice y usando el Sistema IV de elución. Se obtuvieron 3.98 g de un sólido blanco amarillento que presentó un pf de 227.5-228.9 °C (72% rendimiento, R_f de 0.4 Sistema IV).

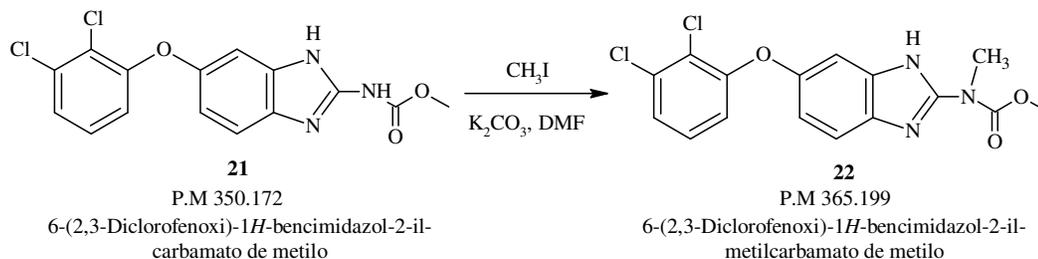
IR (KBr) en cm^{-1} : 3405.8 (NH), 3076.21 (Ar-H), 2742.86 (-CH₃), 1719.64 (C=O), 1652.76 (N-H), 1446.92 (Ar-C-C), 1256.32 (C-O-C), 1093.61 (C-Cl).

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 351 (100) [M+1]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.752 (s, 3H, -OCH₃); 6.842 (dd, 1H, Ar-H₅, $J = 2.4, 8.4$ Hz); 6.854 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 7.075 (d, 1H, Ar-H₇, $J = 2.4$ Hz); 7.286 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8.4$ Hz); 7.368 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 7.435 (d, 1H, Ar-H₄, $J = 8.4$ Hz); 11.763 (s, 2H, -NH).

RMN ¹³C (DMSO d₆, 100 MHz, δ ppm): 52.457 (OCH₃), 104.518 (Ar-C₇), 112.865 (Ar-C₅), 114.481 (Ar-C₄), 117.134 (Ar-C₁₃), 121.981 (Ar-C₉), 124.325 (Ar-C₁₁), 127.5 (Ar-C_{4a}), 128.690 (Ar-C₁₂), 132.736 (Ar-C₁₀), 133 (Ar-C_{7a}), 148.096 (Ar-C₂), 150.089 (Ar-C₆), 154.549 (Ar-C₈), 155.232 (C=O).

8.3.20. 5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1H-bencimidazol-2-il]metilcarbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL se colocaron 5.0 g (0.014 mol, 1.0 eq) del BZC **9**, 3.92 g (0.028 mol, 2.0 eq) de carbonato de potasio y 80 mL de dimetilformamida grado R.A. A dicho matraz y bajo atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.9 mL (2.015 g, 0.014 mol, 1.0 eq) de yodometano. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días hasta agotar la materia prima; posteriormente, se filtró al vacío para eliminar las sales y se evaporó a presión reducida obteniéndose un sólido color café intenso, el cual se purificó mediante la técnica de cromatografía por columna. Se usó una columna de 3 cm de diámetro empacada con 120 g de sílice y usando el Sistema IX de elución. Se obtuvieron 1.36 g de un

sólido amarillo claro que presentó un p_f de 162.6-163.4 °C (30 % rendimiento, R_f de 0.6 Sistema IV).

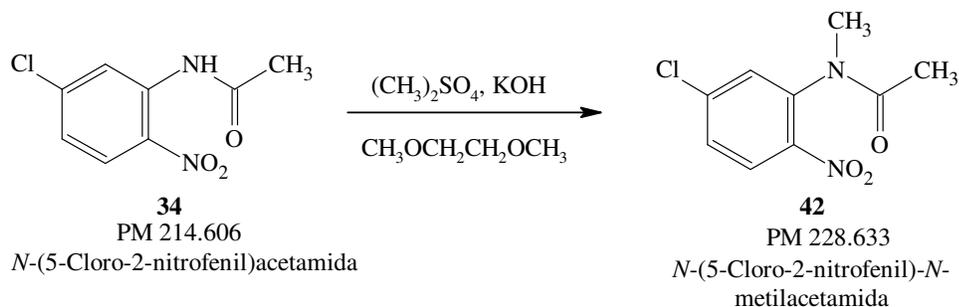
IR (KBr) en cm^{-1} : 3394.29 (NH), 3073.99 (Ar-H), 2957.29 (-CH₃), 1697.97 (C=O), 1578.01 (N-H), 1447.86 (Ar-C-C), 1348.25 (C-O-C), 1141.4 (C-Cl).

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 366.1 (100) [M+1]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.628 (s, 3H, N-CH₃); 3.927 (s, 3H, COCH₃); 6.773 (dd, 1H, Ar-H₁₃, $J = 1.4, 8$ Hz); 6.914 (dd, 1H, Ar-H₅, $J = 2.4, 8.4$ Hz); 7.065 (t, 1H, Ar-H₁₂, $J = 8$ Hz); 7.136 (d, 1H, Ar-H₇, $J = 2.4$ Hz); 7.183 (dd, 1H, Ar-H₁₁, $J = 1.4, 8$ Hz); 7.439 (d, 1H, Ar-H₄, $J = 8.4$ Hz).

RMN ¹³C (DMSO d_6 , 100 MHz, δ ppm): 33.55 (CH₃NC=O), 54.248 (OCH₃), 104.31 (Ar-C₇), 117.06 (Ar-C₅), 119.4 (Ar-C₁₃), 124 (Ar-C₉), 127.48 (Ar-C₁₁), 127.5 (Ar-C₁₂), 129.3 (Ar-C₄), 132.21 (Ar-C₁₀), 133 (Ar-C_{4a}), 141.7 (Ar-C_{7a}), 150.22 (Ar-C₆), 151.62 (Ar-C₂), 155.64 (Ar-C₈), 158.2 (C=O).

8.3.21. *N*-(5-Cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida



En un matraz redondo de 250 mL de 2 bocas, equipado con agitación magnética y un termómetro, se colocaron 1g (4.66 mmol, 1.0 eq) de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida y 5 mL de monoglima. Posteriormente se adicionaron 0.7 mL (0.881 g, 6.98 mmol, 1.5 eq) de sulfato de dimetilo y la mezcla de reacción se sumergió en un baño de agua caliente y agitó vigorosamente hasta alcanzar una temperatura de 30 °C. Al llegar a dicha temperatura se comenzó la adición gota a gota de una disolución acuosa de KOH al 50% m/v 0.39 g (6.96 mmol, 1.5 eq) manteniendo la temperatura entre 30-35 °C. Terminada la adición se continuó la agitación por 30 min, verificando mediante ccf el consumo total de la materia prima. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua y se agitó hasta la aparición de un sólido amarillo el cual se filtró al vacío y se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro. Finalmente se recrystalizó de etanol obteniéndose un sólido color amarillo, el cual mostró por ccf un R_f de 0.44 con el Sistema VII y un p_f de 90.1-91.6 °C con un rendimiento del 75%.

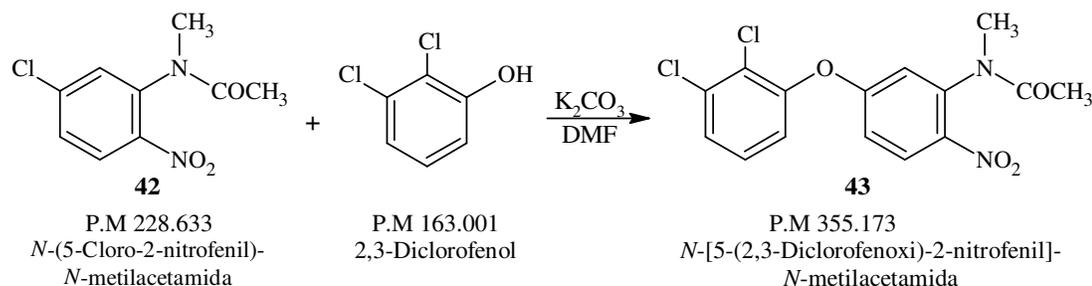
IR (KBr) en cm^{-1} : 3435.71 (C-N), 3099.48 (Ar-H), 2933.69 (CH_3), 1661.23 (C=O), 1599.5 (Ar-H), 1521.69 (Ar- NO_2), 1351.86 (Ar-NH), 1267.71, 838.03 (C-N), 451.21 (C-Cl).

EMIE m/z (% ar) [asignación]: 186 (59) $[\text{M}-42]^+$; 182 (82) $[\text{M}-46]^+$; 113 (40) $[\text{M}-115]^+$; 105 (100) $[\text{M}-123]^+$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): 1.851 (s, 3H, N- CH_3); 3.211 (s, 3H, COCH_3); 7.328 (d, 1H, Ar-H, $J = 2.4$ Hz); 7.549 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2.4, 8.6$ Hz); 8.01 (d, 1H, Ar-H, $J = 8.6$ Hz).

Nota: todas las señales se ven dobles por el efecto de anisotropía.

8.3.22. *N*-[5-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitrofenil]-*N*-metilacetamida



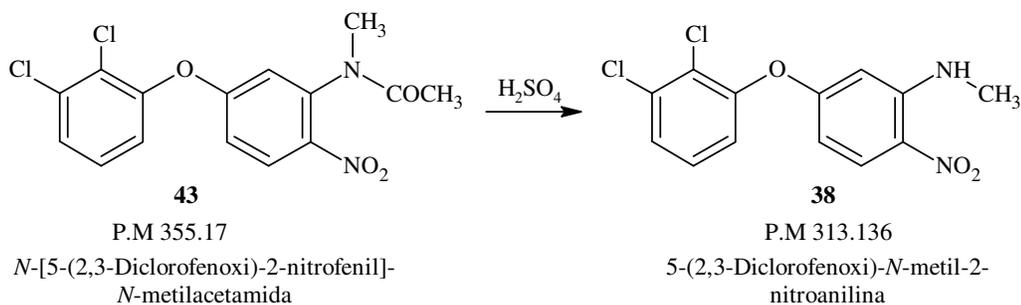
En un matraz redondo de tres bocas de 125 mL, provisto de agitación magnética, termómetro y refrigerante en posición de reflujo, se colocaron 0.5 g (2.18 mmol, 1.0 eq) de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida, 0.356 g (2.18 mmol, 1.0 eq) de 2,3-diclorofenol, 0.58 g (4.19 mmol, 1.5 eq) de K_2CO_3 y 2.5 mL de dimetilformamida anhidra. Dicha mezcla de reacción se calentó a 115 °C por 4 horas bajo atmósfera de nitrógeno. Mediante ccf se verificó el fin de la reacción. La mezcla de reacción caliente se vertió sobre 15 mL de agua hirviendo en agitación precipitando un sólido amarillo que se filtró al vacío; el precipitado obtenido se recrystalizó de etanol. Se obtuvieron 0.69 g de cristales amarillos con un punto de fusión de 142.1-142.9 °C y R_f de 0.63 (Sistema IV).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3436.34 (C-N), 3073.32 (Ar-H), 2936.49 (CH_3), 1666.06 (C=O), 1599.5 (Ar-H), 1524.59 (Ar- NO_2), 1450.69 (Ar-H), 1342.30 (Ar-N), 1059.57 (C-N), 544.28 (C-Cl).

EMFAB $^+$ m/z (% ar) [asignación]: 355 (96) $[\text{M}+1]^+$; 313 (100) $[\text{M}+1-42]^+$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): 1.843 (s, 3H, N- CH_3); 3.187 (s, 3H, COCH_3); 6.803 (d, 1H, Ar-H, $J = 2.8$ Hz); 6.997 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2.8, 9.4$ Hz); 7.136 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 7.337 (t, 1H, Ar-H, $J = 8.2$ Hz); 7.480 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.6, 8.4$ Hz); 8.106 (d, 1H, Ar-H, $J = 9.4$ Hz). Nota: todas las señales se ven dobles por el efecto de anisotropía.

8.3.23. 5-(2,3-Diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina



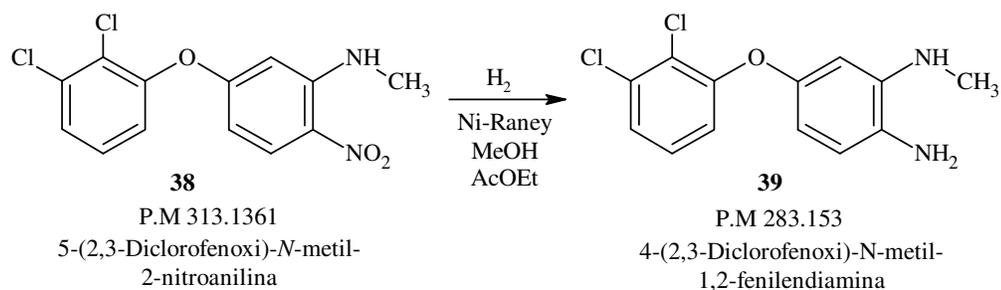
En un vaso de precipitados de 250 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 10 mL de H₂SO₄ conc. y se adicionaron 4.96 g (13.98 mmol) de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]-*N*-metilacetamida. La mezcla se calentó a 70-80 °C durante 1 hora. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar hasta 45 °C y se vertió sobre hielo-agua. El sólido amarillo formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro. Se recrystalizó de metanol y acetato de etilo (60:30) y se obtuvieron cristales amarillos con un *R_f* de 0.7 (Sistema VII) y punto de fusión de 127.3-127.5 °C (rendimiento del 68%).

IR (KBr) en cm⁻¹: 3387.94 (-NH), 3080.40 (Ar-H), 2929.04 (CH₃), 1631.04(Ar-NO₂), 1448.55 (Ar-H), 1258.63 (Ar-NH), 1219.74, 1052.28 (C-N), 554.32 (C-Cl).

EMIE *m/z* (% ar): 312 (90) [M]⁺; 279 (68) [M-32]⁺; 243 (46) [M-69]⁺; 224 (84) [M-88]⁺; 202 (40) [M-110]⁺; 149 (100) [M-163]⁺; 116 (44) [M-196]⁺; 105 (46) [M-207]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 1.7 (s, 1H, NH); 2.943 (s, 3H, -CH₃); 6.133 (dd, 1H, Ar-H, *J* = 2.6, 9.5 Hz); 6.279 (d, 1H, Ar-H, *J* = 2.6 Hz); 7.073 (dd, 1H, Ar-H, *J* = 1.7, 8 Hz); 7.262 (t, 1H, Ar-H, *J* = 8 Hz); 7.397 (dd, 1H, Ar-H, *J* = 1.7, 8 Hz); 8.169 (d, 1H, Ar-H, *J* = 9.5 Hz).

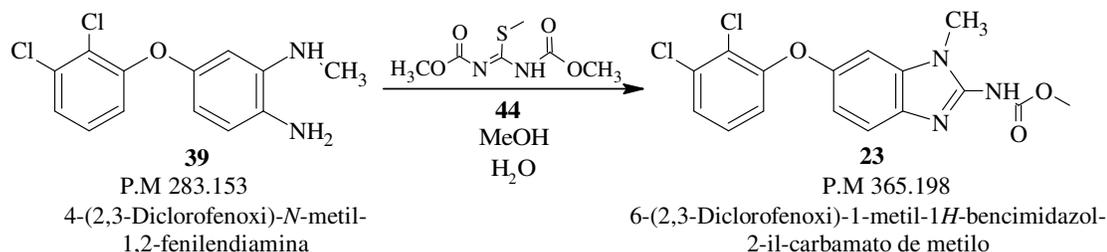
8.3.24. 5-(2,3-Diclorofenoxi)-*N*-metil-1,2-fenilendiamina



En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL se colocaron 1.73 g (5.52 mmol) de 5-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina, 40 mL de metanol, 10 mL de acetato de etilo grado Q.P. y 1.0 g de catalizador Ni-Raney previamente lavado con H₂O y MeOH (2 veces con cada uno). La botella de reacción se colocó en el hidrogenador y se cargó con hidrógeno hasta 30 lb/pulg² succionando posteriormente con el vacío. Esta última operación se repitió tres veces.

Finalmente, la botella se llenó con hidrógeno hasta 60 lb/pulg² y se agitó a una temperatura de 28-30 °C hasta que no se consumió más hidrógeno (70 lb/pulg² en 2 horas). La mezcla de reacción resultante con un aspecto verdoso translúcido se filtró al vacío usando celita suspendida en MeOH para eliminar el catalizador restante. El filtrado se evaporó hasta un volumen de aproximadamente 70 mL para usarse inmediatamente en la siguiente reacción. El producto mostró un R_f de 0.69 con el Sistema II.

8.3.25. 5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL con tres bocas, adaptado con tapón de hule, termómetro, refrigerante en posición de reflujo conectado a trampas de hipoclorito al 13% y agitación magnética, se mezclaron 1.3792 g (4.99 mmol, 1 eq) de la 1,2-fenilendiamina, 1.105 g (5.35 mmol, 1.1 eq) del intermediario (1,3-dimetoxicarbonil-*S*-metiltioisourea), 15 mL de agua, 15 mL de metanol y 0.3 mL de ácido acético como catalizador ácido. Dicho matraz de reacción se agitó y calentó a reflujo con un baño de aceite (durante 4 horas aproximadamente). Una vez agotada la materia prima se enfrió el matraz y la mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua y se neutralizó con 0.3 g de bicarbonato de sodio. Finalmente, se filtró al vacío obteniéndose un sólido color rosado que se recristalizó de metanol y carbón activado. Se obtuvieron 1.5 g de un sólido color rosa pálido que presentó un pf de 163.2-167.2 °C (84% rendimiento, R_f de 0.45 Sistema IV).

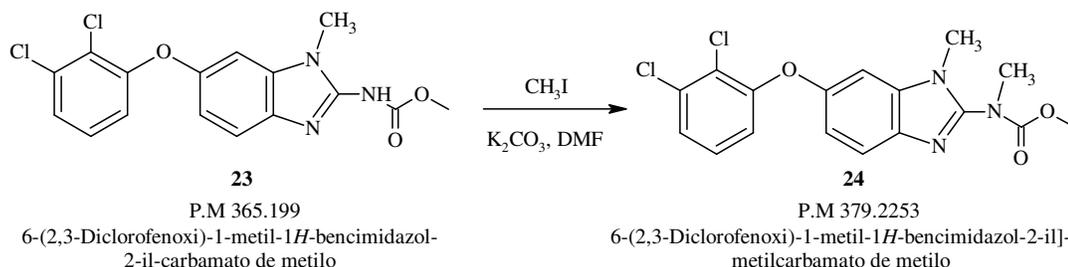
IR (KBr) en cm⁻¹: 3308.69 (NH), 3066.33 (Ar-H), 2946.90 (-CH₃), 1733.11 (C=O), 1595.36 (N-H), 1446.84 (Ar-C-C), 1286.68 (C-O-C), 1080.57 (C-Cl).

EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 366.1 (100) [M+1]⁺.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): 3.575 (s, 3H, N-CH₃); 3.802 (s, 3H, COCH₃); 6.828 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 6.862 (dd, 1H, Ar-H, $J = 2.4, 8.8$ Hz); 6.866 (d, 1H, Ar-H, $J = 2.4$ Hz); 7.145 (t, 1H, Ar-H, $J = 8.4$ Hz); 7.225 (d, 1H, Ar-H, $J = 8.8$ Hz); 7.258 (dd, 1H, Ar-H, $J = 1.4, 8.4$ Hz); 8.639 (s, 1H, -NH).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ ppm): 28.705 (NCH_3), 52.884 (OCH_3), 100.348, 111.616, 113.843, 117.617, 124.444, 125.012, 125.323, 127.664, 131.733, 134.491, 152.646, 154.685, 154.973 (Ar), 163.952 (COO).

8.3.26. 5(6)-[(2,3-Diclorofenoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-2-il] metilcarbamato de metilo



En un matraz redondo de 250 mL se colocaron 7 g (19.116 mmol, 1.0 eq) del carbamato de metilo **23** 5.284 g (38.23 mmol, 2.0 eq) de carbonato de potasio y 80 mL de dimetilformamida grado R.A. A dicho matraz y bajo atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 1.2 mL (2.7125 g, 19.116 mmol, 1.0 eq) de yodometano. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 días hasta agotar la materia prima; posteriormente, se filtró al vacío para eliminar las sales y se evaporó a presión reducida obteniéndose un sólido color amarillo, el cual se purificó mediante la técnica de cromatografía por columna. Se usó una columna de 4.5 cm de diámetro empacada con 190 g de gel de sílice (0.04-0.063 mm) y usando el Sistema IV de elución. Se obtuvieron 1.9 g de un sólido blanco que presentó un p_f de 14-157.5 °C (30% rendimiento, R_f de 0.51 Sistema IV).

IR (KBr) en cm^{-1} : 3421.89 (NH), 3076.30 (Ar-H), 2955.14 ($-\text{CH}_3$), 1724.47 (C=O), 1576 (N-H), 1449.02 (Ar-C-C), 1248.72 (C-O-C), 965.02 (C-Cl).

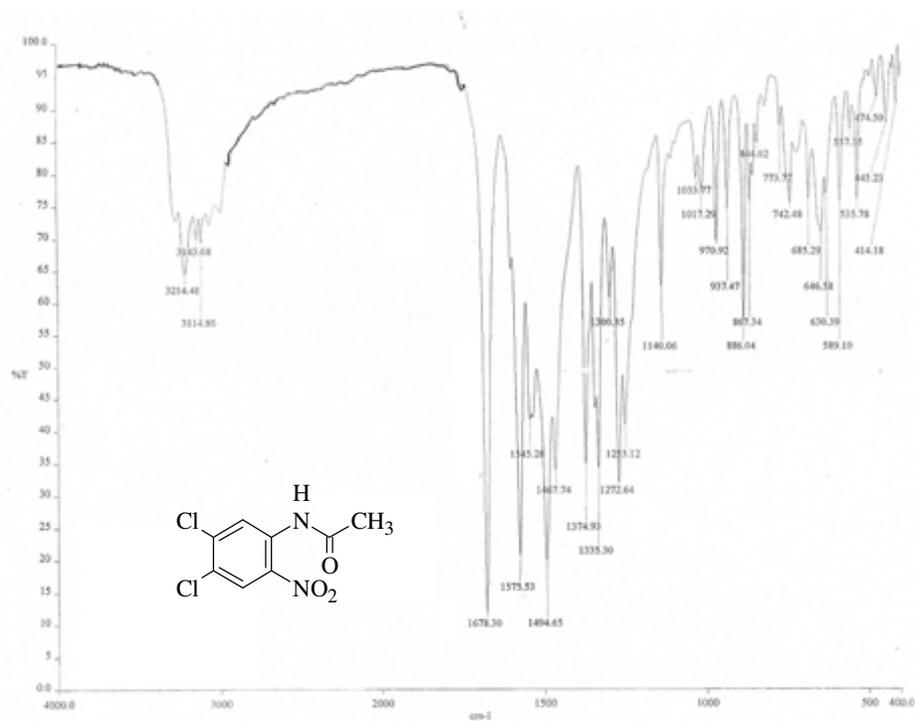
EMFAB⁺ m/z (% ar) [asignación]: 380 (100) $[\text{M}+1]^+$.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 3.42 (s, 3H, N- CH_3); 3.58 (s, 3H, CON CH_3); 3.79 (s, 3H, OCH_3); 6.814 (dd, 1H, Ar- H_{13} , $J = 2, 10.8$ Hz); 6.973 (dd, 1H, Ar- H_7 , $J = 0.8, 3.2$ Hz); 7.001 (dd, 1H, Ar- H_5 , $J = 3.2, 11.2$ Hz); 7.117(t, 1H, Ar- H_{12} , $J = 10.8$ Hz); 7.232 (dd, 1H, Ar- H_{11} , $J = 2, 10.8$ Hz); 7.678 (dd, 1H, Ar- H_4 , $J = 0.8, 11.2$ Hz).

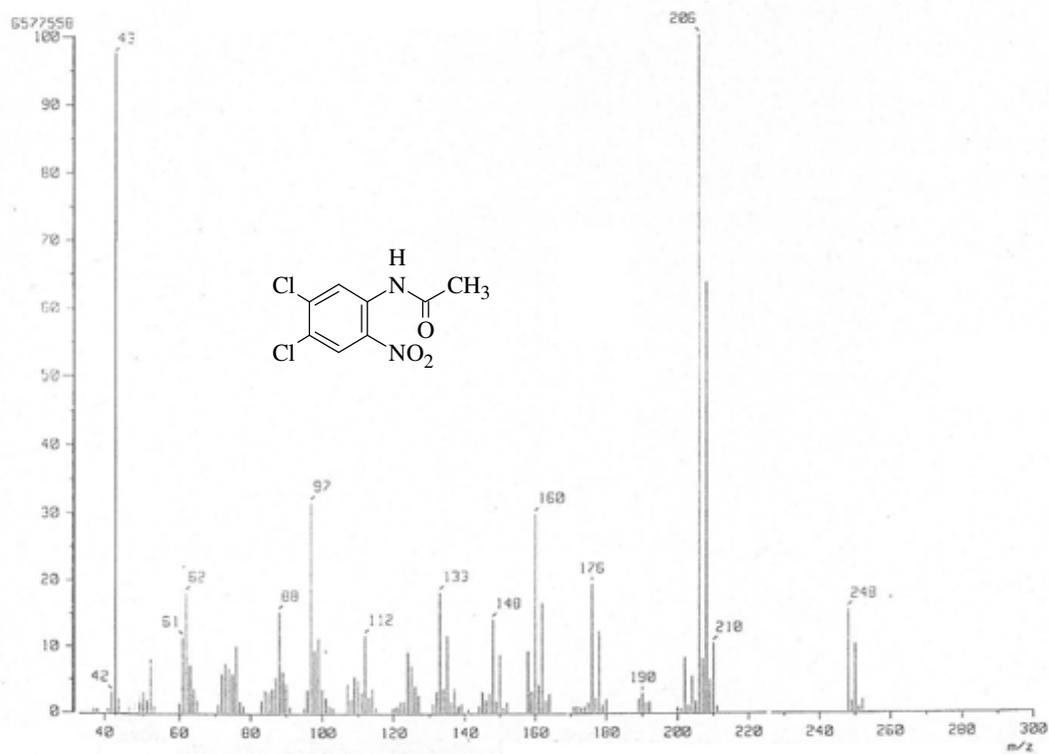
RMN ^{13}C ($\text{DMSO } d_6$, 100 MHz, δ ppm): 30.34 ($\text{CH}_3\text{NC}=\text{O}$), 37.17 (CH_3N), 53.98 (OCH_3), 100.41 (Ar- C_7), 115.01 (Ar- C_5), 117.52 (Ar- C_{13}), 121.03 (Ar- C_4), 124.39 (Ar- C_9), 125.03 (Ar- C_{11}), 127.71 (Ar- C_{12}), 134.54 (Ar- C_{4a}), 135.33 (Ar- C_{10}), 137.71 (Ar- C_{7a}), 149.58 (Ar- C_8), 152.83 (Ar- C_2), 155.51 (Ar- C_6), 155.72 (C=O).

9. BIBLIOGRAFÍA

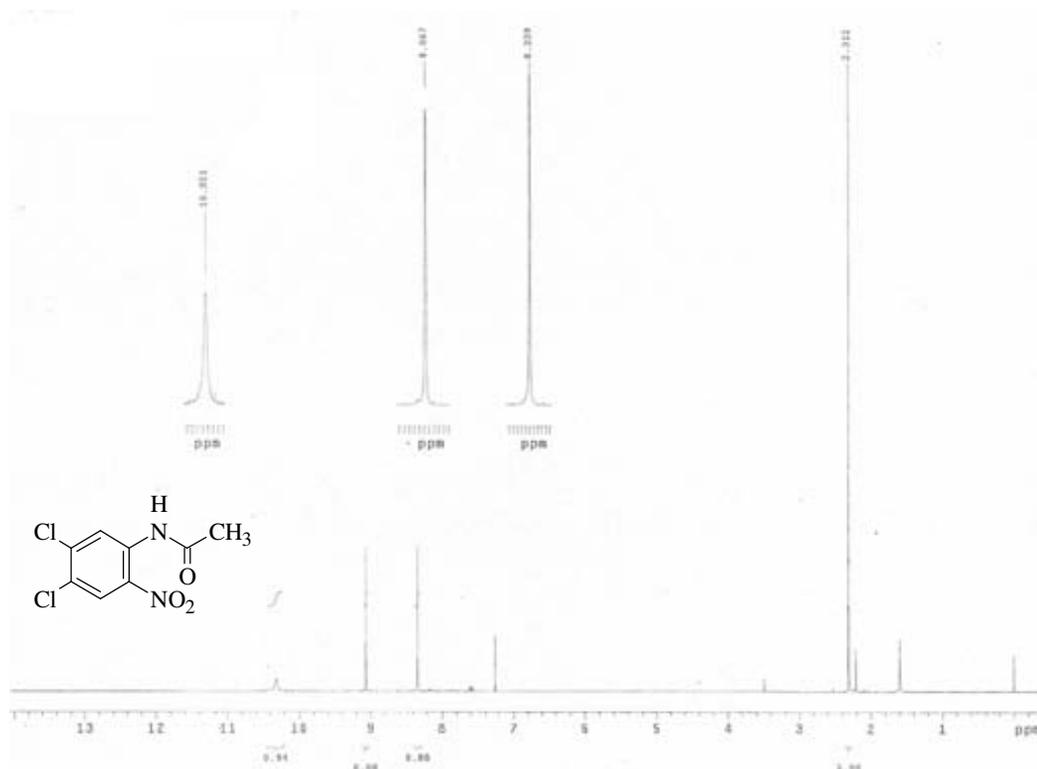
1. <http://www.who.int/es/>
2. Anuracpreeda, P.; Wanichanon, C.; Sobhon, P. *Experimental Parasitology* **2008**, *118*; 203–207.
3. Lacey, E. *Parasitology Today* **1990**, *6*, 112-114.
4. Fairweather, I.; Buchanan, J. F.; Brennan, G. P.; Trudgett, A. E.; Hoey, M. *Parasitology* **2003**, *126*, 141-153.
5. Fairweather, I. *Journal of Helminthology* **2005**, *79*, 227-234.
6. Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández-Campos, A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Navarrete-Vázquez, G.; Tapia, A.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2002**, *12*, 2221-2224.
7. (a) Roos, M. H. *Parasitology Today* **1990**, *6* (4), 125-127. (b) Dustin, P. *Microtubule Springer* **1984**. (c) Lacey, E. *International Journal for Parasitology* **1988**, *18*, 885-936.
8. Sharma, S.; Abuzar, S. *Progress in Drug Research* **1983**, *27*, 85-161.
9. Iddon, B.; Kutschy, P.; Robinson, A.G.; Suschitzky, H.; Kramer, W.; Neugenbauer, A. *Journal of Chemical Society. Perkin Trans 1* **1992**, *22*, 3129-3134.
10. Reyes, P. M.; Ibarra, V. F.; Vera, M. Y.; Cantó, A. G.; Hernández, A. ; Hernández, C. A.; Castillo, R.; Villa; M. A. *Parasitology Research* **2008**; *102*; 705–708.
11. Actor, P.; Anderson, L. E.; Dicuollo, C. J.; Hoover, J. R. E.; Pagano, J. F.; Ravin, L. R.; Scheidy, S. F.; Stedman, R. J.; Theodorides, V. J. *Nature* **1967**, *215*, 321-322.
12. Navarrete-Vázquez, G.; Yépez, L.; Hernández-Campos, A.; Tapia, A.; Hernández-Luis, F.; Cedillo, R.; González, J.; Martínez-Fernández, A; Martínez-Grueiro, M.; Castillo, R. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2003**, *11*, 4615-4622.
13. López-Vallejo, F.; Medina-Franco, J.L.; Hernández-Campos, A.; Rodríguez-Morales, S.; Yépez, L.; Cedillo, R.; Castillo, R. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2007**, *15*, 1117-1126.
14. Dennis, D. T., Despommier, D. D., Davis, N. *Journal of Parasitology* **1970**, *56* (5), 974-977.
15. Townson, D. H. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1989**, *83*, 664-669.
16. Cedillo-Rivera, R. *Journal of Medical Microbiology* **1992**, *37*, 221-224.



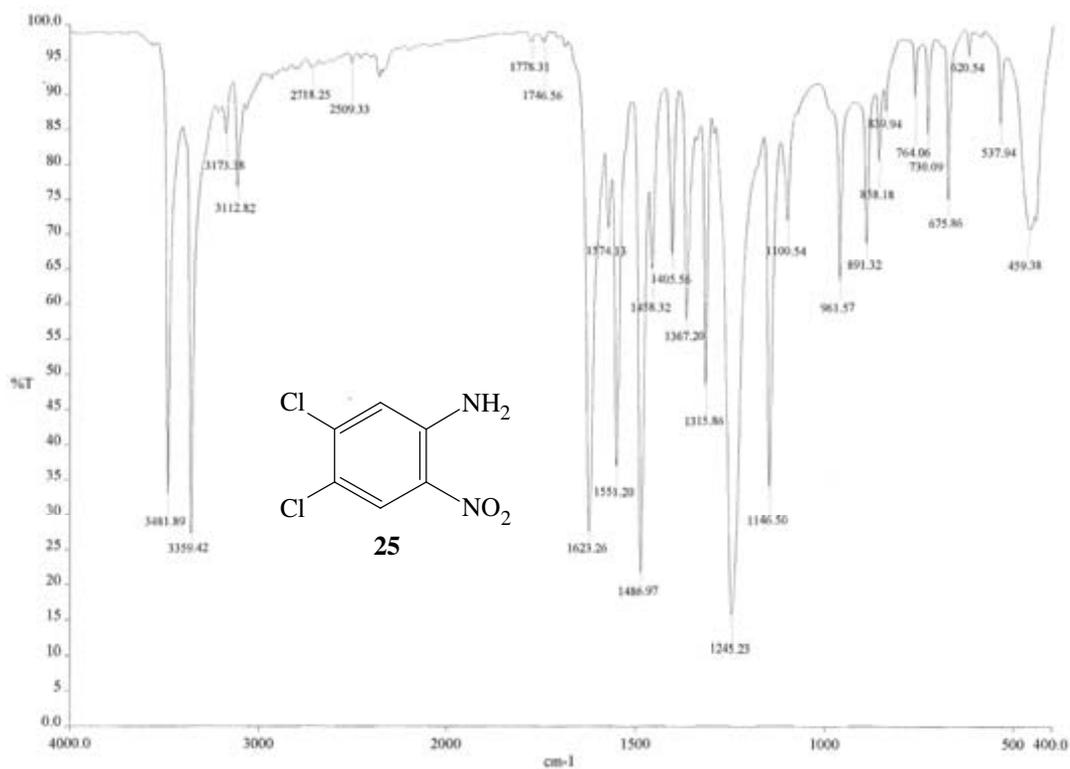
Espectro 1. IR de *N*-(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (**33**)



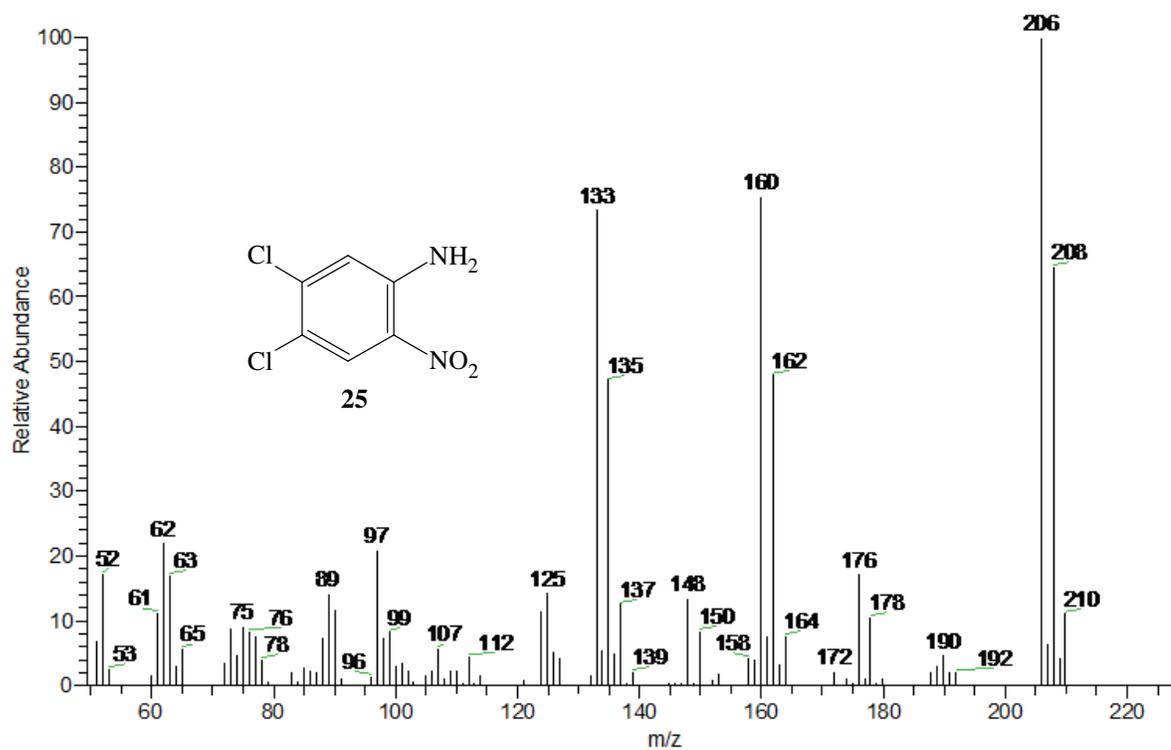
Espectro 2. EMIE de *N*-(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (**33**)



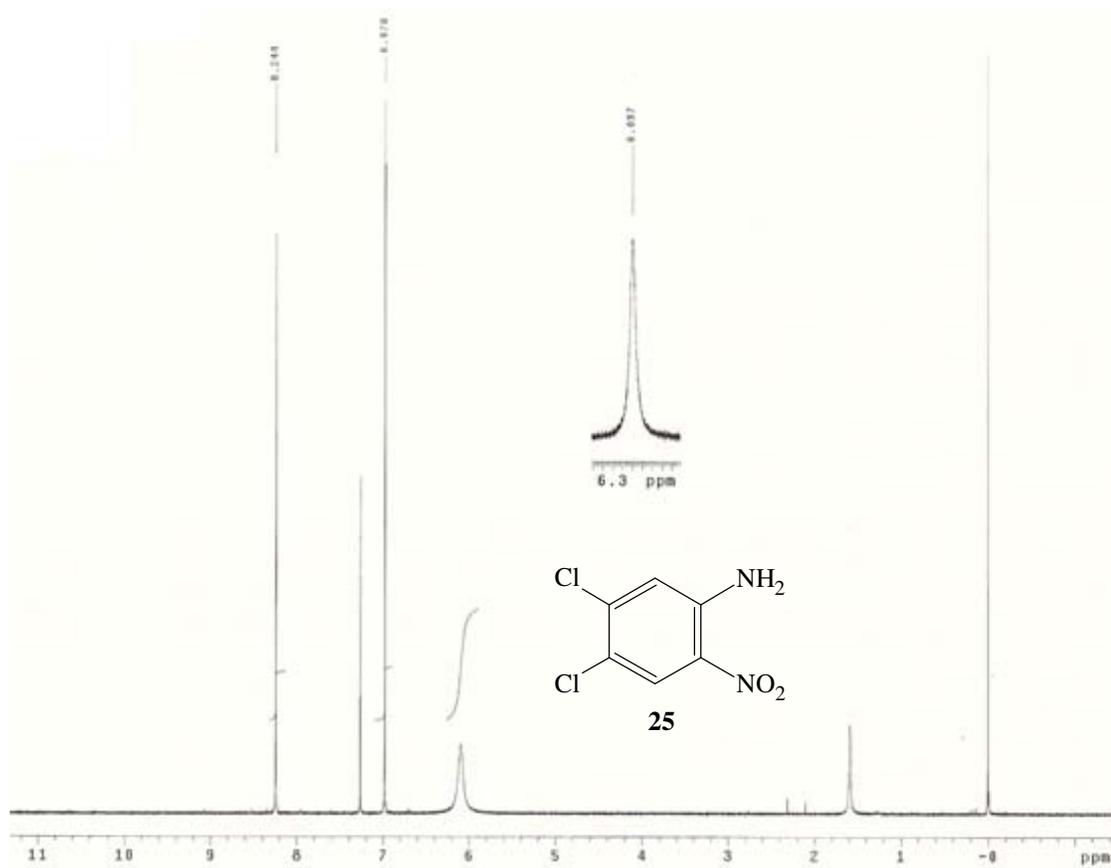
Espectro 3. RMN ^1H de *N*-(3,4-dicloro-2-nitrofenil)acetamida (33)

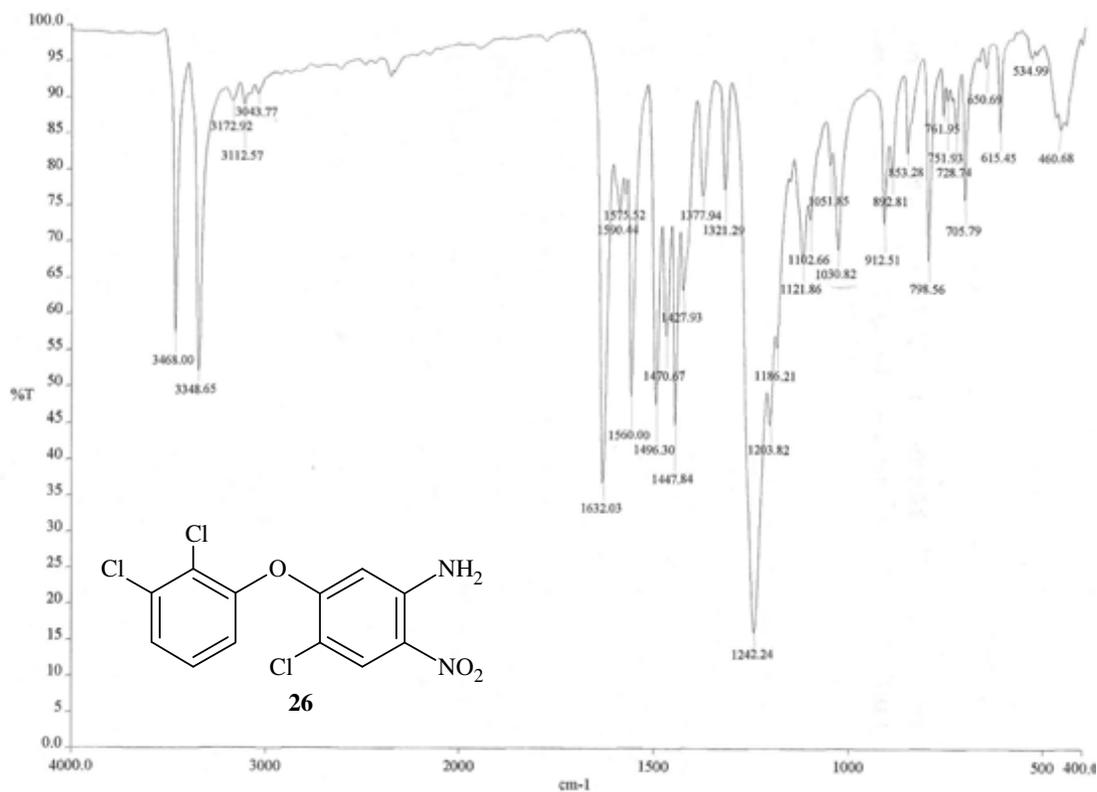


Espectro 4. IR de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (25)

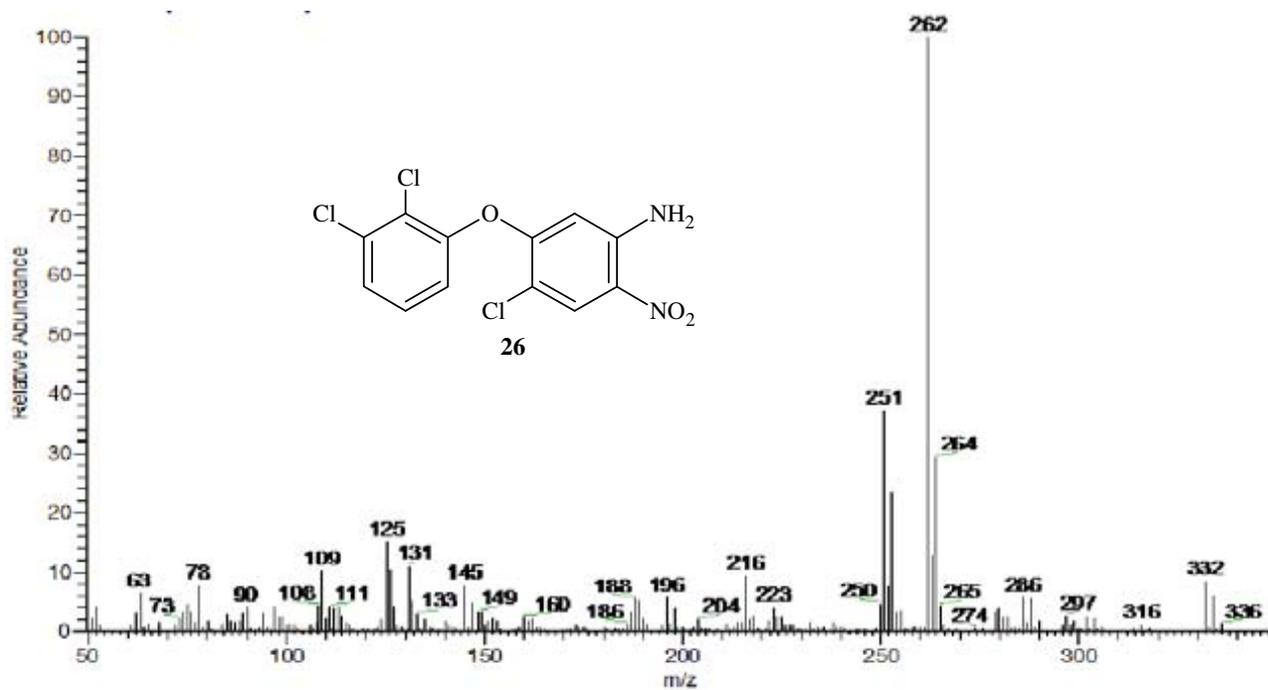


Espectro 5. EMIE de ,5-dicloro-2-nitroanilina (25)

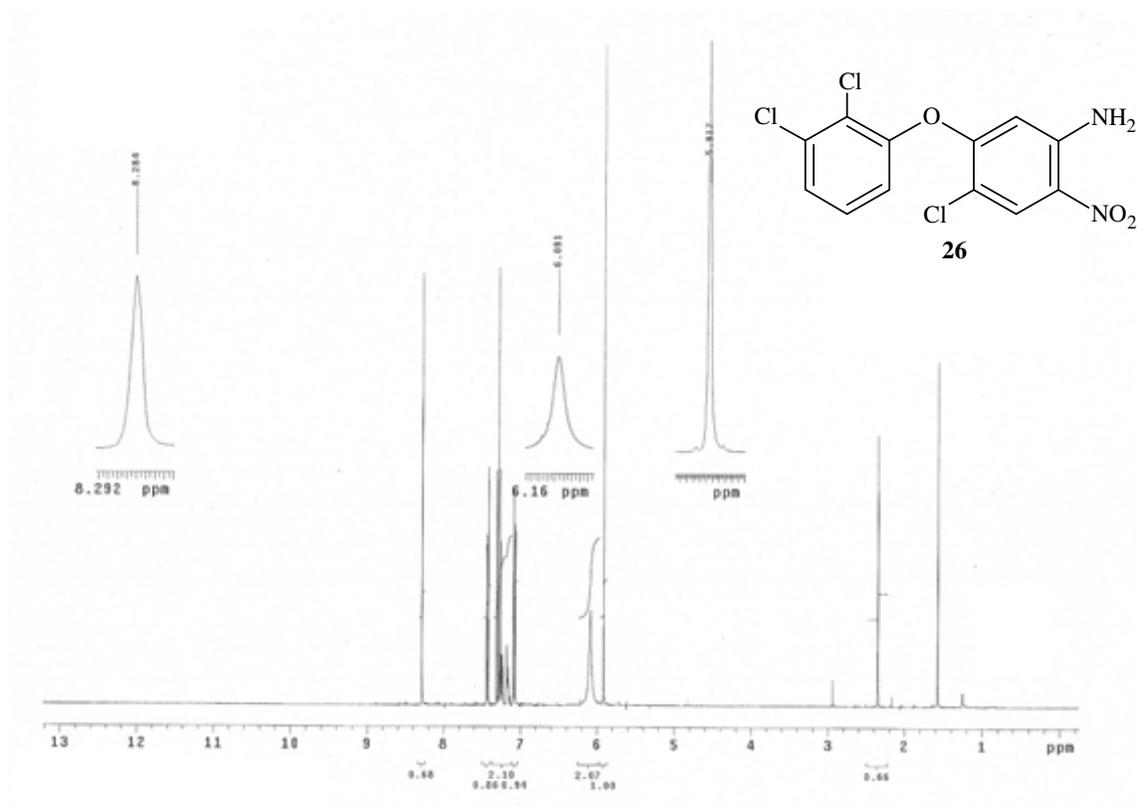
Espectro 6. RMN ^1H de ,5-dicloro-2-nitroanilina (25)



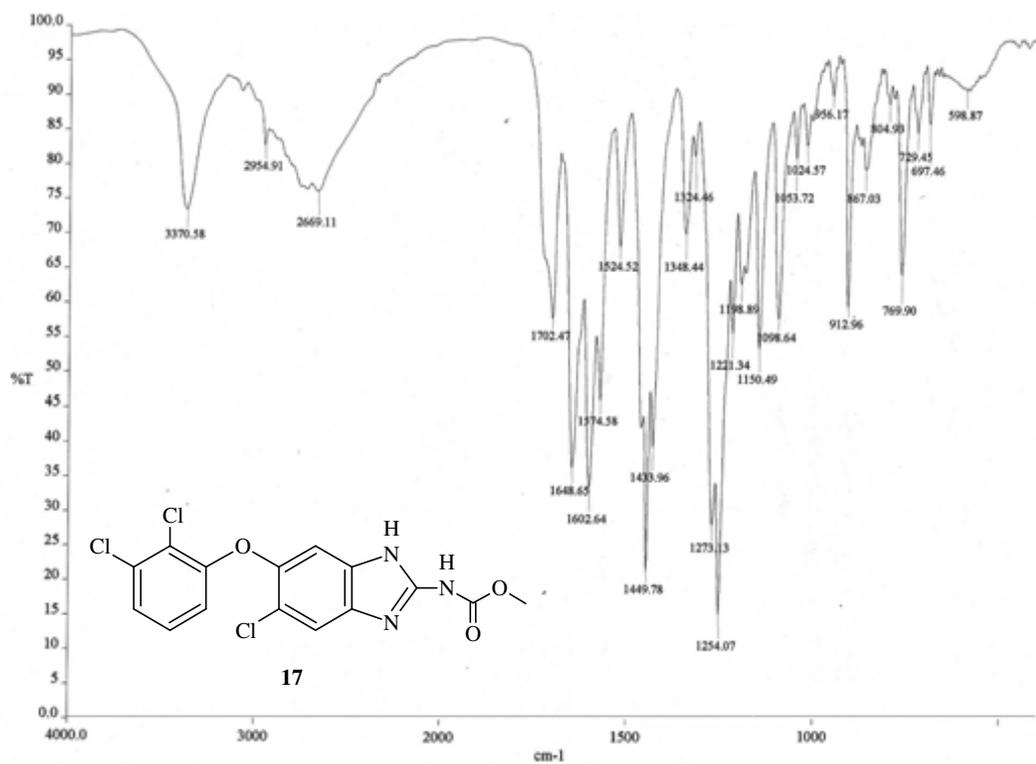
Espectro 7. IR de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)



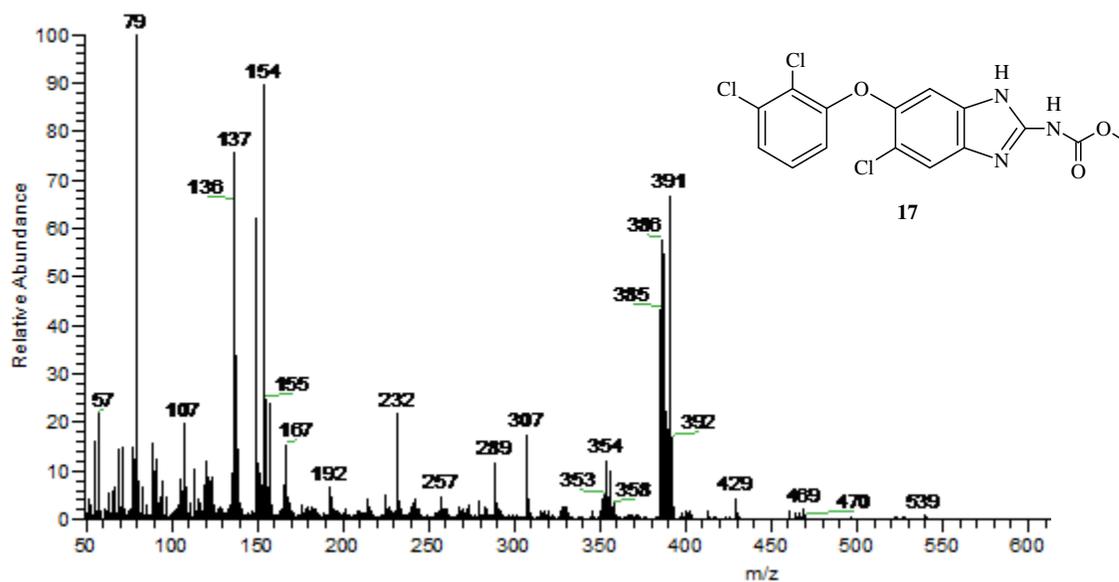
Espectro 8. EMIE de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (26)



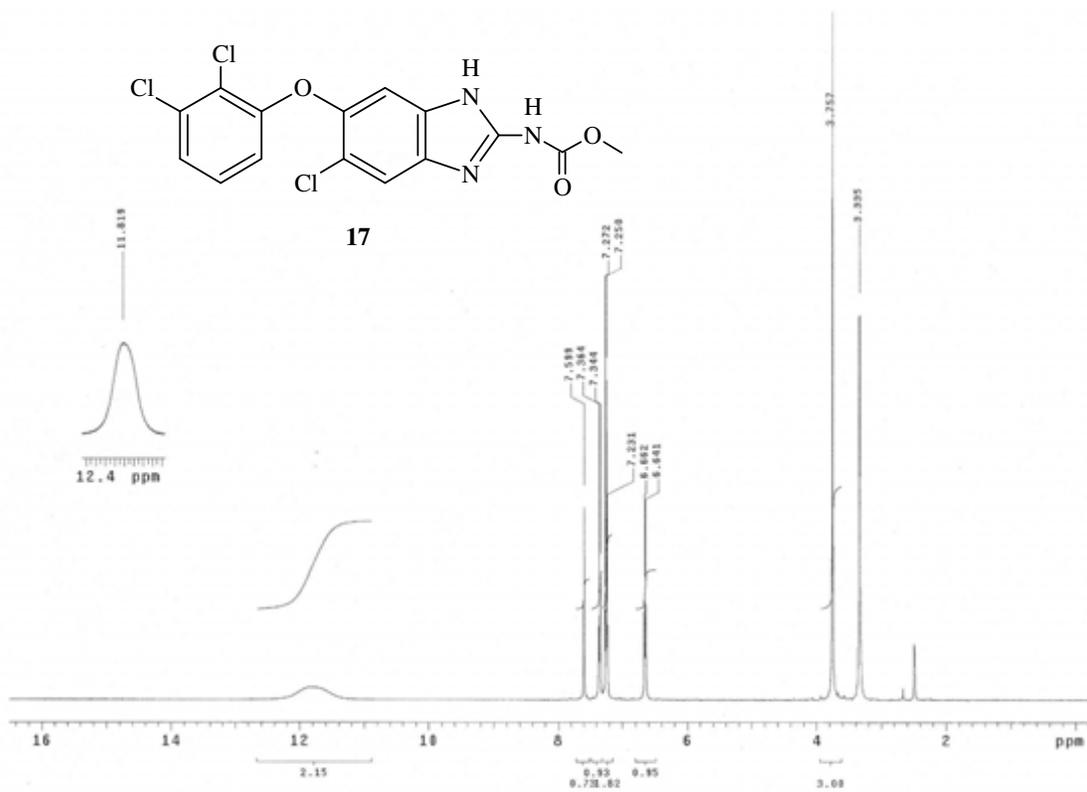
Espectro 9. RMN ¹H de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (**26**)



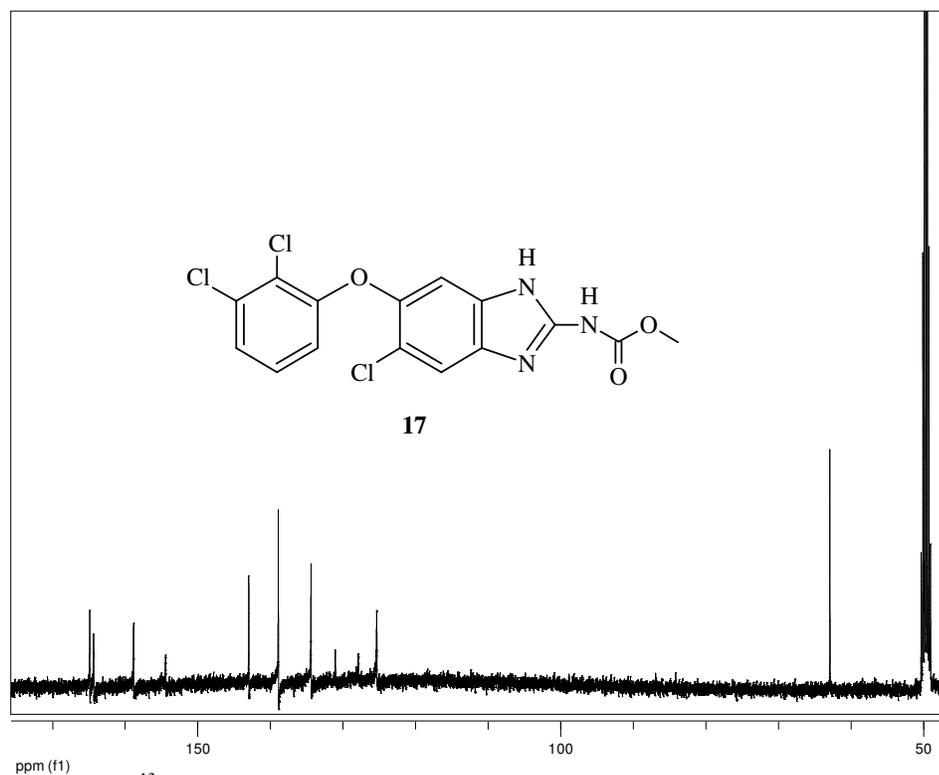
Espectro 10. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-benzimidazol-2-il-carbamato de metilo (**17**)



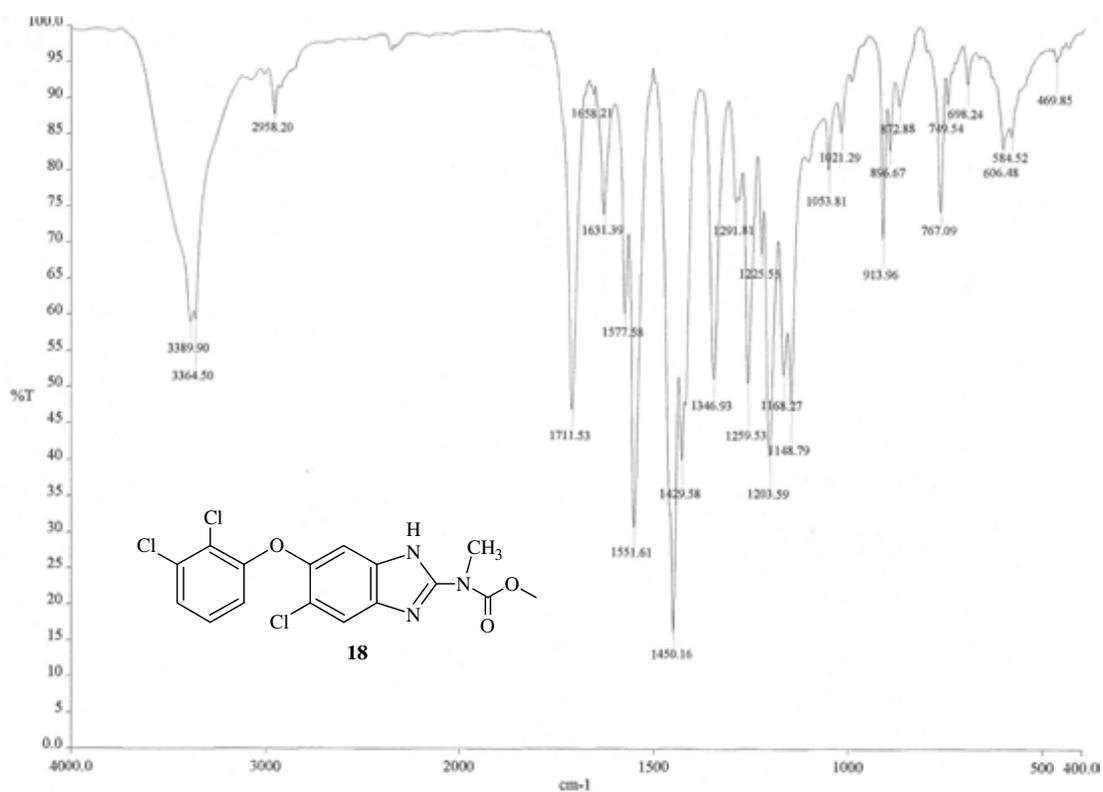
Espectro 11. EMFAB⁺ de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)



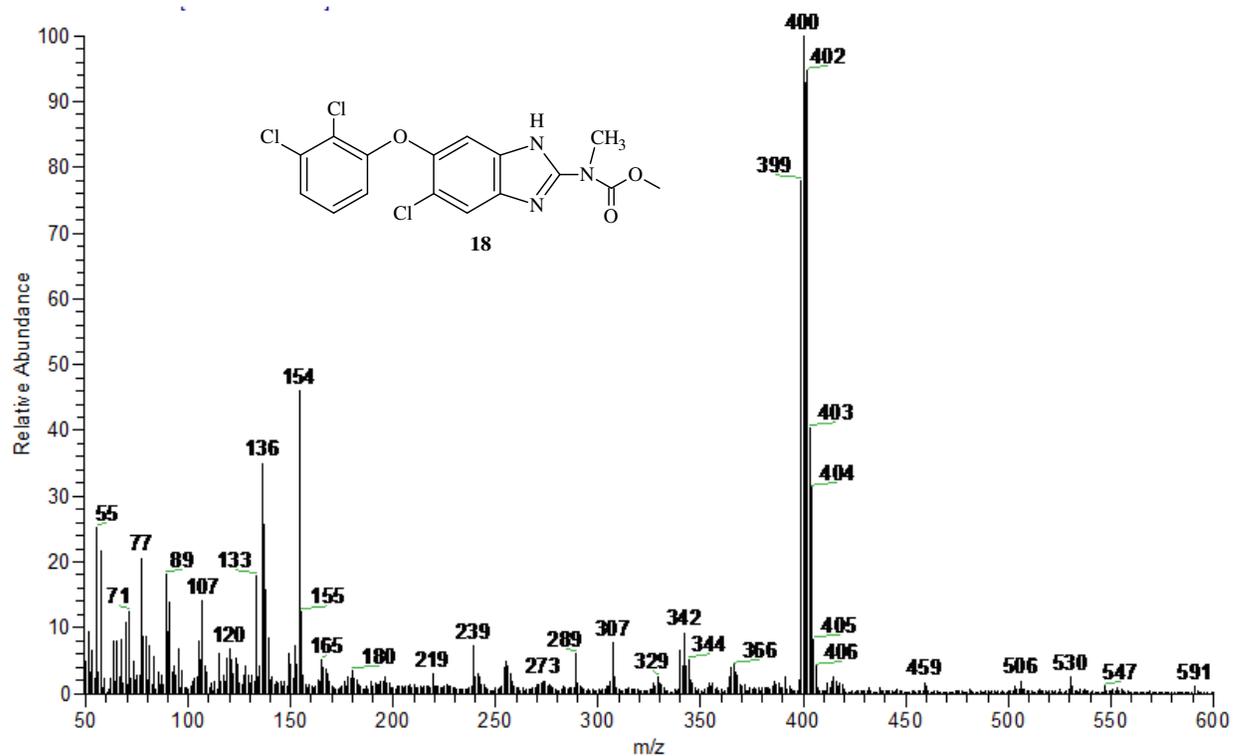
Espectro 12. RMN ¹H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)



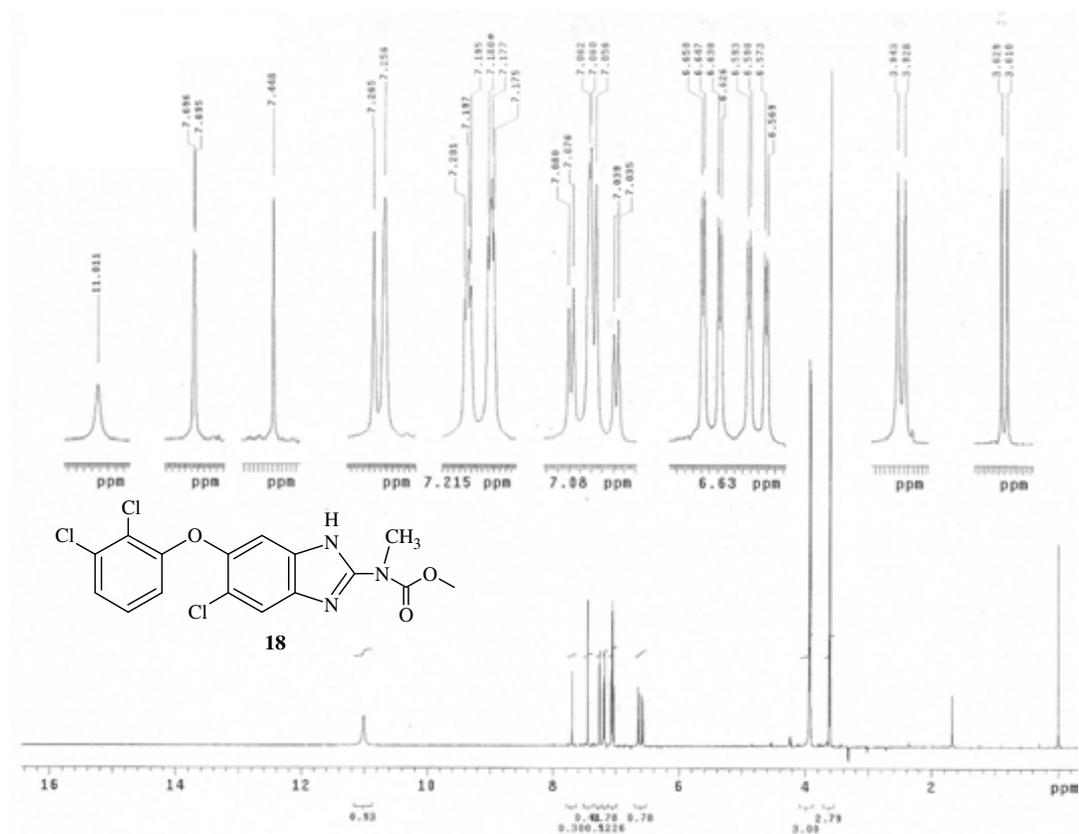
Espectro 13. RMN ^{13}C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (17)



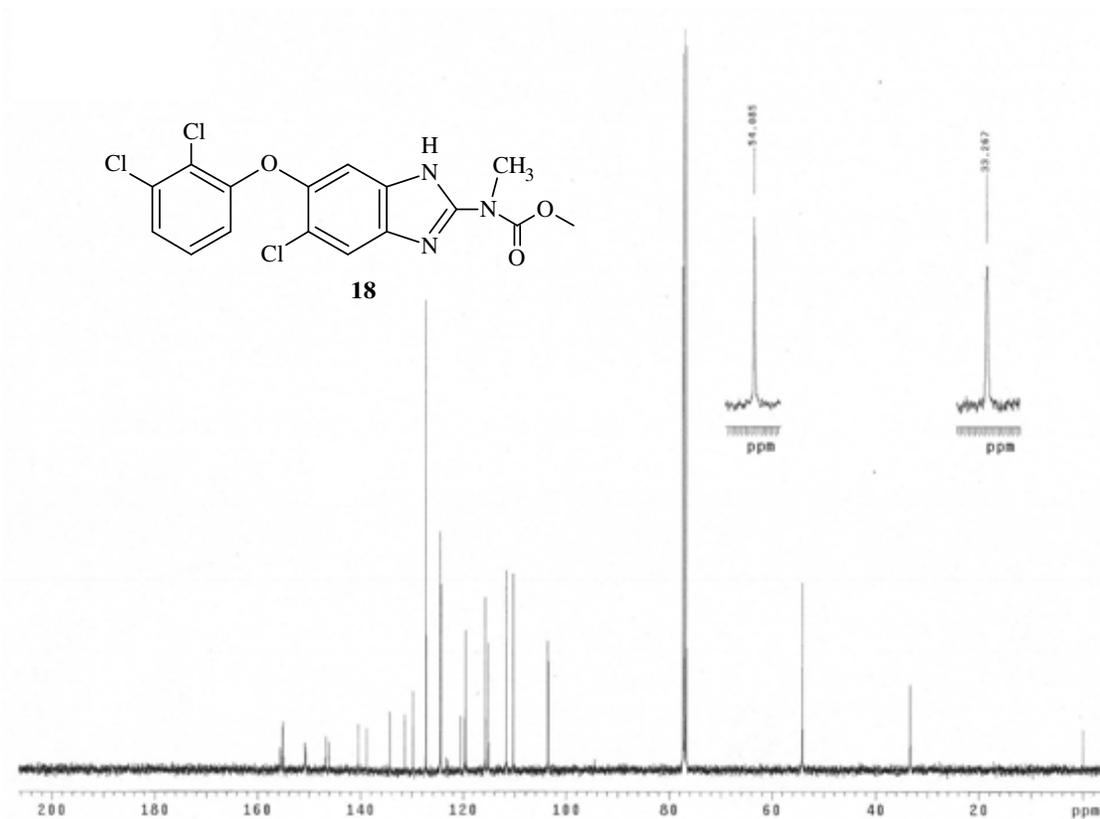
Espectro 14. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (18)



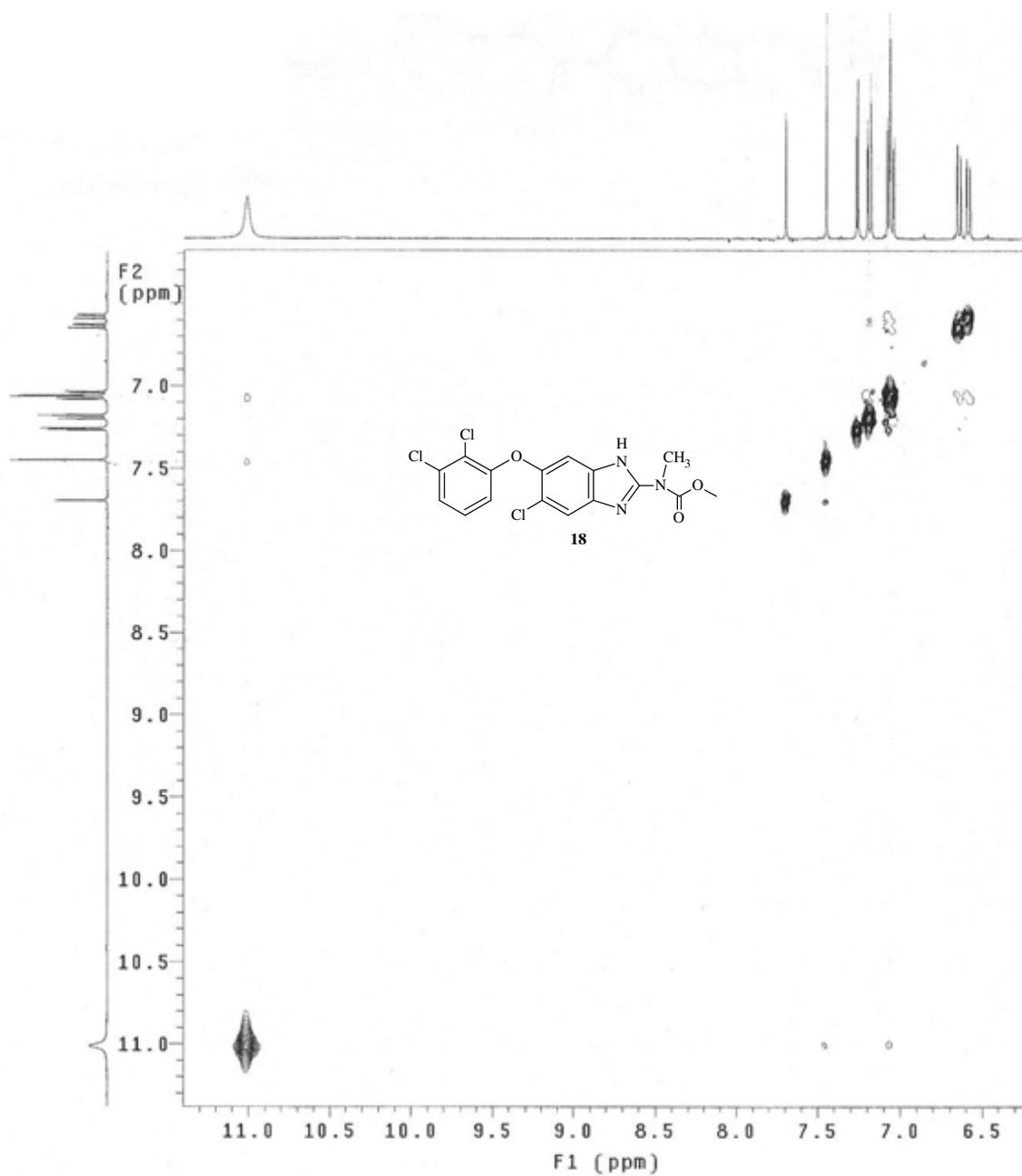
Espectro 15. EMFAB⁺ de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**18**)



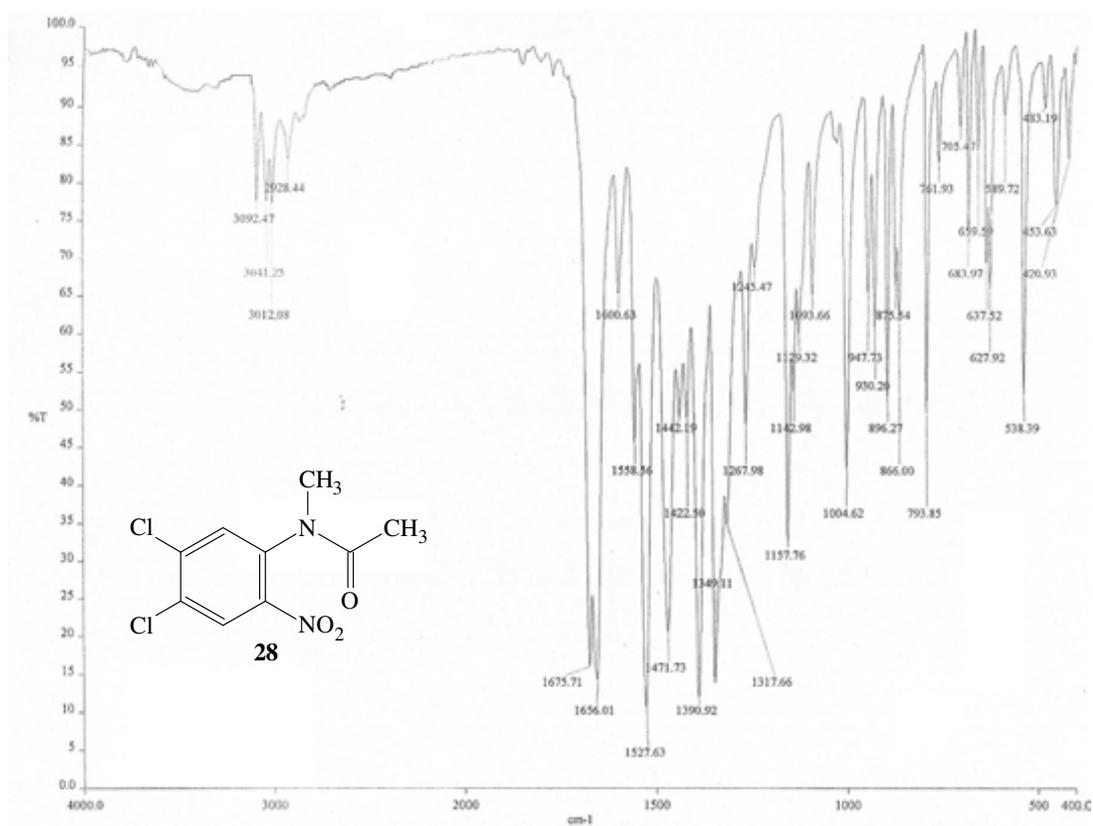
Espectro 16. RMN ¹H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**18**)



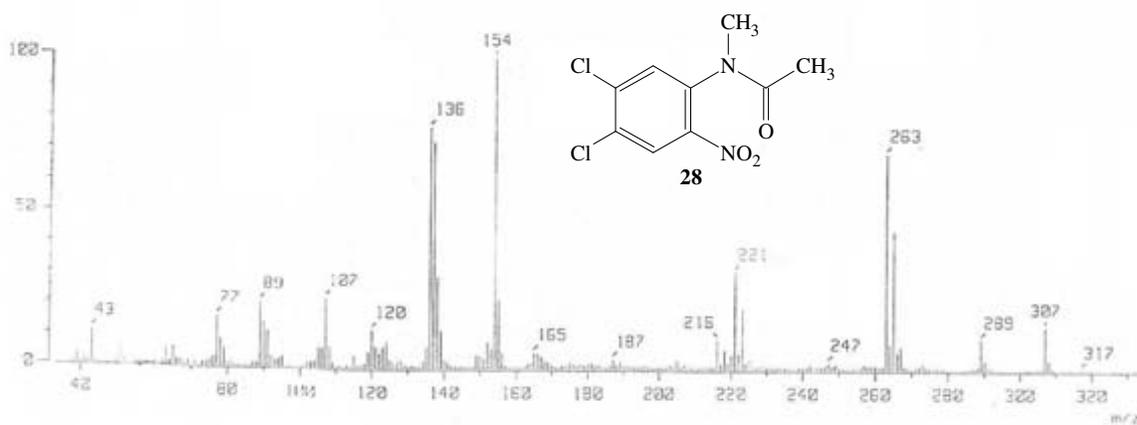
Espectro 17. RMN ¹³C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-benzimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**18**)



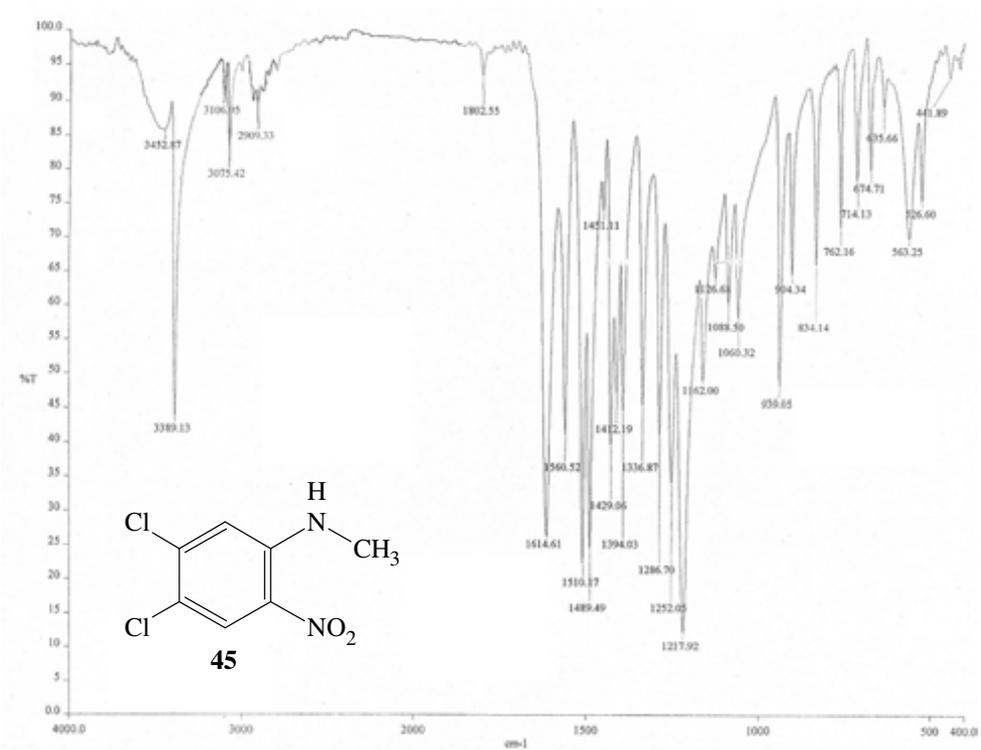
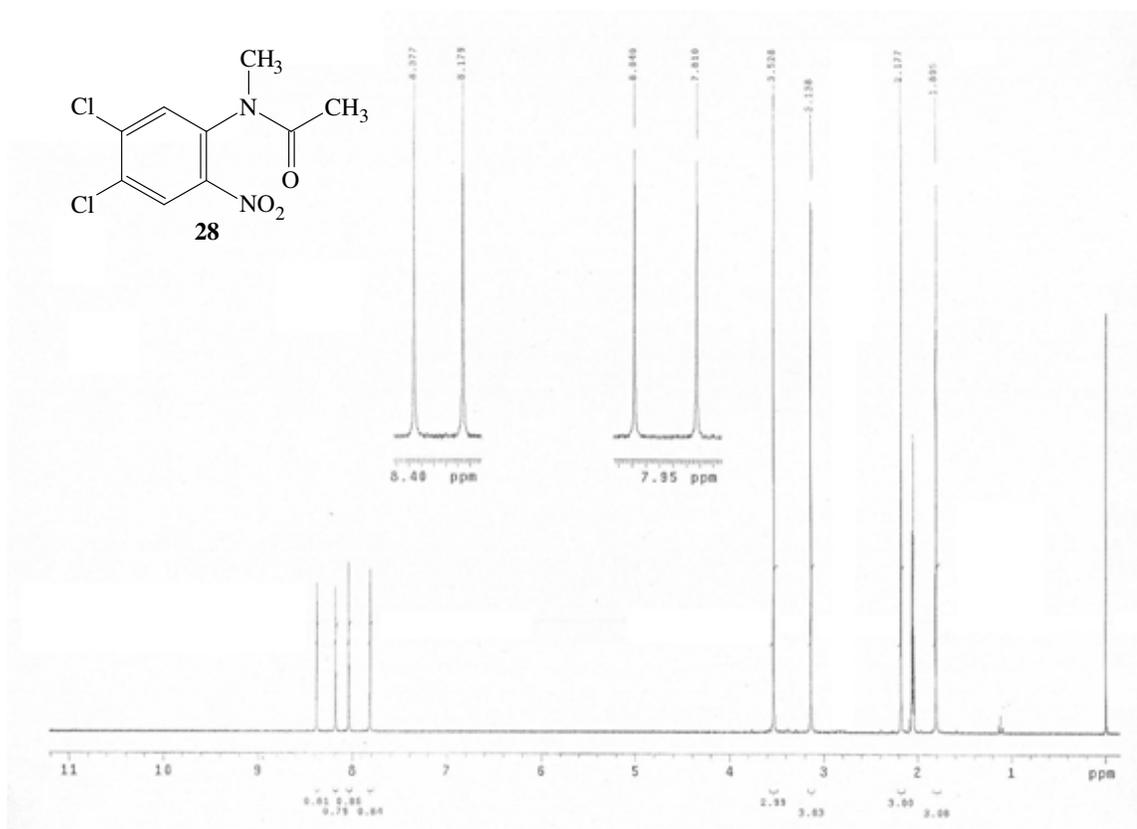
Espectro 18. NOESY de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**18**)

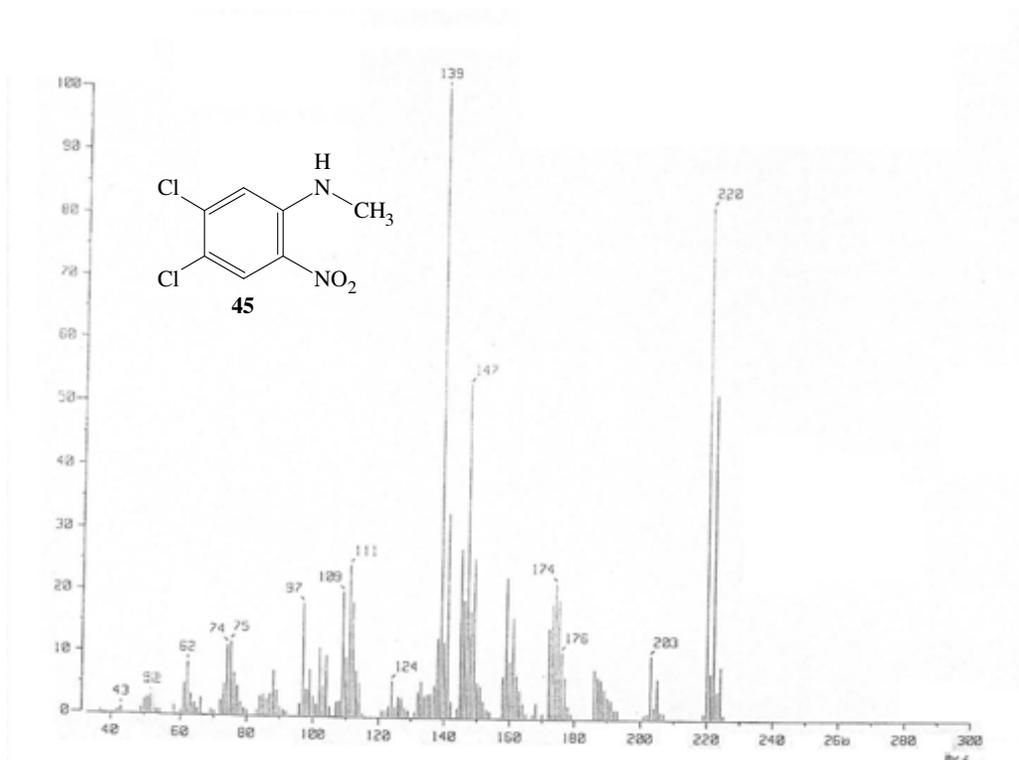


Espectro 19. IR de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)- *N*-metilacetamida (**28**)

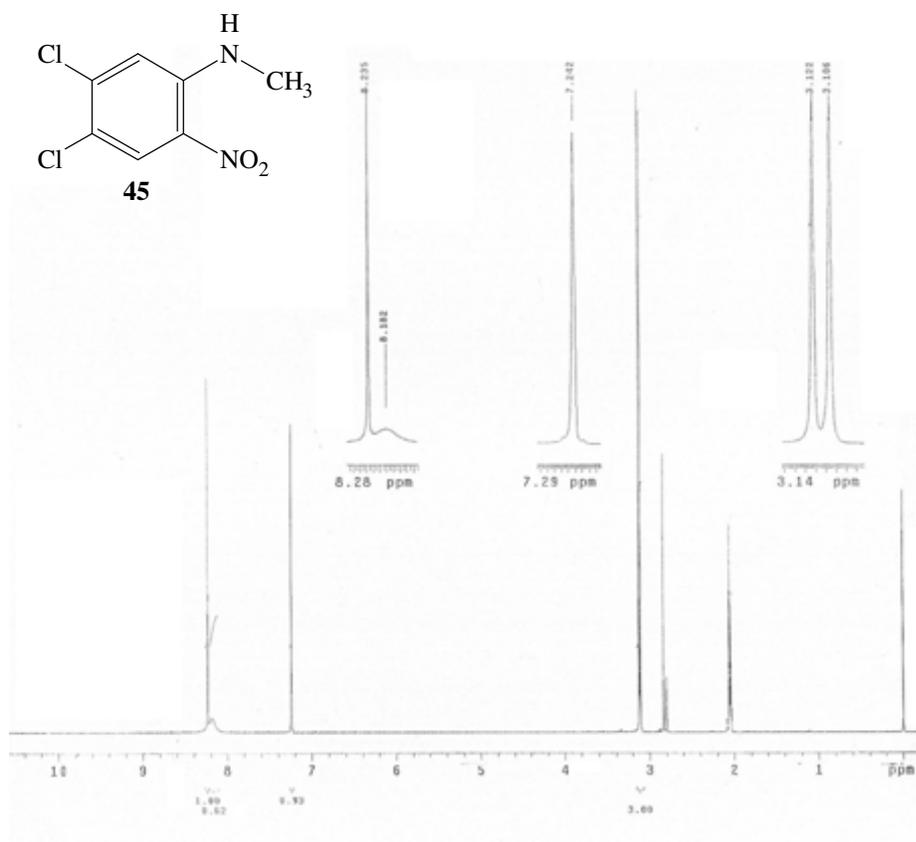


Espectro 20. EMFAB⁺ de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)- *N*-metilacetamida (**28**)

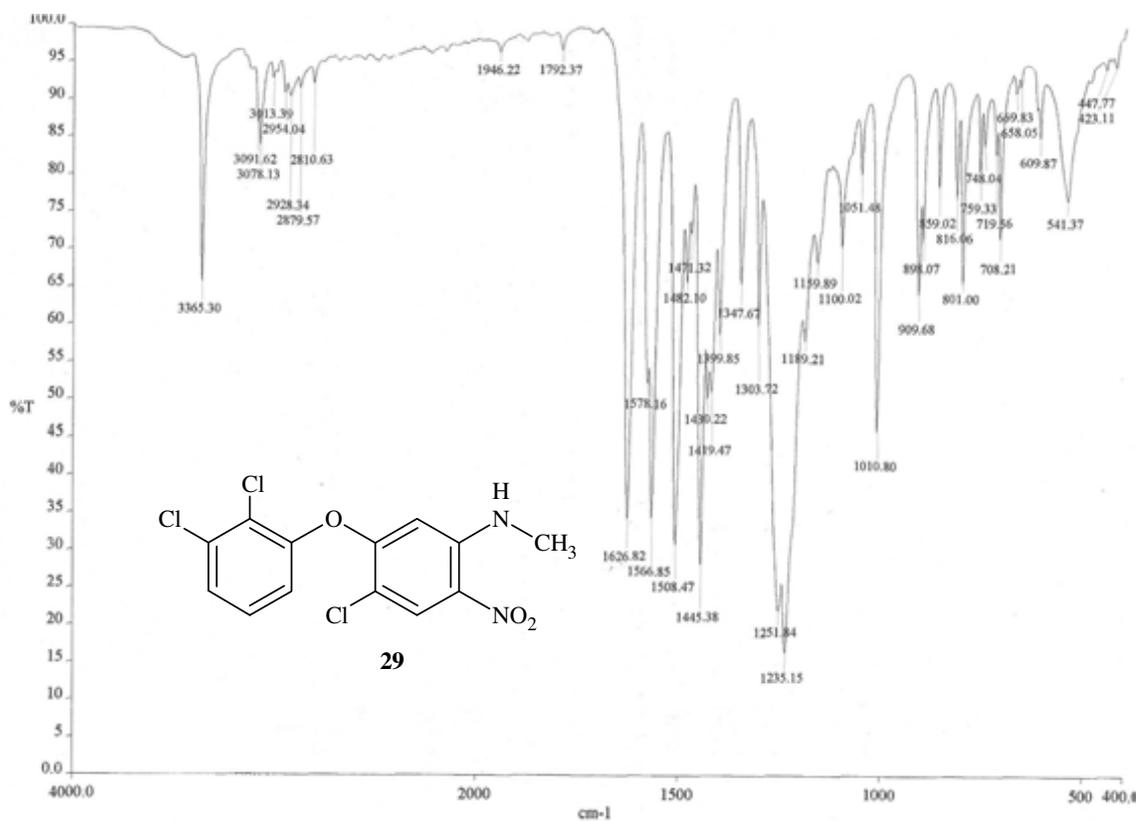
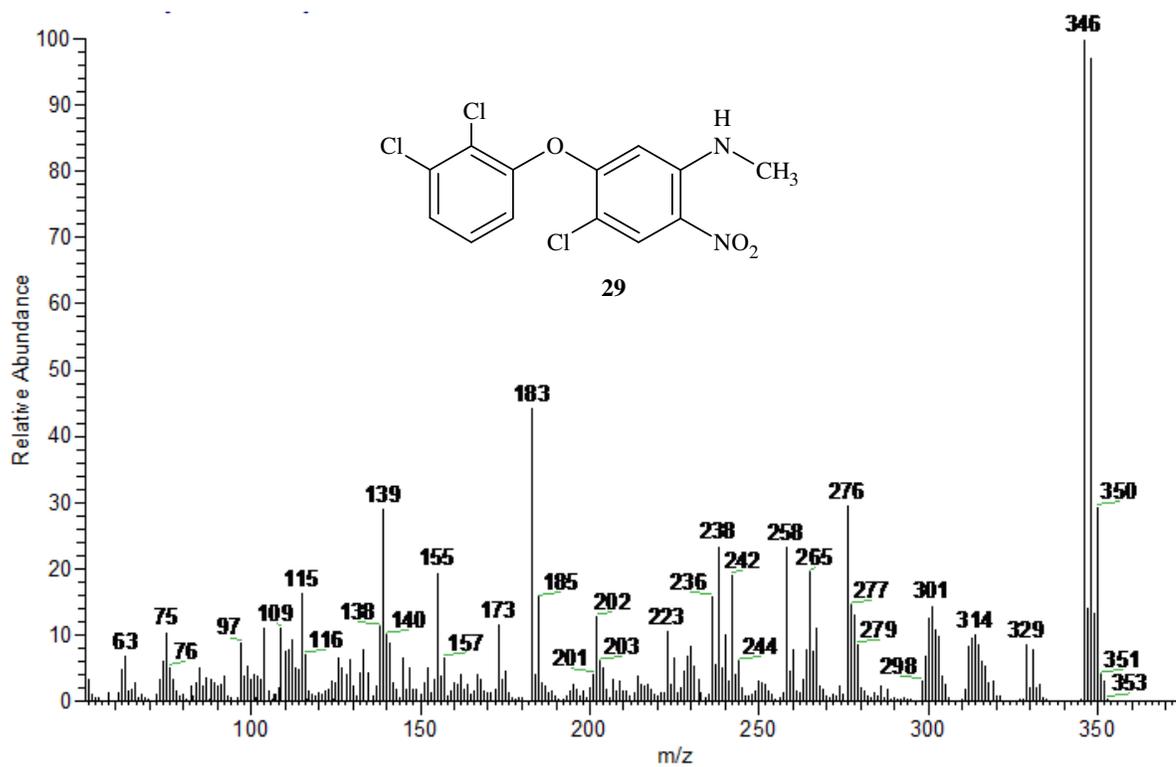


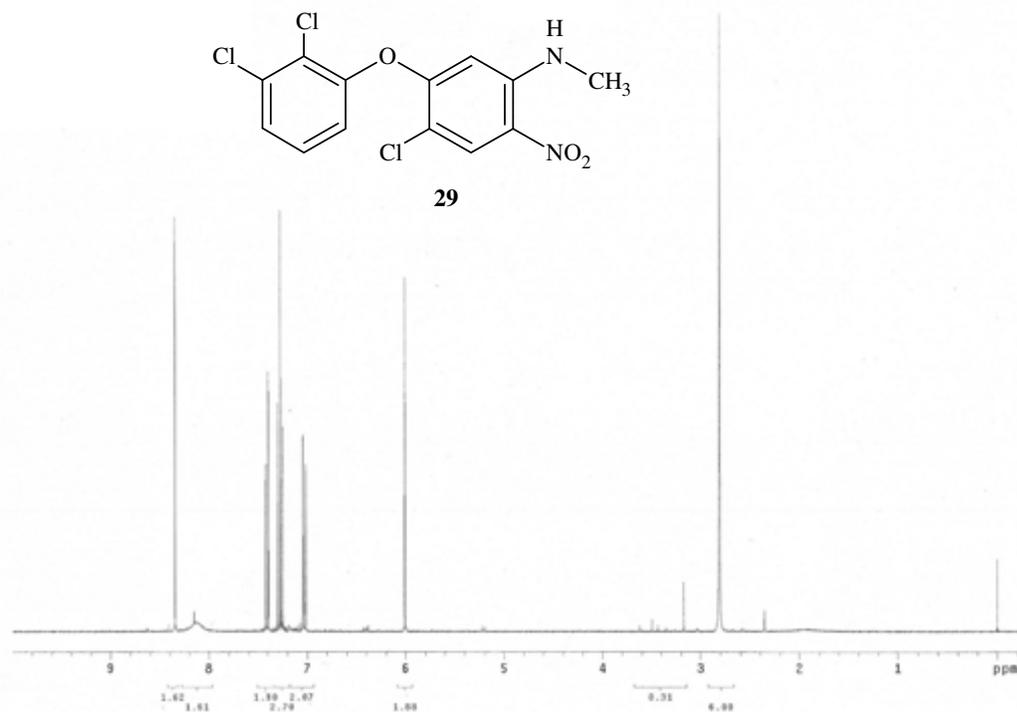
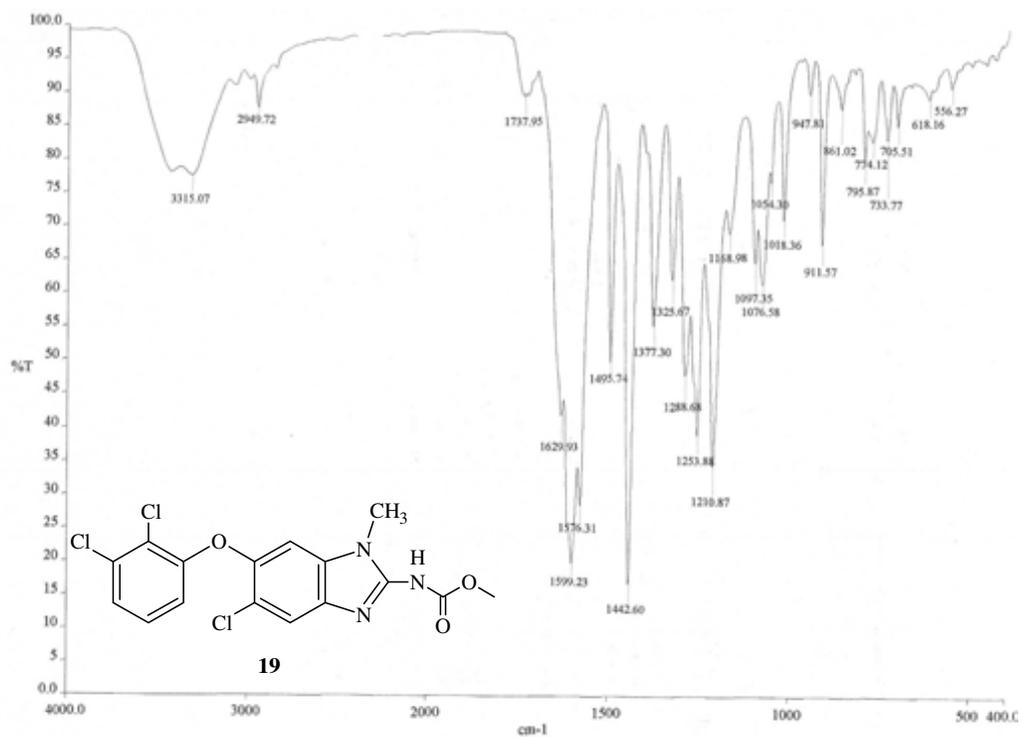


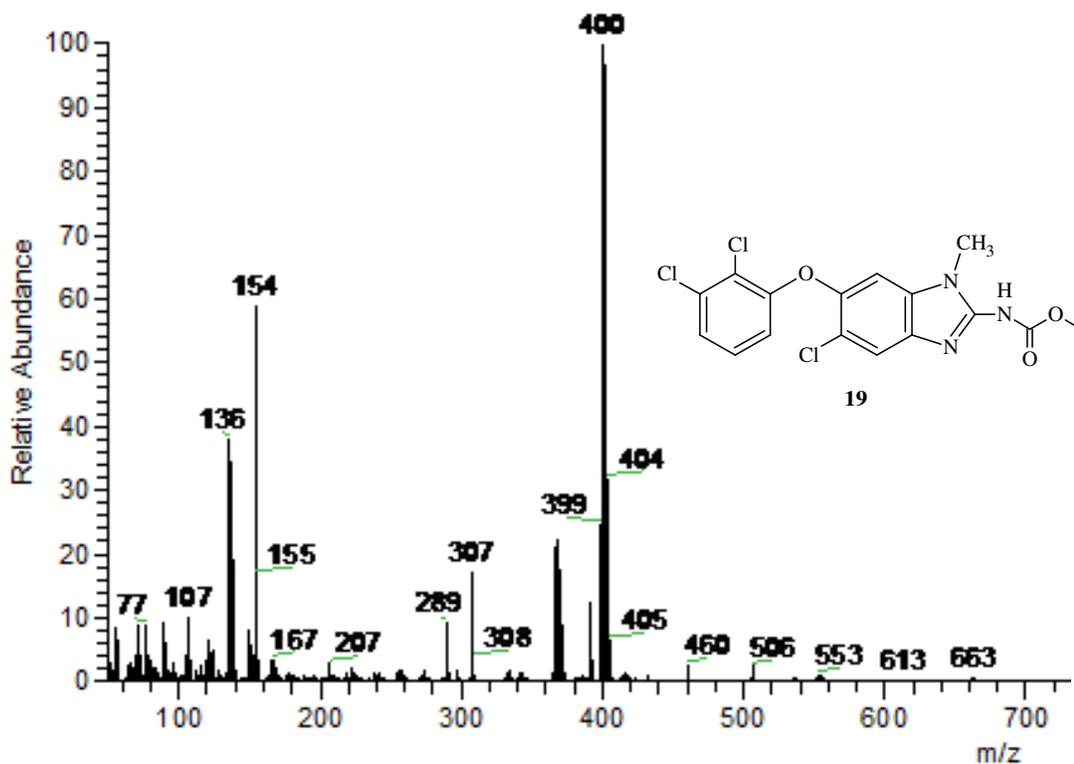
Espectro 23. EMIE de 4,5-dicloro- *N*-metil-2-nitroanilina (45)



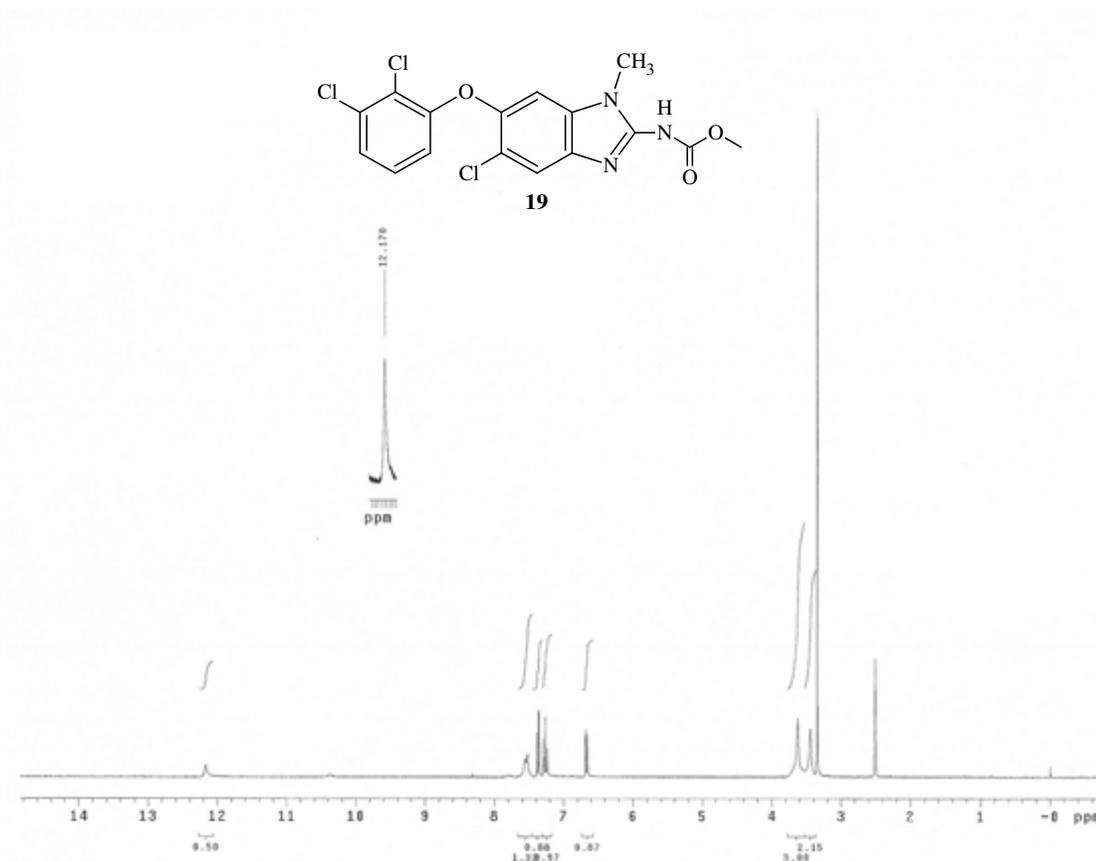
Espectro 24. RMN ¹H de 4,5-dicloro- *N*-metil-2-nitroanilina (45)

Espectro 25. IR de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- *N*-metil-2-nitroanilina (29)Espectro 26. EMIE de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- *N*-metil-2-nitroanilina (29)

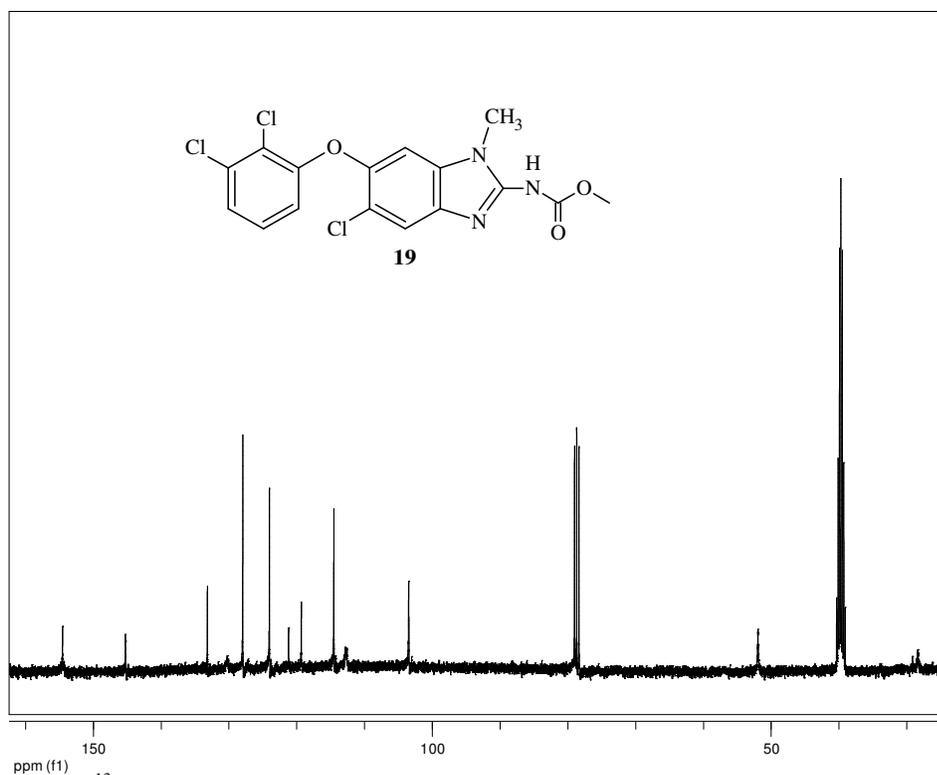
Espectro 27. RMN ¹H de 4-cloro-5-(2,3-diclorofenoxi)- *N*-metil-2-nitroanilina (29)Espectro 28. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (19)



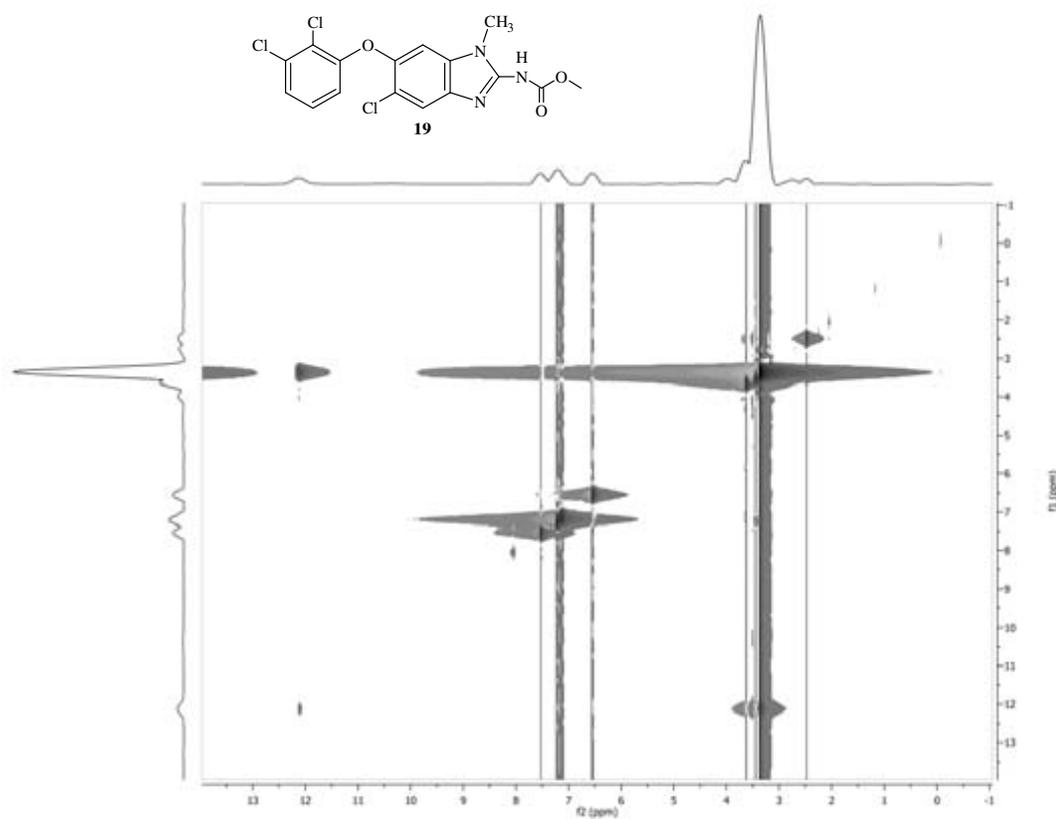
Espectro 29. EMFAB⁺ de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**19**)



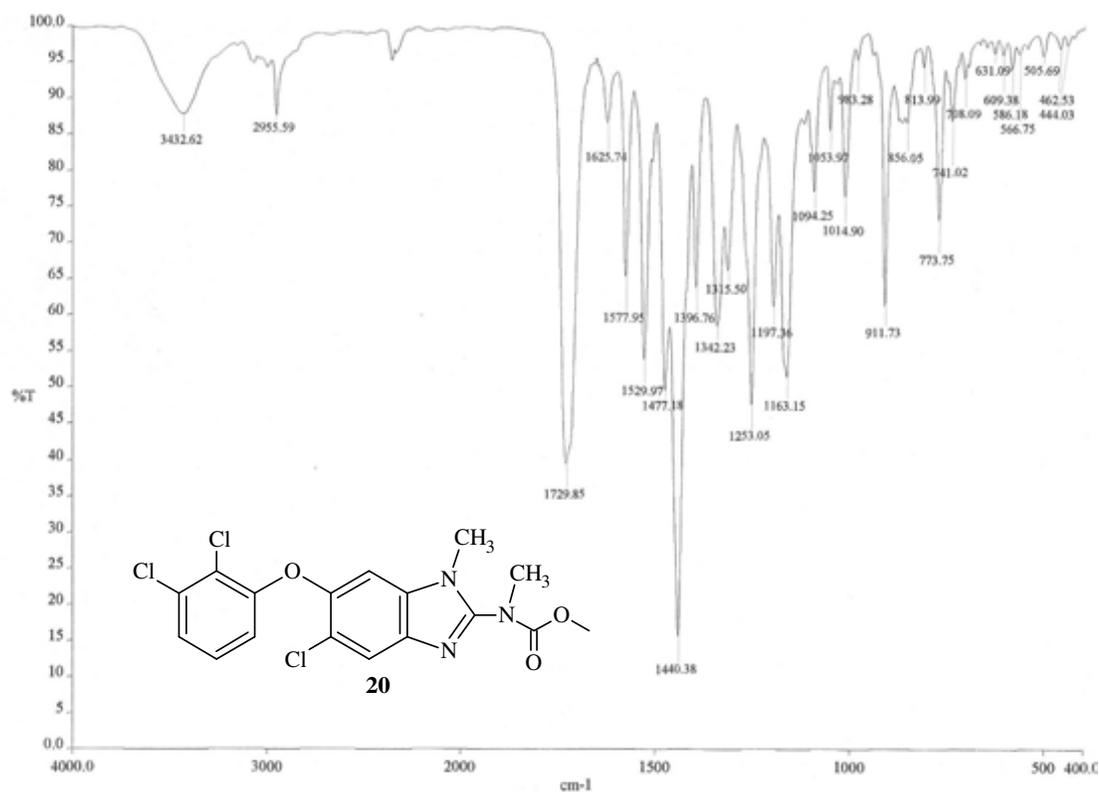
Espectro 30. RMN ¹H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**19**)



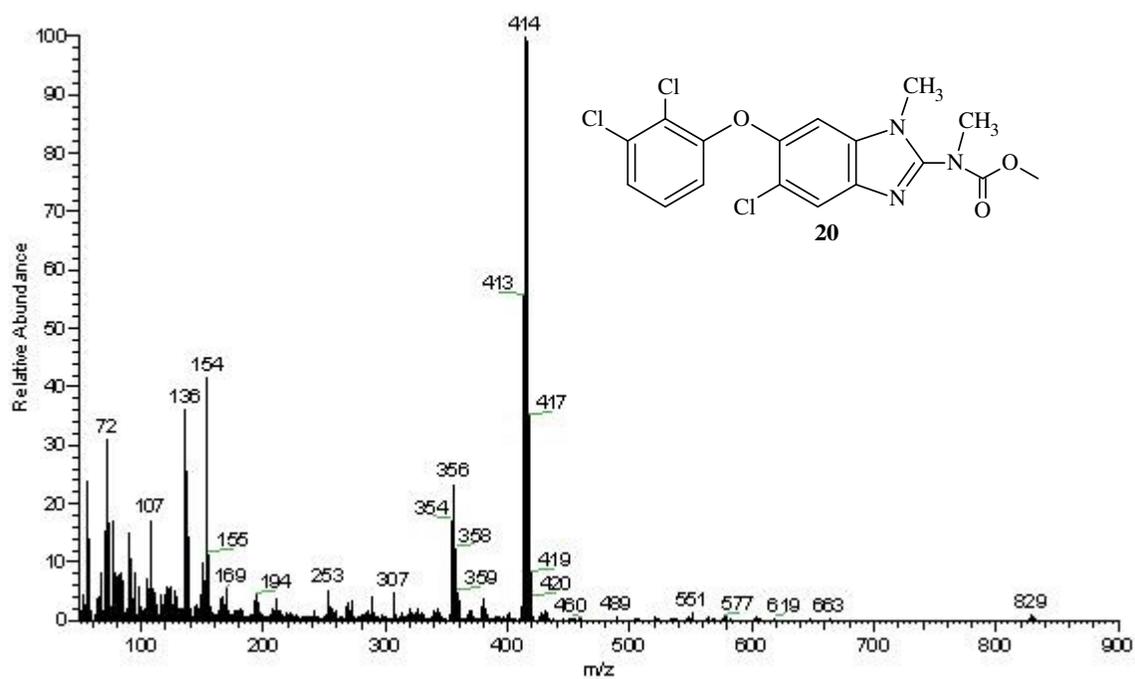
Espectro 31. RMN ^{13}C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**19**)



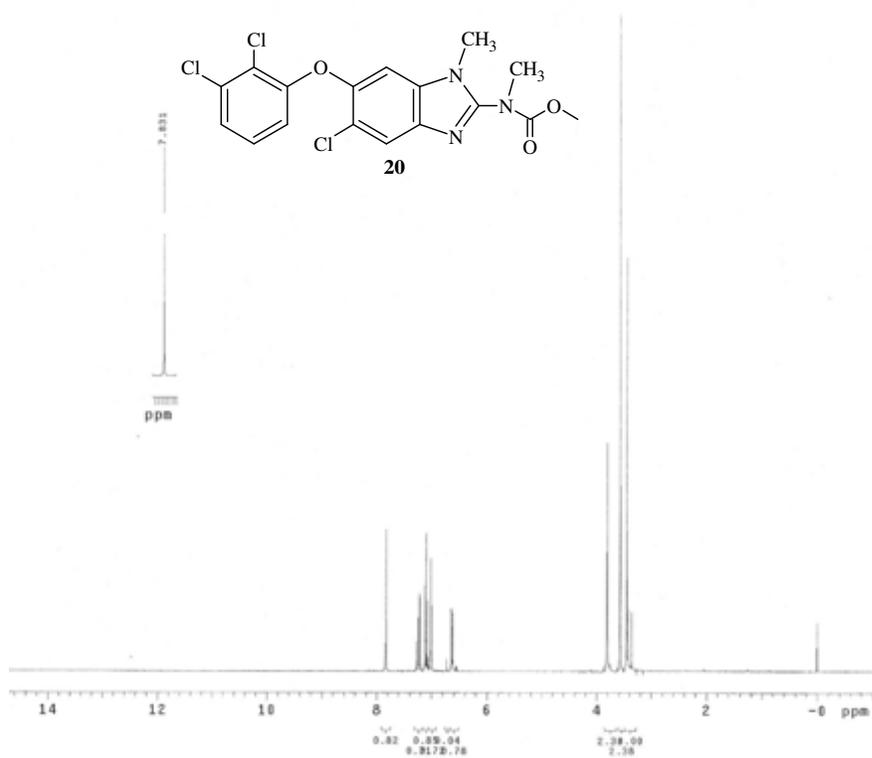
Espectro 32. NOESY de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**19**)



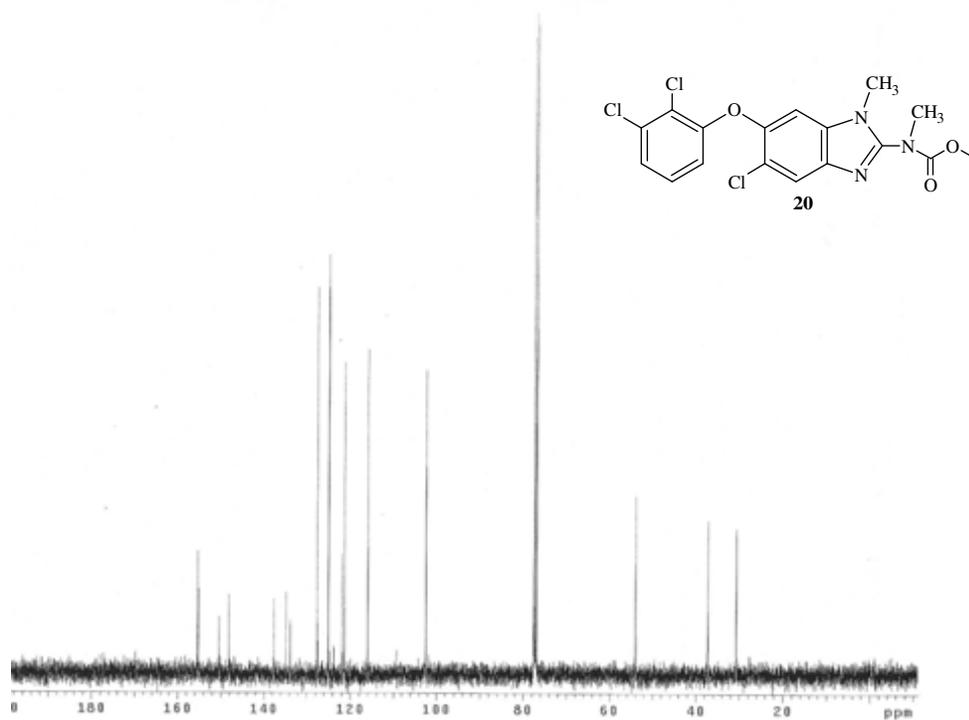
Espectro 33. IR de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**20**)



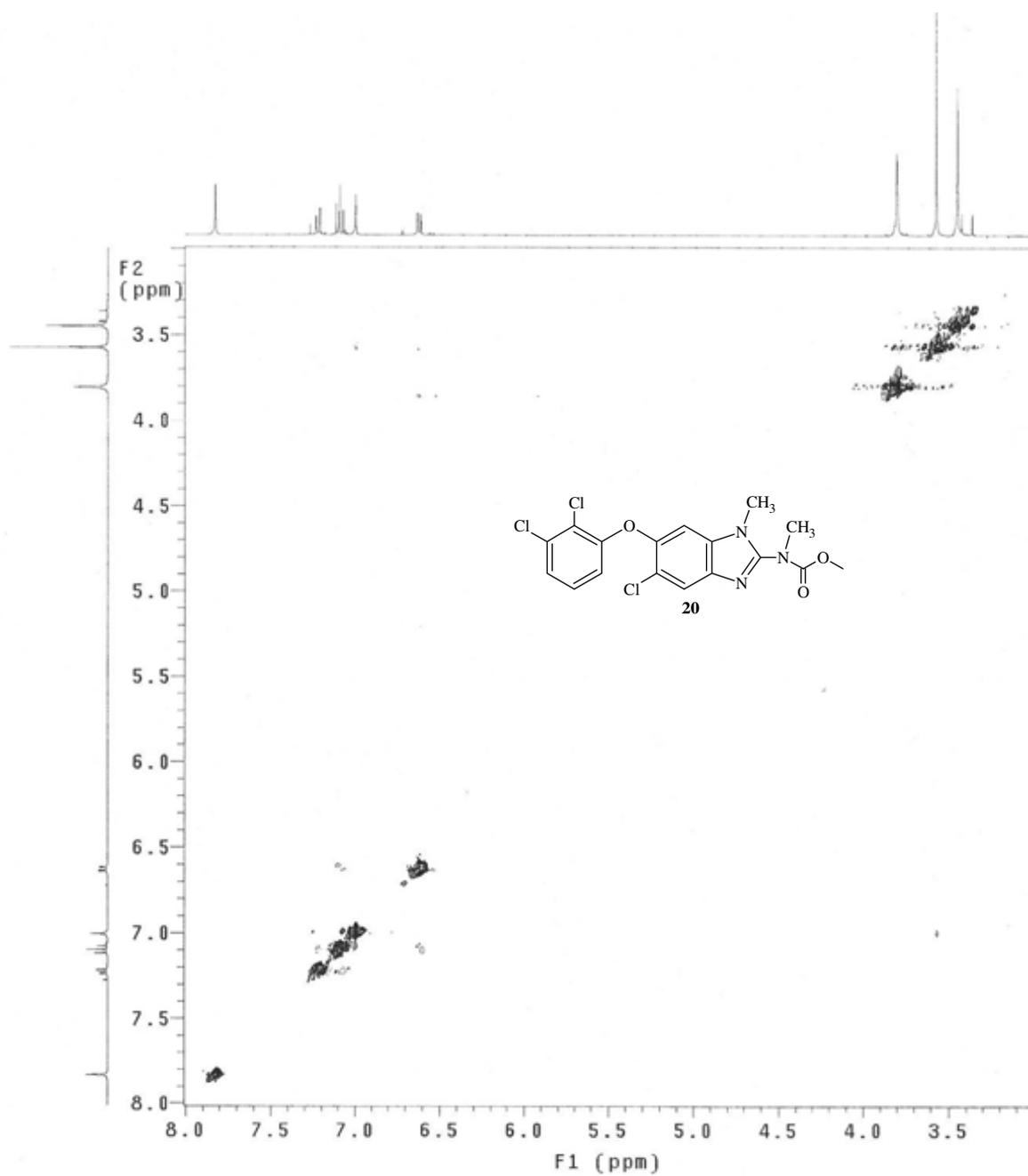
Espectro 34. EMFAB⁺ de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**20**)



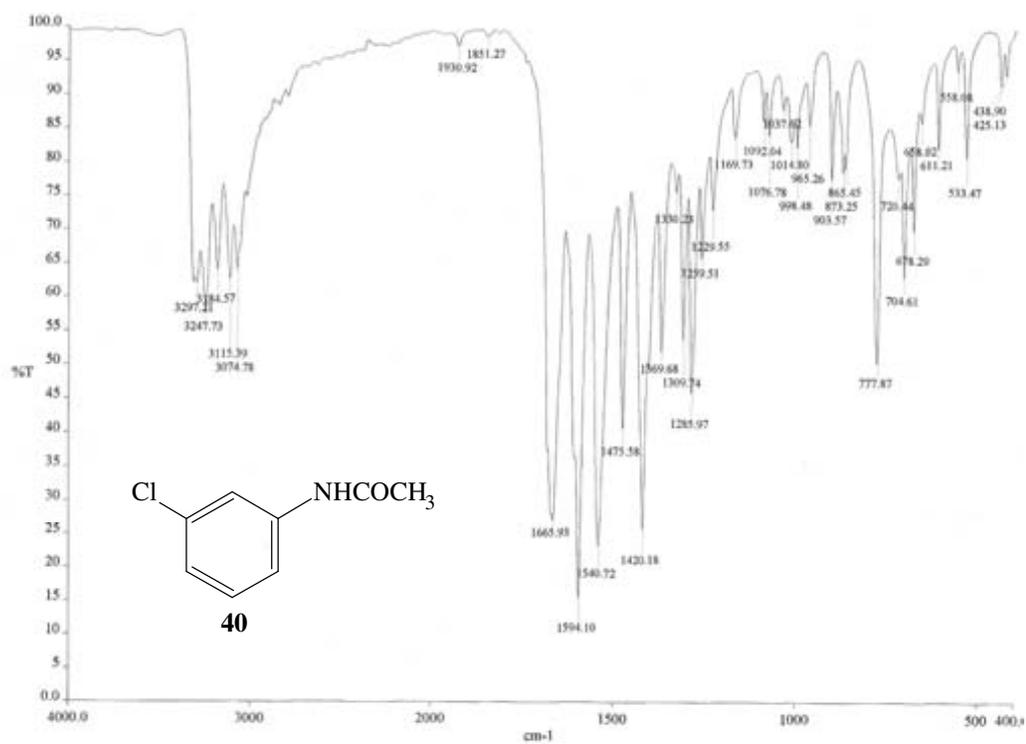
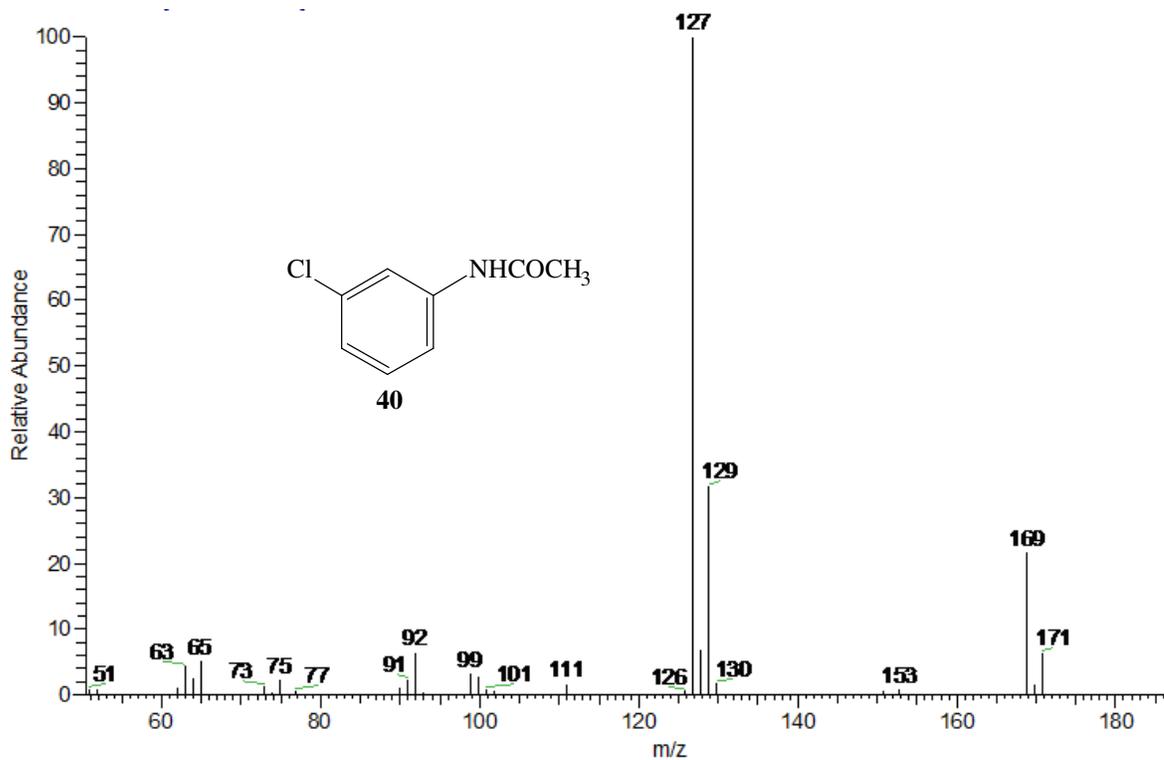
Espectro 35. RMN ^1H de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**20**)

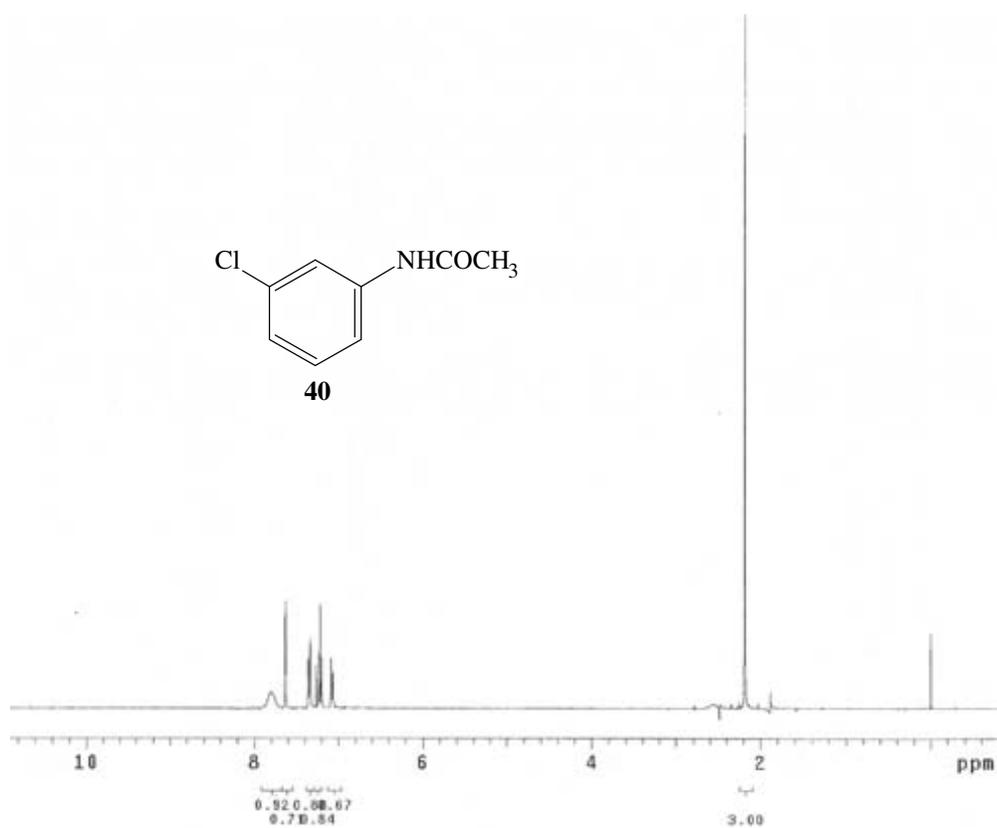
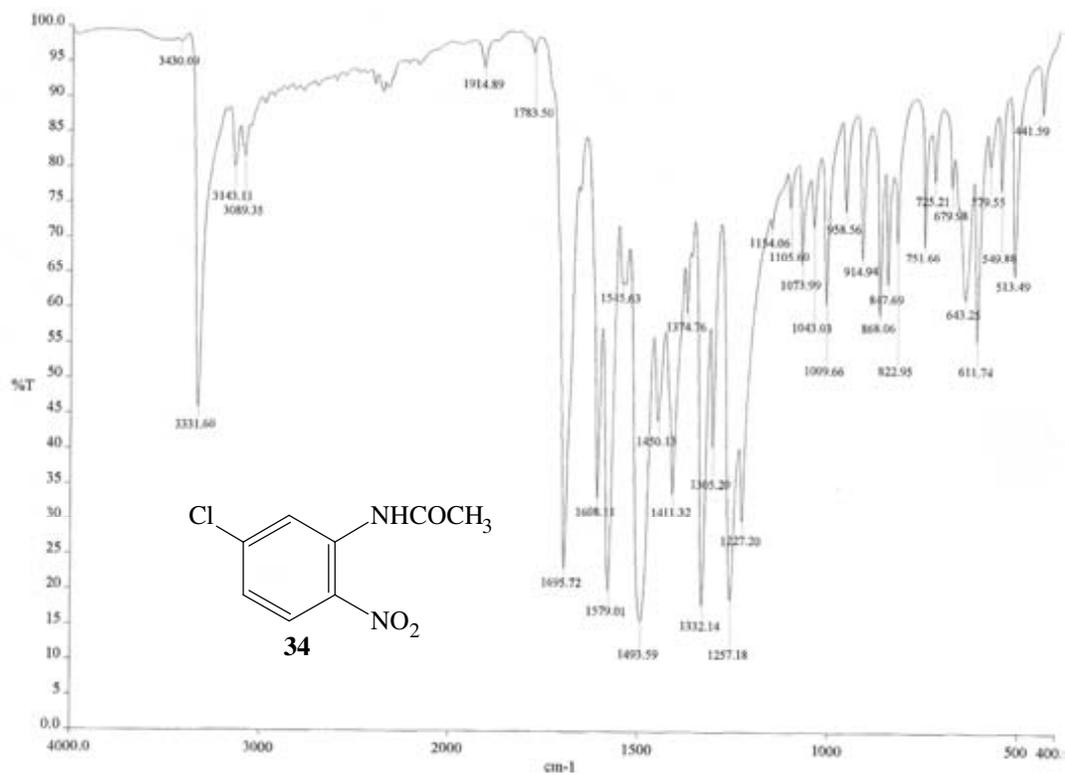


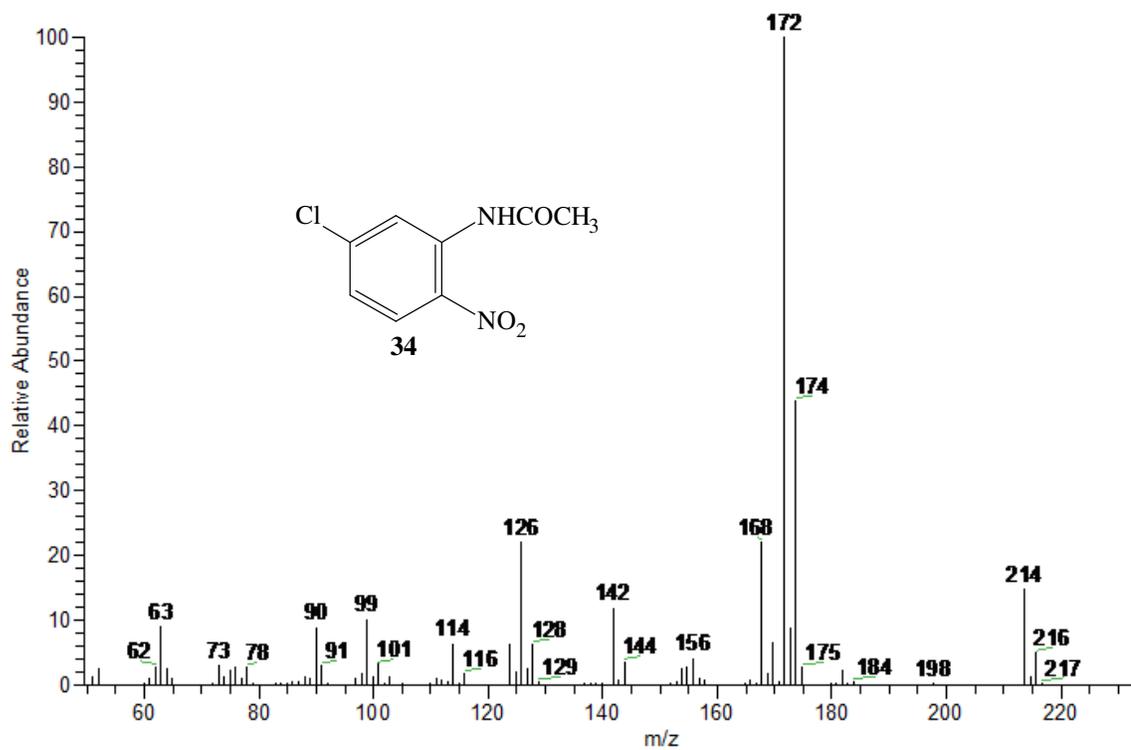
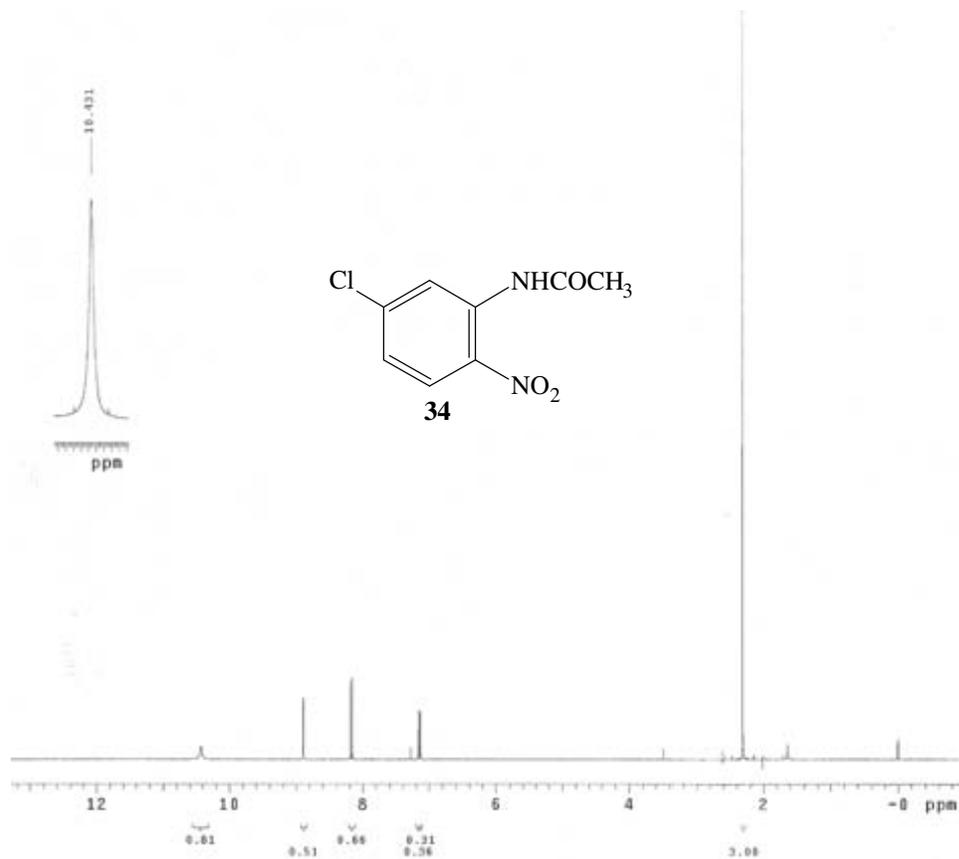
Espectro 36. RMN ^{13}C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**20**)

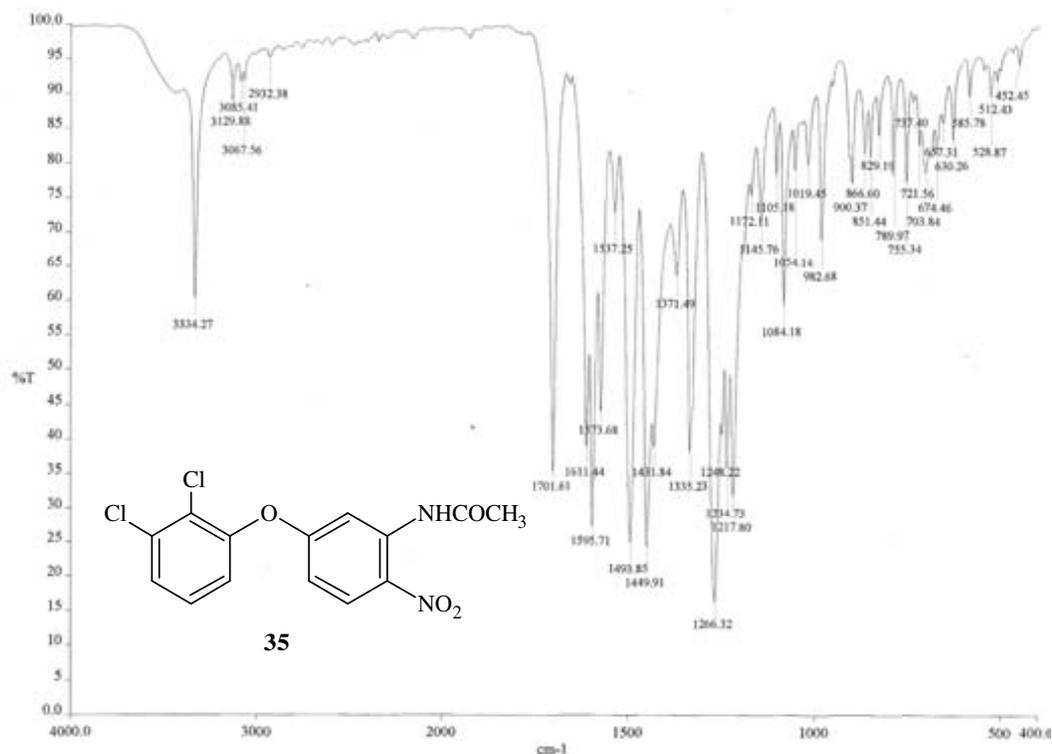


Espectro 37. RMN ^{13}C de 5-cloro-6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**20**)

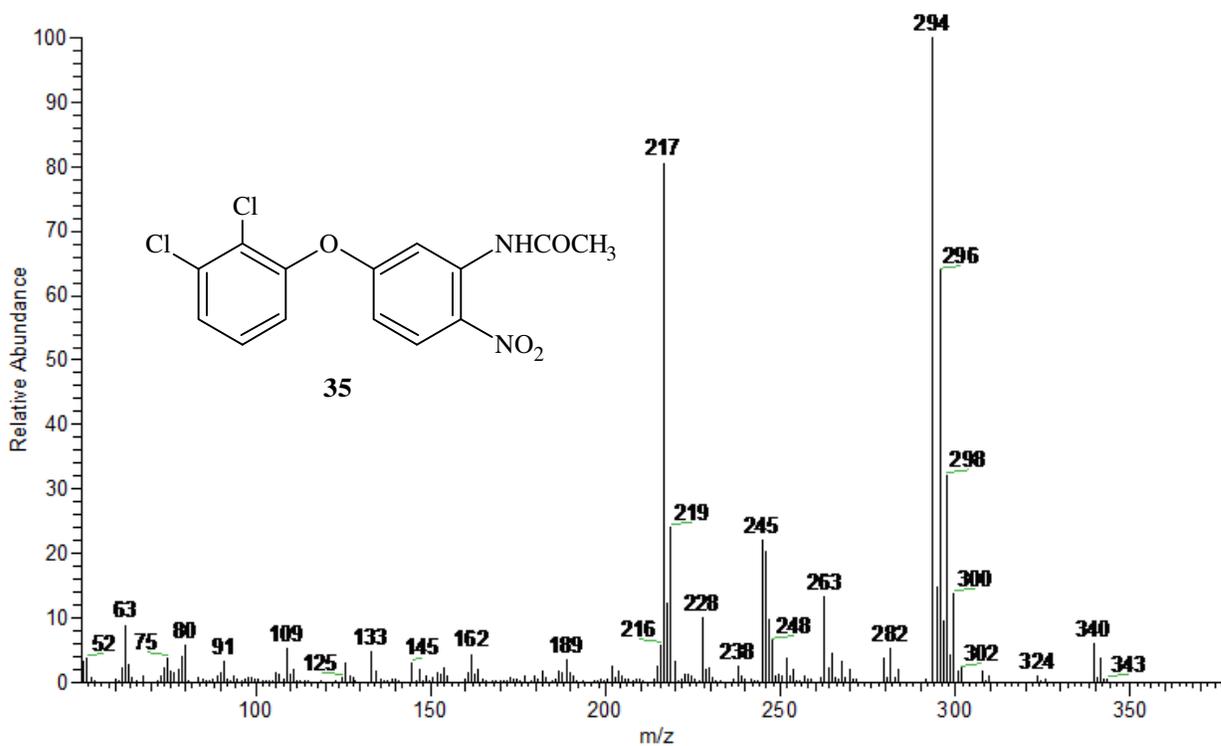
Espectro 38. IR de *N*-(3-clorofenil)acetamida (**40**)Espectro 39. EMIE de *N*-(3-clorofenil)acetamida (**40**)

Espectro 40. RMN ^1H de *N*-(3-clorofenil)acetamida (**40**)Espectro 41. IR de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (**34**)

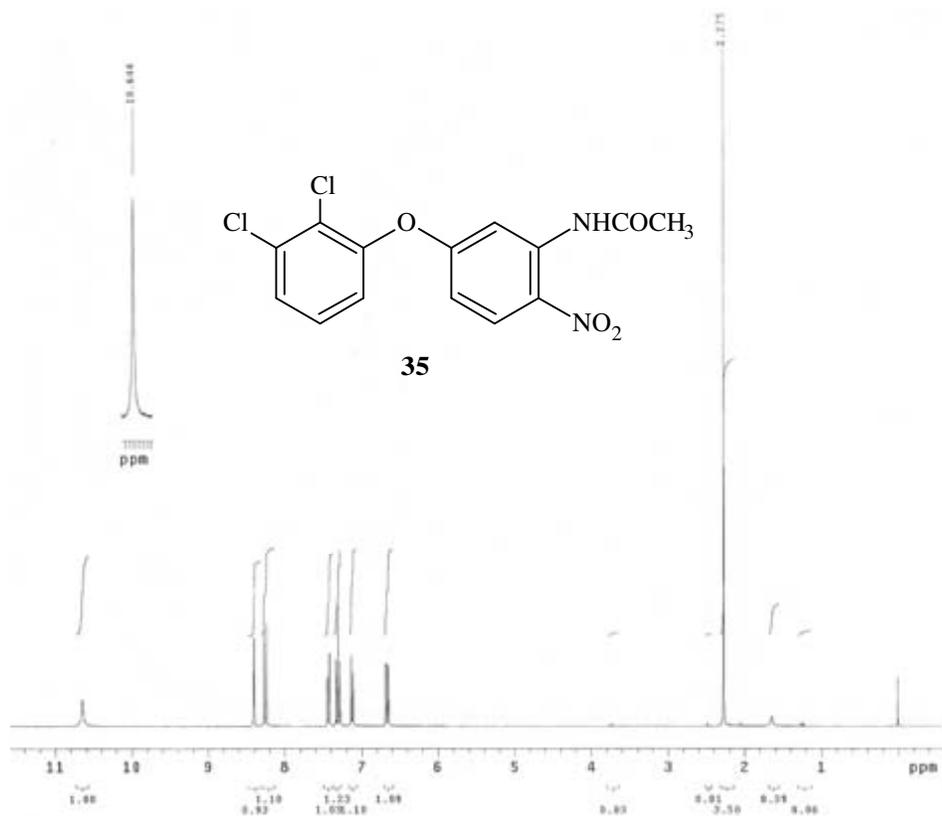
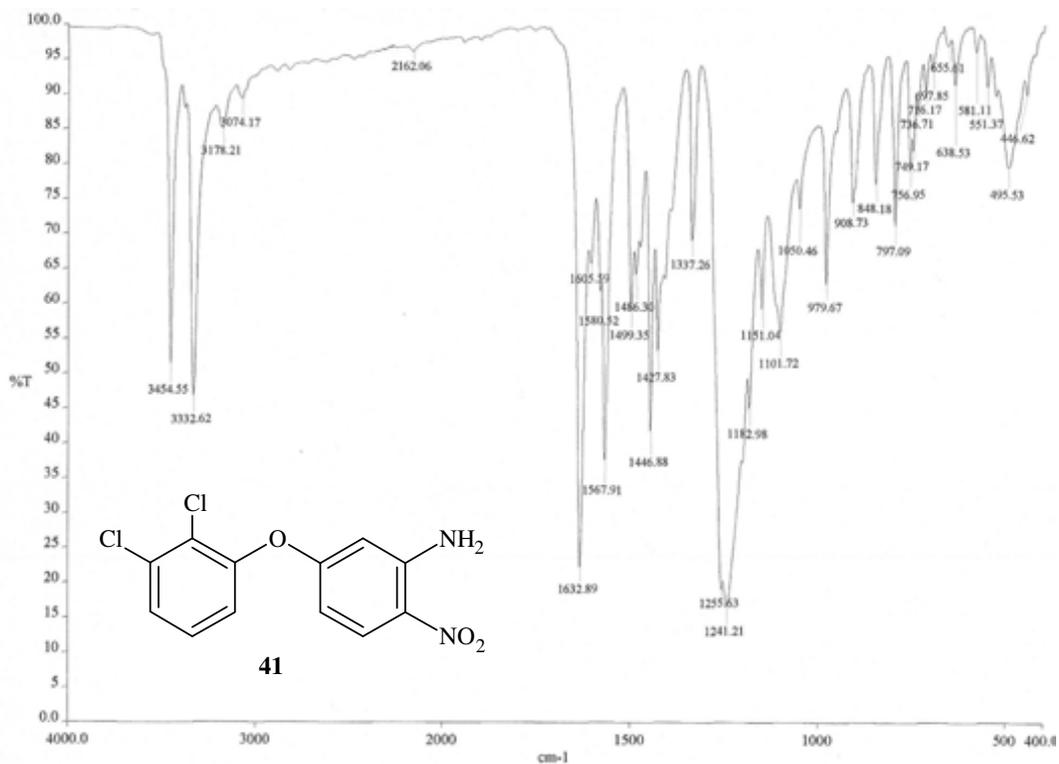
Espectro 42. EMIE de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)Espectro 43. RMN ¹H de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)acetamida (34)

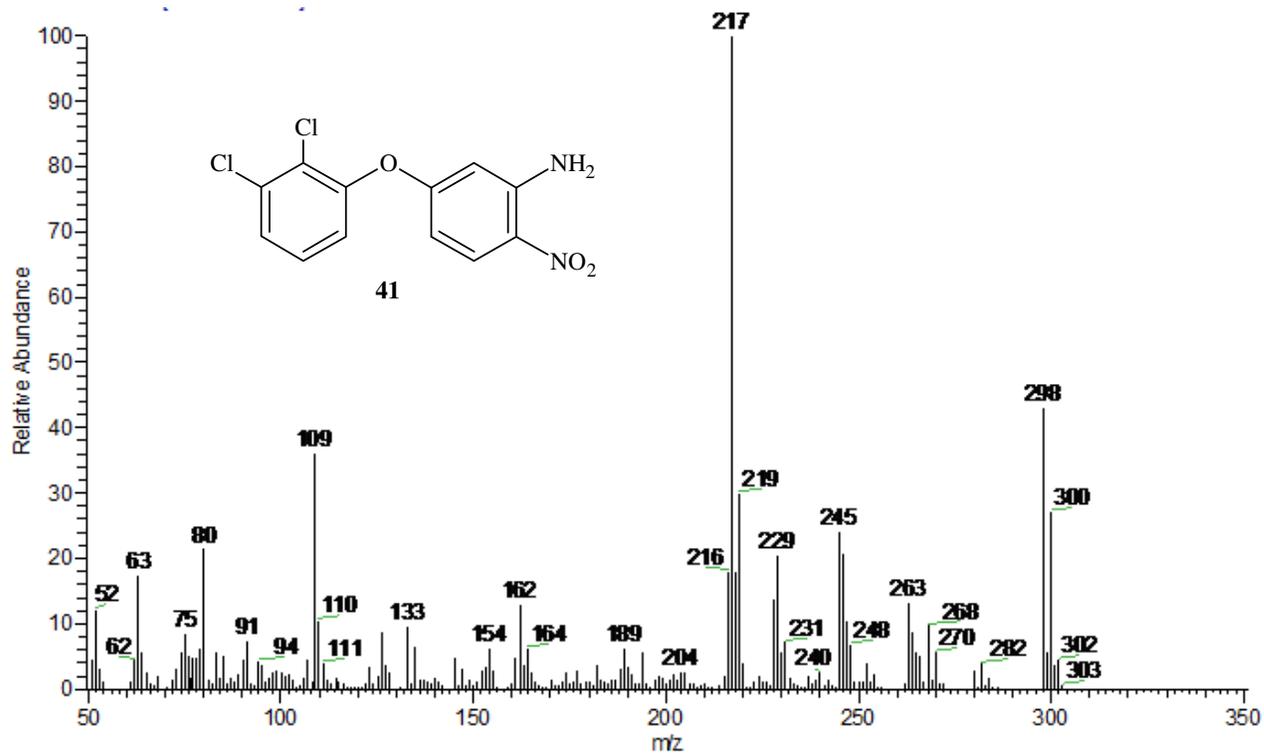


Espectro 44. IR de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (**35**)

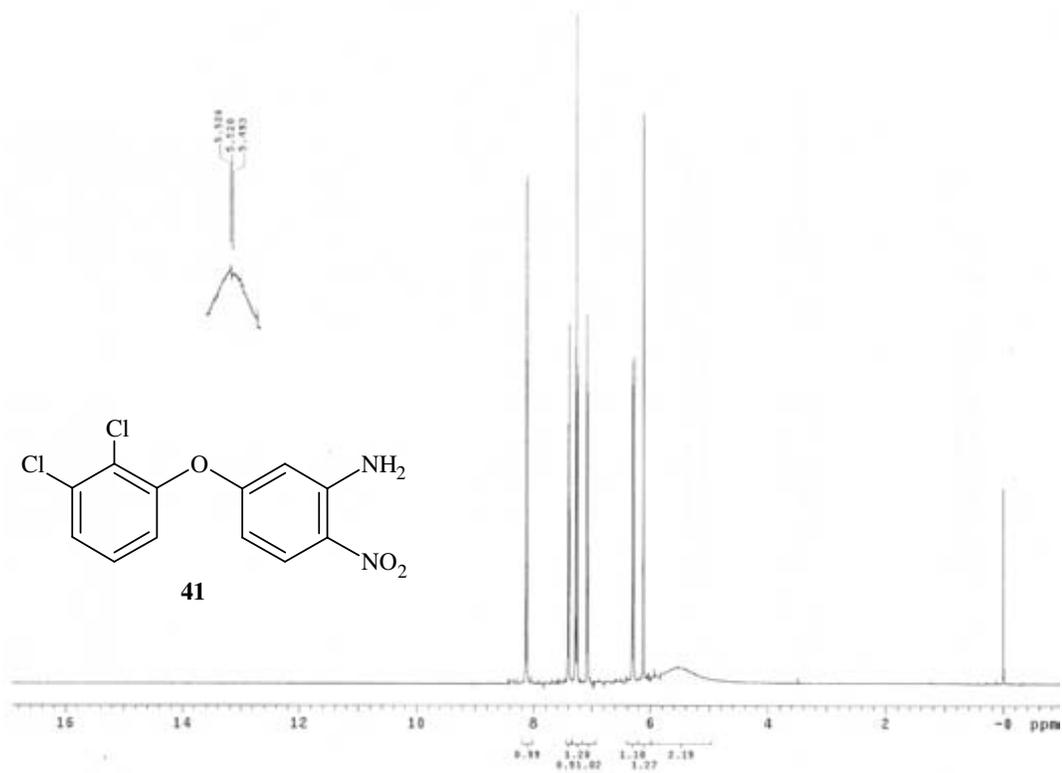


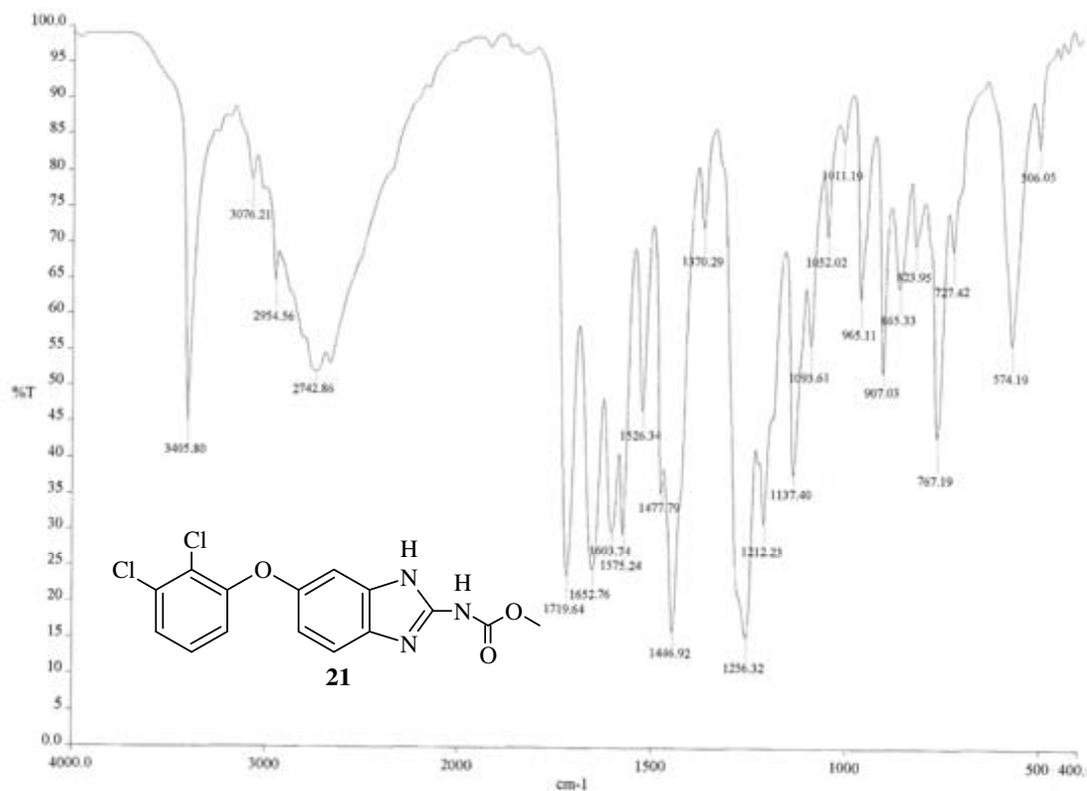
Espectro 45. EMIE de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (**35**)

Espectro 46. RMN ^1H de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]acetamida (**35**)Espectro 47. IR de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (**41**)

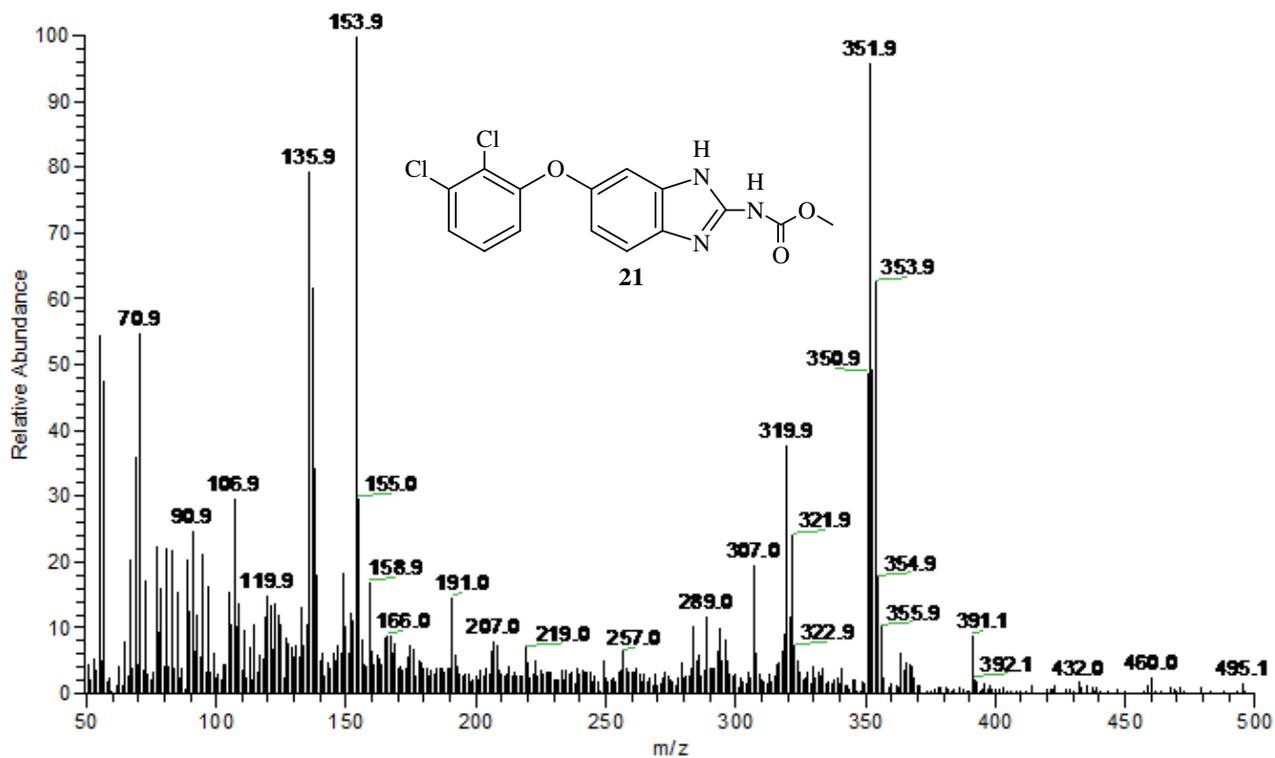


Espectro 48. EMIE de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)

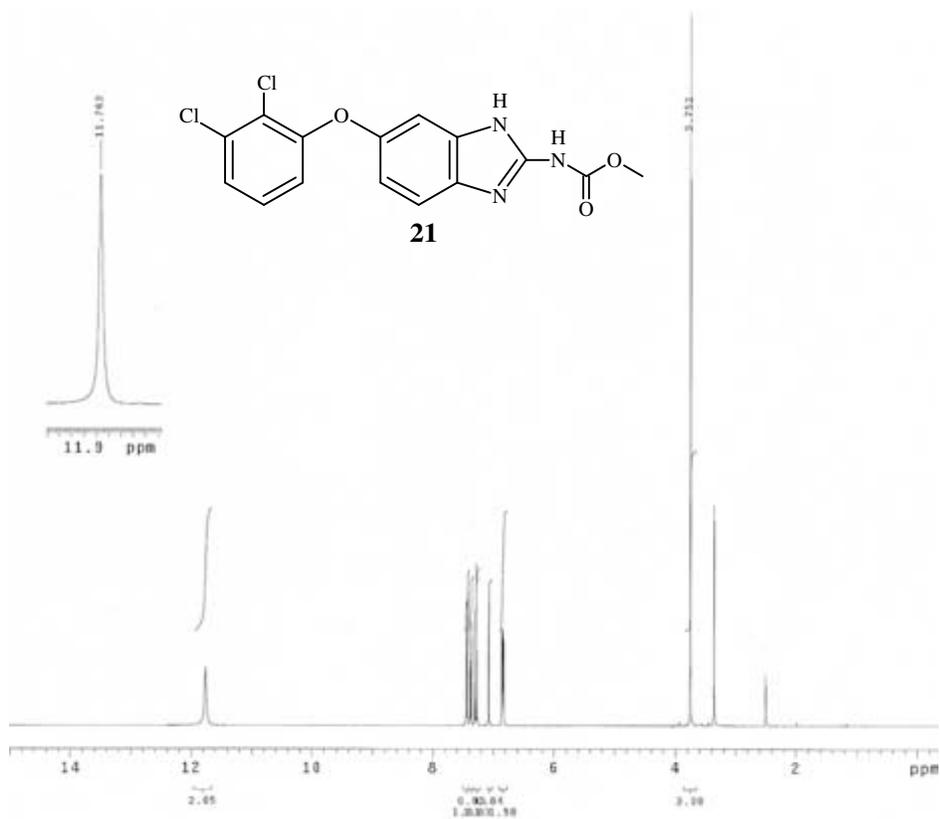
Espectro 49. RMN ¹H de 5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (41)



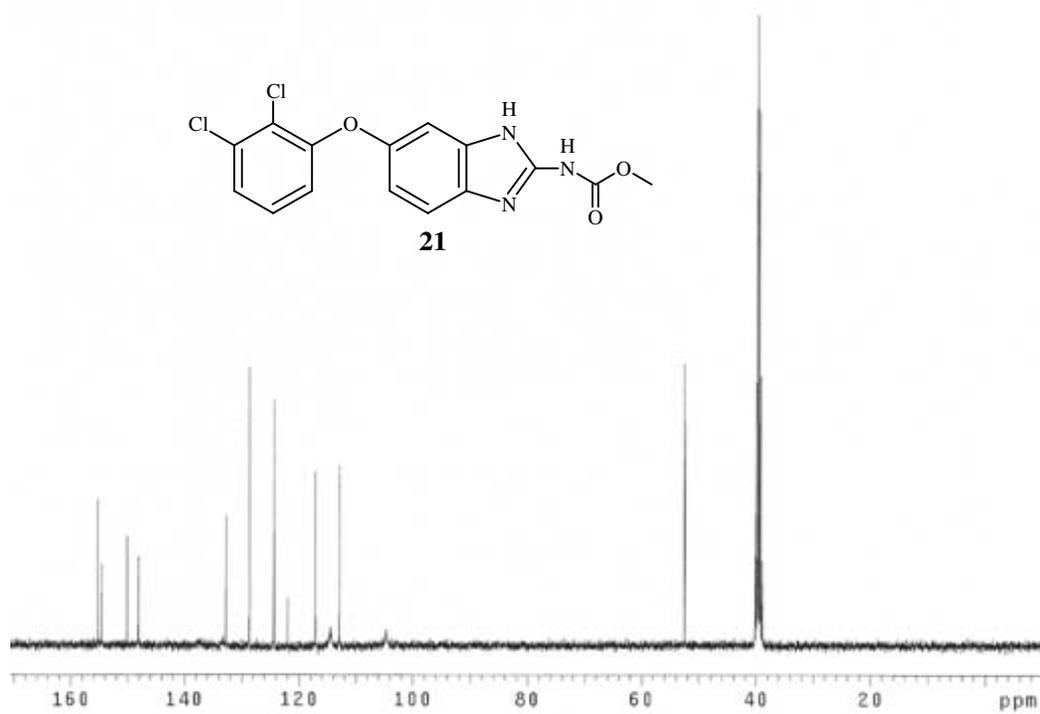
Espectro 50. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)



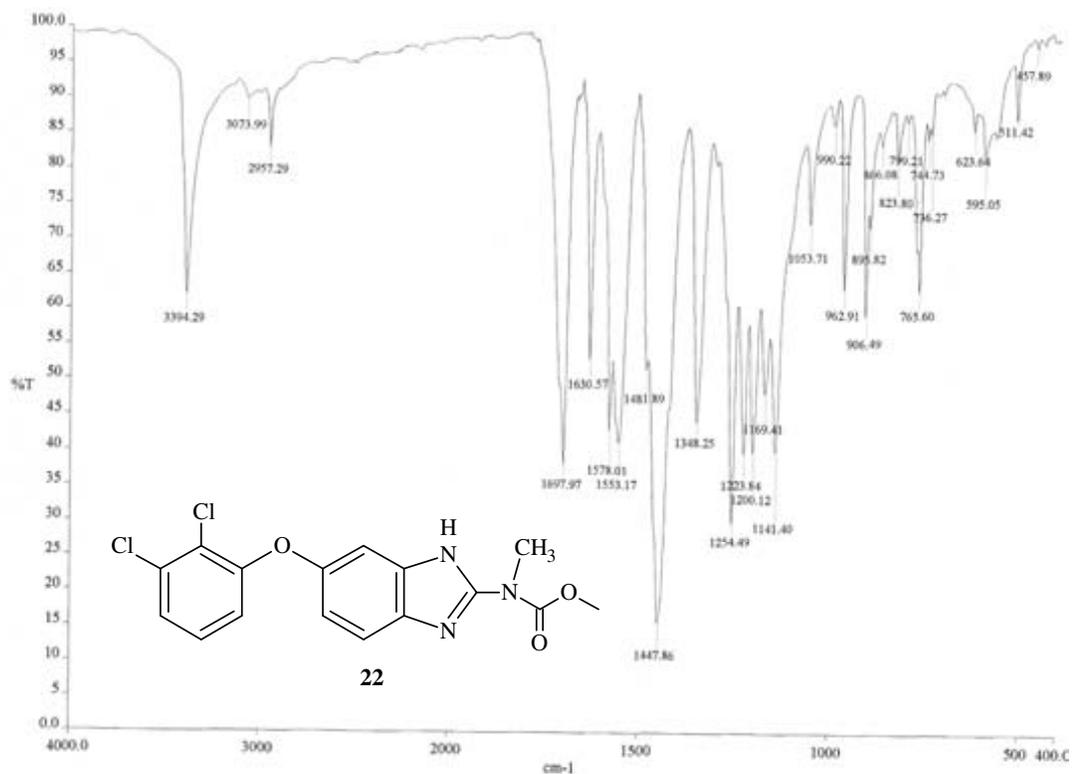
Espectro 51. EMFAB⁺ de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (21)



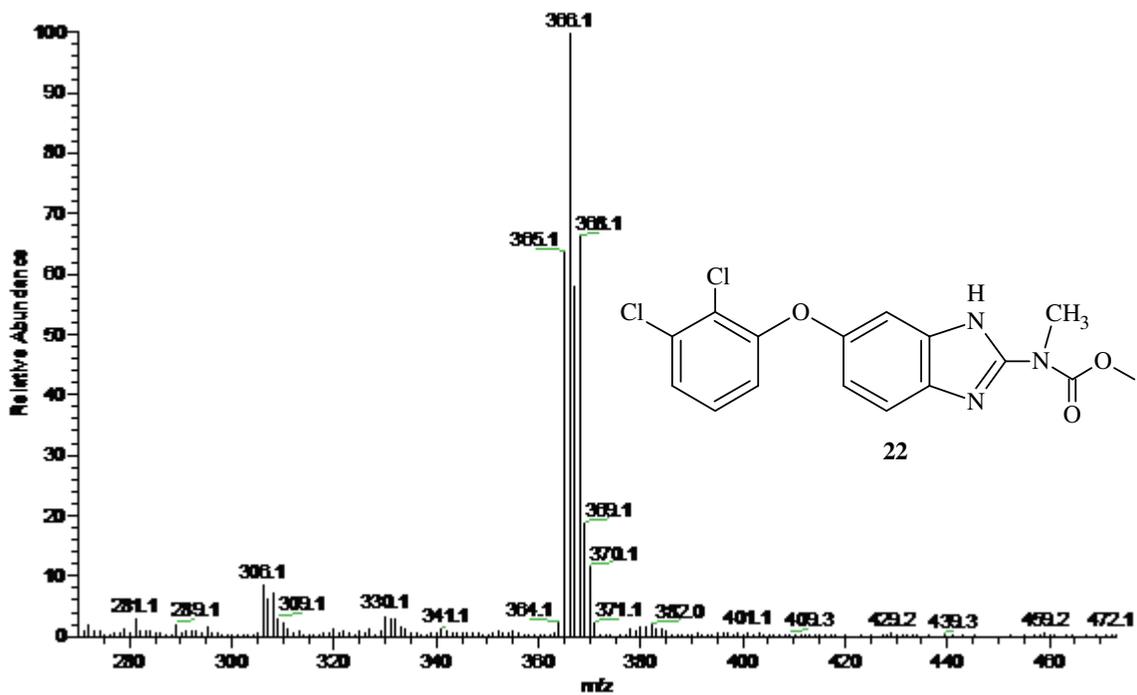
Espectro 52. RMN ^1H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-benzimidazol-2-il-carbamato de metilo (**21**)



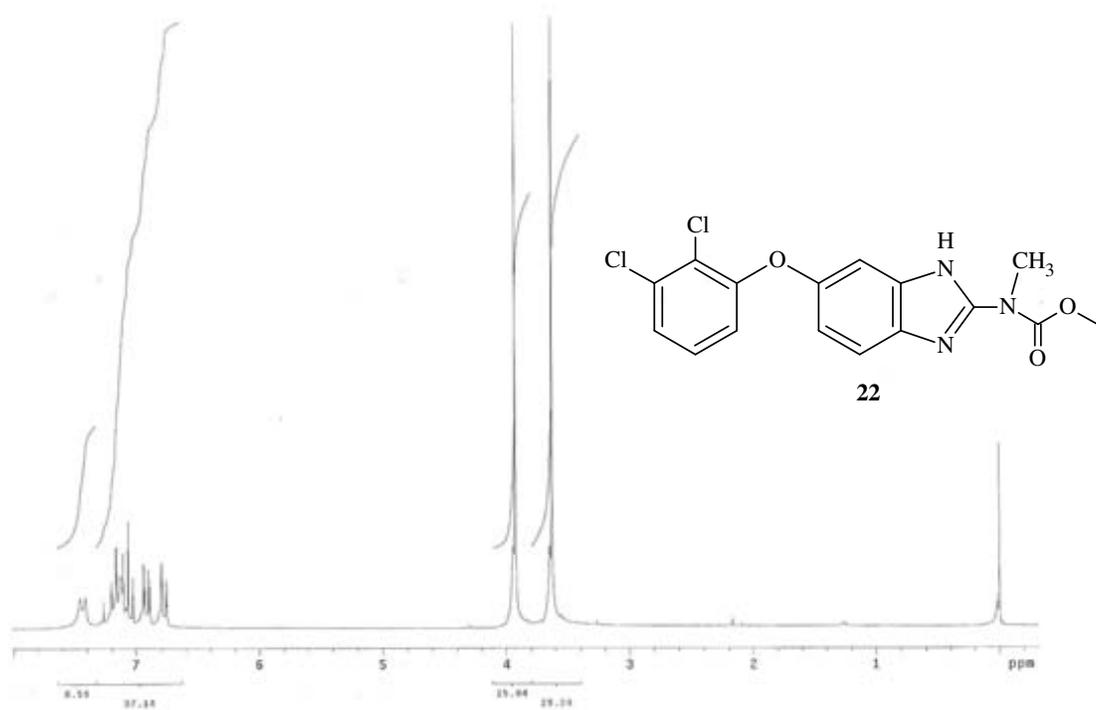
Espectro 53. RMN ^{13}C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-benzimidazol-2-il-carbamato de metilo (**21**)



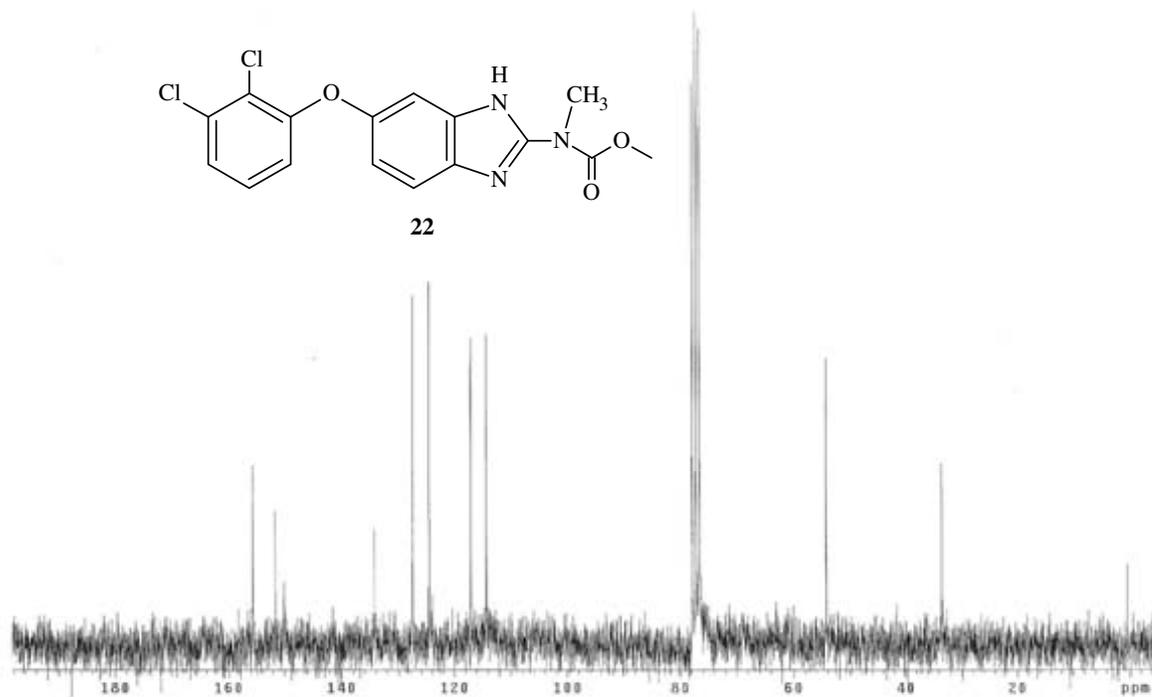
Espectro 54. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-benzimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)



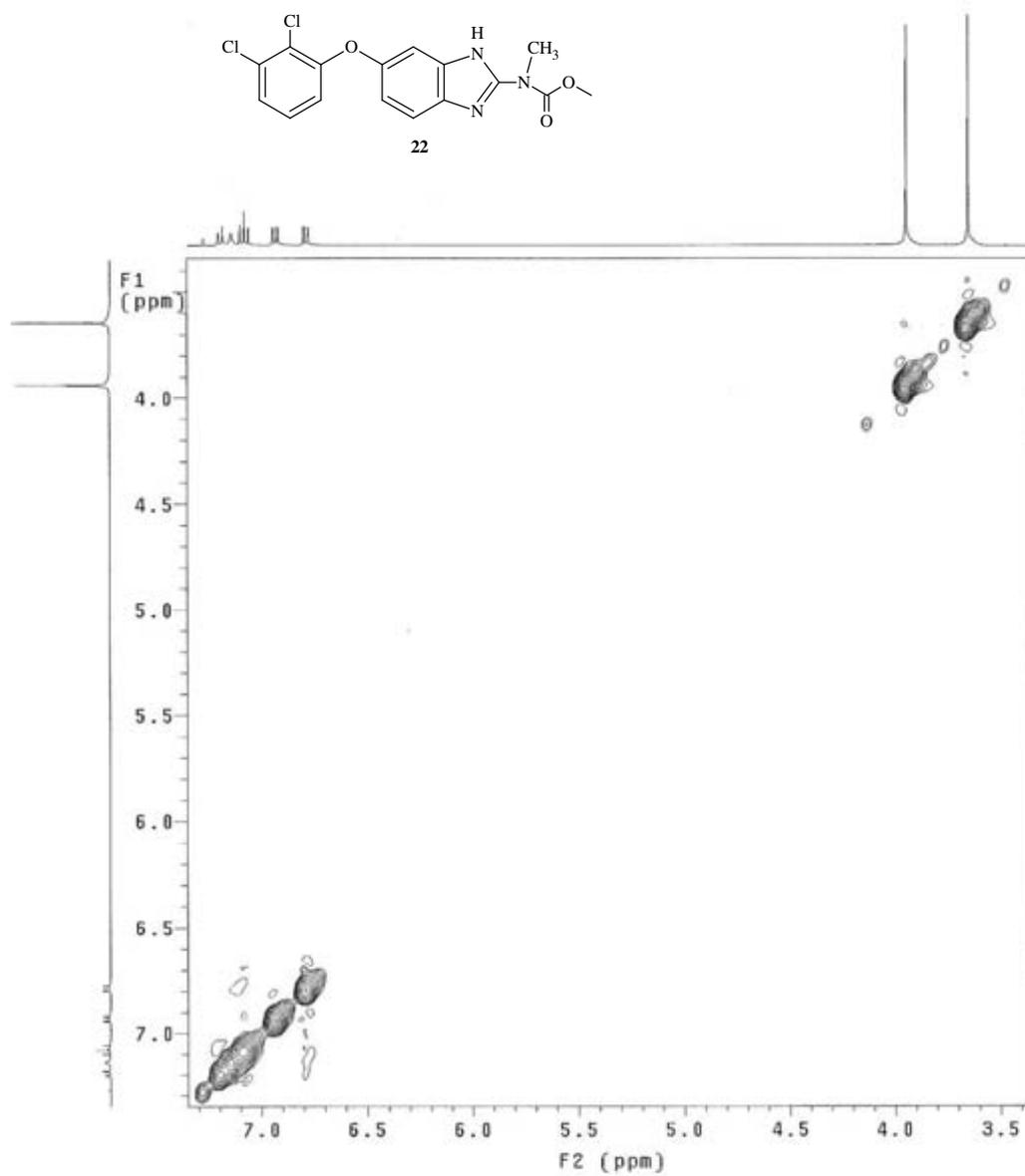
Espectro 55. EMFAB⁺ de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-benzimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (22)



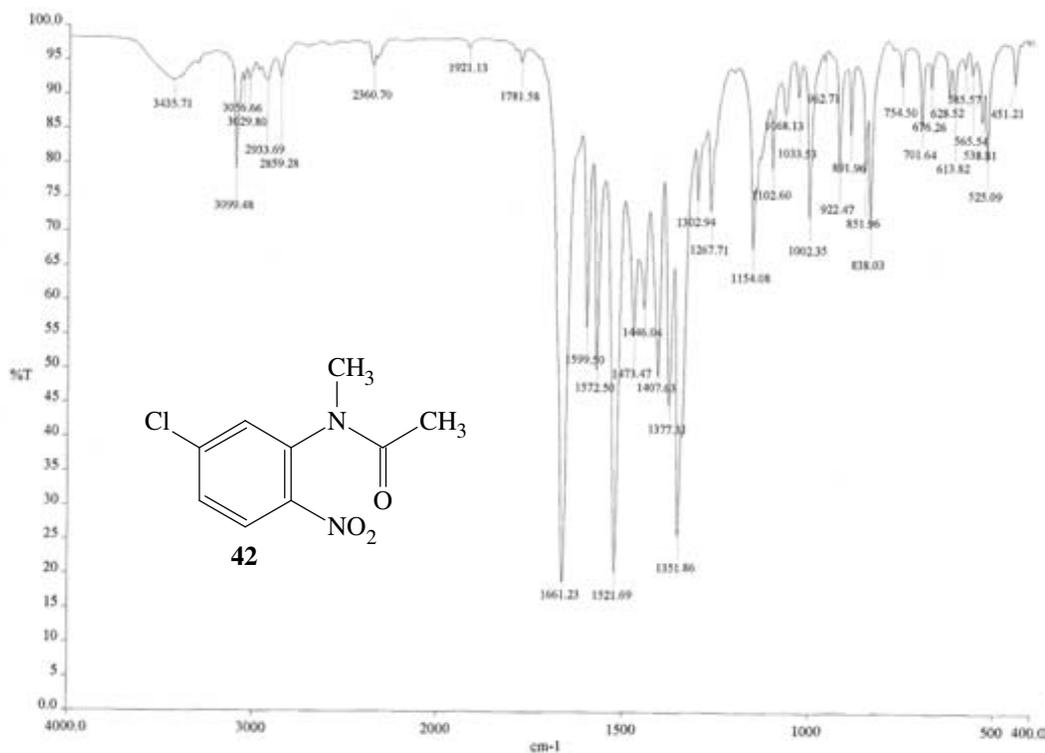
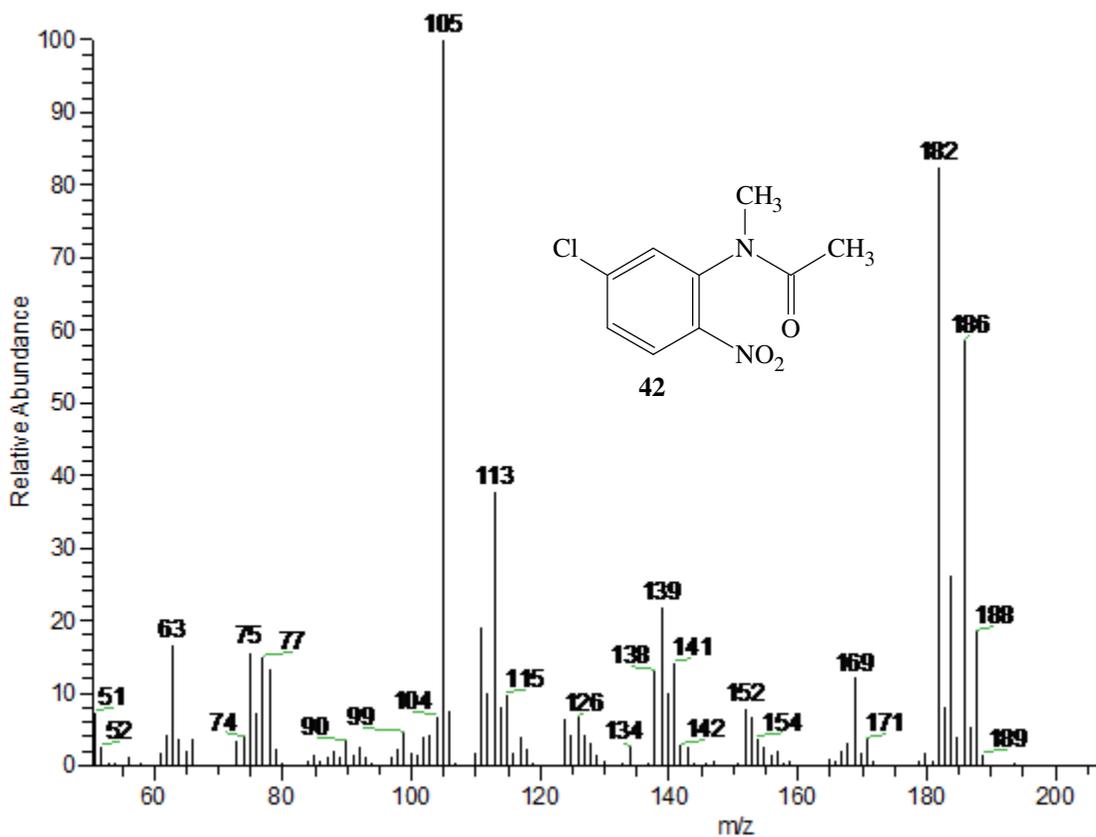
Espectro 56. RMN ^1H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**22**)

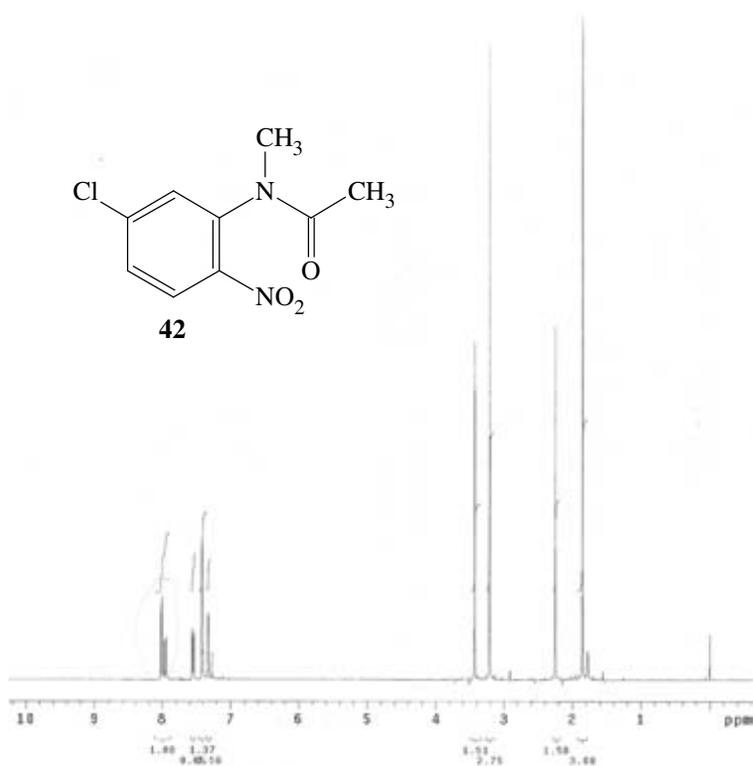


Espectro 57. RMN ^{13}C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1H-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**22**)

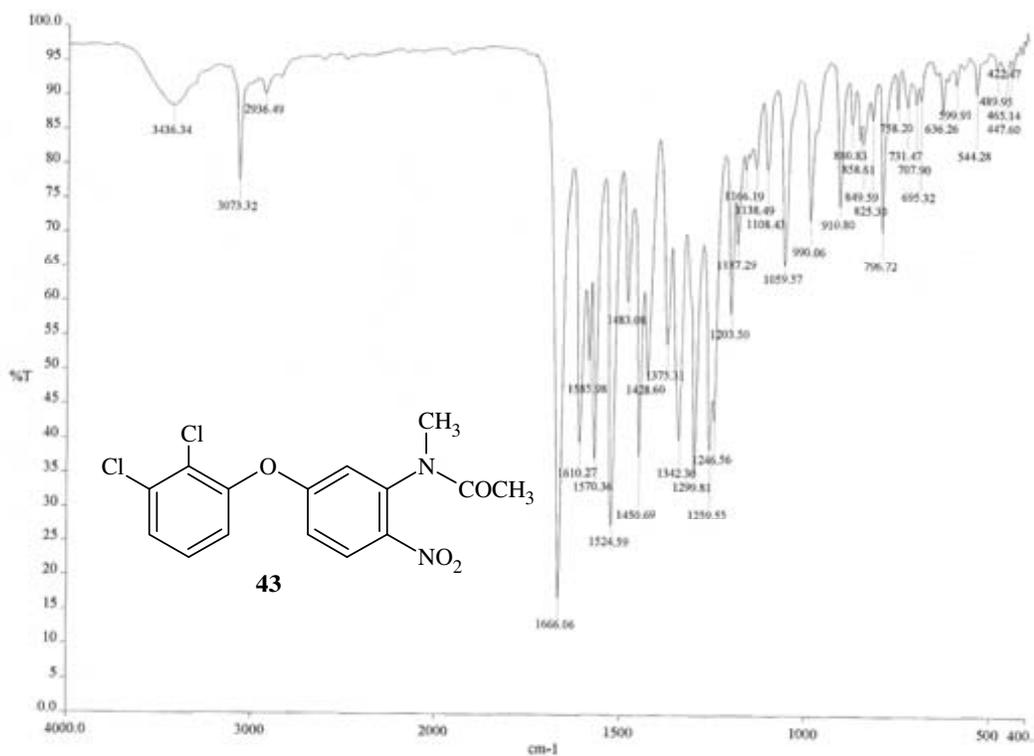


Espectro 58. RMN ^{13}C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**22**)

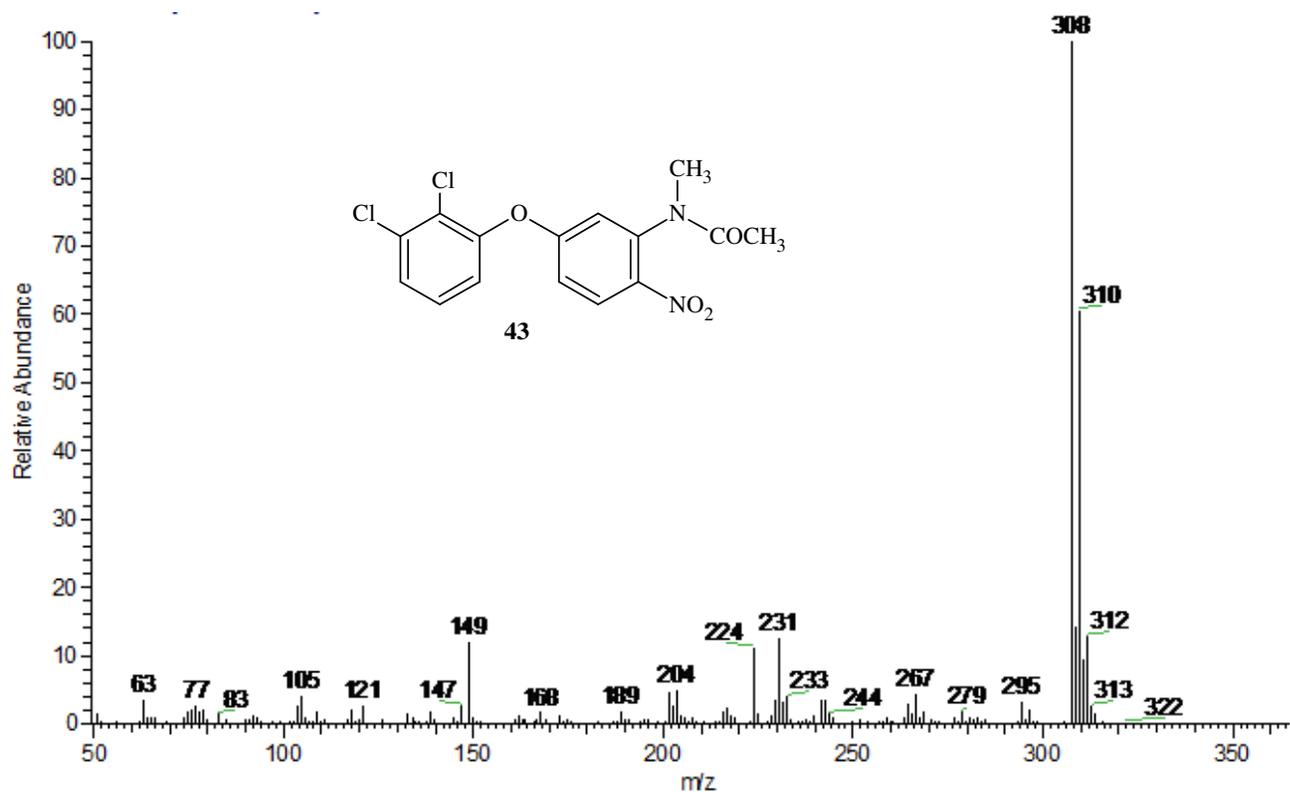
Espectro 59. IR de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (42)Espectro 60. EMIE de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (42)



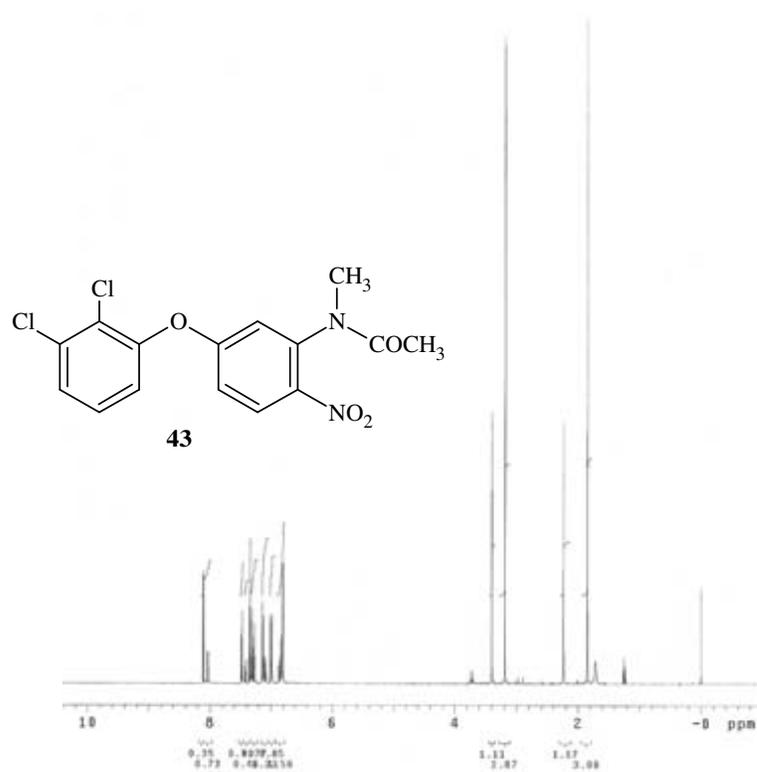
Espectro 61. RMN ^1H de *N*-(5-cloro-2-nitrofenil)- *N*-metilacetamida (**42**)



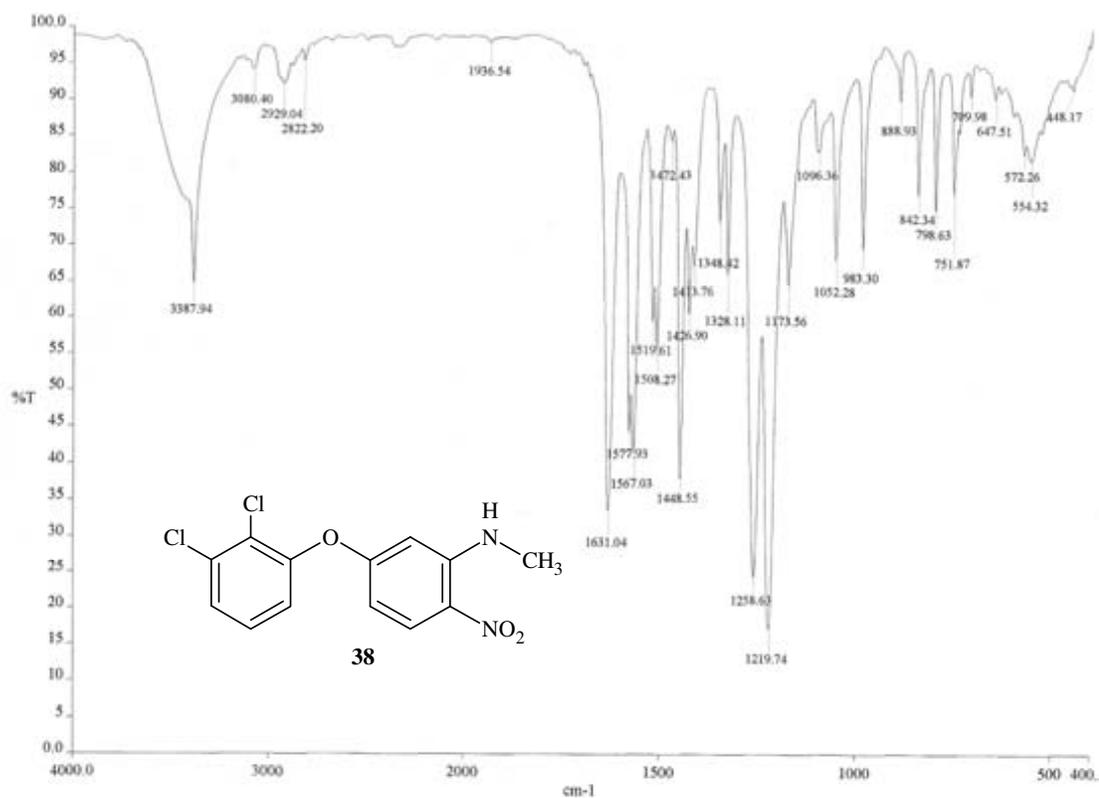
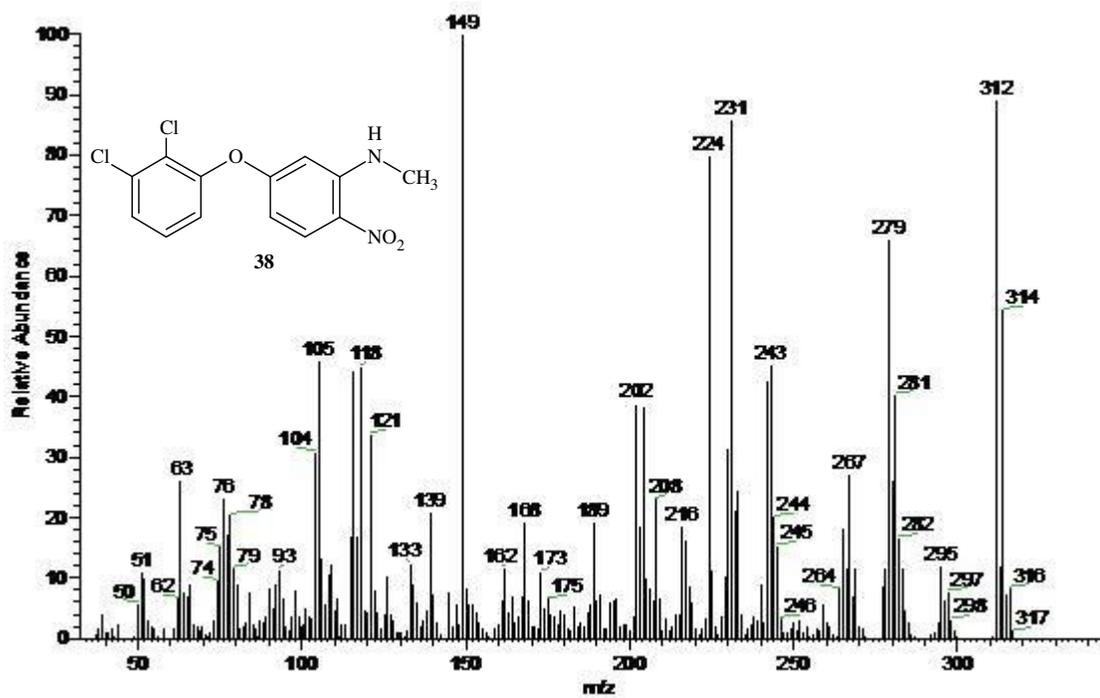
Espectro 62. IR de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- *N*-metilacetamida (**43**)

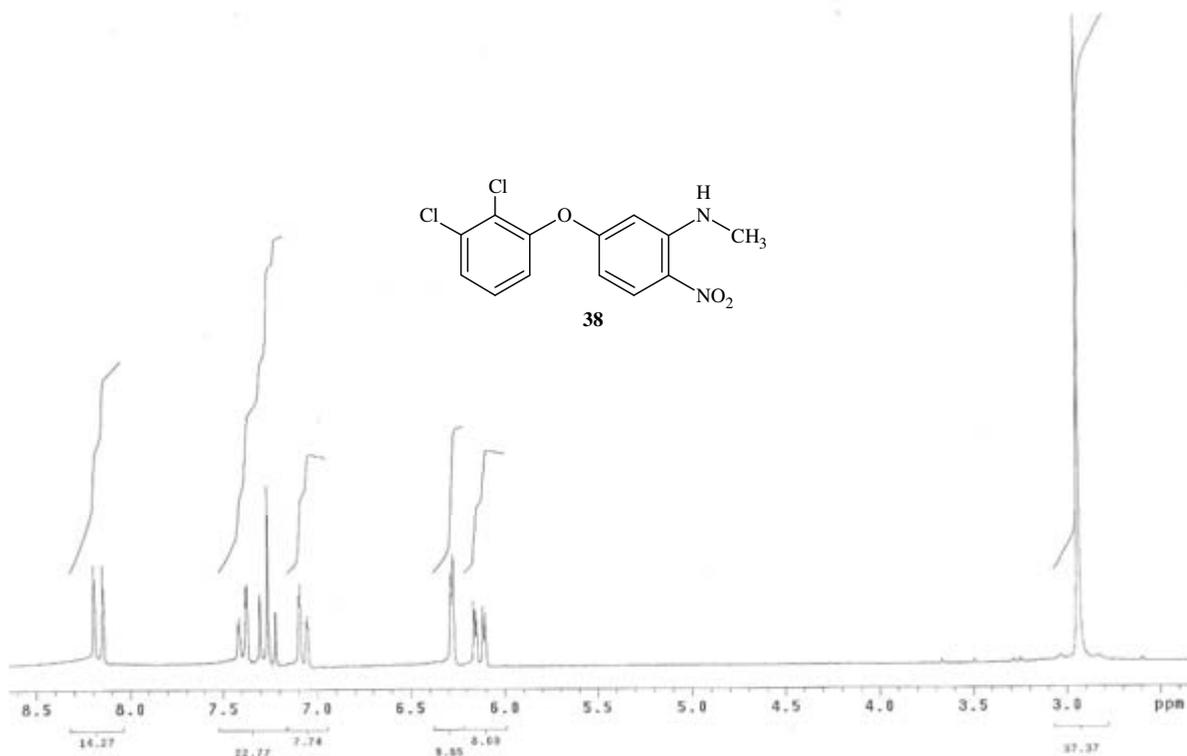


Espectro 63. EMFAB⁺ de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- *N*-metilacetamida (43)

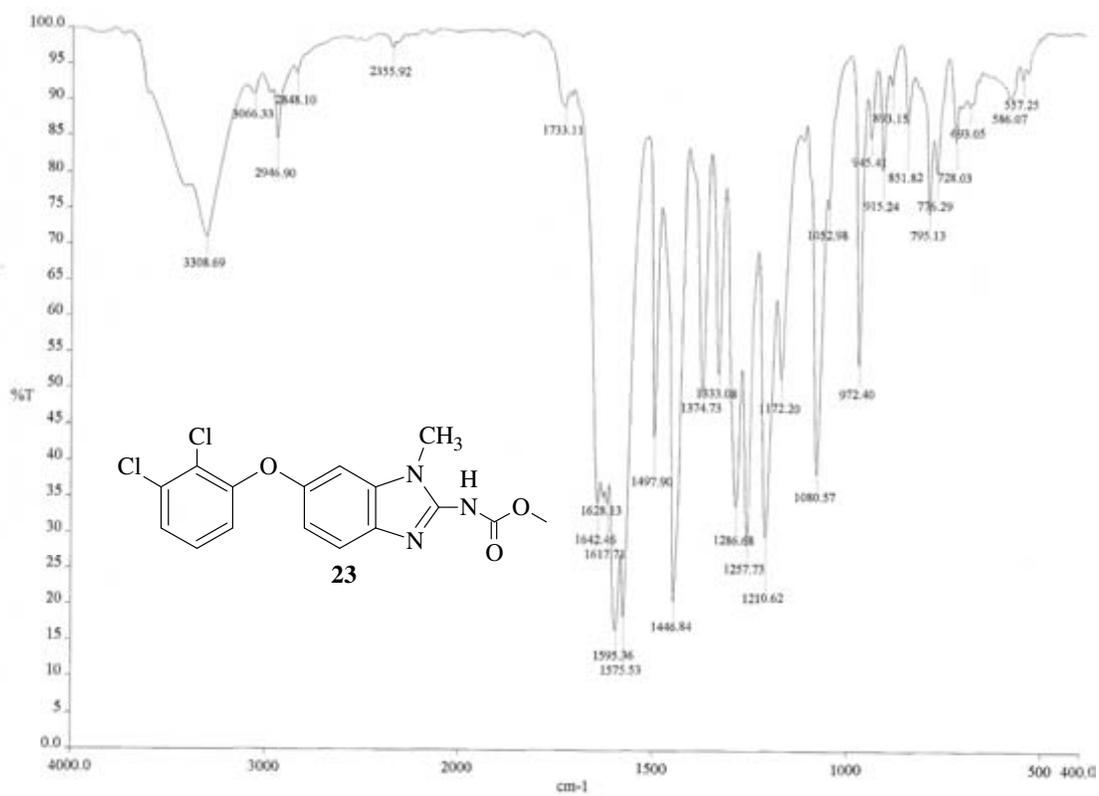


Espectro 64. RMN ¹H de *N*-[5-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil]- *N*-metilacetamida (43)

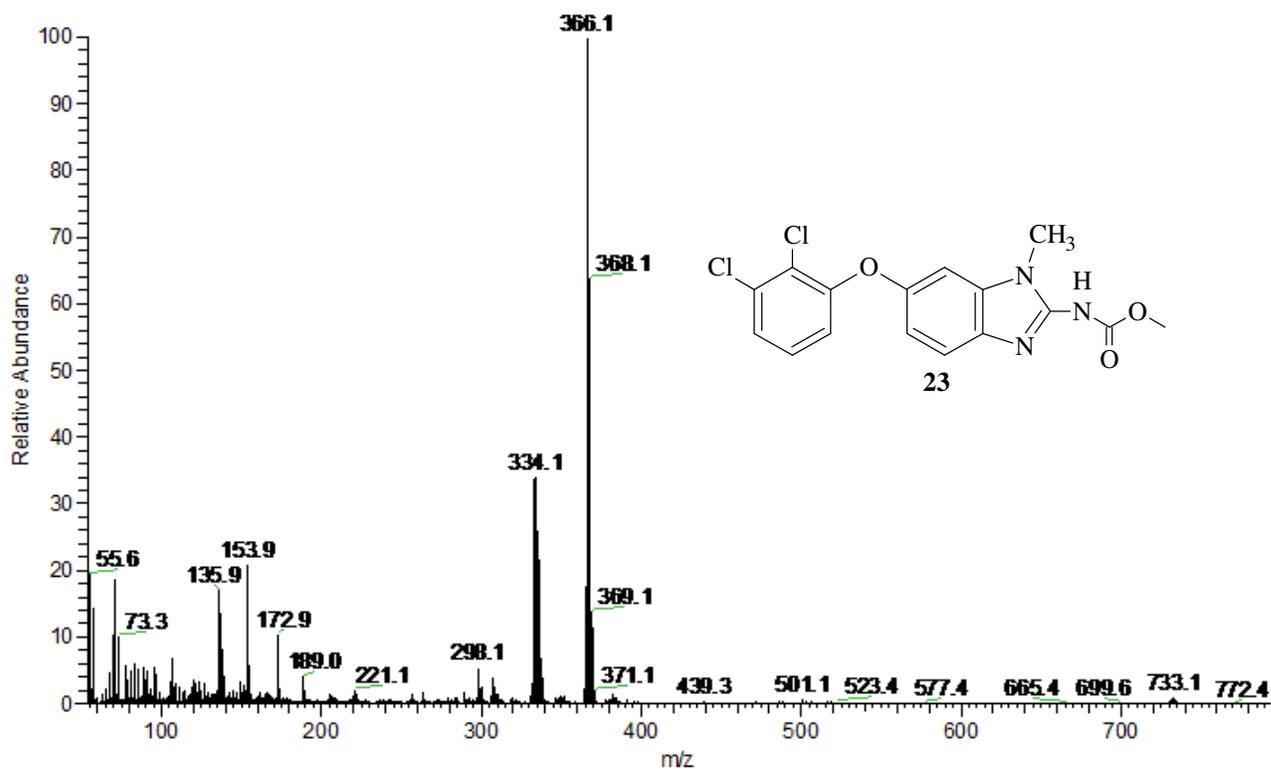
Espectro 65. IR de 5-(2,3-diclorofenoxi)- *N*-metil-2-nitroanilina (38)Espectro 66. EMIE de 5-(2,3-diclorofenoxi)- *N*-metil-2-nitroanilina (38)



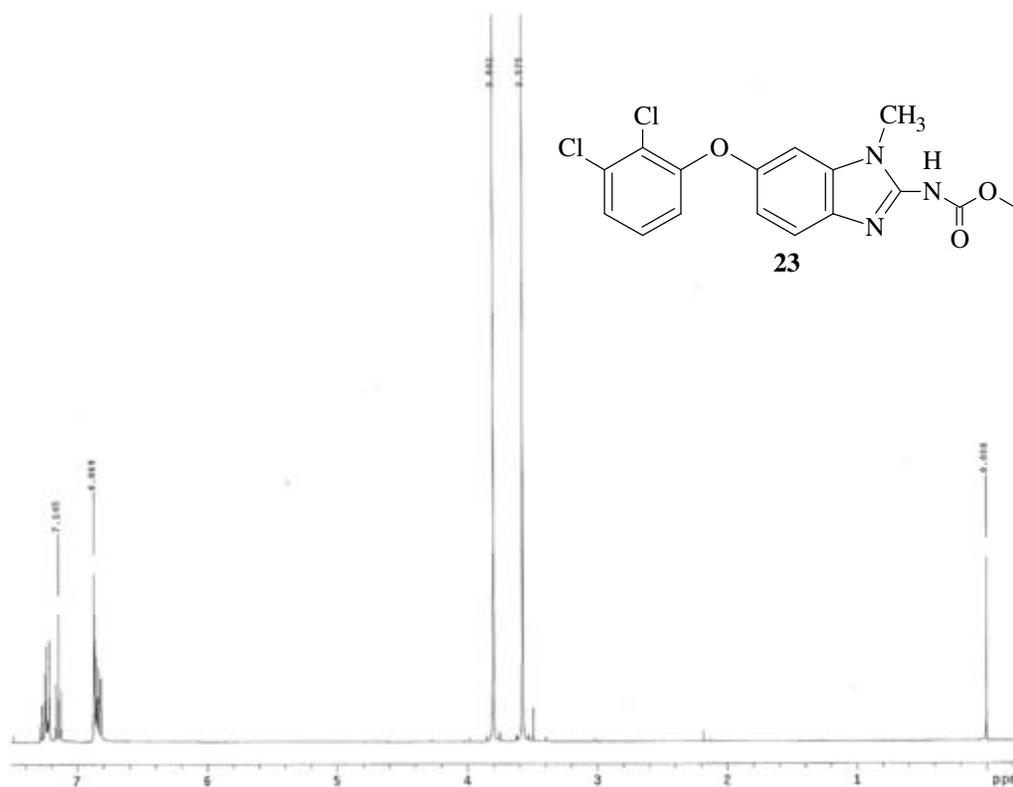
Espectro 67. RMN ¹H de 5-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (**38**)



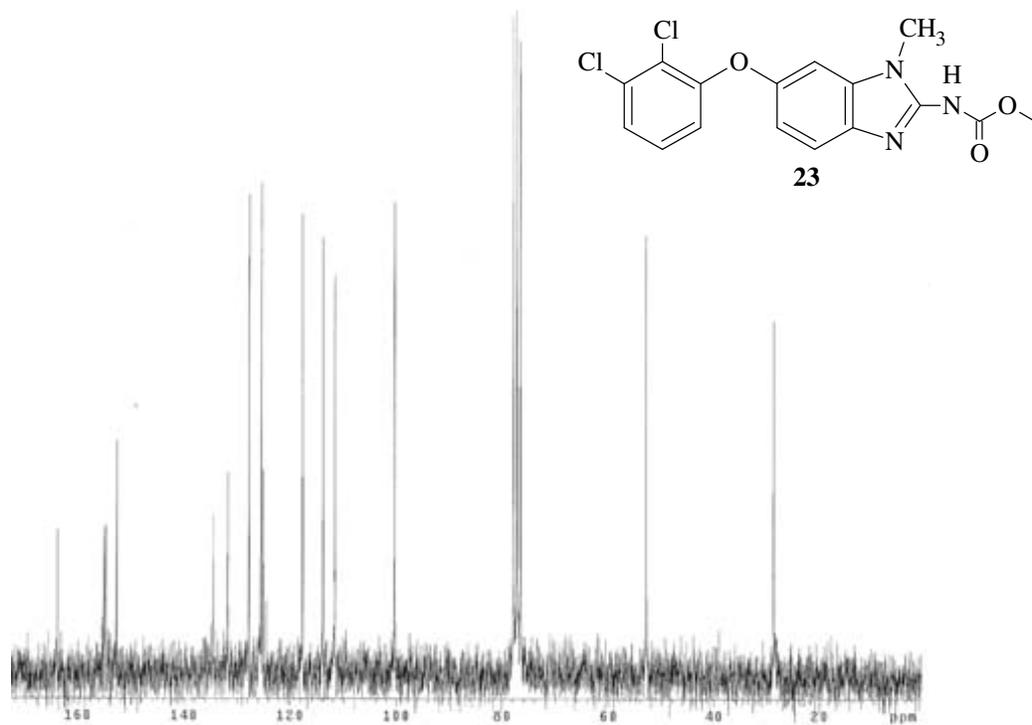
Espectro 68. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**23**)



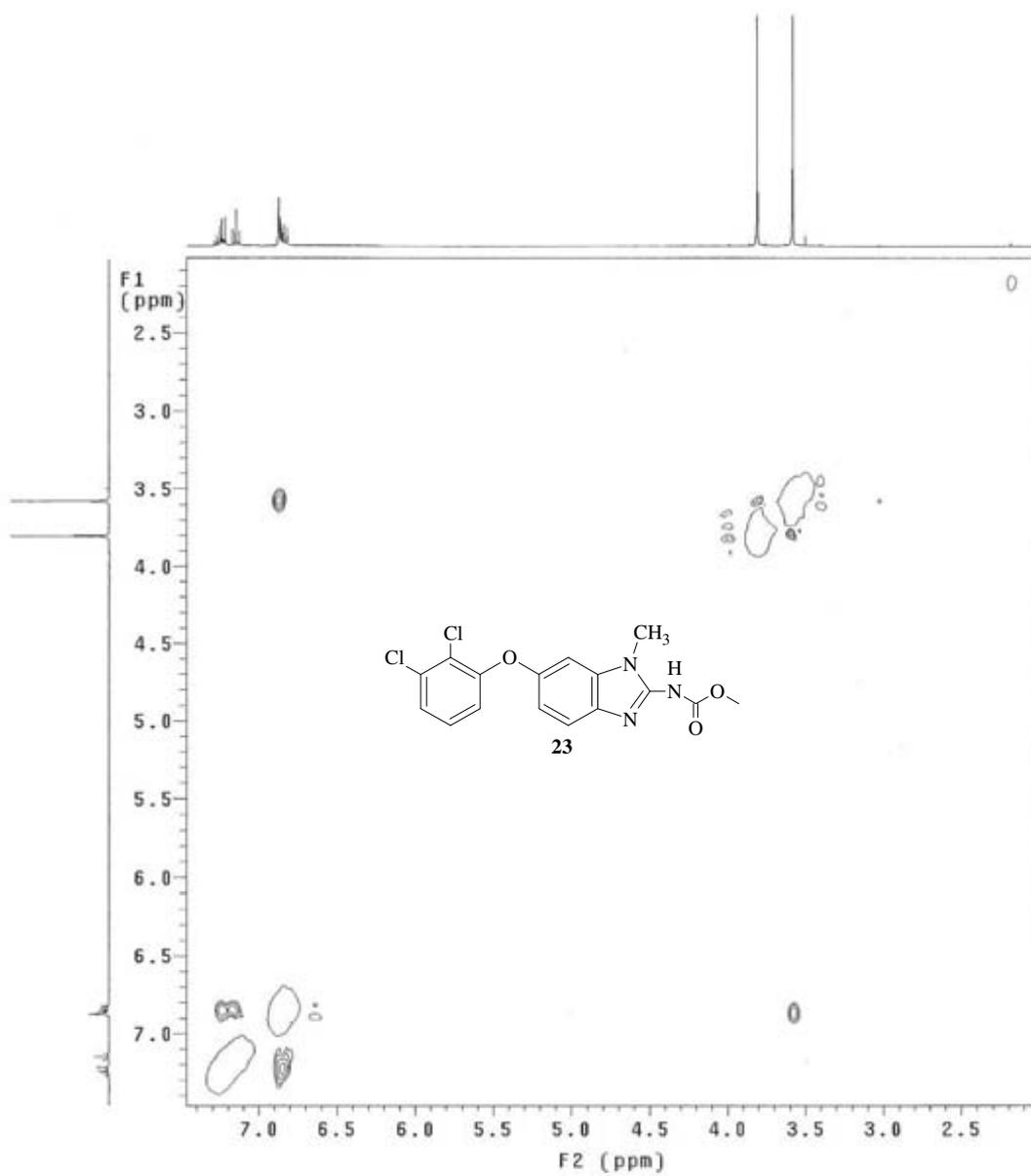
Espectro 69. EMFAB⁺ de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**23**)



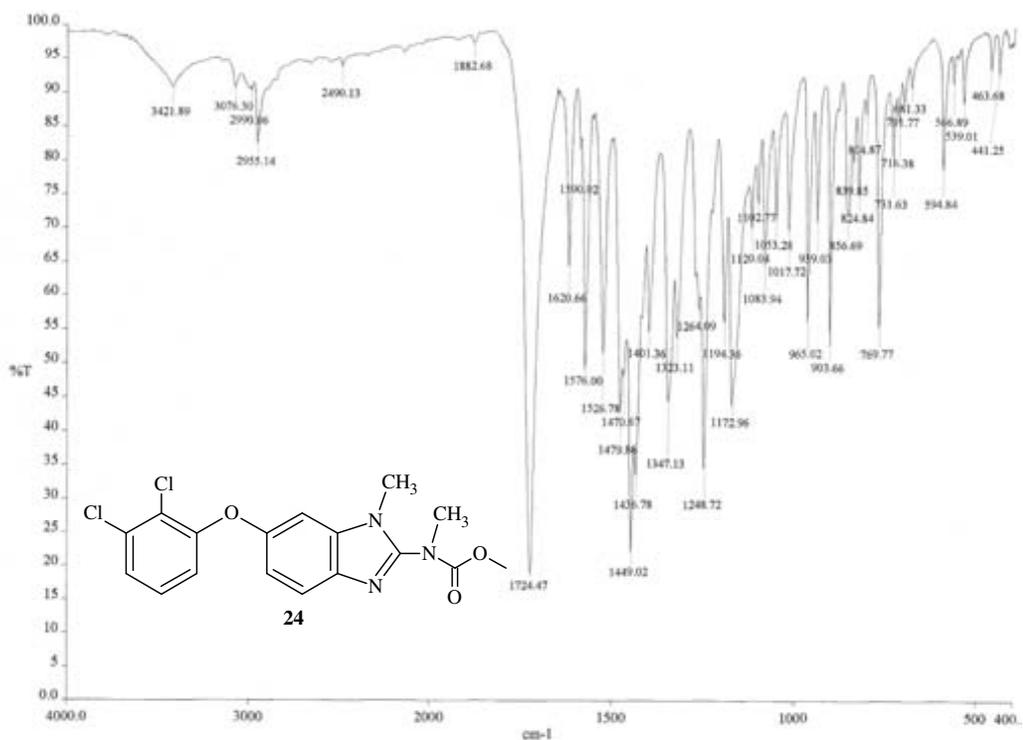
Espectro 70. RMN ¹H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**23**)



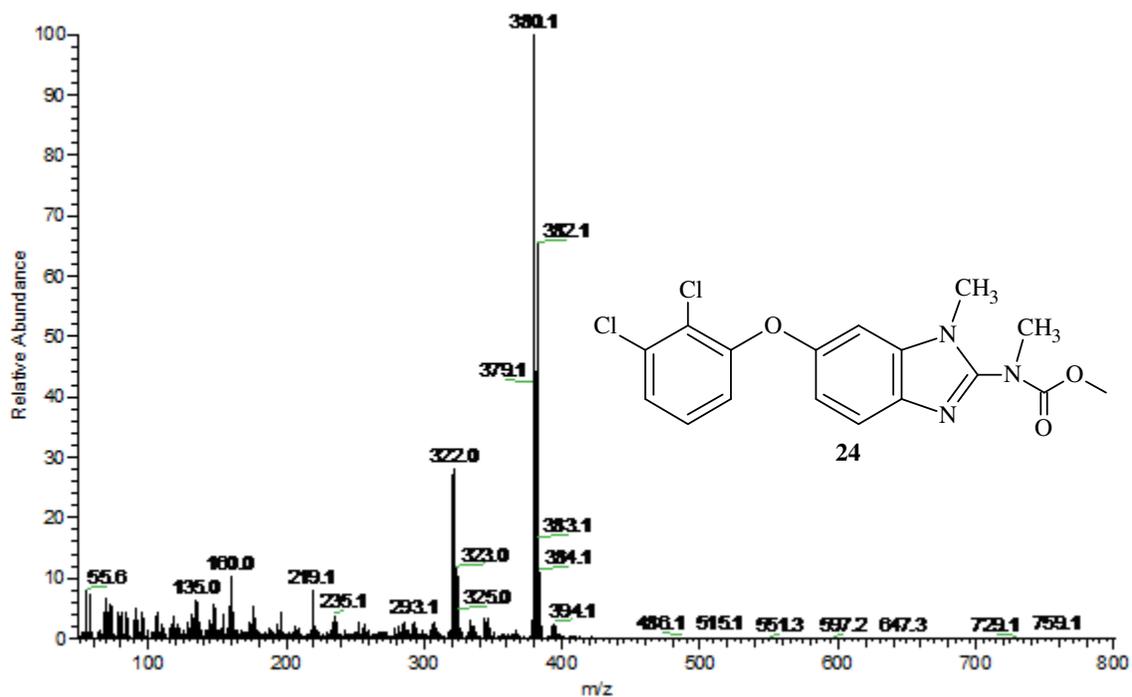
Espectro 71. RMN ^{13}C de 6-(2,3-diclorofenoxy)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**23**)



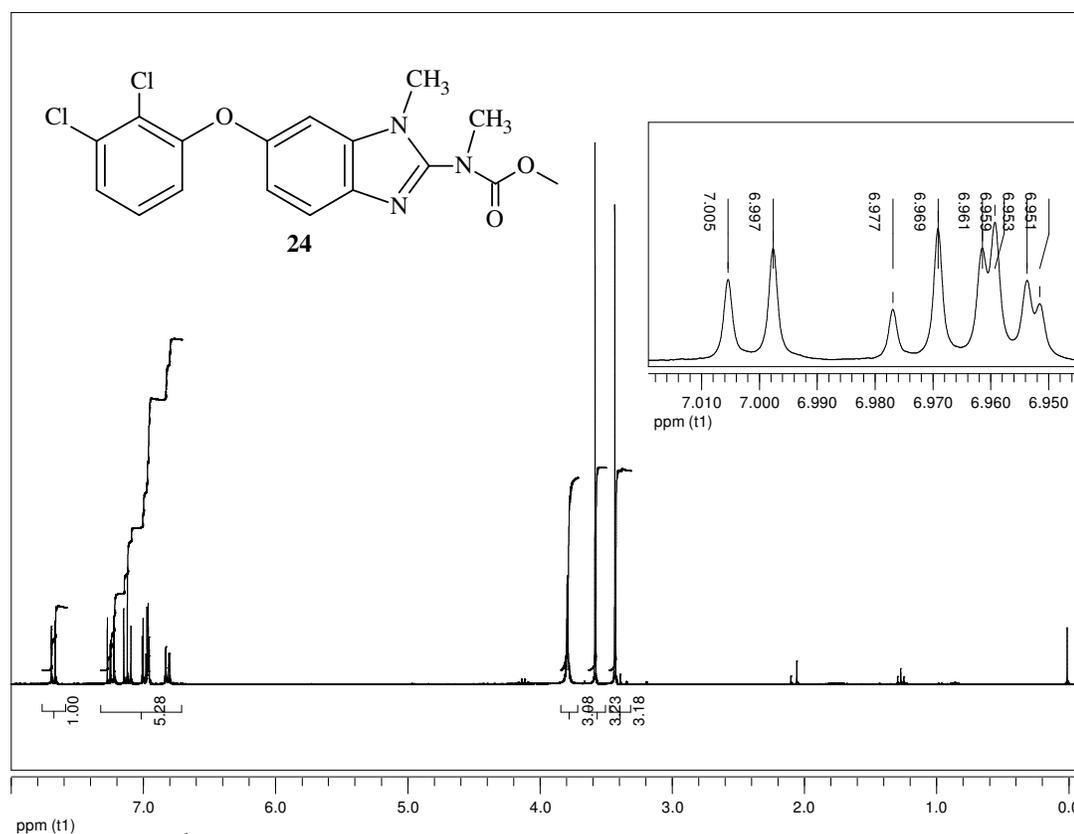
Espectro 72. NOESY de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-carbamato de metilo (**23**)



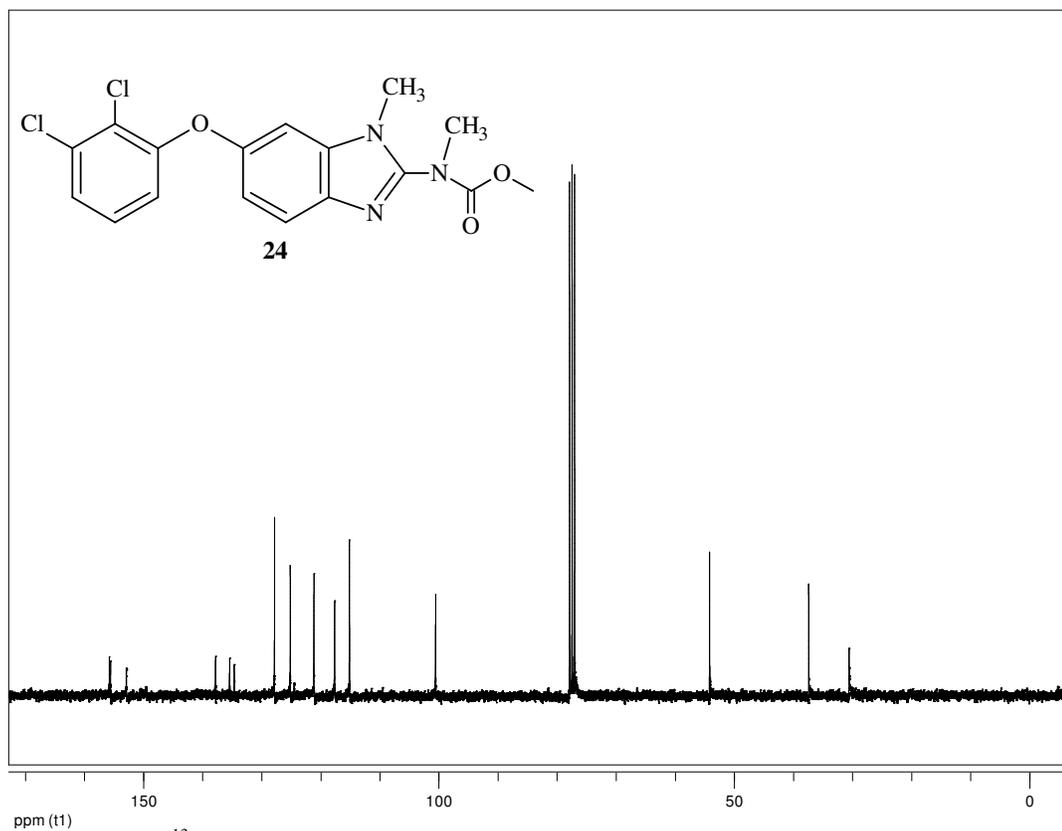
Espectro 73. IR de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**24**)



Espectro 74. EMFAB⁺ de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**24**)



Espectro 75. RMN ¹H de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**24**)



Espectro 76. RMN ¹³C de 6-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-metilcarbamato de metilo (**24**)