

# Universidad Nacional Autónoma de México Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas

# "Síntesis y actividad antiprotozoaria de bencimidazoles 1,2,5(6)trisustituidos"

Tesis

Que para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas

Presenta

Q. Francisco Javier Barrera Téllez

Asesor

Dr. Rafael Castillo Bocanegra

Facultad de Química, UNAM, Departamento de Farmacia CD. MX., Diciembre 2019



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

## DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



# Jurado designado

Presidente Vocal Vocal Vocal Secretario M. en C. Blas Flores Pérez Dra. Lilián Yépez Mulia Dr. José Alfredo Vázquez Martínez Dr. Francisco Hernández Luis Dr. Alejandro Cordero Vargas Facultad de Química, UNAM IMSS, Centro Médico Siglo XXI Facultad de Química, UNAM Facultad de Química, UNAM Instituto de Química, UNAM

# Lugar donde se realizó la tesis

El presente trabajo se realizó en el laboratorio L-122, en el departamento de Farmacia del conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Todo lo realizado fue supervisado por el Dr. Rafael Castillo Bocanegra

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación brindada a lo largo de los años en la licenciatura y ahora en la maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) al apoyo otorgado para el proyecto con número 251726 y por la beca otorgada para la realización de este proyecto de tesis y los estudios de maestría, con el número de becario 606046.

Al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, por su guía, asesoramiento, ocurrencias y comentarios hechos durante la realización de esta tesis. También le agradezcó la ayuda brindada en y fuera del proyecto de tesis; en verdad fue muy valiosa y oportuna.

A los miembros del jurado por sus correcciones en estilo, redacción e información. Agradezcó su consejo, ya que enriqueció este trabajo para bien.

A la Dra. María Alicia Hernández Campos, cuyas observaciones en la síntesis, espectroscopía y facilitamiento de intermediarios clave para referenciar el trabajo aquí presentado fueron de gran ayuda. También le agradezcó estar al pendiente de las pruebas biológicas.

Al personal de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación: Marisela Gutiérrez Franco y Margarita Guzmán Villanueva por la espectroscopía infrarroja, a Nayeli López Balbiaux y Rosa Isela del Villar por la determinación de los espectros monodimensionales y bidimensionales de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. También se agradece a Francisco Javier Pérez Flores por facilitar la espectrometría de masas.

A mi familia, cuya paciencia y apoyo a pesar del tiempo de ausencia han sido importantes para lograr este objetivo. Los tengo en mi corazón y ustedes a mí: Alfredo, María, Alfredo, Gabriela, gracias. Esperó que esto sea un ejemplo de superación para cada uno de ustedes, recuerden: nada esta tan lejos como lo es realmente, sino lo que creemos que esta.

A mis compañeros del L-121 de FES-Cuautitlán Campo 1, cuya ayuda en los momentos más difíciles de mi vida han sido de gran bendición para mí existir. Gracias por los momentos amenos, pero también los difíciles. Gracias por sus consejos y sus risas, pero también por sus disgustos. Paul, Thali, Lessly, Jessica, Ángeles, Alejandro, mil gracias por dejarme ser parte de sus vidas; al igual que mi familia los tengo en mi corazón. Gracias por su apoyo en lo que respecta a la edición y correcciones de este texto, especialmente a Jessica.

A mis compañeros de laboratorio Peter, Miguel, Elkin, José Luis, Jorge, Diana, Sebastián, David, Nayeli, Lucy, Ángel, Cristian, Daniela, Mara. Agradezco especialmente a Peter por la guía inicial para el uso de los programas computacionales, a Miguel por la ayuda brindada durante labores de mantenimiento en el L-121, a Elkin por sus comentarios sobre cómputo y supercómputo, a José Luis por los consejos con respecto a la síntesis y a Jorge y Diana por la capacitación en cómputo, RMN y farmacología general.

A la Dra. Lilián Yépez y su grupo por llevar a cabo las pruebas biológicas durante la escritura de este texto.

Al Dr. Antonio Romo por sus consejos de docking y al Dr. Alfonso Lira por aconsejarme consultar a Antonio, a Frida por el tiempo prestado para asesorarme en computó, en el uso del microondas químico y por su amistad y a Fernando, quien me ayudará en conceptos y aplicación de cómputo en farmacia para postularme al doctorado, eres un master y te agradezco tu tiempo.

Finalmente y, el más importante: **Todá Rabá Hashem**, **Abbá Tsevaoth**. De tu mano recibó esto, no por lo que pudiera ser o por quién soy, sino porqué te nació dármelo. Que los pueblos te reconozcan como el **Ejad** que eres y tu **Shem** sea mencionado en toda la **Eretz**, tanto de los **Goyim** como de **Yisrael**. Que tus Caminos sean mis caminos.

Abreviaturas	3
1 Introducción	4
2 Antecedentes	5
2.1. Tripanosomiasis americana	5
2.1.1. Generalidades	5
2.1.1.1. Agente etiológico.	6
2.1.1.1.1. Morfología del parásito	6
2.1.1.2. Ciclo biológico de <i>T. cruzi</i>	7
2 1 1 1 3 Desarrollo y sintomatología de la enfermedad	8
2.1.2. Fórmaços trinanocidas	0
2.1.2.1 armatos urpanocidas	0
2.1.2.1. Multimox y Denzindazoi	7
2.2 Leichmaniasis	11
2.2.1 Consentidades	11
	11
2.2.1.1. Agence ethologica	12
2.2.1.1.1. Mortologia del parasito.	13
2.2.1.1.2. Ciclo biológico de la leishmaniasis	13
2.2.1.1.3. Desarrollo y sintomatología de la enfermedad	14
2.2.2. Fármacos leishmanicidas	15
2.2.2.1. Fármacos principales	15
2.3. Arginasa	18
2.3.1. Generalidades	18
2.3.1.1 Función y estructura	18
2.4. Acoplamiento molecular ( <i>docking</i> )	22
2.4.1. Generalidades.	22
2.4.2 Concepto v fundamento	22
2.5 Bencimidazoles	25
2.5.1 Generalidades	25
2.5.1. Usos de los hencimidazoles	25
2.5.1.1. Usos de los benefinidazores.	20
	29
2.5.1.2.1. A partir de 1,2-diaminoarenos	29
	20
5 Flanteamiento del problema	30
1 Hinótosis	30
4 Inpotesis	50
5 Objetivos	30
5 1. Objetivos comentas	20
5.2. Objetivos generales	20
5.2. Objetivos particulares	30
6 Metadología experimental	21
6 1. Sintagia gyimiga	21
0.1.  Since six quinica	31
6.1.1. Secuencia de sintesis para la preparación del intermediario 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol y sus derivados	<i>.</i> .
S(6)-carboxamida	31
6.1.2. Secuencia de síntesis para la preparación del 2-metoxi-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida, N-(2-	
metoxibencil)-2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol y sus derivados 5(6)-carboxamida	33

# Índice

4IU5, SILD,	<ul><li>6.2. Acoplamiento molecular (<i>docking</i>)</li><li>6.2.1. Preparación de la proteína arginasa de L. mexicana con diversos inhibidores (claves PDB 4IU0, 4IU1, 4IU4,</li></ul>	36
6.2.2. Preparación de los ligantes. 37   6.2.3. Obtención y recopilación de datos. 37   6.3. Evaluación biológica. 37   7 Análisis de la sección química. 38   7.1. Análisis de la sección química. 38   7.1. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. N. Metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1.2. M-instilbenceno-1.2-diamina (36). 74   10.1.3. Z-amánio-1-metil-1/H-bencimidazol (37). 74   10.1.4. 2-metoxi-N(1-metil-1H-bencimidazol (37). 74   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol (37). 75   10.1.6. N-(2-metoxi-N(1-metil-1H-bencimidazol (37). 75   10.1.7. 3-metoxi-A-futrobenzoato de metil (40). 75   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoato (40). 76   10.1.9. A-(cido 3-metoxi-4-nitrobenzoatida (42). 78   10.1.1.1.1.14-bencimidazol-2-ei-to-carboxamida (44). 79   10.1.1.2amino-3-metil-14-bencimidazol-6-carboxamida (41). 79   10.1.1.8. Ácido 4-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 70   10.1.1.8. Acido 4-(metilamino)-5-nitrobenzamida (42). <td>4IU5, 5HJ9, 5HJA)</td> <td>36</td>	4IU5, 5HJ9, 5HJA)	36
6.2.3. Obtención y recopilación de datos. 37   6.3. Evaluación biológica. 37   7 Análisis de resultados. 38   7.1. Análisis de la sección computacional. 38   8 Conclusiones. 38   9 Perspectivas. 70   9 Perspectivas. 71   10.1. No-metil-2-nitrocomlina (35). 72   10.1.1. No-metil-2-nitrocomlina (35). 72   10.1.2. M-metilbenceno-1,2-diamina (36). 74   10.1.3. Z-amino-1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 74   10.1.4.2metoxiN-CI-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (C)-NCI-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.4.2metoxiN-CI-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (C)-NCI-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 76   10.1.4.2metoxiN-CI-metil-1H/-bencimidazol (24). 76   10.1.5. (C)-NCI-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (40). 76   10.1.8. Acido 3-metolamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.9. Acido 3-metolamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.1.1.1.4.2-metoxi-4-nitrobenzamida (43). 79   10.1.1.2. 2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2).	6.2.2. Preparación de los ligantes	37
6.3. Evaluación biológica. 37   7 Análisis de resultados. 38   7.1. Análisis de la sección química. 38   7.2. Análisis de la sección química. 38   7.2. Análisis de la sección química. 38   7.2. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. Sintesis química. 73   10.1. Sintesis química. 73   10.1. S. Artesis química. 73   10.1. 3. destino 1-metti 1-H-bencimidazol (37). 74   10.1. 4metti-2-nitroanilina (36). 74   10.1. 3eminion 1-metti 1-H-bencimidazol (37). 74   10.1. 4emetoxi-V-(1-metti-1-H-bencimidazol (37). 74   10.1. 5. (L7)-V-(1-metti-1-H-bencimidazol (37). 74   10.1. 6. N-(2-metoxibencii)-2-amino-1-metti-1-H-bencimidazol (8A). 75   10.1. 7W-(1-metti-1-H-bencimidazol (39). 75   10.1. 8. Acida 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1. 8. Acida 3-metoxi-4-nitrobenzoato (40). 77   10.1. 8. Acida 3-mettilamino)-4-mitrobenzoato (40). 77   10.1. 11. 4mettil-1-H-	6.2.3. Obtención y recopilación de datos	37
6.3. Evaluación biológica. 37   7 Análisis de resultados. 38   7.1. Análisis de la sección química. 38   7.2. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1. 2. N <sup>*</sup> metilbenceno-1,2-diamina (36). 73   10.1. 2. A <sup>*</sup> metilbenceno-1,2-diamina (36). 74   10.1. 3metil-1/H-bencimidazol (37). 74   10.1. 4metil-1/H-bencimidazol (37). 74   10.1. 2. A <sup>*</sup> metilbenceno-1,2-diamina (36). 75   10.1. 3metil-1/H-bencimidazol (37). 74   10.1. 4. 2-metoxi-Nc1-metil-1/H-bencimidazol (37). 75   10.1. 5. (E)-N <sup>*</sup> (1-metil-1/H-bencimidazol (37). 75   10.1. 6. A <sup>*</sup> (2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1/H-bencimidazol (8A). 75   10.1. 7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1. 7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato (40). 76   10.1. 8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoato (41). 76   10.1. 9. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoato (41). 78   10.1. 10. 3-(metilamino)-9-anitobenzoico (41). 79		
7 Análisis de resultados. 38   7.1. Análisis de la sección química. 38   7.2. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1.2. M <sup>1</sup> metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol (37). 74   10.1.3. 2-amino-1-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol-2-31)-1/2-metoxifeni1)metanimina (50). 74   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol-2-31)-1/2-metoxifeni1)metanimina (50). 75   10.1.6. N-Q-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol (8A). 75   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 77   10.1.9. 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.10.4. (metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 78   10.1.11.4. 4-mino-3-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.12. 2-metoxibencil)amino]-1-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.13. (C)-N-(1-metil-1/L <sup>1</sup> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.14. 2-(12-metoxibencil)amino]-1-met	6.3. Evaluación biológica	37
7.1. Análisis de l'escicio química. 36   7.1. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (36). 73   10.1. 2. M'-metil-encon-1.2-diamina (36). 74   10.1. 3. 2-mino-1-metil-1H/-bencimidazol (37). 74   10.1. 4. 2-metoxi-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1. 5. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)metanimina (50). 75   10.1. 6. A-(2-metoxibenci)2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol (8A). 75   10.1. 7. 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 77   10.1. 8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1. 9. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (41). 78   10.1.1. 4-amino-3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 78   10.1.1.1. 4-metil-11/-bencimidazol-6-carboxamida (43). 79   10.1.1.2. zamino-1-metil-11/-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.1.1.4-amino-3-nitrobenzamida (43). 79   10.1.1.2. (2-metoxibenci])amino]-1-metil-11/-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3).	7 Análisis do resultados	20
7.1. Analisis de la sección computacional. 58   7.2. Análisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1. N-Metil-2-nitroanilina (36). 74   10.1. S. (jN./-(1-metil-1H-bencimidazol (37). 74   10.1. S. (jN./-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxiflenil)metanimina (50). 75   10.1.6. N-(2-metoxi-N-(1-metil-1H-bencimidazol (39). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 76   10.1.8. Acido 3-metoxi 4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.9. Acido 3-metoxi 4-nitrobenzamica (42). 76   10.1.1.1.4 -amino-3-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.1.2. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida (44). 79   10.1.1.2. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.1.1.2. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.1.2. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.1.2.	7 Analisis de resultados	20
7.2. Analisis de la sección computacional. 60   8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. N-metil-2-nitroanilna (35). 73   10.1.2. N <sup>4</sup> -metilbenceno-1.2-diamina (36). 74   10.1.3.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-1i)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-1i)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 75   10.1.7.3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 76   10.1.8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.10.3 (metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (42). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.14. 2:1(-uentoxibencil)amino)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.14. 2:1(-uentoxibenci)amino)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3).	7.1. Analisis de la sección química.	38
8 Conclusiones. 70   9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. N.*metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1. 2. ^1-metil-2-nitroanilina (35). 73   10.1. 4. 2-metoxi-Nc1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 74   10.1. 3. 2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1. 5. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1. 7. 3-metixibenci)-2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol (30). 75   10.1. 8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1. 8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1. 9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoatico (41). 77   10.1. 9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoatico (41). 77   10.1. 10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzoatico (41). 78   10.1.1.1. 4-amino-3-(metilamino)-2-nitrobenzamida (42). 78   10.1.1.1. 4-amino-3-(metilamino)-1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.1.3. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.1.3. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.1.3. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida)-1	7.2. Analisis de la sección computacional	60
9 Perspectivas. 71   10 Procedimientos experimentales. 72   10.1. Sintesis química. 72   10.1. Sintesis química. 73   10.1.2. N'-metil-Benceno-1,2-diamina (36). 74   10.1.3. 2-amino-1-metil-1/H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 74   10.1.4.2-metoxi-N-(1-metil-1/H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1/H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1/H-bencimidazol (8A). 75   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzamida (42). 77   10.1.9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11.4-amino-3-(metilamino)-benzamida (42). 78   10.1.12.2-amino-1-metil-1/H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1/H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.14.2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1/H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.13.4cido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.14.2-[2-metoxibencil)amino]-1-metil-1/H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.15.2-(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1/H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-4). 82   1	8 Conclusiones	70
10 Procedimientos experimentales 72   10.1. Síntesis química 72   10.1. N-metil-2-nitroanilina (35) 73   10.1.2. M'-metilbenceno-1,2-diamina (36) 74   10.1.3. 2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol (37) 74   10.1.4. 2-metoxi-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1) 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1) 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol (8A) 75   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39) 76   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40) 77   10.1.9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41) 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42) 78   10.1.10.3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (43) 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (44) 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (44) 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2) 80   10.1.14. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2) 80   10.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H/-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3) 81   10.1.14. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47) 82   10.1.15. 2-(2-metoxibenza	9 Perspectivas	71
10.1. Sintesis química. 72   10.1.1. N-metil-2-nitroanilma (35). 73   10.1.2. N'-metil>encimidazol (37). 74   10.1.3.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 74   10.1.4.2-metil>I-H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 75   10.1.7.3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoicia (42). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzomida (43). 79   10.1.10.3-(metilamino)-4-nitrobenzomida (42). 78   10.1.11.4-amino-3-(metilamino)benzamida (42). 78   10.1.12.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil)-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13.2-(2-metoxibenzil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.13.4.4.(metilamino)-3-nitrobenzoamida (47). 82   10.1.15.2-(2-metoxibenzil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.10.3-(metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 82   10.1	10 Procedimientos experimentales	72
10. 1.1. N-metil-2-nitroanilina (35)	10.1 Síntesis auímica	72
10.1.2. N <sup>4</sup> -metilbenceno-1,2-diamina (36)	10.1.1 N-metil-2-nitroanilina (35)	73
10.1.3. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (37). 74   10.1.3. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)metanimina (50). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 76   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43). 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.14. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.16. Acido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)-5-carboxamida (49). 83   10.1.19. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2. 2-1(-enetoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5). <td>10.12 N<sup>1</sup>-metilbenceno-1 2-diamina (36)</td> <td>74</td>	10.12 N <sup>1</sup> -metilbenceno-1 2-diamina (36)	74
10.1.4. 2-metoxi-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1). 75   10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)metanimina (50). 75   10.1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 75   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoato (40). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.0.3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11.4-amino-3-(metilamino)benzamida (43). 79   10.1.12.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-2-i-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.14. 2-(12-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.17.4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (48). 83   10.1.19.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2.2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2.2-2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2.2.2-2-(2-metoxibenzin)anino)-1-metil-1	10.1.2.7 methodicento 1,2 dialimita (00). 10.1.2.7 amino-1-metil-1 <i>H</i> -hencimidazol (37)	7/
10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifeni])metanimina (50). 75   10.1.6. N-(2-metoxibenci])-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 75   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoato (40). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoati (41). 77   10.1.0. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43). 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifeni])metanimina (51). 80   10.1.14. 2-[2-metoxibenci])amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibenci])amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10.1.2. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 83   10.1.2. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimida	10.1.4 2-metoxi-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FIBT-1)	75
10. 1.6. N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A). 75   10. 1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10. 1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40). 77   10. 1.9. Ácido 3 (metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10. 1.0. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10. 1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (42). 78   10. 1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10. 1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10. 1.14. 2-[(2-metoxibencil))amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10. 1.15. 2-(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10. 1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10. 1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10. 1.18. 3-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 82   10. 1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10. 1.19. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10. 1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10. 1.21. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52). 85   10. 1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1	10.1.5 (F)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metovifenil)metanimina (50)	75
10.1.7. 3-metoxio-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39). 76   10.1.8. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41). 77   10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 77   10.1.10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43). 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.14. 4-amino)-3-nitrobenzamida (47). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibencil)amino)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10.1.2. 2-ametoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (49). 83   10.1.2. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida (49). 83   10.1.2. 2-2(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.2. 2. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5). 85   11.18. 3-amino-4-(metilamino)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5). 8	10.1.6 N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol ( <b>8</b> A)	75
10.1.8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40).7710.1.8. Acido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (41).7710.1.9. Acido 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42).7710.1.10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (43).7810.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43).7910.1.12. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44).7910.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51).8010.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51).8010.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2).8010.1.15. Acido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46).8210.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (47).8210.1.19. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8310.1.2. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8410.1.2. 2-(1-metix)-1H-bencimidazol-2-i-1-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52).8510.1.2. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5).8511.2. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5).8511.2. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5).8511.11.11.11.11.11.11.11.11.11.11.11.11.	10.1.7.3-metoxi-4-nitrohenzoato de metilo ( <b>39</b> )	76
10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41).7710.1.0.3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42).7810.1.11.4-amino-3-(metilamino)benzamida (43).7910.1.12.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44).7910.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51).8010.1.14.2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2).8010.1.15.2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3).8110.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47).8210.1.17.4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47).8210.1.19.2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8310.1.20.2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8310.1.20.2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8410.1.21. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8410.1.21. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5).8511 Bibliografía86Anexos.90Anexos 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM).90	10.1.8 Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico ( <b>40</b> )	77
10.1.10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42). 78   10.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43). 79   10.1.12. 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.14. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10.1.19. 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 83   10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.21. (E)-N-(1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.21. (E)-N-(1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-5-carboxamida (FJBT-5). 85   11 Bibliografía 86   Anexos 90   Anexos 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM) 90	10.1.9 Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41)	77
10.1.10.5 (initiation)11.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1.1	$10 \ 1 \ 10 \ 3$ -(metilamino)-4-nitrobenzamida (42)	78
10.1.12. 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (44). 79   10.1.13. (E)-N-(1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51). 80   10.1.14. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2). 80   10.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3). 81   10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 83   10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.21. (E)-N-(1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52). 85   10.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5). 85   11 Bibliografía. 86   Anexos. 90   Anexos 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y 90	10 1 11 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43)	79
10.1.12. $(2 - N - (1 - metil - 1H - bencimidazol - 2 - il - 6 - carboxamida) - 1 - (2 - metoxifenil)metanimina (51).8010.1.13.(E) - N - (1 - metil - 1H - bencimidazol - 2 - il - 6 - carboxamida) - 1 - (2 - metoxifenil)metanimina (51).8010.1.14.2 - [(2 - metoxibencil)amino] - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 6 - carboxamida (FJBT - 2).8010.1.15.2 - (2 - metoxibenzamida) - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 6 - carboxamida (FJBT - 3).8110.1.16.Ácido 4 - (metilamino) - 3 - nitrobenzoico (46).8210.1.17.4 - (metilamino) - 3 - nitrobenzamida (47).8210.1.18.3 - amino - 4 - (metilamino) benzamida (48).8310.1.20.2 - (2 - metoxibenzamida) - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 5 - carboxamida (FJBT - 4).8410.1.21.(E) - N - (1 - metil - 1H - bencimidazol - 2 - il - 5 - carboxamida) - 1 - (2 - metoxifenil)metanimina (52).8510.1.22.2 - [(2 - metoxibencil)amino] - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 5 - carboxamida (FJBT - 5).8510.1.22.2 - [(2 - metoxibencil)amino] - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 5 - carboxamida (FJBT - 5).8511.22.2 - [(2 - metoxibencil)amino] - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 5 - carboxamida (FJBT - 5).8511.22.2 - [(2 - metoxibencil)amino] - 1 - metil - 1H - bencimidazol - 5 - carboxamida (FJBT - 5).86Anexos.90Anexos90Anexos90Anexos (EM)90$	10.1.12 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (44)	79
10.1:14. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2)	10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51).	80
10.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3)	10.1.14 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida ( <b>FIBT-2</b> )	80
10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46). 82   10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47). 82   10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48). 83   10.1.19. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (49). 83   10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4). 84   10.1.21. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52). 85   10.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5). 85   11 Bibliografía 86   Anexos 90   Anexos 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM) 90	10.1.15 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-6-carboxamida ( <b>FIRT-3</b> )	81
10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47).8210.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (48).8310.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48).8310.1.19. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (49).8310.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4).8410.1.21. $(E)$ -N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52).8510.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5).8511 Bibliografía.86Anexos.90Anexos 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM).90	10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico ( <b>46</b> ).	82
10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48)	10.1.17.4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47).	82
10.1.19. 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida ( <b>49</b> )	10.1.18, $3$ -amino-4-(metilamino)benzamida (48).	83
10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4)	10.1.19. 2-amino-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida ( <b>49</b> )	83
10.1.20.2 (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52)	10.1.20, 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida ( <b>FJBT-4</b> ).	84
10.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5)	10121(E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52)	85
11 Bibliografía 86   Anexos 90   Anexo 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM) 90	10.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida ( <b>FJBT-5</b> )	85
Anexos90Anexo 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM)90	11 Bibliografía	86
Anexo 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM)	Anexos	90
	Anexo 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno ( <sup>1</sup> H) y carbono ( <sup>13</sup> C) y espectrometría de masas (EM)	90

## Abreviaturas

(% a.r.) = Porcentaje de abundancia relativa [Asig.] = Asignación °C = Grados Celsius  $\mu$ m = Micrómetros  $\mu$ **M**=Micromolar ABH = Acido-(2S)-amino-6-boronohexanoico ABDPH = Acido-(R)-2-amino-6-borono-2-[1-(3,4diclorobencil)piperidin-4-il]hexanoico ABPH = Acido-(R)-2-amino-6-borono-2-[2-(piperidin-1-il)etil]hexanoico **ADN** = Ácido desoxirribonucleico  $\mathbf{ARNt} = \mathbf{Acido ribonucleico de transferencia}$ ATP = Adenosín trifosfato**BEC** = S-(2-boronoetil)-L-cisteína **BZN** = Benznidazol, *N*-bencil-2-(2-nitroimidazol-1il)acetamida CC<sub>50</sub> = Concentración citotóxica media CCF = Cromatografía en capa fina **CDCl**<sub>3</sub> = Cloroformo deuterado **CDI** = 1,1'-carbonildimidazol CI<sub>50</sub> = Concentración inhibitoria máxima media **COSY** = Correlation Spectroscopy **d** =Señal doble  $D_2O = Agua deuterada$ **DART =** Direct Analysis in Real Time **DAT** = Reacción de aglutinación directa dd = Señal doble de dobles**ddd** = Señal doble de doble de dobles dddd = Señal doble de doble de doble de dobles**DFMO** = D,L- $\alpha$ -difluorometilornitina **DGE** = Dirección General de Epidemiologia DiFAC = Diseño de Fármacos Asistido por Computadora  $\mathbf{DMF} = N.N$ -dimetilformamida **DMSO** = Dimetilsulfóxido

DMSO-d<sub>6</sub> =Dimetilsulfóxido hexadeuterado **EM** = Espectrometría de masas FDA = Food and Drug Administration **GSH** = Glutatión **HMBC** = Heteronuclear Multiple Bond Correlation **HSQC** = Heteronuclear Simple Quantum Correlation Hz = HertzINEGI = Instituto Nacional de Estadística y Geografía **IR** = Infrarrojo IS = Indice de selectividadJ = Constante de acoplamiento **m** = Señal multiple m/z = Relación masa-carga NF = Nifurtimox, 3-metil-4-[(5nitrofurfuriliden)amino]tiomorfolina-1,1-dióxido **NOHA** = nor-N<sup> $\omega$ </sup>-hidroxi-L-arginina **OMS** = Organización Mundial de la Salud **P.M.** = Peso molecular  $\mathbf{PPA} = \text{Acido polifosfórico}$ **ppm** = Partes por millón **PyBOP** = Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio **RMN** = Resonancia Magnética Nuclear  $\mathbf{s} = \text{Señal simple}$ **SAMPA** = S-adenosilmetiltiopropilamina SFM = Sistema Fagocítico Mononuclear SIDA = Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida  $S_NAr =$  Sustitución Nucleofílica Aromática **SOD** = Superóxido Dismutasa SSA = Secretaria de Salud t = Señal triple TMS = Tetrametilsilano VIH = Virus de Inmunodeficiencia Humana

### 1 Introducción

Uno de los mayores retos que enfrenta la OMS actualmente es la proliferación de las llamadas enfermedades tropicales desatendidas, las cuáles se presentan principalmente en las poblaciones pobres de los países en vías de desarrollo. Como lo denuncia la OMS, éstas enfermedades reciben poca atención por parte de las autoridades sanitarias de estos países debido a la falta de influencia política de los afectados; la falta de estadísticas claras sobre el problema dificultan sacar de las sombras está temática.

Actualmente, la OMS calcula que las enfermedades tropicales desatendidas afectan aproximadamente a 1000 millones de personas, cuyas poblaciones suelen estar afectadas por más de una de éstas enfermedades y cuyas condiciones de vivienda y saneamiento dificultan el problema.

Entre las enfermedades tropicales desatendidas más mortíferas se encuentran el mal de Chagas o tripanosomiasis americana, afección potencialmente mortal causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y la leishmaniasis, una compleja parasitemia causada por más de 20 especies diferentes del género *Leishmania*. La OMS calcula que aproximadamente 6-7 millones de personas están infectadas con *T. cruzi*, siendo la gran mayoría de América Latina; en cuanto a la leishmaniasis, se distribuye principalmente en América, África y Asia, reportando aproximadamente 2 millones de nuevos casos cada año, producto de las diversas variantes en la que se presenta este padecimiento. La situación se complica debido a que no hay vacunas ni medicamentos totalmente efectivos contra estos parásitos. Por su parte, los gigantes farmacéuticos no tienen un gran interés en ahondar en la investigación para erradicar este mal, por lo que el panorama a largo plazo no parece muy alentador.<sup>1</sup>

Sin embargo, en años recientes, una multitud de pequeños grupos de investigación alrededor del mundo han decidido indagar en la creación y diseño de fármacos eficaces contra éstas enfermedades, haciendo uso de diversas herramientas concernientes a la Química Farmacéutica.

# 2 Antecedentes

2.1. Tripanosomiasis americana

#### 2.1.1. Generalidades

La tripanosomiasis americana, o enfermedad de Chagas, constituye un grave problema de salud en casi todo el continente americano y en algunas partes del mundo. La OMS calcula que existen de 6-7 millones de personas infectadas, sin embargo, otras fuentes afirman que la verdadera cifra se aproxima a 16-18 millones, estimándose que entre 100 y 110 millones de personas están en riesgo de contraer la infección. A nivel global se calcula que hay una incidencia de 200,000 nuevos casos y la muerte de 12,000 a 15,000 individuos por año.<sup>1-6</sup>

Esta enfermedad se extiende principalmente en Latinoamérica, de donde es endémica,<sup>5,7,8</sup> pero la migración de individuos asintomáticos, el control inadecuado de transfusiones de sangre y el trasplante de órganos<sup>7</sup> han provocado que este padecimiento se reporte esporádicamente en el sur de los Estados Unidos, Canadá, Europa y en el Pacífico Occidental. En la figura 1 puede observarse un mapa con la distribución de la tripanosomiasis americana alrededor del mundo.<sup>3-6,8-10</sup>



Figura 1: Incidencia de casos de la enfermedad de Chagas alrededor del mundo.<sup>3</sup>

En México, la enfermedad se distribuye prácticamente en todo el pais.<sup>11</sup> La Secretaria de Salud (SSA), a través de la Notificación Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades y la Dirección General de Epidemiología (DGE) se ha dado a la tarea de reportar la morbilidad y mortalidad de este padecimiento para darle seguimiento; también el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) provee datos acerca de esta parasitemia. En la tabla 1 se muestran éstas cifras.

período 2014-2016; se incluyen los grupos de edad y regiones estatales más afectados.			
Año	2014	2015	2016
Número total de infectados <sup>12</sup>	735	1095	994
Mortalidad <sup>13</sup>	23	32	21
Grupos de edad más afectado (morbilidad) <sup>12</sup>	a) 20-24 = 63	a) 20-24 = 88	a) 20-24 = 77
-	b) 25-44 = 342	b) 25-44 = 525	b) 25-44 = 512
	c) 45-49 = 102	c) 45-49 = 138	c) $45-49 = 95$
	d) 50-59 = 99	d) 50-59 = 154	d) 50-59 = 138
		e) 65 y + = 73	e) 65 y + = 70
Estados más afectados	Veracruz, Yucatán, Morelos, Jalisco, Oaxaca, Tamaulipas, Estado de		
	México, Quintana Roo, Chiapas, Hidalgo, San Luis Potosí <sup>12,13</sup>		

**Tabla 1:** Morbilidad y mortalidad nacional reportados por la DGE y el INEGI de la tripanosomiasis americana en el período 2014-2016: se incluyen los grupos de edad y regiones estatales más afectados

\*La DGE y el INEGI sólo poseen datos de morbilidad y mortalidad hasta el 2016.

El aumento en la incidencia de la enfermedad de Chagas ha provocado el combatir la infección, transmisión y difusión dentro y fuera de las zonas endémicas; entre las medidas promulgadas y recomendadas se pueden mencionar:<sup>1-3,5</sup>

- Control de los vectores a través de la fumigación y el uso de pinturas con insecticida de acción residual.
- Cribado de la sangre en adultos, recién nacidos y donantes para prevenir la transmisión por sangre y órganos.
- Promover el acceso temprano a la asistencia sanitaria de la población infectada.
- Educación de la población a través de la participación comunitaria.
- Mejora de las viviendas para prevenir la infestación por el vector.

A pesar de lo mencionado, la tendencia de la enfermedad de Chagas a propagarse por zonas marginadas y pobres, que no poseen las herramientas ni la infraestructura necesaria dificulta la labor. Por otro lado, la aparente efectividad de los insecticidas contra los vectores, no está documentada ni corroborada y la extensión de los territorios a fumigar, la resistencia desarrollada por los vectores y el precio de los insecticidas es otro obstáculo.<sup>1,14,15</sup>

#### 2.1.1.1. Agente etiológico

El agente etiológico responsable de la tripanosomiasis americana es el parásito eucariote protozoo unicelular y flagelado *Trypanosoma cruzi*.<sup>6,16,17</sup> El parásito es transmitido principalmente por insectos triatominos. Estos son conocidos a través de diversos nombres según la región donde se hallen; en México se le conoce como "chinche besucona", "chinche hocicona" ó "chinche trompuda",<sup>18,19</sup> dónde se han reportado 32 especies de triatominos, de los cuáles 24 son transmisores corroborados de *T. cruzi*.<sup>20-26</sup>

El investigador y doctor brasileño Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas fue quien en 1909, no sólo identificó al agente etiológico antes descrito, sino que también describió los vectores, las manifestaciones clínicas en humanos y animales, complicaciones, causas de muerte y finalmente la existencia de reservorios animales.<sup>2,11,27</sup> A pesar de ello, ésta enfermedad no fue considerada un problema de salud pública de importancia hasta los años 60's.<sup>19</sup>

#### 2.1.1.1.1. Morfología del parásito

*T. cruzi* presenta 3 formas evolutivas con diferentes características morfológicas: tripomastigote, epimastigote y amastigote, las cuáles se describirán a continuación:  $^{2,18,19,28}$ 

- Tripomastigote: Forma infectante del parásito, de aspecto fusiforme (20-25 por 2 mm). De gran movilidad, se le encuentra en la sangre de los vertebrados y en el intestino posterior de los vectores. No tiene capacidad de multiplicación. Es la forma de diseminación de la infección en los mamíferos.
- Epimastigote: Forma de reproducción del parásito en el vector y medios de cultivo. Presenta aspecto fusiforme (20 por 2 mm) y tiene gran movilidad.

 Amastigote: Forma esférica u ovalada llamada leishmanoide (2-4 mm), sin movilidad y que carece de flagelo móvil. Es la forma de reproducción intracelular en hospederos vertebrados, principalmente en el músculo cardíaco y músculo liso del aparato digestivo.

En la figura 2 se pueden observar las formas evolutivas antes descritas del parásito.



Figura 2: Diferentes estadios de *T. cruzi* a lo largo de su desarrollo.<sup>29</sup>

#### 2.1.1.1.2. Ciclo biológico de T. cruzi

El ciclo biológico del parásito se considera heteroxénico o indirecto, lo que significa que requiere normalmente más de un hospedero para completar su desarrollo; este ciclo se compone de 2 fases: una en un invertebrado y otra en un vertebrado.<sup>18</sup> La Figura 3 resume este ciclo.



Figura 3: Ciclo de infección y reproducción del parásito T. cruzi simplificado.<sup>30</sup>

La fase en el invertebrado inicia cuando un triatomino se alimenta de la sangre de un mamífero infectado con tripomastigotes sanguíneos.<sup>19,28</sup> Los parásitos pasan al intestino del triatomino, se transforman en epimastigotes y se multiplican para, posteriormente, transformarse en tripomastigotes metacíclicos en el intestino del insecto.<sup>6</sup> Cuando el vector infectado se alimenta, defeca sobre la piel o mucosas del mamífero, depositando tripomastigotes metacíclicos infectantes. Cuando el triatomino arrastra con sus patas la materia fecal o el mismo huésped esparce esta, se introducen los tripomastigotes metacíclicos por la laceración inducida e inclusive por la conjuntiva ocular.

Con base en lo anterior, la fase en un vertebrado transcurre con los tripomastigotes metacíclicos. Una vez dentro del mamífero y después de pasar la barrera de la piel, mucosas o conjuntiva ocular, estos se introducen a las células del tejido celular cercano al sitio de penetración donde se transforman en amastigotes. Ahí se multiplican y alcanzan la circulación sanguínea en un período de 4-5 días.<sup>29</sup> Su elevado número causa la muerte y destrucción de la célula infectada y los amastigotes infectan nuevas células o se transforman en tripomastigotes sanguíneos, diseminandose por vía hematógena por todo el organismo. El ciclo se completa cuando un triatomino se alimenta del mamífero infectado y adquiere al parásito.<sup>2,16</sup>

#### 2.1.1.1.3. Desarrollo y sintomatología de la enfermedad

Una vez que penetran los tripomastigotes metacíclicos al organismo, empieza un período de incubación que suele durar entre 7-10 días en caso de adquisición vectorial y de 20-40 días en caso de transfusión sanguínea. La enfermedad de Chagas presenta variabilidad clínica y los síntomas pueden variar en gravedad según la zona geográfica. Esta enfermedad puede ser asintomática o sintomática.<sup>2,11,19,27,28</sup>

El proceso asintomático se caracteriza por no producir signos ni síntomas patológicos y sólo se manifiesta por la presencia transitoria de tripanosomas o inmunoglobulinas específicas en la sangre. Por otro lado, se puede presentar el proceso sintomático, en cuyo caso la infección por *T. cruzi* es seguida por una fase aguda corta, caracterizada por un alto grado de parasitemia fácilmente detectado por examen directo de sangre ó la presencia de chagomas y la romaña en la piel, señales muy comunes del acceso del parásito al organismo (figura 4).<sup>19</sup> A pesar de esto, la fase aguda no se reconoce en la mayoría de los casos debido a la escasez o ausencia de manifestaciones clínicas. De ahí, la enfermedad entra en la fase crónica, una etapa larga y asintomática o latente de la infección.<sup>11,31</sup> Esta comienza 2-3 meses después de la infección inicial y la parasitemia cae a niveles indetectables. Carlos Chagas dividió a los individuos con enfermedad crónica en aquellos sin signos clínicos y anormalidades en las pruebas de rutina (forma indeterminada) y los que tenían síntomas en una o más pruebas (forma determinada). Los pacientes crónicos indeterminados, que representan un 60-70%, tienen un favorable pronóstico, baja morbilidad y la misma mortalidad que la población general, además de que son capaces de realizar cualquier actividad. En la mayoría de los casos, la fase crónica se presenta como la forma indeterminada, que puede evolucionar a la forma cardíaca, digestiva o cardio-digestiva, las cuáles aparecen después de 10-30 años y consisten en la dilatación del corazón y partes del sistema digestivo. Entre el 1-3% de los pacientes que están en la fase crónica indeterminada y que habitan zonas endémicas evolucionan de la forma indeterminada a la determinada.<sup>28,31,32</sup>



Figura 4: Al lado izquierdo, se aprecia una marca de romaña en el parpado izquierdo del paciente, mientras que al lado derecho se aprecia una marca de chagoma en la mano izquierda del infectado.

#### 2.1.2. Fármacos tripanocidas

Aunque la enfermedad de Chagas es una vieja zoonosis, su tratamiento es relativamente reciente. El actual tratamiento humano con nifurtimox (NF, Lampit®) y benznidazol (BZN, Lafepe-Benznidazole, Laboratorio Farmacêutico do Estado de Pernambuco; Abarax®, Laboratorios Elea) se basa en una terapia empírica.<sup>33-35</sup>

Es importante señalar que los fármacos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas deben tener un efecto en las formas amastigotes intracelulares, que son formas productivas en el huésped vertebrado. Las formas epimastigotes y tripomastigotes de estos huéspedes derivan de los amastigotes y, por esta razón, su respuesta a diferentes drogas tiene menos importancia.<sup>34</sup> En la siguiente sección se procederá a describir al nifurtimox y al benznidazol de una manera más detallada.

#### 2.1.2.1. Nifurtimox y Benznidazol

El Nifurtimox 3-metil-4-[(5-nitrofurfuriliden)amino]tiomorfolina-1,1-dióxido; figura 5) fue comercializado en 1972 como el primer fármaco para combatir el mal de Chagas (Lampit® en Brasil);<sup>20</sup> otras fuentes indican que fue en 1965.<sup>36</sup> Es eficaz contra el amastigote y tripomastigote del parásito.<sup>36-40</sup> Ha demostrado ser eficaz especialmente en la etapa aguda de la enfermedad, en la cual presenta una cura del 76 al 80%;<sup>35,36</sup> en infantes la cura es cercana al 100% y en niños varía entre 60-85%.<sup>37</sup> Sin embargo, en la fase crónica el éxito se reduce al 20%<sup>35</sup> e inclusive menos (8%).<sup>40</sup>



Figura 5: Estructura química del Nifurtimox (1).

El mecanismo de acción de 1 consiste en la producción de radicales libres, aniones superóxido, peróxido de hidrógeno y metabolitos electrofilicos, producto de la reducción del grupo nitro de la molécula por las nitroreductasas tripanotiona y glutationa reductasa, proceso contra el cual *T. cruzi* es deficiente en mecanismos contra el estrés oxidativo. Se ha demostrado que además de la acción metabólica del fármaco en *T. cruzi*, su incorporación y transporte de esté por el parásito, es de gran importancia.<sup>20,34,36,41</sup> La duración del tratamiento es muy variable, puede ser desde 30 a 120 dias.<sup>28,29,36,38</sup> Su producción fue discontinuada en 1991<sup>40</sup> (otras fuentes lo afirman en 1997)<sup>20</sup> debido a sus efectos secundarios y toxicidad.

El Benznidazol [*N*-bencil-2-(2-nitroimidazol-1-il)acetamida, figura 6] fue anunciado en 1974 e introducido en uso clínico humano para Latinoamérica en 1978.<sup>20,40</sup> Al igual que **1**, es eficaz contra el amastigote y tripomastigote del parásito,<sup>37,40</sup> también es especialmente eficaz en la etapa aguda de la enfermedad,<sup>36</sup> en la que presenta un 80% de efectividad,<sup>35</sup> en infantes la cura es cercana al 100% y en niños varía entre 60-85%.<sup>37</sup> Sin embargo, en la fase crónica su eficacia se reduce a un 20%<sup>35</sup> e inclusive menos (8%).<sup>40</sup>



Figura 6: Estructura química del Benznidazol (2).

El mecanismo de acción de este fármaco consiste en unirse en forma covalente a los intermediarios de la nitrorreducción con los componentes del parásito: ADN, lípidos y proteínas; esto inhibe la síntesis y el papel de estos en el parásito.<sup>36</sup> Al igual que **1** produce radicales libres pero en menor medida.<sup>34</sup> Este fármaco se une de forma no intercalante a través del surco del ADN, produciendo la ruptura de las hebras como consecuencia de su interaccion.<sup>39</sup> La duración del tratamiento es muy variable, puede ser desde 30 a 120 dias.<sup>29,36</sup> Su producción fue discontinuada en 1991<sup>40</sup> (otras fuentes lo afirman en 1997)<sup>20</sup> debido a sus efectos secundarios y toxicidad.

El mecanismo de acción de 1 y 2 se muestra simplificado en la figura 7.



Figura 7: Mecanismo de acción de 1 y 2 en *T. cruzi*. El grupo nitro de ambos fármacos se reduce a radicales libres o metabolitos electrofilicos por nitroreductasas relacionadas con el citocromo P450 de *T. cruzi*. Los radicales libres derivados de 1 experimentan ciclos redox con oxígeno y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es producido por acción de la superóxido dismutasa (SOD). Los radicales libres derivados del oxígeno producido y los metabolitos electrofilicos se unen a proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, dañándolas. En el parásito, la tripanotiona [T(SH)<sub>2</sub>] y el glutatión (GSH) neutralizan los metabolitos derivados de 1 y 2 produciendo conjugados de fármaco-tiol que se metabolizarán adicionalmente a mercapturatos en el huésped mamífero. Los radicales libres se neutralizan por oxidación de GSH reducido o T(SH)<sub>2</sub>. La tripanotiona reductasa reduce la tripanotiona oxidada [T(S)2].<sup>34</sup>

Ambos fármacos son mejor tolerados por los niños<sup>28,34,37</sup> y debido a sus importantes efectos colaterales y eficacia moderada,<sup>29</sup> se ha restringido su uso.<sup>35</sup> Cabe destacar que la efectividad del tratamiento suele ser diversa debido a la variabilidad genética de las diversas cepas que existen de *T. cruzi*.<sup>20,40</sup>

#### 2.2. Leishmaniasis

#### 2.2.1. Generalidades

La leishmaniasis se refiere a un complejo de enfermedades tropicales desatendidas importantes causadas por parásitos protozoarios del género *Leishmania* y afecta las regiones más pobres del mundo y a los países en desarrollo.<sup>6</sup> Los trastornos que causa esta parasitemia llevan a altos niveles de morbilidad y mortalidad con un amplio espectro de complicaciones clínicas.<sup>42</sup> A pesar de ello, la leishmaniasis sigue siendo una de las enfermedades más olvidadas del mundo, hasta hace pocos años.<sup>43</sup> Esta afección se ha vuelto un problema de salud pública, complejo y cosmopolita.<sup>28</sup>

Las cifras que caracterizan en la actualidad a la leishmaniasis son preocupantes: se estima que 350 millones de personas están en riesgo de infectarse;<sup>6,42,44,47</sup> aproximadamente hay 12 millones de infectados en el mundo<sup>6,42,46,48,49</sup> y en cuanto a los nuevos casos cada año se estiman varios datos, siendo los más conservadores entre 900,000 a 1.3 millones<sup>50</sup> y los más alarmantes que consideran 2 millones de nuevos casos anualmente.<sup>6,44,47</sup> La mortalidad también se incluye en estos datos, siendo el número más conservador de 20,000-30,000<sup>50</sup> y el más alarmante de 60,000 muertos anuales.<sup>49</sup>

En cuanto a la distribución de la enfermedad, esta se reconoce como endémica en 88 países,<sup>43,48,51</sup> sin embargo algunas fuentes citan que son 98 países endémicos;<sup>6,45,47</sup> cabe destacar que su presencia aumenta especialmente en áreas de trópicos y subtrópicos.<sup>48</sup> La mayoría de los países afectados son aquellos que están en vías de desarrollo.<sup>44,48</sup> Basado en la distribución geográfica, la enfermedad se divide en la leishmaniasis del Viejo Mundo (Europa, Asia, África) y la del Nuevo Mundo (América).<sup>48</sup> Las variantes que presenta este padecimiento son la leishmania visceral y la cutánea,<sup>49</sup> siendo la primera más letal y la segunda más frecuente, ya que de los 2 millones de infectados anuales, 500000 padecen la variante visceral mientras que 1.5 millones poseen el trastorno cutáneo.<sup>48</sup> El enfoque de este trabajo va dirigido al padecimiento cutáneo y mucocutáneo. Alrededor del 95% de esta variante ocurre en las Américas, la cuenca mediterránea, Oriente Medio y Asia Central.<sup>48,50</sup> En la figura 8 se muestra la distribución antes descrita de la forma cutánea de la leishmaniasis.<sup>1</sup>



Figura 8: Distribución mundial de la leishmaniasis cutánea alrededor del mundo en 2015.<sup>1</sup>

Como en otros países latinoamericanos, en México la leishmaniasis afecta a los sectores más vulnerables y marginales de la población.<sup>51</sup> Al igual que con la enfermedad de Chagas, la SSA en asociación con la Notificación Semanal de Casos Nuevos de Enfermedades, la DGE y el INEGI han llevado a cabo la recopilación de la morbilidad y mortalidad de este mal, el cual se puede resumir en la tabla 2.

Tabla 2: Morbilidad y mortalidad nacional reportados por la DGE y el INEGI de la leishmaniasis cutánea en el período				
2014-2016; se incluyen los grupos de edad y regiones estatales más afectados.				
Año	2014	2015	2016	
Número total de infectados <sup>12</sup>	459	447	450	
Mortalidad <sup>13</sup>	2	2	1	
Grupos de edad más afectado	a) 10-14 = 45	a) $15-19 = 69$	a) 15-19 = 52	
(morbilidad) <sup>12</sup>	b) $15-19 = 43$	b) $20-24 = 57$	b) 25-44 = 153	
	c) $20-24 = 47$	c) $25-44 = 126$	c) $50-59 = 57$	
	d) 25-44 = 143	d) $50-59 = 56$		
	e) $50-59 = 49$			
	f) $65 y + = 41$			
Estados más afectados	Veracruz, Yucatán, Morelos	s, Jalisco, Oaxaca, Tamaul	ipas, Estado de México,	
Quintana Roo, Chiapas, Hidalgo, San Luis Potosi <sup>12,13</sup>				

Al igual que el mal de Chagas, la leishmania ha requerido una respuesta rápida y eficaz, y cuyas medidas han sido:1

- Diagnóstico temprano y rápida instauración del tratamiento.
- El control de los vectores con insecticidas en aerosol, mosquiteros, la gestión del ambiente y la protección personal.
- Vigilancia eficaz de la enfermedad para el seguimiento de la misma y la adopción de medidas durante las epidemias.
- El control de los reservorios animales, aunque este resulta complejo y debe adaptarse a la situación local.
- La movilización social y el fortalecimiento de alianzas que informen a las comunidades.

Aun con todo esto, factores como la pobreza impiden un adecuado saneamiento de las comunidades. La malnutrición aumenta el riesgo de que la leishmania progrese a su forma más letal. La movilidad de la población no inmunizada a zonas deforestadas o anteriormente boscosas a menudo se asocia con epidemias de leishmania, ya que existe la posibilidad de toparse con reservorios residuales del vector. Los cambios climáticos y ambientales afectan enormemente la incidencia y la migración de los brotes de esta enfermedad, siendo los responsables de afectar el desarrollo del parásito y la propagación a zonas que antes no eran endémicas. Finalmente, el uso de insecticidas para eliminar los vectores o controlarlos sigue siendo una buena opción, pero no está totalmente corroborada su eficacia bajo diversas circunstancias.<sup>52</sup>

#### 2.2.1.1. Agente etiológico

El agente etiológico responsable de la leishmania y sus diversas variables son los protozoarios flagelados del género *Leishmania.*<sup>2</sup> La mayoría de las especies de leishmania circulan en la naturaleza en focos ("nichos") de transmisión no estáticos, donde insectos hematófagos flebotomineos actúan como vectores y los mamíferos silvestres como reservorios.

Los flebótomos hembra requieren sangre para su reproducción; es por ello que pican a humanos o animales. Estos insectos se conocen generalmente en México por el nombre de mosca chiclera, jején, quemador, papalotilla y palomilla.<sup>51,53</sup> En el mundo se han descrito más de 800 especies de flebotomíneos, de los cuáles, 88 especies se consideran vectores potenciales.<sup>28</sup> Otras fuentes apuntan a que son sólo 70 las especies involucradas como vectores o transmisores.<sup>31</sup> En México existen aproximadamente 50 especies de las 530 reportadas de flebotominos en América.<sup>54</sup>

El descubrimiento del agente etiológico y sus reservorios, a diferencia de la enfermedad de Chagas, fue un proceso más complejo que llevo varios años, entre lo que destaca:

- El médico español Cosme Bueno describe, en 1764, la leishmaniasis cutánea en Perú, atribuyendo la enfermedad a la picadura de un pequeño insecto llamado "uta".<sup>55</sup>
- En 1908, Nicolle aisló el parásito de una lesión cutánea y estableció la similitud entre formas cutáneas y viscerales de la enfermedad con respecto al agente causal.<sup>45</sup>
- En 1912, Harald Seidelin, rindió en su informe, en octubre de 1912, los que quizá fueron los primeros casos reportados de leishmania cutánea en Yucatán; estos se daban en trabajadores que extraían chicle y en quienes observó lesiones ulcerosas predominantemente en las orejas, de lo que surgió el nombre de "ulcera de los chicleros".<sup>55</sup>

Las especies reconocidas y no totalmente reconocidas como patógenas se enlistan en la tabla 3.

Tabla 3: Especies reconocidas de leishmaniasis como patógenas o con sospechas de serlo.			
Viejo Mundo		Nuevo Mundo	
L. major	L. infantum (L. chagasi)	L. mexicana (L. pifanoi)	L. panamensis
L. tropica L. killicki	L. martiniquensis L. "siamensis"	L. amazonensis (L. garnhami)	L. SNAWI L. lainsoni
L. aethiopica	"Especie de Ghana"	L. venezuelensis	L. naiffi
L. donovani (L. archibaldi)	-	L. waltoni	<u>L. linderbergi</u>
		L. braziliensis	L. colombiensis
		L. perúviana	
		L. guyanensis	

\* Azul = Viejo Mundo

\* Rojo = Nuevo Mundo

\* <u>Subrayado</u> = En estudio

En resumen, hasta la fecha se conocen 57 especies diferentes de leishmania, de las cuáles 54 son reconocidas y 3 sólo se han aislado o se posee muy poca información acerca de ellas. De éstas 54 especies, se reconoce que 22 son patógenas para el ser humano y que 21 están bien identificadas<sup>56</sup> y de las cuáles, *L. mexicana* es el objeto de estudio en este trabajo.

#### 2.2.1.1.1. Morfología del parásito

Leishmania posee características morfológicas y moleculares diferentes, según sea el huésped y la especie, pero se han descrito 2 estadios en su ciclo evolutivo, los cuáles se describen a continuacion:<sup>2,28</sup>

- Promastigote: Forma del parásito durante su estancia en el intestino del vector, producto de la transformación del amastigote adquirido del huésped. Fusiforme, mide entre 12 y 20 μm por 2 a 4 μm de ancho.
- Amastigote: Forma intracelular obligatoria del parásito en las células del sistema fagocítico mononuclear (SFM), especialmente macrófagos. Transformación del promastigote infectivo al ser inoculado intracelularmente en el huésped vertebrado, con un diámetro de 2.5 a 5 µm. Una vez dentro del organismo vertebrado, se reproduce rápidamente, rompiendo la célula huésped donde fueron inoculados.

En las figura 9 se pueden observar la apariencia de los diversos estadios del parásito ya descritos anteriormente.



Figura 9: Al lado izquierdo, amastigotes invadiendo macrófagos (teñidos de morado); al lado derecho un promastigote pasando por un proceso de división.<sup>57</sup>

#### 2.2.1.1.2. Ciclo biológico de la leishmaniasis

La enfermedad se transmite por la picadura de la hembra de la mosca de arena, adquiriendo el parásito al ingerir sangre con células infectadas de huéspedes vertebrados.<sup>28</sup> En el intestino del transmisor, el parásito inicia un proceso de maduración y diferenciación que dura entre 4 y 25 días, en el cual los amastigotes se transforman en promastigotes procíclicos. Esta entidad se torna en un promastigote metacíclico infectivo, sufriendo cambios en su composición que le permiten al parásito desprenderse del epitelio intestinal y migrar a la cavidad bucal del díptero. Al picar de nueva cuenta, el mosquito inocula al promastigote infectivo del huésped vertebrado, en el que los macrófagos de la piel, células de Langerhans o monocitos

circulantes lo fagocitan. Una vez dentro de la célula huésped, los promastigotes se diferencian de nuevo a amastigotes, los cuáles proliferan y rompen la célula huésped. Los amastigotes liberados infectan células vecinas y el ciclo se cierra cuando un nuevo mosquito pica al huésped infectado.<sup>2</sup> Este ciclo se resume en la figura 10.<sup>58</sup>



Figura 10: Ciclo resumido de la infección por leishmaniasis a través del vector flebótomo en el humano.58

#### 2.2.1.1.3. Desarrollo y sintomatología de la enfermedad

La leishmania cutánea presenta 2 diferentes manifestaciones:

Leishmania cutánea localizada: Se distingue por la presencia de úlceras únicas (~60-70% de los casos) o múltiples; más del 80% de los pacientes las desarrollan.<sup>50</sup> Algunas veces los pacientes se curan de manera espontánea en un lapso de seis meses a dos años, excepto cuando la lesión ocurre en la oreja, donde es crónica y mutilante.<sup>2,28</sup> Sin embargo, alrededor de un 33% de los enfermos presentan reinfección. En la figura 11 se puede apreciar este tipo de leishmaniasis.



Figura 11: Lesiones leishmanicidas en extremidad superior y pabellón auricular. Ambas lesiones son lesiones localizadas.<sup>55</sup>

Leishmania cutánea difusa: Se caracteriza por falta de respuesta inmune celular hacia antígenos de leishmania, lo que permite la diseminación del parásito en toda la piel.<sup>55</sup> Esta forma clínica es difícil de tratar y no hay una resolución espontánea.<sup>55</sup> Las especies principales causantes de esta variedad son *L. mexicana*, *L. amazonensis* y *L. aethiopica*.<sup>6, 55</sup> La figura 12 da una muestra del carácter físico de esta variante.



Figura 12: Leishmaniasis difusa en el abdomen, pecho, tórax y extremidades en un paciente varón.

La leishmania mucosa o mucocutánea es considerada una manifestación aparte de la variante cutánea. Conocida como espundia en Perú y en Bolivia, cursa con invasión y destrucción de la mucosa nasofaríngea y puede ser desfigurante. El 90% de los casos se reportan en Bolivia, Brasil y Perú.<sup>55</sup> Se observan patrones que van desde pequeñas lesiones estacionarias en la cavidad nasal hasta amputaciones del tabique nasal.<sup>2,28</sup> La variante antes descrita es resistente a la terapia convencional.<sup>48</sup> Las principales especies causantes de esta manifestación de la parasitosis son *L. braziliensis, L. guyanenesis, L. panamensis, L. perúviana* y *L. aethiopica*.<sup>6,50,55</sup> La figura 13 muestra el aspecto de las lesiones mucocutáneas.



Figura 13: Leishmaniasis mucocutánea manifestada en diversos pacientes con niveles diferentes de gravedad.<sup>56,59</sup>

#### 2.2.2. Fármacos leishmanicidas

#### 2.2.2.1. Fármacos principales

Durante años, la leishmaniasis ha sido tratada con una gama relativamente amplia de medicamentos que, con el paso de los años, ha provocado que esta enfermedad se vuelva resistente a los mismos, sin embargo, siguen siendo las primeras opciones, ya sea por falta de recursos o porque su combinación los hacen más efectivos. La tabla 4 engloba los principales fármacos leishmanicidas que se usan en la actualidad.

# Tabla 4: Principales medicamentos leishmanicidas usados en la actualidad con sus respectivas características.

Variedades de antimoniales pentavalentes: estibogluconato de sodio/Pentostam® (3) y antimoniato de meglumina/Glucantime ® (4)



Mecanismo de acción, comentarios y efectos/características negativas

Su mecanismo no se conoce a totalidad. Se plantea que el Sb<sup>+5</sup> es un profármaco que se convierte a Sb<sup>+3</sup> por el parásito o macrófago donde se aloja este para la actividad leishmanicida, disminuyendo la capacidad de reducción de tioles de leishmania. Esto inhibe la tripanotiona reductasa que resulta en la acumulación de disulfuro de tripanotiona,<sup>106,107</sup> provocando estrés oxidativo en el parásito.<sup>108</sup>

Su administración por períodos de 28-30 días presenta una eficacia de 35-95%, dependiendo la zona. Son los medicamentos más utilizados para el tratamiento de leishmaniasis, a pesar de su variable efectividad en la variante visceral y cutánea.<sup>109</sup>

Amfotericina B (5) y sus variantes (Fungizone® y AmBisome®)



Esta molécula se une al ergosterol, el principal esterol sintetizado en hongos y membranas de leishmania, promoviendo la formación de un complejo binario que proporciona permeabilidad a la membrana celular por la formación de poros y la subsecuente promoción de la afluencia de iones, especialmente potasio,<sup>44</sup> en el parásito que conducen a su muerte.<sup>60</sup>

Su administración por períodos de 15-20 días seguidos o alternados presenta una eficacia mayor al 90%. Sus derivados como el complejo lipídico y las formas liposomal y coloidal reducen los efectos adversos y mejoran la farmacocinética y la biodisponibilidad. Hasta el momento no se conoce resistencia a este medicamento por parte de los parásitos.<sup>63</sup>

#### Miltefosina (6) (Impavido®)



Las investigaciones apuntan a que la molécula interfiere en la composición de la membrana celular inhibiendo el metabolismo de fosfolípidos y afectando también la síntesis de fosfatidiletanolamina, debido a una disminución en la colina. La miltefosina disminuye el potencial de membrana mitocondrial del parásito y la actividad de la citocromo c oxidasa,<sup>64</sup> la cual es responsable de mantener estables los niveles de ATP intracelular.

Su administración por períodos de 28 días presenta una eficacia en África de 60-93% y en Asia, más específicamente en India, la cifra se eleva al 94%. Generalmente se considera eficaz y seguro en el uso de la variante visceral y algunas especies que causan la variante cutánea.<sup>63</sup>

#### Pentamidina (7)



Se une al ARNt e inhibe la aminoacilación y traducción de la replicación del parásito.<sup>60</sup> Además, la pentamidina interfiere con la recepción o la función de las poliaminas,<sup>42</sup> las cuáles son muy importantes para el crecimiento y la proliferación celular.<sup>62</sup> Una serie de experimentos han demostrado que la pentamidina actúa como un inhibidor de los transportadores de arginina y poliamina en lugar de como un sustrato,<sup>65</sup> inhibiendo la topoisomerasa II mitocondrial del parásito.<sup>66</sup>

Su administración por 8 días, ofrece una eficacia del 35-96% dependiendo la especie de parásito. Provee un tratamiento de corto tiempo.<sup>63</sup> Usada en la variante visceral y mucocutánea de la parasitemia.<sup>67</sup>

El padecimiento cutáneo presenta una alta heterogeneidad en su cuadro clínico, acompañado de complicaciones y diversas respuestas, por lo que su tratamiento es más complicado. A pesar de lo anterior, es un hecho que, históricamente, el tratamiento contra el padecimiento cutáneo ha hecho uso de antimoniales pentavalentes como fármaco de primera elección en países endémicos, a pesar del riesgo de resistencia que existe contra el fármaco,<sup>64</sup> debido a la considerable cantidad de años que se han usado, esto es aproximadamente 70 años.<sup>48</sup>

# 2.3. Arginasa2.3.1. Generalidades2.3.1.1. Función y estructura

Las enzimas presentes en la biosíntesis de poliaminas se han estudiado cada vez más como dianas farmacológicas para el tratamiento de enfermedades parasitarias como la leishmaniasis, ya que las poliaminas son esenciales para el crecimiento y la supervivencia del parásito. Por ejemplo, la ornitina descarboxilasa es una enzima crítica en la biosíntesis de poliaminas que cataliza la descarboxilación de L-ornitina para producir putrescina y dióxido de carbono (esquema 1). La ornitina descarboxilasa es inhibida irreversiblemente por D,L- $\alpha$ -difluorometilornitina (DFMO, figura 14), la cual se usa para tratar pacientes con *Trypanosoma brucei gambiense* (enfermedad del sueño africana). DFMO también es citotóxico para *L. donovani* y promastigotes de *L. infantum*. Sin embargo, cuando esta molécula se prueba en ratones o hamsters infectados con los parásitos de leishmania antes mencionados, sólo logró disminuir la infección, mas no curarla. Por tanto, la ruta de poliamina de leishmania es un objetivo potencial y valido para el tratamiento de este parásito.<sup>68</sup>

La arginasa precede a la ornitina descarboxilasa en la ruta biosintética de las poliaminas. La arginasa cataliza la hidrólisis de L-arginina para producir L-ornitina y urea y, de este modo, regula el flujo de L-ornitina para la biosíntesis de poliaminas (esquema 1). Al agotar las concentraciones locales de L-arginina en los sitios de infección, la arginasa también suprime la respuesta inmune en parte al reducir la generación de óxido nítrico derivado de L-arginina por los macrófagos activados. Por lo tanto, la arginasa juega un papel crítico no sólo en la biosíntesis de poliaminas, que es esencial para el crecimiento y la supervivencia del parásito, sino también en la evasión de la respuesta inmune del huésped contra el parásito invasor (figura 14). Pruebas con los inhibidores de arginasa N<sup> $\infty$ </sup>-hidroxi-L-arginina (NOHA) y nor-N<sup> $\infty$ </sup>-hidroxi-L-arginina (nor-NOHA, figura 15) demostraron la reducción en el crecimiento de *L. infantum* y *L. major* en macrófagos y ratones, por lo tanto se valida a la arginasa como objetivo farmacológico para el tratamiento de la leishmaniasis.<sup>68</sup>



Esquema 1: Vía metabólica para la síntesis de las poliaminas en el parásito *L. mexicana*. Cabe destacar que este proceso también se encuentra en el ser humano.



Figura 14: A continuación, una breve explicación del recorrido de la L-arginina en el macrófago infectado. L-arginina puede ser transformada por iONS en NOHA y, posteriormente, en citrulina y NO; con base en éste se sintetizan especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que conducen a la muerte del parásito. La otra ruta es que la arginasa I del mamífero huésped convierta la L-arginina en L-ornitina y urea para, posteriormente, convertirse en putrescina por parte de ODC. La putrescina se convierte en espermidina por la EspmdSin y en espermina por la EspmSin. La putrescina y espermidina pueden ser captadas por el parásito y llevar a cabo sus propios procesos metabólicos para proliferar. Éstas respuestas deben ser controladas por el huésped mamífero para limitar la patología y permitir una respuesta inmune efectiva.<sup>69</sup>

A todo esto, cabe añadir que inhibir la actividad de la arginasa disminuye la presencia de espermidina en el parásito, esto provoca una disminución en la síntesis de tripanotiona, un ditiol de bajo peso molecular encargado del control en el estrés oxidativo del parásito. Se sintetiza a partir de espermidina y con la acción de la tripanotiona reductasa y la adición de glutatión. Adicionalmente, ésta molécula participa en la síntesis de desoxirribonucleótidos y en la descomposición de peróxidos. También interactúa con varios electrófilos en la desintoxicación de oxoaldehídos, metales y drogas (esquema 2).<sup>70</sup>



Esquema 2: Síntesis de la tripanotiona a partir de la espermidina con la tripanotiona reductasa.



Figura 15: Estructura de los inhibidores de las enzimas en la vía de las poliaminas.

La arginasa de *L. mexicana* es fuertemente inhibida por inhibidores de la arginasa tipo I humana. De particular interés es el ácido-(2*S*)-amino-6-boronohexanoico (ABH), que es el más conocido hasta la fecha. El inhibidor isostérico S-(2-boronoetil)-L-cisteína (BEC) y el nor-NOHA ya mencionado<sup>68</sup> también son inhibidores importantes (figura 15).

La arginasa es una metaloenzima trimérica estabilizada por interacciones iónicas intermoleculares (por ejemplo, puentes salinos) y enlaces de hidrógeno que presenta 2 iones de manganeso ( $Mn^{2+}$ ) en su sitio catalítico, los cuáles se coordinan en forma octaédrica u octaédrica distorsionada por 2 residuos de histidina, 4 residuos de aspartato y 2 moleculas de agua, pero una de ellas se torna en un ion hidróxido en la forma catalíticamente activa de la enzima (figura 16). Las distancias y geometrías de coordinación de los iones manganeso son esencialmente idénticas tanto en la arginasa humana tipo I como la arginasa de leishmania (figura 17). Un panorama más completo de las enzimas arginasas se muestra en la figura 18.<sup>68</sup>



**Figura 16**: Sitio catalítico de la enzima arginasa de *L. mexicana* sin ningún ligante (entrada PDB 4ITY). Átomos e interacciones intermoleculares están codificados por colores: amarillo para carbono, azul para nitrógeno, rojo para oxígeno, esferas rosadas para iones Mn<sup>2+</sup> y esferas rojas para solvente. La coordinación del metal e interacciones del enlace de hidrógeno se representan como líneas discontinuas azules y verdes. \*D = aspartato, H = histidina.<sup>68</sup>



**Figura 17**: Superposición de arginina de *L. mexicana* (codificado por los colores de la Figura 24) y sitio catalítico de la arginasa humana tipo 1 (entrada PDB 2ZAV, átomos e interacciones son de color azul claro). Los residuos correspondientes a la arginasa de *L. mexicana* y arginasa humana tipo I son negros y rojos, respectivamente. \*D = aspartato, H = histidina.<sup>68</sup>



Figura 18: Superposición de los monómeros (izquierda) y trímeros (derecha) del complejo arginasa *L. mexicana*-ABH y el complejo arginasa humana tipo I-ABH (entrada PDB 2AEB). Los átomos están codificados por colores de la siguiente manera: complejo arginasa *L. mexicana*-ABH, amarillo para proteína y verde para ABH y iones Mn<sup>2+</sup>; complejo arginasa humana tipo I-ABH, azul grisáceo para proteína y rojo oscuro para ABH y iones Mn<sup>2+</sup>. Nótese que cada monómero está conformado de 2 hélices alfa y un bucle; la unión de 3 estructuras de este tipo forma el trímero.<sup>68</sup>

Como se ha visto, tanto el hombre como *L. mexicana* presentan la enzima antes descrita, por lo que es importante identificar y conocer la similitud entre ambas proteínas Al momento de comparar la identidad de la secuencia de aminoácidos, según se determina mediante el alineamiento de la proteína por pares y la alineación de la secuencia basada en la estructura, la similitud existente entre ambas moléculas es del 39.1%,<sup>71</sup> sin embargo, como se explicó anteriormente, hay residuos importantes para el sustrato que tienen en común ambas enzimas y, que en términos prácticos, son iguales.

# 2.4. Acoplamiento molecular (*docking*)2.4.1. Generalidades

El diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC) consiste en aplicar procedimientos realizados por computadora para relacionar la actividad de un compuesto con su estructura química. Los objetivos principales del DiFAC son tres: descubrir moléculas activas, optimizar moléculas activas ya conocidas y seleccionar, de un grupo de estructuras, a los candidatos que tengan mayor o menor probabilidad de convertirse en fármacos exitosos. De esta manera, el uso de métodos computacionales puede ayudar a descubrir y diseñar estructuras químicas que tengan las propiedades adecuadas para el proceso de desarrollo de un fármaco.<sup>72</sup>

El DIFAC cobra cada vez mayor importancia en la investigación y desarrollo de medicamentos. Esto se ha favorecido por el número de aplicaciones exitosas de métodos de cómputo para el desarrollo de compuestos que actualmente se encuentran en el mercado. El DIFAC forma parte de un esfuerzo multidisciplinario y está conformado por una serie de disciplinas científicas que abarcan modelado molecular, quimioinformática, química teórica y química computacional. A pesar de los avances en el desarrollo de programas computacionales, la aplicación adecuada de las técnicas no es trivial y deben estar integrados con pruebas experimentales. Al igual que las pruebas experimentales, las metodologías computacionales deben validarse para encontrar los parámetros óptimos que den resultados confiables.<sup>73</sup>

Muchos fármacos ejercen su acción debido a su interacción con una macromolécula presente en el organismo. Tomando este principio, las estrategias del DiFAC se dividen en dos partes principales:<sup>72</sup>

- (a) Diseño basado en la estructura del ligante: Los métodos que se agrupan en esta área se centran en el estudio de la estructura química de la molécula con actividad biológica. A esta última nos referimos como ligante.
- (b) Diseño basado en la estructura del receptor. Los métodos que corresponden a esta estrategia consideran la estructura tridimensional de la macromolécula con la que interactúa el ligante. Nos referimos a la macromolécula como receptor.

De esta manera, la elección del método computacional empleado depende, en primera instancia, si se conoce o no la estructura del ligante y del receptor. Cuando se conocen ambas se puede hacer uso de las dos estrategias. Sin embargo, cuando no se conoce ninguna, hay que generar primero información experimental.

Desde hace tiempo la estructura tridimensional de muchas proteínas se conoce experimentalmente y, con ello, se pueden aplicar procedimientos computacionales para el diseño de moléculas con actividad biológica. Una fuente muy común de obtención de estructuras tridimensionales de biomoléculas es el *Protein Data Bank* (RCSB). Esta base de datos pública contiene la estructura tridimensional de miles de proteínas obtenidas por cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear. Uno de los métodos de diseño basado en la estructura del receptor y que hoy en día es más empleado, es el acoplamiento (del inglés *docking*) molecular automatizado.<sup>72</sup>

#### 2.4.2. Concepto y fundamento

El objetivo del acoplamiento molecular es buscar la conformación y posición óptima de un ligante dentro de un blanco molecular o la posición y conformación más favorable de 2 macromoléculas (figura 19).<sup>73</sup> El acoplamiento molecular requiere de la etapa de "búsqueda" y la etapa de "evaluación". La búsqueda se refiere a la exploración del espacio configuracional accesible para el ligante dentro del receptor. El objetivo es encontrar la orientación y conformación del ligante que corresponda al mínimo global de la energía libre de unión. Por su parte, la etapa de evaluación se refiere a la asignación de un valor numérico a cada una de las configuraciones generada durante la etapa de búsqueda. Esto permite establecer un orden entre las diferentes posiciones y configuraciones encontradas. Generalmente, aquella posición con la mejor evaluación es la que representa el modo de unión más probable. La predicción o cálculo del modo de unión de un ligante con su receptor refleja el balance existente entre básicamente cuatro factores:<sup>74</sup>

- Depende del conjunto de interacciones establecidas entre los grupos químicos presentes en el ligante con los residuos del receptor. Dichas interacciones comprenden una gama de contribuciones diversa, tanto en su contribución energética como en su direccionalidad, incluyendo, entre éstas, puentes salinos, puentes de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo o de van der Waals.
- Está afectada por la desolvatación del ligante y receptor en el proceso de formación del complejo.
- La interacción puede conllevar cambios estructurales tanto en el ligante como en el receptor.
- El cambio entrópico traslacional y rotacional asociado a la formación del complejo, así como a la pérdida de flexibilidad conformacional intramolecular. Estos factores tienen un impacto negativo en la afinidad, que es compensado con la contribución positiva debida a la energía de interacción entre ligante y receptor.

El éxito del diseño de fármacos reside en la optimización del balance entre dichos factores. Ello conlleva a la concepción de una estructura química con una distribución espacial de grupos funcionales que maximice la complementariedad entre ligante y receptor. De esta forma, se utiliza el concepto de farmacóforo para designar el conjunto de requisitos geométricos y químicos esenciales que debe presentar un compuesto para poder interaccionar de forma efectiva con su diana macromolecular.<sup>74</sup>

En consecuencia de lo anteriormente expuesto, el acoplamiento molecular es un auxiliar muy útil para el diseño de nuevas estructuras. Otra de sus aplicaciones es la evaluación en la computadora de una gran cantidad de moléculas organizadas en lo que se conocen como bibliotecas virtuales.<sup>72</sup> Aunque hay que hacer pruebas experimentales para comprobar las predicciones, los experimentos se realizan con un número reducido de compuestos. De esta manera, el acoplamiento molecular se emplea para hacer más eficiente y reducir los costos de la investigación.



Figura 19: Complejo proteína-molécula cuya estabilidad viene representada por una energía de unión ( $\Delta G_{\text{unión}}$ )

En las últimas dos décadas, se han desarrollado más de 60 herramientas y programas de acoplamiento diferentes para uso académico y comercial, como DOCK, AutoDock, FlexX, Surflex, GOLD, ICM, Glide, Cdocker, LigandFit, MCDock, FRED, MOE-Dock, LeDock, AutoDock Vina, rDock, UCSF Dock y muchos otros. Aunque las estrategias en la ubicación del ligante difieren una de otra, estos programas se categorizan ampliamente por enfoques de construcción incremental, como FlexX hasta algoritmos basados en forma (es decir, DOCK), algoritmos genéticos (GOLD), técnicas de búsqueda sistemática (Glide, Schrödinger, Portland, OR 97201) y simulaciones de Monte Carlo (LigandFit). Con la excepción de GOLD, casi todos los programas de acoplamiento tratan al receptor como rígido.<sup>75</sup>

Recientemente, se evaluaron diez programas de acoplamiento. El rendimiento de los programas académicos en la predicción de las mejores poses de un ligante con su proteína se ajusta al siguiente orden: LeDock (57.4%) > rDock (50.3%) ~ AutoDock Vina (49.0%) > AutoDock (PSO) (47.3%) > UCSF DOCK (44.0%) > AutoDock (LGA) (37.4%), y el de los programas comerciales confirman el siguiente orden: GOLD (59.8%) > Glide (XP) (57.8%) > Glide (SP) (53.8%) > Surflex-Dock (53.2%) > LigandFit (46.1%) > MOE-Dock (45.6%). Las tasas de éxito promedio de los programas comerciales para predecir los mejores modos de unión son 54.0% y 67.8%, mientras que los programas académicos presentaron tasas de éxito de 47.4% y 68.4%, respectivamente. Esto muestra que todos estos algoritmos de acoplamiento pudieron explorar el espacio conformacional para generar modos de unión correctamente en los sitios del receptor suficientemente bien para un conjunto diverso de complejos proteína-ligante. Estos resultados muestran que la diferencia entre los programas comerciales y académicos es mínima, a pesar de que la capacidad de predecir la unión del ligante que presentan los programas comerciales y académicos de setos mestra académicos desde una perspectiva global.<sup>75</sup>

#### 2.5. Bencimidazoles

#### 2.5.1. Generalidades

El bencimidazol (8) es un compuesto planar, heteroaromático y bicíclico en el que el anillo de benceno se fusiona a las posiciones 4 y 5 del anillo de imidazol<sup>76,77</sup> (figura 20).



Figura 21: Estructura molecular de 8.

Esta molécula posee un equilibrio tautomérico bien conocido, que se da cuando el hidrógeno unido al nitrógeno, en posición 1 del anillo, migra fácilmente a la posición  $3,^{76,78,79}$  como se observa en la figura 22, inciso (**a**). Cuando la estructura presenta sustituyentes, este fenómeno conduce a mezclas en equilibrio de compuestos asimétricamente sustituidos.<sup>80</sup> Por ejemplo, el 1,5-dimetil-1*H*-bencimidazol (**10**) y el 1,6-dimetil-1*H*-bencimidazol (**11**) son compuestos diferentes [figura 22, inciso (**b**)]. **10** presenta un punto de fusión de 93-94 °C, mientras que el de **11** es de 73-74 °C.<sup>81</sup>



Figura 22: (a) Equilibrio tautomérico en el núcleo de 8; (b) Comparación de estructuras entre 10 y 11.

En cuanto a sus propiedades físicas, se pueden describir los siguientes puntos:

- a) Punto de fusión: La introducción de grupos en la posición 1 disminuye drásticamente los puntos de fusión. Sin embargo, la adición de grupos en otras posiciones, especialmente aromáticos, aumenta el punto de fusión.<sup>82</sup>
- b) Solubilidad: Cuando hay sólo hidrógeno en la posición 1, 8 y sus derivados son más solubles en disolventes polares y menos solubles en disolventes no polares. La adición de grupos no polares aumenta la solubilidad en disolventes polares y la adición de grupos polares aumenta la solubilidad en disolventes polares.<sup>82</sup>
- c) Alta estabilidad: Pueden destilarse sin problemas; **8** puede destilarse hasta 300 °C sin sufrir cambios, bajo altas presiones, medios ácidos o soluciones alcalinas.<sup>77,82</sup>
- d) Características ácidas y básicas: **8** es débilmente básico  $[pKa_1 = 5.6 \text{ y } pKa_2 = 12.9, \text{ aunque estos valores varían entre las fuentes (figura 23)],<sup>77,78,83,84</sup> esto permite que los derivados de$ **8**sean solubles en ácidos diluidos, aunque también son lo suficientemente ácidos para ser solubles en soluciones alcalinas.



Figura 23: Equilibrios ácido-base de 8.

#### 2.5.1.1. Usos de los bencimidazoles

El potencial terapéutico del núcleo de bencimidazol se remonta a 1944, cuando Woolley especuló que el bencimidazol puede actuar de forma similar a las purinas para provocar algunas respuestas biológicas. Cinco años más tarde, Brink identificó al 5,6-dimetilbencimidazol como producto de degradación de la vitamina B<sub>12</sub> y, posteriormente, descubrió que algunos de sus derivados tenían actividad similar a la vitamina B<sub>12</sub>. Estos informes generaron proyectos de investigación para explorar este núcleo en actividades variadas.<sup>85-88</sup> Años después, este núcleo se halló en el alcaloide quealiquinona; el cual se aisló a partir de una especie de esponja micronesiana de tipo botón amarillo de las especies Leucetta.<sup>80</sup>

En los 50's, las investigaciones en torno al bencimidazol fueron descubriendo las aplicaciones de esta estructura. A principios de los años sesenta, se desarrollaron fungicidas de plantas y más tarde antihelmínticos veterinarios basados en bencimidazol. En 1962, este núcleo daría un paso vital con el tiabendazol, el primer bencimidazol desarrollado y autorizado para uso humano.<sup>89</sup>

Hoy en día, el uso del núcleo del bencimidazol en la industria farmacéutica es innegable, tan es así que un estudio, sobre todos los medicamentos aprobados por la FDA, demostró que esta estructura se encuentra en el lugar 15 de los 25 heterociclos más frecuentes en los fármacos aceptados por esta institución, teniendo un total de 13 compuestos asignados.<sup>90</sup>

A lo largo de los años se ha informado de numerosos compuestos que contienen unidades de bencimidazol y que exhiben propiedades tales como analgésicos, antibacterianos, anticancerígenos, anticonvulsivantes, antidiabéticos, antimicóticos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antipalúdicos, antimicrobianos, antioxidantes, antiparasitarios, coagulantes, anticoagulantes, antipoliferativos, antiulcerosos, antituberculosos, antivirales, ansiolíticos y antialérgicos.<sup>78,91</sup>

En la tabla 5 se enlista la actividad farmacobiológica de los derivados de bencimidazol con ejemplos representativos de antiparasitarios, tema de este trabajo.



El albendazol, mebendazol y flubendazol han sido probados en carcinomas hepatocelulares y colorectales, gliomas y cáncer intestinal.<sup>94</sup> El tiabendazol está siendo investigado para ser reposicionado como un agente de disrupción vascular.<sup>95</sup> El parbendazol, fenbendazol, oxfendazol y oxibendazol son de uso veterinario.<sup>96-99</sup>

En vista de la aplicación de bencimidazoles como antiparasitarios, nuestro grupo de trabajo, ha sintetizado compuestos bencimidazólicos contra una amplia variedad de parásitos. A través de DiFAC, se han desarrollado y probado compuestos del tipo 2-(*N*-bencil)bencimidazol, cuyo objetivo fue actuar de manera selectiva en la enzima arginasa de *L. mexicana* y en promastigotes de este parásito. Maldonado<sup>100</sup> desarrollo el modelo computacional para dicho objetivo a través de un estudio de

homología de la arginasa, que no había sido cristalizada hasta ese momento y obtuvo los primeros candidatos bencimidazólicos que, teóricamente, serian buenos inhibidores de dicha enzima; más adelante Méndez<sup>101</sup> sintetizo estos compuestos para probar su efectividad con promastigotes de *L. mexicana* y, a partir de estos resultados, Mateus<sup>102</sup> preparo 21 compuestos del tipo 2-(*N*-bencil)bencimidazol para explorar el modelo computacional de Maldonado a nivel experimental con promastigotes de *L. mexicana*. Estos compuestos, a diferencia de los propuestos por Maldonado y obtenidos por Méndez, presentan sustituciones con grupos funcionales en las posiciones 5 y 6 para retardar su metabolismo. Los buenos resultados obtenidos en la inhibición de la proliferación de promastigotes y la enzima arginasa de *L. mexicana* con los compuestos sintetizados por Mateus, dieron como resultado la publicación de un artículo.<sup>103</sup> Los compuestos y datos más sobresalientes de dicho artículo se muestran en la figura 24 y en la tabla 6.



Figura 24: Compuestos más activos contra *L. mexicana* reportados por nuestro grupo de trabajo (la numeración de los compuestos corresponde a la asignada en el artículo donde se publicaron estos y la adición de la letra A es para evitar confusiones con compuestos numerados de manera similar en el texto).

Tabla 6: Capacidad inhibitoria y citotóxica de 8A, 9A, 11A y 19A comparado con la miltefosina y amfotericina B, fármacos de referencia para este ensayo contra promastigotes de <i>L. mexicana</i> .			
Compuesto	*CI50 μM	**CC50 µМ	***IS (CC50/CI50)
8A	$3.21\pm0.89$	$1020\pm8.5$	317.75
9A	$13.98 \pm 1.83$	$196.44\pm3.34$	14.05
11A	$14.53\pm1.54$	$65.59 \pm 4.17$	4.51
19A	$8.01 \pm 1.38$	$318.94\pm3.83$	39.84
Miltefosina	$15.34\pm0.36$	$157.03\pm2.86$	10.23
Amfotericina B	$0.95 \pm 0.0598$	$6.19 \pm 1.614$	6.5

\*  $CI_{50} \mu M$  = Concentración más baja del compuesto que inhibe el 50% del crecimiento del parásito después de su incubación. \*\*  $CC_{50} \mu M$  = Concentración que produce la citotoxicidad del 50% de las células J774.2 (macrófagos de ratón BALB/C). \*\*\*IS = Índice de selectividad

En la tabla 6 puede observarse que ninguno de los compuestos es capaz de igualar en  $CI_{50}$  a la amfotericina B, sin embargo, en el índice de selectividad cada uno de ellos supera a esta en gran manera, salvo por **11A**, motivo por el cual no puede ser una molécula líder para ensayos posteriores. Por otro lado **8A**, **9A** y **19A** son superiores a la amfotericina en cuanto a IS y además, presentan mejores valores de  $CI_{50}$  e IS que la miltefosina. **9A** presentó un valor muy parecido al de esta última en cuanto a IS por lo que también se descartó como molécula líder. Finalmente, se decidió usar a **8A** como líder para ensayos posteriores, entre los cuáles se incluye el trabajo aquí presentado. Su excelente valor de  $CI_{50}$ ,  $CC_{50}$  y alto índice de selectividad hacen de **8A** el candidato perfecto de este proyecto para ensayos y modificaciones posteriores.

Con base en los datos experimentales obtenidos y publicados, se ha considerado, para este trabajo, hacer dos modificaciones en 8A: el metileno del fragmento bencílico y la posición 5(6) del bencimidazol. Dichas modificaciones se pueden observar en la Figura 25. Estos cambios tienen los siguientes propósitos:

- Determinar si la actividad observada por la presencia de átomos de cloro en la posición 5 y 6 es resultado de la naturaleza química del halógeno en cuestión o simplemente la presencia de un grupo funcional en esas zonas no es necesaria. La introducción de un grupo carboxamida es la opción más viable debido a la dificultad que conlleva hidrolizar estos grupos funcionales en el organismo<sup>104</sup> y a que, generalmente, aumentan la solubilidad de los compuestos orgánicos en medios acuosos.<sup>105</sup>
- Determinar cómo el efecto antiparasitario es alterado por la introducción de un grupo carbonilo en el fragmento bencílico; dicho fragmento restringirá los estados conformacionales de **8A**.
- Los resultados de éstas modificaciones permitirán comprender y establecer los requerimientos estructurales que potencializan y mejoran la actividad de **8A** contra la arginasa y los promastigotes de *L. mexicana*.



Figura 25: Modificaciones propuestas a 8A encerradas en el recuadro verde, dando lugar a la serie de compuestos FJBT.

El alto índice de selectividad de **8A**, hace de esta molécula un candidato seguro para diversos ensayos. Entre estos esta ser un posible tripanocida y dar hincapié a investigar, de manera inicial, el potencial de **8A** en esta área; diversas publicaciones reportadas en la literatura muestran series comunes de compuestos que han sido evaluados para dos o más parásitos diferentes, tanto por serendipia como por un diseño computacional: *L. mexicana* y *T. cruzi* con derivados del bencimidazoles,<sup>106</sup> *L. donovani* y *T. cruzi* con derivados de 2,3-dihidroimidazo[1,2-a]bencimidazol,<sup>107</sup> *L. donovani*, *T. brucei rhodiensis* y *T. cruzi* con mimetizadores de esteroles, <sup>108</sup> por lo que las posibilidades de publicar este trabajo no son descartadas por una evaluación biológica de carácter mixto. Se planeó utilizar los productos resultantes inicialmente contra epimastigotes de *T. cruzi*, debido a que estos no evolucionan de manera tan rápida como los tripomastigotes.

#### 2.5.1.2. Vías de síntesis

Históricamente hablando, el primer bencimidazol que se sabe, fue sintetizado por el hombre, lo hizo en 1872 Hoebrecker,  $^{83,84}$  quien obtuvo 2,5-dimetil-1*H*-bencimidazol (**25**) al reducir 2-nitro-4-metilacetanilida (**26**) con estaño y ácido clorhídrico, como se observa en el esquema 3.



Esquema 3: Síntesis de 25 por reducción de 26 en medio ácido.

Con el transcurso de los años, las técnicas y metodologías de síntesis han evolucionado y dado paso a un sinfín de métodos para obtener la tan deseada estructura heterocíclica aquí expuesta. Los bencimidazoles sintetizados en este trabajo tienen como base al 2-amino-1*H*-bencimidazol, por lo que se expondrán brevemente los métodos para obtener este derivado.

#### 2.5.1.2.1. A partir de 1,2-diaminoarenos

Es el método más versátil para sintetizar bencimidazoles e implica la reacción de 1,2-diaminoarenos (27) con especies carbonílicas principalmente. Esta vía puede dar paso a diversos derivados, los cuáles se mencionarán a continuación:

Los haluros de cianógeno y la cianamida reaccionan con un 1,2-diaminoareno para dar el respectivo 2-amino-1*H*-bencimidazol (28). El bromuro de cianógeno (29) ofrece rendimientos usualmente altos. La cianamida (30), calentada en la presencia de ácido clorhídrico es un sustituto adecuado de los haluros de cianógeno en éstas reacciones. Un imidato funcionalizado, amplía el alcance del procedimiento sintético a los 2-amino-1*H*-bencimidazol. Ya sea dimetil arilditioimidocarbonatos (31) o sus derivados de dicloro correspondientes (32) quienes se pueden convertir en 2-(arilamino)bencimidazoles (33) con buenos rendimientos (esquema 4).<sup>77</sup>



Esquema 4: Síntesis de 28 y 33 por medio del uso de diversos reactivos.

# 3 Planteamiento del problema

La leishmaniasis y la tripanosomiasis son un problema a nivel nacional e internacional, ambas enfermedades han desarrollado resistencia a los fármacos de elección, lo que hace necesario investigar nuevas moléculas que sean capaces de combatir éstas parásitos; los bencimidazoles se han reportado como agentes antiparasitarios efectivos, entre ellos el compuesto **8A** sintetizado en nuestro grupo de investigación, lo que plantea el siguiente problema:

¿Es posible que de las modificaciones en el compuesto **8A**, obtenido por DiFAC y probado experimentalmente, surjan compuestos que tengan actividad inhibitoria sobre la arginasa y promastigotes de *L. mexicana*, así como también algún efecto en los epimastigotes de *T. cruzi*?

# 4 Hipótesis

- Los compuestos que surjan de las modificaciones en el compuesto **8A**, tendrán actividad contra promastigotes de *L*. *mexicana* y un posible efecto antiparasitario contra epimastigotes de *T. cruzi*.
- Las modificaciones hechas en 8A en el fragmento bencílico y en la posición 5(6) del bencimidazol permitirán conocer los requerimientos estructurales que desvirtúan o mejoran la actividad de las moléculas sintetizadas contra *L. mexicana* y darán una pauta para empezar a comprender las requeridas en *T. cruzi*.

# **5** Objetivos

5.1. Objetivos generales

- Sintetizar y evaluar la serie FJBT in vitro contra la enzima arginasa y los promastigotes de L. mexicana y epimastigotes de T. cruzi.
- Simular la afinidad de los compuestos sintetizados por acoplamiento molecular (*docking*) en la enzima arginasa de *L.mexicana*.

5.2. Objetivos particulares

- Sintetizar la serie **FJBT** que presenta un grupo carboxamida en la posición 5(6) del anillo bencimidazólico y un grupo carbonilo en el fragmento bencílico para evaluar su influencia en la inhibición parasitaria.
- Determinar la afinidad experimental de los compuestos sintetizados para la arginasa de *L. mexicana* para evaluar y comparar sus resultados con la simulación computacional del *docking* de arginasa.
- Evaluar la actividad de las moléculas sintetizadas en cultivos de promastigotes de *L. mexicana* y epimastigotes de *T. cruzi*; con base en la información obtenida, se determinaran los requerimientos estructurales que deben tener las moléculas para potencializar y mejorar su actividad en estudios posteriores.

# 6 Metodología experimental

#### 6.1. Síntesis química

6.1.1 Secuencia de síntesis para la preparación del intermediario 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol y sus derivados 5(6)-carboxamida

La preparación de los 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazoles y sus respectivos derivados carboxamida está representada en los esquemas 5-7, donde se desarrollan las rutas utilizadas para la obtención de cada molécula. Como puede observarse, existen 3 rutas y 3 productos intermediarios de los cuáles se desprenden las 6 moléculas finales descritas en el capítulo 2 de este escrito. Cada ruta se describirá brevemente a continuación:



Esquema 5: Síntesis del 2-amino-1*H*-bencimidazol. (a) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>·HCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, etanol, 150 °C; (b) H<sub>2</sub>, Niquel Raney al 30%, metanol, t.a.; (c) BrCN, MeOH, 50 °C.

**Ruta A**: Preparación de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (**37**) a partir de 1-cloro-2-nitrobenceno comercial (**34**). **34** fue sometido a una reacción de sustitución nucleofilica aromática ( $S_NAr$ ) en un reactor a presión y 150 °C con metilamina liberada a partir de la reacción de su correspondiente clorhidrato y carbonato de potasio, con lo cual se obtuvo *N*-metil-2nitroanilina (**35**, 84.7%). Más adelante, la reducción catalítica de **35** con Niquel Raney al 30% permitió la síntesis  $N^1$ metilbenceno-1,2-diamina (**36**, cuantitativo). Posteriormente el cierre de anillo de **36** con bromuro de cianógeno en una mezcla metanol/agua a 50 °C y el subsecuente ajuste de pH a 7, resultó en la formación del 2-amino-1*H*-bencimidazol (**37**, 42.6%)




**Esquema 6:** Síntesis del 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida. (**a**) Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF/acetona, 50 °C; (**b**) KOH, etanol/agua, reflujo; (**c**) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>·HCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, agua, 120 °C; (**d**) CDI, NH<sub>3</sub>, DMF, t.a.; (**e**) H<sub>2</sub>, Pd/C al 10%, metanol, t.a.; (**f**) BrCN, metanol, 60 °C.

**Ruta B**: Preparación del 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**157**) a partir de ácido 3-hidroxi-4nitrobenzoico (**38**) comercial. **38** fue dimetilado con sulfato de dimetilo en una mezcla DMF/acetona a 50 °C, lo cual resultó en la formación de 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (**39**, 90%). En el siguiente paso, **39** fue hidrolizado en una mezcla etanol/agua a reflujo con hidróxido de potasio y la mezcla resultante se acidificó a pH = 3 consiguiendo el ácido 3-metoxi-4nitrobenzoico (**40**, 95.7%). Más adelante, mediante el uso de un reactor a presión, **40** fue sometido a una reacción de sustitución nucleofílica aromática (S<sub>N</sub>Ar) a 120 °C con metilamina liberada a partir de la reacción de su correspondiente clorhidrato y carbonato de potasio; terminada la reacción se acidificó a un pH = 1-2 con lo cual se obtuvo el ácido 3-(metilamino)-4nitrobenzoico (**41**, 87.1%). El tratamiento de **41** con CDI en DMF originó el *N*-acilimidazol intermediario el cual, sin aislar, se hizo reaccionar con amoniaco gaseoso burbujeado en la solución de DMF para obtener 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (**42**, 61%). Otros tratamientos como el uso de cloruro de tionilo y PyBOP fueron también probados, sin embargo fue el CDI la mejor elección. **42** fue reducido catalíticamente con Pd/C al 10% en metanol puro para sintetizar la 4-amino-3-(metilamino)benzamida (**43**, cuantitativo). **43** se sometió a un cierre de anillo con bromuro de cianógeno en metanol a 60 °C y el subsecuente ajuste de pH a 7, permitió la obtención de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**44**, 83%).



Esquema 7: Síntesis de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida. (a) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>·HCl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, agua, 120 °C; (b) CDI, NH<sub>3</sub>, DMF, t.a.; (c) H<sub>2</sub>, Pd/C al 10%, metanol, t.a.; (d) BrCN, metanol, 60 °C.

**Ruta** C: Preparación del de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**49**) a partir de ácido 4-cloro-3nitrobenzoico (**45**) comercial. Inicialmente, **45** fue sometido a una reacción de sustitución nucleofilica aromática ( $S_NAr$ ) en un reactor a presión y 150 °C con metilamina liberada a partir de la reacción de su correspondiente clorhidrato y carbonato de potasio; más adelante la mezcla de reacción se acidificó a un pH = 1-2 con lo cual se obtuvo el ácido 4-(metilamino)-3nitrobenzoico (**46**, cuantitativo). El tratamiento de **46** con CDI en DMF originó el *N*-acilimidazol intermediario el cual, sin aislar, se hizo reaccionar con amoniaco gaseoso burbujeado en la solución de DMF para obtener 4-(metilamino)-3nitrobenzamida (**47**, 76%). Otros tratamientos como el uso de cloruro de tionilo y PyBOP fueron también probados, sin embargo fue el CDI la mejor elección. **47** se redujo catalíticamente con Pd/C al 10% en metanol puro para sintetizar la 3-amino-4-(metilamino)benzamida (**48**, cuantitativo). Finalmente, **48** se sometió a un cierre de anillo con bromuro de cianógeno en metanol a 60 °C y el subsecuente ajuste de pH a 7, permitió la obtención de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**49**, 97%).

6.1.2. Secuencia de síntesis para la preparación del 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2il)benzamida, *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol y sus derivados 5(6)-carboxamida

La preparación de los 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida, *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol y sus derivados 5(6)-carboxamida está representada en los esquemas 8-10, donde se desarrollan las rutas utilizadas para la obtención de cada molécula. Como puede observarse, existen 3 rutas y 6 productos finales. Cada ruta se describirá brevemente a continuación:



Esquema 8: Síntesis de 8A y FJBT-1. (a) 2-metoxibenzaldehído, irradiación de microondas a 160 °C; (b) NaBH<sub>4</sub>, metanol, 4 °C; (c) Ácido 2-metoxibenzoico, CDI, DMF, 80 °C

**Ruta A**: Preparación de *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (**8A**) y 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (**FJBT-1**) partiendo del compuesto **37**. En un inicio, el tratamiento de **37** con 2-metoxibenzaldehido bajo irradiación de microondas a 160 °C permitió la formación de (E)-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)metanimina (**50**), el cual, sin tratamiento de purificación alguno, se usó en el siguiente paso. **50** fue suspendido en metanol a 4 °C, agregando lentamente borohidruro de sodio y obteniendo finalmente a **8A** (50%). Con el uso de ácido 2-metoxibenzoico y CDI en DMF se consiguió la síntesis de **FJBT-1** (36%).



Esquema 9: Síntesis de FJBT-2 y FJBT-3. (a) 2-metoxibenzaldehído, irradiación de microondas a 160 °C; (b) NaBH<sub>4</sub>, metanol, 4 °C; (c) Cloruro de 2-metoxibenzoilo, trietilamina, DMF, t.a.

**Ruta B**: Preparación de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**FJBT-2**) y 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**FJBT-3**) partiendo del compuesto 44. Inicialmente, el tratamiento de 44 con 2-metoxibenzaldehido bajo irradiación de microondas a 160 °C permitió la formación de (*E*)-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (**51**), el cual se usó directamente sin tratamiento alguno para el siguiente paso. **51** fue suspendido en metanol a 4 °C, agregando borohidruro de sodio y produciéndose **FJBT-2** (40.6%). La reacción entre **51**, cloruro de 2-metoxibenzoilo y trietilamina en DMF permitió la síntesis de **FJBT-3** (22%).



Esquema 10: Síntesis de FJBT-4 y FJBT-5. (a) 2-metoxibenzaldehído, irradiación de microondas a 160 °C; (b) NaBH<sub>4</sub>, metanol, 4 °C; (c) Cloruro de 2-metoxibenzoilo, trietilamina, acetona, t.a.

**Ruta** C: Preparación de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**FJBT-4**) y 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**FJBT-5**) partiendo del compuesto **49**. El procedimiento fue prácticamente el mismo que la ruta B, sin embargo, para la formación de **FJBT-5** se utilizó acetona para suspender a **49** y el cloruro de 2-metoxibenzoilo.

## 6.2. Acoplamiento molecular (*docking*)

6.2.1. Preparación de la proteína arginasa de *L. mexicana* con diversos inhibidores (claves PDB 4IU0, 4IU1, 4IU4, 4IU5, 5HJ9, 5HJA)

Para tratar la enzima arginasa de *L. mexicana*, inicialmente, cada estructura disponible de la enzima se descargó de http://www.rcsb.org/ en formato ".pdb". La tabla 7, muestra el código de las enzimas, su resolución y el inhibidor con el que se cristalizaron.

Tabla 7: Enzimas descargadas de http://www.rcsb.org/ y sus características.							
Código	Resolución (Å)	Inhibidor					
41U0	1.77	H <sub>3</sub> N, Acido- (2S)-amino-6- boronohexanoico (ABH)					
4IU1	1.95	$H_{3} \overset{+}{\overset{+}{\overset{+}{\overset{+}{\overset{+}{\overset{+}{\overset{+}{+$					
4IU4	1.8	OH H <sub>3</sub> N <sup>+</sup> - - - - - - - - - - - - - - - - - - -					
41U5	1.95	H <sub>3</sub> N <sup>†</sup> NH <sub>2</sub> 0 L-ornitina					
5HJ9	1.28	OH Acido-( <i>R</i> )-2-amino-6-borono-2- [2-(piperidin-1-il)etil]hexanoico					
5HJA	1.65	$\begin{array}{c} \bullet & \overset{\bullet}{NH_3} \\ \bullet & \overset{\bullet}{O} \\ \bullet & \overset$					

Cada estructura se sometió a una preparación previa con Maestro Schrödinger®, cuyo menú "*Protein Prepraration Wizard*" tiene diversos módulos que generaron enzimas útiles para el *docking*, los cuáles se mencionan a continuación:

Preprocesamiento: Examen de la proteína para revisar si no hacen falta átomos, residuos de aminoácidos u otros errores en la estructura, consecuencia de una inadecuada cristalización de la enzima u otros factores; el modulo Prime® produce los residuos faltantes (5HJ9 necesitó esta corrección). Adicionalmente, el módulo Epik® calculó la estructura, conformación y estado de ionización de la enzima conforme a un intervalo determinado de pH (7.0±2.0).

- Revisión y modificación: Eliminación o añadidura de moléculas o átomos presentes en el sistema tales como agua, cofactores, inhibidores, metales, disolventes, etc. En este caso se preparó una versión de cada enzima donde se eliminó toda molécula de agua ya que, como se mencionó en la sección 2.3.1.1, la enzima requiere agua como catalizador, sin embargo, ninguna de las enzimas descargadas mostró tener agua en el sitio activo, sólo en los alrededores de la misma, por lo que se consideró arbitrario dejar agua alrededor del sitio activo sin que, ninguna de ellas tuviera cabida como el catalizador realmente. También se eliminaron los inhibidores, solventes e iones.
- Optimización y refinamiento: El modulo optimiza la red de enlaces de hidrógeno y la orientación de los residuos de asparagina, glutamina e histidina, ya que la orientación de los grupos hidroxilo (o tiol), los grupos carboxamida terminales en asparagina, glutamina y el anillo de histidina no se puede determinar a partir de la estructura de rayos X. Voltear los grupos de amidas terminales y el anillo de histidina puede mejorar las interacciones carga-carga con los grupos vecinos, así como mejorar los enlaces de hidrógeno,<sup>109</sup> mientras que el refinamiento aplica un campo de fuerza, el cual ignora los movimientos electrónicos y calcula la energía de un sistema como una función de las posiciones nucleares solamente (energía potencial).<sup>110</sup> Para este procesamiento se usó el campo de fuerza OPLS\_2005.

Una vez corregida la proteína, se usó el menú "*Receptor Grid Generation*", el cual preparó el sitio activo de la enzima para ser usado en el *docking*. Para ello, este módulo genera el "grid" o la caja donde se centrara el *docking*; para ello solamente se especificaron los residuos del sitio activo que son H114 y H139 (histidinas 114 y 139), D137, D141, D243 y D245 (aspartatos 137,141, 243 y 245)<sup>68</sup> y el tamaño del grid que se utilizó tuvo una dimensión de 15 X 15 X 15 Å.

### 6.2.2. Preparación de los ligantes

Al igual que la proteína, los ligantes tuvieron un tratamiento similar. Para este caso, Maestro Schrödinger® posee el menú denominado "*LigPrep*", el cual determino la conformación con menor energía para **8A** y la serie **FJBT** de diversos ligantes introducidos. Este menú también aplicó un campo de fuerza OPLS\_2005 y utilizó Epik® para calcular los estados de ionización de cada ligante al mismo pH que se utilizó para la proteína. Para tener una referencia de la eficiencia de unión al sitio proteico, entre los ligantes también se incluyeron los diversos inhibidores con los cuáles se cristalizaron las enzimas.

### 6.2.3. Obtención y recopilación de datos

En la obtención de resultados, se utilizó el menú "*Ligand Docking*" de Maestro Schrödinger®, el cual ejecuta el acoplamiento molecular entre la caja y los ligantes minimizados. Este se configuró para obtener resultados XP (extra precisión), ligantes minimizados por Epik® y un campo de fuerza OPLS\_2005. El programa emite una serie de resultados con 2 parámetros fundamentales: "State penalty" (estado de penalización) y XP GScore. Mientras más pequeño sea el valor del estado de penalización más estable y probable será esa conformación y estado de ionización del ligante evaluado, en tanto que para XP GScore, mientras más negativo sea la energía de unión, más estable es la estructura simulada. Cuando del mismo ligante se obtuvieron diversos estados de penalización y XP GScore, se eliminaron los menos estables y con energías de unión poco favorecidas.

### 6.3. Evaluación biológica

En lo referente al estudio de inhibición de arginasa de *L. mexicana*, hubo problemas referentes a la purificación de la enzima. Hasta el momento de la escritura de este texto, se seguía trabajando para purificar la enzima y realizar el experimento. El ensayo en promastigotes de *L. mexicana* se llevó a cabo durante la realización de este texto, pero los resultados no pudieron obtenerse previo al término de este escrito debido a problemas con el crecimiento de los promastigotes, sin embargo, aunque no se incluyan en este texto, son datos que podrían utilizarse a futuro para una publicación. En cuanto al estudio de inhibición en epimastigotes de *T. cruzi*, se presentó un problema similar con el crecimiento de los parásitos, por lo cual, no hubo disponibilidad de los mismos para hacer los ensayos.

# 7 Análisis de resultados

## 7.1. Análisis de la sección química

Para imponer un orden en la presentación de resultados de este trabajo, inicialmente se han colocado dos tablas que engloban los resultados obtenidos en cuanto rendimiento y punto de fusión de materias primas y productos. Estos resultados se muestran en las tablas 8 y 9.

Tabla 8: Características y rendimientos de los compuestos intermediarios sintetizados.								
Compuesto	Disolvente de	Rendimiento Punto de fusión		Punto de fusión	R.f.	Sistema de		
	recristalización	(%)	experimental (°C)	literatura (°C)		elución		
35	Éter de petróleo	84.7%	34.8-35.8	34-35111	0.84	Ι		
	30°-60°/etanol							
36	n/a*	Cuantitativo	n/a*	n/a*	0.52	II		
37	Agua o	60%	204-205	200-202 <sup>112</sup>	0.26	II		
	tolueno/dioxano							
39	n/a*	90%	91.8-92.5	90-93 <sup>113</sup>	0.71	V		
40	Tolueno/metanol	95.7%	226.7-228.7	229-233 <sup>113</sup>	0.34	VI		
41	Etanol	87.1%	275.1-276.4	272.0-272.8 <sup>114</sup>	0.43	VI		
42	Etanol	61%	228.0-228.5	No reportado	0.28	VI		
43	n/a*	Cuantitativo	n/a*	n/a*	n/d**	n/a*		
44	Metanol	83%	308-309	No reportado	0.2	VII		
46	Etanol	Cuantitativo	303.5-305.0	303-305 <sup>115</sup>	0.47	VI		
47	Etanol	76%	249.9-251.5	242.9-243.5 <sup>116</sup>	0.28	VI		
48	n/a*	Cuantitativo	n/a*	n/a*	n/d**	n/a*		
49	Metanol	97%	308-309	No reportado*	0.2	VII		

n/a = No aplica

\*\*n/d = No determinado

Tabla 9: Características y rendimientos de los compuestos finales sintetizados.								
Compuesto	Disolvente de	Rendimiento	Punto de fusión	Punto de fusión	R.f.	Sistema de		
	recristalización	(%)	experimental	literatura (°C)		elución		
			(°C)					
50	n/a*	n/d*	n/d**	No reportado	0.7	IV		
8A	Metanol	50	164.1-165.4	165.9-166.5 <sup>211</sup>	0.2	IV		
FJBT-1	Metanol	36	145.5-147.3		0.54	III		
51	n/a*	n/d**	n/d**		0.66	VII		
FJBT-2	Metanol	40.6	230.7-232.7		0.6	VII		
FJBT-3	Ciclohexano/metanol/etanol	22	282.4-284.0	No reportado	0.6	VII		
52	n/a*	n/d**	n/d**		0.62	VII		
FJBT-4	Ciclohexano/metanol/etanol	35.3	227.3-228.4		0.6	VII		
FJBT-5	Metanol	30.63	238.0-239.1		0.6	VII		

\*n/a = No aplica

\*\*n/d = No determinado

En lo referente a la parte sintética, en la sección 6.1. se mostró una serie de esquemas donde se podía apreciar las rutas que se siguieron para obtener los compuestos bencimidazólicos deseados. Al observarlos detenidamente, se infiere que todo el proceso ahí descrito se puede resumir en 5 pasos:

- (a) Preparación de intermediarios
- (b) S<sub>N</sub>Ar (Sustitución Nucleofilica Aromática) con clorhidrato de metilamina
- (c) Síntesis de carboxamidas
- (d) Reducción del grupo nitro y cierre de anillo con bromuro de cianógeno
- (e) N-arilación
- (f) Aminación reductiva

El paso (a) de la preparación de intermediarios, implicó la formación de una molécula susceptible a una S<sub>N</sub>Ar. Para la síntesis de **8A** y **FJBT-1**, este paso fue omitido, dado que en el mercado existía la materia prima necesaria: 1-cloro-2nitrobenceno. En el caso de **FJBT-4** y **FJBT-5** fue un caso similar, el mercado también proporcionó la molécula de partida necesaria: ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico. Sin embargo, para **FJBT-2** y **FJBT-3** no existía una materia prima adecuada que permitiera una S<sub>N</sub>Ar y, por tanto, debía prepararse. Para ello, decidió utilizarse la metodología reportada por Pérez<sup>114</sup>, la cual procede inicialmente con una doble alquilación del ácido 3-hidroxi-4-nitrobenzoico (**38**) con sulfato de dimetilo para obtener el 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (**39**); posteriormente este se hidrolizó al ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (**40**) con KOH en medio etanol/agua. Los rendimientos obtenidos fueron 90 y 95.7% respectivamente, por lo cual se obtuvo la materia prima necesaria para la S<sub>N</sub>Ar con buenos rendimientos; lo anterior se recoge y aprecia en el esquema 11.



**Esquema 11**: Síntesis de **40** como materia prima para S<sub>N</sub>Ar. (**a**) 2.2 equivalentes de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2.4 equivalentes de sulfato de dimetilo, acetona/DMF (75:25), 45-50 °C por 3 horas; (**b**) 1.6 equivalentes de KOH, etanol/agua (60:40), reflujo por 2 horas,  $H_2SO_4$ .

De primera instancia, podría parecer que sería factible realizar la  $S_NAr$  con clorhidrato de metilamina sobre el sustrato **39**, pero Soria<sup>117</sup> reporta que partir de tal molécula conduce a la formación de una mezcla entre **40** y *N*-metil-3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (**53**) bajo las condiciones mostradas en el esquema 12, por lo cual fue necesario hidrolizar a **39**.



Esquema 12: Obtención de 41 y 53 al partir de 39. (a) 5 equivalentes de NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>·HCl, 4 equivalentes de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, metanol, 140 °C por 48 horas, solución acuosa de HCl.

Para el paso (b), referente a las  $S_NAr$ , se contaron con las 3 materias primas base antes mencionadas. En el caso de la  $S_NAr$  de 1-cloro-2-nitrobenceno (**34**) con clorhidrato de metilamina, se utilizó la técnica reportada por Martinez<sup>118</sup>, obteniendo un rendimiento de 84.7%; en el caso del ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (**41**) se siguió la metodología reportada por Pérez y Soria<sup>114, 117</sup>, pero se hizo una modificación con respecto a la temperatura. Pérez y Soria reportan una temperatura de 105 °C y 3 equivalentes de la amina antes mencionada; en el trabajo aquí reportado se utilizaron 3 equivalentes y una temperatura de 120 °C, resultando en un tiempo de 34 horas y un rendimiento de 87.1%. Finalmente, para el caso del ácido 4-cloro-3-

nitrobenzoico (45), se utilizó la misma metodología que para 41 y con buenos resultados: 9 horas de calentamiento a  $120 \,^{\circ}$ C y un rendimiento cuantitativo, hecho que puede explicarse a que el cloro es un mejor grupo saliente que el metoxilo. Todo esto se resume en el esquema 13.



**Esquema 13**: Síntesis de los intermediarios de la sección de  $S_NAr$ . (a) 3 equivalentes de  $NH_2CH_3 \cdot HCl$ , 3 equivalentes de  $K_2CO_3$ , etanol, 150 °C por 5 horas; (b) 3 equivalentes de  $NH_2CH_3 \cdot HCl$ , 4 equivalentes de  $K_2CO_3$ , agua, 105 °C por 5 días, solución acuosa de HCl; (c) 3 equivalentes de  $NH_2CH_3 \cdot HCl$ , 4 equivalentes de  $K_2CO_3$ , agua, 105 °C por 48 horas, solución acuosa al 20% de HCl; (d) 3 equivalentes de  $NH_2CH_3 \cdot HCl$ , 4 equivalentes de  $K_2CO_3$ , agua, 120 °C por 34 horas,  $H_2SO_4$ .

En lo concerniente al paso (c), de la síntesis de amidas, hay mucho que explicar con respecto a la síntesis de las carboxamidas. Inicialmente, se buscó en la literatura alguna metodología que permitiera reemplazar el grupo carboxílico de 41 y 46 por una carboxamidas. Altieri<sup>119</sup> y McClure<sup>120</sup> reportan la síntesis de las carboxamidas antes mencionadas: 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42) y 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47), sin embargo, no dan especificaciones técnicas de las cantidades y tiempo de reacción; McClure reporta el uso del SOCl<sub>2</sub> para formar el cloruro de ácido correspondiente y el posterior burbujeó de NH<sub>3</sub>, pero no brinda más detalles.

Con ello con antecedente, tanto el ácido 3-metilamino-4-nitrobenzoico (41) como el ácido 4-metilamino-3-nitrobenzoico (46) se trataron bajo una misma metodología:

- Se suspendieron en tolueno con agitación vigorosa, añadiendo 3 equivalentes de cloruro de tionilo y calentando a 90
   °C con un baño de aceite y siguiendo el avance de la reacción formando el éster del cloruro de ácido que se formaba;
   el seguimiento mostró que a las 14 y 16 horas, respectivamente, las materias primas se habían agotado. Una
   modificación posterior, añadiendo 3 gotas de DMF a la mezcla de reacción, permitió que el tiempo de síntesis se
   redujera a 1 hora y sólo se necesitaran 2 equivalentes de SOCl<sub>2</sub>.
- La destilación de la mezcla de SOCl<sub>2</sub> a 90-140 °C, permitió retirar la mayoría del tolueno y cloruro de tionilo; la mezcla se suspendió en 100 mL de DMF y se le burbujeó amoniaco.
- La eliminación de la DMF por destilación y la añadidura de una solución acuosa de hidróxido de potasio solubilizó a la materia prima que no reaccionó y el sólido que no se solubilizó se filtró a vacío; este se recristalizó y se le midió el punto de fusión.

La aplicación de esta metodología permitió obtener, en el caso de **41**, un sólido con un punto de fusión de 338.5-340.0 °C, mientras que **46** produjo un sólido cuyo punto de fusión fue de 146.7-147.7 °C. Ambos se sometieron a RMN de <sup>1</sup>H; también se utilizó EM (espectrometría de masas). Todo esto se resume en el esquema 14.



Esquema 14: Resumen de la metodología para la síntesis de carboxamidas a partir de 41 y 46. (a) 3 equivalentes de SOCl<sub>2</sub>, tolueno, 90 °C por 14 y 16 horas; (b) Calentamiento en metanol; (c) Burbujeó de NH<sub>3</sub>, DMF, t.a.

Si bien no se dedujo la estructura de las moléculas obtenidas, hubo varios indicios de que no se obtuvieron las moléculas deseadas. En primer lugar, el espectro de RMN <sup>1</sup>H brindó algunas pistas. En la figura 26, se puede apreciar el espectro de RMN <sup>1</sup>H de ambos compuestos y las constantes de acoplamiento J de cada uno.

Examinando la Figura 26, puede verse en el primer espectro, el cual fue sintetizado a partir de **41**, algunos detalles importantes. En la zona correspondiente de 8 ppm en adelante, no se ve ninguna señal que corresponda al protón del ácido carboxílico del que se partió, por lo que se deduce que hubo una reacción en esa zona de la molécula. En la zona que corresponde a 7-8 ppm se aprecian un conjunto de señales que corresponden a 3 posiciones de un anillo bencénico: 7.29-7.31 (dd,  $J_1 = 8.4$  Hz,  $J_2 = 1.72$  Hz), 7.73-7.73 (d, J = 1.68 Hz) y 7.94-7.96 (d, J = 8.4 Hz). La primera señal denota un protón que presenta una interacción *orto* y *meta*, la segunda es una interrelación *meta* de un protón y, finalmente, la tercer señal presenta una constante de acoplamiento que infiere la presencia de una interacción *orto*, por lo que la estructura básica del anillo de este derivado parece conservarse. Sin embargo, cuando se analiza el intervalo de 7-8 ppm no existen dos señales determinantes que indicaran la presencia del producto deseado: una señal que integrara para el protón N-H aledaño al grupo nitro y una señal o señales que integraran para los 2 protones de una carboxamidas CO-NH<sub>2</sub>. Tales señales no se encuentran e indican dos cosas: que el grupo carboxamidas no está presente en la estructura química aquí caracterizada y que el grupo 3-metilamino reaccionó durante el proceso de obtención de la molécula deseada.

Finalmente, a 3.57 ppm aparece una señal que integra para 10 protones, lo cual no resulta en nada congruente con la materia prima o la molécula objetivo, ya que a 3.34 ppm aparece una señal que integra para los 3 protones del grupo 3-metilamino (HN-CH<sub>3</sub>).



La evidencia presente aquí, se complementa con la encontrada al usar espectrometría de masas DART. En la figura 27 puede apreciarse el espectro de masas en baja resolución del derivado de **41** y, como puede verse, ningún pico corresponde a una m/z de 195+1; hay que recordar que DART promueve la formación de iones de baja energía y, por lo tanto, no hay una gran fragmentación de la molecula,<sup>121</sup> con lo cual suele identificarse fácilmente el ion molecular correspondiente a la molécula buscada. El análisis antes descrito se resume en la figura 28.



Figura 27: Espectro de masas de baja resolución DART para el compuesto sintetizado a partir de 41.



#### Sintetizado a partir de 41

Figura 28: Análisis de la estructura del derivado de 41.

Un vistazo nuevamente a la figura 26, remite al lector al espectro que corresponde al compuesto sintetizado a partir de 46. Al igual que 41, presenta algunos detalles similares. En la zona correspondiente de 8 ppm en adelante, no presenta ninguna señal que corresponda al protón del ácido carboxílico del que se partió. En la zona de 7-9 ppm se aprecian un conjunto de señales similares a 41 y que corresponden a 3 posiciones de un anillo bencénico cuya estructura básica no ha sido alterada: 7.08-7.10 (d, J = 9.08 Hz), 8.03-8.05 (dd,  $J_1 = 9.06$  Hz,  $J_2 = 2.04$  Hz) y 8.73-8.73 (d, J = 2.08 Hz). La primera señal denota un protón que presenta una interacción *orto*, la segunda es una interrelación *orto* y *meta* de un protón y, finalmente, la tercer señal tiene una constante de acoplamiento que infiere una interacción *meta*. A diferencia de 41, este espectro presenta una señal en 8.48 ppm que indica la presencia del grupo 4-metilamino N-H, sin embargo, en el intervalo de 7-9 ppm no presenta alguna señal que indique grupos carboxamidas. En 3.14-3.16 ppm, existe una señal que integra para 3 protones, los cuáles corresponden al grupo 4-metilamino HN-CH<sub>3</sub>; existe una señal en 3.86 ppm que no fue capaz de asociarse a un grupo en específico de la molécula en cuestión. La evidencia aquí presentada indica que, aunque no reaccionó el grupo amino, el grupo ácido sufrió una transformación química que no fue la conversión a la carboxamidas deseada. Esto se complementa con lo encontrado en la

espectrometría de masas DART. En la figura 29 puede apreciarse el espectro de masas en baja resolución del derivado de **46** y no hay una m/z de 195+1. Más importante aún, Lopez<sup>116</sup> reporta un punto de fusión totalmente diferente al obtenido experimentalmente: 242.9-243.5 °C contra 146.7-147.7 °C La relación m/z parecería indicar que se obtuvo el éster metilico de **46** (210.1867 g/mol); el punto de fusión también parecería apuntar a dicha conclusión (145.2-146.7 °C)<sup>122</sup>, pero hay dos detalles que contradicen esta teoría, el primero es que no se usó metanol durante la purificación de este compuesto y al determinar el Rf en el sistema V ambas sustancias no eluyeron igual: el éster de **46** tiene un Rf = 0.62 y el derivado desconocido de **46** es 0. El análisis antes descrito se resume en la figura 30.



Figura 29: Espectro de masas de baja resolución DART para el compuesto sintetizado a partir de 46.



Sintetizado a partir de 46 Figura 30: Análisis de la estructura del derivado de 46.

Las evidencias anteriores mostraron que el uso de  $SOCl_2$  no fue la mejor opción para sintetizar las carboxamidas 42 y 47 y, factores como la temperatura de destilación del  $SOCl_2$ , la entrada de humedad al sistema durante el enfriamiento del sistema de destilación y la alta insolubilidad de la materia prima y el cloruro de ácido resultante fueron factores determinantes para que esta vía no fuera factible. Más detalles se describen en el capítulo 10. Por ello, se optó buscar otras vías y, en este caso, se ideó el uso de agentes acoplantes. En primera instancia se usó PyBOP, cuya metodología implicó el uso de formamida como medio para solvatar en la mayor medida posible todos los reactivos ya que, como se ha mencionado, los ácidos 41 y 46 son muy insolubles. Sin embargo, a diferencia de la técnica anterior que burbujeaba el amoniaco desde un aparato externo, aquí

se buscó crear *in situ* el mismo a través de una sal de amonio, ya que el burbujeó por esta vía tuvo dificultades en la continuidad del flujo. **41** y **46** se sometieron a la misma nueva metodología: cada uno se depositó en formamida y se añadieron 2 equivalentes de trietilamina para solvatar el ácido en el medio. Más adelante se añadió PyBOP para formar el aducto en el medio, todo bajo atmósfera de nitrógeno. Al igual que la metodología con SOCl<sub>2</sub>, a esta reacción se le dio seguimiento formando el éster con metanol. Más adelante se añadieron 3 equivalentes de trietilamina, para liberar los 5 equivalentes de amoniaco de su respectiva sal. Depositada la sal de amonio y asegurado el estatus de consumo de materia prima por CCF, se agregó hielo molido para precipitar del medio al compuesto sintetizado. Si bien, la CCF mostró un consumo casi total de las materias primas **41** y **46**, gran parte de los productos obtenidos quedaron atrapados en la formamida. Lo obtenido se cristalizó en etanol y se determinaron puntos de fusión. Todo se resume en el esquema 15.



**Esquema 15**: Síntesis de carboxamidas a partir de **41** y **46**. (**a**) 2 equivalentes de N(Et)<sub>3</sub>, 1.1 equivalentes de PyBOP, formamida, t.a. por 2 horas; (**b**) Calentamiento en metanol; (**c**) 3 equivalentes de N(Et)<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, t.a. por 2 horas.

Para el caso de **42** y **47**, la literatura no da referencias de estos compuestos para poder corroborar su síntesis; Altieri<sup>119</sup> y McClure<sup>120</sup> no dan detalles, por lo que se decidió determinar las estructuras de los productos obtenidos a través de la RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C y la espectrometría de masas DART. Sólo se analizara a **47**?, ya que la resolución de **155** sería prácticamente la misma. En la figura 31 se puede observar el espectro RMN <sup>1</sup>H de **47**?, así como una versión en D<sub>2</sub>O.

Una mirada a la figura 30, en el espectro realizado sin  $D_2O$  permite empezar a deducir varias cosas. De 8 ppm en adelante, no hay señal alguna que pudiera denotar la presencia del ácido carboxílico de la materia prima, por lo que se deduce que tal grupo ya no está presente. De 7-9 ppm se aprecian un conjunto de 5 señales: 6.99-7.01, 7.26, 7.98, 8.01-8.03, 8.38-8.41, 8.65-8.65 ppm. Es bien sabido que señales provenientes de protones de aminas o de amidas suelen tener un aspecto ancho y poco definido, sin embargo, es un criterio insuficiente para la asignación e identificación de las señales provenientes de tales grupos. Para ello, se decidió hacer un experimento con  $D_2O$ , el cual disminuye la intensidad de protones intercambiables en el experimento de RMN. En este se puede observar un cambio que debe mencionarse. El primero de ellos es la disminución en la integración de señales, ya que el espectro normal, para la señal simple 7.26 ppm integra para 0.97 protones; su análogo en el espectro con  $D_2O$ , 7.28 ppm, integra para 0.3 protones.



Algo similar sucede con las señales 7.98 y 8.38-8.41 ppm y sus análogos 8.03 y 8.39-8.40 ppm respectivamente; la primera señal esta sobrepuesta con otra pero ambas integran para 1.94 protones, a diferencia del experimento con D<sub>2</sub>O donde la integración disminuye a 1.48 protones y la segunda señal integra para 1.01 protones en el espectro sin D<sub>2</sub>O y 0.91 protones en la otra modalidad, por lo que se deduce que éstas 3 entidades corresponden al grupo 4-metilamino y la carboxamida correspondiente. Las señales restantes describen una estructura bencénica con 3 sustituyentes y 3 posiciones libres: 6.99-7.01 ppm (d, J = 8.72 Hz, *orto*), 8.01-8.03 ppm (dd,  $J_1 = 9.04$  Hz,  $J_2 = 2.12$  Hz, *orto* y *meta*) y 8.65-8.65 ppm (d, J = 2.16 Hz, *orto*). Si bien, éstas características e información obtenidas a partir del espectro de RMN <sup>1</sup>H resulta en la clara obtención del compuesto deseado, dos pruebas más resultaron determinantes para afirmar que el compuesto obtenido era el deseado: punto de fusión y espectrometría de masas DART. El punto de fusión obtenido de manera experimental fue de 249.9-251.5 °C, el reportado por Lopez<sup>116</sup> fue de 242.9-243.5 °C; si bien hay una diferencia importante entre ambos datos, DART en baja resolución despejó toda duda al obtener un pico base con una *m/z* de 195+1. El análisis anteriormente explicado y el espectro de masas DART se muestran en la figura 32. Como añadidura, en IR, las bandas 3452.31 (N-H, CONH<sub>2</sub>), 3342.21 (N-H, NHCH<sub>3</sub>) y 1624.88 (C=O) las que corroboraron grupos funcionales clave.



Figura 32: Espectro de masas de baja resolución DART para el compuesto 47 y análisis de su estructura por RMN<sup>1</sup>H.

Una vez corroborada la obtención de **42** y **47** por la metodología con PyBOP, se buscó la manera de optimizar los rendimientos, ya que los obtenidos fueron bajos (18 y 36% respectivamente). Para ello se dispuso de otro agente acoplante: CDI (1,1'-carbonildiimidazol). Sin embargo, el burbujeó de amoniaco no había quedado resuelto; la metodología de Lopez<sup>116</sup> permitió superar esta situación: una solución de hidróxido de amonio a la cual se le añadía lentamente granalla de hidróxido de sodio proporcionaba un flujo constante de este gas al sistema. Cabe añadir que, a diferencia del PyBOP, el CDI formo aductos mas solubles de **41** y **46**, por lo que fue posible usar DMF como disolvente, el cual si puede ser removido con un rotaevaporador estándar a diferencia de la formamida. Los rendimientos obtenidos por esta vía demostraron la superioridad de esta metodología: 61% para **42** y 76% para **47**.

En lo concerniente al inciso (**d**), en la reducción del grupo nitro y el cierre del anillo con bromuro de cianógeno, se utilizó una variación de la metodología reportada por Mateus<sup>102</sup> para **36-37** y una variación en el procedimiento de Charnley<sup>123</sup> para **43-44** y **48-49**. En todos los casos, no se aislaron los derivados de la *o*-fenilendiamina previo al cierre del anillo, debido a su sensibilidad a la luz y al oxígeno. El 2-amino-1*H*-bencimidazol y sus derivados se precipitaron con una solución al 10% de hidróxido de potasio en un baño de hielo. Los rendimientos de **37**, **44** y **49** fueron de 60, 83 y 97% respectivamente, los cuáles se consideran buenos. El compuesto **37** ya se encuentra reportado en la literatura y tanto el punto de fusión como la RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y espectrometría de masas DART corroboraron rápidamente la identidad de este compuesto, sin embargo, en cuanto a **44** y **49** no hay literatura que indique propiedades y/o características de éstas sustancias. Unicamente Charnley<sup>123</sup> hace mención de las características espectroscópicas del bromhidrato de **49**. Por ello, se abordara brevemente la elucidación de la estructura de **49**. Inicialmente, al igual que con el análisis de **47**, se obtuvo un espectro de RMN <sup>1</sup>H con D<sub>2</sub>O y uno con D<sub>2</sub>O, los cuáles se muestran en las figuras 33 y 34. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H se pueden apreciar varias señales: 3.51, 6.57, 7.06, 7.13-7.15, 7.51-7.53, 7.71-7.72 y 7.79 ppm. Rápidamente, se puede ubicar la señal simple en 3.51 ppm como el metilo en posición 1 del 2-aminobencimidazol en cuestión. Por la forma y tamaño de las señales, 6.57, 7.06 y 7.79 ppm parecen ser los candidatos que apuntan al grupo 2-amino del anillo y al grupo funcional carboxamida ubicado en la posición 5; las señales integran para 1.88, 0.9 y 0.82 protones respectivamente.



Figura 33: Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 49 en DMSO-d<sub>6</sub> sin D<sub>2</sub>O.

Al remitirse al espectro con  $D_2O$ , puede observarse que las señales 6.54, 7.06 y 7.84 ppm, tienen una muy baja intensidad y son análogas a las señales simples antes mencionadas en el espectro de RMN <sup>1</sup>H sin  $D_2O$ , sin embargo, integran para 0.2, 0.13 y 0.15 protones respectivamente, deduciéndose que son las señales que pertenecen a protones intercambiables; se concluye que 6.57 ppm pertenece a los 2 protones del grupo 2-amino en el bencimidazol y 7.06, 7.79 ppm son del grupo carboxamida.



Figura 34: Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 49 en DMSO-d<sub>6</sub> con D<sub>2</sub>O.

En cuanto al resto de las señales, éstas siguen un patrón muy parecido al que se obtuvo en la deducción de la estructura de **47**: una señal doble de dobles que pertenece a una interacción *orto* y *meta* y dos señales dobles que pertenecen a una interacción orto y meta respectivamente; esto se ve ilustrado en las constantes de acoplamiento *J* calculadas para cada conjunto de señales: 7.13-7.15 (d, J = 8.24 Hz), 7.51-7.53 (dd,  $J_1 = 8.2$  Hz,  $J_2 = 1.64$  Hz) y 7.71-7.72 (d, J = 1.48 Hz). El análisis de dicha molécula se resume en la figura 35. Adicionalmente, en IR, las bandas 3460.29 (N-H, CONH<sub>2</sub>), 3353.18 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 2750.76 (C-H, NCH<sub>3</sub>), y 1678.61 (C=O) corroboraron grupos funcionales clave.



Figura 35: Análisis de la estructura de 49.

Finalmente, para corroborar la estructura de 49, se remitió al espectro de masas DART, el cual presenta el pico y relación m/z = 190+1. Este se puede ver en la figura 36.



Figura 36: Espectro de masas de baja resolución DART para el compuesto 49.

Para el inciso (e), la N-arilación tuvo varias facetas. En el caso de la síntesis de FJBT-1, sólo se halla reportado una vez en la literatura<sup>124</sup>, sin embargo, la metodología reportada aquí no es por una N-arilación; tampoco se reporta el punto de fusión del mismo, por lo que se buscó una vía rápida y sencilla para obtener el producto deseado a partir de 37. Para la obtención de FJBT-1 se utilizó una variación de la técnica de Liu<sup>125</sup> usando CDI y un calentamiento a 80 °C. El rendimiento obtenido por esta vía fue de 36%. Los datos espectroscópicos indican varias evidencias que demuestran la obtención de FJBT-1. La primera de ellas es la mostrada en la RMN <sup>1</sup>H, donde la cantidad de protones para los cuáles integran las señales corresponden a los 16 que presenta la estructura, especialmente 2 señales simples en 10.6324 y 12.5812 ppm, las cuáles pertenecen al protón de la carboxamida que funge como conector en la molécula. Esto puede observarse en el trabajo de Wang<sup>124</sup> y el espectro obtenido de dicha molécula. Para corroborarlo, se hizo un estudio con D<sub>2</sub>O, en donde las señales antes mencionadas desaparecieron debido al intercambio producido entre los protones de la molécula y el agua deuterada. Lo anterior se puede resumir en la figura 37. Además, un breve análisis de cada conjunto de señales deja ver que concuerdan con la estructura: 7.02-7.06 (H17) aparece como una señal triple, pero realmente es una señal doble de doble de dobles (ddd) que no se desdoblo bien durante el experimento; 7.12-7.14 (H15) se muestra como una señal doble, pero realmente es una señal doble de dobles (dd); 7.19-7.27 (H6 y H7) se aprecia como un multiplete cuando realmente son 2 señales ddd que se encimaron, muestra de ello se puede observar en el espectro de la RMN<sup>1</sup>H de la materia prima 37, donde las señales ddd 6.91-6.95 (H5) y 6.95-7.00 (H6) del espectro 7 (ver anexos) muestran un gran parecido con las señales antes mencionadas, sin embargo éstas si se desdoblaron y su comparación puede apreciarse en la figura 38; 7.47-7.48 (H8 y H16) hay un multiplete que realmente implica un señal dd traspuesta con una ddd; 7.555-7.573 (H5) se muestra como un dd, lo que cuadra con el resultado teórico; 7.75-7.78 (H18) aparece como un dd, el cual se apega a lo teórico. Sin embargo, RMN <sup>13</sup>C sólo mostró 10 de 16 carbonos presentes en la estructura, sin embargo, esto se puede explicar a que los 6 restantes son carbonos cuaternarios, cuyo tiempo de relajación no permite la aparición de una señal en el espectro. Esto aplica para C2, C4, C9, C12 y C13. En el caso de C5, el cual no es cuaternario, no hay una explicación neta de porque no apareció una señal, salvo que el experimento de RMN pudo no dejarse el tiempo suficiente para que este arrojara un dato, lo cual pondría en duda la obtención de la molécula, sin embargo la espectrometría de masas DART de baja y alta resolución aclaran todo esto en la figura 39. Para corroborar los grupos funcionales, las bandas de IR 3321.35 (N-H, NHCO), 1551.60 (C=O) fueron claves.







**Figura 38**: (a) Espectro de RMN <sup>1</sup>H en **DMSO-***d*<sub>6</sub> de la materia prima **37** con 2 señales ddd; (b) Espectro de RMN <sup>1</sup>H en **DMSO-***d*<sub>6</sub> de **FJBT-1**.



Figura 39: Espectros de masas DART de baja y alta resolución de FJBT-1.

Para la correcta asignación de cada carbono y su respectivo hidrógeno, se utilizaron los experimentos de dos dimensiones COSY, HSQC y HMBC. La correspondiente asignación se puede observar en el capítulo 10 de este documento, pero se colocara un ejemplo de interacción <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C por HMBC, entre **H19** y **C14** lo que muestra la existencia de un fragmento bencílico unido al núcleo de 2-amino-1*H*-bencimidazol (figura 40).



Figura 40: Interacción <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C por HMBC en FJBT-1, entre H19 y C14.

En lo referente a la N-arilación de los intermediarios 44 y 49, cada uno se sometió a diversos procedimientos:

- 44 se disolvió en DMF a 60 °C debido a su insolubilidad; una vez frio se añadió trietilamina y una mezcla DMF/cloruro de 2-metoxibenzoilo en atmósfera de nitrógeno. La reacción procedió en una hora y varias recristalizaciones con carbón activado y en metanol/etanol/ciclohexano permitió un 22% de rendimiento.
- 49 se colocó en acetona a temperatura ambiente y se procedió prácticamente de la misma manera que con 44, sólo que se usó una mezcla acetona/cloruro de 2-metoxibenzoilo; todo bajo atmósfera de nitrógeno. La reacción también procedió en una hora y varias recristalizaciones permitieron un rendimiento de 35.3%.

En la literatura no existía ningún procedimiento para obtener estos productos por algún método, sin embargo el uso de un buen disolvente que pudiera solubilizar a 44 y 49, permitió diseñar una metodología relativamente simple para obtener FJBT-3 y FJBT-4. Cabe destacar que 44 es menos insoluble que 49, por lo que 49 pudo disolverse parcialmente en acetona a temperatura ambiente y proceder con la reacción antes descrita. Los bajos rendimientos aquí mostrados son consecuencia de las múltiples recristalizaciones, ya que era difícil decolorar los productos y los múltiples grupos funcionales donadores de electrones como las carboxamidas y los nitrógenos del anillo de bencimidazol provocaban la retención del producto en la celita que se usó para eliminar el carbón activado.

Dada la naturaleza novedosa de la serie **FJBT**, es de esperar que los tales no se encuentren reportados en alguna fuente de información, por lo que información como el punto de fusión no puede ser usado y la identificación de estos depende únicamente de las herramientas espectroscópicas y espectrométricas. Sin embargo, en el caso de **FJBT-3** y **FJBT-4** la resolución de la RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C fue muy baja debido a los múltiples equilibrios tautoméricos presentes en ambos compuestos; en el esquema 16 se puede observar, por cuestiones de practicidad, los múltiples equilibrios de **FJBT-3**. En RMN <sup>1</sup>H, ambos productos tuvieron los hidrógenos que demanda su estructura, sin embargo las señales presentaron débiles o nulos desdoblamientos, dándose en su lugar señales anchas; RMN <sup>13</sup>C presentó señales muy débiles y pequeñas, apenas visibles pero posibles de determinar; los experimentos bidimensionales COSY, HSQC y HMBC también resultaron afectados, especialmente HMBC y, por tanto sólo se pudieron asignar algunos carbonos e hidrógenos con base en la información con la que se disponía. Todo lo anterior, excepto los espectros bidimensionales que se pueden ver en el anexo, se resume en los espectros de **FJBT-3** en la figura 41. Experimentos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C con gradiente de temperatura podrían resolver este problema, los cuáles no pudieron ser llevados a cabos por motivos de tiempo y equipo.



Esquema 16: Múltiples equilibrios tautoméricos que suceden en el compuesto FJBT-3.



Debido a la baja resolución del experimento bidimensional HMBC, se usó el HSQC y COSY para asignar, de manera parcial, las señales de los átomos de carbono e hidrógeno. Espectroscópicamente hablando, las señales más palpables de que se obtuvo el producto deseado son 4:

- Existen, tanto para FJBT-3 como FJBT-4, 16 hidrógenos y 17 carbonos según los espectros obtenidos.
- Las señales en RMN <sup>13</sup>C 165.64 y 168.13 ppm, indican la presencia de 2 grupos carbonilo, pertenecientes a las carboxamidas.
- Un experimento con D<sub>2</sub>O disminuyo e inclusive desapareció señales pertenecientes a protones amidicos (figura 42).
- Las bandas en IR 3356.51, 3272.52 (N-H, NHCO) y 1666.80, 1657.52 (C=O) demostraron la existencia de los grupos funcionales clave para la determinación de la molécula.



Figura 42: Experimento RMN <sup>1</sup>H en DMSO-*d*<sub>6</sub> con D<sub>2</sub>O en FJBT-3; los círculos azules marcan las señales que desaparecieron o disminuyeron sus intensidades.

Finalmente, espectrométricamente hablando, DART revela la masa correcta del compuesto **FJBT-3**; sucediendo algo similar con **FJBT-4**; esto comprueba, sin lugar a dudas, que los compuestos deseados fueron los obtenidos. Estos datos se pueden consultar en los anexos y/o en capitulo 10 de este documento.

El último inciso por abordar es la animación reductiva (**f**). Inicialmente, se buscó en la literatura metodologías que permitieran la formación de la imina por condensación del 2-aminobencimidazol **44** y/o **49** y su posterior reducción. Las principales fuentes de información para esto fueron Maldonado<sup>100</sup> y Mateus<sup>102</sup>; en ambos trabajos se maneja calentamiento en tolueno a 120 °C con una trampa Dean-Stark para remover el agua resultante de la condensación entre el aldehído y el respectivo 2-aminobencimidazol, sin embargo los tiempos de reacción son de varios días e inclusive, según el reporte de los autores, no concluía la misma, por lo que se descartó dicha metodología. A pesar de ello, Maldonado contaba con una sección extra de

síntesis que empleaba la irradiación microondas como una fuente alternativa al problema planteado anteriormente en la síntesis, reportando buenos rendimientos y tiempos cortos de síntesis, entre 15 y 30 minutos. El uso de cantidades equimolares de aldehído y amina en DMF, 3 equivalentes de ortoformiato de metilo para eliminar agua e irradiación de microondas parecía una buena opción. Los primeros intentos mostraron la obtención de múltiples subproductos no identificados y poco consumo de materia prima en 1 hora de reacción, lo que descartó rápidamente esta opción. Además, la presión del sistema de microondas se elevaba mucho; el equipo de microondas soporta 30 bares de presión y la utilización de las condiciones descritas por Maldonado provocaba presiones de 17-20 bares.

Con todo lo anterior, se decidió hacer una variación de la técnica de Maldonado, utilizando *o*-anisaldehído como disolvente en lugar de DMF; esto requirió que por cada equivalente del 2-aminobencimidazol se utilizaran entre 3.65 y 4.7 equivalentes de aldehído. El calentamiento a 160 °C de esta mezcla con una rampa de 3 minutos por tiempos de 20-30 minutos permitió la obtención de la iminas deseadas con pocos subproductos. La adición de tolueno a la mezcla de ambos productos permitió la precipitación de sólidos que, inmediatamente, se filtraron y se suspendieron en metanol a 4 °C con la posterior adición de 3 equivalentes de NaBH<sub>4</sub>, acorde a las metodologías de Mateus y Maldonado. Las iminas no se aislaron ni caracterizaron por su sensibilidad a la humedad; dejar un poco de éstas sustancias expuestas a la intemperie por 1-2 horas provocaba su descomposición. Los rendimientos de reacción fueron 50% para **8A**, 40.6% para **FJBT-2** y 30.63% para **FJBT-5**. Puede observarse que los rendimientos para **FJBT-2** y **FJBT-5** fueron bajos; sucedió un hecho similar al descrito por **FJBT-3** y **FJBT-4**: múltiples recristalizaciones para decolorar el producto y retención en la celita utilizada para eliminar el carbón activado. Todo lo anterior se resume en el esquema 17.



Esquema 17: Resumen de la metodología para sintetizar 8A, FJBT-2 y FJBT-5 por aminación reductiva de 37, 44 y 49. (a) 1 equivalente de 2-metoxibenzaldehído, 3 equivalentes de ortoformiato de metilo, DMF, 160 °C, 15-30 minutos; (b) 3.65-4.7 equivalente de 2-metoxibenzaldehído, 160 °C, 20-30 minutos; (c) 3 equivalentes de NaBH<sub>4</sub>, metanol, 4 °C, 1 hora.

A diferencia de los intermediarios **44** y **49**, de los cuáles se hizo una descripción espectroscópica relativamente exhaustiva, la descripción espectroscópica de **8A**, **FJBT-2** y **FJBT-5** será más bien breve, ya que se ha visto a lo largo de este análisis de resultados que la espectrometría de masas DART de baja y alta resolución ha despejado toda duda en la obtención de los productos deseados y aquí no es la excepción. Los datos espectrométricos DART confirmaron el peso molecular de cada uno de estos productos, datos que pueden revisarse en el capítulo 10. En cambio, se mostrará la interacción existente entre los protones del grupo metileno y los protones NH del fragmento bencílico y el núcleo del bencimidazol. También se ilustrara la interacción entre los protones metilénicos del fragmento bencílico y el carbono 2 del núcleo bencimidazólico en el experimento HMBC, lo cual es una prueba aún más contundente de la configuración de las moléculas aquí descritas. Esto puede apreciarse en las figuras 43, 44 y 45 donde se muestran los experimentos COSY y HMBC respectivamente.



57



Figura 44: Experimentos COSY y HMBC de FJBT-2.



### 7.2. Análisis de la sección computacional

Como se mencionó en el capítulo 6, los ligantes y proteínas requerían una preparación previa en cuanto a conformación y estado de ionización más estable. En el caso de los ligantes, el programa mostró que podía existir más de un estado de ionización para los ligantes en el pH asignado de 7.0±2.0. Con base en lo anterior, la figura 46 muestra las estructuras más probables de los ligantes y la figura 47 muestra las de los inhibidores, todo calculado por el módulo Epik®.



Figura 46: Estructuras más probables de ionización para los ligantes sintetizados. El asterisco indica estructuras protonadas.

60



Figura 48: Estructuras más probables de ionización para los inhibidores de las proteínas utilizadas.

Con base en los resultados obtenidos se construyó la tabla 10, la cual ordena los compuestos y  $\Delta G_{unión}$  en orden decreciente; se señalan con verde las estructuras más probables calculadas por el parámetro "State Penalty" de Maestro Schrödinger®.

Un breve análisis de la tabla 10 muestra que el mejor compuesto, computacionalmente hablando, es **FJBT-5**, acompañado de **FJBT-4**, **FJBT-2** y **8**A\*; estos 4 compuestos encabezaron la lista con mejor  $\Delta G_{unión}$  y "State Penalty", sin embargo, nunca encima de los inhibidores utilizados. En todos los casos, las moléculas merecen algunos comentarios:

- En su gran mayoría se hallan como especies no protonadas al pH establecido.
- FJBT-5 y FJBT-2 son regioisómeros.
- En su mayoría son estructuras que no presentan el grupo carboxamida como conector entre el núcleo de bencimidazol y el anillo bencénico, mostrando un mayor grado de libertad debido al *N*-bencilo.

Para comprender el modo de unión y los factores involucrados en estos resultados, se decidió tomar las enzimas cuyos resultados de  $\Delta G_{unión}$  tuvieran una secuencia parecida o igual. Al observar la tabla 10, se puede apreciar que 4IU1, 4IU4 y 5HJ9 poseen una secuencia totalmente igual en lo que respecta a la  $\Delta G_{unión}$ : FJBT-5 > 8A\* > FJBT-4 > FJBT-2; 5HJ9 posee una secuencia parecida: FJBT-5 > 8A\* > FJBT-4 > FJBT-2. Entre éstas enzimas se decidió tomar a 5HJ9 por tener la mayor calidad en cuanto a resolución (1.28 Å).

Tabla 10: Resumen de acoplamientos moleculares de las moléculas sintetizadas y los inhibidores con las diversas enzimas								
		N/D		arginasa.	VD			N/D
Enzima y	Compuesto	ХР	Enzima y	Compuesto	ХР	Enzima y	Compuesto	ХР
resolución		GScore	resolución		GScore	resolución		GScore
(A)		$(\Delta G_{unión})$	(A)		$(\Delta G_{ ext{unión}})$	(A)		$(\Delta G_{unión})$
4IU0	ABH	-8.85	4IU1	Nor-NOHA	-7.462	4IU4	BEC	-10.449
1.77	FJBT-5	-6.084	1.95	FJBT-5	-6.278	1.8	FJBT-5	-7.09
	FJBT-3	-5.354		<mark>8A*</mark>	-6.194		FJBT-5*	-5.869
	<mark>8A*</mark>	-4.648		FJBT-5*	-6.066		FJBT-2*	-5.601
	FJBT-1	-4.297		FJBT-2*	-5.907		<mark>8A*</mark>	-5.215
	FJBT-2*	-3.989		FJBT-4	-4.565		FJBT-4	-4.98
	FJBT-2	-3.903	-	FJBT-2	-4.141		FJBT-2	-4.638
	8A	-3.639		FJBT-3	-3.825		FJBT-1	-4.092
	FJBT-5*	-3.389	-	FJBT-1	-3.126		FJBT-3	-3.867
	FJBT-4	No viable	-	8A	-2.867		8A	-3.635
Enzima y	Compuesto	ХР	Enzima y	Compuesto	ХР	Enzima y	Compuesto	ХР
resolución		GScore	resolución		GScore	resolución		GScore
(Å)		$(\Delta G_{unión})$	(Å)		$(\Delta G_{unión})$	(Å)		$(\Delta G_{unión})$
4IU5	L-ornitina	-12.146	5HJ9	ABPH	-9.544	5HJA	ABDPH	-9.463
1.95	FJBT-2*	-5.284	1.28	FJBT-5	-6.58	1.65	FJBT-5	-6.951
	FJBT-4	-4.664	-	8A*	-5.248		FJBT-5*	-6.711
	<mark>8A*</mark>	-4.373	-	FJBT-5*	-4.333		FJBT-2	-4.806
	8A	-4.324	-	FJBT-4	-4.319		FJBT-4	-4.646
	FJBT-2	-4.303		FJBT-2*	-3.872		FJBT-3	-4.514
	FJBT-5	-4.224		FJBT-2	-3.81		FJBT-2*	-4.461
	FJBT-1	-4.063		FJBT-3	-3.6		8A	-4.011
	FJBT-5*	-3.987	]	8A	-3.489		FJBT-1	-3.7
	FJBT-3	-3.794		FJBT-1	-3.553		<mark>8A*</mark>	-2.839

\*El color verde indica el estado de ionización más probable de la molécula.

Un acercamiento al modo en que interactúa el ácido-(R)-2-amino-6-borono-2-[2-(piperidin-1-il)etil]hexanoico (ABPH) con el sitio catalítico se muestra en la figura 49. En (**a**) se observa a ABPH interactuando con diversos residuos presentes en el sitio catalítico; ASP 194 (aspartato 194), GLU 197 (ácido glutámico o glutamato 197), MN 401 (manganeso 401) y MN 402 (manganeso 402) presentan interacciones de puentes salinos y ASP 141 (aspartato 141), THR 257 (treonina 257), HIS 154 (histidina 154) y SER 150 (serina 150) que poseen interacciones de puentes de hidrógeno. De todos los residuos antes mencionados, sólo MN 401, MN 402 y ASP 141 son formalmente parte del sitio activo, pero la capacidad de ABPH de introducirse al mismo es lo que indica por qué provee un dato tan eficiente de  $\Delta G_{unión}$ . Otro dato a añadir es que, de acuerdo a (**a**), una parte de la molécula se mantiene fuera de la cavidad catalítica, fungiendo como un tapón para evitar el acceso de otras moléculas a esta zona. Esto está ilustrado en (**b**) con un esquema de superficie, donde se puede ver el anillo de piperidina fuera de la cavidad, mientras que la sección boronada de la molécula se halla totalmente inmersa. De esto se puede deducir que no solamente es necesario una interacción neta con el sitio catalítico y sus metales para obtener buenos valores de  $\Delta G_{unión}$ , sino también una estructura que, ya sea por impedimento estérico o por grados de libertad, impida un acceso fácil a otras moléculas.



Figura 49: (a) Interacción de ABPH con los diversos residuos de aminoácidos del sitio catalítico de la arginasa de *L. mexicana*; (b) Esquema de superficie de la proteína arginasa.
 Esferas moradas: manganeso, desferas azules: nitrógeno, desferas rojas = oxígeno, desferas verdes: carbono, O esferas blancas = hidrógeno. XP GScore (ΔG<sub>unión</sub>) = -9.544.

Se realizó un análisis parecido con **FJBT-5**, **FJBT-2**, **FJBT-4**, y **8A\***. En el caso de **FJBT-5**, presenta en su gran mayoría interacciones Pi-Pi con HIS 139 (histidina 139), HIS 154 (histidina 154); sólo está presente una interacción por puente de hidrógeno con THR 257 (treonina 257). De manera similar a ABPH, **FJBT-5** posee un residuo fuera de la cavidad catalítica, el grupo bencílico, el cual puede procurar diversas posiciones debido al carbono sp<sup>3</sup> que lo une al núcleo bencimidazólico. Esto puede apreciarse en la figura 50. Existen dos detalles a destacar y uno es la cercanía que tiene el grupo carboxamida del bencimidazol con los iones metálicos de manganeso; si bien no hay una interacción detectada por el programa, la cercanía es mucha y la adición de un metileno entre la amida y el bencimidazol podría mejorar la interacción del compuesto con el sitio catalítico. El otro punto a destacar es que sólo hay una interacción con un residuo de la cavidad: HIS 139.



Figura 50: (a) Interacción de FJBT-5 con los diversos residuos de aminoácidos del sitio catalítico de la arginasa de L. mexicana; (b) Esquema de superficie de la proteína arginasa.
Esferas moradas: manganeso, esferas azules: nitrógeno, esferas rojas = oxígeno, esferas verdes: carbono, O esferas blancas = hidrógeno. De lado izquierdo, el núcleo de bencimidazol se halla casi totalmente inmerso en la cavidad. XP GScore (ΔG<sub>unión</sub>) = -6.58.

En el caso de **8A**\* no posee un grupo carboxamida en la posición 5 ó 6 del bencimidazol que le permita unirse a la proteína por puentes de hidrógeno o puentes salinos, lo que explicaría porque el programa de computo arrojo que esta molécula prefiere adherirse por el grupo bencilo a la arginasa. Al analizar las interacciones mostradas en la figura 51, puede observarse que éstas mantienen un equilibrio Pi-Pi con HIS 139 y puentes de hidrógeno con ASP 194 y SER 150. Además, no hubo cercanía perceptible con los iones de manganeso o con algún residuo del sitio catalítico a excepción de HIS 139. Sin embargo, parece ser que ASP 194 es la clave para tener un  $\Delta G_{unión}$  relativamente bueno. Parece ser que esta interacción de puente de

**(b)** 

hidrógeno mantiene unido al núcleo de bencimidazol a la estructura de la proteína, lo que impide que se desprenda fácilmente del acceso al sitio catalítico, bloqueando la entrada de otras moléculas. La figura 51 resume lo anterior.



Figura 51: (a) Interacción de FJBT-4 con los diversos residuos de aminoácidos del sitio catalítico de la arginasa de L. mexicana; (b) Esquema de superficie de la proteína arginasa. Esferas moradas: manganeso, esferas azules: nitrógeno, esferas rojas = oxígeno, esferas verdes: carbono, O esferas blancas = hidrógeno. FJBT-4 se aproximó al sitio catalítico por el anillo bencénico. XP GScore (ΔG<sub>unión</sub>) = -5.248.

**FJBT-4**, al igual que **8A** presenta una aproximación al sitio catalítico por el anillo bencénico, sus interacciones son en su mayoría por puentes de hidrógeno en SER 150 (serina 150), ASP 194 (aspartato 194), VAL 193 (valina 193); el resto son interacciones Pi-Pi con HIS 139 e HIS 154 (histidinas 139 y 154). A diferencia de **8A\***, **FJBT-4** tiene mejor cercanía con la cavidad catalítica ya que interactúa con un residuo del mismo (HIS 139), sin embargo, la desventaja que presenta esta estructura

es la rigidez de la misma promovida por el grupo amido que funge como conector entre el anillo bencénico y el bencimidazol. A pesar de las múltiples interacciones por puente de hidrógeno y la cercanía con puntos clave como los centros metálicos, éstas ventajas no logran compensar la tensión de la molécula que la obligan a adquirir una conformación más bien rígida y forzada. Por ello, parece ser que su análogo **FJBT-5**, que no presenta el grupo amido, tuvo tan buenos resultados como inhibidor *in silico*, debido a la no restricción de su estructura. Todo esto se puede observar en la figura 52.



Figura 52: (a) Interacción de FJBT-4 con los diversos residuos de aminoácidos del sitio catalítico de la arginasa de L. mexicana; (b) Esquema de superficie de la proteína arginasa. Esferas moradas: manganeso, esferas azules: nitrógeno, esferas rojas = oxígeno, esferas verdes: carbono, O esferas blancas = hidrógeno. Al igual que 8A\*, FJBT-4 se aproximó al sitio catalítico por el anillo bencénico. XP GScore (ΔG<sub>unión</sub>) = -4.319

El caso de **FJBT-2** devela algo importante. Inicialmente, se puede observar en la figura 53 que gran parte de la molécula se mantiene fuera de la cavidad catalítica, habiendo sólo 2 interacciones: SER 150 (serina 150) y GLY 256 (glicina 256), ambas por puentes de hidrógeno. A diferencia de **FJBT-5**, **FJBT-2** no presenta al grupo carboxamida como el principal candidato a aproximarse a los iones de manganeso, sino que es la estructura bencílica la más cercana y la que parcialmente se

introduce en la cavidad sin una interacción que pueda describirse como muy exitosa. Parece ser que la presencia del grupo metilo en la relación 6-carboxamida interfiere en cierta medida con la capacidad de la molécula para tal objetivo y, posiblemente, su remoción podría facilitar la capacidad de esta para acceder a la cavidad catalítica. Esto podría explicar porque es inferior a **FJBT-5** como inhibidor de la arginina de *L. mexicana*. Otro aspecto a destacar es que, de manera similar a **8A**\*, el  $\Delta G_{unión}$  de **FJBT-2** depende en gran medida de un puente de hidrógeno, en este caso GLY 256 por la carboxamida, lo que permite una buena interacción entre el ligante y la diana. Todo esto puede observarse en la figura 53.



Figura 53: (a) Interacción de FJBT-2 con los diversos residuos de aminoácidos del sitio catalítico de la arginasa de L. mexicana; (b) Esquema de superficie de la proteína arginasa. Esferas moradas: manganeso, esferas azules: nitrógeno, esferas rojas = oxígeno, esferas verdes: carbono, O esferas blancas = hidrógeno. Nótese que FJBT-2 pareciera que sólo esta sobrepuesto en la enzima. XP GScore (ΔG<sub>unión</sub>) = -3.81.
Tabla 11: Resumen de interacciones de las moléculas sintetizadas y el inhibidor ABPH con la enzima arginasa 5HJ9.				
Compuesto	Residuos con interacción	Tipo de interacción		
ABPH	ASP 194 (aspartato 194)	Puentes salinos		
	GLU 197 (ácido glutámico 197)			
	MN 401 y 402 (manganeso 401 y 402)			
	ASP 141 (aspartato 141)*	Puentes de hidrógeno.		
	THR 257 (treonina 257)			
	HIS 154 (histidina 154)			
	SER 150 (serina 150)			
FJBT-5	HIS 139 y 154 (histidina 139* y 154)	Pi-Pi		
	THR 257 (treonina 257)	Puente de hidrógeno		
8A*	HIS 139 (histidina 139)*	Pi-Pi		
	ASP 194 (aspartato 194)	Puente de hidrógeno		
	SER 150 (serina 150)			
FJBT-4	SER 150 (serina 150)			
	ASP 194 (aspartato 194)	Puente de hidrógeno		
	VAL 193 (valina 193)			
	HIS 139 y 154 (histidinas 139* y 154)	Pi-Pi		
FJBT-2	SER 150 (serina 150)	Puente de hidrógeno		
	GLY 256 (glicina 256)			

La tabla 11 resume todas las interacciones observadas y mencionadas en el texto.

\*Pertenecen al sitio catalítico de la enzima.

La tabla 11 proporciona valiosas observaciones:

- La cantidad de interacciones no define la eficiencia del ligante, sino la calidad de las mismas. Si esto fuera así, FJBT-4 tendría que unirse mejor a la proteína que FJBT-5, lo cual no sucede.
- HIS 139 y 154 juegan un papel importante en la interacción del ligando con la proteína, de 5 moléculas simuladas, 3 presentan relación con HIS 139 y otras 3 con HIS 154. Cabe resaltar que HIS 139 forma parte del sitio activo de la enzima.
- SER 150 también juega un papel importante en las interacciones de los ligandos, 4 de 5 moléculas presentan alguna relación con este residuo.
- No es del todo necesario llegar a los núcleos metálicos para obtener una buena  $\Delta G_{unión}$ , si bien, el inhibidor alcanza a interactuar con ellos, las moléculas sintetizadas dependieron más de su capacidad de interacción con los residuos aledaños a la entrada del sitio catalítico que el vínculo con los metales, prueba de ello es FJBT-5.
- Acorde al programa, la mayoría de las interacciones fueron predominantemente con residuos polares, salvo VAL 193 y GLY 256, cuyas interacciones son hidrofóbicas y apolares respectivamente.

Finalmente, para concluir esta sección, se procederá a comparar el estudio aquí realizado con lo publicado por nuestro grupo de investigación. Acorde al artículo publicado,<sup>103</sup> **8A** presenta interacciones con los residuos ASN 143 (asparagina 143), THR 148 (treonina 148), SER 150 (serina 150) y ASN 152 (asparagina 152); el estudio aquí realizado sólo reporta interacciones con HIS 139, ASP 194 y SER 150, siendo este último el que presentan ambos ensayos en común. La diferencia puede deberse al uso de diferentes softwares, ya que este artículo fue publicado usando Molinspiration Cheminformatics Software®. Una comparación de interacciones entre los ligantes y la enzima se muestra en la figura 54. Como puede observarse, ambos programas apuntan a que **8A** se introduce por el fragmento bencílico. Sin embargo, el que la molécula se una por el fragmento bencílico o bencimidazólico no tendrá, de momento, mucha relevancia hasta realizar las pruebas biológicas.



Figura 54: Comparación de interacciones y conformaciones de 8A.

Por otro lado, una dificultad que se planteaba es que el compuesto **8A** no fuera selectivo contra la arginasa de *L. mexicana* y provocará la inhibición de la arginasa tipo I del ser humano. Sin embargo, el artículo develó que **8A** estimulaba el funcionamiento de la arginasa tipo I en un 24.21%; si bien, ésto parece una ventaja, la estimulación de la enzima podría provocar que estuviesen disponibles una mayor cantidad de poliaminas producidas por el macrófago, para que el parásito proliferara. Esto último dependerá en gran medida de la capacidad del parásito de asimilar estas poliaminas antes que el compuesto **8A**, aunque de momento, ésto sólo es una teoría que solo puede ser comprobada a través de la experimentación. Finalmente, la serie **FJBT**, al proceder de **8A**, podría tener un comportamiento similar debido a su estructura común pero, nuevamente, esto sólo son teorías que tienen que se comprobadas y avaladas a través de la experimentación.

# 8 Conclusiones

- Se sintetizaron 6 moléculas con base en el núcleo de bencimidazol y en rendimientos moderadamente bajos (22-50%),
  4 de las cuáles no están reportadas en la literatura.
- La síntesis de las iminas 51 y 52 fue un éxito con el uso de la irradiación de microondas como fuente de energía, ya que no había nada reportado con respecto a la síntesis de éstas.
- El ensayo computacional realizado con las moléculas objetivo y diversas enzimas cristalizadas con diferentes inhibidores, demostró que, a nivel de simulación, el compuesto FJBT-5 fue el que presentó una ΔG<sub>unión</sub> más negativa; el valor alcanzado en todas las simulaciones no superó al inhibidor en turno, pero permitió recabar datos con respecto a un punto de referencia; este experimento teórico mostró la importancia de que las moléculas presenten estructuras que concedan varios grados de libertad. Una forma de mejorar la interacción de FJBT-5 sería la introducción de un grupo metileno entre la amida y el núcleo de bencimidazol; esto podría permitir que la amida interactuara con los núcleos metálicos, al menos a nivel teórico-computacional.
- El acoplamiento molecular realizado por Maestro Schrödinger® mostró que los compuestos sintetizados no acceden en gran medida en el sitio activo, sino que bloquean la cavidad del sitio catalítico y se mantienen en dicho lugar por interacciones de puente de hidrógeno, promovidas principalmente por el grupo amido e interacciones Pi-Pi por parte del anillo de bencimidazol y el grupo bencilo. Las interacciones más comunes que mostraron los bencimidazoles sintetizados fueron con los residuos SER 150, HIS 139 y 154, de los cuáles sólo HIS 139 forma parte del sitio activo. A pesar de tener poco o nulo contacto con este, los ligantes sintetizados dependieron más de su capacidad de interacción con los residuos a la entrada del sitio catalítico que meramente con este.
- El análisis computacional mostró que es preferible no contar con un conector amida en la estructura de los compuestos bencimidazólicos, ya que la restricción de la movilidad disminuye los grados de libertad y, a su vez, la capacidad de la molécula de adquirir una conformación energéticamente favorable que permita una buena inhibición a nivel teórico. Requisitos adicionales para mejorar el acoplamiento es la remoción del grupo metilo en la posición 1 del anillo bencimidazólico en los derivados FJBT-4 y posiblemente también FJBT-3; mantener grupos polares o que sean capaces de interactuar por puentes de hidrógeno en el núcleo de bencimidazol parece una vía prometedora para potencializar las moléculas aquí presentadas.

# 9 Perspectivas

- En esta ocasión, problemas inherentes y fuera del control de este trabajo impidieron la realización de la prueba de inhibición enzimática en tiempo con la arginasa de *L. mexicana*, por lo que no se descarta recibir los resultados de esta prueba a futuro y poseer datos que permitan seguir proporcionando una dirección a estos compuestos diseñados para la enzima ya mencionada.
- Así como se presentaron problemas con la arginasa de *L. mexicana*, el ensayo con epimastigotes tampoco se realizó y no se descarta que, a futuro, se realice dicho ensayo; la baja toxicidad del compuesto **8A** es un atractivo para el uso de esta molécula en esta parasitemia.
- Mejorar el rendimiento de los compuestos obtenidos a través de la modificación y/o reestructuración de las metodologías aquí presentadas.
- Llevar a cabo experimentos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C con gradiente de temperatura en los compuestos **FJBT-3** y **FJBT-4** para permitir el adecuado desdoblamiento y definición de señales para su correcta elucidación.
- Realizar ensayos de toxicidad con los compuestos obtenidos para compararlos con **8A** y, de esta manera, determinar requisitos estructurales que potencien o disminuyan la toxicidad, aún desconocida, de estos derivados.
- Promover la investigación del efecto de éstas moléculas en los amastigotes de *L. mexicana*, esto es, durante la fase reproductiva del parásito, si resultados previos lo avalan como viable.
- Estudiar, por dinámica molecular, el comportamiento de las moléculas aquí diseñadas y, con ello, recabar más información del comportamiento a nivel molecular de dichas sustancias.
- Con la información recabada de los experimentos *in vitro* de los amastigotes y promastigotes, es conveniente realizar experimentos de Microscopia Electrónica de Barrido y de Transmisión para observar el efecto ultraestructural que producen los compuestos antes mencionados.
- Realizar ensayos de inhibición de los compuestos con la arginasa humana para investigar la inocuidad de estos con respecto a esta enzima humana; los estudios que se han llevado a cabo con **8A** indican un aumento de la actividad de la arginasa humana tipo I, pero no es una garantía de que suceda lo mismo con los demás compuestos; un estudio computacional del mismo no es descartado.
- Ensayar e investigar la efectividad de estos compuestos contra otros parásitos y/o organismos que presenten la enzima arginasa.

# **10 Procedimientos experimentales**

# 10.1. Síntesis química

La tabla 12 la instrumentación que se necesitó para llevar a cabo la sección química de este proyecto.

Tabla 12: Material y equipo usado en la realización del trabajo experimental químico.			
Material y/o	Marca(s) y modelo(s)		
equipo			
Reactivos y	J.T. Baker®, Sigma Aldrich®, Merck® y Q.P.®		
Balanzas	SCIENTECH SI 600 v Sartorius modelo A210P		
Daranzas			
Parrilla	IKA® RET basicS001		
Reactor a presión	Parr® 4523, controlado y programado con un módulo Parr® 4842 y equipado con un recirculador y enfriador Thermo® Kaake C 10 y Thermo® Kaake K 20 respectivamente		
Microondas químico	Parr® Monowave 400, equipado con un automuestreador Parr® MAS 24 y un compresor Sprayit® SP9402 de 76 litros		
Hidrogenador	Parr® 3926EG, equipado con un tanque de hidrógeno INFRA®		
Equipos de destilación	eRotaevaporador Buchi® R-215, provisto de un baño de agua Buchi® B-490 y equipado con una bomba de vacío Vacuubrand® MD 4C y un enfriador Thermo® IP20		
	Rotaevaporador IKA® RV 10, provisto de un baño de agua IKA® HB 10 y equipado con una bomba de vacío Vacuubrand® MD 4C NT + AK + IK y un enfriador Brinkmann® IC-30		
Cromatografía en capa fina (CCF)	Placas de vidrio cubiertas de gel de sílice Merck® 60 GF-254 reveladas en una lámpara UV UVP® UVGL-25		
Punto de fusión	Aparato marca y modelo Buchi® B-540		
Espectroscopia infrarroja (IR)	Espectrofotómetro de transformada de Fourier Perkin Elmer® FT-IR 1600; las frecuencias de las bandas resultantes se reportan en cm <sup>-1</sup>		
Resonancia magnética nuclear (RMN)	Espectrómetro Varian® Unity Inova de 400 MHz; los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna; los disolventes deuterados usados fueron cloroformo, acetona, dimetilsulfóxido y agua; las constantes de acoplamiento <i>J</i> se reportan en Hercios		
Espectrometría de Masas (EM)	Espectrómetro JEOL® The AccuTOF JMST100LC; la técnica utilizada fue DART (Direct Analysis in Real Time)		

Los sistemas de elución usados para realizar el seguimiento de las reacciones químicas se mencionan y describen en la tabla 13.

Tabla 13: Sistemas de elución usados para el seguimiento de reacciones.			
Sistema	Disolventes	Proporción	
Ι	$CH_2Cl_2$	100	
II	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	90:10*	
III	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	95:5*	
IV	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	98:2*	
V	Hexano/Acetato de etilo	60:40	
VI	Hexano/Acetato de etilo	60:40**	
VII	CHCl <sub>3</sub> /MeOH	80:20*	

\*Se añadieron 4 gotas de amoniaco acuoso por cada 5 mL de mezcla \*\*Se añadieron 4 gotas de ácido acético glacial por cada 5 mL de mezcla

10.1.1. N-metil-2-nitroanilina (35)

En un reactor Parr® de un litro se mezclaron 30 gramos (190.4 mmoles) de 1-cloro-2-nitrobenceno (34), 37.8 gramos (568.3 mmoles) de clorhidrato de metilamina y 77.4 gramos (560 mmoles) de carbonato de potasio en 300 mL de etanol. El reactor se programó para calentar a 150 °C por 5 horas y se le dio seguimiento a la reacción con el sistema de elución I. Corroborada la transformación total de la materia prima, se procedió a enfriar el reactor hasta temperatura ambiente y filtrar la mezcla de reacción a vacío, la cual se lavó con etanol para eliminar las sales de carbonato que no reaccionaron. Posteriormente, el líquido resultante se absorbió en la mínima cantidad de alúmina neutra y se eliminó el exceso de etanol con un rotaevaporador. La mezcla alúmina-compuesto se colocó en la parte superior de una columna empaquetada con alúmina neutra y se eluvó varias veces con diclorometano, hasta que la coloración del disolvente que saliera de la columna fuera mínima. El exceso de disolvente se eliminó a presión reducida y temperatura ambiente, debido a la volatilidad del compuesto sintetizado. Se obtuvo un líquido rojo que se colocó en un congelador para solidificar el producto resultante, consiguiendo la formación de cristales rojos que, posteriormente, se recristalizaron de éter de petróleo 30°-60°/etanol y carbón activado bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió y el precipitado formado se filtró a vacío, obteniéndose 24.07 gramos (84.7%) de producto puro en forma de cristales rojos con un  $R_f = 0.84$  en CCF del sistema I y un punto de fusión de 34.8-35.8 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3384.71, 1684.18 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 3109.40, 3051.83 (C-H's aromáticos), 2917.29, 2894.00, 2875.13, 2817.76 (C-H, NHCH<sub>3</sub>), 1614.34, 1575.14 (C=C, C-C), 1508.56, 1258.56 (NO<sub>2</sub>), 1177.88, 1114.49 (C-N, C-NHCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>), 858.26, 835.56 (C-N, C-NO<sub>2</sub>). EM (DART, **19.8** eV) *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 153 (100) [M+1]+, 305 (77) [2M+1]+, 107 (15) [M+1-NO<sub>2</sub>]+. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, **CDCl**<sub>3</sub>) **ppm**: 3.00-3.01 (d, J = 5.16 Hz, 3H, H7), 6.61-6.65 (ddd,  $J_1 = 8.5$  Hz,  $J_2 = 7.08$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz, 1H, H4), 6.81-6.83  $(dd, J_1 = 8.66 \text{ Hz}, J_2 = 0.8 \text{ Hz}, 1\text{H}, \text{H6}), 7.42-7.46 (dddd, J_1 = 8.74 \text{ Hz}, J_2 = 6.92 \text{ Hz}, J_3 = 1.56 \text{ Hz}, J_4 = 0.48 \text{ Hz}, 1\text{H}, \text{H5}), 8.01$ (s, 1H, NH), 8.13-8.15 (dd,  $J_1 = 8.6$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H, H3). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, CDCl<sub>3</sub>) ppm: 29.78 (C7), 113.44 (C4), 115.24 (C6), 126.84 (C5), 131.97 (C2), 136.35 (C3), 146.42 (C1).



P.M. 152.1506 g/mol

### 10.1.2. N<sup>1</sup>-metilbenceno-1,2-diamina (**36**)

En un vaso de hidrogenación, se disolvieron 10 gramos (65.72 mmoles) de *N*-metil-2-nitroanilina (**35**) en 100 mL de metanol, más adelante se añadieron en una campana de extracción 3 gramos de niquel Raney lavado previamente en agua y metanol. Enseguida, se añadieron 50 mL de metanol en el vaso con la mezcla de reacción para completar un volumen de 150 mL y enseguida se procedió a conectar el vaso al sistema de hidrogenación para purgarlo con tres lavados de hidrógeno de 30 lb/in<sup>2</sup>. Una vez purgado, el sistema se sometió a una presión de hidrógeno de 60 lb/in<sup>2</sup> y agitación regulada por un reóstato. El proceso de hidrogenación se detuvo después de una hora al no haber cambios en la presión del sistema y después de haberse consumido 253 lb/in<sup>2</sup>. La mezcla de reacción se filtró en una cama de celita para eliminar el catalizador, evitando que este se secara a totalidad, debido a su carácter inflamable, con lavados de metanol hasta que el disolvente filtrado no tuviera color. La solución se destiló a presión reducida hasta un volumen aproximado de 60 mL, a los cuáles se les agregó 40 mL de agua para realizar la siguiente reacción sin aislar el producto obtenido, el cual presentó un R<sub>f</sub> = 0.52 en CCF del sistema II.



#### 10.1.3. 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (37)

En un matraz bola de tres bocas de 125 mL equipado con termómetro, una columna Vigreaux y un tapón, se colocaron los 100 mL de la mezcla metanol/agua de la reacción anterior que contenía a 36 y se añadieron lentamente y bajo agitación 8.64 gramos (81.57 mmoles) de bromuro de cianógeno. Terminada la adición, el sistema se calentó a 50 °C en una parrilla con un baño de aceite por 4 horas, dándole seguimiento al proceso con el sistema II. Una vez que la CCF reveló que hubo un consumo total de la materia prima, la solución se sometió a enfriamiento con un baño de hielo hasta alcanzar 4 °C. Una vez fría la mezcla, esta se neutralizo hasta pH = 7 con una solución al 10% de hidróxido de potasio, precipitando un sólido oscuro que se recristalizó dos veces de una mezcla agua/etanol, carbón activado y bajo atmósfera de nitrógeno, obteniendo 4.12 gramos (42.6%) de cristales blancos con un  $R_f = 0.26$  en CCF del sistema II y un punto de fusión de 204-205 °C. La recristalización del producto crudo con una mezcla tolueno/dioxano y carbón activado, bajo el mismo proceder ya descrito, da como resultado 5.8 gramos (60%) de agujas de ligero color beige. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3448.84 (N-H, NH<sub>2</sub>), 3084.45, 3033.76 (C-H's aromáticos), 2734.93 (C-H, CH<sub>3</sub>), 1647.82, 1614.88 (C=C, C-C), 1487.82, 1456.25 (C=N), 1317.59, 1288.61, 1249.45 (C-N, C-NH<sub>2</sub>, C-NCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>). EM (DART, 19.8 eV) *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 148 (100) [M+1] + . RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, Acetona-d<sub>6</sub>) ppm: 3.59 (s, 3H, H9), 6.39 (s, 2H, H10), 6.91-6.95 (ddd, J<sub>1</sub> = 7.44 Hz, J<sub>2</sub> = 7.46 Hz, J<sub>3</sub> = 1.44 Hz, 1H, H5), 6.95-7.00 (ddd, J<sub>1</sub> = 7.46 Hz, J<sub>2</sub> = 7.4 Hz, J<sub>3</sub> = 1.32 Hz, 1H, H6), 7.10-7.12 (dd, J<sub>1</sub> = 7.12 Hz, J<sub>2</sub> = 1.44 Hz, 1H, H4), 7.19-7.22 (dd, J<sub>1</sub> = 7.22 Hz, J<sub>2</sub> = 1.08 Hz, 1H, H7). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, Acetona-d<sub>6</sub>) ppm: 28.73 (C9), 108.07 (C4), 116.03 (C7), 119.27 (C6), 121.32 (C5), 136.02 (C3), 143.85 (C8), 156.36 (C2).



P.M. 147.1771 g/mol

#### 10.1.4. 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1)

En un matraz bola de 50 mL equipado con una columna Vigreaux, se colocaron 16 mL de DMF, 3.61 gramos (25.37 mmoles) de ácido 2-metoxibenzoico y 3.86 gramos (23.8 mmoles) de CDI con agitación vigorosa. Más adelante, la mezcla se calentó a 80 °C por una hora para permitir la formación del aducto N-acilimidazol (58). Comprobada la formación de este, a través del sistema de elución III, se agregó al matraz 3.5 gramos (23.9 mmoles) de 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (150) y se prosiguió a calentar la mezcla por una hora y media más hasta que no se detectaron cambios por CCF. Posteriormente se removió la mayoría de la DMF por destilación a presión reducida y la adición de agua fría a la mezcla precipitó un sólido amarillo que se filtró a vacío. El sólido se cristalizó con metanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno, obteniendo 2.41 gramos (36%) de cristales blancos con un  $R_f = 0.54$  en CCF del sistema III y un punto de fusión de 145.5-147.3 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3321.35 (N-H, NHCO), 3069.04, 3010.00 (C-H's aromáticos), 2955.75, 2933.03 (C-H, NCH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 1551.60 (C=O), 1482.65, 1459.37 (C=C, C-C), 1350.33, 1326.76 (C=N), 1290.51, 1278.39 (C-N, C-NH, C-NCH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>), 1243.88 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>). EM (DART, 19.8 eV) *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 282 (100) [M+1]+, 177 (18) [M+1-C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N], 117 (10) [M-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]. EM (DART, **19.8** eV) m/z (alta resolución): 282.12425 (masa calculada), 282.12365 (masa obtenida),  ${}^{12}C_{16} {}^{11}H_{16} {}^{14}N_3 {}^{16}O_2$  (formula probable). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 3.61 (s, 3H, H10), 3.84 (s, 3H, H19), 7.02-7.06 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H17), 7.12-7.14 (d, J = 8.24 Hz, 1H, H15), 7.19-7.27 (m, 2H, H6 y H7), 7.47-7.48 (m, 2H, H8 y H16), 7.55-7.57 (dd, J<sub>1</sub> = 7 Hz,  $J_2 = 1.12$  Hz, 1H, H5), 7.75-7.78 (dd,  $J_1 = 7.58$  Hz,  $J_2 = 1.56$  Hz, 1H, H18), 10.63 y 12.58 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H11). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 29.10 (C10), 55.84 (C19), 109.06 (C8), 112.26 (C15), 120.21 (C17), 122.03 (C6), 122.72 (C7), 130.02 (C18), 131.78 (C16), 157.2 (C14).



#### 10.1.5. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)-1-(2-metoxifenil)metanimina (50)

En un tubo de microondas G4 de 10 mL se colocaron 0.5 gramos (3.4 mmoles) de **37** y 1.5 mL (1.7 gramos, 12.42 mmoles) de 2-metoxibenzaldehido. El tubo se introdujo al automuestreador y el microondas se programó con una temperatura de 160 °C, rampa de 3 minutos, 20 minutos de reacción y potencia no constante (variable y ajustada a la temperatura). Se obtuvo un líquido de color rojo intenso cuyo análisis por CCF develó un producto único con un  $R_f = 0.7$  en el sistema IV de elución. La mezcla de reacción se usó así para la siguiente reacción.



10.1.6. *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (**8**A)

La mezcla de reacción que contenía a **50** se sacó del tubo de microondas con tolueno, el cual se destiló a presión reducida en un matraz de bola de 50 mL, quedando sólo el aldehído como medio líquido. A esta mezcla se le adicionaron 10 mL de metanol y el sistema se enfrió en un baño de hielo a 4 °C, posteriormente se añadieron, de manera lenta, 0.514 gramos (13.59 mmoles) de borohidruro de sodio, provocándose un burbujeó en la mezcla. Terminada la adición de borohidruro de

sodio, se colocó un globo con nitrógeno y la mezcla se dejó agitando de manera vigorosa por una hora, cuando se develó por CCF en el sistema IV que la materia prima se había consumido. Posteriormente, a la mezcla se le adicionó agua fría para disolver las sales de boro, precipitando un sólido blanco que fue filtrado y recristalizado en metanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno, obteniendo 0.45 gramos (50%) de un sólido blanco en forma de obleas con un  $R_f = 0.2$  en CCF del sistema IV y un punto de fusión de 164.1-165.4 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3150.77 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 2991.36, 2966.66, 2940.36 (C-H's aromáticos), 2886.14, 2836.82 (C-H, NCH<sub>3</sub>, NHCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub>), 1600.88, 1554.77, 1514.70 (C=C, C-C), 1463.10, 1391.87 (C=N), 1313.90, 1282.02 (C-N, C-NCH<sub>3</sub>, C-NH, H<sub>2</sub>C-NH), 1242.32 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% **a.r.) [Asig.**]: 268 (100) [M+1]+ . **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (alta resolución): 268.14499 (masa calculada), 268.14415 (masa obtenida), <sup>12</sup>C<sub>16</sub> <sup>1</sup>H<sub>18</sub> <sup>14</sup>N<sub>3</sub> <sup>16</sup>O<sub>1</sub> (formula probable). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.56 (s, 3H, H10), 3.84 (s, 3H, H19), 4.56-4.58 (d, *J* = 5.92 Hz, 2H, H12), 6.86-6.95 (m, 3H, H5, H8 y H17), 6.98-7.00 (dd, *J<sub>I</sub>* = 8.18 Hz, *J<sub>2</sub>* = 0.6 Hz, 1H, H15), 7.02-7.05 (t, *J* = 5.92 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O, H11-NH), 7.13-7.16 (m, 2H, H6 y H7), 7.20-7.24 (ddd, *J<sub>I</sub>* = 7.8 Hz, *J<sub>2</sub>* = 7.76 Hz, *J<sub>3</sub>* = 1.68 Hz, H16), 7.27-7.30 (dd, *J<sub>I</sub>* = 7.46, *J<sub>2</sub>* = 1.48, 1H, H18). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 28.24-28.26 (C10), 40.71 (C12), 55.25 (C19), 107.17 (C6), 110.26 (C15), 114.91 (C7), 118.22 (C8), 120.00 (C5), 120.14 (C17), 127.19 (C16), 127.57 (C18), 127.68 (C13), 135.38 (C9), 142.47 (C4), 155.18 (C2), 156.62 (C14).



#### 10.1.7. 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (**39**)

En un matraz bola de tres bocas de un litro equipado con un termómetro, una columna Vigreaux y un embudo de adición de 125 mL se colocaron 600 mL de una mezcla acetona/DMF (75:25), en la cual se suspendieron 35 gramos (191.1 mmoles) de ácido 3-hidroxi-4-nitrobenzoico (**38**) y 58.11 gramos (420.5 mmoles) de carbonato de potasio. Debido a la baja solubilidad del ácido en el medio, se elevó la temperatura a 45 °C en un baño de aceite. Lentamente y evitando sobrepasar los 50 °C, se adicionaron 43.5 mL (57.85 gramos, 458.7 mmoles) de sulfato de dimetilo por un periodo de una hora. Terminada la adición, la mezcla de reacción se dejó en agitación y calentamiento por 3 horas, hasta que la CCF en sistema de elución V indicó que el proceso había concluido. La mezcla de reacción fría se agregó en un vaso de precipitados de 4 litros con hielo y se procedió a agitar la solución resultante, precipitando un sólido que se filtró y se dejó secar varios días a vacío. Una vez seco, se pesaron 34.5 gramos (90%) de cristales de color beige con un R<sub>f</sub> = 0.71 en CCF del sistema V y un punto de fusión de 91.8-92.5 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3117.68, 3088.83, 3017.94 (C-H's aromáticos), 2983.26, 2960.65 (C-H, OCH<sub>3</sub>), 1725.87 (C=O), 1610.62, 1587.42 (C=C, C-C), 1523.16, 1303.31, 1288.18 (NO<sub>2</sub>), 1241.60, 1187.02, 1114.77 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>C-O), 789.42, 773.30 (C-N, C-NO<sub>2</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) **[Asig.]**: 212 (100) [M+1]+<sup>+</sup>, 341 (18). **RMN** <sup>1</sup>**H (400 MHz, TMS, CDCl<sub>3</sub>) ppm:** 3.94 (s, 3H, **H7**), 3.99 (s, 3H, **H9**), 7.65-7.67 (dd, *J<sub>1</sub>* = 8.36 Hz, *J<sub>2</sub>* = 1.56 Hz, 1H, **H6**), 7.73-7.73 (d, *J* = 1.48 Hz, 1H, **H2**), 7.79-7.81 (d, *J* = 8.36 Hz, 1H, **H5**). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, CDCl<sub>3</sub>) ppm: 52.94 (C9), 56.86 (C7), 114.72 (C2), 121.50 (C6), 125.43 (C5), 135.01 (C1), 142.48 (C4), 152.54 (C3), 165.29 (C8).



#### 10.1.8. Ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40)

En un matraz de dos bocas de 500 mL equipado con una columna Vigreaux y un tapón se colocaron 32 gramos (151.54 mmoles) de 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (**39**) y 13.6 gramos (242.4 mmoles) de hidróxido de potasio en 300 mL de una mezcla etanol/agua (60:40) bajo agitación vigorosa. Esta mezcla se llevó a reflujo por dos horas dándole seguimiento por CCF con el sistema de elución VI. Una vez corroborada la desaparición de la materia prima, se procedió a destilar la mezcla a presión reducida para eliminar el etanol y más adelante se agregó ácido sulfúrico concentrado gota a gota, precipitando un sólido café. Una vez alcanzado un pH = 3, se filtró el sólido resultante a vacío y, una vez seco, se pesaron 28.6 gramos (95.7%). Una pequeña muestra se cristalizó, para fines de caracterización, de tolueno/metanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno obteniéndose un sólido amarillo cristalino con un R<sub>f</sub>= 0.34 en CCF del sistema VI y un punto de fusión de 226.7-228.7 °C. **IR** (**ATR**) cm<sup>-1</sup>: 3632.96, 3062.38 (O-H, CO<sub>2</sub>H), 2999.28, 2963.46 (C-H's aromáticos), 2878.13, 2832.53 (C-H, OCH<sub>3</sub>), 1688.44 (C=O), 1606.79, 1586.66 (C=C, C-C), 1528.32, 1299.79 (NO<sub>2</sub>), 1251.34, 1087.41 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>), 789.42, 773.30 (C-NO<sub>2</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 198 (77) [M+1]+', 246 (100). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, Acetona-*d*<sub>6</sub>) ppm: 4.06 (s, 3H, H7), 7.73-7.76 (dd,  $J_1 =$  Hz,  $J_2 =$  Hz, 1H, H6), 7.85-7.85 (d, J = 1.52 Hz, 1H, H2), 7.90-7.92 (d, J = 8.52 Hz, 1H, H5). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, Acetona-*d*<sub>6</sub>) ppm: 57.26 (C7), 115.60 (C2), 122.44 (C6), 125.67 (C5), 136.04 (C1), 143.73 (C4), 152.86 (C3), 165.95 (C8).



#### 10.1.9. Ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41)

En un reactor Parr® de un litro se mezclaron 30 gramos (152.17 mmoles) de ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40), 30.81 gramos (456.31 mmoles) de clorhidrato de metilamina y 84.12 gramos (608.7 mmoles) de carbonato de potasio en 600 mL de agua. El reactor se programó para calentar a 120 °C por 34 horas y se le dio seguimiento a la reacción con el sistema de elución VI. Corroborada la transformación total de la materia prima y la aparición de pequeños subproductos, se procedió a enfriar la mezcla de reacción y se trasladó a un vaso de precipitados de un litro, en donde se le añadió hielo y se sometió a agitación vigorosa para añadir lentamente ácido sulfúrico concentrado en un lapso de una hora, precipitando un sólido de color rojo intenso. Una vez que se llegó a un pH = 1-2, se filtró el producto obtenido a vacío y, una vez seco, este se colocó en medio litro de etanol caliente, el cual se mantuvo bajo agitación por una hora. Pasado ese tiempo el sólido suspendido fue nuevamente filtrado y lavado con hexano, dejándose secar por varios días. Se obtuvieron 26 gramos (87.1%) de un sólido de color rojo intenso, del cual se tomó una pequeña muestra, con fines de caracterización, que se recristalizó de etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno obteniéndose cristales rojos con un  $R_f = 0.43$  en CCF del sistema VI y un punto de fusión de 275.1-276.4 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3486.06 (O-H, CO<sub>2</sub>H), 3394.57 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 2936.69 (C-H's aromáticos), 2872.21, 2821.86 (C-H, NHCH<sub>3</sub>), 1690.02 (C=O), 1620.62 (C=C, C-C), 1575.34, 1260.62 (NO<sub>2</sub>), 1215.49, 1166.33 (C-N, C-NHCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>), 837.17, 820.34 (C-NO<sub>2</sub>). EM (DART, 19.8 eV) m/z (% a.r.) [Asig.]: 197 (100) [M+1]+. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO**d**<sub>6</sub>) **ppm**: 2.97-2.98 (d, J = 4.8 Hz, 3H, H7), 7.09-7.12 (dd, J<sub>1</sub> = 8.94 Hz, J<sub>2</sub> = 1.48 Hz, 1H, H6), 7.44-7.44 (d, J = 1.6 Hz, 1H, H2), 8.09-8.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H5), 8.15-8.16 (d, J = 4.8 Hz, 1H, NH), 13.46 (s, 1H, H9). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 29.65 (C7), 114.50 (C2), 115.36 (C6), 126.66 (C5), 132.82 (C4), 137.36 (C1), 145.36 (C3), 166.28 (C8).



#### 10.1.10. 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42)

Vía 1: En un matraz bola de dos bocas equipado con una columna Vigreaux, tapón y conectado a un sistema de trampas, se colocaron 12 gramos (61.2 mmoles) de ácido 3-metilamino-4-nitrobenzoico (41) y 120 mL de tolueno con agitación vigorosa. Posteriormente, se procedió a añadir rápidamente 13.2 mL (21.6 gramos, 181.56 mmoles) de cloruro de tionilo y se selló el sistema. La mezcla se calentó a 90 °C con un baño de aceite y se siguió el avance de la reacción por CCF en el sistema de elución V, tomando un poco de muestra y calentándola en un exceso de metanol para formar el éster del ácido; el seguimiento mostró que a las 14 horas la materia prima se había agotado, por lo que se dejó enfriar el sistema y después se retiró la columna Vigreaux y las trampas de hidróxido de potasio para colocar un sistema de destilación conectado al vacío en el matraz bola. La mezcla se calentó en un intervalo de 90-140 °C, lo que permitió retirar la mayoría del tolueno y cloruro de tionilo del medio y la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez frio, se agregaron 100 mL de DMF al sistema con agitación vigorosa y el matraz bola se unió a un sistema de bombeo de amoniaco, el cual contenía 20 gramos de cloruro de amonio (374 mmoles) y 100 mL de una solución saturada de hidróxido de potasio. La lenta adición de hidróxido de potasio al cloruro de amonio que se mantenía en agitación vigorosa, libero lentamente amoniaco gaseoso que se burbujeó en la disolución por una hora, hasta que ya no hubo emisión alguna de gas. El examen por CCF en el sistema de elución III mostró una gran cantidad de materia prima presente y la presencia de un producto en pequeña cantidad. La mezcla resultante se destiló a presión reducida para eliminar la mayor cantidad de DMF posible y una vez realizado esto, se añadió una solución acuosa de hidróxido de potasio al medio para solubilizar a la materia prima y el sólido que no se solubilizó se filtró a vacío. Este se recristalizó de dioxano, carbón activado y atmósfera de nitrógeno, obteniéndose 2.48 gramos y presentando un punto de fusión de 338.5-340.0 °C. Pruebas posteriores con RMN <sup>1</sup>H y espectrometría de masas demostraron que no era el producto deseado, por lo que se desechó esta vía. Nota: Pruebas con cantidades más pequeñas del respectivo ácido usando 3 gotas de DMF como catalizador y dos equivalentes de cloruro de tionilo permitió la obtención del cloruro de ácido en las mismas condiciones pero en un intervalo de una hora de calentamiento.



*Vía 2*: En un matraz bola de 250 mL se colocaron 6 gramos (30.6 mmoles) de **41** y 50 mL de formamida con agitación vigorosa. A esta disolución se agregaron, inicialmente, 8.32 mL (6.04 gramos, 59.7 mmoles) de trietilamina que provocó la solvatación del ácido en el medio. Más adelante y de manera lenta, se agregaron 17.52 gramos (33.66 mmoles) de PyBOP y 50 mL adicionales de formamida, por lo que el sistema se selló con un globo de nitrógeno. A la formación del aducto de ácido con PyBOP se le dio seguimiento con CCF y la mezcla de elución V, tomando una muestra y calentándola en metanol para formar el éster correspondiente. Después de 2 horas de agitación vigorosa bajo atmósfera de nitrógeno y sin cambio observables por CCF, se procedió a agregar 12.93 mL (9.39 gramos, 92.78 mmoles) adicionales de trietilamina y 8.15 gramos (156.32 mmoles) de cloruro de amonio, sellando nuevamente el sistema y siguiendo el avance de la reacción por otras 2 horas. Una vez que no existieron cambios por CCF, a la mezcla de reacción se le añadió hielo y se sometió a agitación, precipitando un sólido rojo que se filtró a vacío. La recristalización de este solidó en etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno permitió obtener 1.07 gramos (18%) de cristales anaranjados con un R<sub>f</sub> = 0.28 en CCF del sistema VI y un punto de fusión de 228.0-228.5 °C.



Via 3: En un matraz bola de 250 mL se colocaron 6 gramos (30.6 mmoles) de 41 y 60 mL de DMF con agitación vigorosa. A esta disolución se agregaron lentamente 5.95 gramos (36.7 mmoles) de CDI, observando la liberación de dióxido de carbono. Una vez añadido por completo el CDI, el sistema se selló con un globo lleno de nitrógeno y se dejó en agitación; la rápida liberación de dióxido de carbono supuso la rápida formación del N-acilimidazol correspondiente, por lo que se tomó una única placa de CCF en el sistema de elución II a 20 minutos de iniciada la reacción, tratando antes la muestra con metanol caliente y corroborando el consumo casi completo de la materia prima. Hecho lo anterior, el matraz bola se conectó a un sistema de bombeo, en el cual se encontraban 18.6 mL (305.3 mmoles) de hidróxido de amonio al 28% enfriado a 4 °C, a este se añadió poco a poco 12.23 gramos (305.7 mmoles) de hidróxido de sodio, procurando agregarlo sólo cuando el burbujeó de amoniaco se detenía debido a la fuerte liberación del mismo con la añadidura de la base. Terminada la adición y bombeo de amoniaco, precipitó un sólido anaranjado/rojizo, la mezcla resultante se destiló casi a sequedad a presión reducida para eliminar la DMF presente. A continuación, se agregó agua al matraz y el sólido suspendido fue filtrado y se lavó varias veces con agua fría. La recristalización de este en etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno permitió la obtención de 3.64 gramos (61%) de cristales anaranjados, con las mismas características que el compuesto descrito en la vía 2. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3399.83, 3365.87 (N-H, NHCH<sub>3</sub>, CONH<sub>2</sub>), 3156.35, 2967.72, 2936.66 (C-H's aromáticos), 2886.51, 2819.88 (C-H, NHCH<sub>3</sub>), 1656.27 (C=O), 1608.13 (C=C, C-C), 1577.90, 1391.88 (NO<sub>2</sub>), 1262.29, 1218.05 (C-N, C-NHCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>), 764.99, 731.96 (C-NO<sub>2</sub>). EM (DART, 19.8 eV) m/z (% a.r.) [Asig.]: 197 (100) [M+2]+. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 2.99-3.00 (d, J = 5 Hz, 3H, H7), 7.05-7.08 (dd,  $J_1 = 8.94$  Hz,  $J_2 = 1.72$  Hz, 1H, H6), 7.38-7.39 (d, J = 1.6 Hz, 1H, H2), 7.61 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, NH), 8.07-8.09 (d, J = 8.84 Hz, 1H, H5), 8.17 (s, 2H, D<sub>2</sub>O, H9). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 29.75 (C7), 113.43 (C2), 113.59 (C6), 126.33 (C5), 131.89 (C4), 141.08 (C1), 145.56 (C3), 166.78 (C8).



#### 10.1.11. 4-amino-3-(metilamino)benzamida (43)

En un vaso de hidrogenación, se disolvieron 1.75 gramos (9 mmoles) de 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42) en 150 mL de metanol, posteriormente fueron añadidos 0.175 gramos de paladio en carbón activado en una campana de extracción. Enseguida, se procedió a conectar el vaso al hidrogenador para purgarlo con tres lavados de hidrógeno de 30 lb/in<sup>2</sup>. Una vez purgado, el sistema se sometió a una presión de hidrógeno de 60 lb/in<sup>2</sup> y agitación regulada por un reóstato. El proceso de hidrogenación se detuvo después de una hora al no haber cambios en la presión del sistema y después de haberse consumido 30 lb/in<sup>2</sup>. La mezcla de reacción se filtró en una cama de celita para eliminar el catalizador, evitando que este se secara a totalidad, debido a su carácter inflamable, con lavados de metanol hasta que el disolvente filtrado no tuviera color. La mezcla, con 200 mL de metanol, se usó para realizar la siguiente reacción sin aislar el producto obtenido.





La mezcla de reacción del paso anterior, fue colocada en un matraz bola de dos bocas con una capacidad de 250 mL, el cual se equipó con una columna Vigreaux y un tapón. El medio se sometió a agitación vigorosa y se le añadió lentamente 1.17 gramos (11.05 mmoles) de bromuro de cianógeno. Terminada la adición, la mezcla se calentó a 60 °C por dos horas, dándole seguimiento por CCF en el sistema de elución VII. Corroborada la desaparición de la materia prima, el sistema se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se destiló el disolvente a presión reducida, dejando un poco de metanol, al cual se le agregó agua. Esto se puso en un baño de hielo a 4°C y se le agregó una disolución de hidróxido al 10%, hasta que el pH fuera de 10, precipitando un sólido oscuro, cuyo peso, una vez seco fue 1.42 gramos (83%). Una pequeña fracción de solidó se tomó y se recristalizó en metanol, obteniendo un sólido blanco, el cual presentó un  $R_f = 0.2$  en CCF del sistema VII y un punto de fusión de 308-309 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3433.44, 3414.88 (N-H, CONH<sub>2</sub>), 3148.15, 3039.97 (C-H's aromáticos), 2744.45 (C-H, NCH<sub>3</sub>), 1636.24 (C=O), 1614.35, 1583.57 (C=C, C-C), 1480.78, 1461.29 (C=N), 1379.46, 1286.93 (C-N, C-NH<sub>2</sub>, C-NCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 191 (100) [M+1]+<sup>-</sup>. **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.53 (s, 3H, H10), 6.71 (s, 2H, D<sub>2</sub>O, H11), 7.08 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NHA) 7.10-7.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H5), 7.56-7.59 (dd, *J<sub>I</sub>* = 8.24 Hz, *J<sub>2</sub>* = 1.6 Hz, 1H, H6), 7.71-7.71 (d, *J* = 1.48 Hz, 1H, H8), 7.76 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NHB). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 28.44 (C10), 107.10 (C5), 113.41 (C8), 120.72 (C6), 123.98 (C7), 134.58, 145.65, 157.13 (C2), 168.75 (C12).



#### 10.1.13. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-6-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (51)

En un tubo de microondas G4 de 10 mL se colocaron 0.5 gramos (2.62 mmoles) de 44 y 1.5 mL (1.7 gramos, 12.42 mmoles) de 2-metoxibenzaldehido. El tubo se introdujo al automuestreador y el microondas se programó con una temperatura de 160 °C, rampa de 3 minutos, 30 minutos de reacción y potencia no constante (variable y ajustada a la temperatura). Se obtuvo un sólido de color amarillo suspendido en el aldehído que no reaccionó, cuyo análisis por CCF develó el consumo casi total de la materia prima y un producto principal con un  $R_f = 0.66$  en el sistema VII de elución. La mezcla de reacción se usó así para la siguiente reacción.



#### 10.1.14. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2)

La mezcla de la reacción anterior se extrajo con tolueno del tubo de microondas, obteniendo un sólido amarillo/verdoso que se filtró a vacío. Este se lavó con tolueno frio para eliminar el exceso de 2-metoxibenzaldehido y, una vez seco, se suspendió en 10 mL de metanol. Esta mezcla se enfrió en un baño de hielo a 4 °C para, posteriormente, añadir lentamente 0.3 gramos (8 mmoles) de borohidruro de sodio bajo agitación vigorosa. Terminada la adición del agente reductor, el sistema se selló con un globo lleno de nitrógeno y se dejó reaccionar por una hora. El examen por CCF en el sistema de elución VII reveló el consumo prácticamente total de la materia prima, por lo que se añadió agua a la disolución para disolver las sales de boro, observando la precipitación de un sólido amarillo que se filtró a vacío. Este se sometió a una recristalización en metanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno, obteniendo 0.33 g (40.6%) de un sólido levemente amarillo con un Rf = 0.6 en CCF del sistema VII y un punto de fusión 230.7-232.7 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3285.43 (N-H, NHCO), 3153.91 (C-H's aromáticos), 2970.27, 2947.66, 2837.12 (C-H, NCH<sub>3</sub>, NHCH<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub>), 1578.09 (C=O), 1512.31, 1489.16 (C=C, C-C), 1394.08, 1379.07 (C=N), 1284.24 (C-N, C-NH, C-NCH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>C-NH, N-CH<sub>3</sub>), 1239.48 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 311 (100) [M+1]+, 268 (11) [M+2-CONH<sub>2</sub>], 191 (18) [M+2-C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O]. **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (alta resolución): 311.15080 (masa calculada), 311.15139 (masa obtenida),  ${}^{12}$ C<sub>17</sub>  ${}^{11}$ H<sub>19</sub>  ${}^{14}$ N<sub>4</sub>  ${}^{16}$ O<sub>2</sub> (formula probable). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d6) ppm**: 3.60 (s, 3H, **H12**), 3.84 (s, 3H, **H21**), 4.58-4.59 (d, *J* = 6 Hz, 2H, **H14**), 6.86-6.90 (ddd, *J<sub>1</sub>* = 7.44 Hz, *J<sub>2</sub>* = 7.44 Hz, *J<sub>3</sub>* = 0.88

Hz, 1H, H19), 6.98-7.00 (dd,  $J_1$  = 8.26 Hz,  $J_2$  = 0.68 Hz, 1H, H17), 7.05 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H11-NHA), 7.11-7.13 (d, J = 8.24, 1H, H5), 7.20-7.25 (ddd,  $J_1$  = 7.79 Hz,  $J_2$  = 7.7 Hz,  $J_3$  = 1.64 Hz, 1H, H18), 7.26-7.31 (m, 2H, H20 y H13-NH), 7.54-7.57 (dd,  $J_1$  = 8.24 Hz,  $J_2$  = 1.68, 1H, H6), 7.74-7.74 (d, J = 1.44 Hz, 1H, H8), 7.76 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H11-NHB). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 28.24-28.36 (C12), 40.71 (C14), 55.27-55.29 (C21), 106.98 (C8), 110.32 (C17), 113.73 (C5), 120.04 (C19), 120.56 (C6), 124.28 (C7), 127.21 (C20), 127.31 (C18), 127.80 (C15), 135.09 (C9), 145.34 (C4), 156.62 (C2), 156.76 (C16), 168.59 (C10).



#### 10.1.15. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3)

En un matraz bola de 100 mL se colocaron 10 mL de DMF, donde se disolvieron 0.25 gramos (1.31 mmoles) de 2amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44) calentando en un baño de aceite a 60 °C con atmósfera de nitrógeno. Una vez que se observó la solvatación completa del solidó en el disolvente, se dejó enfriar la disolución a temperatura ambiente y se añadieron 0.25 mL (0.1815 gramos, 1.8 mmoles) de trietilamina al medio aplicando agitación vigorosa. El matraz bola se equipó con un embudo de adición de 10 mL y atmósfera de nitrógeno; en el embudo se introdujeron 0.25 mL (0.29 gramos, 1.68 mmoles) de cloruro de 2-metoxibenzoilo y más adelante se añadieron 5 mL de DMF. El sistema se selló bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla DMF/cloruro de ácido se añadió lentamente a la carboxamida disuelta. Terminada la adición, la mezcla se dejó agitando una hora dándole seguimiento por CCF en el sistema de elución VII. Corroborada la ausencia de materia prima, se removió la DMF por destilación a presión reducida, dejando la muestra casi a seguedad. El sólido resultante se recristalizó de ciclohexano/metanol/etanol en presencia de carbón activado y atmósfera de nitrógeno. Esto permitió la obtención de 93 miligramos (22%) de un sólido blanco con un Rf = 0.6 en CCF del sistema VII y un punto de fusión 282.4-284.0 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3356.51, 3272.52 (N-H, NHCO), 3174.17, 3067.69, 3009.53 (C-H's aromáticos), 2999.31, 2946.55, 2847.71 (C-H, NCH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 1666.80, 1657.52 (C=O), 1599.27, 1575.71, 1524.97 (C=C, C-C), 1403.14, 1390.02 (C=N), 1346.40, 1318.30 (C-N, C-NH, C-NCH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>), 1288.44 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>). EM (DART, 19.8 eV) m/z (% a.r.) [Asig.]: 325 (96) [M+1]+, 359 (100). EM (DART, 19.8 eV) m/z (alta resolución): 325.13006 (masa calculada), 325.12962 (masa obtenida),  ${}^{12}C_{17}{}^{14}H_{17}{}^{14}N_{4}{}^{16}O_{3}$  (formula probable). **RMN** <sup>1</sup>**H** (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.689 (s, 3H, H12), 3.886 (s, 3H, H21), 7.066, 7.169, 7.554, 7.746-7.763, 7.777-7.802, 8.088 (7H, H5, H6, H8, H17, H18, H19 y H20), 7.332 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H11-NHA), 7.928 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H11-NHB), 10.669 y 12.811 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NH). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 30.16 (C12), 55.93 (C21), 109.98, 112.29, 117.75, 120.52, 121.56, 122.41, 128.26, 130.18 (C5, C6, C7, C8, C17, C18, C19 y C20), 133.19 (C15), 134.40 (C9), 142.87 (C4), 147.36 (C2), 157.22 (C16), 165.64 (C14), 168.13 (C10).



#### 10.1.16. Ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46)

En un reactor Parr® de un litro se mezclaron 30 gramos (148.84 mmoles) de ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (45), 29.88 gramos (442.54 mmoles) de clorhidrato de metilamina y 82.26 gramos (595.2 mmoles) de carbonato de potasio en 600 mL de agua. El reactor se programó para calentar a 120 °C por 9 horas y se le dio seguimiento a la reacción con el sistema de elución VI. Corroborada la transformación total de la materia prima, se procedió a enfriar la mezcla de reacción y se trasladó a un vaso de precipitados de cuatro litros, en donde se le añadió hielo y se sometió a agitación vigorosa para añadir lentamente ácido sul fúrico concentrado en un lapso de una hora, precipitando un sólido de color amarillo intenso. Una vez que se llegó a un pH = 1-2, se filtró el producto obtenido a vacío, lavándolo con hexano. Se dejó secar varios días, obteniéndose 33.32 gramos de un sólido de color amarillo intenso, considerándose cuantitativo la transformación de la materia prima; se tomó una pequeña muestra del sólido para caracterizarló, para ello se recristalizó de etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno obteniéndose cristales amarillos con un  $R_f = 0.47$  en CCF del sistema VI y un punto de fusión de 303.5-305.0 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3361.43 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 3096.30 (O-H, CO<sub>2</sub>H), 2923.09 (C-H's aromáticos), 2795.47 (C-H, NHCH<sub>3</sub>), 1679.41 (C=O), 1614.34 (C=C, C-C), 1564.06, 1278.66 (NO<sub>2</sub>), 1223.40, 1178.97 (C-N, C-NHCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>), 820.85, 759.48 (C-NO<sub>2</sub>). EM (DART, 19.8 eV) m/z (% a.r.) [Asig.]: 197 (100) [M+1]+, 161 (11). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 2.98-2.99 (d, J = 4.8 Hz, 3H, **H7**), 6.98-7.01 (d, J = 9.12 Hz, 1H, **H5**), 7.93-7.96 (dd,  $J_1 = 9.02$  Hz,  $J_2 = 1.92$  Hz, 1H, **H6**), 8.49-8.52 (m, 1H, **NH**), 8.57-8.57 (d, J = 2 Hz, 1H, H2), 12.78 (s, 1H, H10). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) ppm: 29.88 (C7), 114.34 (C5), 116.83 (C1), 128.32 (C3), 130.36 (C2), 135.99 (C6), 147.95 (C4), 165.99 (C8).



#### 10.1.17. 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47)

*Vía 1*: La metodología fue igual a la descrita en la sección 10.1.10, tanto en cantidades de reactivo usado como de condiciones, sólo que el tiempo de reacción fue de 16 horas y el producto obtenido se purifico primero en una columna empaquetada de alúmina neutra, absorbiéndolo primero en una cantidad mínima de alúmina y eluyendo la columna con dioxano, mismo solvente con el cual se cristalizó con carbón activado y atmósfera de nitrógeno, obteniendo 2.3 gramos de hojuelas amarillas que presentan un punto de fusión de 146.7-147.7 °C. Pruebas posteriores con RMN <sup>1</sup>H y espectrometría de masas demostraron que no era el producto deseado, por lo que se desechó esta vía. *Nota*: Pruebas con cantidades más pequeñas del respectivo ácido usando 3 gotas de DMF como catalizador y dos equivalentes de cloruro de tionilo permitió la obtención del cloruro de ácido en las mismas condiciones pero en un intervalo de una hora de calentamiento.



*Via 2*: La metodología fue igual a la descrita en la sección 10.1.10. tanto en cantidades de reactivo usado como de condiciones. La recristalización del solidó obtenido por esta vía en etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno permitió obtener 2.20 gramos (36%) de cristales anaranjados con un  $R_f = 0.26$  en CCF del sistema VI y un punto de fusión de 249.9-251.5 °C.



*Via 3*: La metodología fue a la descrita en la sección 10.1.10. tanto en cantidades de reactivo usado como de condiciones. La recristalización del solidó obtenido en etanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno permitió la obtención de 4.51 gramos (76%) de cristales anaranjados, con las mismas características que el compuesto descrito en la vía 2. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3452.31 (N-H, CONH<sub>2</sub>), 3342.21 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 3084.99, 3015.29, 2949.64 (C-H's aromáticos), 2887.50, 2815.29 (C-H, NHCH<sub>3</sub>), 1624.88 (C=O), 1602.64, 1563.46 (C=C, C-C), 1530.60, 1354.24 (NO<sub>2</sub>), 1233.23, 1186.55 (C-N, C-NHCH<sub>3</sub>, HN-CH<sub>3</sub>), 817.93, 759.83 (C-NO<sub>2</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% ar.) **[Asig.]**: 196 (100) [M+1]+ . **RMN** <sup>1</sup>**H (400 MHz, TMS, DMSO-***d*<sub>6</sub>) **ppm**: 2.98-2.99 (d, *J* = 5 Hz, 3H, **H7**), 6.99-7.01 (d, *J* = 8.72 Hz, 1H, **H5**), 7.26 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, **H9-NHA**), 7.98 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, **H9-NHB**), 8.00-8.03 (dd, *J*<sub>1</sub> = 9.04 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.12 Hz, 1H, **H6**), 8.35-8.39 (m, 1H, D<sub>2</sub>O, **NH**), 8.65-8.65 (d, *J* = 2.16 Hz, 1H, **H2**). **RMN** <sup>13</sup>**C (100 MHz, TMS, DMSO-***d*<sub>6</sub>) **ppm**: 29.83 (C7), 113.95 (C5), 120.50 (C1), 126.31 (C3), 130.32 (C2), 134.93 (C6), 147.17 (C4), 166.15 (C8).



#### 10.1.18. 3-amino-4-(metilamino)benzamida (48)

La metodología fue prácticamente igual a la descrita en la sección 10.1.11, salvo que se utilizaron 4 gramos (20.5 mmoles) de 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47) en 150 mL de metanol y 0.4 gramos de paladio en carbón activado en una campana de extracción. El proceso de hidrogenación se detuvo después de una hora al no haber cambios en la presión del sistema y después de haberse consumido 70 lb/in<sup>2</sup>. El lavado del catalizador con metanol proveyó 200 mL de volumen total de mezcla, el cual se usó para realizar la siguiente reacción sin aislar el producto obtenido.



#### 10.1.19. 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (49)

La metodología fue igual a la descrita en la sección 10.1.12, salvo que se añadieron 2.67 gramos (25.2 mmoles) de bromuro de cianógeno a la mezcla. La precipitación del producto por el cambio de pH permitió obtener un sólido oscuro, cuyo peso, una vez seco fue 3.8 gramos (97%). Una pequeña fracción de solidó se tomó y se recristalizó en metanol, obteniendo un sólido blanco, el cual presentó un  $R_f = 0.14$  en CCF del sistema VII y un punto de fusión de 308-309 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3460.29 (N-H, CONH<sub>2</sub>), 3353.18 (N-H, NHCH<sub>3</sub>), 3157.79, 2941.12 (C-H's aromáticos), 2750.76 (C-H, NCH<sub>3</sub>), 1678.61 (C=O), 1634.47, 1604.67, 1580.17 (C=C, C-C), 1536.83, 1471.74 (C=N), 1399.70, 1238.63, 1069.97 (C-N, C-NH<sub>2</sub>, C-NHCH<sub>3</sub>,

HN-CH<sub>3</sub>). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 191 (100) [M+1]+. **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.51 (s, 3H, H10), 6.57 (s, 2H, D<sub>2</sub>O, H11), 7.06 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NHA), 7.13-7.15 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H, H8), 7.51-7.53 (dd, *J*<sub>*I*</sub> = 8.2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.64 Hz, 1H, H7), 7.71-7.72 (d, *J* = 1.48 Hz, 1H, H5) 7.79 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NHB). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, **DMSO-***d***<sub>6</sub>) ppm:** 28.55 y 28.58 (C10), 106.54 (C8), 114.14 y 114.15 (C7), 118.46 (C5), 126.62 (C6), 137.25 (C4), 142.29 (C9), 156.36 (C2), 168.99 (C12).



10.1.20. 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4)

En un matraz bola de 100 mL se colocaron 10 mL de acetona, donde se suspendieron 0.5 gramos (2.63 mmoles) de 2amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (49) con atmósfera de nitrógeno y agitación vigorosa. Enseguida, se añadieron 0.5 mL (0.363 gramos, 3.59 mmoles) de trietilamina al medio. El matraz bola se equipó con un embudo de adición de 10 mL y atmósfera de nitrógeno; en el embudo se introdujeron 0.5 mL (0.573 gramos, 3.36 mmoles) de cloruro de 2-metoxibenzoilo y más adelante se añadieron 10 mL de acetona. El sistema se selló bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla acetona/cloruro de ácido se añadió lentamente a la carboxamida disuelta. Terminada la adición, la mezcla se dejó agitando una hora dándole seguimiento por CCF en el sistema de elución VII. Corroborada la ausencia de materia prima, se removió la acetona por destilación a presión reducida, dejando la muestra casi a sequedad. El sólido resultante se recristalizó de ciclohexano/metanol/etanol en presencia de carbón activado y atmósfera de nitrógeno. Esto permitió la obtención de 0.3 gramos (35.3%) de un sólido blanco con un Rf = 0.6 en CCF del sistema VII y un punto de fusión 227.3-228.4 °C. IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 3295.22 (N-H, NHCO), 3197.69 (C-H's aromáticos), 2946.83, 2842.33 (C-H, NCH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 1655.34 (C=O), 1569.43, 1532.51 (C=C, C-C), 1390.46 (C=N), 1328.33 (C-N, C-NH, C-NCH<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>), 1288.81 (C-O, C-OCH<sub>3</sub>). EM (DART, 19.8 eV) m/z (% a.r.) [Asig.]: 325 (100) [M+1]+, 307 (44) [M+2-CH<sub>3</sub>], 181 (13), 153 (22), 135 (67) [M-C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>4</sub>O]. EM (DART, 19.8 eV) m/z (alta resolución): 325.13006 (masa calculada), 325.12968 (masa obtenida),  ${}^{12}C_{17}{}^{1}H_{17}{}^{14}N_4{}^{16}O_3$  (formula probable). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.68 (s, 1H, H12), 3.90 (s, 1H, H21), 7.05, 7.19, 7.56, 7.75-7.85, 8.15 (7H, H5, H7, H8, H17, H18, H19 y H20), 7.279 (s, 1H, H11-NHA), 7.986 (s, 1H, H11-NHB), 10.642 y 12.802 (s, 1H, D<sub>2</sub>O, H13-NH). **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 30.22 (C12), 55.98 (C21), 109.56, 112.25, 118.23, 120.61, 122.01, 128.81, 130.27, 133.26 (C5, C6, C7, C8, C17, C18, C19 y C20), 128.06 (C15), 136.78 (C9), 140.14 (C4), 146.79 (C2), 157.21 (C16), 165.70 (C14), 168.29 (C10).



10.1.21. (E)-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il-5-carboxamida)-1-(2-metoxifenil)metanimina (52)

La metodología fue igual a la descrita en la sección 10.1.13, tanto en cantidad de reactivos como tiempo de reacción. Se obtuvo un sólido de color amarillo suspendido en el aldehído que no reaccionó, cuyo análisis por CCF develó el consumo casi total de la materia prima y un producto principal con un  $R_f = 0.62$  en el sistema VII de elución. La mezcla de reacción se usó así para la siguiente reacción.



10.1.22. 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5)

La metodología fue igual a la descrita en la sección 10.1.14, tanto en cantidad de reactivos como tiempo de reacción. La recristalización en metanol, carbón activado y atmósfera de nitrógeno del respectivo sólido, permitió la obtención de 0.25 g (30.63%) de un sólido blanco con un Rf = 0.6 en CCF del sistema VII y un punto de fusión 238.0-239.1 °C. **IR (ATR) cm**<sup>-1</sup>: 3406.70, 3318.67, 3192.23, 3075.27, (C-H's aromáticos), 3038.18, 2935.74 (C-H, NCH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, NHCH<sub>2</sub>), 1644.17 (C=O), 1608.04, 1559.04 (C=C, C-C), 1456.54, 1434.93 (C=N), 1316.46, 1282.67, 1236.20 (C-N, H<sub>2</sub>C-NH, N-CH<sub>3</sub>, C-NH). **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (% a.r.) [Asig.]: 311 (100) [M+1]+<sup>-</sup>. **EM (DART, 19.8 eV)** *m/z* (alta resolución): 311.15080 (masa calculada), 311.15037 (masa obtenida),  ${}^{12}C_{17}{}^{11}H_{19}{}^{14}N_{4}{}^{16}O_{2}$  (Formula probable). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 3.59 (s, 3H, H12), 3.84 (s, 3H, H21), 4.57-4.58 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H, H14), 6.86-6.90 (ddd, *J*<sub>1</sub> = 7.44 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.44 Hz, *J*<sub>3</sub> = 0.92 Hz, 1H, H19), 6.98-7.00 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.16 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0.68 Hz, 1H, H17), 7.04 (s, 1/2H, D<sub>2</sub>O, H11-NHA), 7.17-7.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H8), 7.18 (s, 1H, H13-NH), 7.20-7.24 (ddd, *J*<sub>1</sub> = 7.84 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.78 Hz, *J*<sub>3</sub> = 1.68 Hz, 1H, H18), 7.28-7.30 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7.46 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.48 Hz, 1H, H20), 7.52-7.55 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.22 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.6 Hz, 1H, H7), 7.72-7.72 (d, *J* = 1.4 Hz, H5), 7.74 (s, 1/2H, D<sub>2</sub>O, H11-NHB). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>) ppm: 28.49-28.50 (C12), 40.72 (C14), 55.29-55.30 (C21), 106.45 (C8), 110.34 (C17), 114.37 (C5), 118.74 (C7), 120.02 (C19), 126.56 (C15), 127.32 (C6), 127.35 (C20), 127.79 (C18), 137.73 (C9), 142.02 (C4), 156.09 (C2), 156.65 (C16), 168.87 (C10).



## 11 Bibliografía

- a) http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/;
  b) http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/ (consultado el 8/Marzo/2018)
- 2. Becerril, M.A. (2014). Parasitología médica. 4ª edición, McGraw-Hill, México. Pag. 85-92, 95-104
- Paz, P. M., Bucio, M. I., Cabrera, M. C., Alba, M. C., Castillo, D. R., Zenteno, E. A., Rojo, J., Fernández, N. A., Perera, M. G., *Revista de la Facultad de Medicina*, 2016, 59, 1-16.
- 4. Herrera, L., Brand, S., Santos, A., Nohara, L., Harrison, J., Norcross, N., Thompson, S., Smith, V., Lema, C., Varela, A., Gilbert, I., Almeida, I., Maldonado, R., *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, *10*, 1-20.
- 5. Porrás, A. I., Yadon, Z. E., Altcheh, J., Britto, C., Chaves, G. C., Flevaud, L., Martins, O. A., Ribeiro, I., Schijman, A. G., Shikanai, M. A., Sosa, S., Stobbaerts, E., Zicker, F., *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2015**, *9*, 1-8.
- 6. Santos, A. L. S., Branquinha, M. H., Avila, C. M., Kneipp, L. F., Sodré, C. L. (2014). Proteins and Proteomics of Leishmania and Trypanosoma. Springer. Pag. 1-42.
- Merli, M. L., Pagura, L., Hernández, J., Barisón, M. J., Pral, E. M. F., Silber, A. M., Cricco, J. A., *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016, 10, 1-18.
- 8. Cardoso, M. S., Reis, J. L., Bartholomeu, D. C., Front. Immunol. 2016, 6, 1-15.
- 9. Keenan, M., Chaplin, J. H., Progr. Med. Chem. 2015, 54, 185-230.
- Martins, N. O., Torres, R., Cordero, E. M., Cortez, D., Cortez, C., Mendes, M., Ramalho, E., Bayer, E., Correia, I., Yoshida, N., Franco, J., *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015, 9, 1-28.
- 11. Peña, A. L. Enfermedad de Chagas: una revisión monográfica sobre su tratamiento. Tesis de licenciatura. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. 1998.
- 12. http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html (consultado el 11/Marzo/2018)
- 13. http://www.inegi.org.mx/sistemas/olap/proyectos/bd/continuas/mortalidad/mortalidadgeneral.asp?s=est&c=11144&proy =mort\_mg (consultado el 11/Marzo/2018)
- 14. Schiøler, K. L., Alifrangis, M., Kitron, U., Konradsen, F., PLoS Negl. Trop. Dis. 2016, 10, 1-5.
- 15. Hotez, P. J., Pecoul, B., Rijal, S., Boehme, C., Aksoy, S., Malecela, M., Tapia, R., Reeder, J. C., *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, *10*, 1-14.
- 16. Schaible, U. E., Haas, A. (2009) Intracellular Niches of Microbes: A Pathogens Guide Through the Host Cell. Wiley-VCH. Weinheim. Pag. 655-668.
- 17. Tyler, K. M., Miles, M. A. (2003) American Trypanosomiasis. Springer. Pag. 1-11.
- Fernández, C. C. La enfermedad de Chagas en México: un análisis bibliométrico de 1928 a 2000. Tesis de licenciatura. Bióloga. Facultad de Ciencias. UNAM. 2001.
- 19. Garza, M. V. Situación actual y perspectivas de la enfermedad de Chagas en México y en América Latina. Tesina para especialidad. Especialista en Bioquímica Clínica. Facultad de Química. UNAM. 2015.
- 20. Sánchez, F., Campillo, N. E., Páez, J. A., Curr. Med. Chem. 2010, 17, 423-452.
- 21. Bermúdez, J., Davies, C., Simonazzi, A., Real, J. P., Palma, S., Acta Trop. 2015, 156, 1–16.
- 22. Galvão, C., Justi, S. A., Acta Trop. 2015, 151, 116-125.
- 23. Pita, S., Lorite, P., Nattero, J., Galvão, C., Alevi, K. C. C., Teves, S. C., Azeredo, M. T. V., Panzera, F., *Infec. Genet. Evol.* **2016**, *43*, 225–231.
- 24. Galvão, C., Carcavallo, R., Rocha, D. S., Jurberg, J., Zootaxa 2003, 202, 1-36.
- Harris, K. F., Barrett, T. V., Brown, D. T., Burkot, T. R., Davies, C. R., Gergerich, R. C., Gothe, R., Jones, L. D., Miller, M. L., Mogi, M., Neitz, A. W. H., Nuttall, P. A., Scott, H. A., Sota, T., Wirtz, R. A. (1991) Advances in Disease Vector Research. Springer. New York. Pag. 143-176.
- 26. Martínez, J. A., Alejandre, R., Torres, A., Trujillo, J. C., Nogueda, B., Trujillo, F., Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2006, 101, 787-794.
- 27. Guevara, C. Enfermedad de Chagas. Tesis de licenciatura. Cirujano dentista. Facultad de Odontología. UNAM. 1998.
- 28. Apt, W.L. (2013) Parasitología Humana. Mc-Graw Hill, México. Pag. 282-309.
- 29. Hernández, M. E. *Diagnóstico y manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas*. Tesina de licenciatura. Cirujano dentista. Facultad de Odontologia. UNAM. 2008.
- 30. https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html (consultado el 14/Marzo/2018)
- Franco, C., Santos, J.I. (2015) Neglected Tropical Diseases-Latin America and the Caribbean. Springer. Pag. 45-72, 113-128.
- 32. Teixeira, A. R. L., Hecht, M. M., Guimaro, M. C., Sousa, A. O., Nitz, N., Clin. Microbiol. Rev. 2011, 24, 592-630.
- 33. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/39222/ManualEnfermedadChagas2014.compressed.pdf (consultado el 14/Marzo/2018)

- Telleria, J., Tibayrenc, M. (2010) American Trypanosomiasis Chagas Disease: One Hundred Years of Research. Elsevier. Pag. 743-792.
- 35. Torres, F. A. E., Passalacqua, T. G., Velásquez, A. M. A., De Souzab, R. A., Colepicolod, P., Graminha, M. A. S., *Rev. Bras. Farmacogn.* 2014, 24, 265-276.
- 36. Apt, W., Heitmann I., Jercic, M. I., Jofré L., Muñoz, P., Noemí, I., San Martín, A. M., Sapunar, J., Torres, M., Zulantay, I., *Rev. Chil. Infect.* 2008, 25, 384-389.
- 37. Aminoff, M. J., Boller, F., Swaab, D. F. (2013) Handbook of Clinical Neurology. Elsevier. Amsterdam. Pag. 115-123.
- 38. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38610/1/924320811\_spa.pdf (consultado el 15/Marzo/2018)
- Angélica P. V. Progreso y desarrollo en los compuestos químicos utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Chagas y leishmaniosis. Trabajo monográfico de actualización. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. 1999.
- 40. Graebin, C. S., Uchoa, F. D., Bernardes, L. S. C., Campo, V. L., Carvalho, I., Eifler, V. L., Antiinfec. Agents Med. Chem. 2009, 8, 345-366.
- 41. Rivera, G., Bocanegra, V., Ordaz, C., Nogueda, B., Monge, A., Curr. Med. Chem. 2009, 16, 3286-3293.
- 42. Iqbal, H., Ishfaq, M., Wahab, A., Abbas, M. N., Ahmad, I., Rehman, A., Zakir, M., Asian Pac. J. Trop. Dis. 2016; 6, 1-5.
- 43. Srivastava, S., Shankar, P., Mishra, J., Singh, S., Parasite. Vector. 2016, 9, 1-15.
- 44. Silva, I., Thiemann, O. H., Anibal, F. F., J. Braz. Chem. Soc. 2014, 25, 1810-1823.
- 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., Molteni, V., *Chem. Rev.* 2014, *114*, 11305–11347.
- 46. Kedzierski, L., Hum. Vaccines 2011, 7, 1204-1214.
- 47. Den Boer, M., Argaw, D., Jannin, J., Alvar, J., Clin. Microbiol. Infect. 2011, 17, 1471-1477.
- 48. Kobets, T., Grekov, I., Lipoldová, M., Curr. Med. Chem. 2012, 19, 1443-1474.
- 49. Akbaria, M., Oryanb, A., Hatama, G., Acta Trop. 2017, 172, 86-90
- 50. Wolf, P., Perles, T. F., Rocha, T., Alves, C., Galhardo, I., Alessi, S. M., Campana, M. V., Vieira, J. J., Verzignassi, T. G., *Parasitology* **2017**, *144*, 995-1004.
- 51. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/39244/ManualLeishmaniasis2015.pdf (consultado el 21/Marzo/2018)
- 52. González, U., Pinart, M., Sinclair, D., Firooz, A., Enk, C., Vélez, I. D., Esterhuizen, T. M., Tristan, M., Alvar, J., Cochrane Db. Syst. Rev. 2015, Issue 8. Art. No.: CD008736.
- 53. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/195727/lineamientos\_para\_la\_vigilancia\_de\_leishmaniasis.pdf (consultado el 21/Marzo/2018)
- 54. Fernandes, P. H., De Andrade, A. J., Bianchi, E. A., ZooKeys 2017, 660, 67-106.
- 55. Vargas, F., Torres, E., Arenas, R., Quintanilla, M. R., Med. Cutan. Iber. Lat. Am. 2011, 39, 163-183.
- Akhoundi, M., Downing, T., Votýpka, J., Kuhls, K., Lukeŝ, J., Cannet, A., Ravel, C., Marty, P., Delaunay, P., Kasbari, M., Granouillac, B., Gradoni, L., Sereno, D., *Mol. Aspects Med.* 2017, 57, 1-29.
- 57. Mehlhorn, H. (2016) Encyclopedia of Parasitology. 4th Edition. Springer. Berlin. Pag. 1431-1461.
- 58. https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html (consultado el 24/Marzo/2018)
- 59. https://es.slideshare.net/MARIKMEN/leishmaniasis-final-ultimo-listo (consultado el 25/Marzo/2018)
- Bezerra, J. P., Sampaio, C. E., De Oliveira, A. L., Petersen, A., Mothé, D. B., Tavares, P. S., *Biomed. Res. Int.* 2015, 2015, ID 815023, 1-11.
- 61. Bhatia, S., Goli, D. (2017) Leishmaniasis: Biology, Control and New Approaches for Its Treatment. Apple Academic Press. New Jersey. Pag. 67-71, 90, 93,94.
- 62. Hefnawy, A., Berg, M., Dujardin, J. C., De Muylder, G., Trends Parasitol. 2017, 33, 162-174.
- 63. Ilari, A., Fiorillo, A., Baiocco, P., Poser, E., Angiulli, G., Colotti, G., Mini-Rev. Med. Chem. 2015, 15, 243-252.
- 64. Gupta, S., Sharma, P., Gupta, M. K., Curr. Nanomed. 2016, 6, 21-42.
- 65. Sangshetti, J. N., Kalam, F. A., Kulkarni, A. A., Arote, R., Patil, R. H., RSC Adv. 2015, 5, 32376-32415.
- 66. Torres, E., Quintanilla, M. R. Ruiz, J., Arenas, R., F1000 Research 2017, 6, 1-15.
- 67. Uliana, S. R. B., Trinconi, C. T., Coelho, A. C., Parasitology 2017, doi:10.1017/S0031182016002523. Pag. 1-17.
- 68. D'Antonio, E. L., Ullman, B., Roberts, S. C., Dixit, U. G., Wilson, M. E., Hai, Y., Christianson, D. W., Arch. Biochem. Biophys. 2013, 535, 163-176.
- 69. Balaña-Fouce, R., Calvo-Álvarez, E., Álvarez-Velilla, R., Prada, C. F., Pérez-Pertejo, Y., Reguera, R. M., *Mol. Biochem. Parasit.* 2012, *181*, 85-93.
- 70. Irigoín, F., Cibils, L., Comini, M. A., Wilkinson, S. R., Flohé, L., Radi, R., Free Radical Bio. Med. 2008, 45, 733-742.
- 71. https://www.uniprot.org/align/ (consultado el 12/Septiembre/2018)
- 72. Medina-Franco, J. L., López-Vallejo, F., Castillo, R., *Revista Educación Química de la Facultad de Química de la UNAM* **2006**, *17*, 452-457.

- 73. Medina-Franco, J. L., Fernández-de Gortari, E., Naveja, J. J., *Revista Educacion Química de la Facultad de Química de la UNAM* 2015, 26, 180-186.
- 74. Pouplana, R., Barril, X., Luque, F. J., Life Sciences Lab 2009, 28-31.
- 75. Pagadala, N. S., Syed, K., Tuszynski, J., Biophys. Rev. 2017, 9, 91-102
- 76. Gaba, M., Mohan, C., Med. Chem. Res. 2016, 25, 173-210.
- 77. Grimmett, M. R., Science of Synthesis 2002, 12, 529-612.
- 78. Ajani, O. O., Aderohunmu, D. V., Ikpo, C. O., Adedapo, A. E., Olanrewaju, I. O., Arch. Pharm. Chem. Life Sci. 2016, 349, 475-506.
- 79. Chawla, A., Kaur, G., Sharma, A. K., Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res. 2012, 2, 148-159.
- 80. Hassan, M. T. (2007) Bioactive Heterocycles III. Springer. Berlin. Pag. 88.
- 81. Ellis, G. P., Jones, R. T., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1974, 903-909.
- 82. Wright, J. B., Chem. Rev. 1951, 48, 397-541.
- 83. Katritzky, A. R. (2010) Handbook of Heterocyclic Chemistry, 3rd Edition, Elsevier Ltd, Amsterdam. Pag. 593.
- 84. Joules, J. A., Mills, K. (2010) *Heterocyclic Chemistry*, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons Publications, West Sussex. Pag. 505.
- 85. Bansal, Y., Silakari, O., Bioorg. Med. Chem. 2012, 20, 6208-6236.
- 86. Song, D., Ma, S., Chem. Med. Chem. 2016, 11, 646-659.
- Shrivastava, N., Naim, M. J., Alam, M. J., Nawaz, F., Ahmed, S., Alam, O., Arch. Pharm. Chem. Life Sci. 2017, 350, e1700040, 1-80.
- 88. Alaqeel, S. I., J. Saudi Chem. Soc. 2017, 21, 229-237
- 89. Yadav, G., Ganguly, S., Eur. J. Med. Chem. 2015, 97, 419-443.
- 90. Vitaku, E., Smith, D. T., Njardarson, J. T., J. Med. Chem. 2014, 57, 10257-10274.
- 91. Narasimhan, B., Sharma, D., Kumar, P., Med. Chem. Res. 2012, 21, 269-283.
- Kedar, M. S., Dighe, N. S., Pattan, S. R., Musmade, D. S., Thakur, D., Bhosale, M., Gaware, V. M., *Der Pharma Chemica* 2010, 2, 249-256.
- 93. Maruthamuthu, Rajam, S., Stella, C. R., Dileepan, B., Ranjith, R., J. Chem. Pharm. Res. 2016, 8, 505-526.
- 94. Hanušová, V., Skálová, L., Králová, V., Matoušková, P., Curr. Cancer Drug Tar. 2015, 15, 35-52.
- 95. Elagab, H. A., Elixir Appl. Chem. 2016, 90, 37597-37638.
- 96. Quiroz, H. (1999) Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa. México. Pag. 460.
- 97. Camargo, B., Cruz, A. (2001) Glosario de términos en parasitología y ciencias afines. Editorial Plaza y Valdés. México. Pag. 337.
- 98. http://vademecumavisa.org.ve/fichapro.php?recordId=687 (consultado el 27/Marzo/2018)
- 99. http://vademecumavisa.org.ve/fichapro.php?recordId=529 (consultado el 27/Marzo/2018)
- 100.Maldonado, A. *Diseño síntesis y actividad de derivados del bencimidazol contra Leishmania mexicana*. Tesis de Maestría. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. **2014**.
- 101. Méndez, C. A. Acoplamiento molecular, síntesis y evaluación biológica de derivados del bencimidazol contra piruvato cinasa y arginasa de Leishmnania spp. Tesis de Doctorado. Facultad de Química. UNAM. 2014.
- 102. Mateus, J. B. *Síntesis y actividad antiparasitaria de derivados clorados del bencimidazol*. Tesis de Maestría. Químico. Facultad de Química. UNAM. 2015.
- 103.Nieto-Meneses, R., Castillo, R., Hernández-Campos, A., Maldonado-Rangel, A., Matius-Ruiz, J. B., Trejo-Soto, P. J., Nogueda-Torres, B., Dea-Ayuela, M. A., Bolás-Fernández, F., Méndez-Cuesta, C., Yépez-Mulia, L., *Exp. Parasitol.* 2017, 184, 82-89.
- 104.Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J. C., Moro, M. A., Portolés, A. (2008) Farmacología Básica y Clínica. 18° Edición, Editorial Médica Panamericana. Hong Kong. Pag. 41.
- 105. Stoker, H. S. (2010) General, Organic, and Biological Chemistry. 5th Edition. Cengage Learning. California. Pag. 536.
- 106.Bandyopadhyay, D., Samano, S., Villalobos-Rocha, J. C., Sánchez-Torres, L. E., Nogueda-Torres, B., Rivera, G., Banik, B. K., Curr. Med. Chem. 2017, 24, 4714-4725.
- 107.Oh, S., Kim, S., Kong, S., Yang, G., Lee, N., Han, D., Goo, J., Siqueira-Neto, J. L., Freitas-Junior, L. H., Song, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *84*, 395-403.
- 108. Gigante, F., Kaiser, M., Brun, R., Gilbert, I. H., Bioorg. Med. Chem. 2010, 18, 7291-7301.
- 109. Sección de ayuda (Help) del programa Maestro Schrödinger®.
- 110. Leach, A. R. (2001) Molecular Modelling: Principles and Applications". 2° Edición. Prentice Hall. Dorset. Pag. 165.
- 111.Patil, V. V., Shankarling, G. S., J. Org. Chem. 2015, 80, 7876-7883.
- 112. Garnovskii, S., Antsyshkina, S., Vasil'chenko, S., Burlov, C., Russian Chemical Bulletin, 1996, 45, 1988-1992.

- 113. Durcik, M., Tammela, P., Barančoková, M., Tomašič, T., Ilaš, Y., Kikelj, D., Zidar, N., *ChemMedChem* **2018**, *13*, 186-198.
- 114. Pérez, J. *Relaciones estructura-actividad, diseño, síntesis y actividad antiprotozoaria de derivados de bencimidazol*. Tesis de Doctorado. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. **2013**.
- 115. Reverdin, D., Bulletin de la Societe Chimique de France 1908, 4, 133.
- 116.López, N. Diseño, síntesis y actividad antiparasitaria de nuevas carboxamidas bencimidazólicas 1-metiladas. Tesis de Maestría. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. 2006.
- 117. Soria, O. Síntesis y actividad antiparasitaria de derivados bencimidazólicos híbridos con nitrotiazol. Tesis de Doctorado. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. 2014.
- 118.Martínez, G. *Síntesis y actividad de derivados de 1H-bencimidazol en la arginina desiminasa de Giardia intestinalis*. Tesis de Maestría. Químico. Facultad de Química. UNAM. **2014**.
- 119. Altieri, D., Dohi, T., Ghosh, J., US 2008/0125358 A1.
- 120.McClure, K. J., Huang, L., Arienti, K. L., Axe, F. U., Brunmark, A., Blevitt, J., Breitenbucher, J. G., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006, 16, 1924-1928.
- 121.Cody, R. and Domin, M. (2015) *Ambient Ionization Mass Spectrometry*. The Royal Society Chemistry®. Cambridge. Pag. 26.
- 122. Munack, S., Leroux, V., Roderer, K., Ökvist, M., Eerde, A., Gundersen, L. L., Krengel, U., Kast, P., Chemistry and Biodiversity 2012, 9, 2507-2527.
- 123.Charnley, A. K., Darcy, M. G., Dodson, J. W., Hughes, T. V., Li, Y., Lian, Y., Nevins, N., Ramanjulu, J. M., WO 2017/175156 A1.
- 124. Wang, Q., Schreiber, S. L., Org. Lett. 2009, 11, 5178-5180.
- 125.Liu, H., Pan, W., Xu, Y. J., WO 2005/042496 A1.



Anexo 1: Espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) de hidrógeno (<sup>1</sup>H) y carbono (<sup>13</sup>C) y espectrometría de masas (EM).



Espectro 2: RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub> de *N*-metil-2-nitroanilina (35), P.M. 152.1506 g/mol.











Espectro 9: IR-ATR de 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39), 211.1714 g/mol.



Espectro 10: RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub> de 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39), 211.1714 g/mol.



Espectro 12: EM DART de 3-metoxi-4-nitrobenzoato de metilo (39), 211.1714 g/mol.



Espectro 13: IR-ATR de ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40), P.M. 197.1448 g/mol.



Espectro 14: RMN <sup>1</sup>H en acetona-d<sub>6</sub> de ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40), P.M. 197.1448 g/mol.



Espectro 16: EM DART de ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico (40), P.M. 197.1448 g/mol.



Espectro 17: IR-ATR de ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41), P.M.196.1601 g/mol.



Espectro 18: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d<sub>6</sub> de ácido 3-(metilamino)-4-nitrobenzoico (41), P.M.196.1601 g/mol.





Espectro 21: IR-ATR de 3-(metilamino)-4-nitrobenzamida (42), P.M. 195.1753 g/mol.





100





Espectro 25: IR-ATR de 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44), P.M. 190.2019 g/mol.



Espectro 26: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-*d*<sub>6</sub> de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (44), P.M. 190.2019 g/mol.

102



Espectro 27: RMN <sup>13</sup>C en DMSO- $d_6$  de 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44), P.M. 190.2019 g/mol. x10<sup>3</sup> Intensity (151300)



Espectro 28: EM DART de 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (44), P.M. 190.2019 g/mol.


Espectro 29: IR-ATR de ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46), P.M. 196.1601 g/mol.



Espectro 30: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d<sub>6</sub> de ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (46), P.M. 196.1601 g/mol.





Espectro 33: IR-ATR de 4-(metilamino)-3-nitrobenzamida (47), P.M. 195.1753 g/mol.





106





Espectro 37: IR-ATR de 2-amino-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (49), P.M. 190.2019 g/mol.



Espectro 38: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d<sub>6</sub> de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (49), P.M. 190.2019 g/mol.

108







Espectro 40: EM DART de 2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (49), P.M. 190.2019 g/mol.



Espectro 41: IR-ATR de N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 42: EM DART alta resolución de *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 43: EM DART baja resolución de *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 44: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d<sub>6</sub> de N-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1H-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 46: RMN <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY de *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 48: Correlación heteronuclear HMBC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C de *N*-(2-metoxibencil)-2-amino-1-metil-1*H*-bencimidazol (8A), P.M. 267.3256 g/mol.



Espectro 49: IR-ATR de 2-metoxi-N-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1), P.M. 281.3092 g/mol.



Espectro 50: EM DART baja resolución de 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1), P.M. 281.3092 g/mol.



Espectro 51: EM DART alta resolución de 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1), P.M. 281.3092 g/mol.



Espectro 52: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-*d*<sub>6</sub> de 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1), P.M. 281.3092 g/mol.



Espectro 54: RMN <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY de 2-metoxi-*N*-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)benzamida (FJBT-1), P.M. 281.3092 g/mol.





Espectro 57: IR-ATR de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 58: EM DART baja resolución de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 59: EM DART alta resolución de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-2), P.M. 310.3504 g/mol.







310.3504 g/mol.





**Espectro 64A**: Expansión de la correlación heteronuclear HMBC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>H de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**FJBT-2**), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 65: IR-ATR de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 66: EM DART baja resolución de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 67: EM DART alta resolución de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (FJBT-3),



**Espectro 68**: RMN <sup>1</sup>H en **DMSO-***d*<sub>6</sub> de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-6-carboxamida (**FJBT-3**), P.M. 324.3339 g/mol.







Espectro 73: IR-ATR de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 74: EM DART baja resolución de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 75: EM DART alta resolución de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 76: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-*d*<sub>6</sub> de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.





Espectro 79: Correlación heteronuclear HSQC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 80: Correlación heteronuclear HMBC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C de 2-(2-metoxibenzamida)-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-4), P.M. 324.3339 g/mol.



Espectro 81: IR-ATR de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 82: EM DART baja resolución de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 83: EM DART alta resolución de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5), P.M. 310.3504 g/mol.



Espectro 84: RMN <sup>1</sup>H en DMSO-*d*<sub>6</sub> de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (FJBT-5), P.M. 310.3504 g/mol.



**Espectro 86**: RMN <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**FJBT-5**), P.M. 310.3504 g/mol.







**Espectro 88A**: Expansión de la correlación heteronuclear HMBC <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C de 2-[(2-metoxibencil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**FJBT-5**), P.M. 310.3504 g/mol.