



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Síntesis y actividad antiparasitaria del
2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol
5-carboxilato de 4-nitrobencilo.”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
FRANCISCO ERNESTO SANDOVAL RODRÍGUEZ



MÉXICO, D. F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Profa.	Maria Luisa García Padilla
Vocal	Prof.	Alfonso Lira Rocha
Secretario	Prof.	Francisco Hernández Luis
1er Suplente	Prof.	Rodolfo Alvarez Manzo
2do Suplente	Profa.	Elena Ramírez López

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 122, Conjunto "E", Facultad de Química, Departamento de Farmacia, UNAM.

Asesor del tema:

Dr. Francisco Hernández Luis

Supervisor técnico:

M. en C. Israel Velázquez Martínez

Sustentante

Francisco Ernesto Sandoval Rodríguez

La presente tesis se realizó en el Laboratorio 122, del área de Investigación en el Diseño y Síntesis de Compuestos Químicos con Actividad Antiparasitaria, en el Departamento de Farmacia, del conjunto "E", Facultad de Química, de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Francisco Hernández Luis, Profesor Titular "A" de T. C. de la Facultad de Química, UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres (Mary y Alvaro) y a mis hermanos (Danae, Xochitl, Abia, Alvaro y Ernesto) por su paciencia durante mis estudios de Licenciatura.

A la QFB Yolanda Sandoval, Profesora de Química I y Química II, del Colegio de Ciencias y Humanidades, del Plantel Oriente, UNAM, por su entusiasmo, y por su inspiración en el maravilloso mundo de la Química.

Al Dr. Francisco Hernández Luis, por su ayuda y sus consejos para la realización de esta tesis.

Al M. en C. Israel Velazquez Martínez, por su ayuda durante la síntesis y análisis de los espectros.

A la USAI de la Facultad de Química, UNAM, por la realización de los espectros.

A la Dra. Helgi Jung Cook y a la M. en C. Francisca Palomares Alonso, del Instituto Nacional de Neurología, por realizar las pruebas de actividad biológica.

A la profesora María Luisa García Padilla por sus enseñanzas y por transmitirme su gran gusto por la Química Orgánica Heterocíclica.

A la Dra. Perla Castañeda López, por su apoyo y por permitirme participar en el subprograma 121, de Formación de Profesor.

A mi amiga Dulce: por su ayuda, sus consejos, y todos los buenos momentos que pasamos durante la carrera.

A mi amiga Irma: por ser tan paciente, escucharme y por todos los buenos momentos que pasamos, por creer en mí, además de ser una gran persona, siempre estarás presente.

A mi gran amigo Noe: por toda la complicidad durante la carrera, por estar conmigo, ser una persona que tiene buena cara en los malos momentos, siempre existirá nuestra amistad.

A mis amigos de la BB del Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Oriente: Ana, AXL, Erandi, Guillermo, Maricruz, Mariana, Buzo, David, Elizabeth.

A mis amigos de la banca de la Facultad de Filosofía, en especial para Alejandro, David y Ernesto, amigos de la Universidad y del CCH-Oriente.

A la familia Monroy Muñoz y a la Familia Ramírez Alejo, por todas las buenas atenciones, por soportar nuestras desveladas y sus atenciones.

A la profesora y amiga, M en C. Thalina Rodríguez Fernández por su ayuda y por su gran entusiasmo, muchas gracias.

A mis sobrinas Damara y Lorelei, por tomarme como un estímulo para que ellas continúen sus estudios.

A todos mis profesores de la carrera.

Agua, Tequila, Aguardiente, arriba, arriba el CCH-Oriente.

ÍNDICE

Contenido:

	Página
1. Introducción	2
2. Marco teórico	
2.1. Generalidades de la Neurocisticercosis	
2.2. La cisticercosis experimental murina por <i>Taenia crassiceps</i>	4
2.3. Los derivados del bencimidazol como agentes antiparasitarios	12
2.4. Los nitroaromáticos como compuestos bioactivos	13
2.5. La estrategia de la hibridación molecular	14
	17
3. Hipótesis y objetivos	19
4. Diseño experimental	21
5. Resultados y discusión	
5.1. Parte química	
5.2. Parte biológica	26
	31
6. Conclusiones	33
Bibliografía	34
Apéndice	37

Lista de abreviaturas

ABZ	albendazol
ABZSO	sulfóxido de albendazol
BZD	bencimidazol
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-eno
DMSO	dimetilsulfóxido
FAB+	Fast Atom Bombardement (Bombardeo Rápido Atómico)
EM	Espectrometría de Masas
eV	electronvolts
FHL18	2-[(metoxicarbonil)amino]-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo
I	ácido 3,4-bis{[3-(metoxicarbonil)carbamotioil]amino} benzoico
IL-1	Interleucina 1
IM	Intramuscular
IR	Infrarrojo
kDa	kiloDalton
LCR	Líquido Céfalo Raquídeo
m/z	relación masa/carga
meq	miliequivalente
mL	miliLitro
mmol	milimol
N ₂	nitrógeno molecular
NCC	neurocistercosis
NTB	netobimín
PBS	disolución buffer de fosfatos
ppm	partes por millon
PZQ	praziquantel
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TMS	tetrametilsilano
TNF α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
δ	desplazamiento químico
λ	longitud de onda

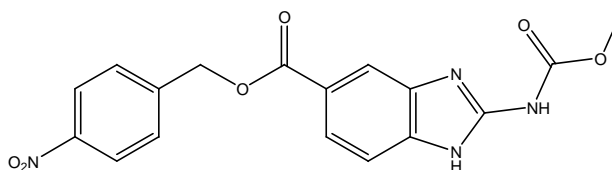
1. INTRODUCCIÓN

La neurocisticercosis (NCC) es una enfermedad del sistema nervioso central (SNC) causada por la larva (cisticerco) del parásito *Taenia solium*. Es un padecimiento grave porque llega a producir severas lesiones e incluso la muerte del paciente.^[1,2,3] Actualmente se dispone sólo de dos fármacos para tratarla: el albendazol y el praziquantel. Ambos compuestos presentan un extenso metabolismo de primer paso (biotransformación por enzimas hepáticas) que repercute en su eficacia clínica. Adicionalmente, el albendazol presenta problemas de insolubilidad acuosa, y en animales de experimentación se ha informado sobre posibles efectos teratogénicos. Por cuestiones de costo económico se prefiere el uso de albendazol como fármaco de primera elección, para el tratamiento de la NCC.

Estos fármacos utilizados en la clínica, fueron introducidos hace más de veinte años, por lo que diversos parásitos han desarrollado mecanismos de evasión para anular los efectos de los mismos. Por ello actualmente surge la necesidad de investigar sobre nuevos compuestos que posean actividad antiparasitaria.

En la Química Farmacéutica una de las estrategias utilizadas para la búsqueda y optimización de principios activos es la hibridación molecular, la cual consiste en la unión covalente de dos moléculas, o porciones moleculares distintas, con probada actividad biológica. Para el caso de antiparasitarios, la unión de dos moléculas bioactivas producirá un compuesto con menor probabilidad de generar cepas resistentes.^[4]

El estudio que se presenta tuvo como finalidad la síntesis y determinación de propiedades espectroscópicas de una molécula diseñada como un híbrido constituido por el 1*H*-bencimidazol-2-carbamato de metilo y el [(4-nitrobencil)oxi]carbonilo.



2-[(metoxycarbonyl)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo (**FHL18**)

Una vez obtenido el compuesto híbrido en cantidades suficientes, en el Instituto Nacional de Neurología, se determinó su actividad *in vitro* contra la fase larvaria de *Taenia crassiceps*. Este organismo se utiliza como especie modelo de cisticercosis experimental murina, para explorar la actividad cisticida de sustancias a ser evaluadas posteriormente *in vivo* contra el cisticerco de *T. solium*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de la Neurocisticercosis

La neurocisticercosis (NCC) es una enfermedad sistémica causada por la forma larvaria (cisticerco) del helminto *Taenia solium*. Este parásito se aloja en el sistema nervioso central (SNC) afectando particularmente al hombre el cual es el hospedero natural definitivo. La NCC es un padecimiento grave porque se presentan severas lesiones que llevan a la muerte del paciente.^[1, 2, 3] Adicionalmente, el cisticerco se puede establecer en otros tejidos y órganos del ser humano, como en el ojo y el músculo.

El cerdo es el hospedero intermediario en el cual el cisticerco se localiza en las masas musculares, causando pérdidas económicas considerables, por el decomiso de carne parasitada.

2.1.1. Historia

Esta enfermedad ya se conocía desde la antigüedad, relacionada con los testimonios bíblicos, donde Moisés, por instrucciones médicas de los egipcios, dictó leyes sanitarias de protección contra la carne de animales infectados con “piedras” perjudiciales para la salud. Mientras que los griegos, Aristóteles y Aristófanes observaron la larva en la lengua del cerdo, describiéndola como semejante al granizo.

No fue hasta el año de 1558 cuando Johannes Udalric Rumler encontró el parásito en un epiléptico; aunque pensó que se trataba de un tumor en la duramadre. Inicialmente, el cisticerco no fue relacionado con *Taenia solium*, del cual se conocía únicamente la fase adulta. Por tal motivo, erróneamente se nombró al cisticerco como *Cisticerco cellulosa* o *Cisticerco racemosus*. Muchos años después se demostró que el cisticerco que infecta al cerdo, correspondía al cisticerco que afecta al hombre y cuya ingestión provoca el desarrollo de *Taenia solium* en su forma adulta.^[5,6]

El primer informe sobre NCC humana en México se publicó en 1910. El doctor Ignacio Gómez Izquierdo, encontró la presencia de cisticercos en la autopsia de una paciente proveniente de Cuba, que murió en un asilo psiquiátrico, con diagnóstico de alcoholismo o tuberculosis. Desde el año 1910, en México se estableció la inspección sanitaria obligatoria de la carne del cerdo en rastros y posteriormente en frigoríficos.^[7]

2.1.2. Distribución

La NCC humana y porcina se distribuye ampliamente en diversas zonas del mundo como África, Asia y América. Es una enfermedad endémica en países como Brasil, Chile, Perú, Colombia y México (Figura 1). Cabe señalar que aún cuando la NCC se presenta en todas las entidades de la República Mexicana, los mayores índices se reportan en los estados de Guerrero, Michoacán, Jalisco y Puebla. En México la población ha nombrado al cisticerco de *Taenia solium* con diversos sobrenombres según la región del país como granillo, tomatillo, sapo, perla, perlilla, liendrilla y zahuate, entre otros.^[8,9]



Figura 1. Distribución de la cisticercosis en el mundo.

La epilepsia es la manifestación clínica más común, aunque también se observan alteraciones motoras, sensoriales y de la función mental asociada a características propias del parásito y de su hospedero.^[10,11,12] El Instituto Nacional de Neurología reporta que el 11% de todos los casos que ingresan con trastornos neurológicos a este nosocomio se deben a NCC ocasionada por el cisticerco de *Taenia solium*.^[12,13]

En estudios realizados en México se informa que la frecuencia de NCC humana es desde 0.4 hasta 7.6%, de acuerdo con datos relacionados con autopsias y otros estudios seroepidemiológicos. Además el impacto en la salud humana también presenta implicaciones socioeconómicas, como consecuencia de la discapacidad del paciente, en el costo económico, en su diagnóstico y en su tratamiento.^[12]

2.1.3. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *T. solium* se puede dividir en dos fases; la primera ocurre en el hospedero intermediario (cerdo) y la segunda en el hospedero definitivo (humano)

(Figura 2). El ser humano es el único hospedero definitivo del gusano adulto y responsable de la infección de los hospederos intermediarios porcino y otros humanos.^[8]

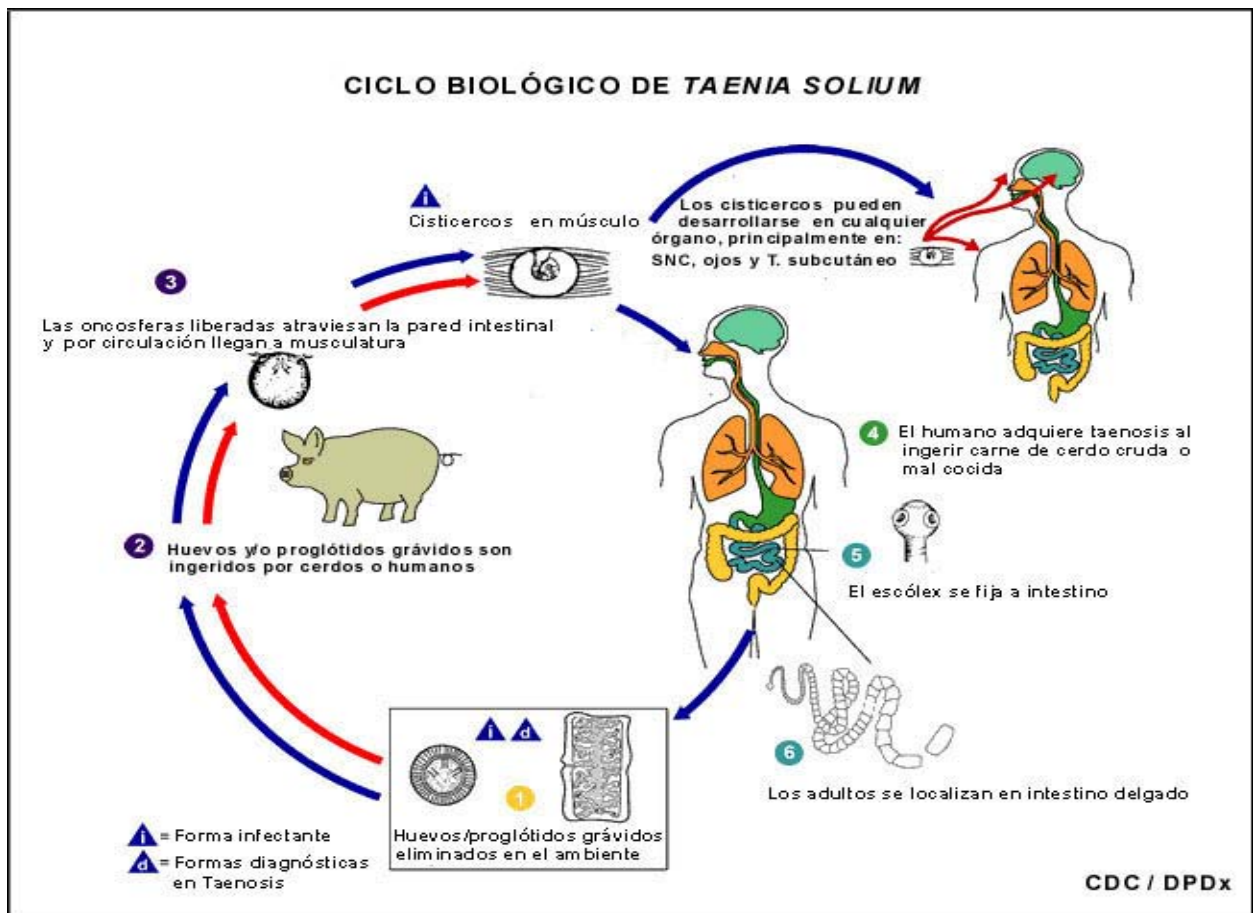


Figura 2. Ciclo de vida de *Taenia solium*.

El inicio de la primera fase es la ingestión de los huevos de *T. solium* por el hospedero intermediario. Las enzimas proteolíticas del estómago e intestino destruyen el embrióforo (una envoltura protectora que recubre el embrión para sobrevivir en el medio ambiente). La oncosfera o embrión hexacanto activado, se fija momentáneamente a la pared intestinal por medio de sus tres pares de ganchos, libera enzimas hidrolíticas que destruyen el tejido y atraviesa la barrera intestinal; llega al torrente circulatorio o linfático para localizarse en cualquier órgano. De ser estructura microscópica continúa su desarrollo hasta transformarse en cisticerco, en un tiempo promedio de tres a cuatro meses, dando como resultado la cisticercosis porcina.

El cisticerco (Figura 3) es una vesícula translúcida, ovoide o circular de 5 a 10 mm de diámetro, con un pequeño gusano o escolex metido hacia adentro (invaginado) que puede permanecer en los tejidos del hospedero intermediario durante varios años, rodeado por una cápsula de tejido conectivo. La vesícula está llena de un fluido

transparente que contiene proteínas del parásito y del huésped. Hay que resaltar que el tegumento y la pared vesicular son el sitio de contacto del parásito con el hospedero y desempeñan un papel central en el mantenimiento de la relación huésped-parásito.^[6-14]

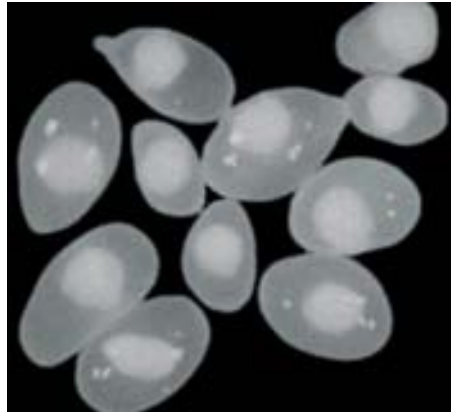


Figura 3. Cisticercos *T. solium*.

El ciclo biológico se completa cuando el humano consume carne de cerdo, mal cocida o cruda, parasitada con cisticercos vivos. Al llegar por vía oral, el cisticerco se evagina por la acción enzimática y biliar. Se ancla por medio de su escólex en el intestino delgado, para continuar su desarrollo hasta alcanzar la forma adulta o de “solitaria” en un tiempo de cuatro meses.

En más de una ocasión el ser humano actúa como huésped intermediario accidental, al ingerir alimentos, frutas o agua contaminada con huevos infectantes provenientes de un individuo con teniasis; este último inclusive puede autoinfectarse mediante la vía ano-mano-boca. Se menciona también la posibilidad de infección por peristaltismo inverso, el mecanismo de cómo los huevos infectantes se transforman en cisticercos es similar al descrito en el cerdo originándose la cisticercosis humana.

El parásito en el tracto gastrointestinal perfora los vasos sanguíneos pequeños para ingresar al torrente circulatorio, el cual migra hacia los órganos blanco (músculo estriado, corazón, cerebro, ojo y tejido subcutáneo) donde se establece y desarrolla el cisticerco (Figura 4 y 5).^[1,6,8,10]

El período de incubación es largo, habitualmente de cuatro a cinco años, y los síntomas varían en función del sitio en donde se establezcan los cisticercos, así como el estado y número de parásitos y la reacción inmunológica del hospedero.



Figura 4. Lesiones parenquimatosas múltiples del SNC.



Figura 5. Se observa el área de mayor densidad subretiniana del cisticerco correspondiente al escolex.

2.1.4. Respuesta del hospedero en la neurocisticercosis y patogénesis

Debido a los trabajos de investigación,^[3] se ha podido determinar que los anticuerpos IgG, rodean a la larva, enmascarándola y propiciando que el huésped la reconozca como propia mientras está viva. Se ha identificado un componente del parásito que es altamente inmunogénico, denominado antígeno B, que desvía la respuesta inmune hacia él, y al ser secretado induce la fijación del complemento, contra el cual el huésped forma anticuerpos específicos, en este caso la reacción inmunológica desencadenada se realiza a distancia y alejada de la superficie del parásito. En cambio la respuesta mediada por células, en este padecimiento se encuentra deprimida, debido a la liberación de moléculas inmunosupresoras, en especial las que involucran a los linfocitos T. Este fenómeno se ha estudiado en animales, identificándose un “factor” que induce un efecto depresivo sobre cultivos de linfocitos humanos.^[6,14]

Otro fenómeno es la sobrevivencia de la larva en sitios inmunológicamente privilegiados como la cámara anterior del ojo y el cerebro. La presencia de más de un cisticerco en diferentes sitios del cerebro, puede producir diversas expresiones clínicas en un solo individuo, como parestesia, anestesia localizada, síntomas visuales y auditivos, afasia y amnesia. La gravedad del cuadro clínico depende de la intensidad de la inflamación.^[14]

Tanto en cerdos como en el hombre, los cisticercos viables están rodeados por una discreta reacción inflamatoria, formada por monocitos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. En el hombre, en un momento tardío de la infección, se puede desarrollar una reacción granulomatosa intensa, que conduce a la destrucción

del cisticerco, que de modo gradual se calcifica, se endurece aproximadamente de dos a siete años (Figura 6).

Este proceso se debe a la reacción inflamatoria en la que se liberan citocinas, como la IL-1 y el TNF α , las cuales reclutan a otras células como los monocitos, eosinófilos, linfocitos y células plasmáticas y rodean al cisticerco. Cuando está totalmente desarrollada la lesión, se forma un granuloma que contiene alrededor fibroblastos, linfocitos y monocitos. Subsecuentemente puede cicatrizar por fibrosis o por mineralización (calcificación). En muchos individuos, la respuesta inmunitaria es leve o crónica, y no es capaz de destruir al parásito, aunque sí causa daños a los tejidos circundantes (Figura 6).

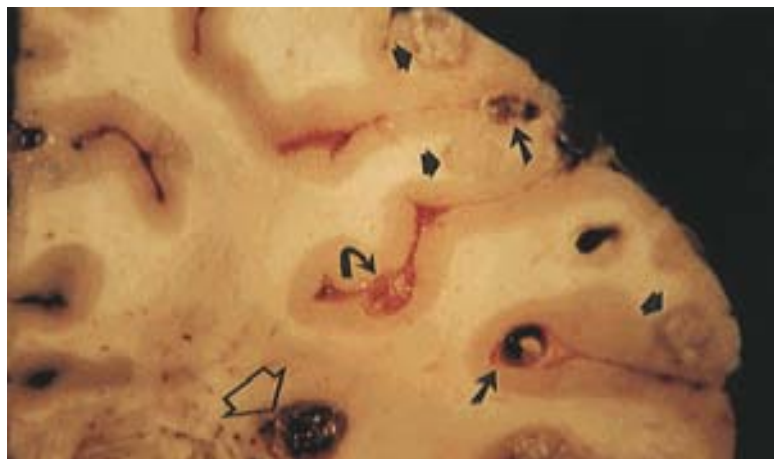


Figura 6. Aspecto macroscópico de cisticercos parenquimatosos en diversos estadios evolutivos: quistes vesiculares (flecha recta), quistes coloidales (flecha curva), granulomas (cabeza de flecha) y calcificaciones (flecha hueca).^[2]

Por otro lado, existen estudios recientes que sugieren que la NCC puede ser un factor de riesgo para cáncer, ya que el 6% de los casos con enfermedades hematológicas malignas y el 17% de los pacientes con glioma, tenían este padecimiento. Como se mencionó anteriormente el parásito es capaz de deprimir la respuesta inmune del hospedero, siendo éste un factor que predispone al desarrollo de cáncer.^[15]

2.1.5. Diagnóstico

Se realizan exámenes coproparasitológicos de concentración (Faust o Ritchie) en busca de huevos de *Taenia* en las heces. Esta técnica no es específica, ya que no

es posible diferenciar morfológicamente, entre los huevos de *T. solium* y *Taenia saginata*. En las muestras de materia fecal también se pueden buscar coproantígenos por ELISA; esta técnica para *T. solium* tiene una sensibilidad de 98% y una especificidad de 99.2%.

El diagnóstico presuntivo de NCC se basa en el historial clínico y se confirma con estudios de neuroimagen. La tomografía por computadora es muy útil en la detección de cisticercos localizados en el parénquima cerebral; en cambio los estudios de Resonancia Magnética Nuclear pueden ser útiles en aquellos ubicados a nivel intraventricular y en el espacio subaracnoideo.

En la NCC parenquimatosa activa, los estudios de tomografía y de Resonancia Magnética Nuclear pueden mostrar imágenes características como áreas hipodensas, redondeadas y circunscritas de 2 a 4 mm de diámetro, que corresponden a parásitos viables (fase vesicular). Cuando el parásito empieza a degenerar (NCC tradicional), el líquido vesicular emite señales un poco más altas que el LCR (Figura 7 y 8).

Cuando se observan una o más calcificaciones, sin ninguna otra lesión se describe como una NCC inactiva o una secuela de ella. De manera paralela a los estudios de imagen se deben realizar estudios inmunológicos, como ensayos de ELISA especialmente en países en donde el western blot e inmunotransferencia no están disponibles. Se han identificado otros antígenos de 10, 14 y 18 kDa, algunos han sido clonados y actualmente se está evaluando su utilidad diagnóstica, obtenidos del cisticerco y LCR o suero del paciente.



Figura 7. Tomografía indicando NCC 1 y 2.

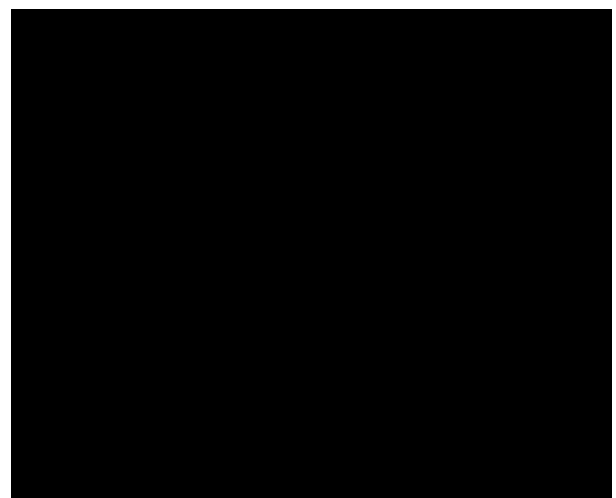


Figura 8. Resonancia Magnética Nuclear, fase T1. Revela múltiples lesiones quísticas, una de ellas de tamaño grande.

2.1.6. Tratamiento

Para combatir la NCC se usan el albendazol (ABZ) y el prazicuantel (PZQ), aunque ambos compuestos presentan biotransformación de primer paso que repercute en su eficacia terapéutica. Adicionalmente, el ABZ presenta problemas de insolubilidad acuosa. Por cuestiones económicas se prefiere el uso de albendazol.

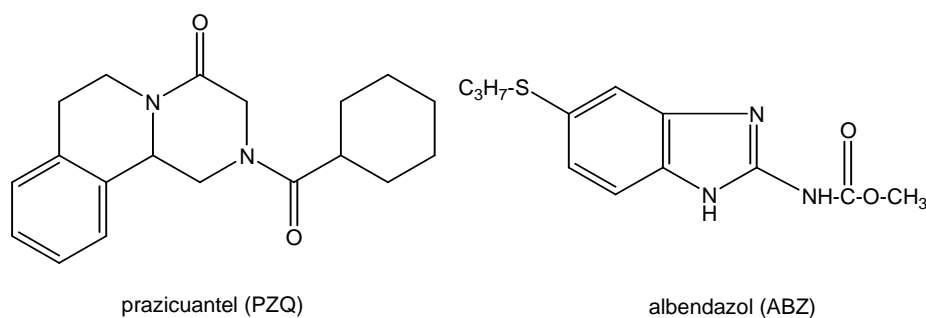


Figura 9. Estructuras químicas del prazicuantel y del albendazol.

El uso de ABZ ha mostrado su eficacia en un 80% en la forma parenquimatosa, a dosis diarias de 15 mg/kg de peso corporal por ocho días; este fármaco anula también la posibilidad de la formación de granulomas residuales que ocurren en pacientes no tratados y son causa frecuente de epilepsia.

Es recomendable aplicar de forma conjunta corticosteroides como la dexametasona, a una dosis de 10 a 20 mg, durante los cuatro primeros días, para evitar las reacciones inflamatorias agudas inducidas por la destrucción súbita del parásito. Estos antihelmínticos no deben suministrarse en niños menores de dos años o mujeres embarazadas por lo descrito anteriormente.^[2,13,17,18]

El ABZ sufre una biotransformación para dar lugar al sulfóxido de albendazol (ABZSO) el cual también posee actividad antihelmíntica. Aunque este metabolito es más soluble en agua, presenta problemas de estabilidad química, ya que tiende a oxidarse a la sulfona correspondiente, la cual carece de actividad antiparasitaria.^[17-20]

Actualmente se cuenta con algunos profármacos de derivados del bencimidazol como el metil tiofanato (profármaco del carbendazim) y netobimín (NTB) (profármaco del ABZ), para el tratamiento de algunas parasitosis intestinales. El NTB genera al albendazol al reducirse el grupo nitro, por acción de la microflora del intestino, y posterior ciclación intramolecular.^[21,22]

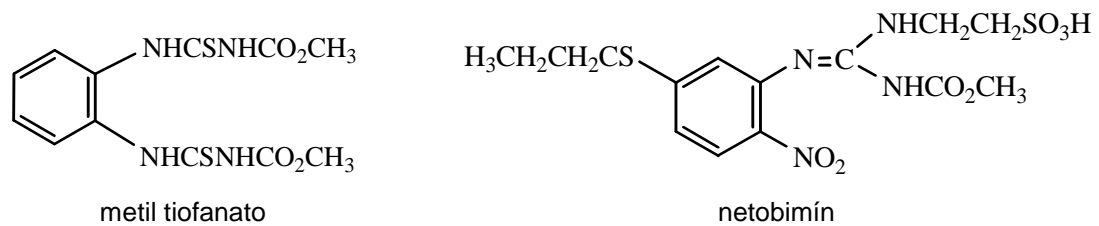


Figura 10. Ejemplos de profármacos de derivados bencimidazólicos antiparasitarios.

2.2. La cisticercosis experimental murina por *Taenia crassiceps*

Taenia crassiceps es un cestodo, es decir un gusano segmentado que en su forma adulta puede encontrarse en los intestinos de zorros en Europa y Norte América. El cisticerco de *Taenia crassiceps* se reproduce de forma asexual por gemación. Por lo que se ha facilitado enormemente su estudio, ya que puede mantenerse en el laboratorio inoculando cisticercos en la cavidad peritoneal de un ratón, además de que la larva de *T. solium* se invagina por lo que no se pueden realizar estudios *in vitro* para su investigación y evaluación de fármacos.^[23,24]

Este modelo experimental es una fuente de antígenos, que se utilizan en el inmunodiagnóstico de la enfermedad en humanos, para evaluación de fármacos y de vacunas contra la cisticercosis porcina por *T. solium*.^[24]

Además, la NCC experimental murina por *T. crassiceps*, es un sistema (experimental) que permite estudiar los factores biológicos y genéticos involucrados en la susceptibilidad y la resistencia del hospedero hacia la infección, en la modulación de los mecanismos de la respuesta inmune celular y humoral, así como en la naturaleza de las células inflamatorias e inmunocompetentes involucradas y en los cambios endocrinológicos ocurridos en el hospedero durante la infección.^[23-25]

2.3. Los derivados del bencimidazol como agentes antiparasitarios

En la estructura del bencimidazol se han explorado preferentemente tres sitios estructurales (A, B y C), con diferentes sustituyentes, para tratar de obtener derivados con mayor potencia antiparasitaria (Figura 11).

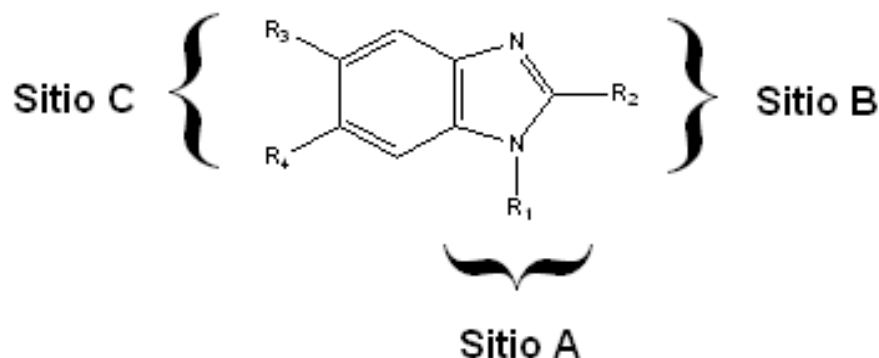


Figura 11. Estructura general de los derivados bencimidazólicos

Sitio A: Este sitio ha sido modificado para conocer la importancia del efecto tautomérico y del hidrógeno en la posición 1, mediante 1-alquilaciones, 1-acilaciones y 1-aril-acilaciones. Los resultados han denotado la importancia del hidrógeno en la posición 1 para conservar la actividad antihelmíntica, mediante la inhibición de la polimerización de la tubulina.^[26,27]

Sitio B: Los sustituyentes de la posición 2 desempeñan un papel sumamente notable en el perfil antiparasitario de la molécula. Posiblemente debido a la diferencia en solubilidad que presentan los distintos grupos funcionales.^[27,28]

Sitio C: Se ha demostrado que la presencia de sustituyentes, en las posiciones 5 y 6 de bencimidazoles 2-sustituídos, define el perfil antihelmíntico de estos compuestos. Por medio de esta sustitución se previene al compuesto del metabolismo de primer paso, que llevaría a la disminución de la actividad farmacológica.^[26,27]

La mayoría de los derivados del BZD ocasionan cambios bioquímicos en los helmintos sensibles, por ejemplo:

- a) inhibición de la enzima fumarato reductasa en las mitocondrias
- b) disminución del transporte de glucosa
- c) desacoplamiento de la fosforilación oxidativa
- d) inhibición de la polimerización de microtúbulos, al unirse a la β -tubulina.

[18,19,27,28]

La toxicidad selectiva de dichos compuestos, depende de la unión específica y de la afinidad por la β -tubulina del parásito, se produce a concentraciones mucho menores que las que se necesitan para unirse a las proteínas de los mamíferos. La resistencia a fármacos en nemátodos, se presenta con pérdida progresiva de genes que codifican para la β -tubulina “susceptible”.^[17,28,29]

2.4. Los nitroaromáticos como compuestos bioactivos

2.4.1. La nitrorreducción en el tratamiento del cáncer

Diversas terapias usan a los profármacos que requieren biorreducción para generar compuestos antineoplásicos activos. Estos compuestos fueron desarrollados para actuar en las regiones hipóxicas de los tumores sólidos. Las células de estos tumores tienen la característica de sobre-expresar enzimas como la NADH:citocromo *b5* reductasa (NBR), NADPH:citocromo P450 reductasa (NPR) o NAD(P)H:quinona oxidoreductasa 1 (NQO1), xantina oxidasa. Estas enzimas pueden reducir al grupo nitro por transferencia de uno o dos electrones. Los compuestos reducidos presentan características electrofílicas, con tendencia a unirse al ADN o a otras macromoléculas, de forma covalente (Figura 12).^[21,30,31]

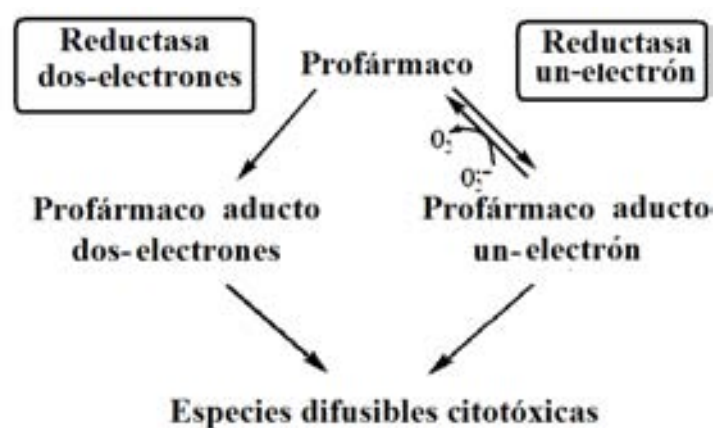


Figura 12. Activación-hipóxica de profármacos.^[31]

La reducción del grupo nitro a amino requiere de un total de seis electrones. Dado a que la reducción enzimática transfiere uno o dos electrones en cada paso, se han identificado intermediarios tales como el anión radical nitro, el anión radical nitroso y la hidroxilamina (Figura 13).

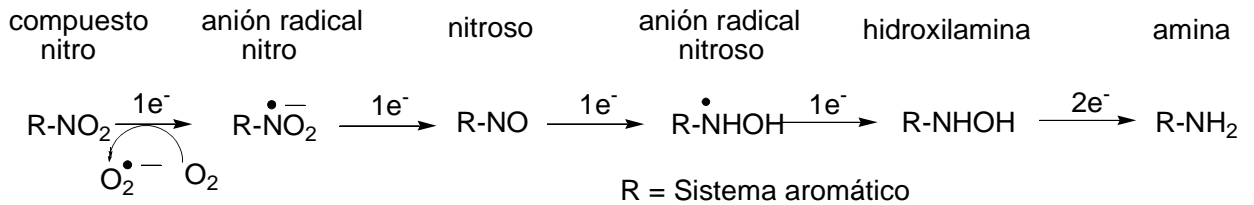


Figura 13. Reducción del grupo nitro.

Los compuestos intermediarios generados son especies electrofílicas capaces de reaccionar con el ADN o provocar la generación de otros radicales libres, con sus consecuencias posteriores (Figura 14).^[30-32]

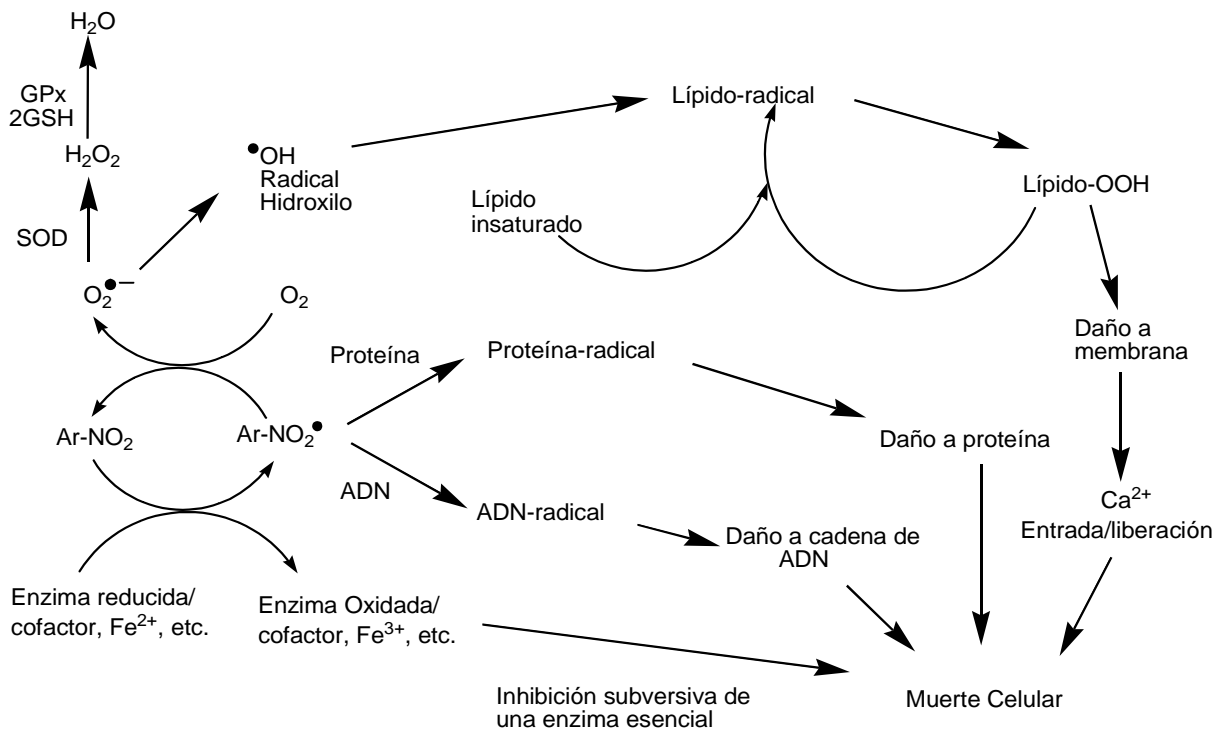


Figura 14. Mecanismo de acción de compuestos nitro aromáticos: vías de toxicidad celular en la generación de radicales libres e inducción de estrés oxidante. SOD, superóxido dismutasa. GPx, glutatión peroxidasa. GSH, glutatión.^[31]

2.4.2. La nitrorreducción en los antiparasitarios

El mecanismo de acción de los agentes antiparasitarios como el ronidazol, es desconocido, no obstante, con las bases bioquímicas, usando diversos análogos marcados radiactivamente, se sugiere que el ronidazol es activado por una reducción del grupo nitro, en donde se pueden formar dos compuestos capaces de unirse a alguna biomolécula como el ADN o a una proteína esencial para el parásito. Estos dos compuestos presentan grupos altamente reactivos, como es el caso de la hidroxilamina y de un doble enlace (Figura 15).^[32]

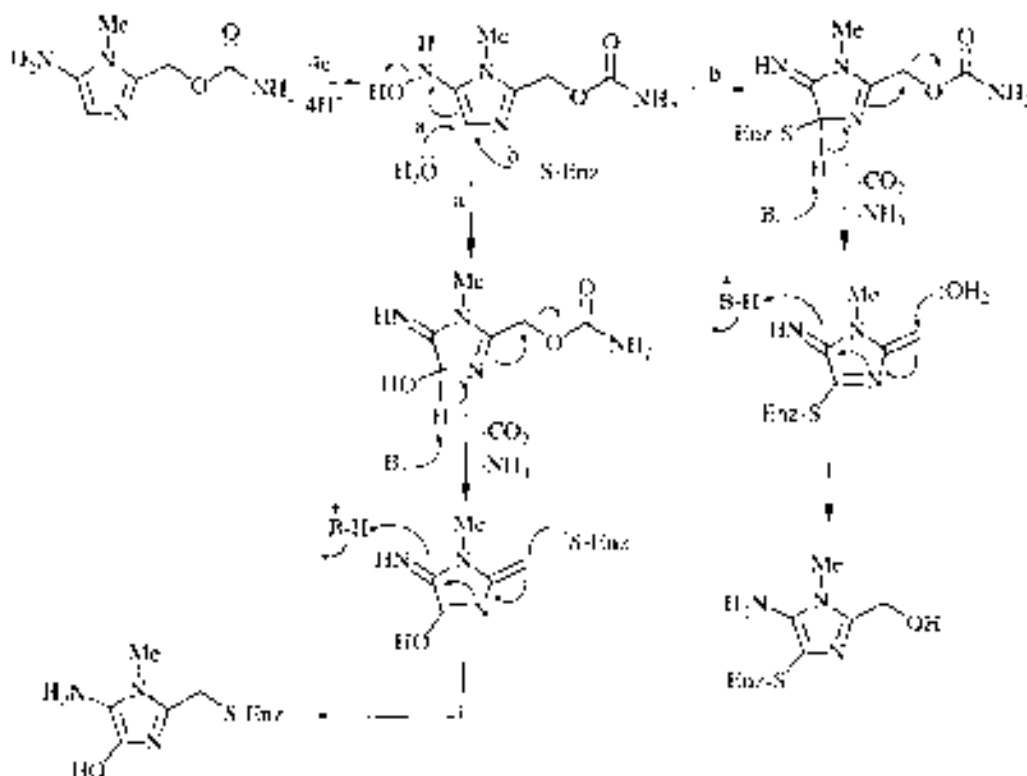
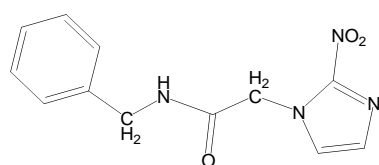
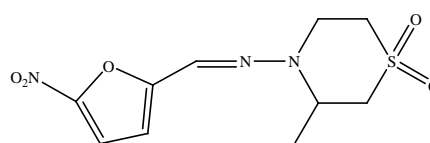


Figura 15. Bioactivación del ronidazol

Existen otros compuestos nitroaromáticos como el benznidazol y el nifurtimox, que actúan contra el protozooario *Trypanosoma cruzi*, a través de la generación de especies reactivas de oxígeno.



benznidazol



nifurtimox

2.5. La estrategia de la hibridación molecular

El compuesto prototipo es una molécula que presenta una actividad biológica de interés, pero puede poseer algunas características indeseables, tales como, alta toxicidad, otras actividades biológicas, dificultades de absorción, insolubilidad acuosa, problemas de inestabilidad química y metabólica.^[4,33]

El propósito principal de la optimización de un prototipo, es obtener nuevas moléculas con mejores propiedades fisicoquímicas que le permitan: tener una mejor permeación celular, evitar el reflujo de transportadores, disminuir la unión a proteínas y disminuir el metabolismo de primer paso.

En la Química Farmacéutica se dispone de tres modalidades para el procedimiento de modificación molecular:

- Simplificación del prototipo
- Modificación sistemática (replicación moduladora)
- Asociación de dos moléculas

La simplificación del prototipo es conocido también como “variación estructural disyuntiva”, se aplica principalmente a productos naturales de estructura compleja. Como su nombre lo indica la simplificación del prototipo consiste en reducir una porción de la estructura del prototipo, aunque en algunos casos la simplificación del prototipo conduce a la pérdida de la actividad. En casos esporádicos, el proceso es inverso y la estructura del prototipo, en vez de simplificarse, se hace más compleja.^[4]

La modificación sistemática consiste en la variación de determinados grupos funcionales o porciones estructurales del prototipo. Normalmente, la actividad farmacológica del prototipo se mantiene, pero en algunos casos se descubre en un análogo, un nuevo perfil farmacológico. La modificación sistemática es la metodología que se utiliza con mayor frecuencia, en la optimización de un prototipo.^[4]

La asociación de dos o más moléculas, a través de enlaces covalentes, para formar una nueva estructura que potencia la acción de ambos. Existen dos tipos de asociaciones: compuestos gemelos (asociación de moléculas iguales) o híbridos (asociación de dos moléculas distintas).^[4,33]

A continuación se puede observar la formación de un compuesto híbrido, que consiste en la unión del paracetamol, un fármaco analgésico y antipirético, con la aspirina, un fármaco analgésico, antipirético y antiinflamatorio, para dar lugar al benorilato, un fármaco de mayor potencia, usado como analgésico, antipirético y antiinflamatorio.

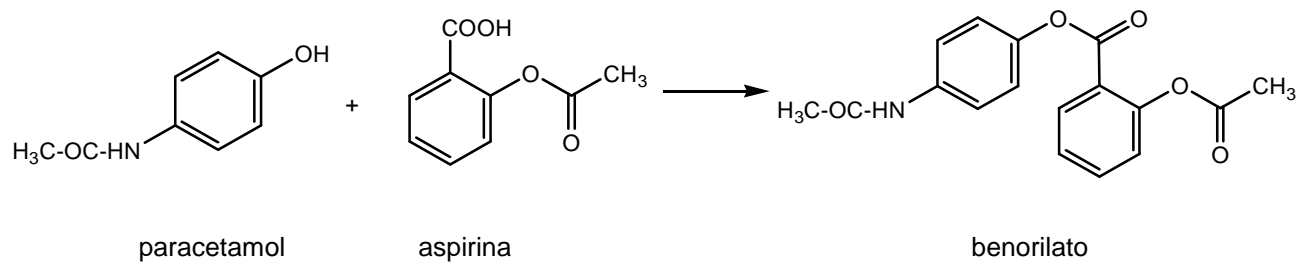
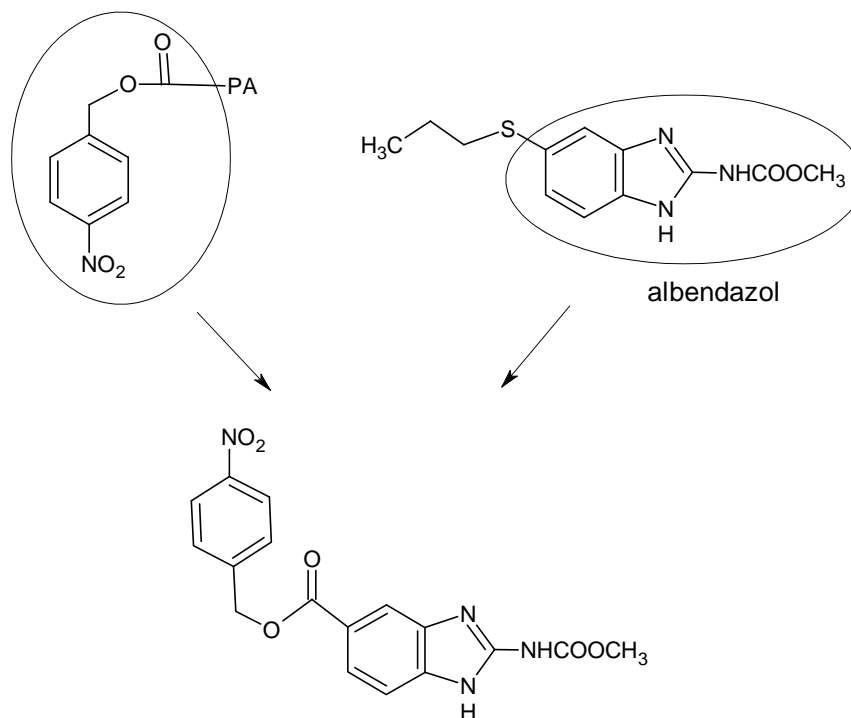


Figura 11. Híbrido diseñado por la unión de dos fármacos.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En este proyecto se pretende sintetizar un compuesto híbrido, por medio de la unión de dos grupos farmacofóricos, presentes en compuestos con actividad antiparasitaria, uno de ellos forma parte de la molécula de albendazol, para que posea un mecanismo de acción similar a este fármaco y una porción nitro aromática, presente en otros antiparasitarios, para que sufra el proceso de biorreducción. Bajo este contexto se plantea la siguiente hipótesis:

La unión covalente entre el 1*H*-bencimidazol-2-carbamato de metilo y el [(4-nitrobenzil)oxi]carbonilo, estructuras presentes en varios fármacos antiparasitarios, da como resultado un compuesto híbrido con actividad antiparasitaria.



compuesto híbrido **FHL18**

PA: Principio activo

De acuerdo a esta hipótesis se proponen los siguientes objetivos:

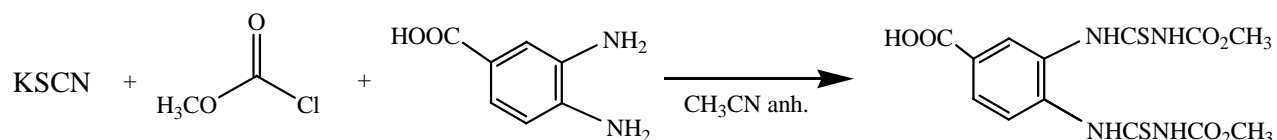
1. Realizar la síntesis del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo (**FHL18**).
2. Caracterizar la estructura del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo, utilizando técnicas analíticas como Espectroscopia de Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear Protónica, así como Espectrometría de Masas.
3. Finalmente comprobar la actividad antiparasitaria del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo, en el modelo experimental de *Taenia crassiceps*.

4. DISEÑO EXPERIMENTAL

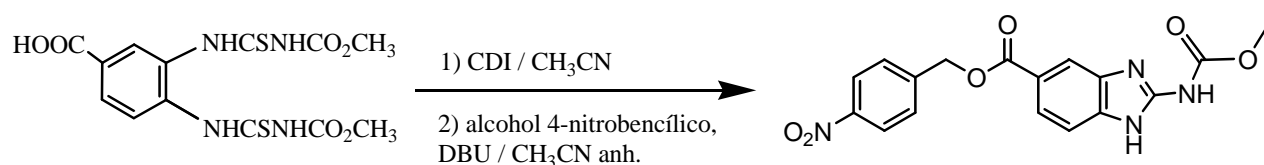
Parte química

El compuesto diseñado como híbrido **FHL18** se obtendrá de acuerdo con el siguiente esquema:

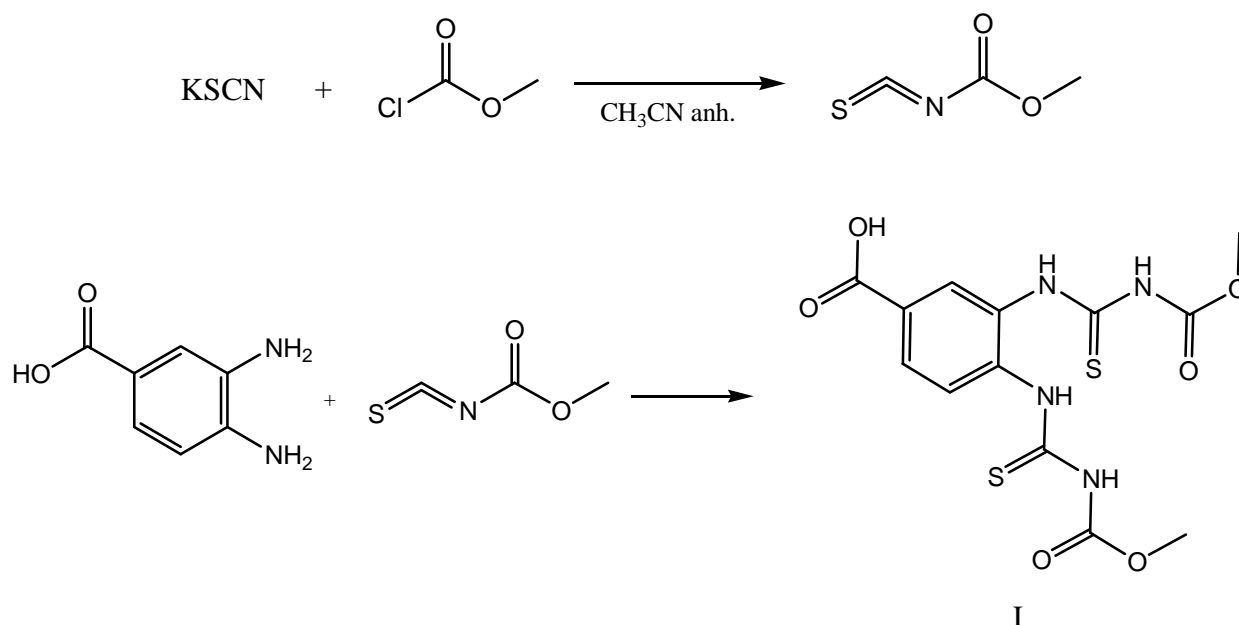
1er paso. Obtención del ácido 3,4-bis[[[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino]benzoico (I)



2do paso. Obtención del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-benzimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo (**FHL18**)



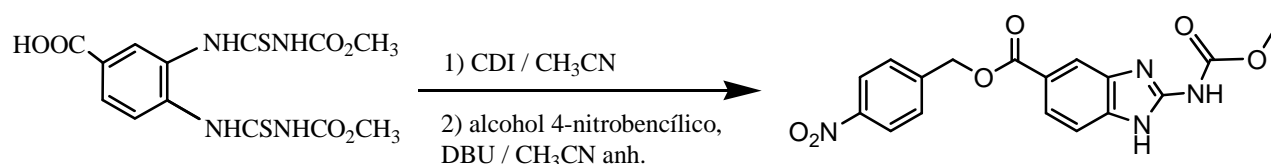
1. Obtención del ácido 3,4-bis[[(metoxicarbonil)carbamoil]amino]benzoico (I)



En un matraz bola de dos bocas de 250 mL, equipado con refrigerante en posición de reflujo, agitación magnética y calentamiento, se colocan 0.56 meq de tiocinato de potasio disueltos en 150 mL de acetonitrilo anhidro, con ayuda de un embudo de adición, se agrega gota a gota 0.54 meq de cloroformiato de metilo, al finalizar la adición del cloroformiato de metilo se deja con agitación a temperatura ambiente durante una hora. Pasado este tiempo se adicionan 0.143 meq del ácido 3,4-diaminobenzoico, se deja en posición de reflujo a una temperatura de 85°-90° C, hasta transformación total del reactivo (1-1.5 h.). Después de terminada* la reacción se enfría a temperatura ambiente, posteriormente se agregan 100 mL de agua fría, apareciendo un precipitado, el cual se filtra a vacío y se lava tres veces con agua. Finalmente se lava con benceno y se deja secar durante 48 horas, a temperatura ambiente. Se obtiene un sólido de color amarillo claro con punto de fusión definido.^[34] El rendimiento y el punto de fusión del compuesto se indican en la Tabla 1.

* El final de la reacción se monitorea a través de una cromatografía en capa delgada, usando como fase móvil una mezcla de cloroformo/metanol 90:10, hasta la transformación total del ácido 3,4-diaminobenzoico, en la mezcla de reacción. Como referencia una disolución del ácido 3,4-diaminobenzoico, usando como disolvente acetonitrilo.

2. Obtención del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo (**FHL18**).



Se prepara un globo unido a una llave, el cual se llena con gas N₂. En un matraz de una boca de 250 mL, se pesan en ambiente de N₂, 0.15 meq de 1,1-carbonildiimidazol (CDI) y se tapa el matraz con un tapón septum, a continuación se pesan 0.1 meq del ácido 3,4-bis[3-(metoxicarbonil)tioureido]benzoico y se suspenden en 30 mL de acetonitrilo anhidro. Se agrega la suspensión al matraz bola de 250 mL, se coloca el refrigerante en posición de reflujo y se conecta en la parte superior, el globo con N₂. Después se abre la llave y se purga el sistema en tres ocasiones. Comienza la agitación y calentamiento a 60° C, hasta la transformación total del ácido 3,4-bis[[3-(metoxicarbonil)carbamoil]amino]benzoico (1-1.5 h.). Se forma una suspensión de color blanco amarillento. Después se adicionan 0.1 meq del alcohol 4-nitrobencílico y 0.13 meq de DBU (es una base que permite la ciclación).^[35] Se coloca en posición de reflujo el refrigerante y se conecta el globo con gas N₂, se purga nuevamente el sistema tres veces. Se deja con agitación y calentamiento a 60° C, hasta la transformación total del alcohol 4-nitrobencílico** (18-24 h.).

Después de la adición del DBU se forma una suspensión de color amarillo, a los 30 minutos de calentamiento, se produce una suspensión de color verde oscuro y finalmente a las 12 horas de calentamiento, la mezcla de reacción se torna en color café oscuro y se forma un precipitado color blanco.

Tras la transformación total del reactivo aproximadamente 18-24 h., se enfría a temperatura ambiente, se filtra al vacío y se lava con cloruro de metileno. Se obtiene un sólido de color blanco que se deja secar. El rendimiento y el punto de fusión del compuesto **FHL18**, se indica en la Tabla 1.

** Se monitorea cada etapa de la reacción a través de una cromatografía en capa delgada, usando como fase móvil una mezcla de cloroformo/metanol 80:20, hasta la transformación total de cada reactivo. Se aplica en cada cromatopla una disolución de alcohol 4-nitrobencílico y del compuesto I, usando como disolvente acetonitrilo.

Parte biológica

La actividad antiparasitaria del compuesto **FHL18** se evaluó mediante el Ensayo de susceptibilidad *in vitro* para *Taenia crassiceps*.

Se emplearon las formas larvianas o cisticercos de la especie de *Taenia crassiceps*, cisticercos evaginados y parásitos adultos, obtenidos por infecciones experimentales de hámsters dorados inmunosuprimidos. Los cisticercos que se emplearon en los ensayos se recuperaron luego de la necropsia de cerdos naturalmente infectados, teniendo cuidado de obtenerlos completos y sin daño alguno. Después se lavaron exhaustivamente con PBS pH 7.2 y se agruparon para ser utilizados en las diferentes facetas de los experimentos por realizar. Para obtener los cisticercos evaginados, los cisticercos recuperados, después de la necropsia, se colocaron en medio de cultivo RPMI 1640, complementado con buffer HEPES (ácido N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-2-etanosulfónico) y el pH se ajustó a 7.2 con bicarbonato de sodio, en presencia de tripsina o sales biliares de cerdo al 1%. Se incubaron a 37 °C, durante dos horas, para inducir la evaginación.

Los ensayos de evaluación de la actividad de los compuestos se efectuaron con parásitos completos y con un buen aspecto aparente. Previo a los ensayos con los compuestos, los parásitos se acondicionaron al medio de cultivo ya mencionado y una vez que el compuesto fue adicionado, los parásitos se recuperaron a intervalos de tiempo definidos. Las evaluaciones macroscópicas que se realizaron mediante observación durante el tiempo en que los compuestos estuvieron en contacto con los parásitos fueron: aspecto general, motilidad, cambio de color, destrucción de los parásitos. En el caso de cisticercos, si existe la posibilidad de recuperarlos bien, los parásitos se procesaron para recuperar su fluido vesicular y sus tejidos mediante ultracentrifugación a 100 000 rpm. Grupos de 30 +/- 5 parásitos fueron incubados *in vitro* en placas multipozos de 2.5 cm de diámetro, a 37 °C, bajo una atmósfera de 5% de CO₂ y 90% de humedad, a los cuales se les adicionaron 4 mL de medio de cultivo con el compuesto a evaluar en dos concentraciones. Como control negativo se cultivaron los parásitos en medio con 0.125% de DMSO y 0.075% de etanol, que corresponden a las concentraciones finales de los disolventes empleados y como control positivo se usó el sulfóxido del albendazol. Los cultivos se dejaron por 11 días y

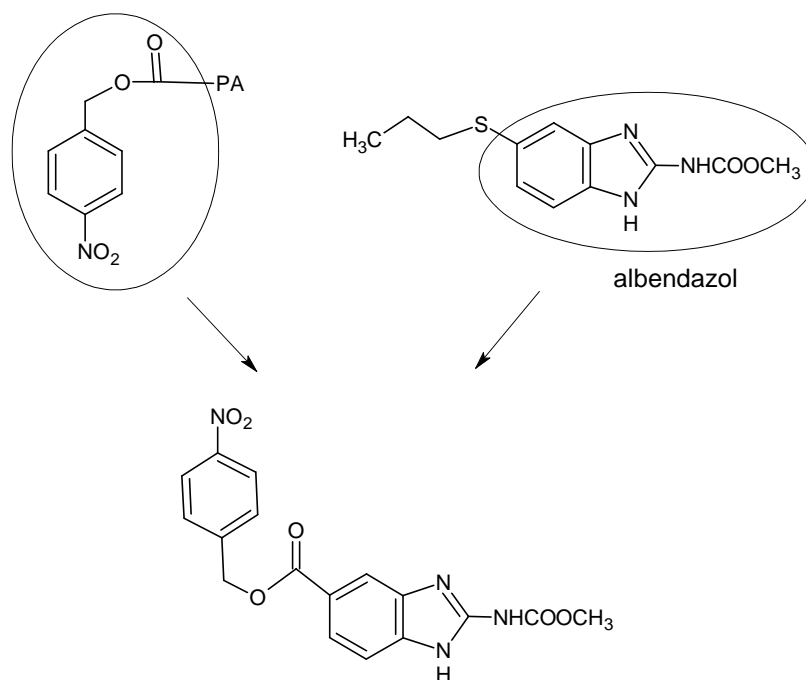
cada uno de los experimentos se efectuó por triplicado. Con la finalidad de asegurar que los cisticercos estén expuestos a concentraciones constantes de los compuestos a evaluar, diariamente se hicieron cambios con medio de cultivo fresco.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Parte química

El compuesto sintetizado en este trabajo fue diseñado como una molécula híbrida con posible acción antiparasitaria. En su diseño se consideraron los siguientes aspectos:

- Primeramente se seleccionó la porción de 1*H*-bencimidazol-2-carbamato de metilo, que forma parte del albendazol. Con ello se espera que la molécula presente actividad antiparasitaria con un mecanismo de acción similar al de este fármaco.
- La otra porción estructural está constituida por el [(4-nitrobencil)oxi]carbonilo, grupo presente en varios fármacos antiparasitarios. Esta porción estructural presenta la ventaja de que el grupo nitro al sufrir un proceso de reducción enzimática, que se espera ocurra en el parásito, puede convertirse en una molécula con actividad antiparasitaria.



compuesto híbrido **FHL18**

PA: principio activo

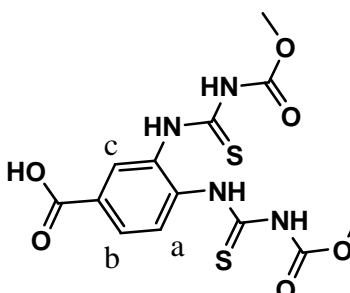
En la Tabla 1 se muestran los resultados de constantes físicas y rendimientos de los compuestos sintetizados. Los rendimientos obtenidos fueron mayores al 75% en la síntesis de la materia prima y del producto principal. Con estos resultados se cumplieron las expectativas de la preparación, ya que se pudo contar con cantidades suficientes del compuesto híbrido para realizar los ensayos de actividad biológica *in vitro*, contra la larva de *T. crassiceps*.

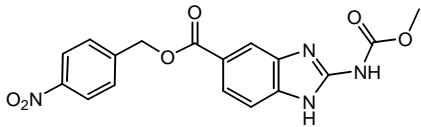
Por otro lado, se puede apreciar que los compuestos sintetizados presentan puntos de fusión por arriba de los 200° C. En la Tabla 2 se muestran los resultados de datos espectroscópicos y espectrométricos obtenidos tanto del producto intermedio como del producto principal (**FHL18**).

Tabla 1. Rendimientos y características de los compuestos I y **FHL18**

Compuesto	Punto de fusión (° C)	Rendimiento (%)	Aspecto físico
I	253.8	89.5	Polvo de color amarillo claro
FHL18	247.3-248	78.9	Polvo de color blanco

Tabla 2. Datos Espectroscópicos de los compuestos sintetizados.

Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>I PM 386.4</p>	<p>Espectro 1, IR (KBr) cm^{-1}: 3180 (OH), 1527 (C=S), 1040 (C=S).</p> <p>Espectro 2, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) δ: 3.71 (s, 3H, OCH_3), 7.87 (dd, 1H, $J=1.8$, $J=8.4$, H-b), 8.07 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 8.21 (d, 1H, $J=1.8$, H-c), 11.31 (s, 1H, int. Con D_2O, NH), 11.51 (s, 1H, int. Con D_2O, NH), 11.52 (s, 1H, int. Con D_2O, NH), 11.55 (s, 1H, int. Con D_2O, NH), 13.3 (s, 1H, int. Con D_2O, OH).</p> <p>Espectro 3, EM (ID/FAB+) m/z: No se observó la señal de ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$.</p>

 <p style="text-align: center;">FHL18 PM 370.3</p>	<p>Espectro 4, IR (KBr) cm^{-1}: 2732 (O-CH₃), 1708 (C=O), 1349 (NO₂).</p> <p>Espectro 5, RMN ¹H (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ: 3.79 (s, 3H, OCH₃), 5.47 (s, 2H, CH₂), 7.48 (d, 1H, <i>J</i>=8.4, H-6), 7.73 (dd, 2H, <i>J</i>=8.4, H-2', H-6'), 7.8 (dd, 1H, <i>J</i>=1.2, <i>J</i>=8.4, H-7), 8.11 (s, 1H, H-4), 8.25 (dd, 2H, <i>J</i>=1.6, <i>J</i>=8.4, H-3', H-5'), 11.97 (s, 1H, NH).</p> <p>Espectro 6, EM (ID/FAB+) <i>m/z</i>: No se observó la señal de ión cuasimolecular [M+1].</p>
--	---

5.1.2 Discusión de la información espectroscópica de los compuestos I y **FHL18**

En la Tabla 1 se pueden observar los puntos de fusión y los rendimientos de los compuestos I y **FHL18**. La estructura de los compuestos sintetizados fue corroborada con los datos de Espectroscopia de Infrarrojo, Espectroscopia de resonancia magnética nuclear. Aunque no se observa el ión molecular en el estudio de Espectrometría de Masas (ID/FAB+) para el compuesto **FHL18** y I.

Espectroscopia de infrarrojo (IR).

El compuesto I analizado por IR (en pastilla con KBr), presenta una banda de absorción en la región de 3600-3180 cm^{-1} que corresponde a las vibraciones de estiramiento ν O-H del ácido carboxílico, la banda de absorción en 3015 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento ν C-H del anillo aromático, las bandas en 1179 cm^{-1} y en 1726 cm^{-1} son asignadas a la vibración de estiramiento ν C=O del ácido carboxílico, la banda de 1603 cm^{-1} es asignada a las vibraciones de estiramiento ν C=C del anillo aromático, las bandas en 1527 cm^{-1} corresponden al estiramiento ν C-N de las aminas secundarias, las bandas en 1349 y en 1241 cm^{-1} se relacionan con la vibraciones simétricas ν_s y asimétrica ν_{as} pertenecientes al O-CH₃ del grupo éster, y la banda en 1040 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de tensión ν C-S.

El compuesto **FHL18** fue analizado por IR en pastilla (KBr). El compuesto presenta una banda de absorción en 2732 cm^{-1} y otra en 1275 cm^{-1} que pertenecen a las vibraciones de estiramiento simétrico ν_s y asimétrico ν_{as} , respectivamente del grupo O-CH₃, la banda en 1708 cm^{-1} es asignada a la vibración de estiramiento ν C=O del grupo éster, la banda en 3379 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento ν Ar-NH-R, las bandas que aparecen en la zona de $950\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ son generadas por las vibraciones de tensión δ C=C provenientes del esqueleto aromático, en tanto las cuatro bandas entre $1600\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ corresponden a las vibraciones de estiramiento ν C=C de este anillo, la presencia de dos bandas de absorción en 1524 cm^{-1} y 1349 cm^{-1} se debe a las vibraciones de estiramiento asimétrico ν_{as} y estiramiento simétrico ν_s , respectivamente, del grupo nitro (NO₂).

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (R.M.N.) de ¹H.

El disolvente usado para efectuar los espectros de RMN de ¹H fue el dimetilsulfóxido (DMSO), y como estándar interno se utilizó tetrametilsilano (TMS).

El espectro del compuesto I presenta las siguientes características:

- ❖ Una señal en 3.71 ppm, originada por el grupo metoxilo del grupo carbamato.
- ❖ Tres señales entre 7.87-8.21 ppm, originadas por los protones del anillo aromático.
- ❖ Tres señales entre 11.31-11.55 ppm, originadas por los protones del grupo amino del bistiureido.
- ❖ Una señal en 13.3 ppm, originada por el grupo hidroxilo del ácido carboxílico.

El espectro del compuesto **FHL18** presenta las siguientes características:

- ❖ Una señal en 3.79 ppm, originada por el grupo metilo del grupo carbamato en la posición 2, en el sistema del bencimidazol.

- ❖ Una señal en 5.47 ppm, que corresponde al grupo metileno que está unido al anillo aromático y al oxígeno del carboxilato en la posición 4 del anillo de bencimidazol.
- ❖ Dos señales entre 7.47-7.51 ppm, formadas por los dos protones aromáticos equivalentes, de las posiciones orto al grupo nitro.
- ❖ Tres señales entre 7.69-7.75 ppm, correspondientes a los protones de las posiciones 6 y 7 del sistema bencimidazólico.
- ❖ Una señal en 8.11 ppm, originada por el protón en la posición 4 del anillo de bencimidazol.
- ❖ Dos señales entre 8.25-8.29 ppm, formadas por los dos protones aromáticos equivalentes, de las posiciones orto al grupo metileno.
- ❖ Una señal en 11.85 ppm, originada por los protones del grupo amino del grupo carbamato y del grupo amino del anillo heterocíclico.

Análisis Elemental.-

Se realizó el análisis elemental del compuesto **FHL18**, para corroborar su composición de C, H y N, se obtuvieron los siguientes resultados:

% Teórico	% Obtenido
C= 55.14	C= 54.16
H= 3.81	H= 4.13
N= 15.13	N= 16.24

El análisis elemental demuestra el porcentaje obtenido de los elementos C, H y N, del compuesto **FHL18**, y de acuerdo al porcentaje teórico esperado, se confirma que corresponde a un compuesto híbrido, constituido por una porción presente en la molécula del albendazol y una porción nitro aromática.

5.2. Parte biológica

Una vez purificado y secado el compuesto **FHL18**, en el Instituto Nacional de Neurología se evaluó este compuesto contra *Taenia crassiceps* de la cepa ORF y de la cepa WFU. A continuación se presentan los resultados del porcentaje de inhibición de los compuestos **FHL18** y del sulfóxido de albendazol, usado como referencia:

Tabla 3. Actividad biológica *In Vitro* del **FHL18** contra *Taenia crassiceps* cepa ORF y WFU

Compuesto	log P**	Cepa ORF		Cepa WFU	
		Concentración (µM)			
		0.28µM	1.7µM	0.28µM	1.7µM
FHL18	2.94	41 ± 4.6*	68 ± 7*	22.6 ± 2.3*	26 ± 4*
sulfóxido de albendazol	0.86	47 ± 5*	88 ± 7*	25 ± 2.3*	35 ± 2.3*
Control		0	0	0	0

*porcentaje de inhibición

** Los valores de log P (logaritmo del coeficiente de partición) se calcularon con el programa ACD/Labs version 9.0.

De acuerdo con los resultados obtenidos, un alto porcentaje equivale a una mayor actividad del compuesto contra la fase larvaria de *T. crassiceps*. Es decir que el porcentaje es el número de cisticercos de *T. crassiceps* inhibidos por cada uno de los compuestos a prueba, a las concentraciones señaladas.

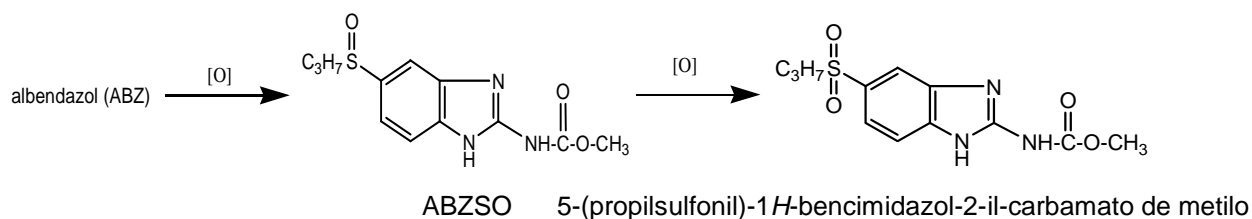
Tanto en la Cepa ORF como en la cepa WFU de la larva de *Taenia crassiceps*, el compuesto **FHL18** muestra actividad semejante al sulfóxido de albendazol, a una concentración de 0.28 µM. En tanto que, contra la cepa ORF, el sulfóxido de albendazol, a una concentración de 1.7 µM, presenta mayor actividad que el compuesto **FHL18**.

Además, en la prueba *in vitro* frente la cepa WFU, tanto con el sulfóxido albendazol como con el **FHL18**, a una concentración de 1.7 µM, no se observa un

aumento considerable de la actividad, con respecto a la que se presenta con la concentración de 0.28 μM .

No obstante, el sulfóxido de albendazol mostró alta inestabilidad al oxidarse a sulfona. Este compuesto de oxidación no posee actividad antihelmíntica contra el cisticerco de *T. crassiceps*, pero el sulfóxido de albendazol metabolito de biotransformación del albendazol, sí posee actividad contra el cisticerco de *T. crassiceps* y por ende contra el cisticerco de *Taenia solium*. En cambio el compuesto sintetizado **FHL18** presenta alta estabilidad en el medio ambiente, además de presentar una constante de partición suficiente para atravesar la barrera hematoencefálica. En general los compuestos con log P entre 2-4 son lo suficientemente lipofílicos, para atravesar esta barrera.

A continuación se presenta la reacción de oxidación del albendazol, en la que el compuesto intermedio ABZSO, se forma por acción de enzimas hepáticas de primer paso, del sistema enzimático citocromo P450, y a su vez, por este mismo sistema, el grupo sulfóxido se oxida a sulfona. Este producto no posee actividad contra el cisticerco de *Taenia solium*.



6. CONCLUSIONES

Se logró sintetizar un compuesto híbrido **FHL18**, el cual posee actividad antiparasitaria contra el cisticerco de *Taenia crassiceps*, por lo tanto se comprueba la hipótesis planteada.

Además de los conocimientos adquiridos durante la realización de este proyecto, los resultados obtenidos permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

1. Se logró la síntesis del **FHL18**, a partir del ácido 3,4-bis[[[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino]benzoico, utilizando en la ruta de síntesis el 1,1'-carbonildiimidazol como agente acoplante, para facilitar la formación del enlace éster y la ciclación del intermediario bencimidazol 2-carbamato de metilo.
2. Se elucidaron las estructuras de los compuestos I y **FHL18**, a través de técnicas analíticas espectroscópicas, como Espectroscopia de IR, Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y Espectrometría de Masas de Bombardeo Rápido Atómico (FAB+).
3. Durante la realización de las pruebas *in vitro* de la actividad antihelmíntica, se comprobó que el compuesto sintetizado **FHL18** es muy estable, pues no sufre oxidación en el medio ambiente como el sulfóxido de albedazol, además de que posee un coeficiente de reparto capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, sitio diana donde se desarrolla la larva de *Taenia solium*.
4. Se determinó la actividad biológica *in vitro* del compuesto **FHL18** contra la larva de *Taenia crassiceps*. El compuesto **FHL18** es capaz de afectar a las larvas de *T. crassiceps*, tanto de la cepa ORF como de la cepa WFU y presenta una actividad antiparasitaria semejante a la del sulfóxido de albendazol.

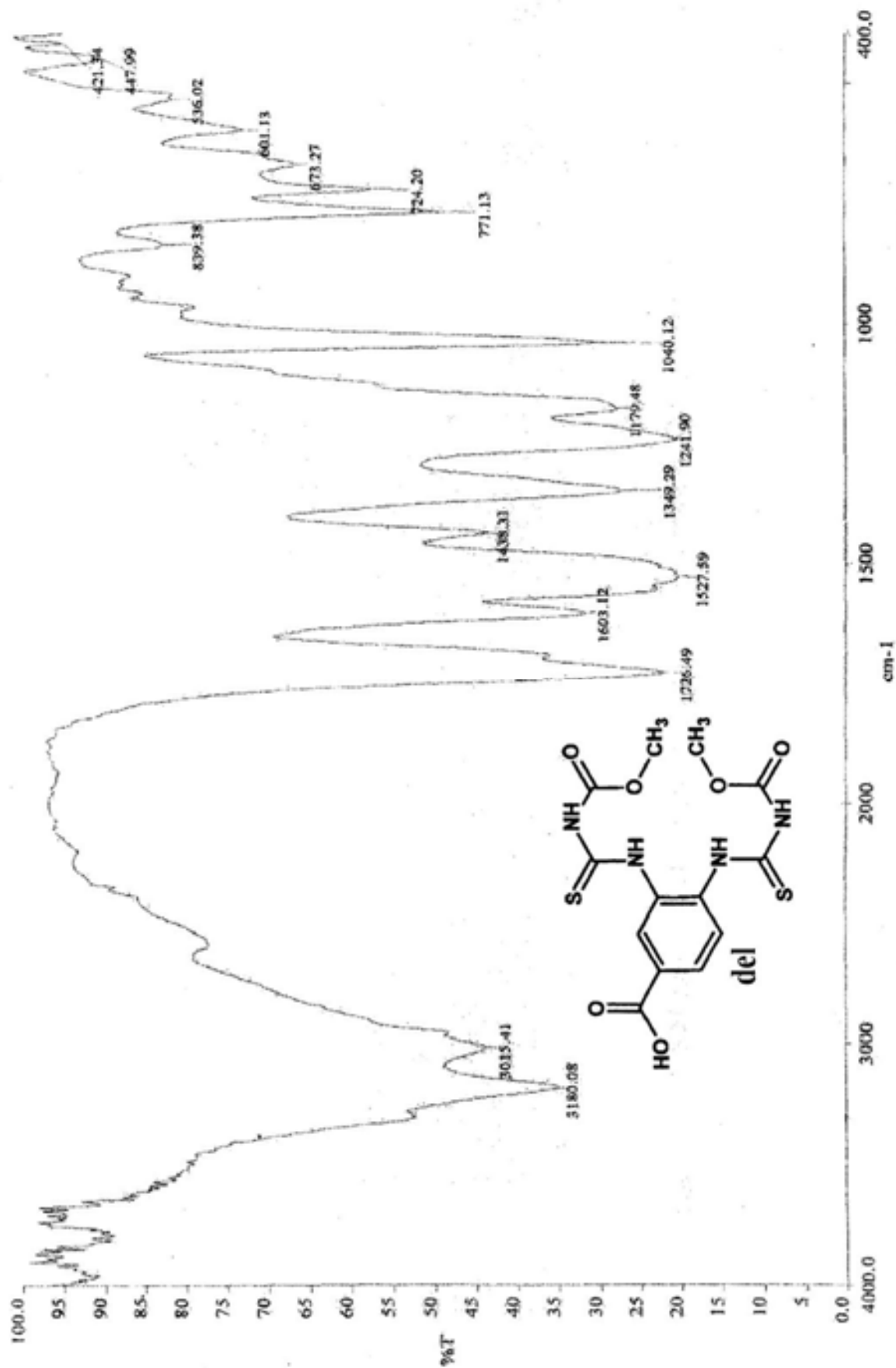
BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, A.; Calegari, L.; Curto, S. *Helminthiasis Intestinales*; Ministerio de Salud Pública: Uruguay, 2003 ; pp 1-42.
2. Del Brutto, O.H.; Sotelo, J. *Rev. Infect. Disease*. **1988**, 10, 1075.
3. Flisser, A. *Parasitology Today*. **1988**, 4, 131.
4. Avendaño, C. *Introducción a la Química Farmacéutica*; 3er Ed. McGrawHill-Panamericana: España, 2002, pp 65-67.
5. Vazquez, V.; Sotelo, J. *N. Eng. J. Med*. **1992**, 327, 696.
6. Tay, J. *Microbiología y Parasitología Médica*; Méndez Editores: México, 2003; pp 543-549.
7. <http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/s1/Cap3.pdf>.
8. Sciutto, E.; Fragoso, G.; Fleury, A.; Laclette, J. P.; Sotelo, J.; Aluja, A. *Microbes Infect*. **2000**, 2, 1875.
9. García-Albea, E. *Cisticercosis Cerebral. Aportaciones al conocimiento de una enfermedad endémica en España e Hispano América*; Aran Editores: Madrid, 1991; pp 251-253.
10. Gross, J; Gross, F. J.; Friedman, A. *Systemic Infections and Inflammatory Diseases*; Duane's Clinical Ophthalmology: Philadelphia, 1995; Vol. 5, pp 33-40.
11. Fleury, A.; Beltran, C.; Ferrer, E.; Garate, T.; Harrison, L. J.; Parkhouse R. M. *Tropica Medical International Health*. **2003**, 8(12), 1124.
12. Casagrande, B. E.; Ramos, M. L.; Livramento, J. A.; Vaz, A. J. *Acta Trop*. **2004**, 91, 205.
13. Aluja, A. *Cisticercosis por Taenia solium en cerdos de México*; UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia: México, 2000; pp 1-6.
14. http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/cestodos/parasitosis_humanas.html.
15. Ordoñez, G.; Rembao, D.; Sotelo, J. *Exp. Parasitology*. **2003**, 3, 169.

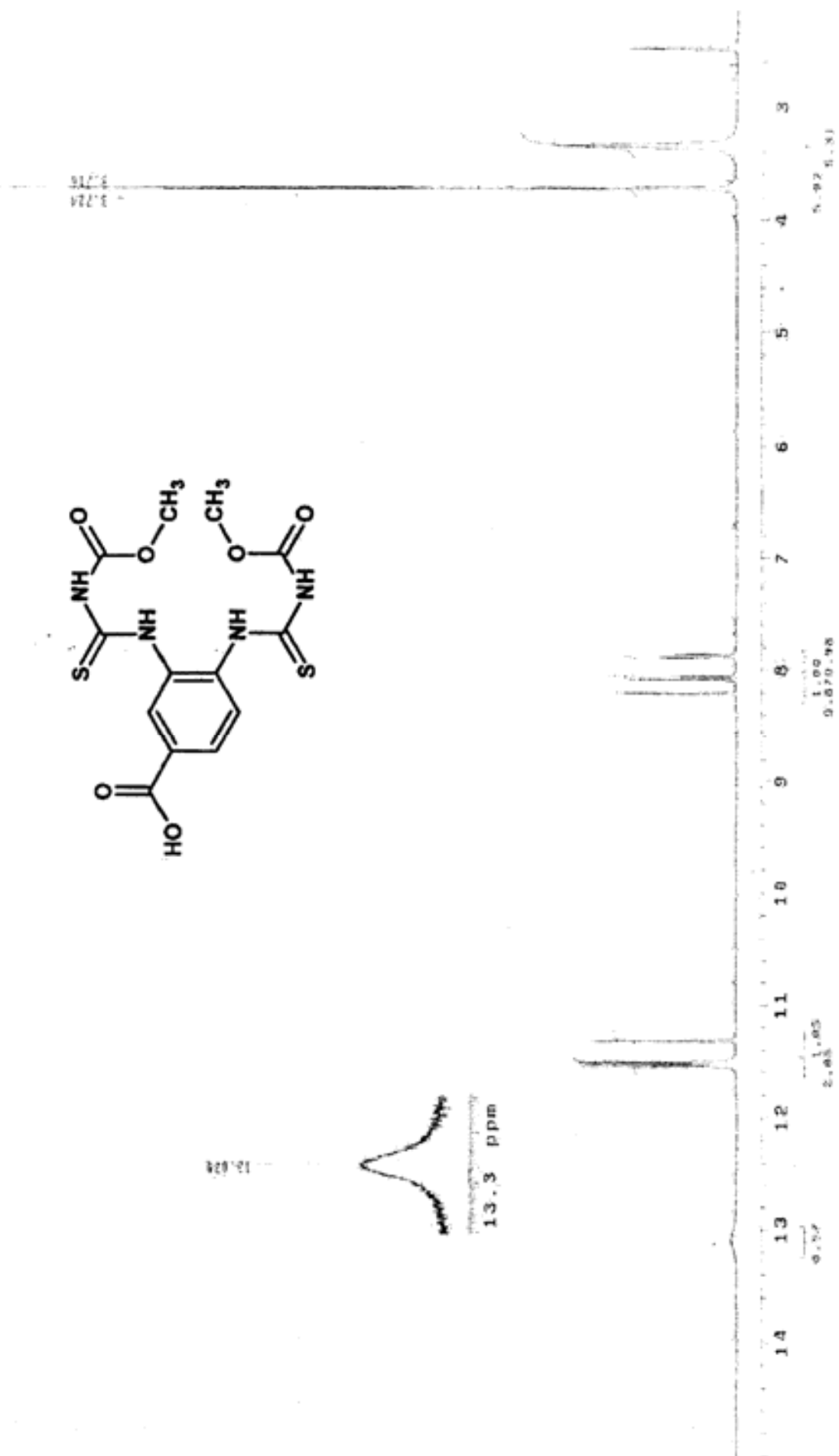
16. Becerril, M. A. *Parasitología Médica*; McGraw Hill: México, 2004; pp 131-135.
17. Laurence, L.; Brunton, J. S.; Lazo, Keith L. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*; 11ª Ed. McGraw-Hill: México, 2004, pp 1073-1091.
18. Katsung, B. C. *Farmacología Básica y Clínica*; 6ª ed. Ed. Manual Moderno: México, 1996, pp 873-875.
19. Villaverde, C.; Álvarez, A. I.; Del Estal, J. L.; Prieto, G. J. *Developmental Pharmacology and Therapeutics*. **1992**, 19, 27.
20. Gottschall, D. W.; Theodorides, V. J.; Wang, R. *Parasitology Today*. **1990**, 6, 115.
21. Townsend, L. B.; Wise, D. S. *Parasitology Today*. **1990**, 6, 107.
22. Money, K. A.; Spolsky, R. J.; See, E. J.; Kuhn, R. E. *Infect. Immun.* **2000**, 68(5), 2393.
23. Padilla, A.; Govenzensky, T.; Sciutto, E.; Jiménez-García, L. F.; Gonsebatt, M. E.; Ramírez, P. *J. Parasitology*. **2001**, 87(3), 591.
24. Morales-Montor, J.; Baing, S.; Kabbani, A.; Damian, R. T. *Parasitol. Res.* **2002**, 88, 901.
25. González, D.; Rivero, N.; Yepez-Mulia, L.; Jung, H. *Int. J. Pharm.* **2005**, 295, 90.
26. Padierna, C., Tesis Licenciatura, Preparación de moléculas híbridas de derivados del bencimidazol con el 2- amino-5-nitrotiazol como agentes antihelmínticos, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 2007.
27. Navarrete, G., Tesis Doctoral, Diseño, síntesis y actividad antiparasitaria de derivados del 2-(trifluorometil) bencimidazol. Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 2004.
28. Lacey, E. *Parasitology Today*. **1990**, 6, 112.
29. Waller, P. J. *Parasitology Today*. **1990**, 6, 127.
30. Silverman, R. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*; Academic Press Inc.: USA, 1992; pp 390-391.

-
31. Abraham, D. J., *Burger's Medicinal Chemistry Drug Discovery*; 6th Ed. Wiley-Interscience: USA, Vol. 5, pp 82-87, 1047.
 32. Foye, W. O. *Cancer Chemotherapeutic Agents*; ACS Professional Reference Book: USA, 1995, pp 14, 483-489.
 33. Silverstein, R. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*; 2nd Ed. Elsevier Inc: USA, 2004, 9.
 34. NOGUSHI, T. U.S. Patent 4,020,095, 1977; *Chem. Abstr.* **1997**, 32, 12, 5044.
 35. RAM, S.; Wise, D. S.; Townsend, L. B. *OPPI Briefs*. 1985, 17, 215.

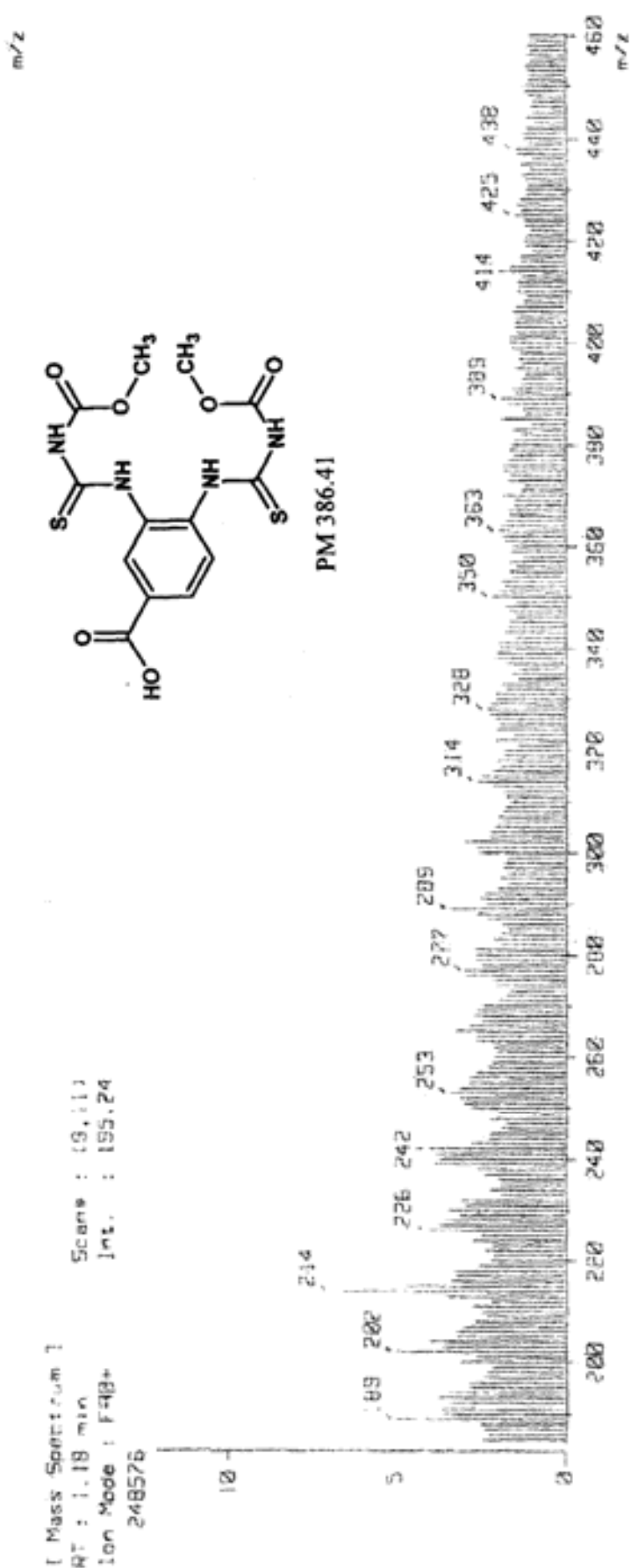
APÉNDICE



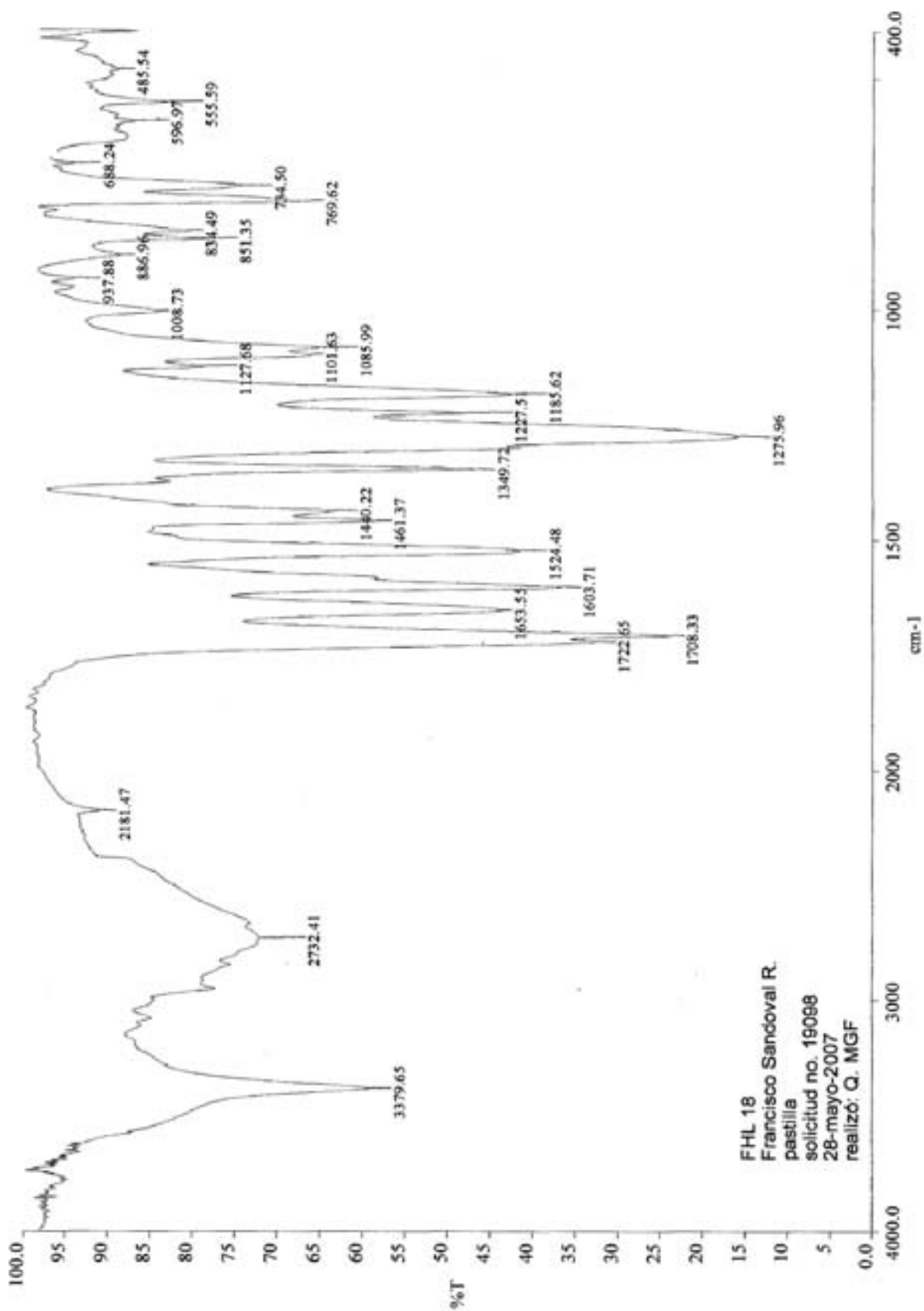
Espectro 1, IR del ácido 3,4-bis(((metoxicarbonil)carbamotioilamino)benzoico



Espectro 2, RMN¹H del ácido 3,4-bis((metoxicarbonil)amino)benzoico



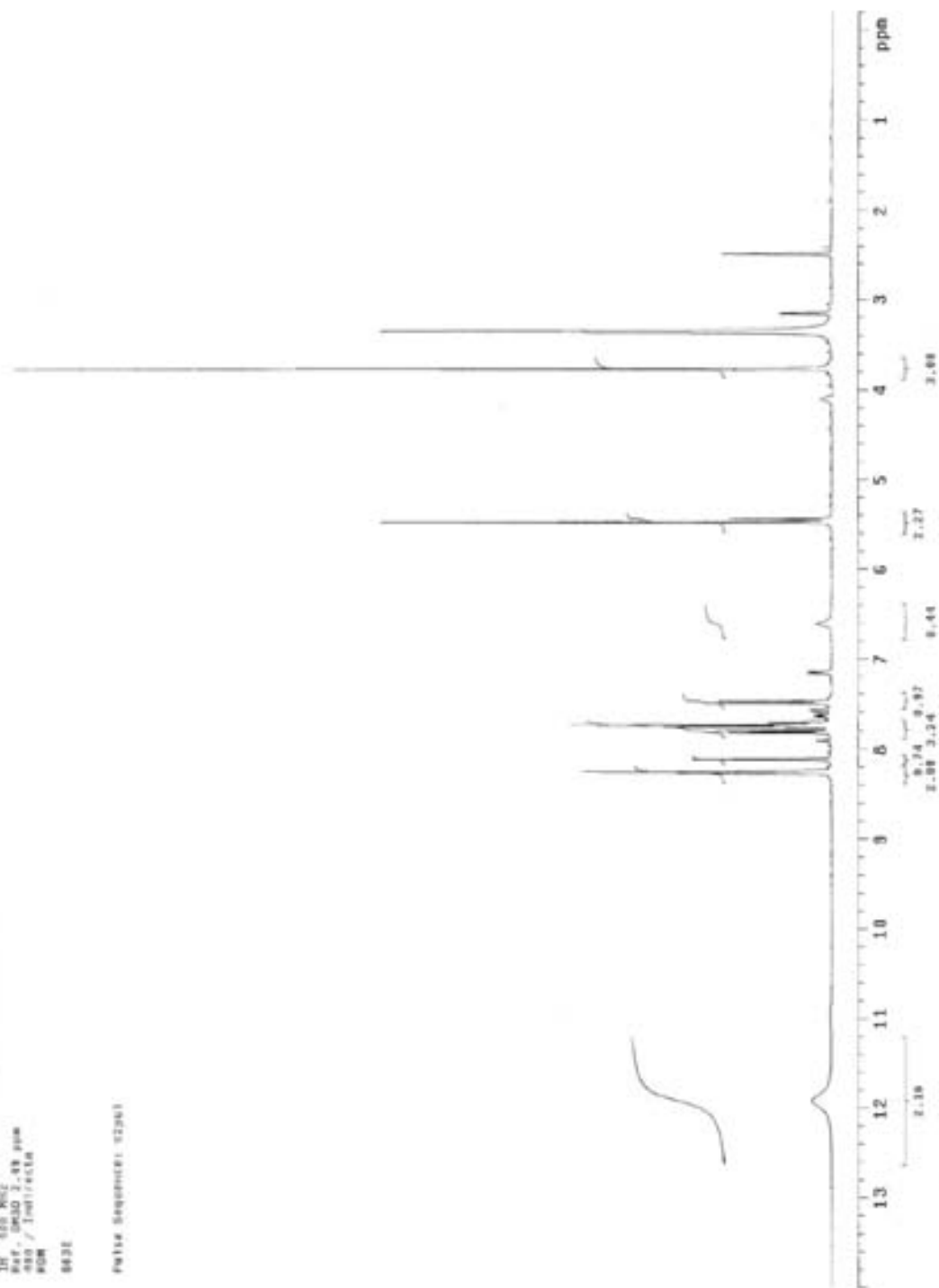
Espectro 3, EM del ácido 3,4bis((metoxycarbonyl)carbamoyl)amino}benzoico



Espectro 4, IR del 2-[(metoxycarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo

USAF-UMAM
 12/02010/2007
 Dr. Francisco Hernandez / Francisco Sankhal
 FIL-13 / 0650-08
 IR 550 KHZ
 Ref. DMSO d_6 3.49 ppm
 550 / Tm/recta
 0000

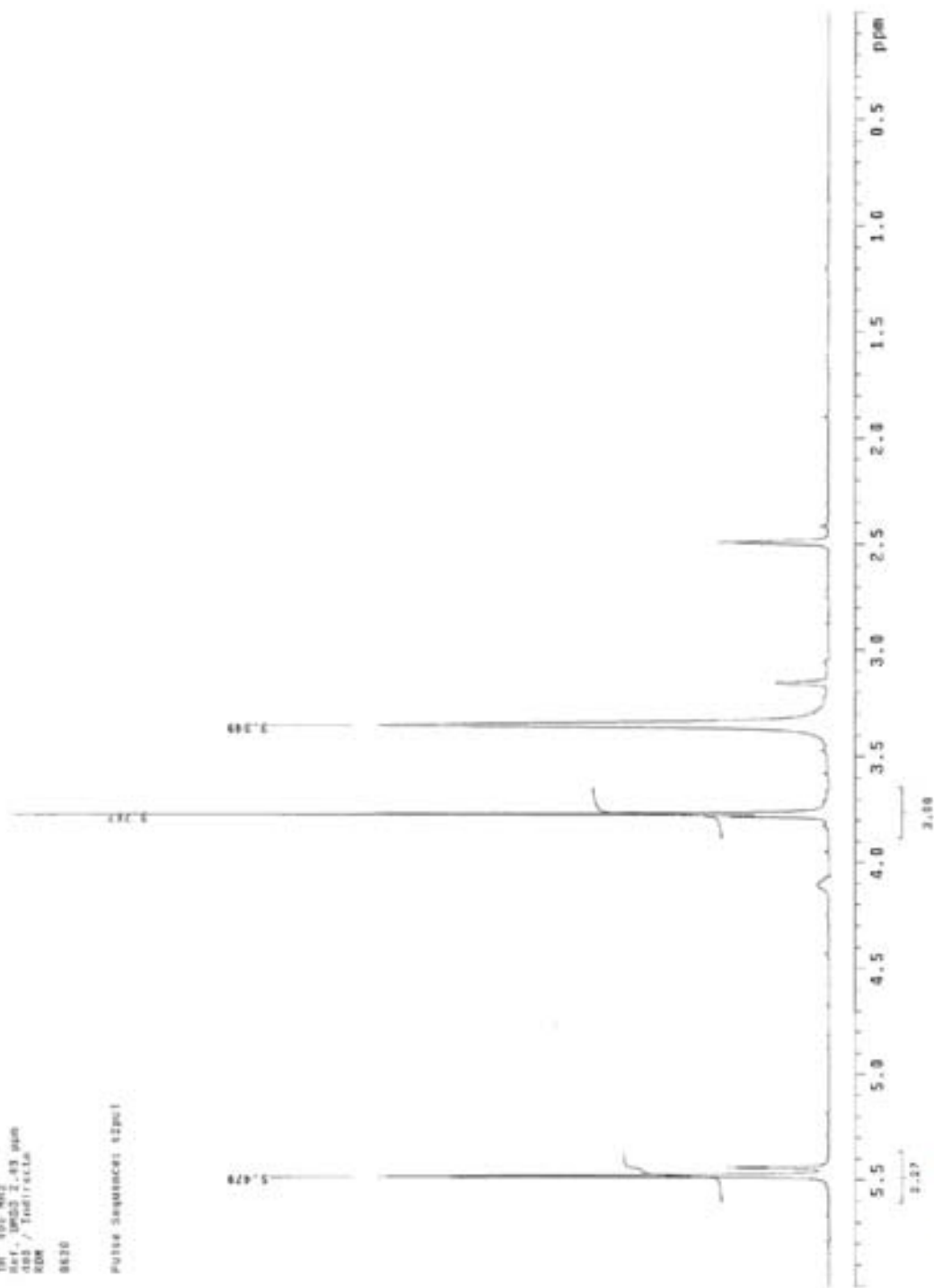
Felix Sequencia: 02361



Espectro 5, RMN¹H del 2-[(metoxycarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobenzilo

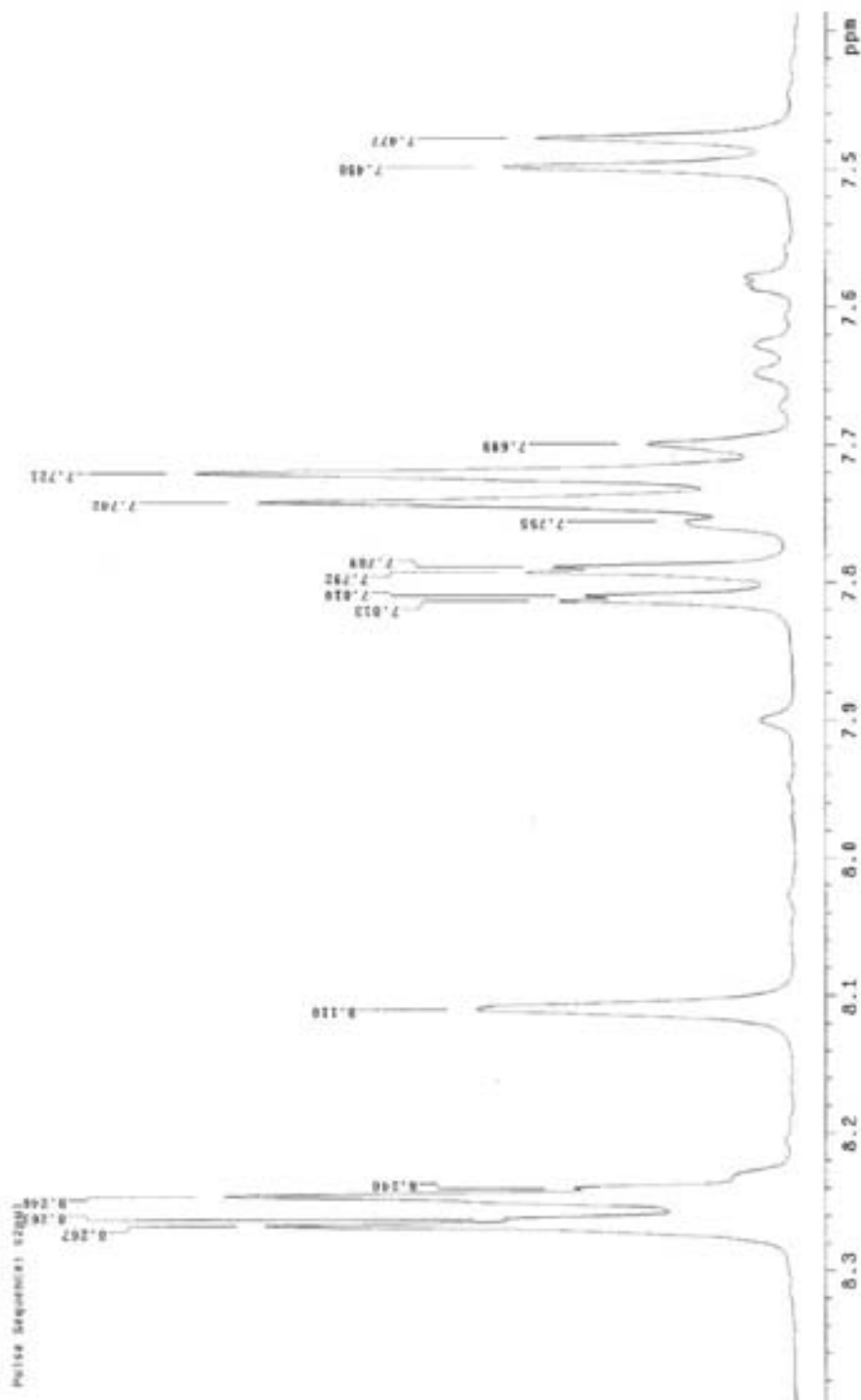
USAG-0006
 13/06/2010/1887
 Dr. Francisco Hernández / Francisco Zambrera
 FIC-18 / 10620-05
 IN-102-NIT
 001-0023 2.83 ppm
 002 / 10010116
 000

Pulse Sequence: t2po1



Espectro 5, RMN¹H del 2-[(metoxycarbonilamino)-1H-benzimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo]

NUCLEONAR
 12/00520/2007
 Dr. Francisco Hernández / Francisco Sánchez
 TIC-18 / 0050-06
 MAR 0050 3 -43 ppm
 400 / Indirecta
 8228 / Indirecta
 8659



Espectro 5, RMN¹H del 2-[(metoxycarbonil)amino]-1H-benzimidazo-5-carboxilato de 4-nitrobencilo



Espectro 6, EM del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo

Análisis elemental del 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de 4-nitrobencilo

EAGER 200 - SUMMARY

Company name : Fisons Instrumen
 Operator ID : W.D.
 Method in use : CNHS

#	Group	Sample Name	Sample Num.	Filename	Weight
1351		PHL18	135	OT5201a	.845

Component name Concentrations

Nitrogen (%)	16.26258
Carbon (%)	54.03945
Hydrogen (%)	4.087141
Sulphur (%)	0

#	Group	Sample Name	Sample Num.	Filename	Weight
1361		PHL18	136	OT5201b	.769

Component name Concentrations

Nitrogen (%)	16.232
Carbon (%)	54.29387
Hydrogen (%)	4.178427
Sulphur (%)	0

	Average	Group 1 Std. Dev.	% Rel. S. D.	Variance
Nitrogen (%)	16.24729	1.935014E-02	.1190976	3.744279E-04
Carbon (%)	54.16666	.1795766	.3315261	3.224776E-02
Hydrogen (%)	4.132784	6.457091E-02	1.562407	4.169403E-03
Sulphur (%)	0	0	0	0

% Teórico	Analizador Elemental Fisons EA1108
C= 55.14	Fecha de análisis: 11 de octubre de 2007
H= 3.81	Realizó: Nayeli Balbiaux
N= 15.13	Observaciones: Ninguna.
S= 0	