



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

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

**SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE DERIVADOS
CLORADOS DEL BENCIMIDAZOL**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. JEFERSON BERNARDO MATEUS RUIZ

**Dr. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA
FACULTAD DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE FARMACIA**

MÉXICO , D.F. DICIEMBRE DE 2015



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

**SÍNTESIS Y ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE DERIVADOS
CLORADOS DEL BENCIMIDAZOL**

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. JEFERSON BERNARDO MATEUS RUIZ



México, D. F. 2015

JURADO ASIGNADO

Presidente: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
Vocal: Dr. Mariano Martínez Vázquez
Vocal: M. en C. Blas Flores Pérez
Vocal: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez
Secretario: Dr. Francisco Hernández Luis

El presente trabajo se desarrolló en:

Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Edificio de Bioquímica y
Farmacia, Conjunto E, Laboratorio L-122. UNAM

Asesor:

Dr. Rafael Castillo Bocanegra

Sustentante:

Q. Jeferson Bernardo Mateus Ruiz

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (**UNAM**) por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría y crecer en el ámbito científico y personal.

Al doctor Rafael Castillo Bocanegra por darme la oportunidad de realizar esta tesis bajo su tutoría y por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias científicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) por la beca 308208 otorgada durante la realización de mis estudios de maestría.

A la Dra. Lilián Yépez y a la M. en C. Rocío Nieto del Centro Médico Nacional Siglo XXI, por la evaluación biológica de los compuestos en *Leishmania mexicana*.

Al personal de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (**USAI**) por la toma de espectros de AE, IR, ¹H-RMN, ¹³C-RMN, CG-EM y DRX.

Al M. en C. Alberto Cedillo Cruz por el análisis de los datos de DRX.

Al comité sinodal: M. en C. José Manuel Méndez Stivalet, Dr. Mariano Martínez Vázquez, M. en C. Blas Flores Pérez, Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez y Dr. Francisco Hernández Luis por sus recomendaciones y valiosos consejos durante el proceso de revisión de tesis.

A mi familia que desde la distancia siempre me han apoyado y han luchado conmigo cada momento de esta etapa.

A Martha Mayorquín Torres quien ha llenado de mucha alegría, apoyo y felicidad cada instante de mi estancia en México.

A mis amigos y compatriotas Colombianos de la UIS que se han convertido en una gran familia con los que he vivido grandes momentos llenos de alegría.

A mis compañeros del laboratorio 122 de los cuales aprendí grandes cosas tanto en el ámbito profesional como personal.

A mis papás Bernardo y Marcela, a mis hermanos Gílder, Merly y Sebastián, que fueron, son y serán siempre mi apoyo incondicional.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANFB	Anfotericina B
°C	Grados centígrados
CC ₅₀	Concentración Citotóxica Media
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria Media
cm	Centímetros
COSY ¹ H, ¹ H	Correlation Spectroscopy
ccf	Cromatografía en capa fina
eV	Electronvoltios
g	Gramos
g/mol	gramos por mol
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
h	Horas
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
Hz	Hertzios
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Lb/in ²	Libra-fuerza por pulgada cuadrada
<i>m/z</i>	Relación masa sobre carga
M ⁺	Ion molecular
MHz	Megahertzios
min	Minutos
mL	Mililitro
mmol	Milimoles
nm	Nanómetros
p.f.	Punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protones
SFB	Suero Fetal Bovino

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	10
1. ANTECEDENTES	12
1.1. Leishmaniasis	12
1.2. Leishmaniasis en México	14
1.3. Ciclo de vida.....	15
1.4. Tratamiento	16
1.5. Bencimidazoles como leishmanicidas	18
1.6. Aspectos sintéticos del 2-aminobencimidazol	22
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
3. HIPÓTESIS	25
4. OBJETIVOS	26
4.1. Objetivo general	26
4.2. Objetivos particulares.....	26
5. PARTE EXPERIMENTAL	27
5.1. OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINO-1H-BENCIMIDAZOLES 9a-c	28
5.1.1. Síntesis de las 1,2-fenilendiaminas 5,6	28
5.1.2. Síntesis de los 2-Amino-1H-bencimidazoles 9a-c	30
5.2. OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINO-1-METILBENCIMIDAZOLES 28a-d	31
5.2.1. Síntesis de las <i>N</i> ¹ -metil-1,2-fenilendiaminas 23-26	31
5.2.2. Síntesis de los 2-Amino-1-metilbencimidazoles 27a-d	36
5.3. SÍNTESIS DE LOS 2-(N-BENCIL)BENCIMIDAZOLES 30-50	37
5.4. PARTE BIOLÓGICA	49
5.4.1. Evaluación <i>in vitro</i> frente a promastigotes de <i>L. mexicana</i>	49

5.4.2.	Citotoxicidad	49
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	51
6.1.	OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINOBENCIMIDAZOLES 9a-c/27a-d	51
6.1.1.	<i>Protección del grupo amino</i>	52
6.1.2.	<i>Reacción de nitración</i>	52
6.1.3.	<i>Síntesis de las N-Metilacetanilidas</i>	53
6.1.4.	<i>Desprotección de grupo amino</i>	53
6.1.5.	<i>Síntesis de las o-fenilendiaminas (hidrogenación catalítica)</i>	53
6.1.6.	<i>Síntesis de los 2-aminobencimidazoles 9a-c/27a-d</i>	54
6.2.	SÍNTESIS DE LOS 2-(N-ARIL)BENCIMIDAZOLES 30-50	55
6.2.1.	<i>Formación de las iminas intermediarias</i>	55
6.2.2.	<i>Reducción de las iminas intermediarias</i>	55
6.3.	PARTE BIOLÓGICA	64
6.3.1.	<i>Actividad contra promastigotes de L. mexicana</i>	64
7.	CONCLUSIONES	69
8.	PERSPECTIVAS	71
	BIBLIOGRAFÍA	72
	ANEXOS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial de Leishmaniasis Cutánea y Mucocutánea (arriba) y Leishmaniasis Visceral (abajo).	13
Figura 2. Distribución de leishmaniasis en México.	15
Figura 3. Ciclo de vida del parásito de Leishmania.	16
Figura 4. Estructuras químicas de fármacos leishmanicidas.	18
Figura 5. Bencimidazoles leishmanicidas.	19
Figura 6. Estructura del compuesto tiofen-derivado con mejor porcentaje de inhibición ante <i>L. donovani</i>	21
Figura 7. Ejemplo de algunos 2-aminobencimidazoles biológicamente activos. ...	22
Figura 8. Relación entre estructura general y señales de RMN ¹ H observadas. ...	60
Figura 9. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 41	61
Figura 10. Espectro de correlación homonuclear ¹ H- ¹ H COSY del compuesto 41	62
Figura 11. Estructura cristalográfica y celda unidad del compuesto 41	63

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Ciclocondensación de <i>o</i> -fenilendiaminas con bromuro de cianógeno.	23
Esquema 2. Métodos de preparación de 2-aminobencimidazoles.	23
Esquema 3. Síntesis de las 1,2-fenilendiaminas 5,6	28
Esquema 4. Obtención de los 2-amino-1 <i>H</i> -bencimidazoles 9a-c	30
Esquema 5. Obtención de las <i>N</i> ¹ -metil-1,2-fenilendiaminas 23-26	31
Esquema 6. Obtención de los 2-Amino-1-metilbencimidazoles 27a-d	36
Esquema 7. Obtención de los 2-(<i>N</i> -bencil)bencimidazoles 30-50	37
Esquema 8. Análisis retrosintético de los nuevos derivados del 2-(<i>N</i> - bencil)bencimidazol.	51
Esquema 9. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los compuestos 30-36	58
Esquema 10. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los compuestos 44-50	59

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales enfermedades parasitarias olvidadas	12
Tabla 2. Especies reportadas de <i>Leishmania</i>	14
Tabla 3. Información general en el tratamiento de la leishmaniasis.....	17
Tabla 4. Actividad leishmanicida de los compuestos 7-12.....	19
Tabla 5. Actividad leishmanicida de híbridos de bencimidazol-pentamidina.....	20
Tabla 6. Actividad leishmanicida de los derivados 2-aminobencimidazoles	21
Tabla 7. Rendimientos y puntos de fusión de los 2-aminobencimidazoles sintetizados.....	54
Tabla 8. Rendimientos y puntos de fusión de los 2-(<i>N</i> -bencil)-bencimidazoles sintetizados.....	56
Tabla 9. Concentración Inhibitoria media, Concentración Citotóxica media e Índice de Selectividad para los compuestos sintetizados	64

RESUMEN

En la actualidad, las enfermedades parasitarias son un grave problema de salud pública. Entre ellas encontramos por ejemplo: giardiasis, amebiasis, trichomoniasis, leishmaniasis entre otras. Para muchas de ellas se cuenta actualmente con buenas alternativas de tratamiento. Sin embargo, algunas de estas enfermedades no cuentan aún con alternativas de tratamiento eficaces, seguras y al alcance de la población. Es por ésta razón que la quimioterapia sigue siendo, en gran medida, la mejor alternativa de control.

Considerando que los derivados de bencimidazol cuentan con un amplio espectro de actividad antiprotozoaria y que existe la necesidad de contar con nuevos compuestos leishmanicidas, en la presente tesis se describe la síntesis y actividad leishmanicida de 21 compuestos (**30-50**) derivados del bencimidazol.

Los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas. La actividad *in vitro* se realizó sobre promastigotes de *Leishmania mexicana*.

La actividad leishmanicida *in vitro* mostró que los compuestos **31**, **33**, **40** y **41** tuvieron las mejores actividades leishmanicidas. Sin embargo, los compuestos **31** y **40** fueron los más activos, incluso mejores que la miltefosina. Por otro lado, la actividad citotóxica mostro que los compuestos **30**, **33**, **34**, **37**, **40**, **41** y **47-50** presentaron una citotoxicidad menor que la miltefosina. Siendo los compuestos **30** y **33** los menos tóxicos de la serie. Por último, se muestra los resultados del estudio de selectividad, en donde se observó que los compuestos **30**, **31**, **33**, **40** y **41** presentaron una mejor selectividad que la miltefosina misma. De los cuales el compuesto **33** fue el más selectivo hacia el parásito. De manera que el compuesto **33** se consideró, debido a su baja toxicidad, alta selectividad y actividad comparable con la miltefosina, el mejor candidato a posteriores ensayos biológicos.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias causadas por protozoarios y helmintos continúan siendo un grave problema de salud pública de países en vía de desarrollo. Dichas enfermedades ocupan uno de los primeros lugares de morbilidad a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) aproximadamente la mitad de la población mundial está infectada con alguna enfermedad parasitaria. Entre ellas encontramos por ejemplo: giardiasis, amebiasis, trichomoniasis, leishmaniasis entre otras.

Para muchas de ellas se cuenta actualmente con buenas alternativas de tratamiento. Sin embargo, algunas de estas enfermedades no cuentan aún con un tratamiento eficaz, seguro y al alcance de la población. Entre estas enfermedades se encuentra la leishmaniasis, enfermedad ocasionada por el parásito *Leishmania spp* que dentro de sus diversas variedades provoca leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral, siendo esta última la más peligrosa. Actualmente se reporta aproximadamente 12 millones de personas infectadas con una incidencia de 2 millones por año.

Dependiendo del tipo de leishmaniasis se pueden observar lesiones en piel, mucosas, inflamación de órganos como corazón, bazo e hígado, y finalmente la muerte. Los tratamientos actuales, entre los que encontramos fármacos tales como los antimoniales pentavalentes, pentamidina, anfotericina B, miltefosina entre otros, a pesar de llevar muchos años en el mercado, son insuficientes para el tratamiento adecuado de la enfermedad. Adicionalmente, se han generado resistencias por parte del parásito y se han detectado serios efectos secundarios.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente y con el ánimo de contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos leishmanicidas, y en ella el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y el Centro Médico Siglo XXI del IMSS se han

unido en este proyecto que busca sintetizar y evaluar nuevos derivados de 2-aminobencimidazol como posibles leishmanicidas.

El propósito de este proyecto está encaminado hacia la posibilidad de acceder a nuevos derivados del 2-(*N*-bencil)bencimidazol con sustituciones (cloro) en posiciones 5 y/o 6, para posterior evaluación *in vitro* contra parásitos de *Leishmania mexicana*.

En la presente tesis se realizó la síntesis de derivados de 2-amino-1*H*-bencimidazol sustituidos en posición 1 con un grupo metilo o con un átomo de hidrógeno, así como sustituidos en posición 2 con grupos bencilo debidamente sustituidos. Finalmente, los compuestos sintetizados se evaluaron contra promastigotes de *Leishmania mexicana*.

1. ANTECEDENTES

Las enfermedades parasitarias causadas por protozoarios y helmintos siguen siendo uno de los más grandes problemas de salud pública a nivel mundial y comprenden un grave problema para los países en vía de desarrollo. Se estima que las enfermedades parasitarias afectan a cientos de millones de personas en todo el mundo, dejando como resultado altos índices de mortalidad y consecuencias económicas y sociales devastadoras (Tabla 1). El desarrollo de nuevos fármacos se ha descuidado en gran medida debido a que estas enfermedades, a nivel mundial, afectan principalmente personas de bajos recursos en zonas pobres del mundo.¹

Tabla 1. Principales enfermedades parasitarias olvidadas¹

Enfermedad	Organismo	Alcance (anual)
Malaria	<i>Plasmodium spp</i>	500 millones
Leishmaniasis	<i>Leishmania spp</i>	2 millones
Tripanosomiasis	<i>T. brucei, T. cruzi</i>	16 millones
Esquistosomiasis	<i>Schistosoma spp</i>	>200 millones
Giardiasis/Amebiasis	<i>Giardia lamblia/</i> <i>Entamoeba histolytica</i>	Millones de casos de diarrea.

En la presente sección se hará énfasis en la leishmaniasis, enfermedad que constituye un amplio espectro de enfermedades causadas por especies del protozoo flagelado del genero *Leishmania* y que se ha considerado como una de las enfermedades parasitarias olvidadas.

1.1. Leishmaniasis

La leishmaniasis es una enfermedad endémica de 98 países que afecta a 12 millones de personas en el mundo, además, 350 millones de personas corren riesgo de contraer la enfermedad. Anualmente se reporta una incidencia aproximada de 0.2-0.4 millones de casos de Leishmaniasis visceral (LV) y 0.7-1.3

millones de casos de Leishmaniasis cutánea (LC) principalmente en India, sur de Asia y Europa, África central, Latinoamérica y el Caribe (Figura 1). Además se reporta una mortalidad anual de aproximadamente 60 mil personas.²

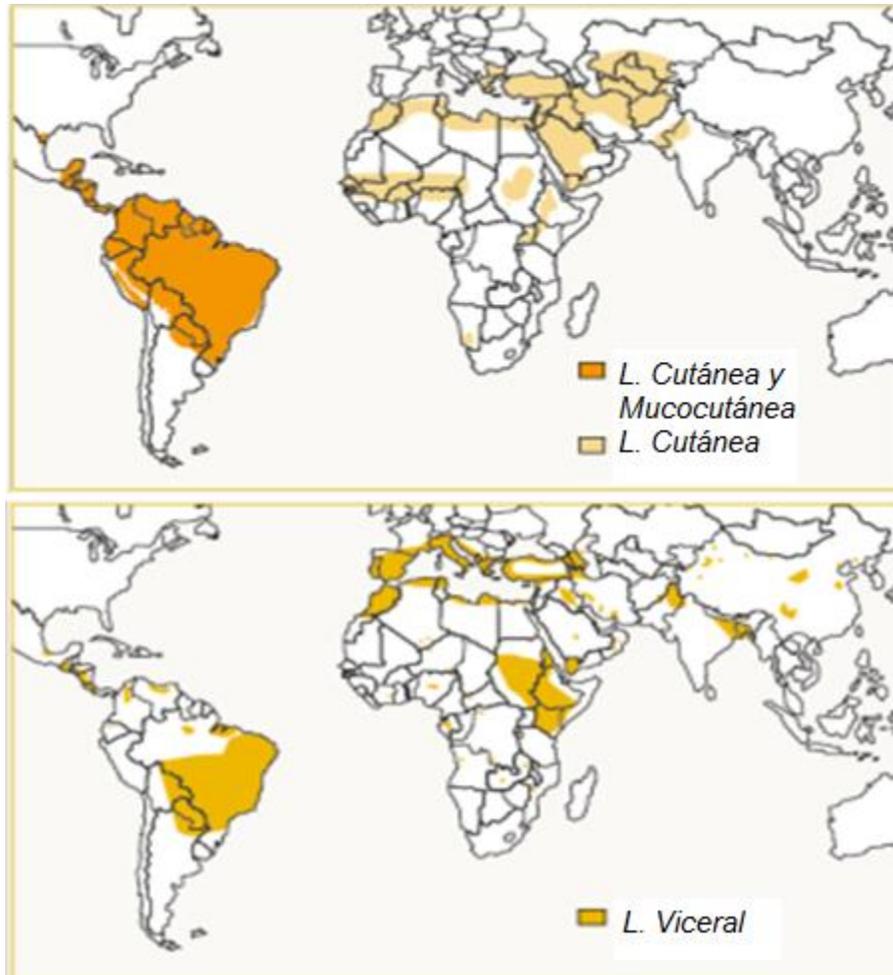


Figura 1. Distribución mundial de Leishmaniasis Cutánea y Mucocutánea (arriba) y Leishmaniasis Visceral (abajo).²

La leishmaniasis es una enfermedad compleja ya que es nombre colectivo de un número de enfermedades causadas por protozoarios flagelados del género *Leishmania* perteneciente a la familia *Trypanosomatidae*. Este género abarca más de 20 especies (Tabla 2) que son transmitidos a mamíferos por más de 30 especies diferentes de mosquitos pertenecientes a la subfamilia *Phlebotominae*.^{3,4}

Tabla 2. Especies reportadas de *Leishmania*⁴

Genero	Complejo	Especie
Leishmania	<i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i> , <i>L. infantum</i> , <i>L. chagasi</i> , <i>L. archibaldi</i> .
	<i>L. tropica</i>	<i>L. tropica</i> , <i>L. aethiopica</i> , <i>L. major</i> .
	<i>L. mexicana</i>	<i>L. mexicana</i> , <i>L. amazonensis</i> , <i>L. garnhami</i> .
	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i> , <i>L. panamensis</i> , <i>L. naiffi</i> .
	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i> , <i>L. peruviana</i> , <i>L. lainsoni</i>

En la mayoría de los casos los estudios clínicos reportan tres tipos más comunes de leishmaniasis: Leishmaniasis visceral (LV), Leishmaniasis cutánea (LC) y Leishmaniasis mucocutánea (LMC).^{3,4}

La *Leishmania* visceral es la responsable de miles de muertes cada año y es causada por *L. infantum* y *L. donovani* en el viejo mundo; y por *L. chagasi* en el nuevo mundo. Esta se caracteriza por fiebre progresiva, pérdida de peso, engrandecimiento del bazo e hígado y anemia.^{2,3}

La Leishmaniasis cutánea es causada principalmente por *L. major*, *L. trópica*, *L. aethiopica* en el viejo mundo; y por *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. brazilensis*, *L. panamensis* y *L. guayanensis* en el nuevo mundo. Ésta se caracteriza por la presencia de una o varias úlceras o nódulos en la piel.^{2,3}

La Leishmaniasis mucocutánea es principalmente causada por *L. brazilensis* y ocasionalmente por *L. panamensis* o *L. guayanensis*. Se caracteriza por la destrucción parcial o total de las membranas mucosas de la nariz, boca y garganta.^{2,3}

1.2. Leishmaniasis en México

En México la leishmaniasis se conoce desde la época prehispánica. Las zonas endémicas en México se ubican en el sur de Veracruz, Tabasco, Oaxaca,

Chiapas, Campeche, Quintana Roo, Yucatán, Coahuila, Nuevo León, Morelos y Jalisco, que presentan Leishmania Cutánea Localizada (LCL).

También se han presentado casos de Leishmania cutánea difusa (LCD) en los estados de Tabasco, Michoacán, Coahuila y Tamaulipas; Leishmaniasis Mucocutánea en los estados de Tabasco y Chiapas; Leishmaniasis visceral en Guerrero y Morelos (Figura 2).⁵

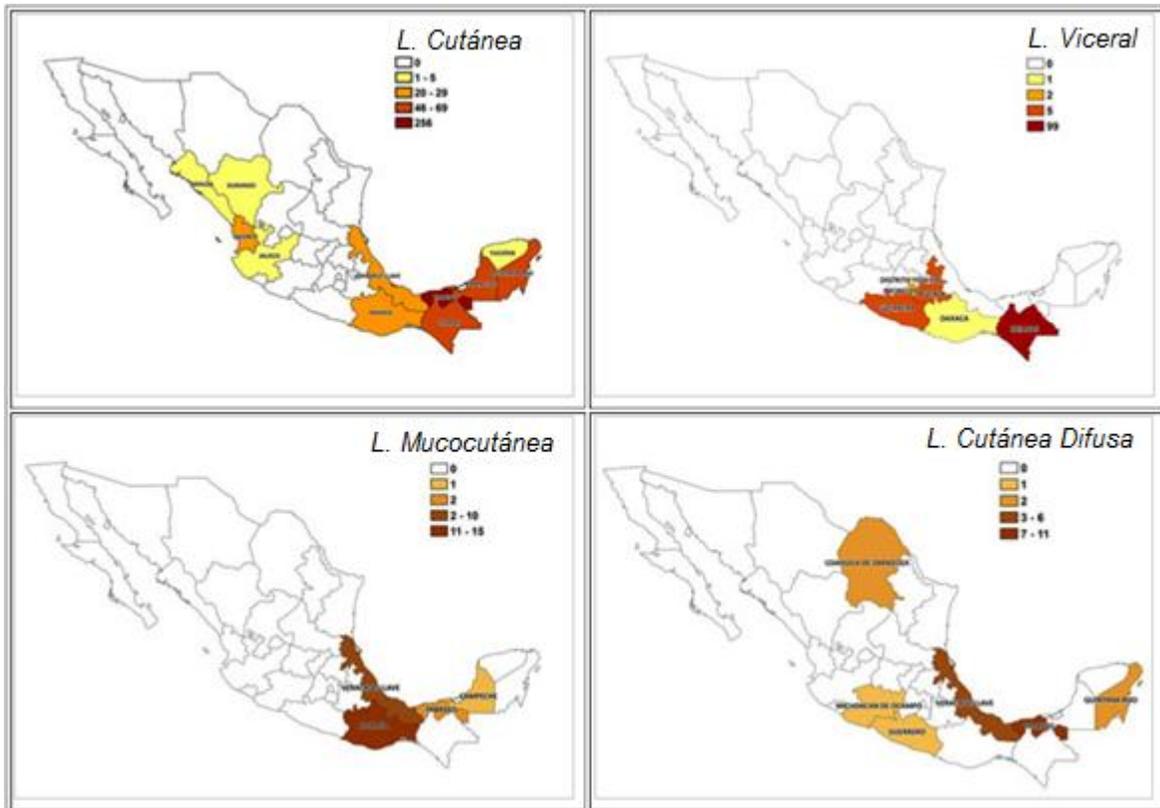


Figura 2. Distribución de leishmaniasis en México.⁶

1.3. Ciclo de vida

La leishmania presenta dos etapas principales de desarrollo en el ciclo de su vida. Una etapa promastigote que se replica en el intestino de un flebótomo y una etapa amastigote que se desarrolla intracelularmente en el huésped mamífero. El ciclo inicia cuando el huésped mamífero es picado por un insecto infectado. El parásito se interna en las células reticuloendoteliales que las fagocitan fomentando la reproducción y supervivencia, esto mediante una compleja interacción parasito-

huésped. La propagación sobre el huésped mamífero inicia cuando el parásito se replica en las células reticuloendoteliales y estas finalmente se rompen liberando los macrófagos infectados (amastigotes).⁴

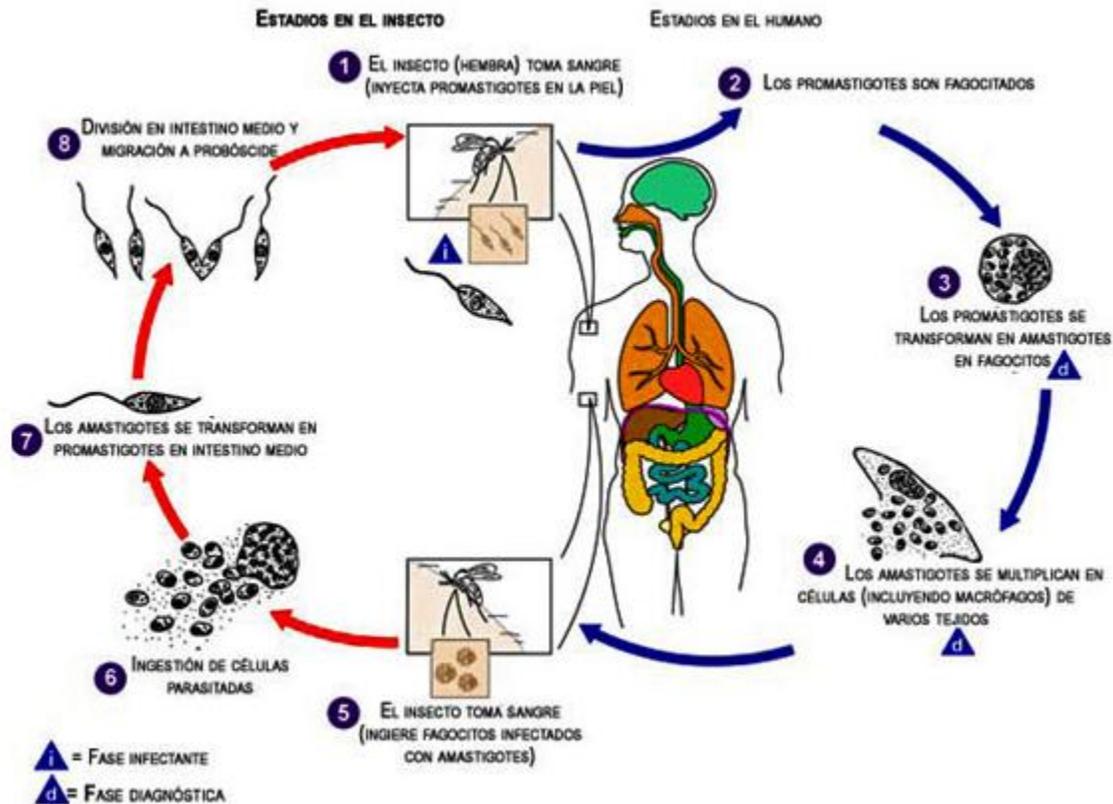


Figura 3. Ciclo de vida del parásito de Leishmania.³

Finalmente el insecto pica al huésped tomando también los macrófagos infectados. En el intestino de los insectos, el amastigote se transforma en un promastigote pro-cíclico proliferativo que se desarrolla en el intestino grueso o medio y que finalmente se desplaza a la válvula cardinal listo para iniciar el ciclo (Figura 3).⁴

1.4. Tratamiento

El tratamiento de la leishmaniasis depende de varios factores, como la forma de la enfermedad, la especie del parásito y la ubicación geográfica. Actualmente la quimioterapia sigue siendo la mejor opción en el tratamiento de dicha enfermedad

aunque presente ciertas limitaciones, tales como la resistencia a los fármacos, altos costos y efectos adversos. En la Tabla 3 y Figura 4 se presenta de forma resumida los diferentes fármacos usados en el tratamiento de la leishmaniasis y algunas de sus ventajas y limitaciones.

tabla 3. Información general en el tratamiento de la leishmaniasis³

Fármaco	Eficacia	Ventajas	Limitaciones
Anfotericina B	>95%	Eficaz contra cepas resistentes al Sb ^{v+}	La forma desóxicolato requiere de hospitalización y puede causar miocarditis, hipopotasemia, toxicidad renal y reacción en el lugar de infusión.
Anfotericina liposomal B	≈100%	Efectivo con bajo perfil de toxicidad.	Alto costo Rigor durante la infusión Toxicidad renal.
Miltefosina	94-97%	Muy potente; primer tratamiento oral efectivo para LV y LC.	Muy tóxico (hígado y riñones) Complicaciones Gastrointestinales No es seguro para pacientes embarazadas (teratogénico)
Sulfato de paromomicina	95% (India) 46-85% (África)	Bajo costo.	Ototoxicidad reversible (2%) Dolor en el lugar de inyección (55%) Muy hepatotóxico (6%)
Pentamidina	70-80%	Uso potencial en combinación de terapia de baja dosificación.	Toxicidad renal. Miocarditis. Diabetes Mellitus insulino-dependientes como efecto adverso irreversible (4-12 pacientes). Hipoglicemia e hipotensión. Fiebre.
Antimoniales pentavalentes: Estibogluconato de sodio Antimoniato de meglumina	35-95%	Bajo costo. Puede ser usado en combinación con anfotericina B en pacientes embarazadas y en ancianos.	Resistencia a fármaco en Bihar, India (>60%) Complicaciones en el ventrículo del corazón y fatal arritmias cardíacas. Artralgia, mialgia, pancreatitis, enzimas hepáticas elevadas. Más alta toxicidad en pacientes con VIH.

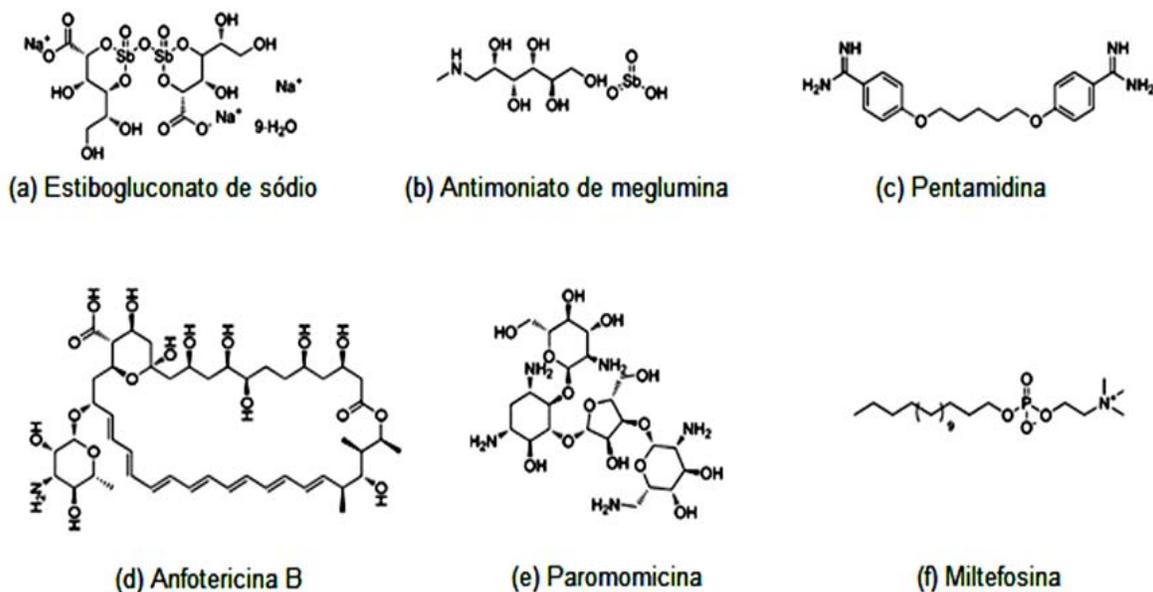


Figura 4. Estructuras químicas de fármacos leishmanicidas.³

1.5. Bencimidazoles como leishmanicidas

Actualmente las investigaciones que permiten el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos se basan en diversas pruebas, tales como: (a) fármacos comúnmente usados en otras patologías, (b) sustancias aisladas de microorganismos y plantas y (c) sustancias usadas en medicina popular. Por otro lado, los nuevos avances científicos relacionados principalmente con el conocimiento de la respuesta inmune del huésped contra el parásito, de su característica antigénica a su metabolismo, permiten una mejor comprensión del mecanismo de la acción de los fármacos leishmanicidas y su interacción con los huéspedes y parásitos.⁷

Debido a la ausencia de vacunas efectivas contra la leishmaniasis, la quimioterapia sigue siendo la mejor opción en el tratamiento. Dentro de la gran gama de sustancias investigadas como leishmanicidas se encuentran los bencimidazoles.

Por otro lado, la pentamidina como bien se sabe es un fármaco usado en el tratamiento de la leishmaniasis. La pentamidina, una diamidina aromática, no es

muy eficaz al ser administrada por vía oral, además, presenta varios efectos tóxicos incluyendo hipotensión, hipoglicemia, toxicidad renal, pancreática y hepática.^{3,4} Es por esta razón, la estructura de las diamidinas ha sido usada de forma camuflada, en la síntesis de nuevos productos leishmanicidas.

Tal es el caso de algunos bisbencimidazoles que mostraron buena actividad leishmanicida (Tabla 4), e incluso mejores que la pentamidina misma, como es el caso de los compuestos **6**, (Figura 5) que presentó una $CI_{50} = 0.41 \mu\text{M}$ exclusiva contra *L. donovani* y los compuestos **7** y **9**, con valores de 1.5 y 1.4 μM , respectivamente.^{8,9}

Tabla 4. Actividad leishmanicida de los compuestos 7-12⁸

Compuesto	<i>Leishmania donovani</i>	
	CI_{50} (μM)	CI_{90} (μM)
7	1.5	3.3
8	4.9	12.9
9	1.4	3.1
10	11.8	53.8
11	13.6	56.2
12	2.2	9.8

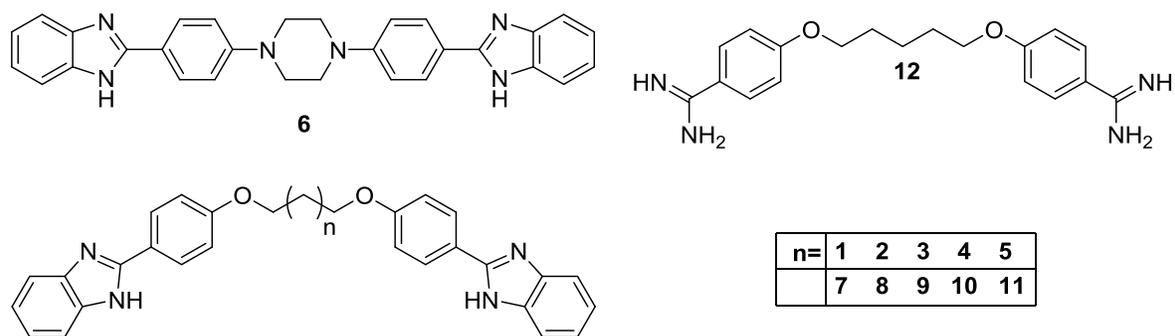
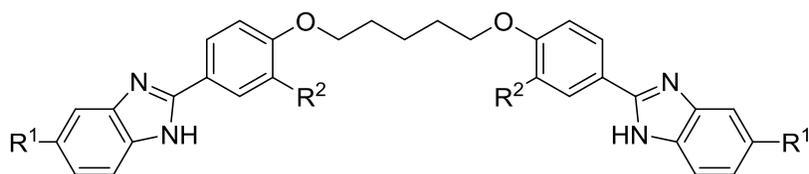


Figura 5. Bencimidazoles leishmanicidas.⁸

También se han sintetizado algunos híbridos de pentamidina y bencimidazol con algunas sustituciones en las posiciones 5 y/o 6 del núcleo de bencimidazol y en la posición 2 del grupo fenilo. Estos compuestos presentaron buena actividad contra *Leishmania mexicana*, incluso, algunos con mejor actividad que la pentamidina (Tabla 5).¹⁰

Tabla 5. Actividad leishmanicida de híbridos de bencimidazol-pentamidina¹⁰



Compuesto	R ¹	R ²	<i>L. mexicana</i> CI ₅₀ (μM)
1	H	H	1.065
2	OCH ₃	H	0.712
3	CH ₃	H	0.368
4	CF ₃	H	>50
5	NO ₂	H	>50
6	H	OCH ₃	>50
7	OCH ₃	OCH ₃	>50
8	CH ₃	OCH ₃	>50
9	CF ₃	OCH ₃	>50
Pentamidina			2.2

Como se puede observar, los estudios mencionados anteriormente muestran resultados prometedores. Algunos de ellos pueden compararse en actividad similar e incluso superior a la pentamidina, un fármaco usado en el tratamiento de la leishmaniasis.

Un estudio más reciente muestra la síntesis y evaluación biológica de 2-arylbenzimidazoles contra *L. donovani*. Los resultados muestran que el compuesto **24** fue activo contra células THP-1 infectadas de *L. donovani*, mostrando 46 % de inhibición del parásito.¹¹

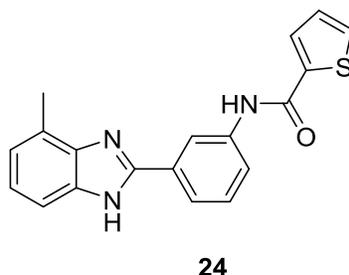
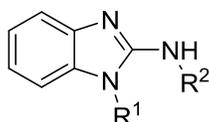


Figura 6. Estructura del compuesto tioen-derivado con mejor porcentaje de inhibición ante *L. donovani*.¹¹

Apoyados en los resultados anteriores y con el propósito de aportar nuevos compuestos leishmanicidas, basados en la estructura del benzimidazol, en nuestro grupo de investigación se realizó un estudio de acoplamiento molecular (Docking) de derivados de 2-aminobenzimidazol en la enzima arginasa de *L. mexicana*, seleccionando las moléculas con mejor energía de unión. Moléculas que posteriormente fueron sintetizadas y evaluadas sobre *Leishmania mexicana*, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 6, los cuales fueron claves en el planteamiento del presente trabajo.¹²

Tabla 6. Actividad leishmanicida de los derivados 2-aminobenzimidazoles¹²



Compuesto	R ¹	R ²	<i>L. mexicana</i> CI ₅₀ (μM)
6	2(1-piperidinil)etilo	2,5-dimetoxibencilo	67.22
11	bencilo	3,4-dimetoxibencilo	65.36
16	1-butilo	2-hidroxi-5-metilbencilo	103.81

21	etilo	3,4,5-trimetoxibencilo	198.33
26	2,5-dimetilbencilo	etilo	131.43
36	pentilo	2-hidroxibencilo	87.80
41	propilo	5-cloro-2-hidroxibencilo	52.91
46	isopropilo	2-metoxibencilo	66.93
48	etilo	2-hidroxi-5-metilbencilo	61.45
53	isopentilo	bencilo	108.45
Pentamidina			2.42

1.6. Aspectos sintéticos del 2-aminobencimidazol

El 2-aminobencimidazol es una importante subclase de los bencimidazoles que han llamado mucho la atención por su variada actividad biológica hacia numerosas enfermedades. Por ejemplo el núcleo de 2-aminobencimidazol se encuentra en fármacos tales como astemizol, mizolastina y CID-2858522 (Figura 7).¹³

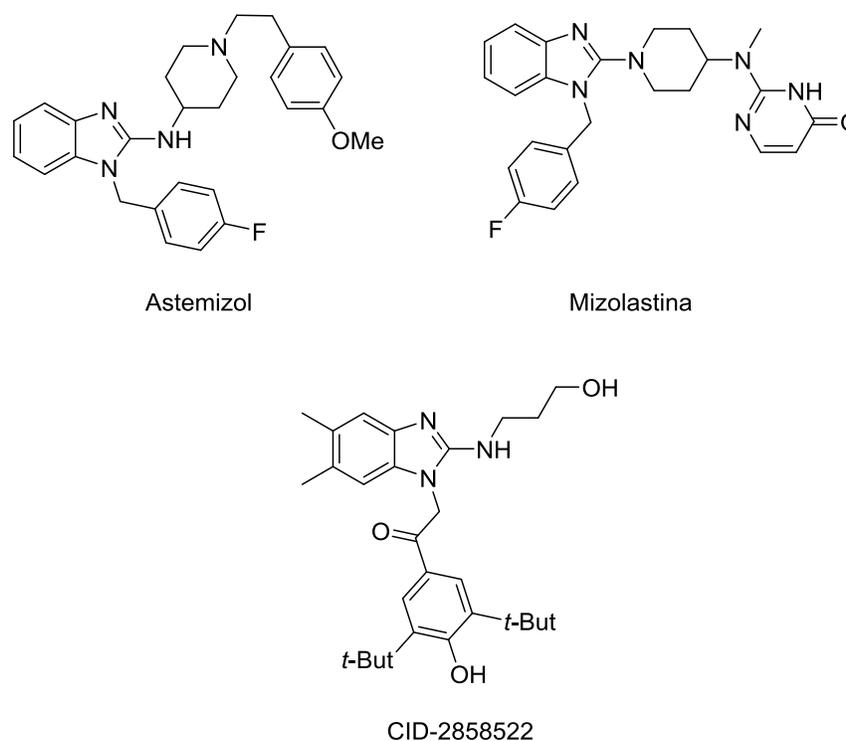
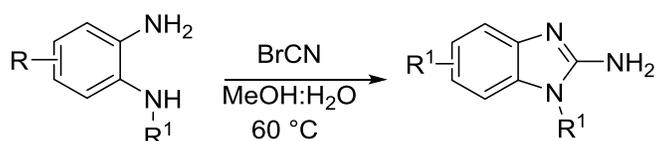
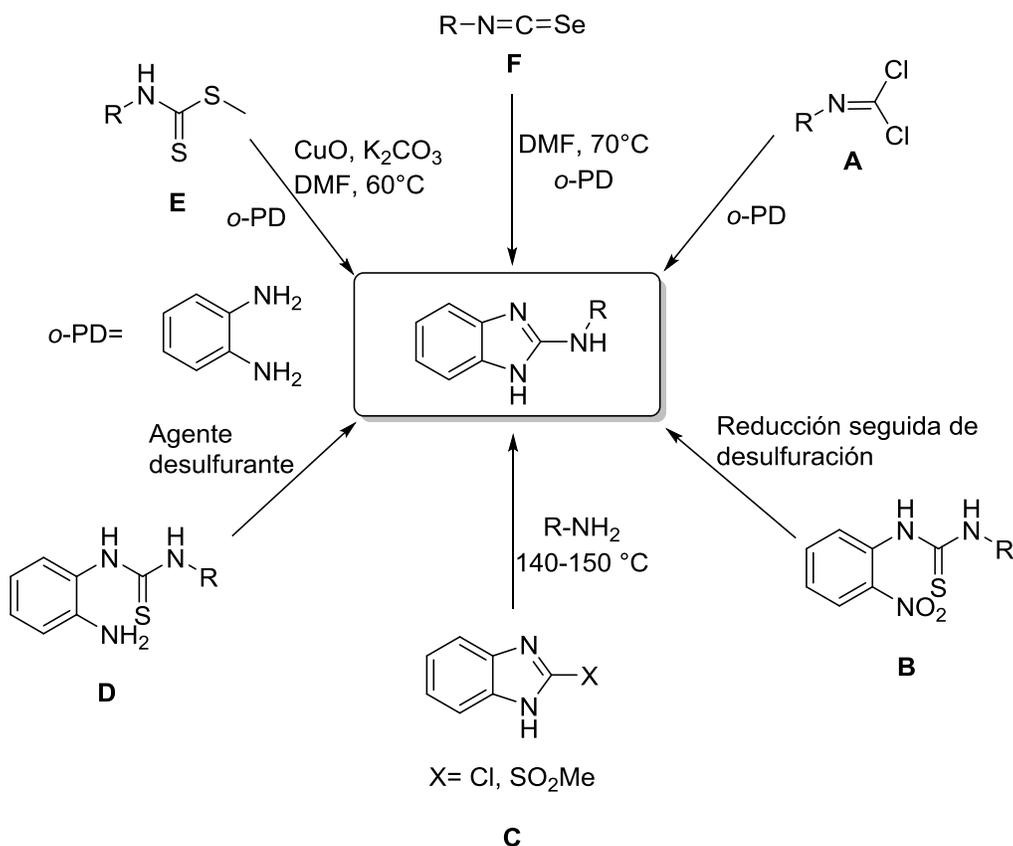


Figura 7. Ejemplo de algunos 2-aminobencimidazoles biológicamente activos.¹³

La polifuncionalidad de dicho núcleo lo ha convertido en materia importante en la síntesis orgánica. Es por esto que diferentes métodos de síntesis han sido desarrollados hasta el momento. El uso de haluros de cianógeno es uno de los métodos más conocido y usado en la obtención de 2-aminobencimidazoles. Este método consiste en hacer reaccionar un haluro de cianógeno junto con una *o*-fenilendiamina o *N*-alquil(aril)-*o*-fenilendiamina en una reacción de ciclocondensación para obtener el correspondiente 2-aminobencimidazol (Esquema 1).¹⁴⁻¹⁹



Esquema 1. Ciclocondensación de *o*-fenilendiaminas con bromuro de cianógeno.



Esquema 2. Métodos de preparación de 2-aminobencimidazoles.²⁰

Algunos otros métodos convencionales, también muy usados en la síntesis del núcleo de 2-aminobencimidazol, incluyen el uso de dicloruros de carbonimidoilo con *o*-fenilendiaminas en disolventes adecuados **A**²¹ (Esquema 2), ciclación reductiva de nitrotioureas **B**^{22,23} (Esquema 2), S_NAr de 2-clorobencimidazoles o 2-metilsulfonyl bencimidazoles con una amina **C**^{22,24-27} (Esquema 2), la ciclodesulfuración de monotioureas preformadas o generadas in situ **D**²⁸⁻³² (Esquema 2), la condensación de ditiocarbamatos con *o*-fenilendiaminas a altas temperaturas **E**³⁰ (Esquema 2) y más recientemente se reporta el uso de isoselenocianatos **F**³³ (Esquema 2).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades parasitarias, entre ellas la Leishmaniasis, constituyen un problema de salud mundial, por lo que el desarrollo de nuevas moléculas para el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos es de gran importancia. Sumado a esto, el actual incremento en la aparición de resistencia a fármacos antiparasitarios ha propiciado la necesidad de desarrollar nuevas alternativas estructurales para lograr un efecto antiparasitario.

En nuestro grupo de investigación, se han desarrollado compuestos del tipo 2-(*N*-bencil)bencimidazoles que arrojaron resultados interesantes como antiparasitarios.^{12,34} Teniendo como marco de referencia dichos antecedentes y basados en conocimientos de metabolismo de bencimidazoles,³⁵ en la presente investigación se planteó la síntesis de nuevos derivados del 2-aminobencimidazol sustituidos en posiciones 5 y/o 6 con la finalidad de retardar el metabolismo de dichos compuestos en el organismo.

3. HIPÓTESIS

- Los compuestos a sintetizar tendrán actividad inhibitoria sobre los promastigotes de *Leishmania mexicana*.
- Las sustituciones realizadas en las posiciones 5 y/o 6 no afectarán significativamente la actividad de los mismos.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Sintetizar y evaluar *in vitro* los 2-(*N*-bencil)bencimidazoles (30-50) propuestos sobre cultivos de promastigote de *Leishmania mexicana*.

4.2. Objetivos particulares

- Sintetizar los 2-(*N*-bencil)bencimidazoles (30-50) sustituidos con cloro en posiciones 5 y/o 6.
- Caracterizar los compuestos finales mediante técnicas espectroscópicas (IR, RMN) y espectrométricas (EM).
- Evaluar la actividad *in vitro* sobre cultivos de promastigote de *L. mexicana* de los compuestos sintetizados.

5. PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos y disolventes usados en las diferentes reacciones, en las recristalizaciones y como mezclas de eluyentes en la cromatografía de capa fina fueron de las marcas J.T: Baker, Aldrich, Merck y QP.

La concentración de las disoluciones se llevaron a cabo en un rotoevaporador marca Büchi modelo R-205 con una bomba generadora de vacío Büchi V-500. El control de la reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (ccf), utilizando placas de vidrio cubiertas por gel de sílice 60 GF₂₅₄ (Merck), las cuales se visualizaron con una lámpara UV modelo UVGL-25 a las longitudes de onda de 254/365 nm.

Las hidrogenaciones catalíticas se llevaron a cabo en un equipo de hidrogenación marca Parr modelo 3916EG a 60 lb/in² a temperatura ambiente y 120 mL como capacidad máxima e hidrógeno INFRA y como catalizador Ni-Raney (Aldrich) al 30%.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato marca Büchi, modelo B-540, utilizando capilares de vidrio. Los espectros de IR fueron tomados en un espectrofotómetro de transformada de Fourier marca Perkin Elmer modelo FT-IR-1600, por reflectancia ATR. Las señales se reportan en cm⁻¹.

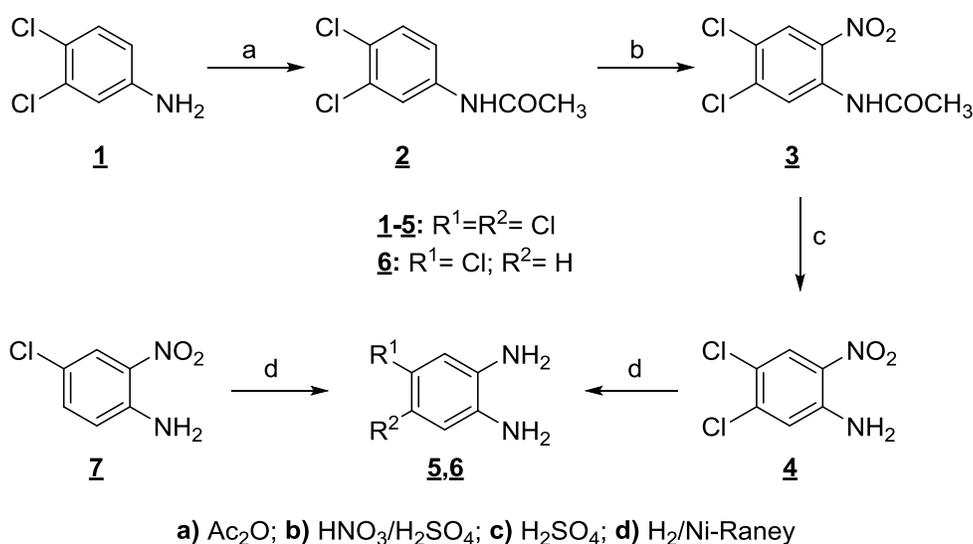
Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN¹H) y de carbono (RMN¹³C) se obtuvieron en un equipo Varian modelo Unity Inova de 400 MHz, utilizando como disolvente DMSO-*d*₆. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm).

Los cromatogramas y los espectros de masas se registraron en un cromatógrafo de gases Agilent, modelo 6890N (columna capilar DB5) acoplado a un detector selectivo de masas marca LECO, modelo Pegasus 4D con analizador másico TOF (Tiempo de vuelo) e ionización electrónica (70 eV).

Los datos de Difracción de Rayos X de monocristal se obtuvieron en un difractor Gemini (radiación de cobre y molibdeno) con detector Atlas de 135 mm de área activa, equipado con un sistema de baja temperatura (Cryojet), colimadores de 0.3, 0.5 y 0.8 mm para cada radiación.

5.1. OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINO-1H-BENCIMIDAZOLES 9a-c

5.1.1. Síntesis de las 1,2-fenilendiaminas 5,6



Esquema 3. Síntesis de las 1,2-fenilendiaminas 5,6.

N-(3,4-Diclorofenil)acetamida (2). En un vaso de precipitados de 2 L se depositó 176.6 mL de anhídrido acético (1.86 mol) y sobre éste se adicionó lentamente, agitando con una varilla de teflón, 150 g (934.14 mmol) de 3,4-dicloroanilina comercial (1) pulverizada, evitando que la temperatura de reacción excediera los 70 °C. Finalizada la adición, la mezcla se dejó en agitación por 15 minutos más. Después de este tiempo la masa de reacción se vertió sobre agua helada con agitación constante. El producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con abundante agua hasta llevarlo a pH neutro. Se obtuvo 184.7 g (97.2%) de producto crudo como un sólido grisáceo con un punto de fusión de 124.8-126.3 °C (reportado para (2) 122-123 °C).³⁶

N-(3,4-Dicloro 2-nitrofenil)acetamida (3). En un vaso de precipitados de 250 mL, sobre baño de hielo, se enfrió 30 mL de ácido sulfúrico concentrado por debajo de 10 °C, seguidamente se adicionaron lentamente y con agitación constante 15 g (73.5 mmol) de (2) seca y pulverizada. A la mezcla de reacción se añadió gota a gota, lentamente y con agitación constante, 10 mL de la mezcla sulfonítrica (HNO₃/H₂SO₄) manteniendo la temperatura por debajo de los 10 °C. Finalizada la adición, la masa de reacción se dejó en agitación constante por un periodo de 10 min alrededor de 10 °C, después, la masa de reacción se vertió sobre agua-hielo y el producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con abundante agua hasta pH neutro. Se obtuvo 17.4 g (95%) de un sólido amarillo claro con un punto de fusión de 122.0-123.9 °C (reportado para (3) 123-124 °C).³⁶

4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4). En un vaso de precipitados de 250 mL se depositó 40 mL de ácido sulfúrico concentrado y sobre éste se disolvió 15 g (60.22 mmol) (3) de la 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida. La disolución se calentó a 60 °C por 30 minutos. Finalizado este tiempo, la masa de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió sobre hielo; el producto formado se separó por filtración con vacío y se lavó con agua hasta pH neutro. Se obtuvo 12.0 g (96%) de un sólido amarillo oscuro con un punto de fusión de 180.0-182.4 °C (reportado para (4) 176-178 °C).³⁷

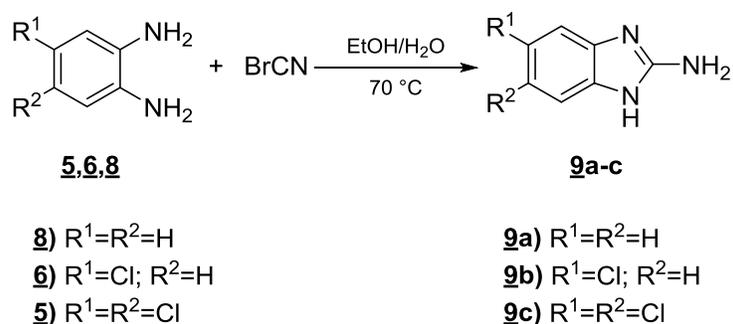
Procedimiento general de hidrogenación catalítica. En una botella de hidrogenación se suspendió la nitroanilina apropiada y 30% de catalizador de Níquel–Raney en metanol. La suspensión se hidrogenó hasta observar por ccf el consumo total del producto de partida. Una vez finalizada la reacción, el catalizador se retiró por filtración al vacío en una cama de celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El producto correspondiente obtenido, un sólido café claro, se utilizó inmediatamente en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (5). Partiendo de 13.4 g (64.73 mmol) de (4), 4 g de catalizador y 150 mL de metanol se consumió 193 lb/in² de hidrógeno en 1 h 10 min. Se obtuvo 11.4 g (99.5%) de un sólido café oscuro que se utilizó

inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

4-Cloro-1,2-fenilendiamina (6). Partiendo de 15 g (86.92 mmol) de (7), 4.5 g de catalizador y 200 mL de metanol se consumió 295 lb/in² de hidrógeno luego de 1 h y 10 min. Se obtuvo 12.3 g (99.3%) de un sólido café oscuro que se utilizó inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

5.1.2. Síntesis de los 2-Amino-1H-bencimidazoles 9a-c



Esquema 4. Obtención de los 2-amino-1H-bencimidazoles 9a-c.

Método general de síntesis de los 2-aminobencimidazoles (9a-c). En un matraz de fondo redondo 125 mL de tres bocas, adaptado con agitación magnética, termómetro y una columna Vigreux, se disolvió la 1,2-fenilendiamina apropiada en una mezcla de etanol-agua (20:80). Una vez disuelta la diamina la disolución se calentó a 70 °C y se adicionó en pequeñas cantidades 1.2 eq. de bromuro de cianógeno, controlando que la temperatura de la reacción no excediera los 80 °C. Terminada la adición, la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1 h. Después, la mezcla de reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y se trató con una disolución de hidróxido de amonio (50% p/v) hasta precipitación total. El producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con agua fría.

2-Amino-1H-bencimidazol (9a). A partir de 10 g (92.47 mmol) de (8) y 11.75 g (110,96 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1h se obtuvo 5.2 g (42,24%)

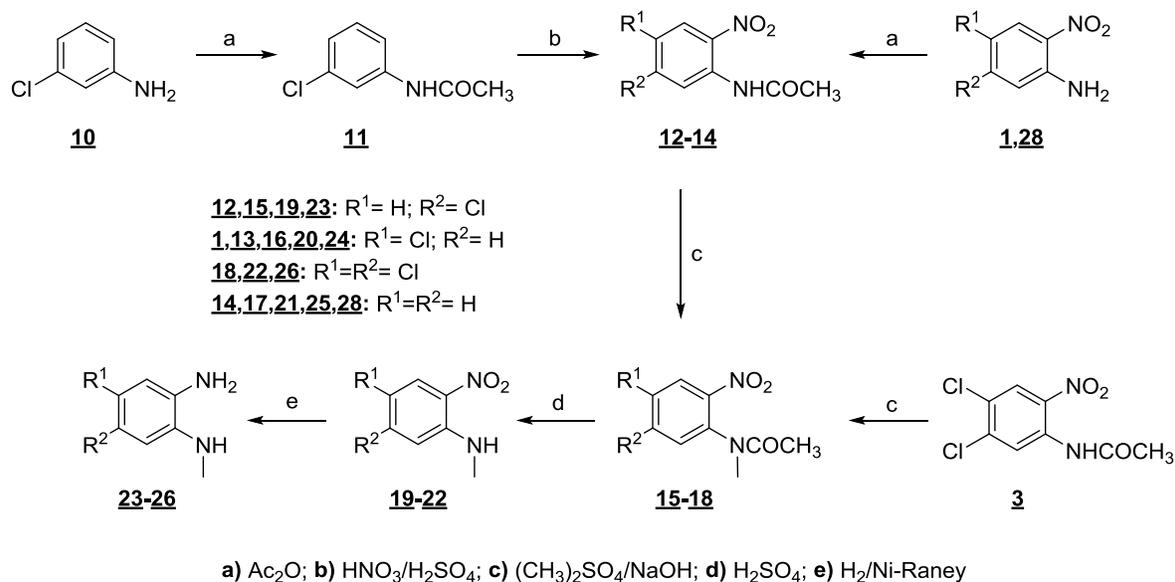
de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 230-232 °C (reportado para **(9a)** 227-229 °C).^{12,37}

2-Amino-5-cloro-1H-bencimidazol (9b). A partir de 10 g (70,13 mmol) de **(6)** y 8.91 g (84.16 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1h se obtuvo 6.1 g (51.91%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 168.6-170.3 °C (reportado para **(9b)** 168-170 °C).^{12,37}

2-Amino-5,6-dicloro-1H-bencimidazol (9c). A partir de 11 g (62.7 mmol) de **(5)** y 7.97 g (75.24 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1h se obtuvo 9.1 g (71.87%) de un sólido naranja pálido con un punto de fusión de 257.4-259.2 °C (reportado para **(9c)** 257-259 °C).^{12,37}

5.2. OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINO-1-METILBENCIMIDAZOLES **28a-d**

5.2.1. Síntesis de las *N*¹-metil-1,2-fenilendiaminas **23-26**



Esquema 5. Obtención de las *N*¹-metil-1,2-fenilendiaminas **23-26**.

Acetilación de las anilinas (1),(10),(28). En un vaso de precipitados de 100 mL se depositó 20-32 mL de anhídrido acético y sobre éste se adicionaron 15-30 g de la anilina comercial apropiada y 0,2 mL de H₂SO₄ conc., evitando que la temperatura de reacción excediera los 70 °C. Terminada la adición, la masa de reacción se dejó en agitación por un periodo de 15-30 minutos. Finalizado este periodo de tiempo, la masa de reacción se vertió sobre agua helada con agitación constante. El correspondiente producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con abundante agua hasta pH neutro.

N-(2-Nitrofenil)acetamida (14). A partir de 20.53 mL (217.18 mmol) de anhídrido acético, 15 g (108.59 mmol) de (28) y 0,2 mL de H₂SO₄ conc., después de 15 minutos se obtuvo 19.2 g (98%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 92.7-93.9 °C (reportado para (14) 93-94 °C).³⁶

N-(3-Clorofenil)acetamida (11). A partir de 22.2 mL (235.10 mmol) de anhídrido acético, 15 g (117.55 mmol) de (10) y 0,2 mL de H₂SO₄ conc., después de 20 minutos se obtuvo 18.9 g (94.83%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 76.0-77.2 °C (reportado para (11) 77-78 °C).³⁶

N-(4-Cloro-2-nitrofenil)acetamida (13). A partir de 32.87 mL (347.78 mmol) de anhídrido acético, 30 g (173.89 mmol) de (1) y 0,2 mL de H₂SO₄ conc., después de 20 minutos se obtuvo 36.8 g (98.63%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 99.3-101.6 °C (reportado para (13) 99.0-101.0 °C).³⁶

N-(3-Cloro-2-nitrofenil)acetamida (12). En un vaso de precipitado de 250 mL, sobre baño de hielo, se enfrió 30 mL de anhídrido acético por debajo de 0 °C, seguidamente se adicionó con agitación constante 15 g (88.43 mmol) de (11). A la mezcla de reacción se añadió gota a gota, lentamente y con agitación constante, 10 mL de mezcla sulfonítrica (HNO₃/H₂SO₄) manteniendo la temperatura por debajo de los 0 °C. Finalizada la adición, la masa de reacción se dejó en agitación constante por un periodo de 10 min alrededor de 0 °C. Transcurrido este periodo

se vertió la masa de reacción sobre agua-hielo y el producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con abundante agua hasta pH neutro. Se obtuvo 18 g (94.88%) de un sólido amarillo claro, como la mezcla de regioisómeros (producto de sustitución en posición *orto* y *para*). El sólido fue puesto en agitación con benceno durante 20 min y la mezcla se filtró al vacío. El filtrado fue concentrado a presión reducida obteniéndose 13 g (72.22%) de un sólido amarillo claro con un punto de fusión de 116.4-117.2 °C (reportado para (**12**) 116-118 °C).³⁶

Metilación de las *N*-(2-Nitrofenil)acetamidas (3**),(**12-14**).** En un matraz de fondo redondo de tres bocas, provisto de condensador en posición de reflujo, termómetro y embudo de adición; se mezclaron 13-15 g de las 2-nitroacetanilidas adecuadas junto con 11-22 mL (3 eq) de sulfato de dimetilo con agitación constante y la mezcla se calentó a 30 °C. Seguidamente se goteo lentamente una disolución de hidróxido de sodio (10 g/40 mL agua), evitando que la temperatura de la reacción excediera los 35 °C. Finalizada la adición se dejó en agitación por un periodo de 15 a 30 minutos. Después, la masa de reacción se vertió sobre agua-hielo y la mezcla se filtró y se lavó con abundante agua hasta pH neutro para dar el correspondiente producto *N*-metilado.

***N*-Metil-*N*-(2-nitrofenil)acetamida (**17**).** A partir de 14 g (77.70 mmol) de (**14**), 22.19 mL (233.12 mmol; 3 eq) de sulfato de dimetilo y después de 30 minutos se obtuvo 13.5 g (93%) de un sólido amarillo con un punto de fusión de 68.9-70.2 °C.

***N*-(4-Cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**16**).** A partir de 15 g (69.89 mmol) de (**13**), 19.96 mL (209.68 mmol; 3 eq) de sulfato de dimetilo y después de 30 minutos se obtuvo 14.5 g (90.79%) de un sólido amarillo con un punto de fusión de 90.6-91.8 °C (reportado para (**16**) 90.5-91.5 °C).³⁶

***N*-(5-Cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**15**).** A partir de 13 g (60.57 mmol) de (**12**), 11.53 mL (121.14 mmol; 3 eq) de sulfato de dimetilo y después de 30

minutos se obtuvo 13.2 g (95.37%) de un sólido amarillo con un punto de fusión de 86.4-87.6 °C (reportado para **(15)** 86-87 °C).³⁶

***N*-(4,5-Dicloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (**18**)**. A partir de 17.7 g (71.0 mmol) de **(3)**, 20.29 mL (213.0 mmol; 3 eq) de sulfato de dimetilo y después de 30 minutos se obtuvo 17.5 g (93.73%) de un sólido amarillo con un punto de fusión de 95.1-97.0 °C (reportado para **(18)** 94-95 °C).³⁶

Hidrólisis de las *N*-metil-*N*-(2-nitrofenil)acetamidas (15-18**)**. En un vaso de precipitados de 250 mL se depositó 20-40 mL de ácido sulfúrico concentrado y sobre éste se disolvieron 11-13 g (66.94 mmol) de la *N*-metil-2-nitroacetanilida apropiada. La disolución se calentó a 60 °C por 30 minutos. Finalizado este tiempo, la masa de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió sobre hielo; el correspondiente producto formado se separó por filtración con vacío y se lavó con agua hasta pH neutro.

5-Cloro-*N*-metil-2-nitroanilina (19**)**. A partir de 12 g (52.48 mmol) de **(15)**, 40 mL de ácido sulfúrico y después de 30 minutos se obtuvo 9.6 g (98.9%) de un sólido amarillo claro con un punto de fusión de 104.4-105.7 °C (reportado para **(19)** 104-106 °C).³⁶

4-Cloro-*N*-metil-2-nitroanilina (20**)**. A partir de 13 g (56.86 mmol) de **(16)**, 40 mL de ácido sulfúrico y después de 30 minutos se obtuvo 10.1 g (95.2%) de un sólido amarillo oscuro con un punto de fusión de 106.1-107.0 °C (reportado para **(20)** 107-108 °C).³⁶

***N*-Metil-2-nitroanilina (**21**)**. A partir de 13 g (66.94 mmol) de **(17)**, 40 mL de ácido sulfúrico y después de 30 minutos se obtuvo 9.7 g (95.0%) de un sólido amarillo oscuro con un punto de fusión de 34.6-35.5 °C (reportado para **(21)** 36-37 °C).³⁶

4,5-Dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina (22**)**. A partir de 14.2 g (53.97 mmol) de **(18)**, 40 mL de ácido sulfúrico y después de 30 minutos se obtuvo 11.47 g (96.2%) de un sólido amarillo oscuro con un punto de fusión de 145.2-147.1 °C (reportado para **(22)** 146-148 °C).³⁶

Procedimiento general de hidrogenación catalítica. En una botella de hidrogenación se suspendió la *N*-metilnitroanilina apropiada y 30% de catalizador de Níquel–Raney en metanol. La suspensión se hidrogenó hasta observar por ccf el consumo total del producto de partida. Una vez finalizada la reacción el catalizador se retiró por filtración al vacío en una cama de celita y el filtrado se concentró a presión reducida. El producto obtenido, un sólido café claro, se utilizó inmediatamente en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

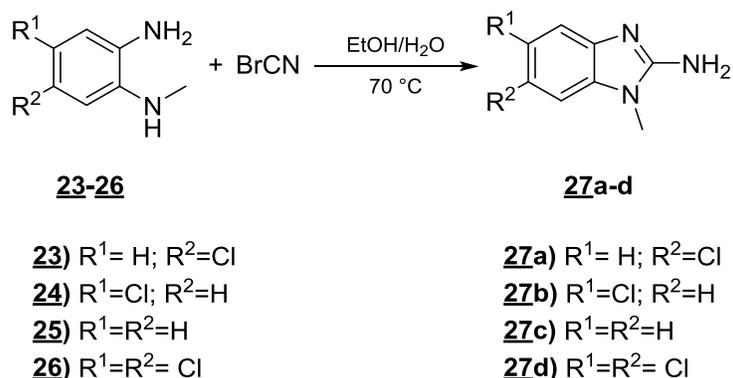
5-Cloro-*N*¹-metil-1,2-fenilendiamina (23). A partir de 9.4 g (50.37 mmol) de (19) junto con 3.1 g de catalizador se consumió 180 lb/in² de hidrógeno en 1 h y 40 min. Se obtuvo 7.7 g (98.7%) de un sólido café oscuro que se utilizó inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

4-Cloro-*N*¹-metil-1,2-fenilendiamina (24). A partir de 10 g (53.59 mmol) de (20) junto con 3.3 g de catalizador se consumió 183 lb/in² de hidrógeno en 1 h y 30 min. Se obtuvo 8.3 g (98.9%) de un sólido café oscuro que se utilizó inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

***N*¹-metil-1,2-fenilendiamina (25).** A partir de 9.6 g (63.09 mmol) de (21) junto con 3.1 g de catalizador se consumió 193 lb/in² de hidrógeno en 1 h y 30 min. Se obtuvo 7.6 g (98.7%) de un sólido café oscuro que se utilizó inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

4,5-Dicloro-*N*¹-metil-1,2-fenilendiamina (26). A partir de 11.47 g (51.89 mmol) de (22) junto con 3.4 g de hidrógeno se consumió 171 lb/in² de hidrógeno en 1 h y 35 min. Se obtuvo 9.4 g (95.0%) de un sólido café oscuro que se utilizó inmediatamente, sin previa purificación, en la reacción de ciclocondensación con bromuro de cianógeno.

5.2.2. Síntesis de los 2-Amino-1-metilbencimidazoles 27a-d



Esquema 6. Obtención de los 2-Amino-1-metilbencimidazoles 27a-d.

Método general de síntesis de los 2-Amino-1-metilbencimidazoles (27a-d). En un matraz de fondo redondo de 125 mL de tres bocas, adaptado con agitación magnética, termómetro y una columna Vigreux, se disolvieron 7-10 g de la *N*¹-metil-1,2-fenilendiamina apropiada en una mezcla de etanol-agua (20:80). Una vez disuelta la diamina se calentó la reacción a 70 °C y se adicionó en pequeñas cantidades 1.2 eq. de bromuro de cianógeno, controlando que la temperatura de la reacción no excediera los 80 °C. Una vez terminada la adición, la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1 h. Finalizado este periodo, la mezcla de reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y se trató con una disolución de hidróxido de amonio (50% p/v) hasta precipitación total. El producto formado se separó por filtración al vacío y se lavó con agua fría.

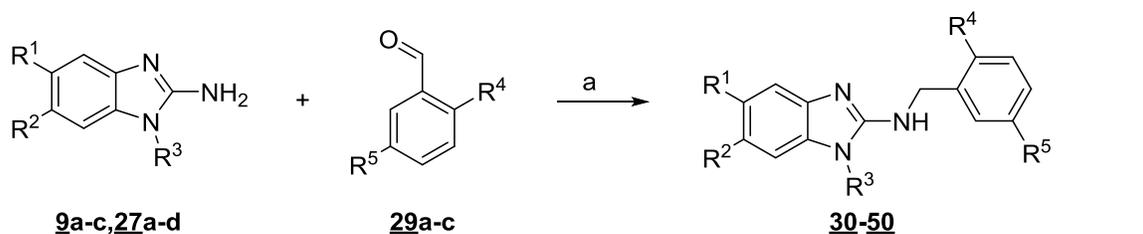
2-Amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (27a). A partir de 7.7 g (63.0 mmol) de (**25**) y 8 g (75.6 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1 h se obtuvo 9.0 g (97.1%) de un sólido blanco con un punto de fusión de 204.4-205.9 °C (reportado para (**27a**) 203-205 °C).³⁶

2-Amino-5-cloro-1-metil-1*H*-bencimidazol (27b). A partir de 8.3 g (52.99 mmol) de (**24**) y 6.73 g (63.59 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1 h se obtuvo 9.7 g (98.9%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 210.1-211.5 °C (reportado para (**27b**) 210-211 °C).³⁶

2-Amino-6-cloro-1-metil-1*H*-bencimidazol (27c). A partir de 7.8 g (50.37 mmol) de la (23) y 6.4 g (60.45 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1 h se obtuvo 9.0 g (98.9%) de un sólido grisáceo con un punto de fusión de 254.2-255.8 °C (reportado reportado para (27c) 252-255 °C).³⁶

2-Amino-5,6-dicloro-1-metil-1*H*-bencimidazol (27d). A partir de 9.3 g (48.67 mmol) de la (26) y 6.18 g (58.41 mmol) de bromuro de cianógeno, después de 1 h se obtuvo 10.0 g (95.23%) de un sólido naranja pálido con un punto de fusión de 242-243 °C (reportado para (27c) 241-243 °C).³⁶

5.3. SÍNTESIS DE LOS 2-(*N*-BENCIL)BENCIMIDAZOLES 30-50



9a) R¹=R²= H; R³= H

9b) R¹= Cl; R²= H; R³= H

9c) R¹=R²= Cl; R³= H

27a) R¹= H; R²=Cl; R³= CH₃

27b) R¹=Cl; R²=H; R³= CH₃

27c) R¹=R²=H; R³= CH₃

27d) R¹=R²= Cl; R³= CH₃

29a) R⁴= OCH₃; R⁵= H

29b) R⁴= OH; R⁵= Cl

29c) R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

30) R¹=R²=R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= H

31) R¹= Cl; R²=R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= H

32) R¹=R²= Cl; R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= H

33) R¹=R²= H; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= H

34) R¹= Cl; R²= H; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= H

35) R¹= H; R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= H

36) R¹=R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= H

37) R¹=R²=R³= H; R⁴= OH; R⁵= Cl

38) R¹= Cl; R²=R³= H; R⁴= OH; R⁵= Cl

39) R¹=R²= Cl; R³= H; R⁴= OH; R⁵= Cl

40) R¹=R²= H; R³= CH₃; R⁴= OH; R⁵= Cl

41) R¹= Cl; R²= H; R³= CH₃; R⁴= OH; R⁵= Cl

42) R¹= H; R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OH; R⁵= Cl

43) R¹=R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OH; R⁵= Cl

44) R¹=R²=R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

45) R¹= Cl; R²=R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

46) R¹=R²= Cl; R³= H; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

47) R¹=R²= H; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

48) R¹= Cl; R²= H; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

49) R¹= H; R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

50) R¹=R²= Cl; R³= CH₃; R⁴= OCH₃; R⁵= Cl

a) 1: Tolueno/120°C; **2:** NaBH₄/MeOH

Esquema 7. Obtención de los 2-(*N*-bencil)benzimidazoles 30-50.

En un matraz de fondo redondo de 50 mL, provisto con una trampa Dean Stark, condensador en posición de reflujo, trampa de humedad y agitación magnética, se depositó el 2-aminobencimidazol adecuado junto con el benzaldehído apropiado en 30 mL de tolueno. La mezcla de reacción se calentó a reflujo, por un periodo de 8-12 h (control por ccf), destilando tolueno con agua y reemplazando con tolueno anhidro. Finalizada la reacción se retiró el tolueno a presión reducida. El sólido amarillo formado se disolvió en metanol a temperatura ambiente y se le adicionó en pequeñas cantidades 3 eq. de borohidruro de sodio (NaBH_4). Finalizada la adición se dejó en agitación por 30 minutos, se adicionó agua y se dejó en agitación por 20 minutos más. El producto formado fue separado por filtración al vacío y lavado con agua.

2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (30). A partir de 2.0 g (15.02 mmol) de **(9a)** y 1.99 mL (2.24 g, 16.52 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 1.7 g (45.06 mmol) de NaBH_4 en 50 mL de metanol, se obtuvo 3.2 g (84.21%) del producto **(30)** (253.3 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 182.3-183.5 °C. **IR** cm^{-1} : 3430 (N-H), 2932-2675 (C-H Ar), 1599, 1581 (C=N), 1458 (-CH₂-), 1240, 1026 (C-O-C). **AE**: C: 70.33%, H: 5.89%, N: 16.35%, (teórico: C: 71.13, H: 5.97, N: 16.59). **EM/IE** m/z (Int. %): 253 (M^+ , 14), 222 (44), 132 (5), 121 (46), 105 (12), 91 (100), 78 (17), 65 (38). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.83 (s, 3 H, 2'-OCH₃), 4.49 (s, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.85 (dd, J = 6.0, 3.2 Hz, 2H, 5-H y 6-H), 6.88 (td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H, 5'-H), 6.99 (da, J = 7.5 Hz, 1H, 3'-H), 7.12 (dd, J = 6.0, 3.2 Hz, 2H, 4-H y 7-H), 7.23 (td, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.28 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H, 6'-H), 10.83 (sa, 1H, 1-NH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 41.41 (-CH₂-), 55.75 (2'-OCH₃), 110.81 (3'-C), 112.05 (4-C y 7-C), 119.5 (5-C y 6-C), 120.55 (5'-C), 127.86 (6'-C), 128.15 (1'-C), 128.36 (4'-C), 156.14 (2-C), 157.21 (2'-C).

5(6)-Cloro-2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (31). A partir de 1.64 g (9.78 mmol) de **(9b)** y 1.3 mL (1.46 g, 10.76 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 1.1 g (29.34 mmol) de NaBH_4 en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.4 g (85.71%) del producto **(31)** (287.75 g/mol) como un sólido grisáceo

con punto de fusión de 146.7-148.5 °C. **IR** cm^{-1} : 3410 (N–H), 2916-2687 (C–H Ar), 1598, 1577 (C=N), 1457 (–CH₂–), 1241, 1027 (C–O–C), 753 (ArC–Cl). **AE**: C: 62.79%, H: 4.68%, N: 14.61%, (teórico: C: 62.61, H: 4.90, N: 14.60). **EM/IE** m/z (Int. %): 287 (M⁺, 9), 256 (24), 166 (4), 139 (3), 121 (66), 112 (2), 91 (100), 65 (34). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.83 (s, 3 H, 2'–OCH₃), 4.48 (d, J = 6.0 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.86 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H, 6–H), 6.89 (td, J = 7.8, 0.6 Hz, 1H, 5'–H), 6.99 (da, J = 7.8 Hz, 1H, 3'–H), 7.09 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 7–H), 7.13 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4–H), 7.24 (td, J = 7.8, 1.2 Hz, 1H, 4'–H), 7.25 (da, J = 7.8, 1 Hz, 1H, 6'–H), 10.90 (sa, 1H, 1–NH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 41.38 (–CH₂–), 55.76 (2'–OCH₃), 110.87 (3'–C), 112.52 (7–C), 119.06 (6–C), 120.57 (5'–C), 120.9 (4–C), 123.84 (5–C), 127.81 (1'–C), 127.89 (6'–C), 128.48 (4'–C), 157.03 (2–C), 157.21 (2'–C).

5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (32). A partir de 1.5 g (7.42 mmol) de **(9c)** y 0.98 mL (1.11 g, 8.16 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.84 g (22.26 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.3 g (96.23%) del producto **(32)** (321.04 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 201.3-203.2 °C. **IR** cm^{-1} : 3428 (N–H), 2928-2601 (C–H Ar), 1603, 1572 (C=N), 1462 (–CH₂–), 1240, 1031 (C–O–C), 752 (ArC–Cl). **AE**: C: 48.59%, H: 3.17%, N: 11.43%, (teórico: C: 55.92, H: 4.07, N: 13.04). **EM/IE** m/z (Int. %): 321 (M⁺, 6), 290 (13), 173 (3), 146 (2), 121 (83), 91 (100), 65 (32). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.82 (s, 3 H, 2'–OCH₃), 4.49 (d, J = 5.4 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.88 (ta, J = 7.5 Hz, 1H, 5'–H), 6.99 (da, J = 8.1 Hz, 1H, 3'–H), 7.24 (ta, J = 8.1 Hz, 1H, 4'–H), 7.25 (da, J = 7.5, 1 Hz, 1H, 6'–H), 7.31 (s, 2H, 4–H y 7–H), 7.47 (t, J = 5.4 Hz, 1H, 2–NH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 41.41 (–CH₂–), 55.78 (2'–OCH₃), 110.9 (3'–C), 112.97 (4–C y 7–C), 120.59 (5'–C), 121.41 (5–C y 6–C), 127.45 (1'–C), 127.98 (6'–C), 128.6 (4'–C), 157.21 (2–C), 157.6 (2'–C).

1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (33). A partir de 1.5 g (10.19 mmol) de **(27a)** y 1.35 mL (1.52 g, 11.21 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 1.15 g (30.57 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.0 g (74.07%) del producto **(33)** (267.33 g/mol) como un sólido blanco con

punto de fusión de 165.9-166.5 °C. **IR** cm^{-1} : 3206 (N-H), 2989-2835 (C-H Ar), 1604, 1574 (C=N), 1237, 1029 (C-O-C). **AE**: C: 71.00%, H: 5.76%, N: 15.67%, (teórico: C: 71.89, H: 6.41, N: 15.72). **EM/IE** m/z (Int. %): 267 (M^+ , 21), 236 (59), 146 (14), 121 (60), 119 (15), 94 (14), 91 (100), 65 (24). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.57 (s, 3H, N- CH_3), 3.84 (d, 3 H, 2'- OCH_3), 4.57 (d, J = 6.0 Hz, 2 H, N- CH_2 -Ph), 6.88 (td, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H, 5'-H), 6.90-6.96 (m, 2H, 5-H y 6-H), 6.99 (da, J = 8.1 Hz, 1H, 3'-H), 7.11-7.19 (m, 2H, 4-H y 7-H), 7.23 (td, J = 7.5, 1.8 Hz, 1H, 4'-H), 7.28 (dd, J = 7.5, 1.8 Hz, 1H, 6'-H), 7.07 (t, J = 6.0 Hz, 1H, 2-NH); **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.76 (N- CH_3), 41.2 ($-\text{CH}_2-$), 55.74 (2'- OCH_3), 107.69 (7-C), 110.74 (3'-C), 115.41 (4-C), 118.73 (6-C), 120.5 (5-C), 120.65 (5'-C), 127.65 (6'-C), 128.05 (1'-C), 128.19 (4'-C), 135.88 (7a-C), 142.97 (3a-C), 155.68 (2-C), 157.1 (2'-C).

5-Cloro-1-metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (34). A partir de 1.5 g (8.26 mmol) de **(27b)** y 1.09 mL (1.23 g, 9.08 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.93 g (24.75 mmol) de NaBH_4 en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.3 g (92.74%) del producto **(34)** (301.77 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 182.7-183.3 °C. **IR** cm^{-1} : 3205 (N-H), 2994-2835 (C-H Ar), 1602, 1568 (C=N), 1461 ($-\text{CH}_2-$), 1238, 1030 (C-O-C), 749 (ArC-Cl). **AE**: C: 63.29%, H: 4.96%, N: 13.94%, (teórico: C: 63.68, H: 5.34, N: 13.92). **EM/IE** m/z (Int. %): 301 (M^+ , 8), 270 (31), 180 (6), 153 (6), 126 (3), 121 (61), 91 (100), 65 (29). **RMN** ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.56 (s, 3H, N- CH_3), 3.83 (d, 3 H, 2'- OCH_3), 4.57 (d, J = 6.0 Hz, 2 H, N- CH_2 -Ph), 6.88 (ta, J = 7.8 Hz, 1H, 5'-H), 6.91 (dd, J = 8.1, 2.1 Hz, 2H, 6-H), 6.99 (da, J = 7.8 Hz, 1H, 3'-H), 7.15 (d, J = 8.1 Hz, 2H, 7-H), 7.16 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 7.23 (ta, J = 7.8 Hz, 1H, 4'-H), 7.27 (da, J = 7.8 Hz, 1H, 6'-H); **RMN** ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.95 (N- CH_3), 41.19 ($-\text{CH}_2-$), 55.74 (2'- OCH_3), 108.62 (7-C), 110.76 (3'-C), 114.88 (4-C), 118.27 (6-C), 120.51 (5'-C), 124.99 (5-C), 127.62 (6'-C), 127.74 (1'-C), 128.28 (4'-C), 134.84 (7a-C), 144.23 (3a-C), 156.76 (2-C), 157.08 (2'-C).

6-Cloro-1-metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (35). A partir de 1.5 g (8.26 mmol) de **(27c)** y 1.09 mL (1.23 g, 9.08 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, y

la posterior adición de 0.93 g (24.75 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.3 g (92.74%) del producto (**35**) (301.77 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 176.1-176.8 °C. **IR** cm⁻¹: 3163 (N-H), 2938-2834 (C-H Ar), 1593, 1559 (C=N), 1466 (-CH₂-), 1244, 1030 (C-O-C), 752 (ArC-Cl). **AE**: C: 63.49%, H: 4.48%, N: 14.13%, (teórico: C: 63.68, H: 5.34, N: 13.92). **EM/IE** *m/z* (Int. %): 301 (M⁺, 17), 270 (31), 180 (11), 153 (10), 126 (4), 121 (100), 91 (80), 65 (5). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.57 (s, 3H, N-CH₃), 3.83 (d, 3 H, 2'-OCH₃), 4.56 (d, *J*= 5.7 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.88 (ta, *J*= 7.5 Hz, 1H, 5'-H), 6.93 (dd, *J*= 8.4, 2.1 Hz, 1H, 5-H), 6.99 (da, *J*= 8.0 Hz, 1H, 3'-H), 7.12 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H, 4-H), 7.19 (t, *J*= 5.7 Hz, 1H, 2-NH), 7.23 (ta, *J*= 7.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.27 (d, *J*= 2.1 Hz, 1H, 7-H), 7.28 (da, *J*= 7.5 Hz, 1H, 6'-H); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 28.98 (N-CH₃), 41.24 (-CH₂-), 55.75 (2'-OCH₃), 107.97 (7-C), 110.77 (3'-C), 116.15 (4-C), 120.49 (5-C), 120.52 (5'-C), 122.95 (6-C), 127.7 (6'-C), 127.76 (1'-C), 128.28 (4'-C), 136.84 (7a-C), 141.83 (3a-C), 156.43 (2-C), 157.11 (2'-C).

5,6-Dicloro-1-metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (36**)**. A partir de 1.5 g (6.94 mmol) de (**27d**) y 0.92 mL (1.04 g, 7.63 mmol) de 2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.78 g (20.82 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.8 g (78.26%) del producto (**36**) (335.06 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 167.0-168.1 °C. **IR** cm⁻¹: 3195 (N-H), 2939-2834 (C-H Ar), 1602, 1569 (C=N), 1464 (-CH₂-), 1237 (C-O-C), 755 (ArC-Cl). **AE**: C: 55.77%, H: 3.35%, N: 11.90%, (teórico: C: 57.16, H: 4.50, N: 12.50). **EM/IE** *m/z* (Int. %): 335 (M⁺, 9), 304 (17), 214 (6), 187 (4), 160 (3), 121 (94), 91 (100), 65 (36). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.57 (s, 3H, N-CH₃), 3.83 (d, 3 H, 2'-OCH₃), 4.56 (s, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.88 (td, *J*= 7.5, 0.6 Hz, 1H, 5'-H), 6.99 (da, *J*= 8.0 Hz, 1H, 3'-H), 7.23 (td, *J*= 7.5, 1.6 Hz, 1H, 4'-H), 7.26 (da, *J*= 7.5 Hz, 1H, 6'-H), 7.32 (s, 1H, 4-H), 7.39 (sa, 1H, 2-NH), 7.47 (s, 1H, 7-H); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 29.16 (N-CH₃), 41.24 (-CH₂-), 55.76 (2'-OCH₃), 109.25 (7-C), 110.81 (3'-C), 116.09 (4-C), 120.41 (5-C), 120.53 (5'-C), 122.69 (6-C), 127.51 (1'-C), 127.71 (6'-C), 128.36 (4'-C), 135.88 (7a-C), 143.10 (3a-C), 157.09 (2-C), 157.37 (2'-C).

2-(5-Cloro-2-hidroxibencilamino)-1H-bencimidazol (37). A partir de 1.5 g (11.26 mmol) de **(9a)** y 1.94 g, (12.39 mmol) de 5-cloro-2-hidroxibenzaldehído, con la posterior adición de 1.27 g (33.78 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 2.6 g (84.41%) del producto **(37)** (273.72 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 210.6-211.6 °C. **IR** cm⁻¹: 3421 (N-H), 3314 (O-H), 2926-2519 (C-H Ar), 1602, 1581 (C=N), 1438 (-CH₂-), 1258 (C-O-H), 742 (ArC-Cl). **AE**: C: 60.83%, H: 3.81%, N: 15.25%, (teórico: C: 61.43, H: 4.42, N: 15.35). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 4.37 (s, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.80 (d, *J*= 8.8 Hz, 1H, 3'-H), 6.92 (dd, *J*= 6.0, 3.2 Hz, 2H, 5-H y 6-H), 7.12 (dd, *J*= 8.8, 2.8 Hz, 1H, 4'-H), 7.16 (dd, *J*= 6.0, 3.2 Hz, 2H, 4-H y 7-H), 7.25 (d, *J*= 2.8 1H, 6'-H), 7.37 (sa, 1H, 2-NH), 11.50 (sa, 2H, 1-NH y -OH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 41.79 (-CH₂-), 112.23 (4-C y 7-C), 119.18 (3'-C), 120.24 (5-C y 6-C), 122.66 (5'-C), 128.49 (4'-C), 129.39 (1'-C), 129.90 (6'-C), 155.45 (2-C), 155.85 (2'-C).

5(6)-Cloro-2-(5-cloro-2-hidroxibencilamino)-1H-bencimidazol (38). A partir de 1.0 g (5.96 mmol) de **(9b)** y 1.02 g, (6.56 mmol) de 5-cloro-2-hidroxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.67 g (17.88 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.5 g (81.96%) del producto **(38)** (307.03 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 217.0-217.5 °C. **IR** cm⁻¹: 3413 (N-H y O-H), 2892-2492 (C-H Ar), 1613, 1581 (C=N), 1466 (-CH₂-), 1243 (C-O-H), 799 (ArC-Cl). **AE**: C: 54.81%, H: 2.85%, N: 13.90%, (teórico: C: 54.57, H: 3.60, N: 13.64). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 4.39 (d, *J*= 5.1 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.82 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H, 3'-H), 6.91 (dd, *J*= 8.1, 1.8 Hz, 1H, 6-H), 7.12 (dd, *J*= 8.4, 2.7 Hz, 1H, 4'-H), 7.13 (d, *J*= 8.1 Hz, 1H, 7-H), 7.17 (d, *J*= 1.8 Hz, 1H, 4-H), 7.23 (d, *J*= 2.7 1H, 6'-H), 7.43 (ta, *J*= 5.1 Hz 1H, 2-NH), 11.13 (s, 2H, 1-NH y -OH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 41.55 (-CH₂-), 112.34 (7-C), 118.45 (3'-C), 119.67 (4-C y 6-C), 122.82 (5'-C), 124.47 (5-C), 128.34 (4'-C), 129.01 (6'-C), 129.23 (1'-C), 154.97 (2'-C), 156.80 (2-C).

5,6-Dicloro-2-(5-cloro-2-hidroxibencilamino)-1H-bencimidazol (39). A partir de 1.0 g (4.94 mmol) de **(9c)** y 0.852 g, (5.44 mmol) de 5-cloro-2-hidroxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.56 g (14.82 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol,

se obtuvo 1.4 g (86.41%) del producto (**39**) (341.03 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 242.4-243.3 °C. **IR** cm^{-1} : 3405 (N–H y O–H), 2950-2519 (C–H Ar), 1607, 1576 (C=N), 1457 (–CH₂–), 1247 (C–O–H), 842 (ArC–Cl). **AE**: C: 47.16%, H: 2.19%, N: 12.03%, (teórico: C: 49.08, H: 2.94, N: 12.27). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 4.41 (sa, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 3'–H), 7.12 (dd, J = 8.4, 2.7 Hz, 1H, 4'–H), 7.21 (d, J = 2.7 Hz, 1H, 6'–H), 7.33 (s, 2H, 4–H y 7–H), 7.51 (sa, 1H, 2–NH), 10.94 (s, 2H, 1–NH y –OH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 41.55 (–CH₂–), 113.16 (4–C y 7–C), 117.97 (3'–C), 121.68 (5–C y 6–C), 121.74 (5'–C), 128.23 (4'–C), 128.67 (1'–C), 128.77 (6'–C), 154.74 (2'–C), 157.6 (2–C).

1-Metil-2-(5-cloro-2-hidroxibencilamino)-1H-bencimidazol (40). A partir de 0.8 g (5.43 mmol) de (**27a**) y 0.93 g (5.98 mmol) de 5-cloro-2-hidroxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.62 g (16.29 mmol) NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.3 g (83.33%) del producto (**40**) (287.74 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 216.6-217.0 °C. **IR** cm^{-1} : 3279 (N–H y O–H), 2933-2863 (C–H Ar), 1589, 1571 (C=N), 1473 (–CH₂–), 1247 (C–O–H), 731 (ArC–Cl). **AE**: C: 62.07%, H: 4.16%, N: 14.72%, (teórico: C: 62.61, H: 4.90, N: 14.60). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 3.52 (s, 3H, N–CH₃), 4.43 (d, J = 5.4 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.81 (d, J = 8.7 Hz, 1H, 3'–H), 6.97 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, 6–H), 7.01 (td, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, 5–H), 7.13 (dd, J = 8.7, 2.7 Hz, 1H, 4'–H), 7.20 (dd, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, 7–H), 7.23 (dd, J = 7.2, 1.8 Hz, 1H, 4–H), 7.26 (d, J = 2.7 Hz, 1H, 6'–H), 7.62 (ta, J = 5.4 Hz, 1H, 2–NH), 12.09 (s, 1H, –OH); **RMN** ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 28.84 (N–CH₃), 42.04 (–CH₂–), 108.3 (7–C), 114.97 (4–C), 119.42 (3'–C), 119.72 (6–C), 121.3 (5–C), 122.78 (5'–C), 128.66 (4'–C), 129.25 (1'–C), 130.18 (6'–C), 135.37 (7a–C), 140.76 (3a–C), 155.53 (2'–C), 155.55 (2–C).

5-Cloro-1-metil-2-(5-cloro-2-hidroxibencilamino)-1H-bencimidazol (41). A partir de 0.8 g (4.40 mmol) del (**27b**) y 0.75 g (4.84 mmol) de 5-cloro-2-hidroxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.66 g (13.20 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.3 g (92.19%) del producto (**41**) (321.04 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 221.0-222.2 °C. **IR** cm^{-1} : 3306 (N–H y O–H), 2938-2540 (C–H Ar), 1603, 1573 (C=N), 1463 (–CH₂–), 1233 (C–O–H),

802 (ArC–Cl). **AE**: C: 56.26%, H: 3.19%, N: 13.57%, (teórico: C: 55.92, H: 4.07, N: 13.04). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.53 (s, 3H, N–CH₃), 4.45 (d, *J*= 3.9 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.82 (d, *J*= 8.7 Hz, 1H, 3'–H), 6.97 (dd, *J*= 8.1, 2.0 Hz, 1H, 6–H), 7.13 (dd, *J*= 8.7, 2.7 Hz, 1H, 4'–H), 7.19 (d, *J*= 8.1 Hz, 1H, 7–H), 7.22 (d, *J*= 2.0 Hz, 1H, 4–H), 7.23 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, 6'–H), 7.63 (sa, 1H, 2–NH), 11.17 (s, 1H, –OH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 29.02 (N–CH₃), 41.69 (–CH₂–), 109.15 (7–C), 114.66 (4–C), 118.59 (3'–C), 119.05 (6–C), 122.86 (5'–C), 125.43 (5–C), 128.39 (4'–C), 128.85 (1'–C), 129.37 (6'–C), 134.51 (7a–C), 142.67 (3a–C), 154.98 (2'–C), 156.57 (2–C).

6-Cloro-1-metil-2-(5-cloro-2-hidroxi-bencilamino)-1H-benzimidazol (42). A partir de 0.8 g (4.40 mmol) de (**27c**) y 0.75 g (4.84 mmol) de 5-cloro-2-hidroxi-benzaldehído, con la posterior adición de 0.66 g (13.20 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.3 g (92.19%) del producto (**42**) (321.04 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 226.3-227.0 °C. **IR cm⁻¹**: 3413 (N–H y O–H), 2936-2527 (C–H Ar), 1597, 1572 (C=N), 1426 (–CH₂–), 1261 (C–O–H), 808 (ArC–Cl). **AE**: C: 53.18%, H: 3.33%, N: 12.74%, (teórico: C: 55.92, H: 4.07, N: 13.04). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.53 (s, 3H, N–CH₃), 4.44 (sa, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.81 (d, *J*= 8.7 Hz, 1H, 3'–H), 6.99 (dd, *J*= 8.2, 2.1 Hz, 1H, 5–H), 7.11 (dd, *J*= 8.7, 2.7 Hz, 1H, 4'–H), 7.18 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, 4–H), 7.23 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, 6'–H), 7.32 (d, *J*= 2.1 Hz, 1H, 7–H), 7.63 (sa, 1H, 2–NH), 11.40 (s, 1H, –OH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 29.03 (N–CH₃), 41.86 (–CH₂–), 108.44 (7–C), 115.92 (4–C), 118.77 (3'–C), 120.96 (5–C), 122.54 (5'–C), 123.66 (6–C), 128.41 (4'–C), 128.90 (1'–C), 129.46 (6'–C), 136.51 (7a–C), 140.30 (3a–C), 155.45 (2'–C), 156.34 (2–C).

5,6-Dicloro-1-metil-2-(5-cloro-2-hidroxi-bencilamino)-1H-benzimidazol (43). A partir de 0.8 g (3.70 mmol) de (**27d**) y 0.63 g (4.07 mmol) de 5-cloro-2-hidroxi-benzaldehído, con la posterior adición de 0.56 g (11.1 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.1 g (84.41%) del producto (**43**) (355.00 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 241.6-242.4 °C. **IR cm⁻¹**: 3432, 3329 (N–H y O–H), 2980-2582 (C–H Ar), 1598, 1568 (C=N), 1466 (–CH₂–), 1242

(C–O–H), 812 (ArC–Cl). **AE:** C: 49.00%, H: 2.92%, N: 11.47%, (teórico: C: 50.52, H: 3.39, N: 11.78). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 3.54 (s, 3H, N–CH₃), 4.47 (sa, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.82 (d, *J*= 8.6 Hz, 1H, 3'–H), 7.11 (dd, *J*= 8.6, 2.7 Hz, 1H, 4'–H), 7.21 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, 6'–H), 7.38 (s, 1H, 4–H), 7.50 (s, 1H, 7–H), 7.68 (sa, 1H, 2–NH), 10.92 (s, 1H, –OH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 29.21 (N–CH₃), 41.59 (–CH₂–), 109.65 (7–C), 115.96 (4–C), 118.16 (3'–C), 121.04 (6–C), 122.75 (5'–C), 123.06 (6–C), 128.25 (4'–C), 128.57 (1'–C), 128.91 (6'–C), 135.62 (7a–C), 141.93 (3a–C), 154.88 (2'–C), 157.2 (2–C).

2-(5-Cloro-2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (44). A partir de 0.8 g (6.00 mmol) de **(9a)** y 1.12 g, (6.61 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.90 g (18.00 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.43 g (83.13%) del producto **(44)** (287.74 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 164.1-166.2 °C. **IR cm⁻¹:** 3411 (N–H), 2953-2833 (C–H Ar), 1597, 1575 (C=N), 1461 (–CH₂–), 1247, 1024 (C–O–C), 738 (ArC–Cl). **AE:** C: 62.86%, H: 4.58%, N: 15.44%, (teórico: C: 62.61, H: 4.90, N: 14.60). **EM/IE *m/z*** (Int. %): 287 (M⁺, 20), 256 (100), 155 (49), 132 (14), 129 (7), 125 (91), 105 (31), 99 (15), 89 (62), 78 (24), 63 (34). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.47 (d, *J*= 5.4 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.87 (dd, *J*= 5.7, 3.0 Hz, 2H, 5–H y 6–H), 7.01 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H, 3'–H), 7.13 (dd, *J*= 5.7, 3.0 Hz, 2H, 4–H y 7–H), 7.23-7.29 (m, 2H, 4'–H y 6'–H), 10.91 (sa, 1H, 1–NH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 41.01 (–CH₂–), 56.20 (OCH₃), 112.00 (4–C y 7–C), 112.61 (3'–C), 119.64 (5–C y 6–C), 124.45 (5'–C), 127.12 (6'–C), 127.7 (4'–C), 130.74 (1'–C), 155.82 (2–C), 155.96 (2'–C).

5(6)-Cloro-2-(5-cloro-2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (45). A partir de 0.8 g (4.77 mmol) de **(9b)** y 0.89 g, (5.25 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.72 g (14.71 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.26 g (82.35%) del producto **(45)** (321.04 g/mol) como un sólido vítreo. **IR cm⁻¹:** 3406 (N–H), 2957-2837 (C–H Ar), 1597, 1574 (C=N), 1463 (–CH₂–), 1243, 1027 (C–O–C), 802 (ArC–Cl). **AE:** C: 57.11%, H: 4.19%, N: 11.74%, (teórico: C: 55.92, H: 4.07, N: 13.04). **EM/IE *m/z*** (Int. %): 321 (M⁺, 13), 290 (52),

166 (8), 155 (71), 139 (9), 129 (5), 125 (100), 112 (13), 99 (18), 89 (62), 63 (29). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.47 (d, *J*= 5.7 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 6.87 (dd, *J*= 8.1, 1.8 Hz, 1H, 6-H), 7.01 (d, *J*= 8.7 Hz, 1H, 3'-H), 7.10 (d, *J*= 8.1 Hz, 1H, 7-H), 7.14 (d, *J*= 1.8 Hz, 1H, 4-H), 7.19 (t, *J*= 5.7 Hz, 1H, 2-NH), 7.23 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, 6'-H), 7.27 (dd, *J*= 8.7, 2.7 Hz, 1H, 4'-H), 11.00 (sa, 1H, 1-NH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 40.98 (-CH₂-), 56.20 (OCH₃), 112.25 (7-C), 112.65 (3'-C), 119.23 (6-C), 123.96 (5-C), 124.45 (5'-C), 127.15 (6'-C), 127.82 (4'-C), 130.39 (1'-C), 155.96 (2'-C), 156.77 (2-C).

5,6-Dicloro2-(5-cloro-2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol (46). A partir de 0.8 g (3.96 mmol) de (9c) y 0.74 g, (4.35 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.60 g (11.85 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.45 g (96.42%) del producto (46) (355,00 g/mol) como un sólido vítreo. **IR cm⁻¹**: 3409 (N-H), 2936-2837 (C-H Ar), 1596, 1571 (C=N), 1454 (-CH₂-), 1243, 1026 (C-O-C), 804 (ArC-Cl). **AE**: C: 48.88%, H: 2.75%, N: 11.46%, (teórico: C: 50.52, H: 3.39, N: 11.78). **EM/IE *m/z*** (Int. %): 355 (M⁺, 5), 324 (30), 200 (7), 173 (6), 155 (90), 146 (3), 129 (6), 125 (100), 99 (15), 89 (63), 63 (24). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.47 (d, *J*= 6.0 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 7.01 (d, *J*= 8.7 Hz, 1H, 3'-H), 7.22 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, 6'-H), 7.28 (dd, *J*= 8.7, 2.7 Hz, 1H, 4'-H), 7.31 (s, 2H, 4-H y 7-H), 7.39 (t, *J*= 6.0 Hz, 1H, 2-NH), 11.10 (sa, 1H, 1-NH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 40.97 (-CH₂-), 56.22 (OCH₃), 112.24 (4-C y 7-C), 112.69 (3'-C), 124.45 (5'-C), 124.56 (5-C y 6-C), 127.19 (6'-C), 127.91 (4'-C), 130.12 (1'-C), 155.96 (2'-C), 157.54 (2-C).

2-(5-Cloro-2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol (47). A partir de 0.8 g (5.43 mmol) de (27a) y 1.01 g, (5.97 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.82 g (16.29 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.53 g (93.86%) del producto (47) (301.77 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 212.7-214.4 °C. **IR cm⁻¹**: 3204 (N-H), 2954-2834 (C-H Ar), 1607, 1577 (C=N), 1476 (-CH₂-), 1236, 1032 (C-O-C), 741 (ArC-Cl). **AE**: C: 63.17%, H: 4.64%, N: 13.91%, (teórico: C: 63.68, H: 5.34, N: 13.92). **EM/IE *m/z*** (Int. %): 301 (M⁺, 23), 270 (100), 155 (45), 146 (40), 129 (10), 125 (94), 119 (34),

99 (6), 92 (18), 89 (28), 63 (4). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.58 (s, 3H, N-CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.55 (d, *J*= 5.7 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 6, 89-6,97 (m, 2H, 5-H y 6-H), 7.02 (d, *J*= 9.3 Hz, 1H, 3'-H), 7.14 (ta, *J*= 5.7 Hz, 1H, 2-NH), 7.15-7.19 (m, 2H, 4-H y 7-H), 7.24-7.29 (m, 2H, 4'-H y 6'-H); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 28.74 (N-CH₃), 40.91 (-CH₂-), 56.17 (OCH₃), 107.76 (7-C), 112.55 (3'-C), 115.49 (4-C), 118.84 (6-C), 120.67 (5-C), 124.45 (5'-C), 127.06 (6'-C), 127.6 (4'-C), 130.55 (1'-C), 135.83 (7a-C), 142.76 (3a-C), 155.4 (2-C), 155.85 (2'-C).

5-Cloro-2-(5-cloro-2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol (48). A partir de 0.8 g (4.40 mmol) de (**27b**) y 0.82 g, (4.84 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.66 g (13.2 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.44 g (97.95%) del producto (**48**) (335.06 g/mol) como un sólido blanco con punto de fusión de 218.8-220.8 °C. **IR cm⁻¹**: 3201 (N-H), 2970-2838 (C-H Ar), 1603, 1559 (C=N), 1475 (-CH₂-), 1234, 1027 (C-O-C), 789 (ArC-Cl). **AE**: C: 54.53%, H: 3.72%, N: 12.06%, (teórico: C: 57.16, H: 4.50, N: 12.50). **EM/IE *m/z*** (Int. %): 335 (M⁺, 18), 304 (37), 180 (18), 155 (66), 153 (22), 129 (6), 126 (49), 125 (100), 99 (16), 89 (39), 63 (5). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 3.57 (s, 3H, N-CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.54 (d, *J*= 4.5 Hz, 2 H, N-CH₂-Ph), 6,93 (dd, *J*= 8.1, 2.4 Hz, 1H, 6-H), 7.02 (d, *J*= 9.0 Hz, 1H, 3'-H), 7.17 (d, *J*= 8.1 Hz, 1H, 7-H), 7.18 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, 4-H), 7.24-7.30 (m, 2H, 4'-H y 6'-H), 7.33 (ta, *J*= 4.5 Hz, 1H, 2-NH); **RMN ¹³C** (100 MHz, DMSO-d₆): δ= 29.00 (N-CH₃), 40.96 (-CH₂-), 56.21 (OCH₃), 108.78 (7-C), 112.57 (3'-C), 115.02 (4-C), 118.45 (6-C), 124.46 (5'-C), 125.03 (5-C), 127.09 (6'-C), 127.75 (4'-C), 130.27 (1'-C), 134.83 (7a-C), 144.07 (3a-C), 155.88 (2-C), 156.55 (2'-C).

6-Cloro-2-(5-cloro-2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol (49). A partir de 0.8 g (4.40 mmol) de (**27c**) y 0.82 g, (4.84 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.66 g (13.2 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.44 g (97.95%) del producto (**49**) (335.06 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 191.4-192.4 °C. **IR cm⁻¹**: 3199 (N-H), 2938-2836 (C-H Ar), 1603, 1574 (C=N), 1449 (-CH₂-), 1239, 1025

(C–O–C), 801 (ArC–Cl). **AE**: C: 55.47%, H: 3.98%, N: 11.42%, (teórico: C: 57.16, H: 4.50, N: 12.50). **EM/ID** m/z (Int. %): 335 (M^{+} , 13), 304 (100), 180 (19), 155 (93), 153 (18), 129 (6), 126 (12), 125 (97), 99 (9), 89 (22), 63 (7). **RMN 1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 3.58 (s, 3H, N–CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.53 (d, J = 3.5 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 6.94 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H, 5–H), 7.02 (d, J = 9.3 Hz, 1H, 3'–H), 7.13 (d, J = 8.3 Hz, 1H, 4–H), 7.25–7.29 (m, 2H, 4'–H y 6'–H), 7.29 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4–H); **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 29.01 (N–CH₃), 40.98 (–CH₂–), 56.21 (OCH₃), 108.9 (7–C), 112.61 (3'–C), 116.3 (4–C), 120.55 (5–C), 123.1 (6–C), 124.5 (5'–C), 127.12 (6'–C), 127.74 (4'–C), 130.3 (1'–C), 136.85 (7a–C), 141.73 (3a–C), 155.89 (2–C), 156.23 (2'–C).

6,5-Dicloro-2-(5-cloro-2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol (50). A partir de 0.8 g (3.70 mmol) de (**27d**) y 0.69 g, (4.07 mmol) de 5-cloro-2-metoxibenzaldehído, con la posterior adición de 0.56 g (11.1 mmol) de NaBH₄ en 50 mL de metanol, se obtuvo 1.1 g (80.29%) del producto (**50**) (369.02 g/mol) como un sólido grisáceo con punto de fusión de 222.4–223.3 °C. **IR** cm^{-1} : 3196 (N–H), 2940–2838 (C–H Ar), 1607, 1570 (C=N), 1483 (–CH₂–), 1247, 1023 (C–O–C), 804 (ArC–Cl). **AE**: C: 49.40%, H: 3.08%, N: 10.87%, (teórico: C: 51.85, H: 3.81, N: 11.34). **EM/ID** m/z (Int. %): 369 (M^{+} , 23), 338 (100), 214 (14), 186 (5), 161 (4), 155 (86), 129 (4), 125 (82), 99 (6), 89 (15), 63 (3). **RMN 1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 3.58 (s, 3H, N–CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.53 (d, J = 3.3 Hz, 2 H, N–CH₂–Ph), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H, 3'–H), 7.23–7.30 (m, 2H, 4'–H y 6'–H), 7.34 (s, 1H, 4–H), 7.47 (sa, 1H, 2–NH), 7.48 (s, 1H, 7–H); **RMN ^{13}C** (100 MHz, DMSO- d_6): δ = 29.2 (N–CH₃), 41.00 (–CH₂–), 56.22 (OCH₃), 109.39 (7–C), 112.63 (3'–C), 116.22 (4–C), 120.61 (6–C), 122.78 (5–C), 124.5 (5'–C), 127.14 (6'–C), 127.82 (4'–C), 130.03 (1'–C), 135.86 (7a–C), 142.93 (3a–C), 155.88 (2–C), 157.16 (2'–C).

5.4. PARTE BIOLÓGICA

5.4.1. Evaluación *in vitro* frente a promastigotes de *L. mexicana*

Los promastigotes de *L. mexicana* cepa MNYC/BZ/62/M379 fueron aislados de un paciente Mexicano con leishmaniasis cutánea. Los parásitos se mantuvieron en cultivo en la fase log a 25°C - 26 °C en medio RPMI suplementado con 10% suero fetal bovino (SFB), 100 U µg/mL penicilina – 100 mg/mL de estreptomycin. Los parásitos fueron donados por la Dra. Luvia Enid Sánchez Torres, ENCB-IPN.

Para la prueba *in vitro*, en placas de 96 pozos se colocaron 1×10^6 parásitos/pozo y se cultivaron en medio adv RPMI suplementado con 5 % de suero fetal bovino (SFB) y antibiótico al 1% (100 U µg/mL penicilina – 100 mg/mL estreptomycin), conteniendo diluciones entre 100 – 0.781 µg/mL del compuesto a evaluar durante 48 h a 25 °C. Como control negativo se incluyeron parásitos en presencia de la concentración máxima de DMSO (0.1%), y como control positivo fue empleado miltefosina.

Luego del tiempo de incubación se adicionó 20 µL de resarzurina 2.5 mM, incubándose durante 3 h a temperatura ambiente y finalmente fue medida la intensidad de fluorescencia en un espectrofluorómetro a una longitud de onda de excitación de 540-570 nm (pico de excitación 570 nm) y una longitud de onda de emisión de 580-610 nm (pico de emisión 585 nm). Que posteriormente mediante un análisis Probit se determinó la CI_{50} . Estos ensayos se realizaron por triplicado y de manera independiente.^{38,39,40}

5.4.2. Citotoxicidad

La citotoxicidad de los nuevos derivados bencimidazólicos se determinó de acuerdo a la metodología propuesta por Denizot y Lang,⁴¹ con algunas modificaciones. A partir de una caja de cultivo T-25 con un 100% de confluencia celular se realizaron pases seriados. Se sembró una alícuota de 10×10^3 células

de la línea J774 por pozo, en placas de 96 pozos, y se incubaron a 37 °C y 5% de CO₂ durante 48 h, tiempo en el que se alcanza una confluencia mayor del 90%. Los derivados de bencimidazol se evaluaron a las concentraciones entre 100 0.781 mg/mL; se incubaron con las células por 24 h a 37 °C y 5% de CO₂. Se incluyó como control negativo el disolvente DMSO y como control positivo anfotericina B. Posterior a la incubación se adicionó a cada pozo 20 µL de resazurina 2.5 mM y la placa se incubó 3 h a 37 °C y 5% de CO₂, protegiendo las placas de la luz. Se realizaron tres ensayos independientes por triplicado cada uno.

La lectura de la fluorescencia se realizó en un espectrofluorómetro a una longitud de onda de excitación de 540-570 nm (pico de excitación 570 nm) y una longitud de onda de emisión de 580-610 nm (pico de emisión 585 nm). A partir de estos datos se determinó la viabilidad celular de acuerdo a la fórmula:

$$\% Viabilidad = \frac{\text{Densidad óptica Células tratadas}}{\text{Densidad óptica Células control}} \times 100$$

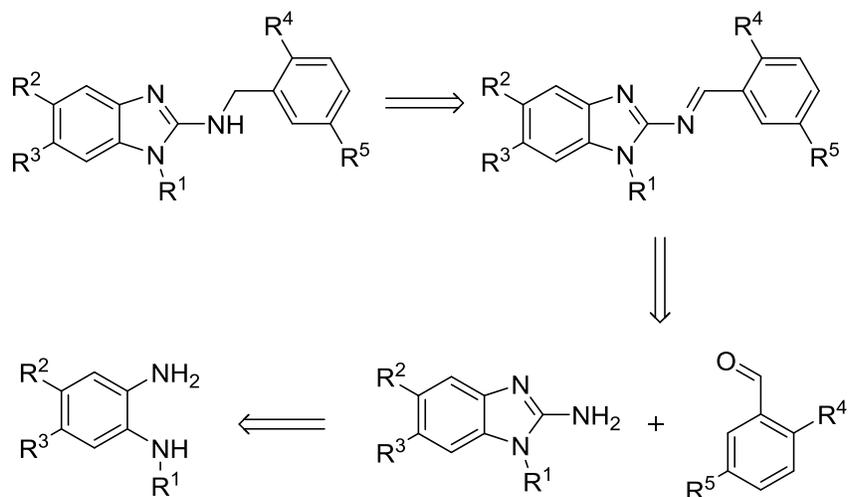
A partir del porcentaje de viabilidad obtenido se calculó la concentración citotóxica 50 (CC₅₀). Así mismo se calculó el IS mediante la siguiente fórmula.

$$IS = \frac{CC_{50}}{CI_{50}}$$

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tal como se mencionó en la introducción, el objetivo principal del presente trabajo de investigación se definió sobre la obtención de nuevos derivados del 2-(*N*-bencil)bencimidazol, compuestos que han mostrado gran interés como antiprotozoarios (principalmente en *L. mexicana*, *E. histolytica*, *G. intestinalis* y *T. vaginalis*) como se puede observar en los trabajos realizados por Méndez Cuesta¹² y Maldonado Rangel.³⁴

Antes de entrar a discutir en detalle las diferentes transformaciones químicas que se realizaron en la ruta de síntesis planteada y con el fin de mostrar un enfoque general del trabajo, en el Esquema 8 se muestra un análisis retrosintético de los nuevos compuestos obtenidos.



Esquema 8. Análisis retrosintético de los nuevos derivados del 2-(*N*-bencil)bencimidazol.

6.1. OBTENCIÓN DE LOS 2-AMINOBENCIMIDAZOLES 9a-c/27a-d

Para lograr la síntesis de los derivados de 2-aminobencimidazol fue necesaria la preparación previa de las correspondientes *o*-fenilendiaminas debidamente sustituidas siguiendo la metodología que se muestran en los Esquemas 3 y 5 de la

parte experimental. A continuación se discutirán en más detalle las diferentes transformaciones involucradas en cada etapa de esta parte de la síntesis.

6.1.1. Protección del grupo amino

Inicialmente se abordó la síntesis de las acetanilidas **2**, **11**, **13** y **14** compuestos que fueron obtenidos con rendimientos de 94-98%. Esta reacción se llevó a cabo disolviendo las correspondientes anilinas **1**, **10** y **28** en anhídrido acético en constante agitación. En el caso de las anilinas **1** y **28** fue necesaria la adición de 0.2 mL de ácido sulfúrico concentrado debido a la baja nucleofilicidad (nucleofilia) que éstas presentan; consecuencia directa de la existencia de un grupo nitro (grupo electroatractor) en posición *orto* con respecto al grupo amino. La caracterización de dichos compuestos se realizó mediante la comparación de sus puntos de fusión con los ya reportados en trabajos anteriormente realizados en nuestro grupo de investigación.

6.1.2. Reacción de nitración

Posteriormente se procedió a realizar la nitración de los compuestos **2** y **11**. Estos compuestos nitrados fueron obtenidos con rendimientos de 95 y 72% respectivamente. En el caso del compuesto **2** fue posible obtener un único producto, correspondiente al 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida. Sin embargo, para el compuesto **11** se obtuvieron los dos regioisómeros posibles, el 5-cloro-2-nitroacetanilida y el 3-cloro-4-nitroacetanilida con una proporción aproximada de 75:25 respectivamente. La purificación de dicha mezcla se realizó mediante lavados de benceno, con los cuales se logró disolver el regioisómero mayoritario, regioisómero de interés, que posteriormente se recristalizó de metanol. La identificación de los productos nitrados se realizó por comparación de los puntos de fusión con los ya reportados.

6.1.3. Síntesis de las N-Metilacetanilidas

Para el caso de los derivados del 2-amino-1-metilbencimidazol, se realizó la metilación previa de los productos **3**, **12**, **13** y **14**. Esta reacción se desarrolló en sulfato de dimetilo como disolvente y agente alquilante, y en disolución acuosa de hidróxido de sodio. Para la reacción fue necesario mantener la temperatura constante, entre 30 y 35 °C, con el fin de evitar la hidrólisis básica de la acetanilida y la posterior formación de productos secundarios. Para los diferentes derivados se observó un único producto de reacción como sólidos amarillos y con rendimientos de 90-95%. Sus puntos de fusión fueron determinados y comparados con los existentes en la literatura, concluyendo de esta forma que se trataba de los compuestos deseados.

6.1.4. Desprotección de grupo amino

Una vez realizadas las reacciones de nitración y monometilación, se abordó la desprotección del grupo amino, reacción que se llevó a cabo mediante una hidrólisis ácida de las correspondiente acetanilidas **3**, **15**, **16**, **17** y **18**. Dicha reacción se desarrolló en ácido sulfúrico concentrado y calentamiento moderado (60 °C), obteniendo de esta manera un único producto de reacción con rendimientos de 95-98%. Sus puntos de fusión determinados concordaron con los reportados en trabajos previos.

6.1.5. Síntesis de las o-fenilendiaminas (hidrogenación catalítica)

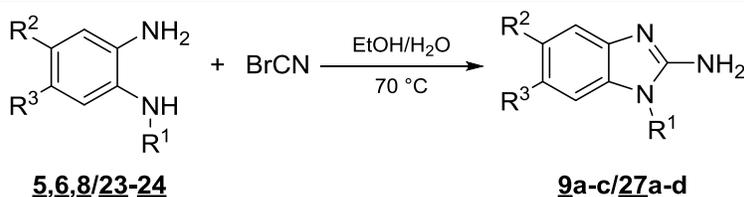
Finalmente para obtener una de las materias primas fundamentales en la síntesis del núcleo de 2-aminobencimidazol, se realizó la reducción del grupo nitro de los compuestos **4**, **7**, **19**, **20**, **21** y **22**, consiguiendo de esta manera la formación de las o-fenilendiaminas correspondientes. Para esta reacción se usó como agente reductor H₂ y como catalizador Niquel-Raney, evitando así la formación de

subproductos, como se observaría con el uso de H₂ y Pd/C debido a la naturaleza halogenada de las materias primas. Es importante resaltar que este tipo de compuestos es muy susceptible a la oxidación en contacto con el aire, por lo cual fueron usadas inmediatamente en la reacción de ciclación.

6.1.6. Síntesis de los 2-aminobenzimidazoles 9a-c/27a-d

Para la síntesis de todos los intermediarios del tipo 2-aminobenzimidazol (9a-c/27a-d) se empleó bromuro de cianógeno, etanol-agua, hidróxido de amonio y la *o*-fenilendiamina debidamente sustituida. Los rendimientos y puntos de fusión de los 2-aminobenzimidazoles sintetizados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Rendimientos y puntos de fusión de los 2-aminobenzimidazoles sintetizados



Clave	Rendimiento (%)	Pf (°C)	Pf (Lit. °C)
<u>9a</u>	42,24	230-232	228-230 ^{14,35}
<u>9b</u>	51,91	168.6-170.3	168-170 ^{14,35}
<u>9c</u>	71,87	257.4-259.2	257-259 ^{14,35}
<u>27a</u>	97,10	204.4-205.9	203-205 ³⁴
<u>27b</u>	98.90	210.1-211.5	210-211 ³⁴
<u>27c</u>	98.90	254.2-255.8	252-255 ³⁴
<u>27d</u>	95.23	242-243	241-243 ³⁴

Se observa que los rendimientos de reacción para los derivados 9a-c se encuentran dentro de un intervalo moderado. Éstos, en comparación con sus análogos *N*-metilados (27a-d), se obtuvieron con rendimientos menores, esto debido a la alta solubilidad de dichos compuestos en el medio de reacción (agua).

Por otra parte, es necesario resaltar que todos los compuestos sintetizados se sometieron a decoloración con carbón activado, debido a la formación de productos secundarios resultantes de la oxidación de las o-fenilendiaminas.

6.2. SÍNTESIS DE LOS 2-(N-ARIL)BENCIMIDAZOLES 30-50

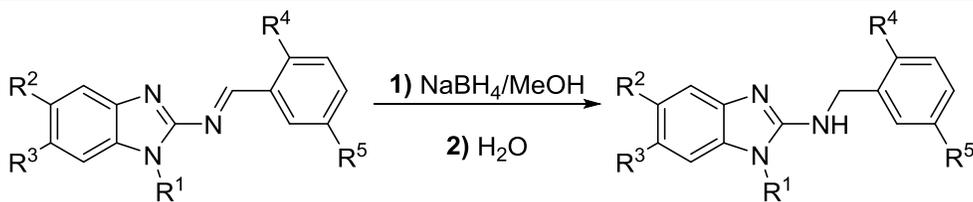
6.2.1. Formación de las iminas intermediarias

Inicialmente se abordó la formación de las iminas (bases de Schiff) mediante una reacción de condensación entre un aldehído y el correspondiente 2-aminobencimidazol siguiendo la metodología descrita por Da Settimo y colaboradores.⁴² Esta transformación se realizó mezclando el aldehído adecuado junto con el 2-aminobencimidazol apropiado en tolueno y calentando la mezcla de reacción a reflujo durante 8-12. Esto con la finalidad de favorecer la formación de la imina al retirar el agua formada de la reacción mediante arrastre de vapor e introducir energía al sistema. Energía necesaria debido a la baja nucleofilia presentada por el grupo amino libre del 2-aminobencimidazol. Las iminas formadas se hicieron reaccionar sin previa purificación en la siguiente etapa. Decisión fundamentada en la formación de un único producto observado por el análisis de ccf.

6.2.2. Reducción de las iminas intermediarias

Finalmente, para acceder a los productos de interés, se realizó la correspondiente reducción de los intermediarios imínicos mediante el uso de NaBH₄ como agente reductor (donador de hidruros) y metanol como disolvente. Esta reacción se realizó a temperatura ambiente, así también el tratamiento de la reacción con agua. Etapa que es necesaria para deshacer el complejo de boro formado. Los rendimientos y puntos de fusión de los 2-(N-bencil)-bencimidazoles sintetizados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Rendimientos y puntos de fusión de los 2-(*N*-bencil)-bencimidazoles sintetizados



30-50

Clave	Rendimiento (%)	Pf (°C)	Cristalización
<u>30</u>	84.21	182.3-183.5	Hexano-AcOEt
<u>31</u>	85.71	146.7-148.5	Tolueno-Hexano
<u>32</u>	96.23	201.3-203.2	Tolueno-Hexano
<u>33</u>	74.07	165.9-166.5	Hexano-AcOEt
<u>34</u>	92.74	182.7-183.3	Hexano-AcOEt
<u>35</u>	92.74	176.1-176.8	Hexano-AcOEt
<u>36</u>	78.26	167.0-168.1	Hexano-AcOEt
<u>37</u>	84.41	210.6-211.6	Hexano-AcOEt
<u>38</u>	81.96	217.0-217.5	Hexano-AcOEt
<u>39</u>	86.41	242.4-243.3	Hexano-AcOEt
<u>40</u>	83.33	216.6-217.0	Hexano-AcOEt
<u>41</u>	92.19	221.0-222.2	Hexano-AcOEt
<u>42</u>	92.19	226.3-227.0	Hexano-AcOEt
<u>43</u>	84.41	241.6-242.4	Hexano-AcOEt
<u>44</u>	83.14	164.1-166.2	Tolueno-Hexano
<u>45</u>	82.35	ND	NA
<u>46</u>	96.42	ND	NA
<u>47</u>	93.86	212.7-214.4	Hexano-AcOEt
<u>48</u>	97.95	218.8-220.8	Hexano-AcOEt
<u>49</u>	97.95	191.4-192.4	Hexano-AcOEt
<u>50</u>	80.29	222.4-223.3	Hexano-AcOEt

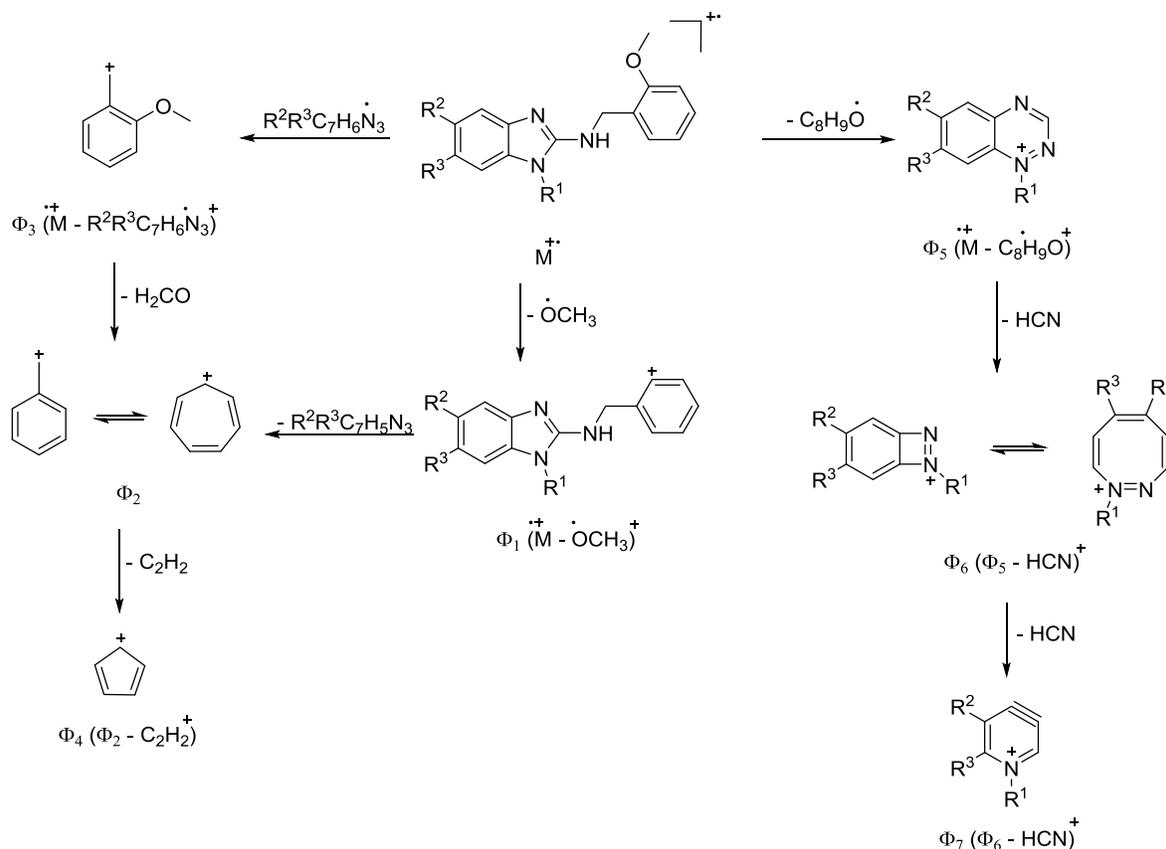
ND (No determinado); NA (No aplica).

Los compuestos **30-50** fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas. A continuación se hace un análisis detallado de los resultados obtenidos durante la etapa de caracterización.

Para empezar, en los espectros de infrarrojo (ver anexos), en zona de frecuencias altas entre 3163-3420 cm^{-1} , se registran bandas agudas de absorción que son características para la vibración de tensión de un grupo amino secundario. Adicionalmente, para los compuestos **37-43** se observa una banda aguda entre 3279-4313 cm^{-1} , característica para una vibración de tensión de un grupo hidroxilo (-OH). En zona de frecuencias medias entre 1000-1040 cm^{-1} y 1200-1300 cm^{-1} , se registran bandas de absorción características para una vibración de tensión simétrica y asimétrica de los grupos metoxilos (OCH_3). Finalmente, para los derivados clorados se observa hacia la zona de frecuencias bajas, entre 700-900 cm^{-1} , bandas agudas características para una vibración carbono-halógeno.

Por otra parte, los espectros de masas (ver anexos) corroboran la formación de los productos esperados, puesto que en ellos se registran los iones de los picos moleculares, cuya relación m/z (masa/carga) coincide con el peso de sus fórmula condensada. Antes de analizar en detalle los diferentes espectros de masas, vale aclarar que para esta etapa del análisis estructural se dividió en tres series el grupo de compuestos finales; la serie **A** que abarca los compuestos **30-36**, la serie **B** los compuestos **37-43** y la serie **C** los compuestos **44-50**.

Ahora bien, al analizar en detalle algunas de las fragmentaciones registradas en los espectros de la serie **A**, se observa inicialmente la pérdida de un fragmento metoxilo (Φ_1), seguida de la pérdida de una molécula de bencimidazol como radical, favorecida por una ruptura bencílica, generando el catión Φ_2 que es el ión pico de base para todos los compuestos de esta serie, excepto para el compuesto **35**; para el cual la pérdida directa de una molécula de bencimidazol genera el catión Φ_3 como el ión pico base. En la sección experimental (sección 5.3) se reportan los iones fragmento más característicos e intensidades registradas para los compuestos **30-36** y en el Esquema 8 se propone un patrón de fragmentación para los iones moleculares.



Esquema 9. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los compuestos 30-36.

Para la serie **B**, debido a que los análisis se realizaron por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, se observó la descomposición de los productos durante el tránsito por la columna cromatográfica, registrándose así únicamente los espectros de masas de los correspondientes benzimidazoles y de algunos productos colaterales de reacción interna. Una posible explicación a este suceso se puede atribuir a la formación de puentes de hidrógeno de tipo intra e intermoleculares entre moléculas y a través de la fase estacionaria de la columna, que evitan la volatilización de la muestra y por consiguiente favorecen el rompimiento y la formación térmica de enlaces dentro de la molécula. Como resultado de la existencia de una función hidroxílica en el anillo bencílico.

En los espectros de masas de la serie **C**, se contempla inicialmente la pérdida de 31 unidades de masas correspondientes a un fragmento metoxílico generando así

con los espectros bidimensionales de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC.

En los espectros de RMN ^1H se observan características comunes para todos los compuestos debido a que poseen un núcleo estructural base. En la Figura 8 se muestra un resumen general de las señales observadas en los espectros de RMN ^1H y la relación con la estructura general de los compuestos finales.

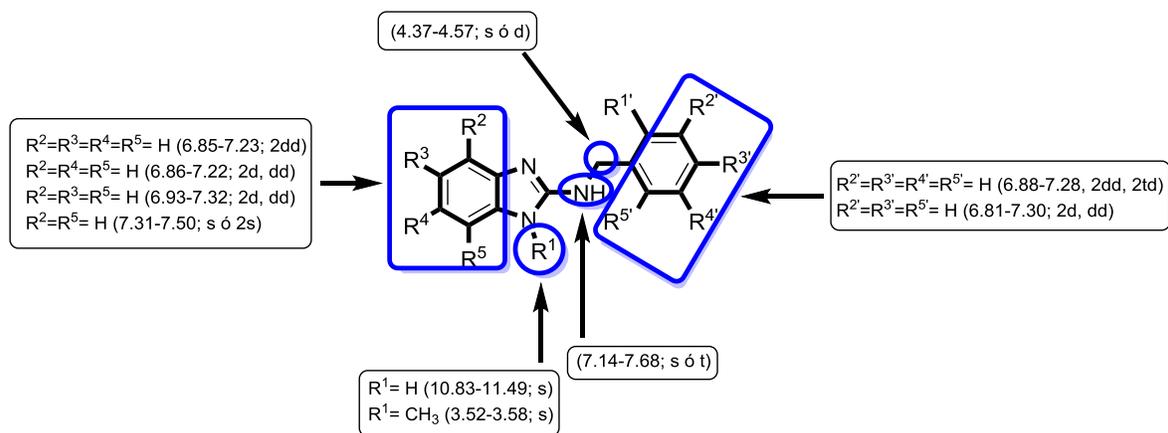


Figura 8. Relación entre estructura general y señales de RMN ^1H observadas.

En la parte experimental se muestran los desplazamientos químicos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para los diferentes protones de cada compuesto. Ahora bien, al analizar los espectros en detalle, de manera general, para todos los compuestos finales se observa una señal centrada entre 4.37-4.57 ppm que integra para dos protones y que fue asignada a los protones metilénicos del fragmento bencílico, unidos directamente al átomo de nitrógeno en posición 2 del bencimidazol. Señal que fue clave al determinar que la reacción de aminación reductiva se llevó a cabo exitosamente. Como ejemplo, en la Figura 9 se reproduce el espectro de RMN ^1H del compuesto **41**.

Del mismo modo, para el caso de los derivados sustituidos en posición 1 por hidrógeno o metilo, se observa una señal ancha entre 10.83-11.49 ppm o un singulete entre 3.52-3.58 ppm, respectivamente. En el caso de la parte bencenoide del bencimidazol, cuando no existe sustitución alguna en los carbonos

5 ó 6, se observa generalmente dos tipos de señales correspondientes a dos dobles de dobles.

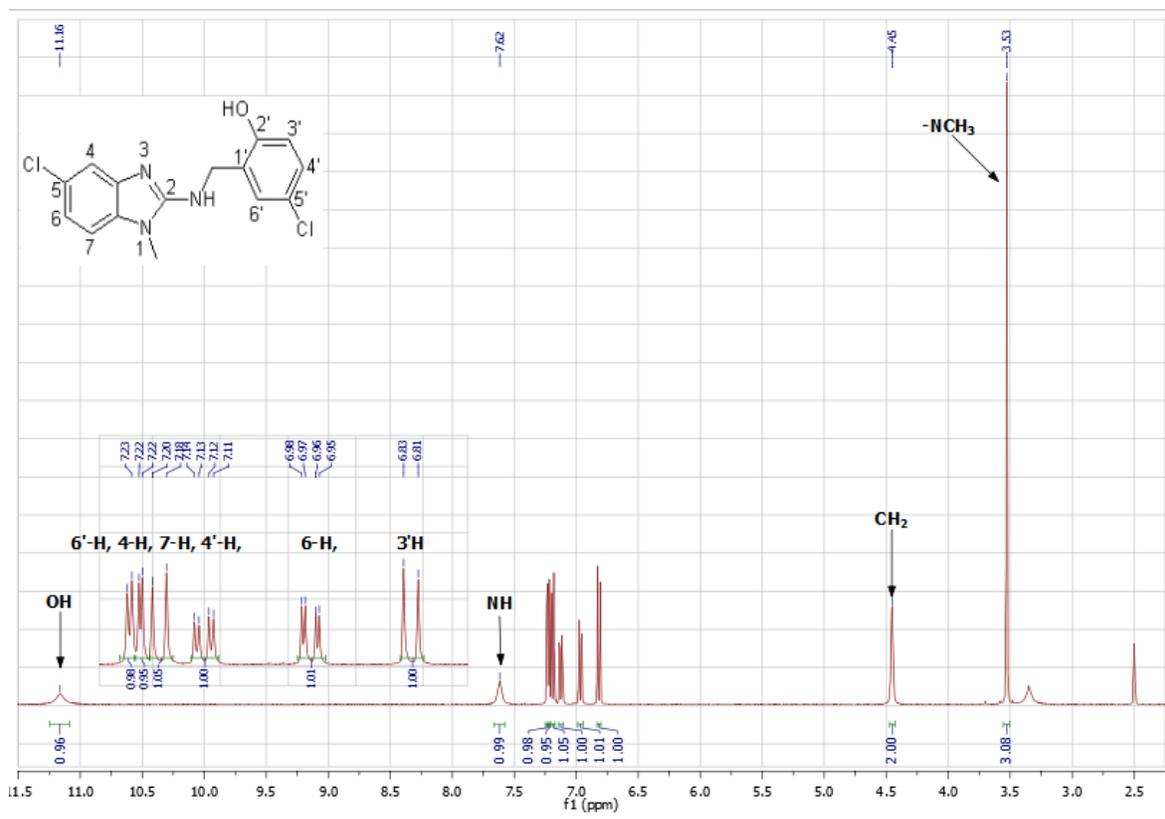


Figura 9. Espectro de RMN ^1H del compuesto 41.

Sin embargo, cuando existe alguna sustitución en posición 5 ó 6 se distinguen tres tipos de señales pertenecientes a dos dobles y un doble de dobles (Figura 9). Finalmente, cuando existe sustitución tanto en posición 5 como 6, se observa un singulete (para cuando en posición 1 existe NH) o dos singuletes (para cuando en posición 1 existe NCH_3). Por último, para la parte bencenoide del fragmento bencílico, cuando existe sustitución en la posición 2', se observan cuatro señales correspondientes a dos dobles de dobles y dos triples de dobles; y cuando existe sustitución en posición 2' y 5', se observan tres señales pertenecientes a dos dobles y un doble de dobles (Figura 9).

Todas las asignaciones de los desplazamientos químicos de los diferentes protones fueron corroboradas con ayuda de las interacciones registradas en los

espectros de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY y de correlación heteronuclear HMBC y HSQC. Como ejemplo, en la Figura 10 se reproduce el espectro COSY del compuesto **41**, en el cual se observan las correlaciones entre los protones metilénicos y el protón NH (línea roja), los protones aromáticos **3'-H** y **4'-H** del fragmento bencílico (línea azul) y los protones aromáticos **6-H** y **7-H** del núcleo bencimidazólico (línea negra)

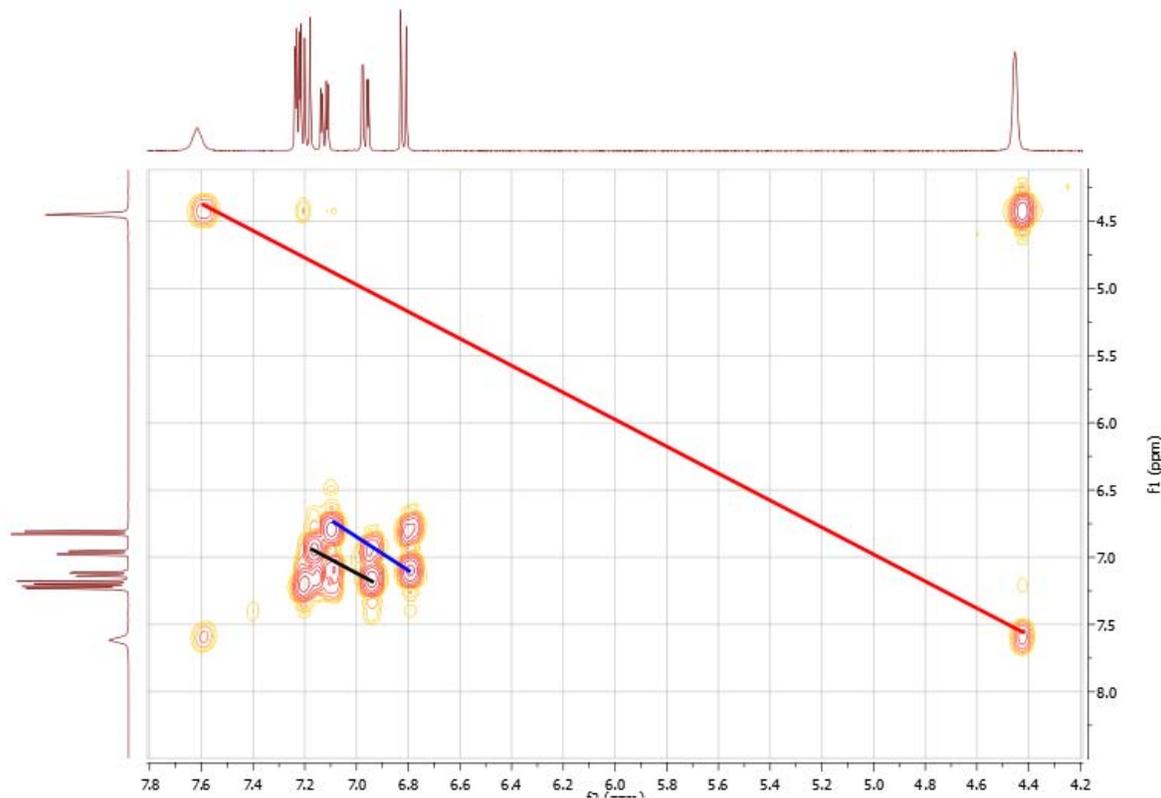


Figura 10. Espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY del compuesto **41.**

Además de los datos espectroscópicos y espectrométricos, para el compuesto **41** fue posible obtener cristales adecuados para ser analizado mediante espectroscopia de rayos X. La obtención de la imagen cristalográfica ayudó a corroborar inequívocamente la estructura de dicho compuesto. La obtención de los datos fue realizada por el Dr. Marcos Flores A. en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la facultad de química UNAM. El análisis e interpretación de los datos fue realizada por Alberto Cedillo Cruz estudiante de

doctorado de la Facultad de Química. En la Figura 11 se muestra la estructura cristalográfica y la celda unidad del compuesto.

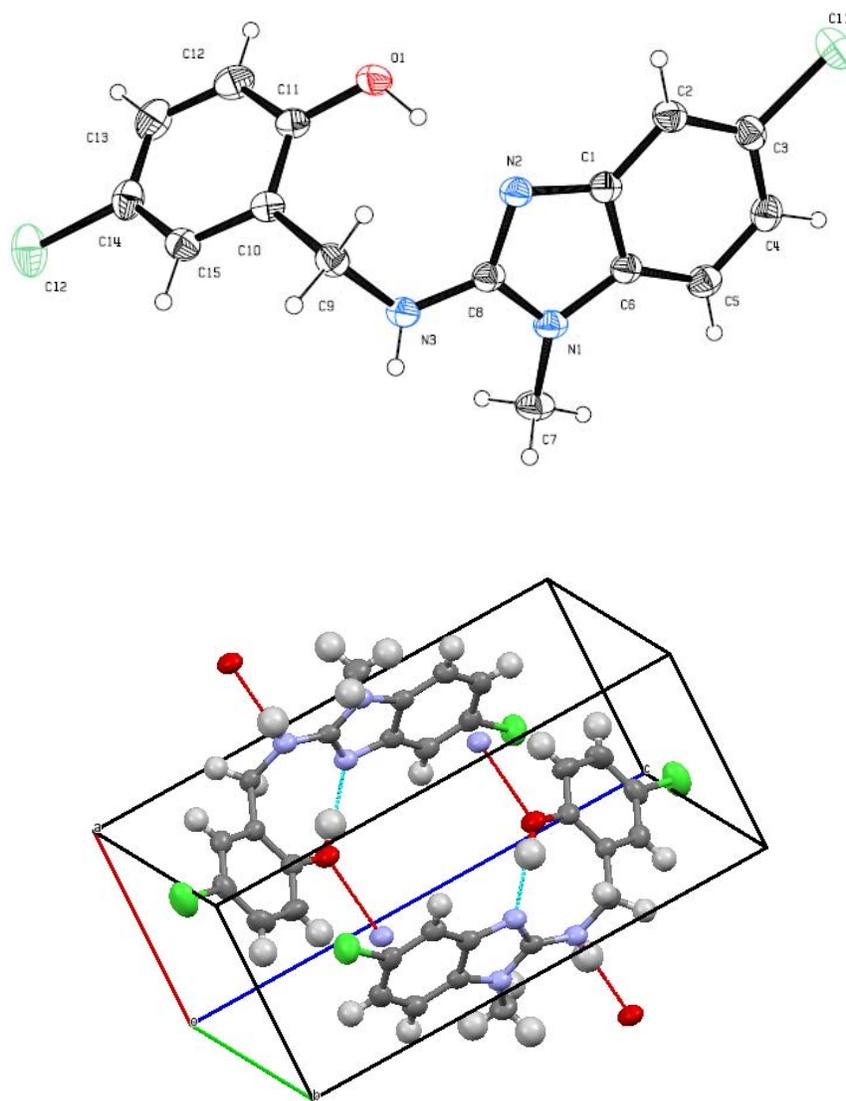


Figura 11. Estructura cristalográfica y celda unidad del compuesto 41.

El compuesto presentó un sistema cristalino triclinico, con parámetros de celda de: $a = 6.3148(4) \text{ \AA}$ $b = 8.5995(9) \text{ \AA}$ $c = 13.9013(14) \text{ \AA}$ $\alpha = 74.639(9)^\circ$ $\beta = 86.538(7)^\circ$ $\gamma = 89.478(7)^\circ$ y con un volumen de celda de $726.58(12) \text{ \AA}^3$.

6.3. PARTE BIOLÓGICA

6.3.1. Actividad contra promastigotes de *L. mexicana*

Los resultados de actividad sobre promastigotes de *L. mexicana*, concentración citotóxica e índice de selectividad se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Concentración Inhibitoria media, Concentración Citotóxica media e Índice de Selectividad para los compuestos sintetizados

Compuesto	CI ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IS (CC ₅₀ /CI ₅₀)
<u>30</u>	84.612	978.804	11.568
<u>31</u>	8.144	65.588	8.054
<u>32</u>	147.894	75.109	0.508
<u>33</u>	21.981	1228.9	55.907
<u>34</u>	121.032	288.349	2.382
<u>35</u>	87.944	65.293	0.742
<u>36</u>	187.924	87.13	0.464
<u>37</u>	159.043	169.088	1.063
<u>38</u>	178.992	30.179	0.169
<u>39</u>	213.193	40.42	0.19
<u>40</u>	17.409	310.854	17.856
<u>41</u>	25.57	318.938	12.473
<u>42</u>	85.624	47.403	0.554
<u>43</u>	38.146	34.024	0.892
<u>44</u>	87.78	39.964	0.455
<u>45</u>	53.974	50.613	0.938
<u>46</u>	89.707	26.805	0.299
<u>47</u>	220.577	352.082	1.596
<u>48</u>	292.646	197.43	0.675
<u>49</u>	120.969	267.558	2.212

50	148.425	318.351	2.145
MILTEFOSINA	20.09	157.03	7.816

Así mismo, con el fin de visualizar los resultados de actividad leishmanicida obtenidos, se calculó el inverso de la CI_{50} los cuales se muestran en el Gráfico 1.

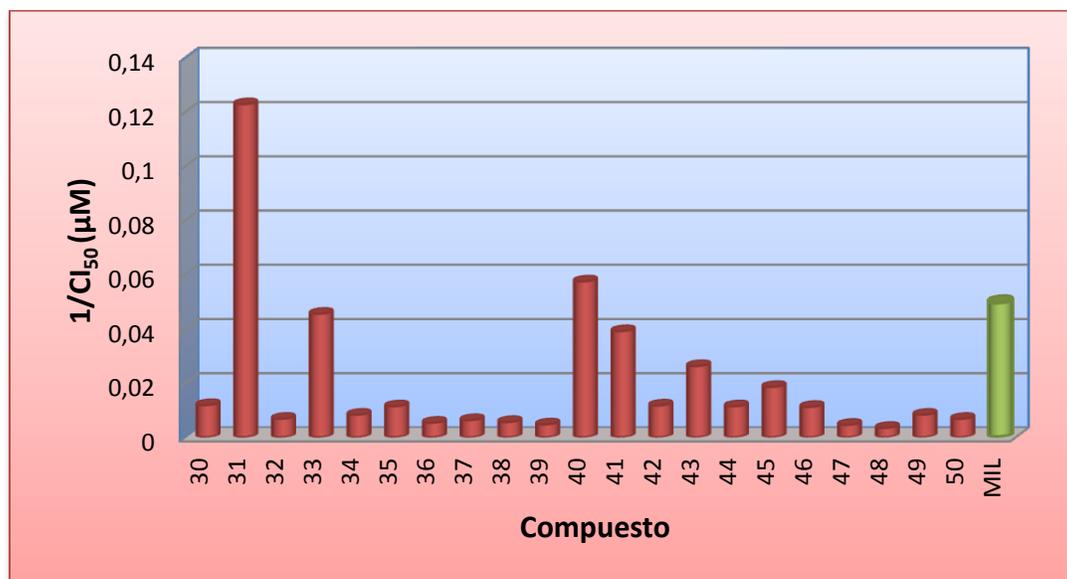


Gráfico 1. Actividad leishmanicida ($1/CI_{50}$) para los compuestos sintetizados

En el gráfico anterior se puede observar que mientras más alta sea la barra, comparada con la barra de la miltefosina (barra verde), mayor actividad ha mostrado el compuesto. Es así que los compuestos **31** y **40** mostraron una actividad mayor que el fármaco de referencia (miltefosina), mientras que los compuestos **33** y **41** presentaron una actividad comparable a la del fármaco de elección. Por el contrario, para los demás compuestos evaluados se observó una actividad inferior respecto a la miltefosina (fármaco de referencia).

Ahora bien, con la finalidad de realizar un análisis detallado de estructura-actividad, arbitrariamente se nombró a los compuestos **30-36** como sería **A**, a los compuestos **37-43** serie **B** y a los compuestos **44-50** serie **C**, según sus características comunes.

Para dicho fin, inicialmente se analizarán las modificaciones realizadas en el anillo bencenoide correspondiente al bencimidazol. Como primer parámetro se analizará la ausencia del grupo metilo en la posición uno del bencimidazol. De manera que para la serie **A** se observó un aumento considerable en la actividad a excepción del compuesto **30** que presentó una disminución, aproximadamente cuatro veces menor, en su actividad. Por el contrario, en la serie **B** se observó una notable disminución en la actividad. Mientras que, para la serie **C** se notó un aumento importante en la actividad

Por otro lado, la sustitución de átomos de cloro en posiciones 5 y/o 6 mostró en forma general, para las tres series, una considerable disminución de la actividad. Sin embargo, los compuestos **31** y **45**, análogos de los compuestos **30** y **44** respectivamente, presentaron un notorio aumento en su actividad, siendo el compuesto **31** el que mejor actividad mostró, incluso 2.5 veces mejor que el fármaco de referencia (miltefosina).

Es así que, resumiendo lo mencionado hasta ahora encontramos que:

- La ausencia de un grupo metilo en posición uno del núcleo bencimidazólico favorece la actividad leishmanicida del compuesto siempre y cuando éste posea un grupo metoxilo dentro del fragmento bencílico.
- La presencia de átomos de cloro en posiciones 5 y/o 6 desfavorece la actividad de los compuesto, excepto **31**.

Por otro lado, un segundo parámetro a analizar lo constituye las modificaciones realizadas en el fragmento bencílico. Por tanto, en primer lugar se examinará la adición de un átomo de cloro en posición cinco del fragmento bencílico, por lo que se compararán las series **A** y **B** de compuestos. Es así que, al analizar dichos resultados es posible observar un claro decrecimiento en la actividad con excepción de los compuestos **46** y **50**, los cuales mostraron un leve incremento de ésta.

Ahora bien, en segundo lugar se examinará el hecho de modificar la función fenólica de la serie **B** por una función metoxílica que da lugar a la serie **C**. De tal

forma que, con estos resultados, se observó que existe un considerable incremento de la actividad para los compuestos sin sustitución en la posición uno del bencimidazol, mientras que para los compuestos con sustituyente metilo en dicha posición, se observa un notorio decrecimiento de su actividad. Resultado que confirma el hecho de que la ausencia de sustituyentes alquilo (metilo) en posición uno del bencimidazol favorecen la actividad siempre y cuando exista una función metoxilica en el fragmento bencilico.

Por otra parte, con la finalidad de complementar el trabajo desarrollado, se realizaron pruebas de citotoxicidad (CC_{50}) para valorar el efecto nocivo de dichos compuestos, estos resultados se muestran en el Gráfico 2.

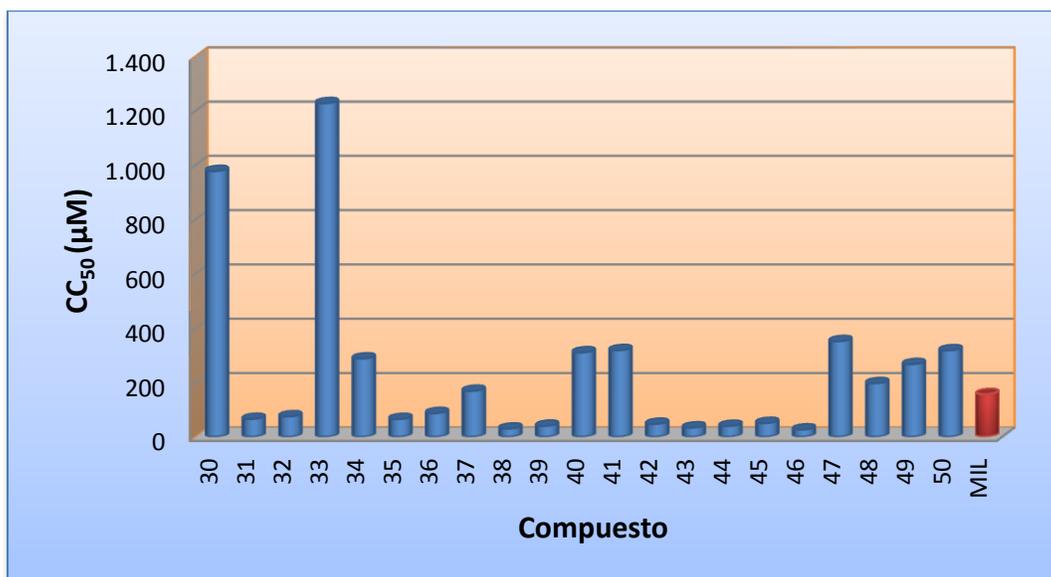


Gráfico 2. Concentración Citotóxica (CC_{50}) para los compuestos sintetizados.

En la Tabla 9 y el Gráfico 2 se puede observar que mientras mayor sea la concentración citotóxica menor es la toxicidad del compuesto. De donde resulta que los compuestos **30**, **33**, **34**, **37**, **40**, **41** y **47-50** presentaron una CC_{50} mayor al fármaco de referencia, lo que los hace menos tóxicos que dicho fármaco. Así mismo los compuestos **30** y **33** fueron los menos tóxicos de la serie, de los cuales, como se mencionó anteriormente, el compuesto **33** mostró una actividad similar al fármaco de elección, lo que lo postula como un compuesto atractivo a futuros ensayos biológicos. Sin embargo, el compuesto **31** que fue el más activo de la

serie, mostró una CC_{50} inferior al fármaco de referencia. De manera que lo convierte en un compuesto probablemente tóxico a pesar de su buena actividad. Por último, se puede concluir que la presencia de átomos de cloro dentro de la molécula provoca un aumento considerable en la toxicidad de los compuestos.

Otro valor a considerar es el IS, el cual indica la selectividad del compuesto sobre el parásito y no sobre células humanas. Este parámetro se obtiene del cociente entre CC_{50}/CI_{50} y mientras mayor sea su valor más selectivo es el compuesto. Se considera que la eficacia biológica no es debido a un efecto citotóxico *per se*, cuando el índice de selectividad es mayor a diez ($IS > 10$) (Gráfico 3).

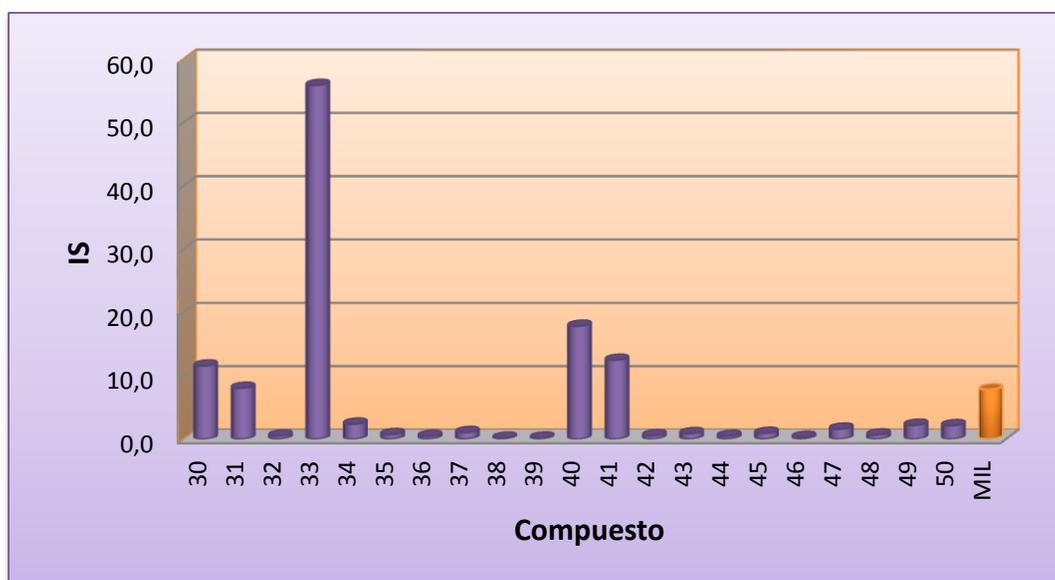


Gráfico 3. Índice de Selectividad (IS) para los compuestos sintetizados.

En contraste con lo anterior, se observa que los compuestos **30**, **31**, **33**, **40** y **41** mostraron una selectividad mejor que la presentada por el fármaco de referencia. De ahí que el compuesto con mayor selectividad fue el compuesto **33**, corroborando así que es uno de los mejores candidatos a posteriores estudios. De igual forma, el compuesto **31** mostró una selectividad comparable con el fármaco de referencia, categorizándolo también como un buen candidato. Finalmente, podemos inferir que no necesariamente los compuestos más activos tendrán que presentar baja toxicidad. Es por esta razón que es necesario realizar dicho experimento.

7. CONCLUSIONES

- En total se sintetizaron veintiun (21) compuestos finales basados en las metodologías ya reportadas en el laboratorio.
- Las metodologías usadas en la síntesis de los compuestos **1-27** son reproducibles, puesto que los puntos de fusión de dichos compuestos coincidieron con los ya reportados. Por ende, no se realizó la caracterización espectroscópica y espectrométrica de dichos compuestos.
- En la reacción de formación de iminas (bases de Schiff) se observó la formación de un único producto (ccf), por lo cual, estos compuestos se tomaron como intermediarios y fueron usados inmediatamente en la siguiente reacción sin previa caracterización.
- De los compuestos inicialmente sintetizados, diez y nueve (19) fueron moléculas novedosas, cuyas propiedades físicas, espectroscópicas y espectrométricas se reportan por primera vez.
- Para el compuesto **41**, mediante fue posible obtener cristales adecuados, , y fue analizado mediante difracción de rayos X, resultado que corroboró inequívocamente la estructura del compuesto.
- Los compuestos **31**, **33**, **40** y **41** mostraron las mejores actividades leishmanicidas. Sin embargo, los compuestos **31** y **40** fueron los más activos, incluso mejores que la miltefosina.
- Los compuestos **30**, **33**, **34**, **37**, **40**, **41** y **47-50** presentaron una citotoxicidad menor que la miltefosina; siendo los compuestos **30** y **33** los menos citotóxicos de la serie.
- Los compuestos **30**, **31**, **33**, **40** y **41** presentaron una mejor selectividad que la miltefosina misma. De los cuales el compuesto **33** fue el más selectivo hacia el parásito.
- El compuesto **33** fue el menos tóxico, el más selectivo y aunque no fue el más activo, se puede considerar como el mejor candidato a posteriores ensayos biológico.

- El compuesto **31** fue el más activo, sin embargo presentó una citotoxicidad considerable y una selectividad comparable al fármaco de referencia (miltefosina).
- La sustitución del grupo metilo por un átomo de hidrógeno en la posición uno del bencimidazol, favoreció la actividad de los compuestos, siempre y cuando el sustituyente bencílico de la posición dos, posea un grupo metoxilo dentro de su estructura.
- La adición de átomos de cloro en posiciones 5 y/o 6 desfavorece en forma general la actividad y la citotoxicidad de los mismos. Aunque el compuesto más activo (**31**) presenta en su estructura un átomo de cloro en posición 5 o 6.

8. PERSPECTIVAS

- Para complementar el trabajo se recomienda realizar estudios de actividad biológica en amastigotes de *L. mexicana* y realizar ensayos de actividad en otros parásito protozoarios como *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*.
- Debido a la toxicidad considerable presentada por los compuestos con átomos de cloro en las posiciones 5 y/o 6 del bencimidazol, se recomienda sustituirlos por diferentes grupos funcionales con el fin de mejorar la citotoxicidad.
- Teniendo en cuenta que el compuesto **31** mostró la mejor actividad, se recomienda realizar diversas sustituciones en posiciones 5 y/o 6 del bencimidazol, buscando así mejorar tanto su actividad como disminuir su toxicidad e incrementar la selectividad por el parásito.
- Someter los compuestos sintetizados a un estudio computacional, con la finalidad de comparar los datos teóricos con los resultados experimentales ya obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Renslo, A. R.; McKerrow, J. H. Drug Discovery and Development for Neglected Parasitic Diseases. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 701–710.
- (2) Drugs for Neglected Diseases initiative. A Global Disease with Regional Challenges.
http://www.dndi.org/images/stories/pdf_publications/DNDi_Leishmaniasis_factsheet.pdf.
- (3) Nagle, A. S.; Khare, S.; Kumar, A. B.; Supek, F.; Buchynskyy, A.; Mathison, C. J. N.; Chennamaneni, N. K.; Pendem, N.; Buckner, F. S.; Gelb, M. H.; et al. Recent Developments in Drug Discovery for Leishmaniasis and Human African Trypanosomiasis. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 11305–11347.
- (4) Hussain, H.; Al-harrasi, A.; Al-rawahi, A.; Green, I. R.; Gibbons, S. Fruitful Decade for Antileishmanial Compounds from 2002 to Late 2011. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 10369–10428.
- (5) Martinez Vargas, F.; Guerrero Torres, E.; Arenas, R.; Quintanilla Cedillo, M. Leishmaniasis En México. *Med. Cutan. Ibero. Lat. Am.* **2011**, *39*, 163–183.
- (6) Alvar, J.; Vélez, I. D.; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Cano, J.; Jannin, J.; de Boer, M. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS One* **2012**, *7*, 1–12.
- (7) Santos, D. O.; Coutinho, C. E. R.; Madeira, M. F.; Bottino, C. G.; Vieira, R. T.; Nascimento, S. B.; Bernardino, A.; Bourguignon, S. C.; Corte-Real, S.; Pinho, R. T.; et al. Leishmaniasis Treatment - A Challenge That Remains: A Rev. *Parasitol. Res.* **2008**, *103*, 1–10.
- (8) Mayence, A.; Pietka, A.; Collins, M. S.; Cushion, M. T.; Tekwani, B. L.; Huang, T. L.; Vanden Eynde, J. J. Novel Bisbenzimidazoles with Antileishmanial Effectiveness. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2658–2661.
- (9) Mayence, A.; Vanden Eynde, J. J.; LeCour, L.; Walker, L. a.; Tekwani, B. L.; Huang, T. L. Piperazine-Linked Bisbenzamidines: A Novel Class of Antileishmanial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 547–553.

- (10) Torres-Gómez, H.; Hernández-Núñez, E.; León-Rivera, I.; Guerrero-Alvarez, J.; Cedillo-Rivera, R.; Moo-Puc, R.; Argotte-Ramos, R.; Carmen Rodríguez-Gutiérrez, M. Del; Chan-Bacab, M. J.; Navarrete-Vázquez, G. Design, Synthesis and in Vitro Antiprotozoal Activity of Benzimidazole-Pentamidine Hybrids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3147–3151.
- (11) Keurulainen, L.; Siiskonen, A.; Nasereddin, A.; Kopelyanskiy, D.; Sacerdoti-Sierra, N.; Leino, T. O.; Tammela, P.; Yli-Kauhaluoma, J.; Jaffe, C. L.; Kiuru, P. Synthesis and Biological Evaluation of 2-Arylbenzimidazoles Targeting Leishmania Donovanii. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1933–1937.
- (12) Méndez Cuesta, C. A. Acoplamiento Molecular, Síntesis Y Evaluación Biológica de Derivados Del Bencimidazol Contra Piruvato Cinasa Y Arginasa de Leishmania Spp. *Tesis Dr. Maest. y Dr. en Ciencias Químicas. Univesidad Nac. Autónoma México.* **2014**, 96–105.
- (13) Wang, F.; Cai, S.; Liao, Q.; Xi, C. A Protocol to 2-Aminobenzimidazoles via Copper-Catalyzed Cascade Addition and Cyclization of O-Haloanilines and Carbodiimides. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3174–3180.
- (14) Guida, X.; Jianhua, H.; Xiaomin, L. Synthesis and QSAR Studies of Novel 1-Substituted-2-Aminobenzimidazoles Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1080–1083.
- (15) Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández-Campos, A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Navarrete-Vázquez, G.; Tapia, A.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R. Synthesis and Antiparasitic Activity of 1H-Benzimidazole Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2221–2224.
- (16) Huigens, R. W.; Reyes, S.; Reed, C. S.; Bunders, C.; Rogers, S. a.; Steinhauer, A. T.; Melander, C. The Chemical Synthesis and Antibiotic Activity of a Diverse Library of 2-Aminobenzimidazole Small Molecules against MRSA and Multidrug-Resistant A. Baumannii. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 663–674.
- (17) Beesu, M.; Malladi, S. S.; Fox, L. M.; Jones, C. D.; Dixit, A.; David, S. A. Human Toll-Like Receptor 8-Selective Agonistic Activities in 1 -Alkyl-1 H-Benzimidazol-2-Amines. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 7325–7341.

- (18) Garg, K.; Bansal, Y.; Bansal, G.; Goel, R. K. Design, Synthesis, and PASS-Assisted Evaluation of Novel 2-Substituted Benzimidazole Derivatives as Potent Anthelmintics. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 2690–2697.
- (19) Rivara, M.; Zuliani, V.; Cocconcelli, G.; Morini, G.; Comini, M.; Rivara, S.; Mor, M.; Bordi, F.; Barocelli, E.; Ballabeni, V.; et al. Synthesis and Biological Evaluation of New Non-Imidazole H3-Receptor Antagonists of the 2-Aminobenzimidazole Series. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 1413–1424.
- (20) Yella, R.; Patel, B. K. One-Pot Synthesis of Five and Six Membered N, O, S-Heterocycles Using a Ditribromide Reagent. *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 754–763.
- (21) Murphy, D. B. Carbonimidoyl Dihalides as Organic Intermediates. I. The Preparation of 2-Aryl Aminobenzimidazoles. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 1613–1615.
- (22) Perkins, J. J.; Zartman, A. E.; Meissner, R. S. Synthesis of 2-(alkylamino)benzimidazoles. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1103–1106.
- (23) Charton, J.; Girault-Mizzi, S.; Debreu-Fontaine, M.-A.; Foufelle, F.; Hainault, I.; Bizot-Espiard, J.-G.; Caignard, D.-H.; Sergheraert, C. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potent AMP-Activated Protein Kinase Activators. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4490–4518.
- (24) Coon, T.; Moree, W. J.; Li, B.; Yu, J.; Zamani-Kord, S.; Malany, S.; Santos, M. a.; Hernandez, L. M.; Petroski, R. E.; Sun, A.; et al. Brain-Penetrating 2-Aminobenzimidazole H1-Antihistamines for the Treatment of Insomnia. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4380–4384.
- (25) Carpenter, R. D.; Deberdt, P. B.; Lam, K. S.; Kurth, M. J. Carbodiimide-Based Benzimidazole Library Method. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 907–914.
- (26) Mor, M.; Bordi, F.; Silva, C.; Rivara, S.; Zuliani, V.; Vacondio, F.; Rivara, M.; Barocelli, E.; Bertoni, S.; Ballabeni, V.; et al. Synthesis, Biological Activity, QSAR and QSPR Study of 2-Aminobenzimidazole Derivatives as Potent H3-Antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 663–674.
- (27) Lan, P.; Romero, F. A.; Malcolm, T. S.; Stevens, B. D.; Wodka, D.; Makara, G. M. An Efficient Method to Access 2-Substituted Benzimidazoles under

Solvent-Free Conditions. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1910–1914.

- (28) Cee, V. J.; Downing, N. S. A One-Pot Method for the Synthesis of 2-Aminobenzimidazoles and Related Heterocycles. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3747–3750.
- (29) Wan, Z. K.; Ousman, E. F.; Papaioannou, N.; Saiah, E. Phosphonium-Mediated Cyclization of N-(2-Aminophenyl)thioureas: Efficient Synthesis of 2-Aminobenzimidazoles. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4149–4152.
- (30) Das, P.; Kumar, C. K.; Kumar, K. N.; Innus, M.; Iqbal, J.; Srinivas, N. Dithiocarbamate and CuO Promoted One-Pot Synthesis of 2-(N-Substituted)-Aminobenzimidazoles and Related Heterocycles. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 992–995.
- (31) Heinelt, U.; Schultheis, D.; Jäger, S.; Lindenmaier, M.; Pollex, A.; Beckmann, H. S. G. A Convenient Method for the Synthesis of 2-Amino Substituted Aza-Heterocycles from N,N'-Disubstituted Thioureas Using TsCl/NaOH. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 9883–9888.
- (32) Wang, X. J.; Zhang, L.; Xu, Y.; Krishnamurthy, D.; Senanayake, C. H. A Practical Synthesis of 2-(N-Substituted)-Aminobenzimidazoles Utilizing CuCl-Promoted Intramolecular Cyclization of N-(2-Aminoaryl)thioureas. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7167–7170.
- (33) Xie, Y.; Zhang, F.; Li, J.; Shi, X. Novel Synthesis of 2-Aminobenzimidazoles from Isoselenocyanates. *Synlett* **2010**, No. 6, 901–904.
- (34) Maldonado, A. Diseño, Síntesis Y Actividad de Derivados Del Bencimidazol Contra Leishmania Mexicana. *Tesis Maest. Maest. y Dr. en Ciencias Químicas. Univesidad Nac. Autónoma México.* **2014**, 54–56.
- (35) Gottschall, D. W.; Theodorides, V. J.; Wang, R. The Metabolism of Benzimidazole Anthelmintics. *Parasitol. Today* **1990**, *6*, 115–124.
- (36) Sanches Díaz, M. de los R. Síntesis de Derivados Del 1-Metilbencimidazol Con Actividad Antihelmintica Potencial. *Tesis Maest. Maest. y Dr. en Ciencias Químicas. Univesidad Nac. Autónoma México.* **1999**, 19–70.
- (37) Hernandez Campos, M. A. Síntesis Y Actividad Biológica de Análogos Del

Triclabendazol. *Tesis Maest. Maest. y Dr. en Ciencias Químicas. Univesidad Nac. Autónoma México*. **1990**, 10–36.

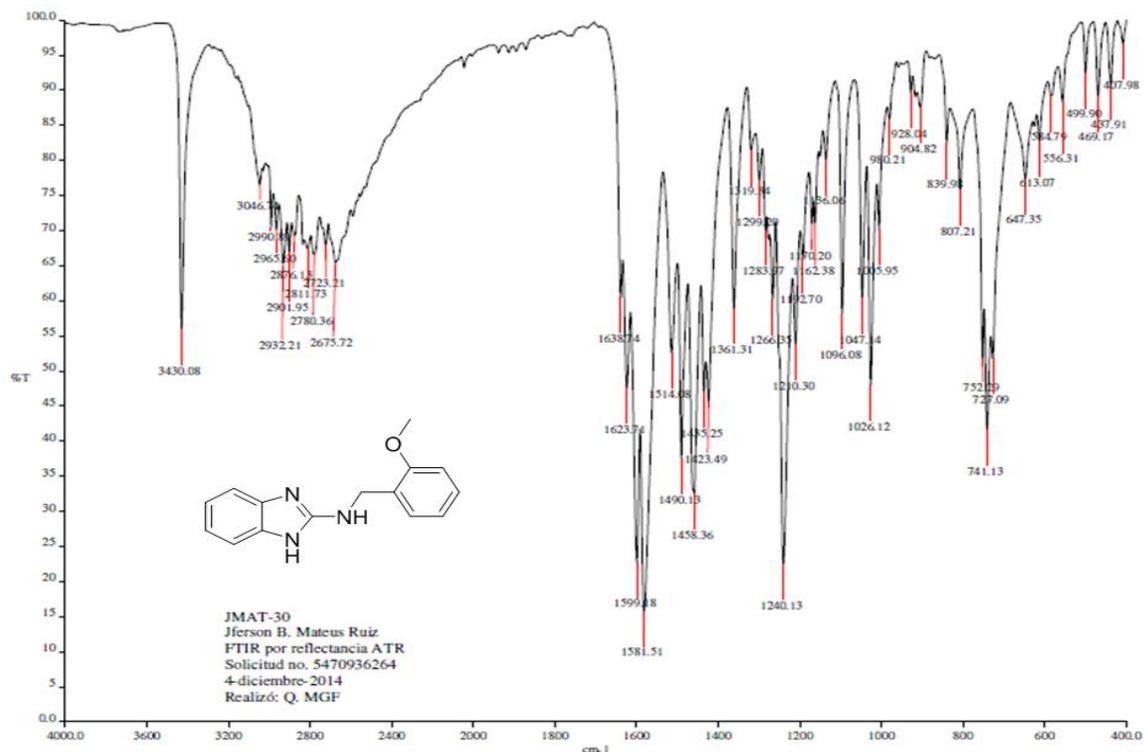
- (38) Ordóñez-Gutiérrez, L.; Espada-Fernández, R.; Dea-Ayuela, M. A.; Torrado, J. J.; Bolás-Fernandez, F.; Alunda, J. M. In Vitro Effect of New Formulations of Amphotericin B on Amastigote and Promastigote Forms of *Leishmania Infantum*. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2007**, *30*, 325–329.
- (39) Mikus, J.; Steverding, D. A Simple Colorimetric Method to Screen Drug Cytotoxicity against *Leishmania* Using the Dye Alamar Blue. *Parasitol. Int.* **2000**, *48*, 265–269.
- (40) Bilbao-Ramos, P.; Sifontes-Rodríguez, S.; Dea-Ayuela, M. A.; Bolás-Fernández, F. A Fluorometric Method for Evaluation of Pharmacological Activity against Intracellular *Leishmania* Amastigotes. *J. Microbiol. Methods* **2012**, *89*, 8–11.
- (41) Denizot, F.; Lang, R. Rapid Colorimetric Assay for Cell Growth and Survival. Modifications to the Tetrazolium Dye Procedure Giving Improved Sensitivity and Reliability. *J. Immunol. Methods* **1986**, *89*, 271–277.
- (42) Da Settimo, a; Primofiore, G.; Da Settimo, F.; Calzolari, L.; Cazzulani, P.; Passoni, A.; Tofanetti, O. 1-Substituted 2-Benzylaminobenzimidazole Derivatives: Compounds with H1-Antihistaminic Activity. *Eur. J. Med. Chem.* **1992**, *27*, 395–400.

ANEXOS

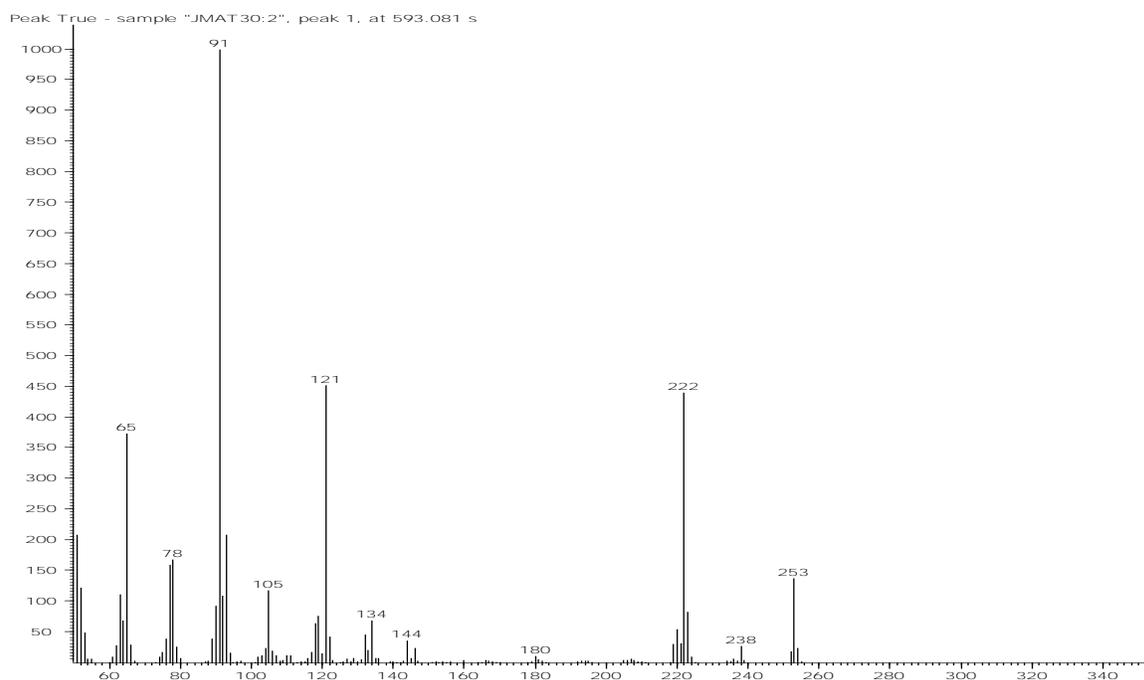
**(ESPECTROS IR, MS, RMN ^1H , RMN ^{13}C , ^1H - ^1H
COSY, HMBC, HSQC)**

Anexo 1. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC DEL 2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1H-BENCIMIDAZOL 30.

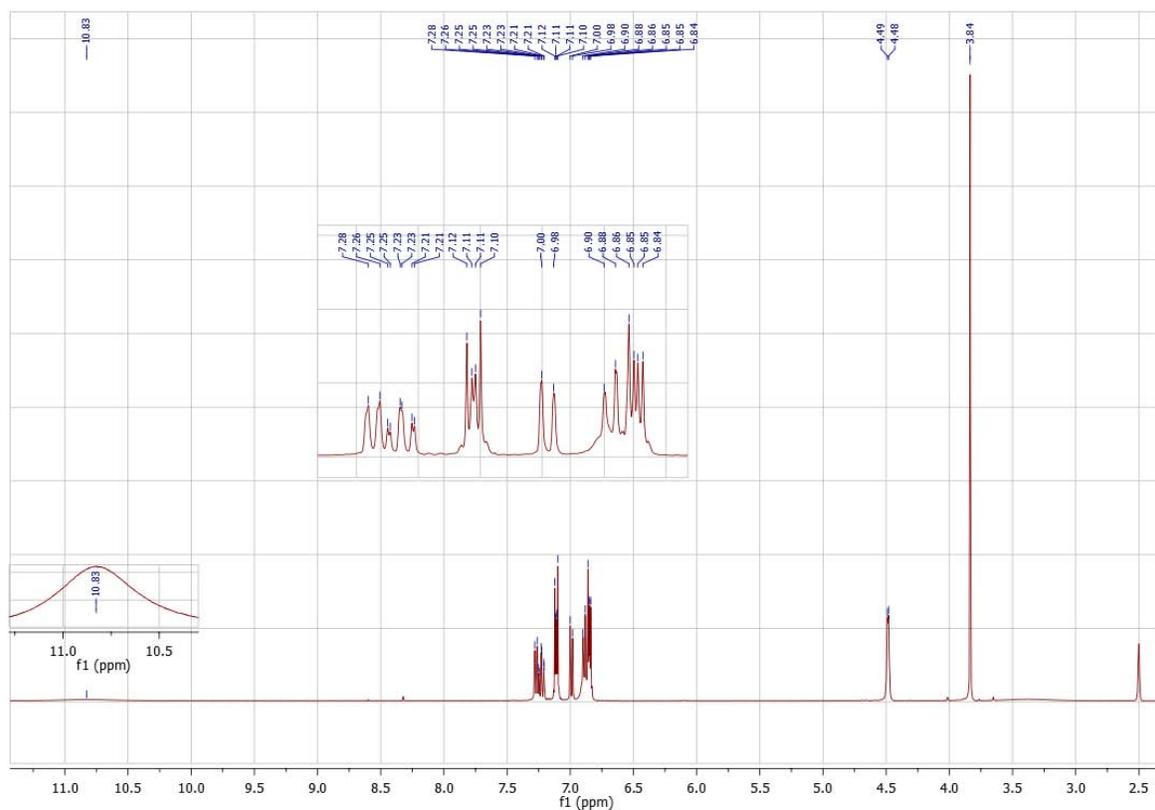
Anexo 1.1. Espectro de IR del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 30



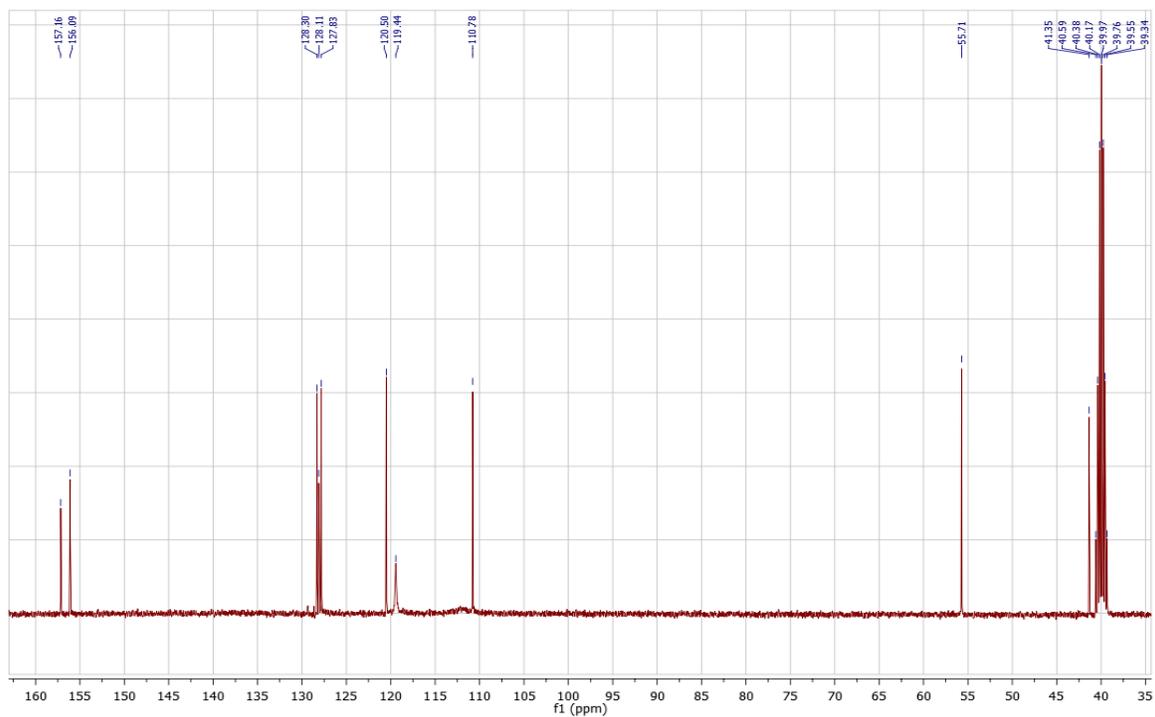
Anexo 1.2. Espectro de MS del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 30



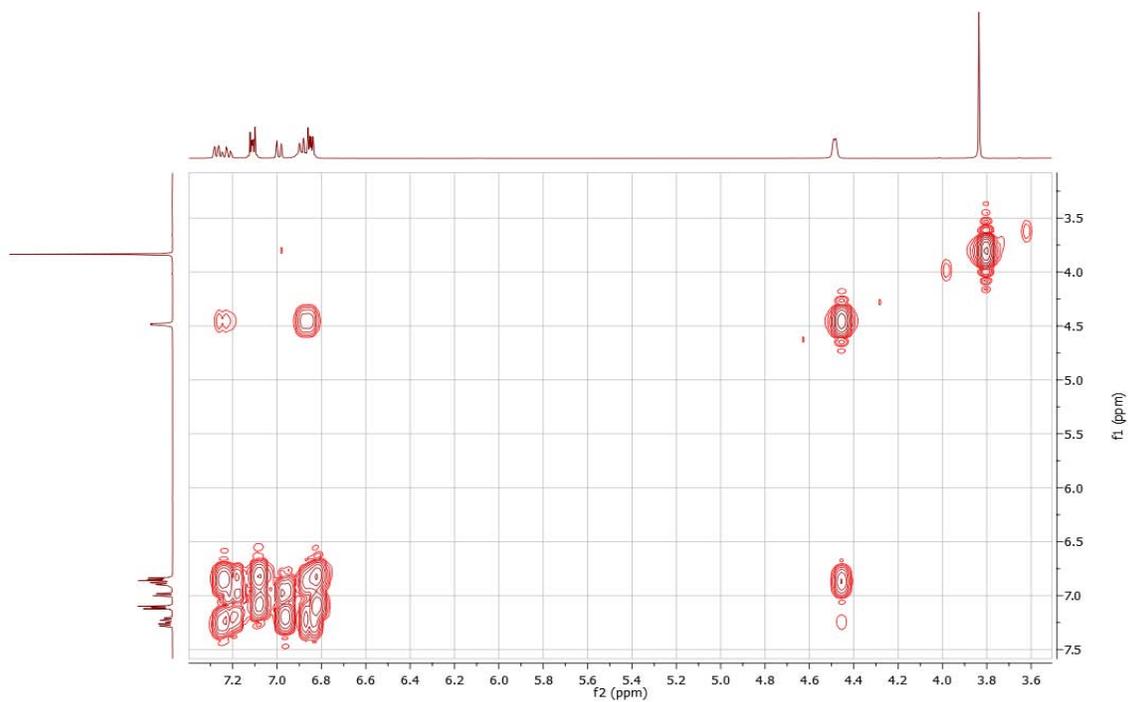
Anexo 1.3. Espectro de RMN ^1H del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 30



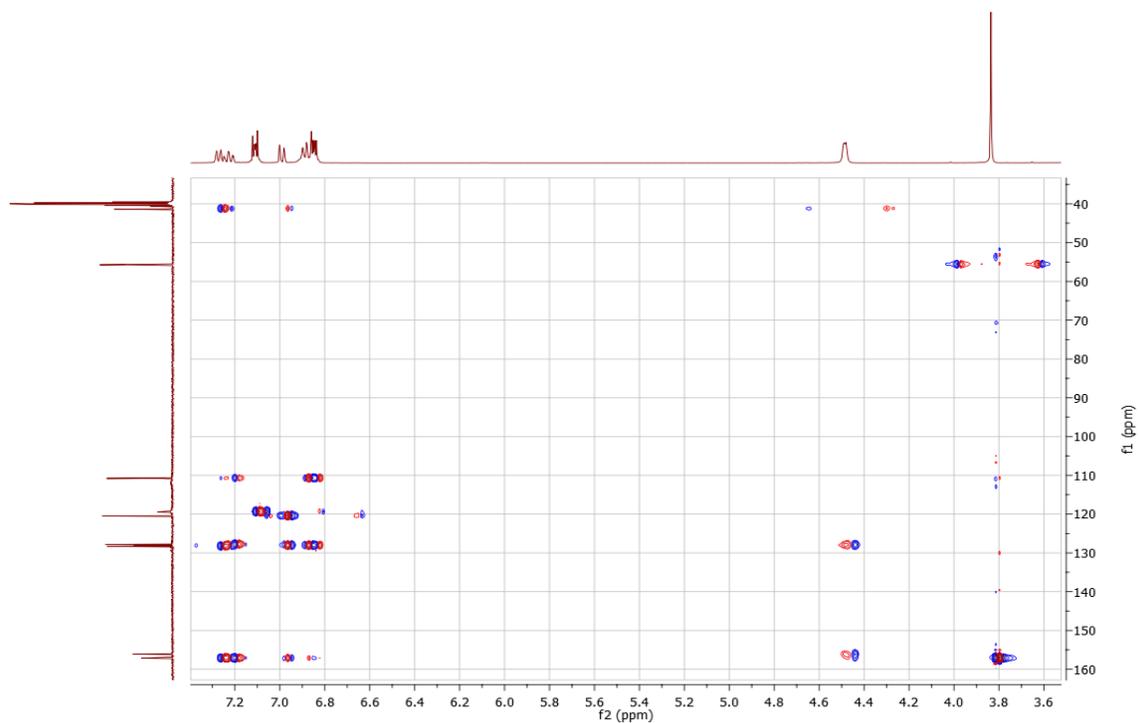
Anexo 1.4. Espectro de RMN ^{13}C del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 30



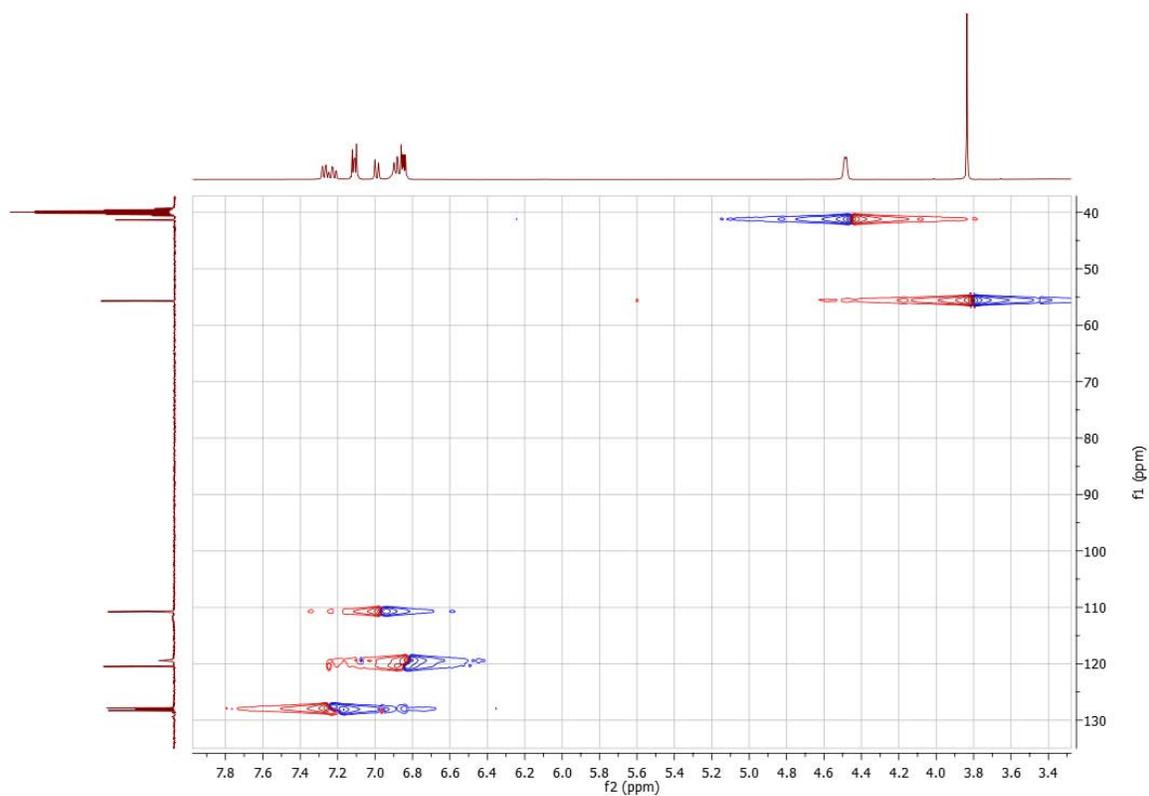
Anexo 1.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol **30**



Anexo 1.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 2-(2-Metoxibencilamino)-1H-bencimidazol **30**

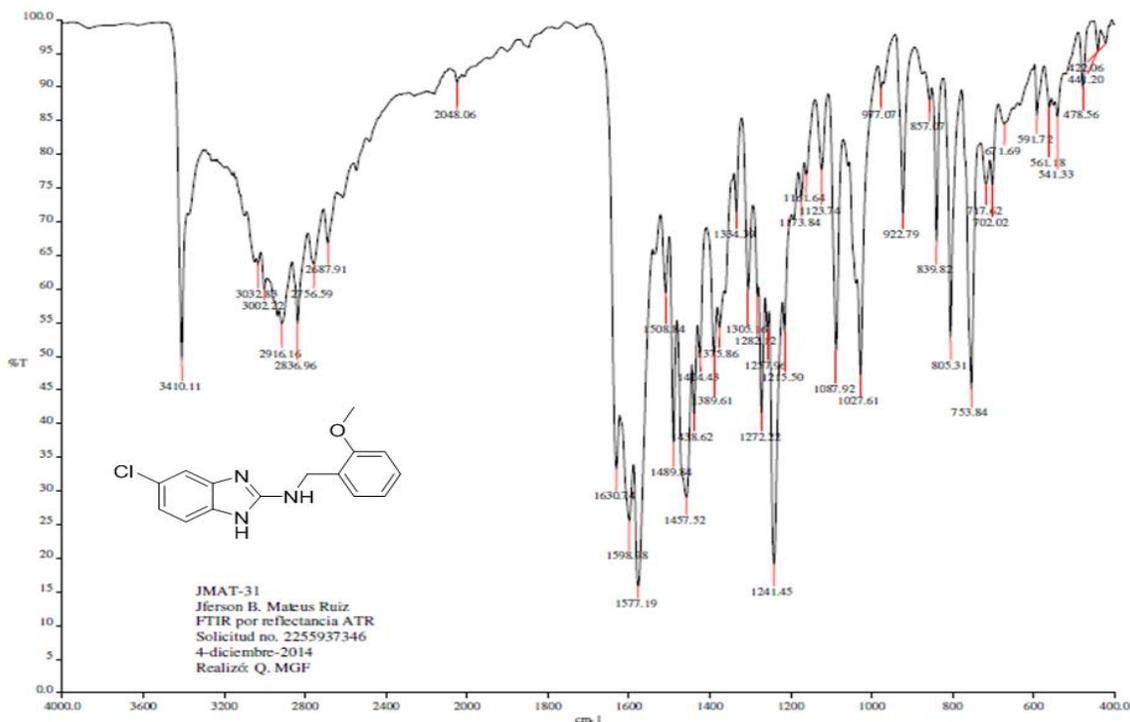


Anexo 1.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 2-(2-Metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **30**

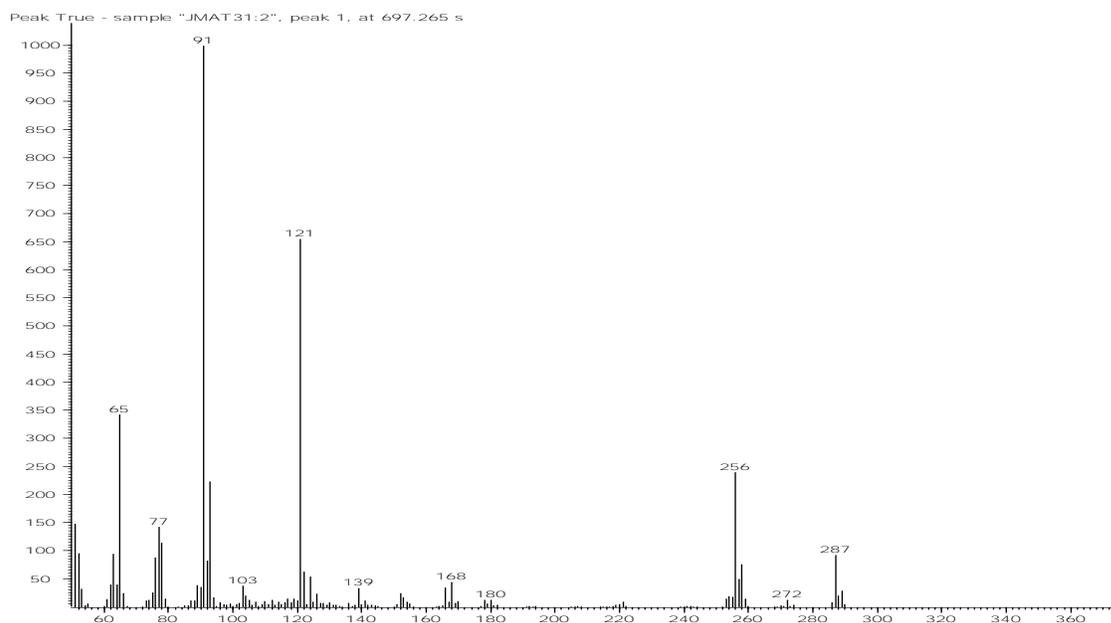


Anexo 2. ESPECTROS IR, MS, RMN ^1H , RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HMBC, HSQC DEL 5-CLORO-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1H-BENCIMIDAZOL 31.

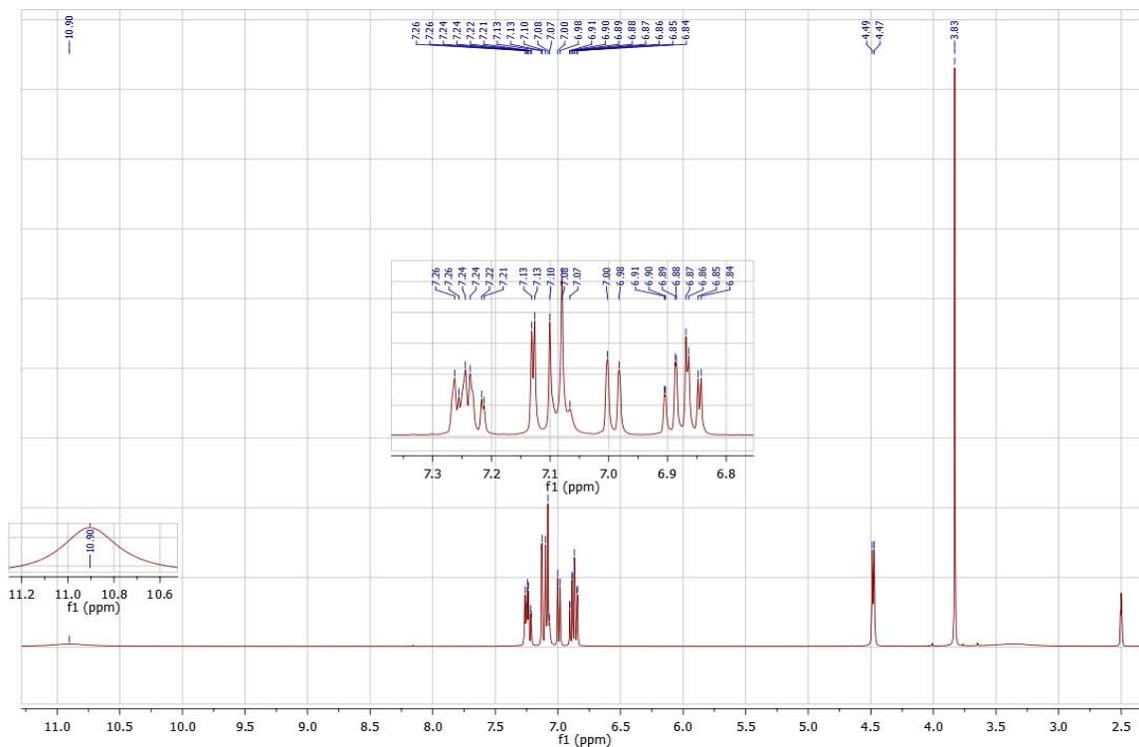
Anexo 2.1. Espectro de IR del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 31



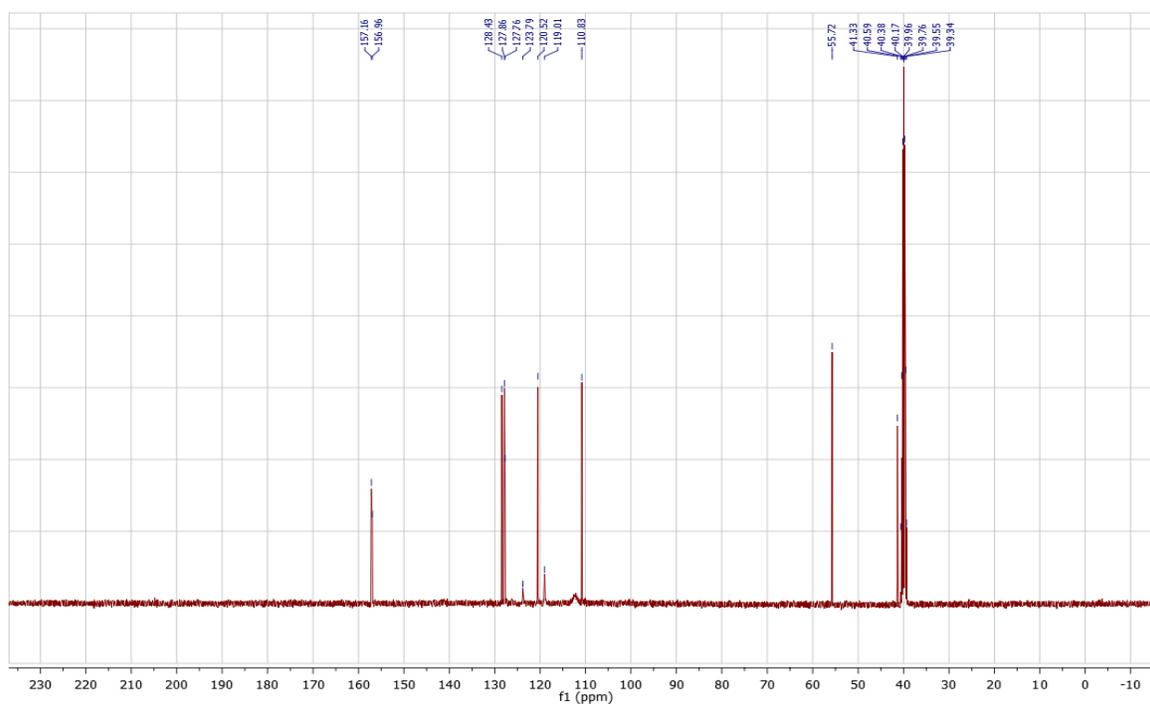
Anexo 2.2. Espectro de MS del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 31



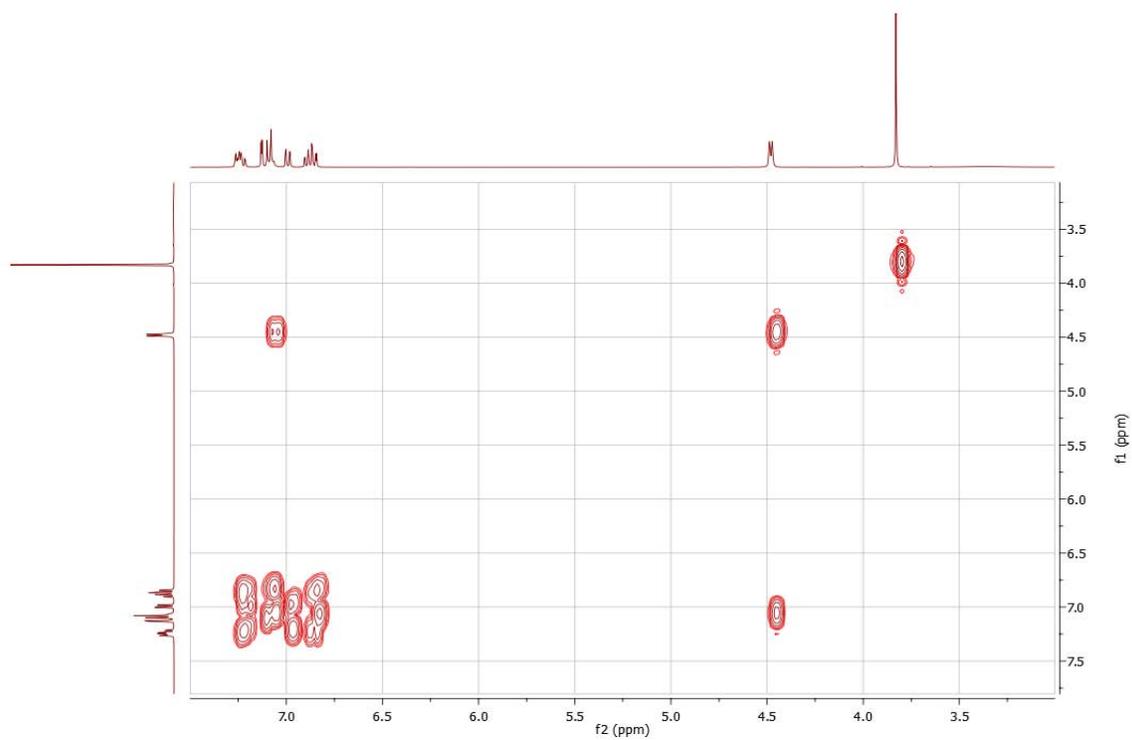
Anexo 2.3. Espectro de RMN ^1H del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **31**



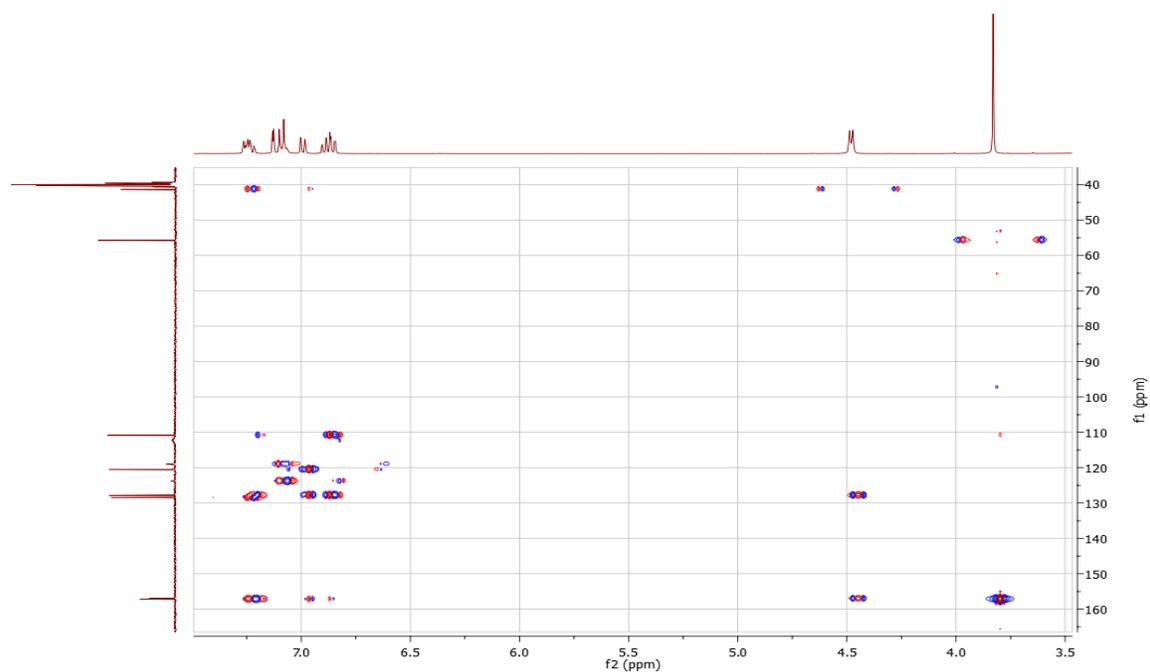
Anexo 2.4. Espectro de RMN ^{13}C del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **31**



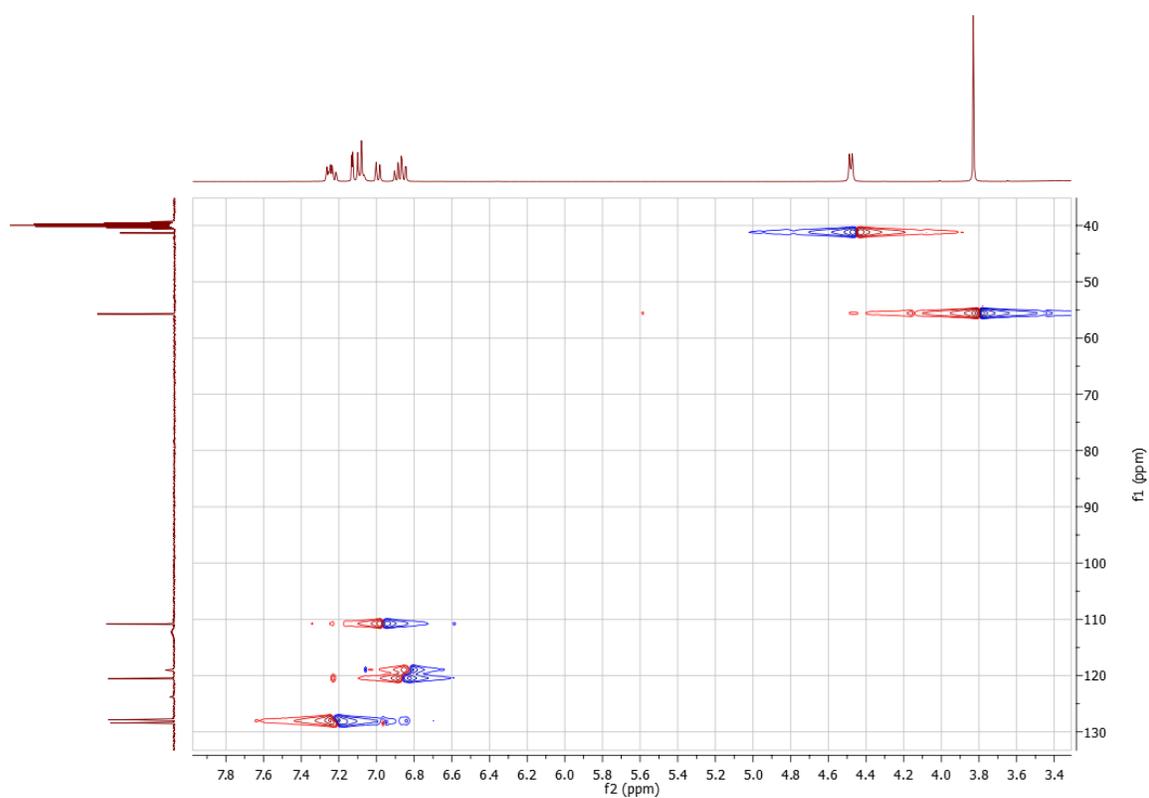
Anexo 2.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **31**



Anexo 2.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **31**

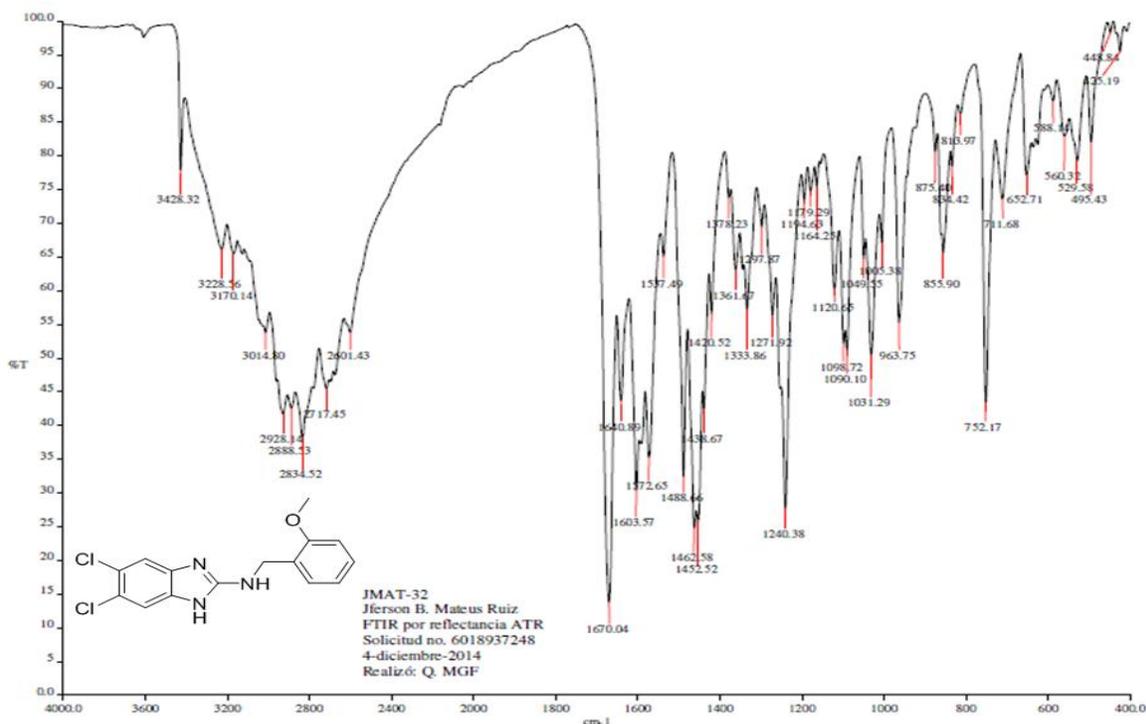


Anexo 2.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **31**

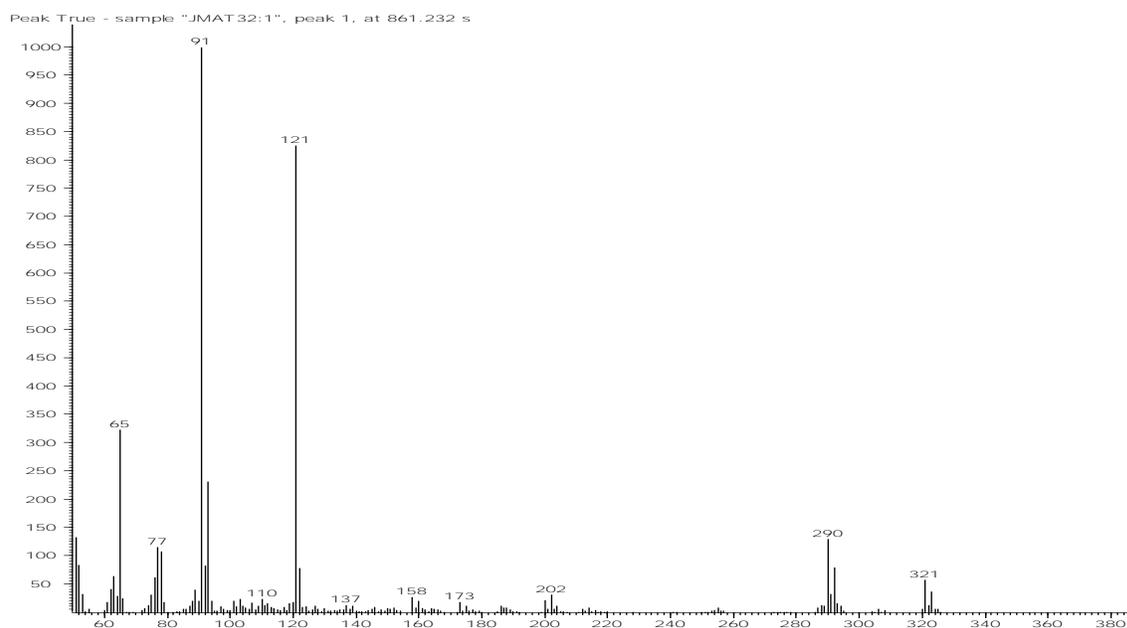


Anexo 3. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC DEL 5,6-DICLORO-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1H-BENCIMIDAZOL 32.

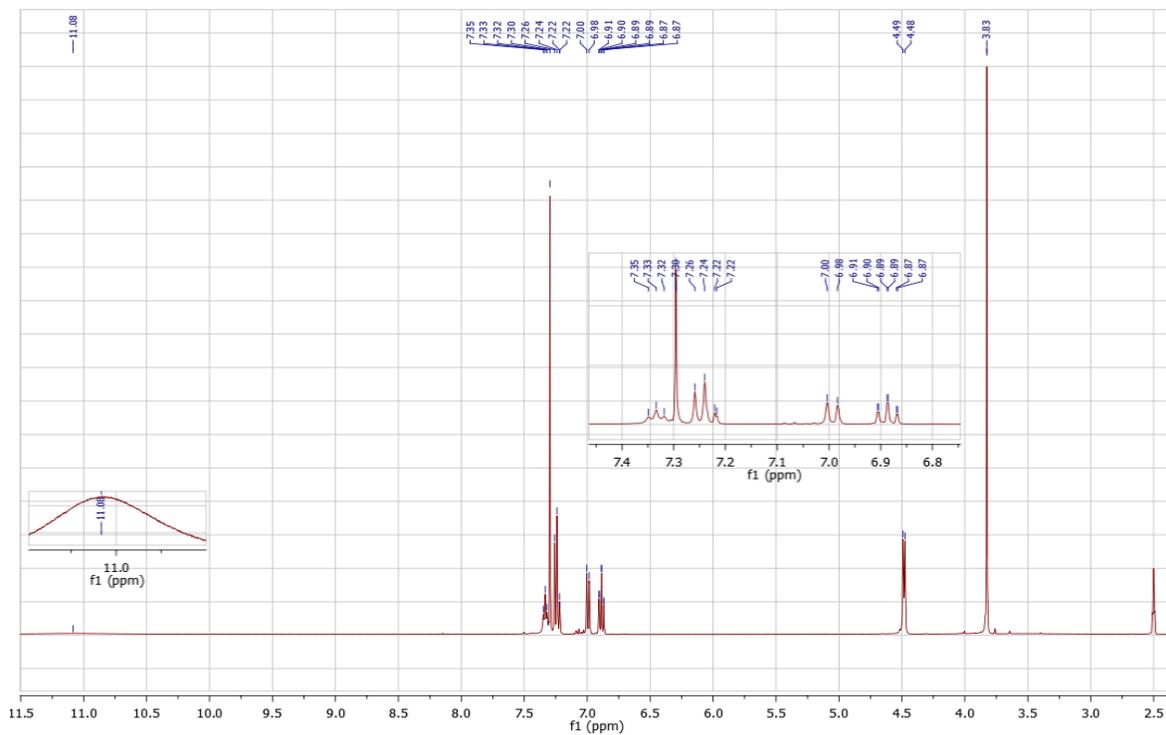
Anexo 3.1. Espectro de IR del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 32



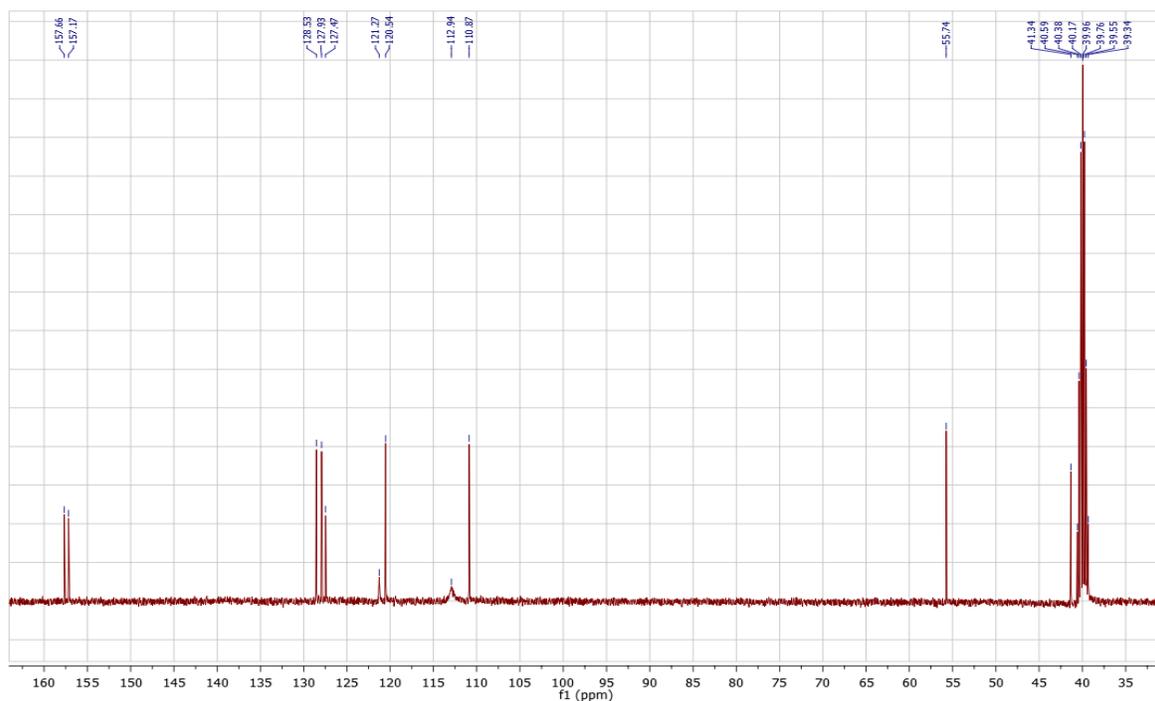
Anexo 3.2. Espectro de MS del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 32



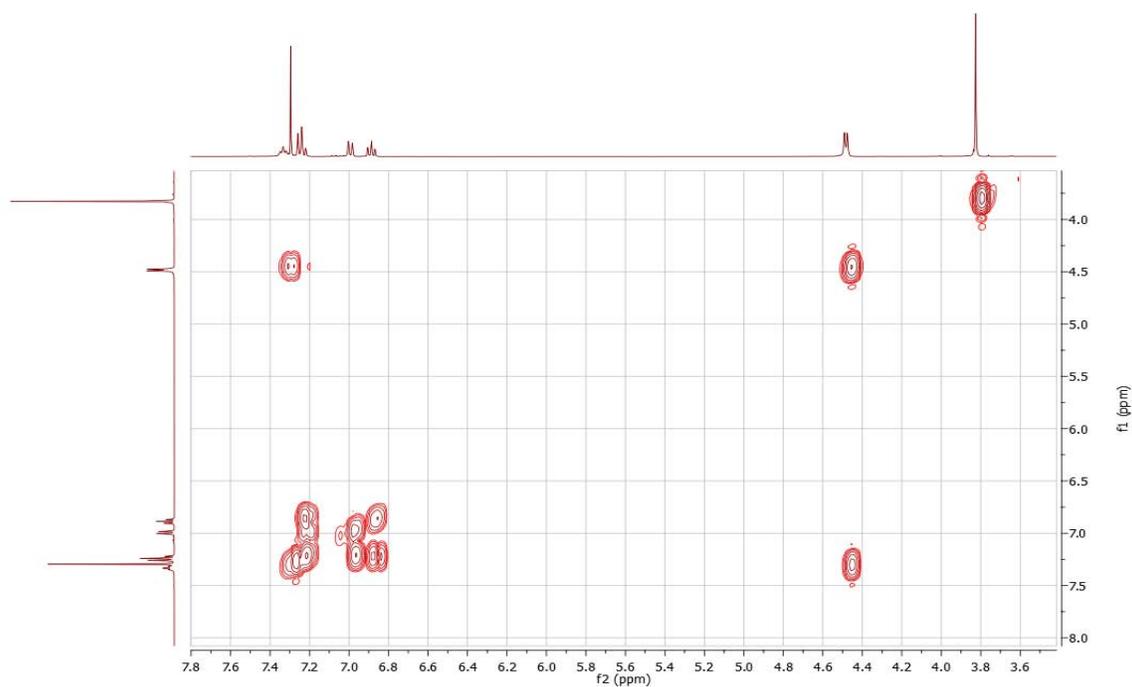
Anexo 3.3. Espectro de RMN ^1H del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **32**



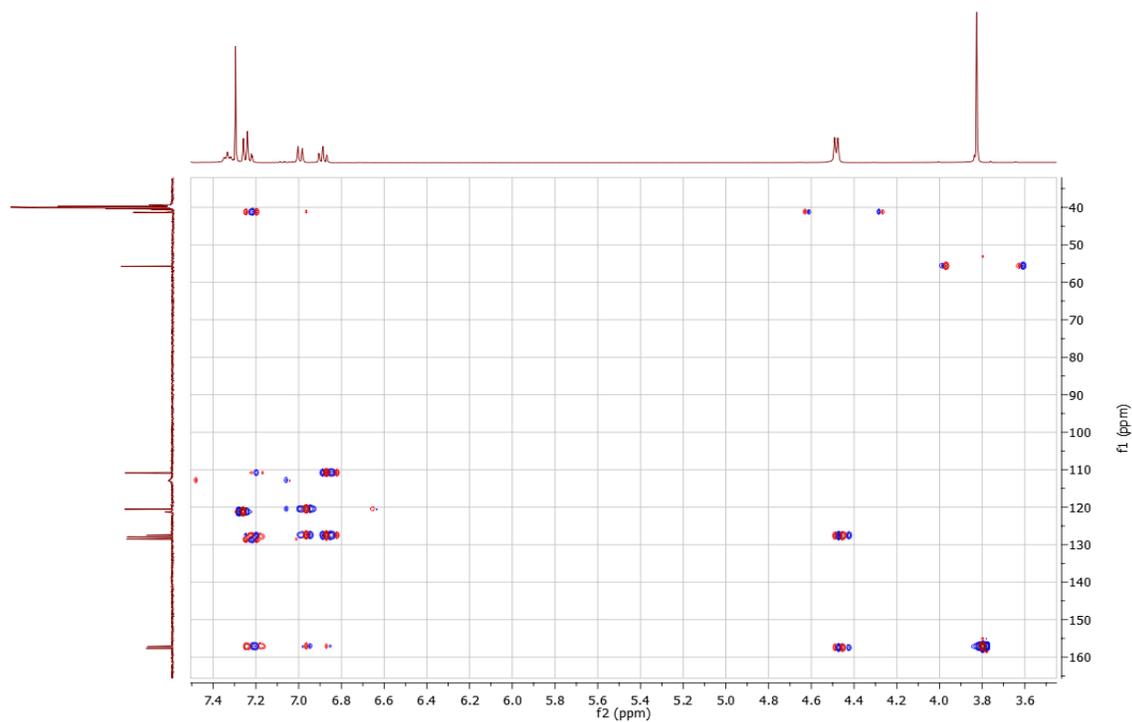
Anexo 3.4. Espectro de RMN ^{13}C del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **32**



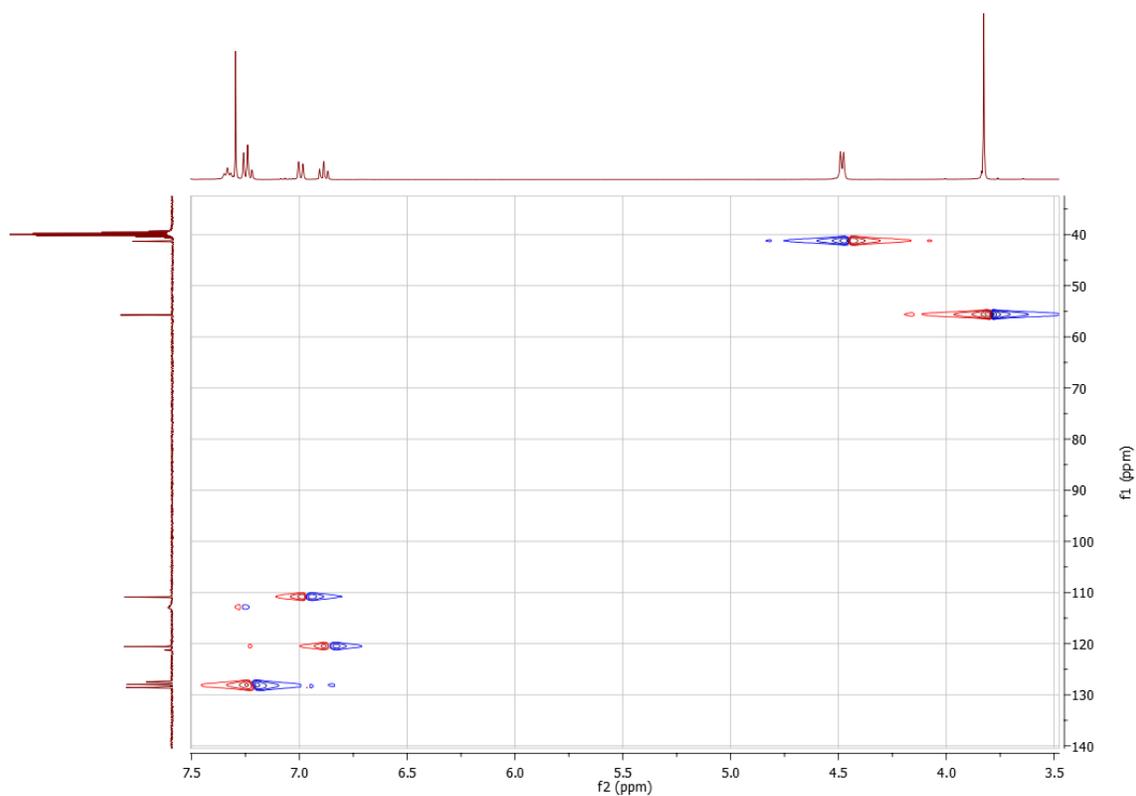
Anexo 3.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol **32**



Anexo 3.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol **32**

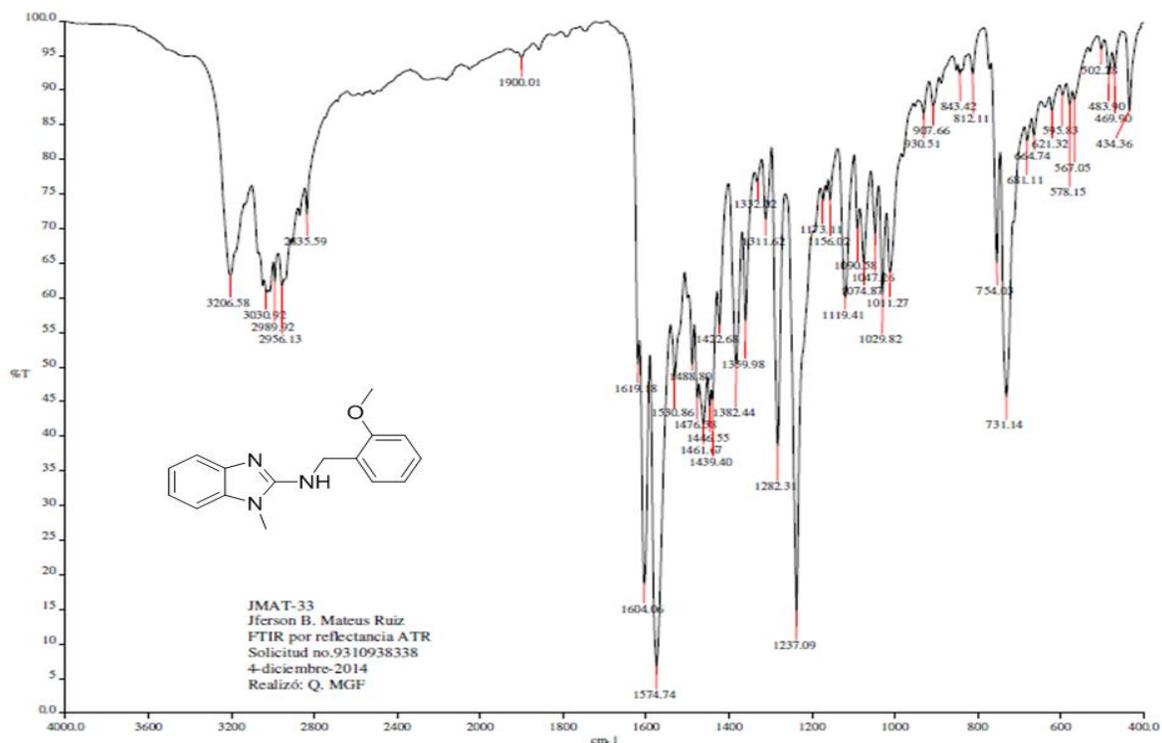


Anexo 3.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **32**

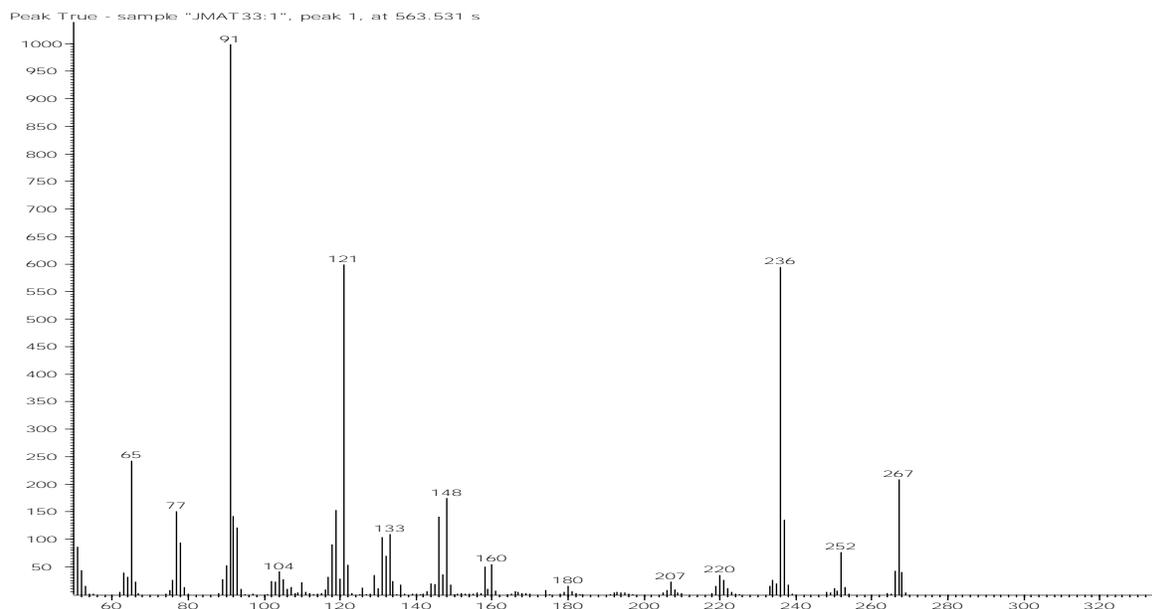


Anexo 4. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC DEL 1-METIL-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1H-BENCIMIDAZOL 33.

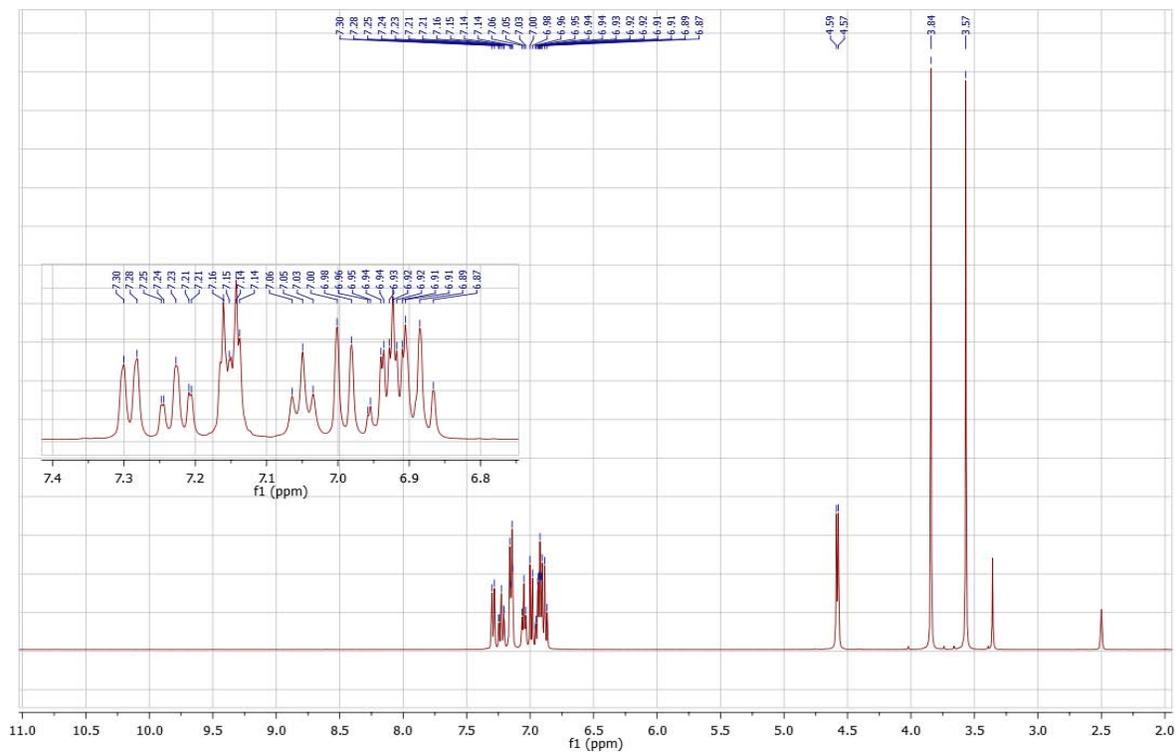
Anexo 4.1. Espectro de IR del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 33



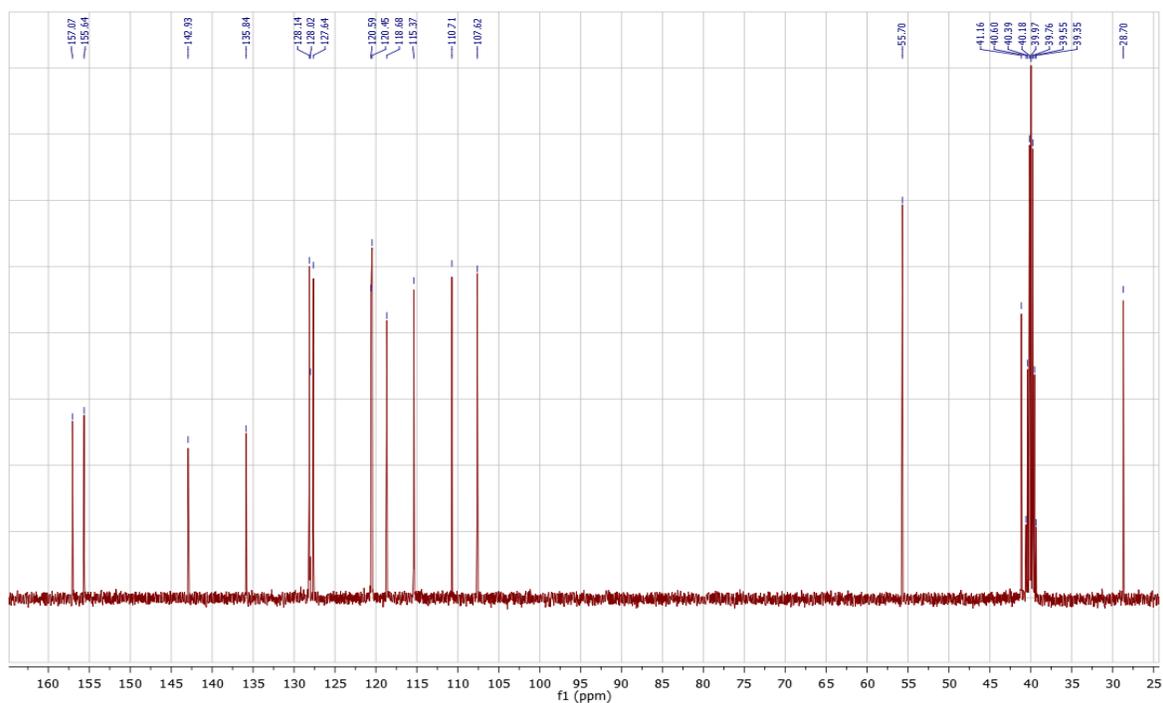
Anexo 4.2. Espectro de MS del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1H-bencimidazol 33



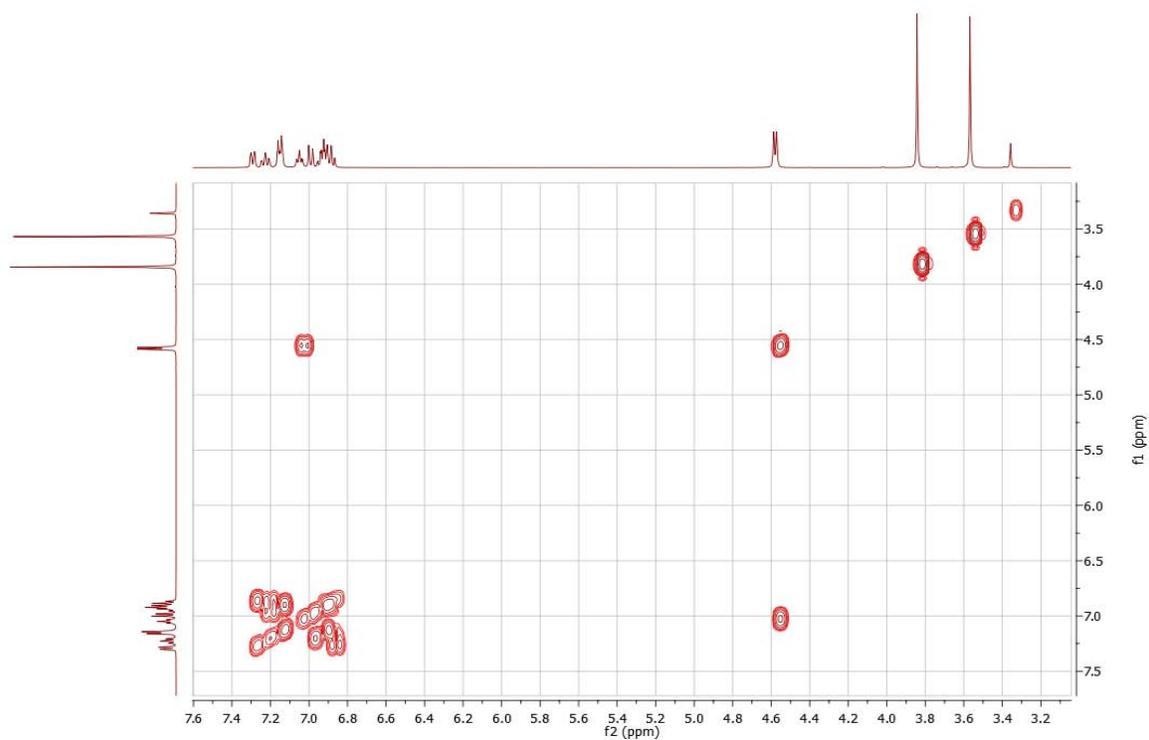
Anexo 4.3. Espectro de RMN ^1H del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **33**



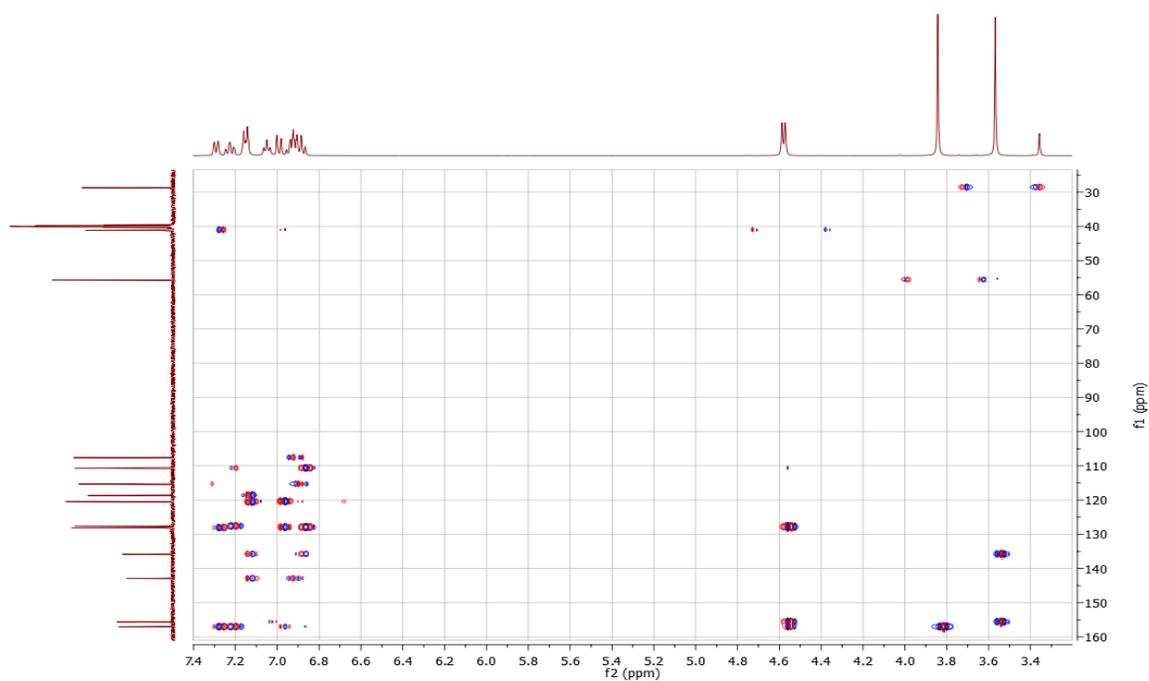
Anexo 4.4. Espectro de RMN ^{13}C del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **33**



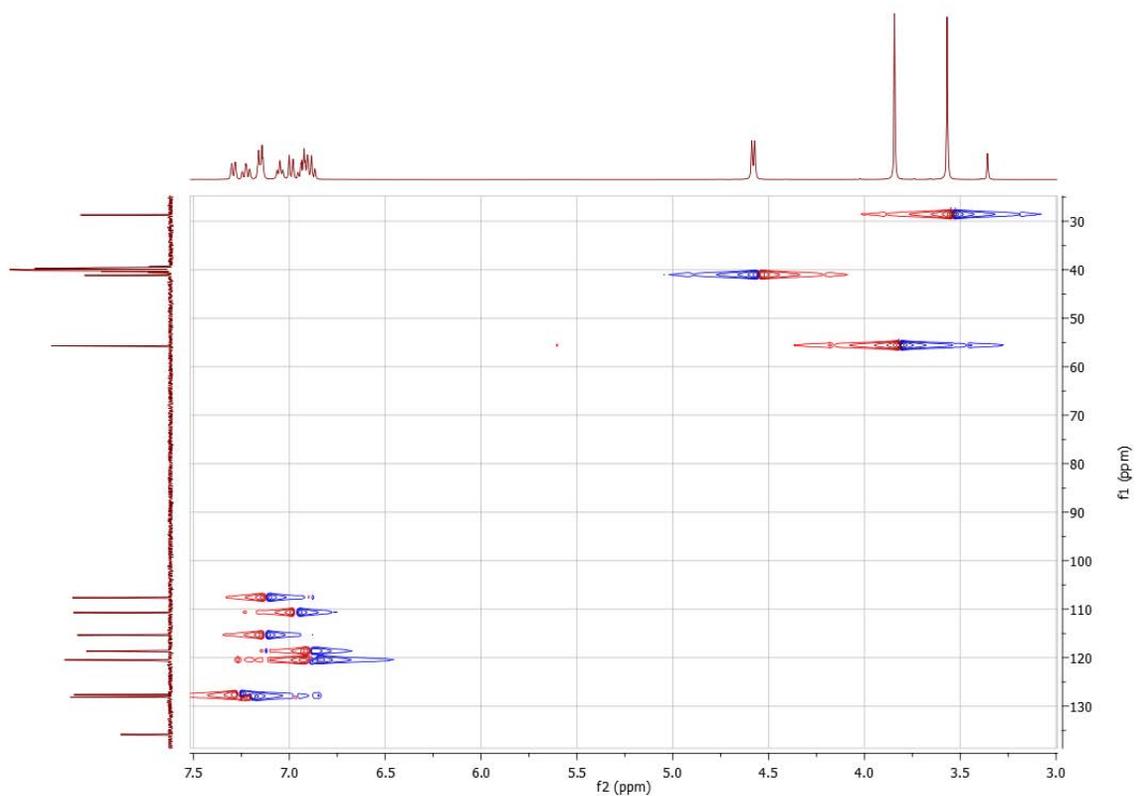
Anexo 4.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **33**



Anexo 4.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **33**

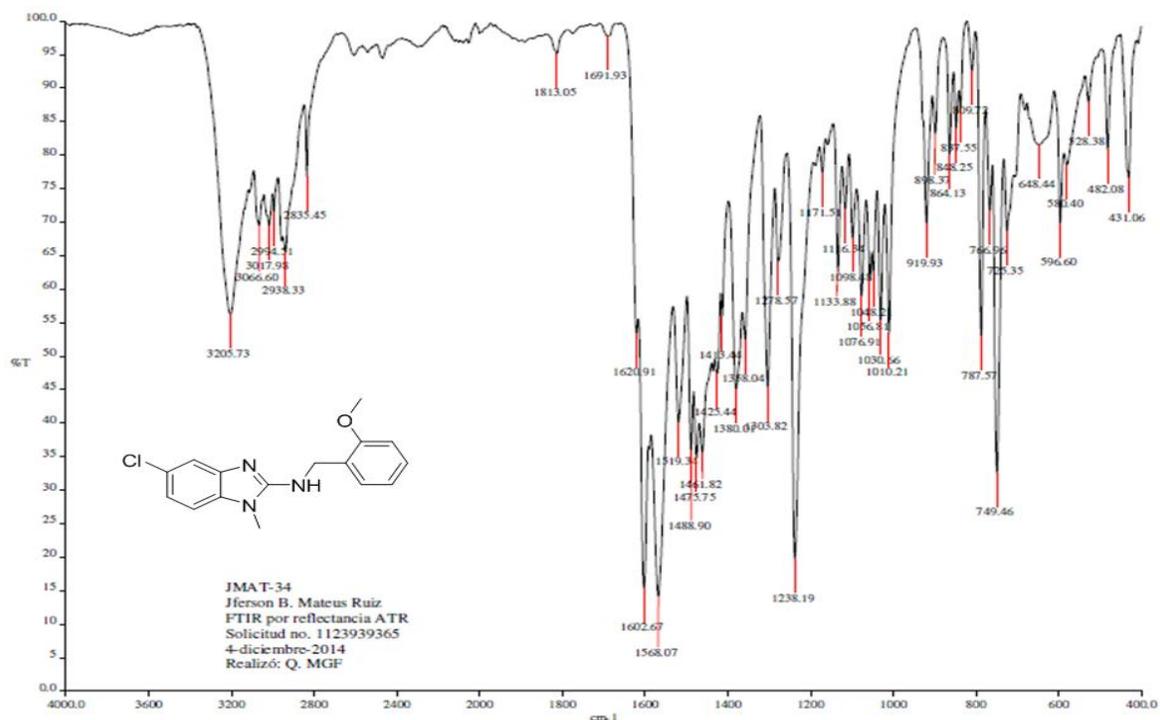


Anexo 4.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 1-Metil-2-(2-metoxibencilamino)-1*H*-bencimidazol **33**

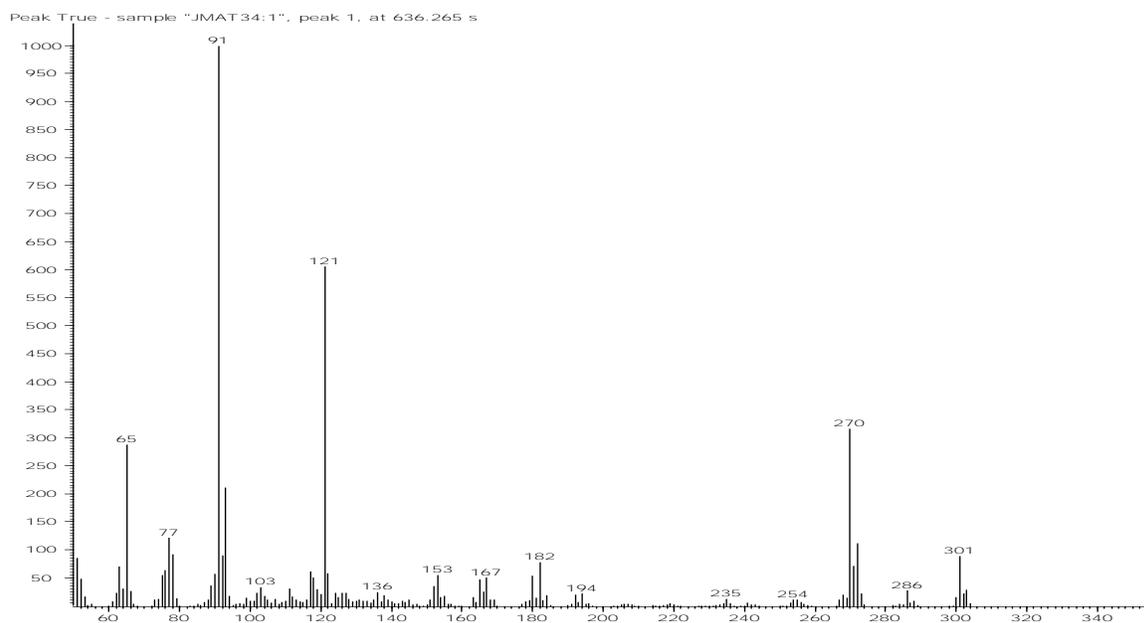


Anexo 5. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, HMBC, HSQC DEL 5-CLORO-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1-METIL-1H-BENCIMIDAZOL 34.

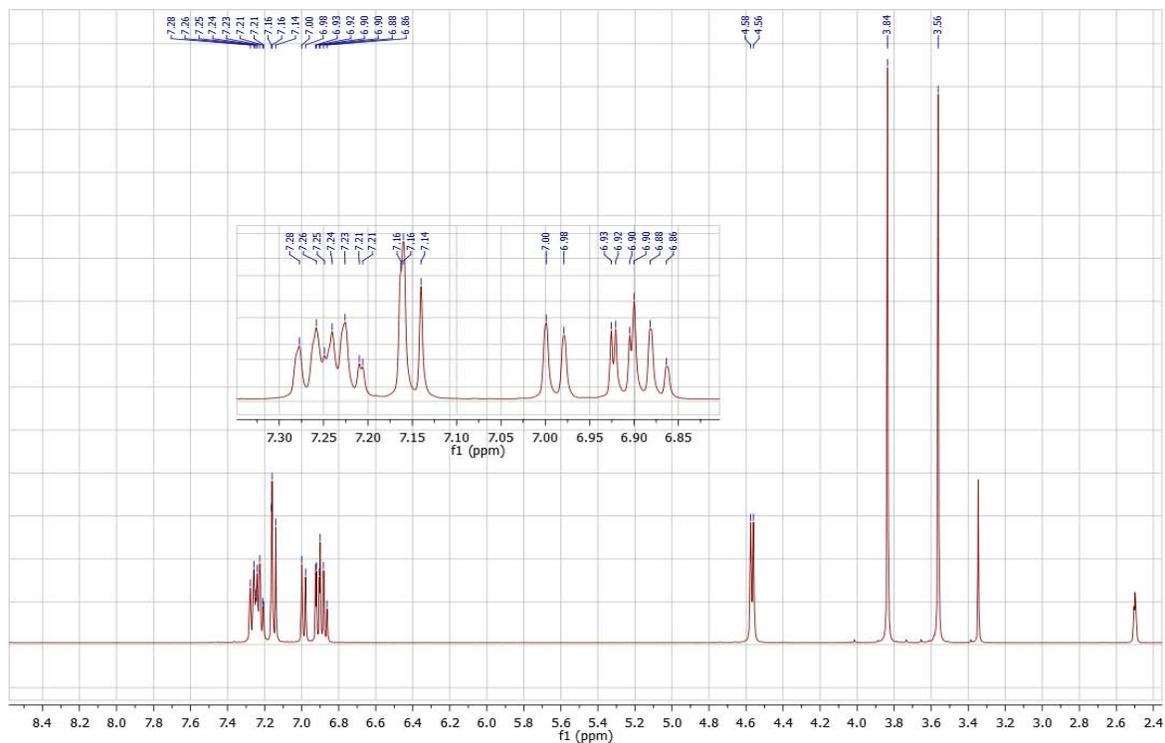
Anexo 5.1. Espectro de IR del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 34



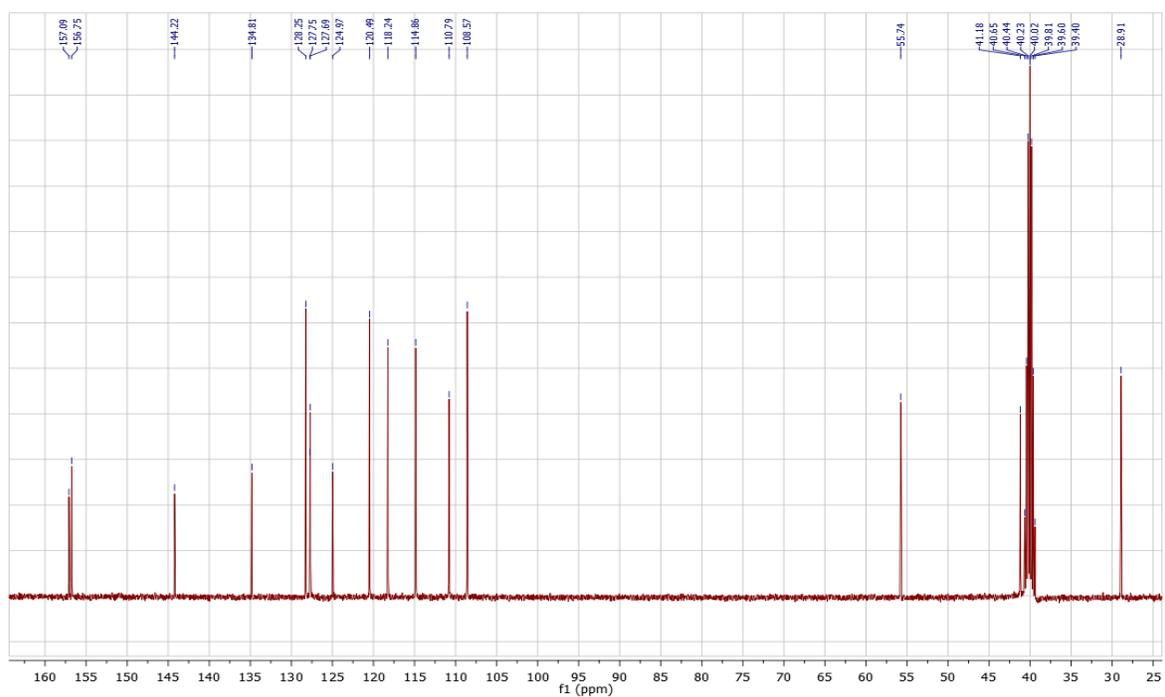
Anexo 5.2. Espectro de MS del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 34



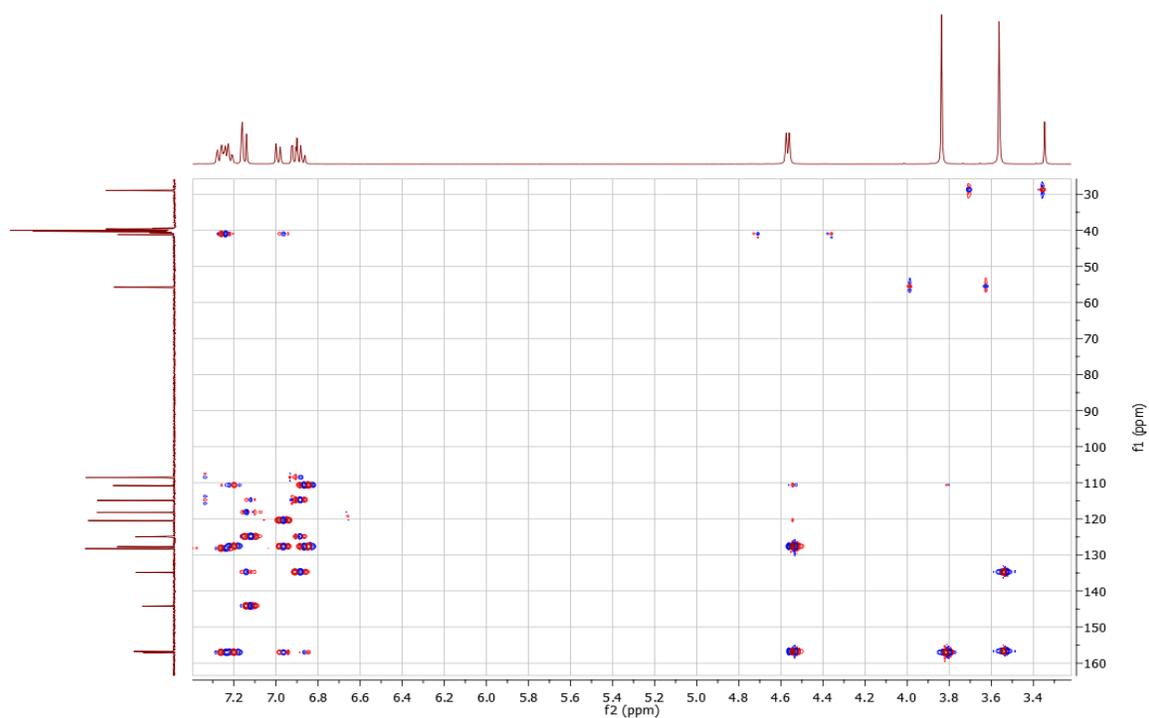
Anexo 5.3. Espectro de RMN ^1H del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **34**



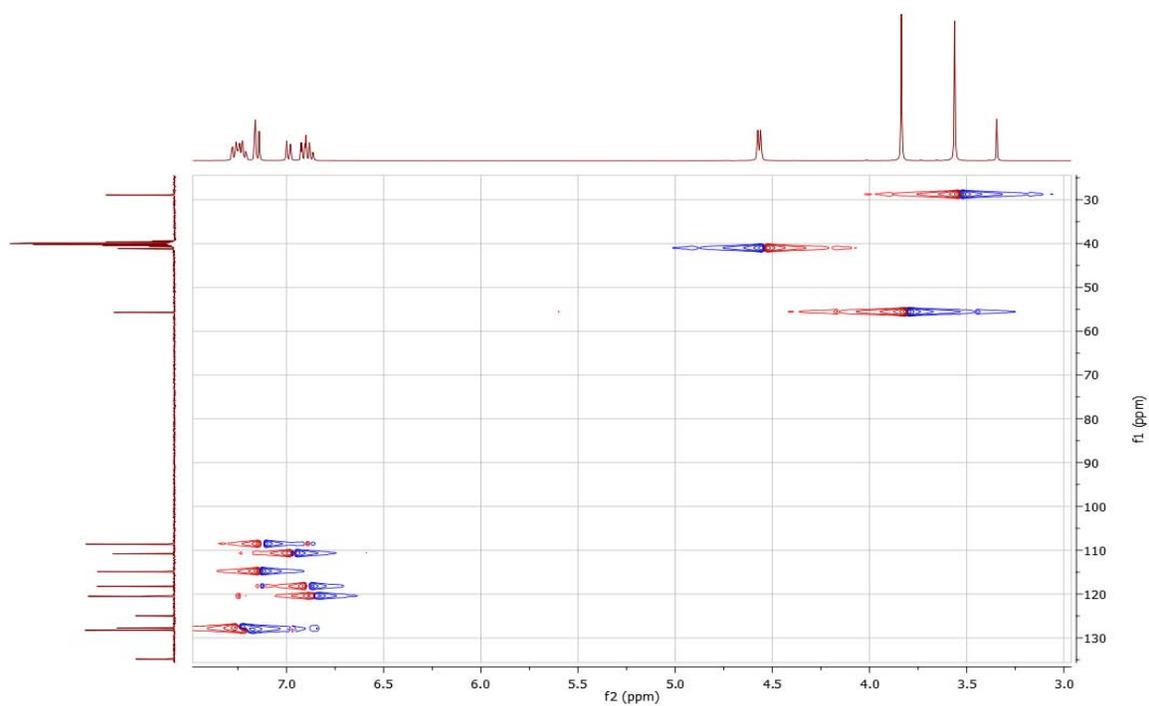
Anexo 5.4. Espectro de RMN ^{13}C del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **34**



Anexo 5.5. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol 34

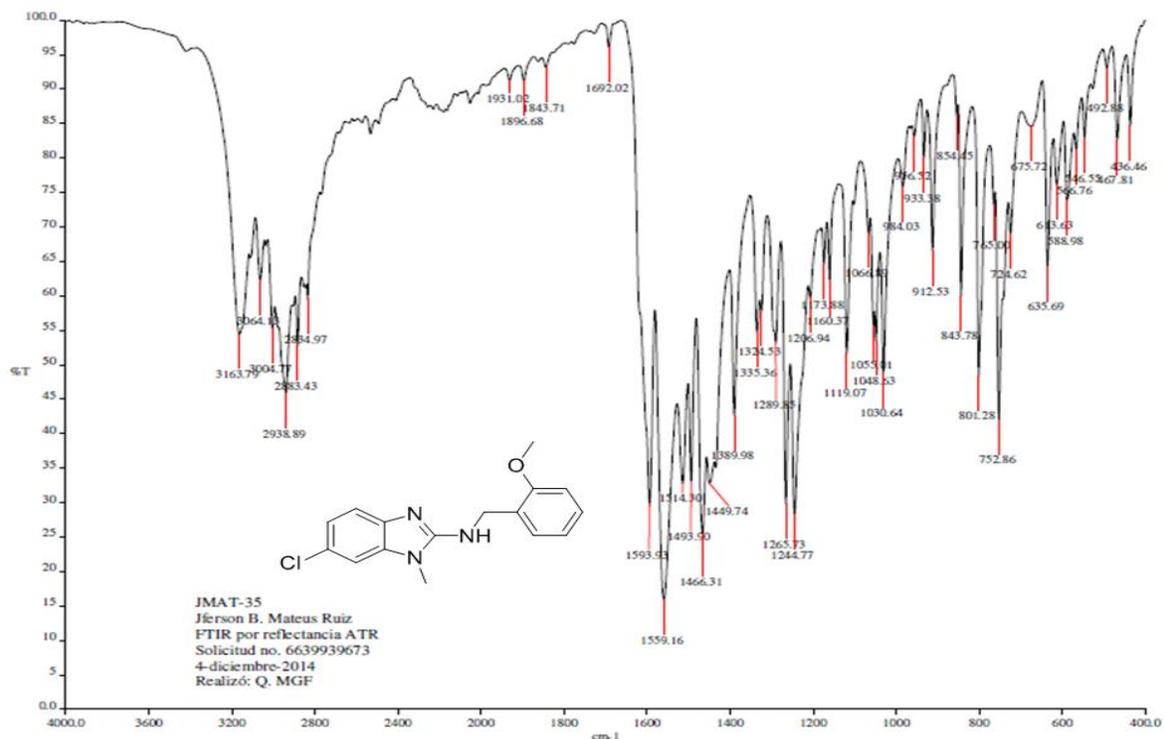


Anexo 5.6. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 5-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol 34

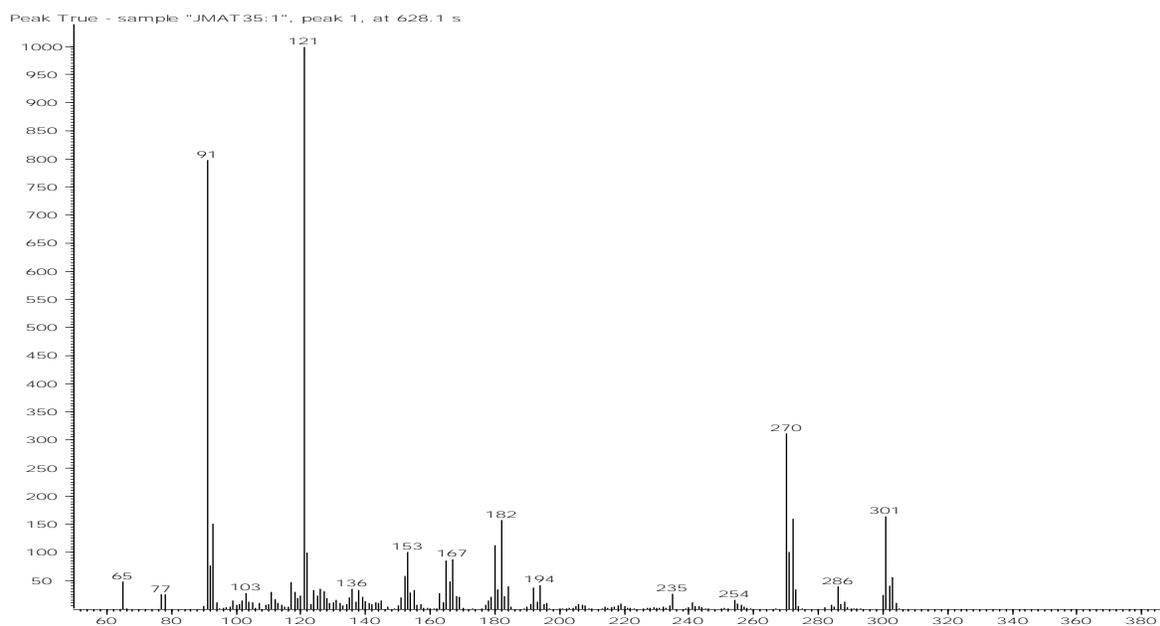


Anexo 6. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC DEL 6-CLORO-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1-METIL-1H-BENCIMIDAZOL 35.

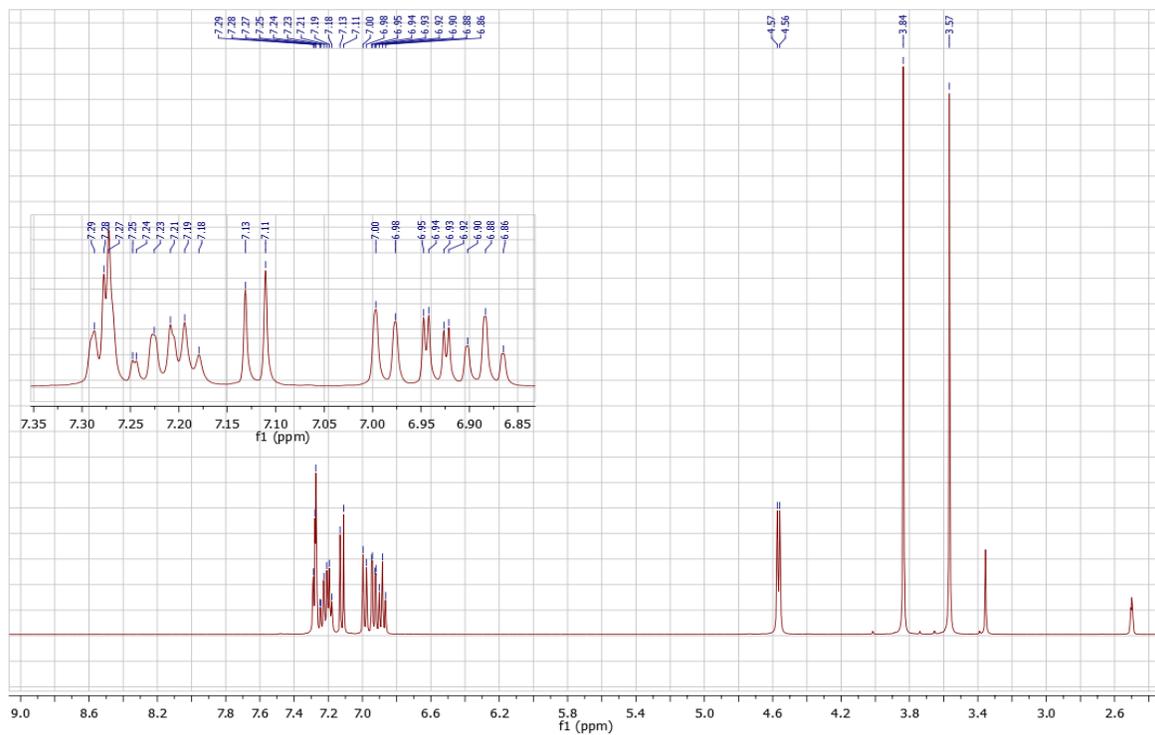
Anexo 6.1. Espectro de IR del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 35



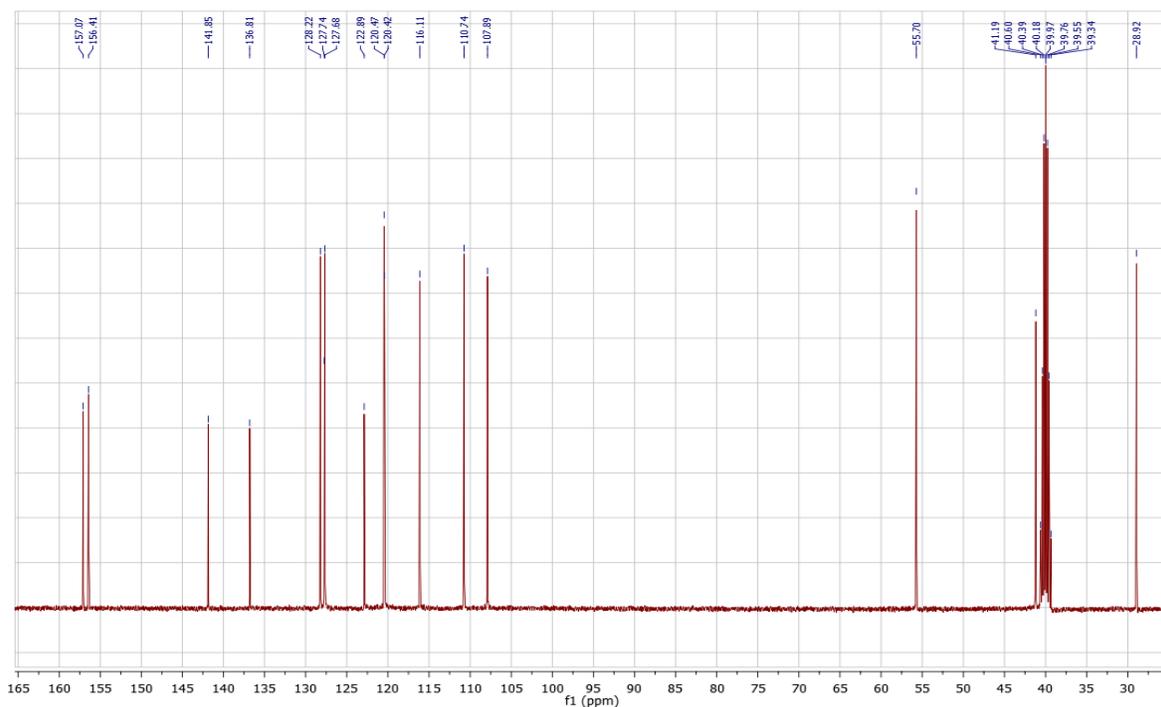
Anexo 6.2. Espectro de MS del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 35



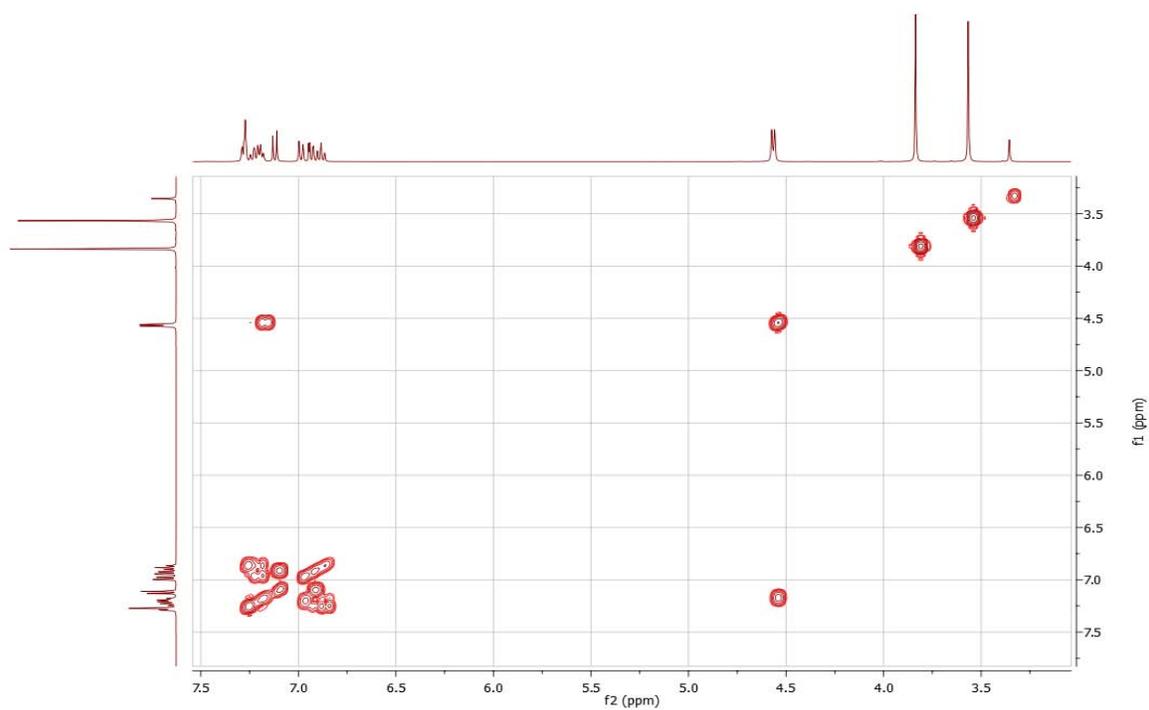
Anexo 6.3. Espectro de RMN ^1H del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **35**



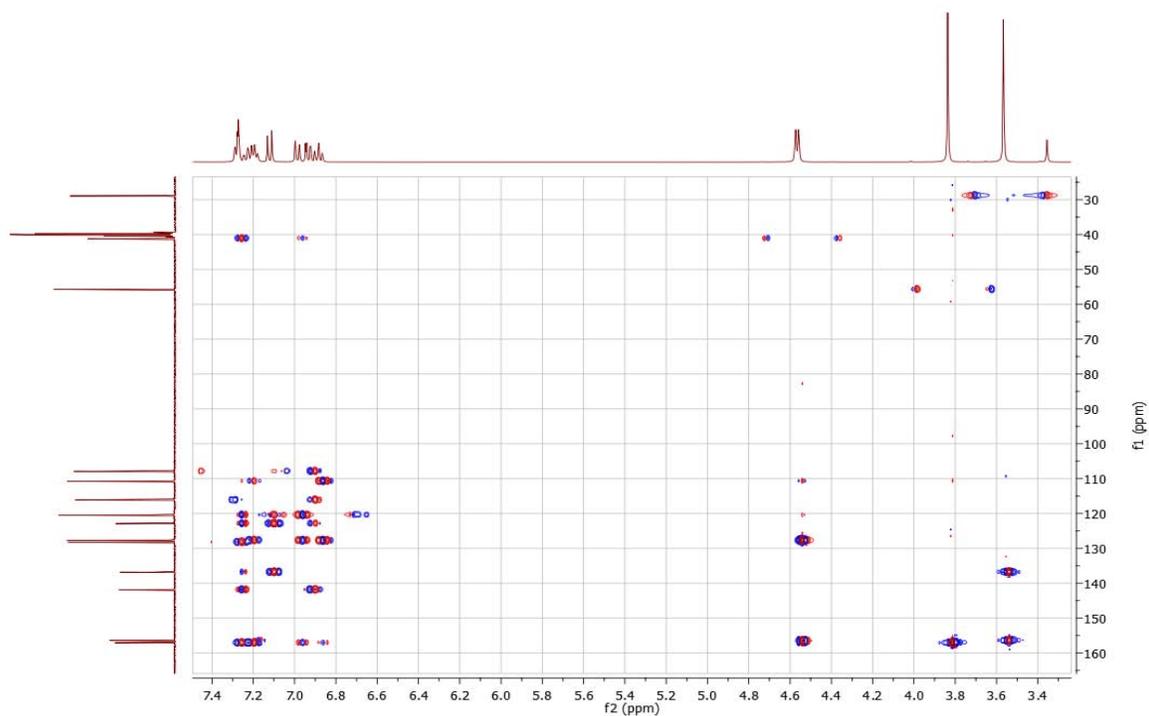
Anexo 6.4. Espectro de RMN ^{13}C del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **35**



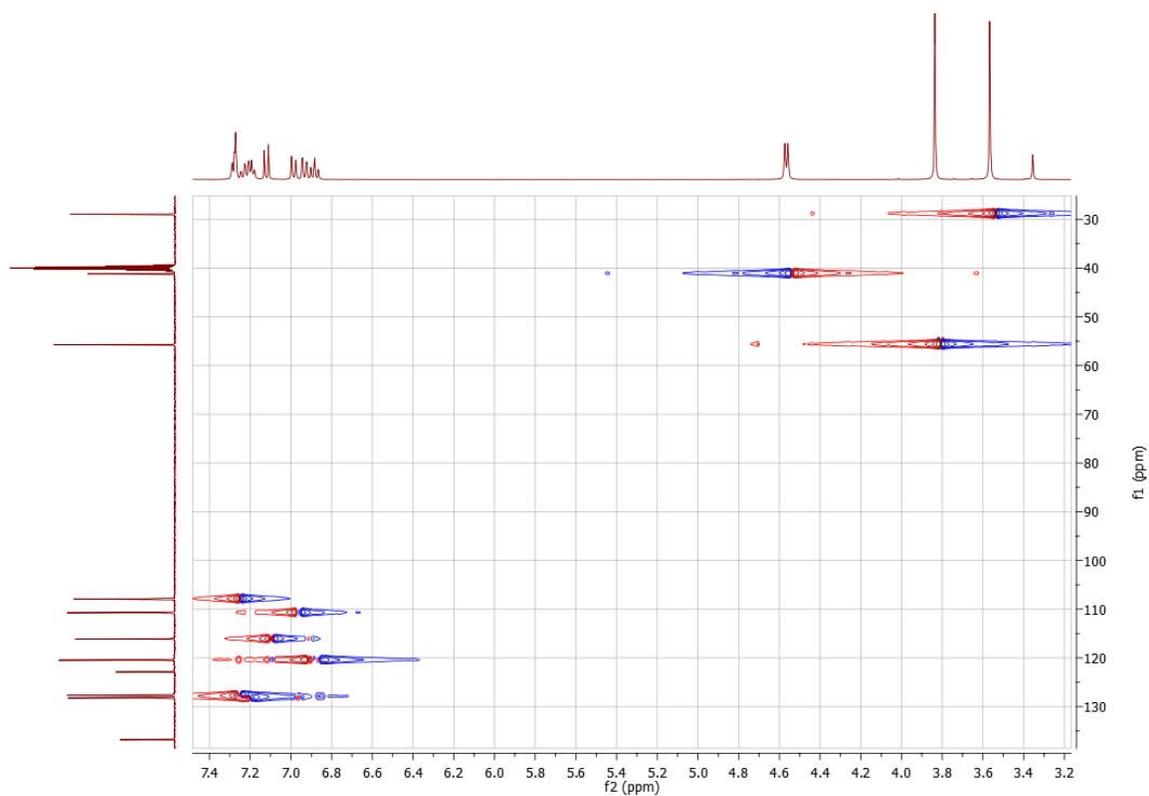
Anexo 6.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **35**



Anexo 6.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **35**

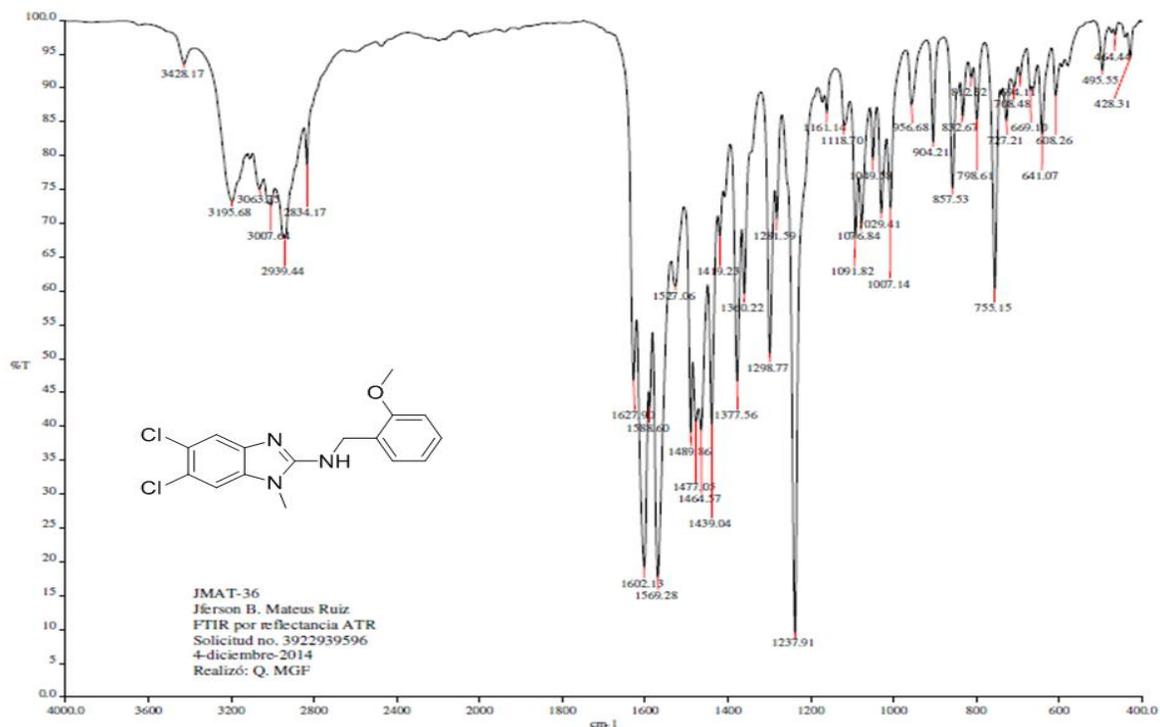


Anexo 6.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 6-Cloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **35**

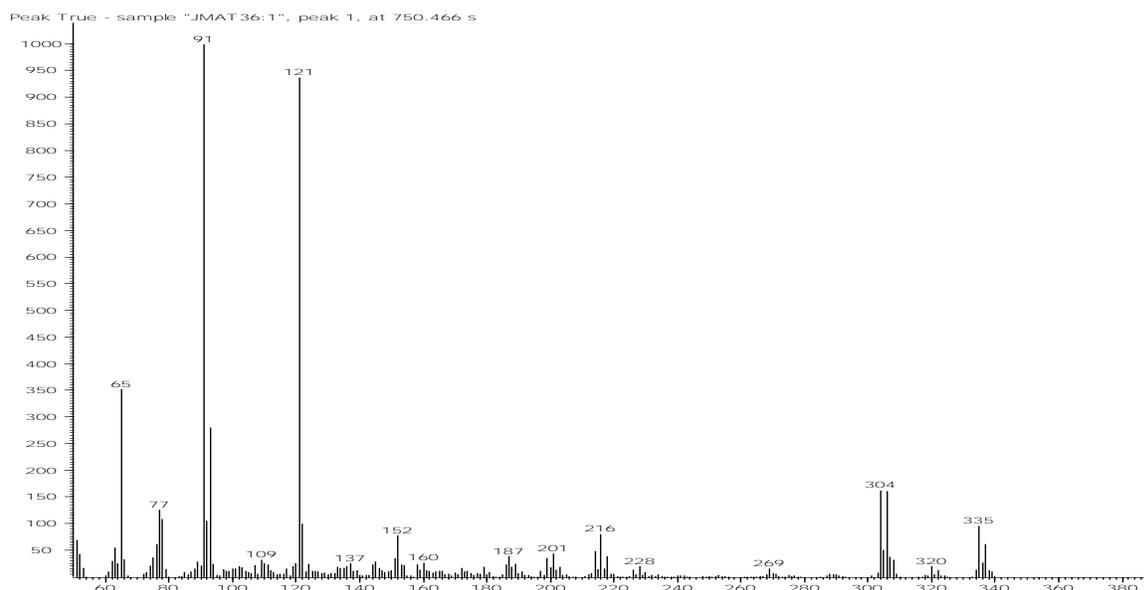


Anexo 7. ESPECTROS IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC DEL 5,6-DICLORO-2-(2-METOXIBENCILAMINO)-1-METIL-1H-BENCIMIDAZOL 36.

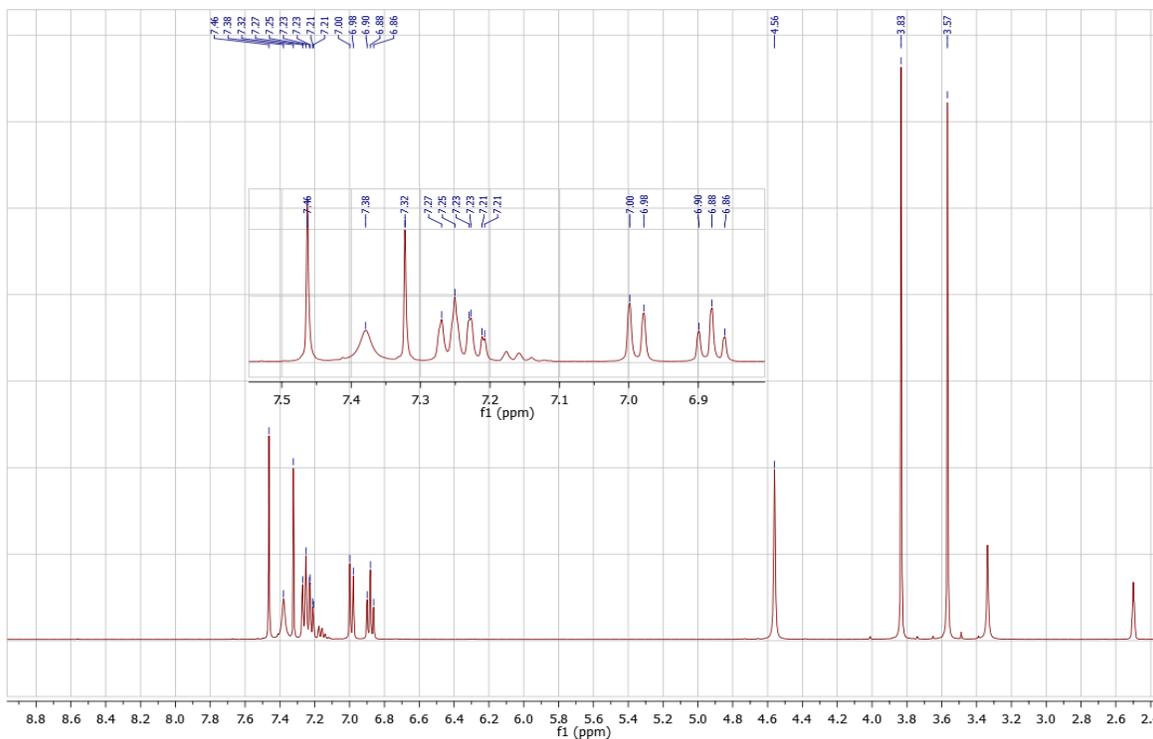
Anexo 7.1. Espectro de IR del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 36



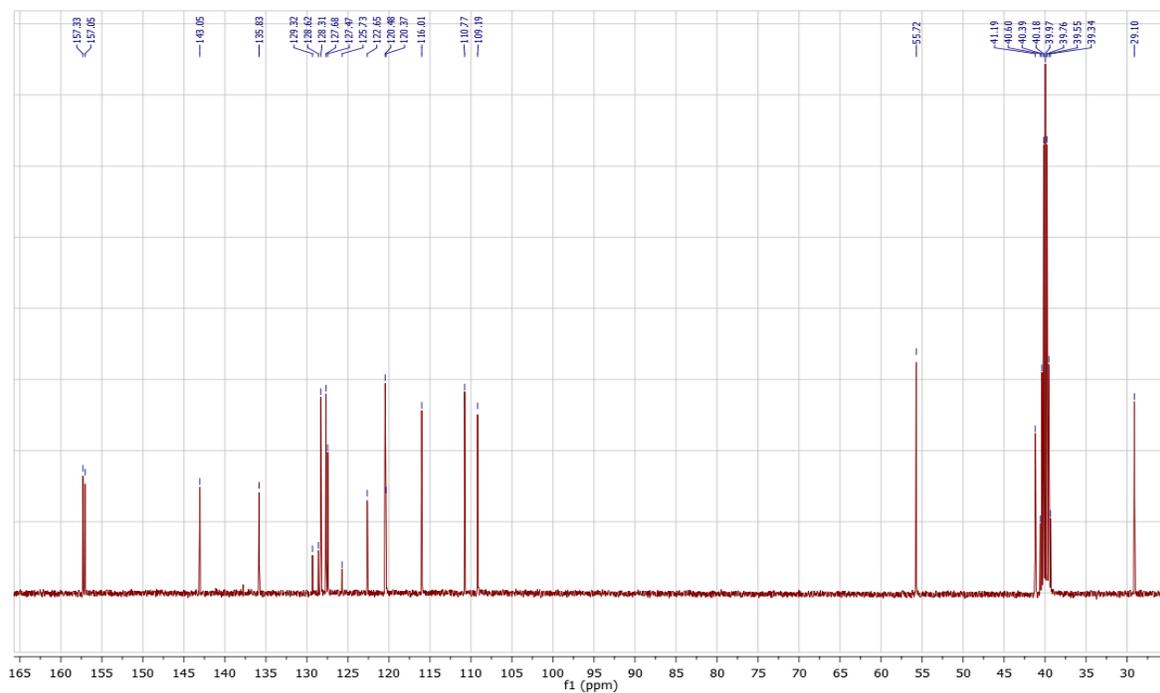
Anexo 7.2. Espectro de MS del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1H-bencimidazol 36



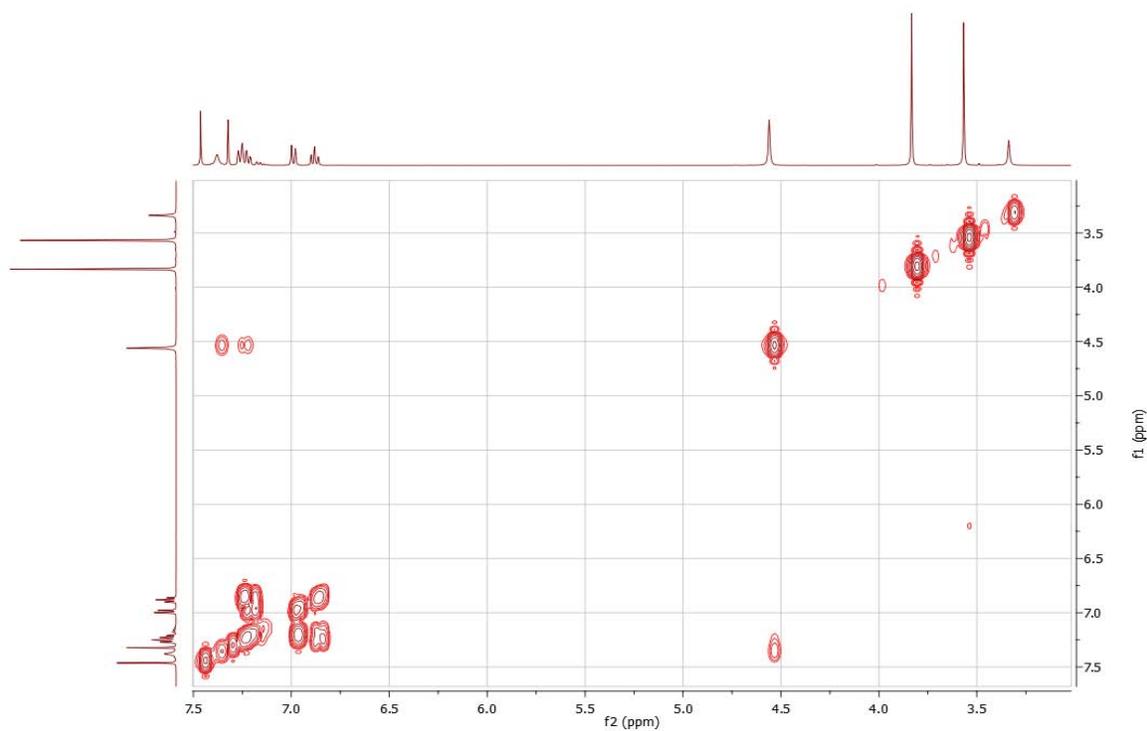
Anexo 7.3. Espectro de RMN ^1H del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **36**



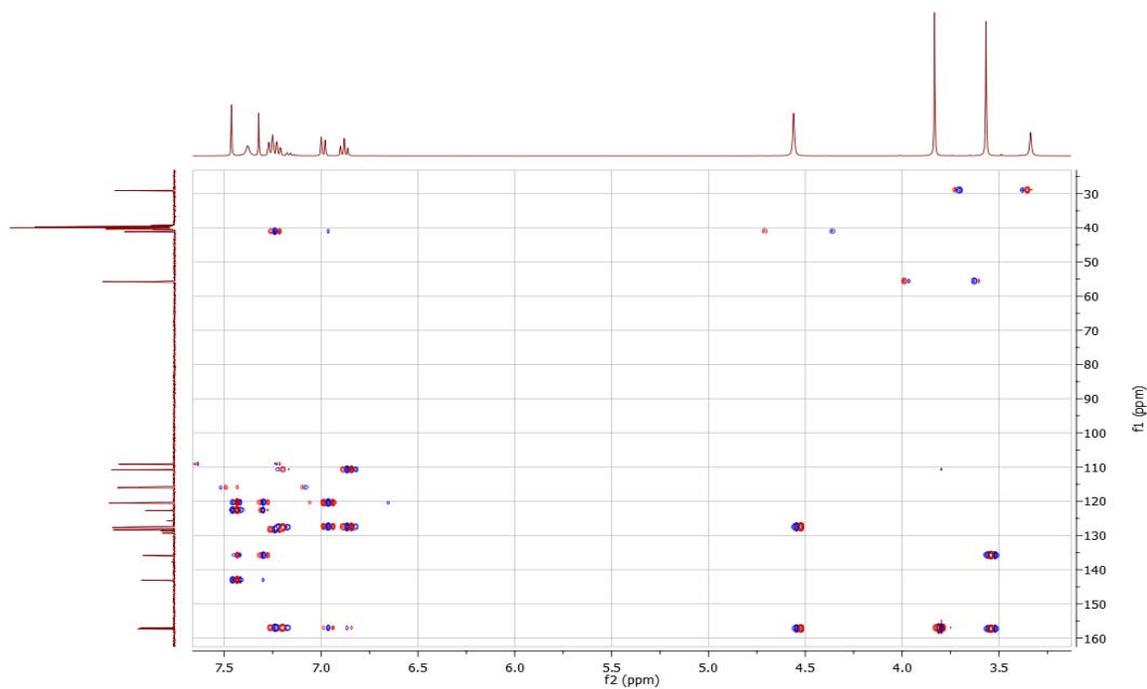
Anexo 7.4. Espectro de RMN ^{13}C del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **36**



Anexo 7.5. Espectro de ^1H - ^1H COSY del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **36**



Anexo 7.6. Espectro de correlación heteronuclear HMBC del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **36**



Anexo 7.7. Espectro de correlación heteronuclear HSQC del 5,6-Dicloro-2-(2-metoxibencilamino)-1-metil-1*H*-bencimidazol **36**

