

86
2ef



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS ALTERNATIVA DE
1-METILBENCIMIDAZOLES-5,6- DICLORADOS
CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA
Y ANTIPROTOZOARIA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ



MEXICO, D. F.

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

268446



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

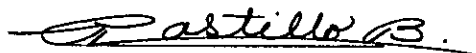
PRESIDENTE : Dr. Rafael Castillo Bocanegra
VOCAL : Q.F.B. María Elena Villatoro Méndez
SECRETARIO : M. en C. Lino Joel Reyes Trejo
1er. SUPLENTE : M. en C. Hector Ríos Olivares
2do. SUPLENTE : M. en C. Javier Carballo Perea

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA :

LAB. 122 DEPARTAMENTO DE FARMACIA, DIVISION DE BIOQUIMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.

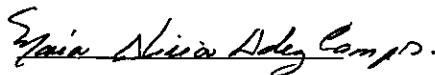
ASESOR DE TESIS

Dr. Rafael Castillo Bocanegra



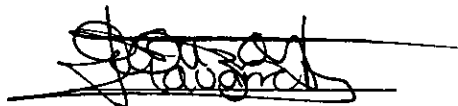
SUPERVISOR TECNICO :

M. en C. María Alicia Hernández Campos



SUSTENTANTE.

Juan Gabriel Navarrete Vázquez



DEDICO ESTE TRABAJO :

- *A mi Padre Lic. Gabriel Navarrete Alemán, guía fundamental en mi camino y mi ejemplo a seguir ; agradezco su apoyo, comprensión y confianza depositados en mí.*
- *A mi Madre Araceli Vázquez Velarde, por la felicidad de ser fruto de su cariño, esfuerzo y trabajo.*
- *A mi Abuelita Isabel Alemán Almaraz Vda. de Navarrete, por que ha estado conmigo en todo momento.*
- *A mi Tía Isabel Navarrete Alemán, por su cariño y apoyo a lo largo de mi vida.*
- *A Martha María Hernández León, por hacer que mi vida tenga un sentido y una dirección. Por su amor.*

AGRADECIMIENTOS

Con admiración y respeto al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, agradezco sus consejos, enseñanzas, comentarios y sobretodo su gran amistad.

A la M. en C. Alicia Hernández Campos, por su asesoría y sugerencias en la realización de esta tesis.

Al M. en C. Francisco Hernández Luis, por transmitir su experiencia al dar cada uno de sus consejos, y por aceptarme como ayudante de profesor en su materia.

A mis amigos: Oswaldo, Mabel, Salvador, J. Antonio, Juan Jose, Alejandro, Rivelino, Lourdes, Edith, Hector, Gladys, Jesús, Adriana, Laura A. , Mariana, Laura U., Claudia, Ericka y a toda la generación 94 de QFB's.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	
2.1 Generalidades sobre Bencimidazoles	4
2.2 Objetivos y Justificación	12
3. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Instrumentación	13
3.2 Cromatografía	14
3.3 Sistemas de elución	14
3.4 Parte Química.....	15
3.4.1 3,4-Dicloroacetanilida (2)	15
3.4.2 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3)	16
3.4.3 4,5-Dicloro -2-nitroanilina (4)	17
3.4.4 4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (5).....	18
3.4.5 5,6-Dicloro-2-metilbencimidazol (6)	19
3.4.6 5,6-Dicloro-1,2-dimetilbencimidazol (7)	20
3.4.7 2-Amino-5,6-diclorobencimidazol (8)	21
3.4.8 2-Amino-5,6-dicloro-1-metilbencimidazol (9)	22
3.4.9 5,6-Dicloro-2-mercaptobencimidazol (10)	23
3.4.10 5,6-Dicloro-1-metil-2-metiltiobencimidazol (11)	24
3.5 Pruebas de Actividad Biológica	25
4. DISCUSION Y RESULTADOS	29
5. CONCLUSIONES	35
6. ESPECTROS.....	36
7. BIBLIOGRAFIA	54

1. INTRODUCCION

Las enfermedades parasitarias (helminthiasis y protozoosis) son un problema de salud pública en México y en países pertenecientes al bloque tercermundista.

Estas infecciones atacan fundamentalmente a la población infantil y se encuentran en los primeros lugares como causa de morbilidad (MINSAP 1981).

Las helminthiasis en el hombre y animales son causadas por tres grupos de parásitos :

a) Nematodos : se encuentran en el hombre infectado tanto por estadios larvales como por adultos y se alojan en diversos órganos del cuerpo humano. A este grupo pertenece la *Trichinella spiralis*. Esta infección es transmitida por comer carne de cerdo infectada (Sharma S. 1994). La liberación de la larva es en la circulación sanguínea ; los quistes se encuentran en los músculos y el diafragma.

b) Cestodos : tienen cuerpos largos y aplastados en forma de cinta. A esta familia pertenece la solitaria o *Taenia solium* que parasita al hombre y a animales silvestres y domésticos (Horton, R.J. 1990).

c) Trematodos : carecen de cavidad corporal y sus cuerpos se encuentran aplanados y en forma de hoja. El más representativo es la *Fasciola hepatica*, que causa fasciolosis en parénquima hepático, conductos biliares y vesícula biliar ; en ganado vacuno, conejos, ratas, y el hombre (Sharma S. 1994).

Dentro de los protozoarios que causan la mayoría de las infecciones, se encuentran : *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis* y *Giardia lamblia*.

Después de muchos años de investigación Químico-Farmacéutica, en la actualidad se puede disponer de fármacos que eliminan a estos helmintos que parasitan el tracto gastrointestinal con buena respuesta terapéutica. Sin embargo, no se puede decir lo mismo para el caso de los helmintos que tienen diseminación sistémica y se alojan en diversos tejidos del cuerpo humano o de animales domésticos. Para el tratamiento de estas parasitosis extraintestinales, se requiere de fármacos que alcancen concentraciones plasmáticas adecuadas para erradicar la infección; esto es, grandes dosis y tratamientos prolongados. Algunos medicamentos tienen actividad biológica o farmacológica adecuada, pero por lo general, tienen otras características no deseables, por ejemplo: alta toxicidad, insolubilidad o problemas por su metabolismo. Dentro de los fármacos que son utilizados para combatir parasitosis intrainestinales se encuentran los bencimidazoles, representativos de una gran familia de agentes terapéuticos mostrados en la figura 1. Los bencimidazoles que tienen actividad contra trematodos son: tiabendazol, flubendazol, albendazol y mebendazol. El uso de este último ha sido sustituido por el albendazol, puesto que su espectro de acción incluye tanto infecciones intestinales como sistémicas (trichinellosis, uncariosis, trichuriasis y cisticercosis); además, sólo se requiere una sola dosis en un día, comparada con tres días de tratamiento con el mebendazol. Por otro lado, se ha encontrado que algunos bencimidazoles tienen actividad contra protozoarios como *Giardia spp.* (Morgan, U.M. *et al.*).

La quimioterapia de las protozoosis ha sido facilitada por el uso de metronidazol, efectivo tanto para las formas intestinales como extraintestinales de la

enfermedad, pero el inconveniente de utilizar este compuesto es la alta toxicidad que presenta. Por consiguiente, es importante continuar con el estudio de los bencimidazoles como agentes antihelmínticos y antiprotozoarios.

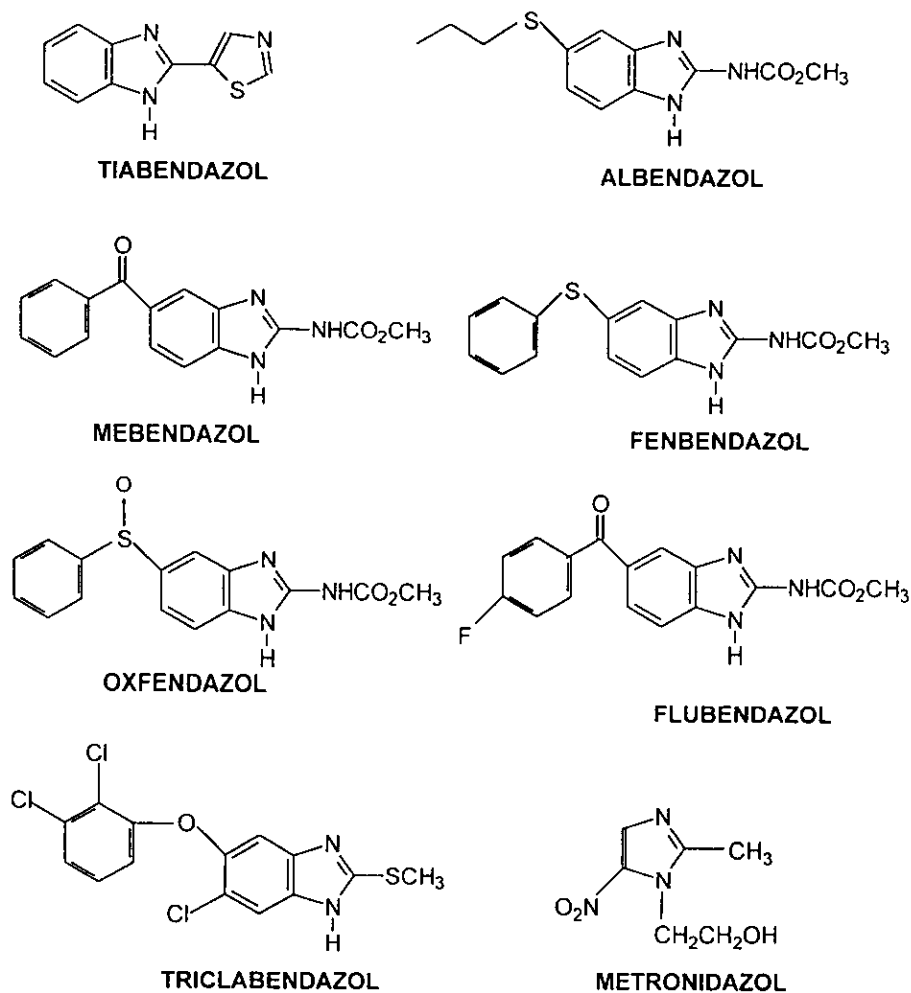


Figura 1. Estructuras de agentes antihelmínticos y antiprotozoarios (bencimidazoles y metronidazol).

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades sobre bencimidazoles

El descubrimiento de los bencimidazoles sustituidos como fármacos de amplio espectro asociados con actividad antihelmíntica es un punto importante en la quimioterapéutica de enfermedades parasitarias. Ahora el bencimidazol es reconocido como un heterociclo versátil en la investigación Químico-Farmacéutica y está sujeto a una gran variedad de modificaciones estructurales que generen nuevos fármacos para el tratamiento helmintosis intestinales y extraintestinales (Sharma S. 1994).

Mecanismo de acción de los bencimidazoles. El modo de acción antihelmíntica de los bencimidazoles ha sido revisado recientemente. Aunque no se conoce con precisión el mecanismo exacto de todos los bencimidazoles, el extenso trabajo realizado , indica que los bencimidazoles pueden ejercer su acción antihelmíntica al inhibir la enzima fumarato reductasa, la incorporación de glucosa en los parásitos, o inhibiendo la polimerización de la tubulina - microtubulos, (Sharma and Abuzar, 1983 ; Vanden Bosche, 1985 ; Rew and Fetter, 1986 ; Lacey 1990).

- **Inhibición del metabolismo de glucosa.** La fumarato reductasa, enzima unida a la membrana y responsable de convertir el fumarato a succinato en mitocondria, juega un papel importante en el metabolismo anaerobio de la glucosa, además de ser una producción eventual de energía para varios helmintos. Así que la inhibición de esta enzima ha sido considerada como un obstáculo para el suministro de energía del helminto, lo que desencadena

parálisis del mismo. Además, esta enzima es única en el parásito y por lo tanto proporciona un excelente blanco de ataque en quimioterapia (Sharma S. 1994).

- **Inhibición de la incorporación de glucosa.** El mebendazol bloquea directa e irreversiblemente la captura de glucosa por helmintos. Se ha observado *in vitro* e *in vivo* una disminución del contenido de glucógeno en el parásito ; al no poder utilizar la glucosa exógena, disminuye la formación de ATP indispensable para la actividad y reproducción del parásito, produciéndole inmovilización y muerte. Aun a dosis elevadas no se afecta el metabolismo de la glucosa de los mamíferos (PLM, 1992).
- **Inhibición de la polimerización de tubulina.** El albendazol y otros bencimidazoles actúan produciendo la desaparición selectiva de microtubulos citoplasmáticos de células tegumentarias e intestinales de los helmintos, y altera las sustancias secretoras del aparato de Golgi, la secreción de acetilcolinesterasa, el consumo de glucosa y el agotamiento de glucagón, produciendo primero inmovilización del parásito, y luego la muerte (Lacey *et.al.* 1990).

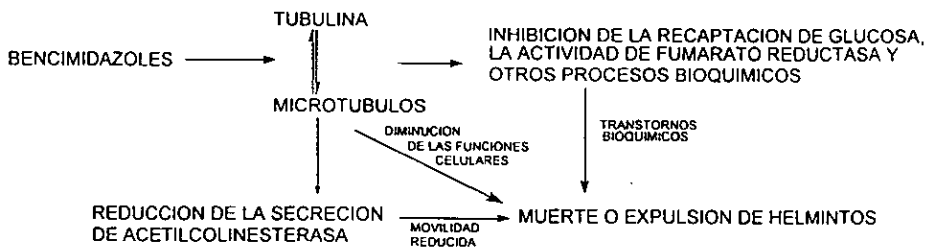
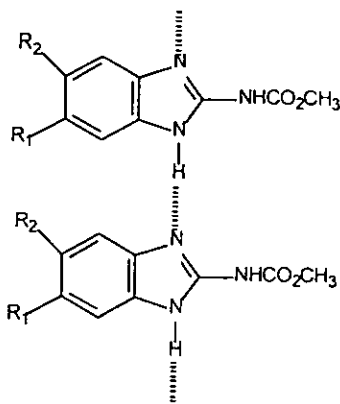


Figura 2. Mecanismo de acción de bencimidazoles.

Sin embargo, los bencimidazolcarbamatos (albendazol, mebendazol, flubendazol, etc.) presentan en común una insolubilidad acuosa debido a los puentes de hidrógeno intermoleculares que se forman en la molécula del bencimidazol; a la sustitución en posición 5, y al grupo carbamato de metilo en posición 2, lo que confiere a estas moléculas alta polaridad y mayor vida media. Lo anterior lleva a una biodisponibilidad baja y en consecuencia una respuesta terapéutica poco favorable, por lo que su uso se limita al tratamiento de helmintosis intraintestinales.



Aunque existen en la molécula varios sitios factibles de formar puentes de hidrógeno, se considera que al sustituir el hidrógeno de la posición 1 del imidazol, se podrá cambiar el arreglo molecular del bencimidazol, y por lo tanto la solubilidad se incrementará. Es por esto que se consideró la introducción de un grupo metilo en la posición 1, además de :

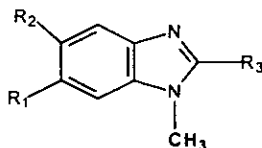
- Disminuir la polaridad, e incrementar la solubilidad y por lo tanto la biodisponibilidad de estos compuestos.

- Al evitar el efecto tautomérico que sufre la molécula del bencimidazol por migración del hidrógeno de la posición 1 a la posición 3 (Figura 2), ya no se tendrían dos tautómeros, sino compuestos isoméricos 1-metilados que podrían brindar más información sobre los requerimientos estructurales para la acción biológica.



Figura 3. Tautómeros del bencimidazol

Por los motivos anteriores se sintetizó la siguiente serie de compuestos 1-metilbencimidazólicos (Castillo R., Sánchez):



COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
1	H	H	CH ₃
2	H	H	NH ₂
3	H	H	SH
4	H	H	SCH ₃
5	H	Cl	CH ₃
6	H	Cl	NH ₂
7	H	Cl	SH
8	H	Cl	SCH ₃
9	Cl	H	CH ₃
10	Cl	H	NH ₂
11	Cl	H	SH
12	Cl	H	SCH ₃
13	Cl	Cl	CH ₃
14	Cl	Cl	NH ₂
15	Cl	Cl	SH
16	Cl	Cl	SCH ₃

Tabla 1. 1-metilbencimidazoles

Como se puede observar estos compuestos además de conservar el núcleo de bencimidazol, están sustituidos en la posición 1 por un grupo metilo. La posición 2 se sustituyó con grupos pequeños, que conservaran un ambiente electrónico similar (isósteros) como son el metilo (-CH₃), amino (-NH₂), mercapto (-SH) y metiltio (-SCH₃). Las posiciones 5 y 6 pueden estar no sustituidas, monocloradas en 5, monocloradas en 6 o dicloradas en 5 y 6 (Sharma S. 1994).

Estos grupos tienen diferentes características como la capacidad de formar atracciones hidrofóbicas débiles y puentes de hidrógeno :

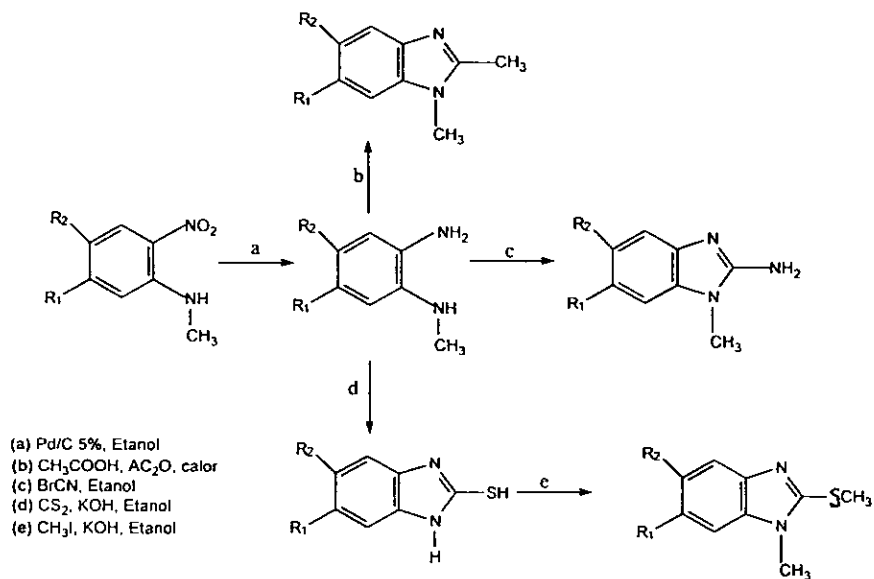
- Fuertes : (-NH₂)
- Débiles : (-SH , -SCH₃)

La sustitución en posiciones 5 y 6 definirá los requerimientos electrónicos y estéricos para tener una mejor actividad biológica. (Kororkovas A.1970.).

Método de obtención de 1-metilbencimidazoles (Castillo Bocanegra, Sanchez-Diaz 1994):

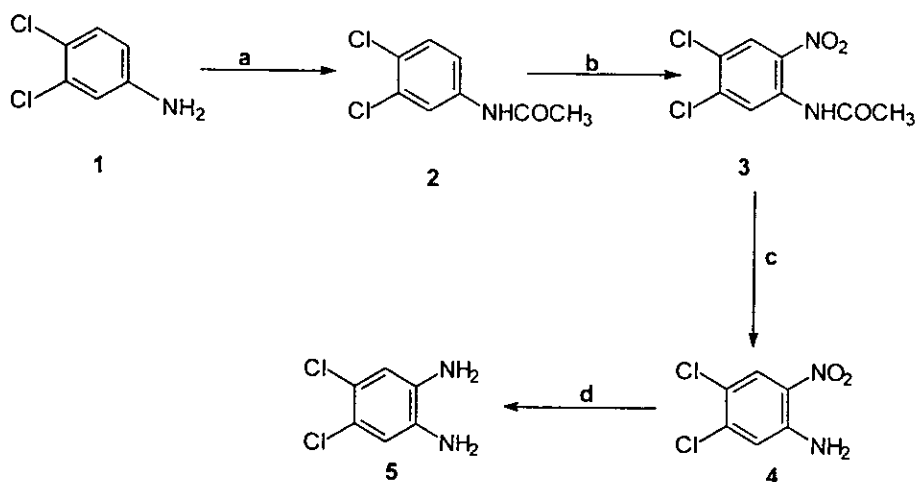
Las N-metilnitroanilinas se sometieron a reducción del grupo nitro con Pd/C al 5% para obtener la correspondiente N-metil-1,2-fenilendiamina (Esquema 1). Estos intermediarios sin aislar, fueron ciclocondensados con anhídrido acético y ácido acético en caliente, obteniéndose los 2-metilbencimidazoles. Cuando se utilizó bromuro de cianógeno en agua y calor los correspondientes 2-aminobencimidazoles fueron los productos. La ciclocondensación con disulfuro de carbono en medio básico con etanol, dió los 2-mercaptobencimidazoles. La S-

metilación del 2-mercaptobencimidazol con yoduro de metilo en medio básico generó los 2-metilbencimidazoles.



Esquema 1. Secuencia sintética para preparar 1-metilbencimidazoles.

En esta tesis se planteó la obtención de los compuestos 1-metilbencimidazoles-5,6-diclorados por una secuencia sintética alterna, la cual se muestra en los esquemas 2 y 3.



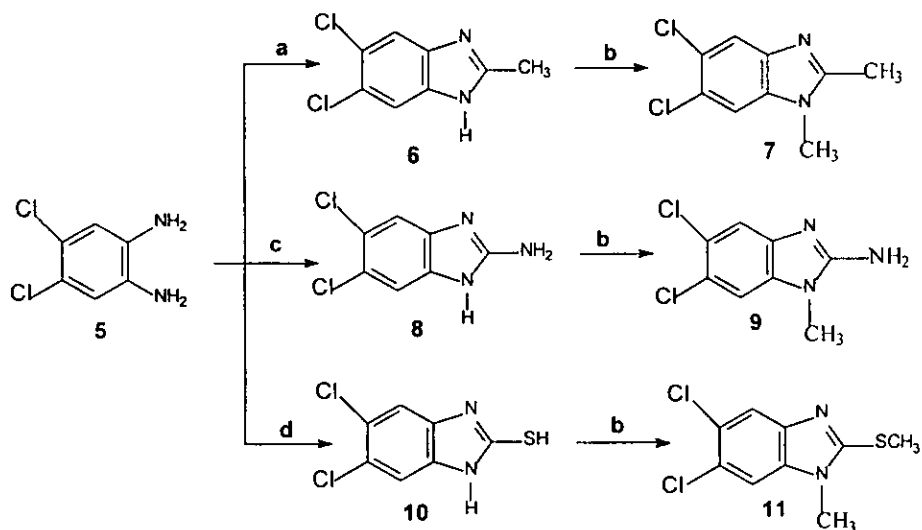
(a) CH_3COOH , Ac_2O ; (b) $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$; (c) H_2SO_4 , Calor; (d) H_2 , Pd/C al 5%.

Esquema 2. Secuencia sintética seguida para preparar la 4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina precursora (5).

Metodología que se siguió para preparar los compuestos 2 al 11 :

Se partió del compuesto 3,4-dicloroanilina (1) comercial, la cual se acetiló con anhídrido acético en ácido acético, formándose 3,4-dicloroacetanilida (2). Esta se trató con mezcla sulfonítrica en frío, obteniéndose 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida (3). Para obtener la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4), se hidrolizó (3) en ácido sulfúrico concentrado en caliente. El siguiente paso fué la reducción del grupo nitro para obtener 4,5-dicloro-1,2-fenilendiamina (5), empleando H_2 con Pd /C al 5%. Una

vez obtenida la fenilendiamina (**5**), se dividió en pesos iguales (tres porciones), una de las cuales se utilizó para la ciclocondensación con ácido acético y HCl, formándose 5,6-dicloro-2-metilbencimidazol (**6**). Este se metiló posteriormente con yoduro de metilo, originando 5,6-dicloro-1,2-dimetilbencimidazol (**7**). Utilizando de nueva cuenta la fenilendiamina (**5**), el tratamiento con bromuro de cianógeno generó 5,6-dicloro-2-aminobencimidazol (**8**), el cual se metiló en la posición 1 con yoduro de metilo, obteniéndose 5,6-dicloro-1-metil-2-aminobencimidazol (**9**). La ciclocondensación de (**5**) con disulfuro de carbono, potasa y acetona, llevó al 5,6-dicloro-2-mercaptobencimidazol (**10**), dimetilándose posteriormente con 2 equivalentes de yoduro de metilo, dando 5,6-dicloro-1-metil-2-metitiobencimidazol (**11**).



(a) CH_3COOH , H_2O , HCl , Calor ; (b) CH_3I , $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, KOH , H_2O ;
(c) 1) BrCN , H_2O , Calor ; 2) NaOH , H_2O ; (d) CS_2 , EtOH , H_2O , KOH , Calor

Esquema 3. Secuencia sintética alterna , seguida para preparar los 5,6-Dicloro-1-metilbencimidazoles (**7,9,11**).

2.2. Objetivos :

- A) Desarrollar un método alternativo para la síntesis de 1-metilbencimidazoles-5,6-diclorados con potencial actividad antihelmíntica y antiprotozoaria.
- B) Suministrar los compuestos sintetizados para evaluar la actividad antiparasitaria "in vitro" empleando como modelo de helminto a *Trichinella spiralis* y como modelo de protozooario a *Giardia lamblia*.

Justificación :

Debido a la importancia de las enfermedades parasitarias causadas por helmintos en nuestro país, atacando fundamentalmente a la población infantil, esta tesis puede aportar por sí una serie de compuestos con capacidad antihelmíntica y/o antiprotozoaria ; o bien apoyar proyectos futuros que permitan establecer una relación cuantitativa de estructura-actividad, diseñando racionalmente nuevos fármacos, fabricados con tecnología propia de nuestro país y sobre todo económicos.

3. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1 Instrumentación.

Los espectros de masas se determinaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC :MS) o por introducción directa de la muestra en un aparato marca JEOL-JMS-AX505-HA. La simbología utilizada es M⁺ = ion molecular y Pb = pico base.

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer de transformadas de Fourier Modelo FT-IR-1600 en pastilla de bromuro de potasio ; las señales son reportadas en cm⁻¹.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron en un espectrofotómetro Varian Modelo EM-390 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y deuterocloroformo , dimetilsulfóxido deuterado como disolventes. Los desplazamientos químicos (d) se dan en ppm. Los símbolos de las señales son : s= singulete, sa= singulete amplio, d= doblete, m= multiplete.

Las hidrogenaciones catalíticas se realizaron en un hidrogenador marca Parr Modelo 391EG con 60 lb/in² y 80 °C como capacidad máxima, utilizando hidrógeno de tanque de la casa INFRA y como catalizador Pd/C al 5% de la casa Aldrich.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Büchi Modelo 530 y no están corregidos. Para concentrar las soluciones se empleó un evaporador rotatorio

marca Büchi Modelo RE111, con vacío generado por una bomba Felisa Modelo 1600 ajustada a 55 cm de Hg y condensador de hielo seco.

3.2 Cromatografía.

Para cromatografía en capa fina (ccf) se usaron placas de vidrio recubiertas con gel de Sílice GF 254 de la casa Merck. Los compuestos orgánicos se revelaron con luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo.

3.3 Sistemas de elución.

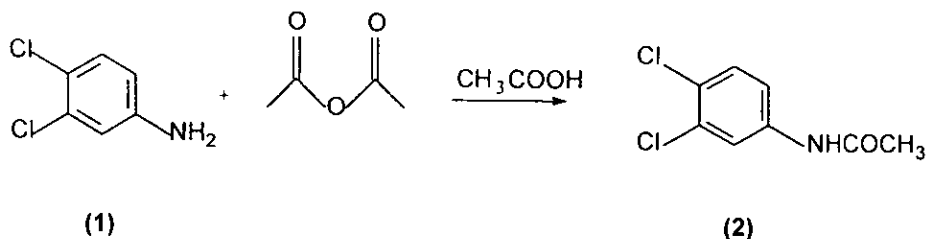
La composición de los sistemas de elución fue la siguiente :

Sistema	Composición	Proporción
I	Hexano-CHCl ₃ -AcOEt	50 :35 :15
II	Cloroformo-Metanol*	90 :10
III	Cloroformo-Metanol*	98 :2
IV	Cloroformo-Metanol*	80 :20

* 8 ml de la mezcla + 2 gotas de hidroxido de amonio.

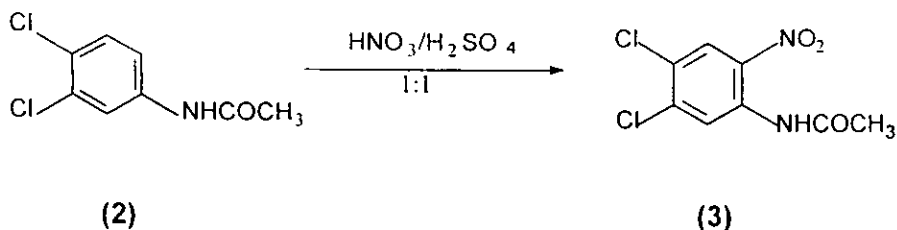
3.4. Parte Química

3.4.1. 3,4-Dicloroacetanilida (2)



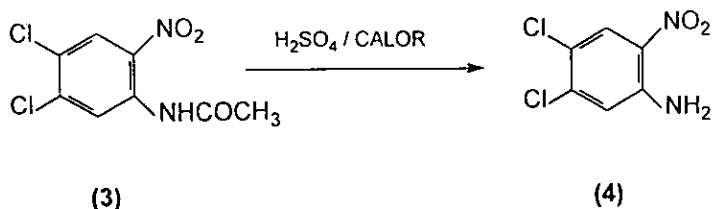
En un vaso de precipitados de 2 L acondicionado con termómetro, se colocaron 408.29 g (2.52 moles) de 3,4-dicloroanilina (1) y 100 ml de ácido acético. La mezcla anterior se enfrió por medio de un baño de hielo agua y agitó con una varilla de vidrio mientras se fueron incorporando 321.58 g (297.21ml, 3.15 moles, 1.25 eqs.) de anhídrido acético. La adición se hizo en 8 min., de tal manera que la temperatura de la reacción no pasara de 70°C. Al término de la adición se formó una masa de color violácea, se retiró el baño de hielo, se agitó hasta homogeneización de la mezcla y se dejó en reposo 15 min. Después de comprobar la total conversión de la materia prima por ccf, se adicionó 1 L de agua fría, agitó bien y filtró con succión. El sólido café se trituró en un mortero, suspendió en agua y se volvió a filtrar, lavando repetidas veces con agua hasta pH neutro. El residuo bien drenado se secó en la estufa a 85°C durante 24 h, obteniéndose 499 g de un sólido café claro. Este sólido mostró ser un solo compuesto por ccf, y como tal se empleo en la siguiente reacción de nitración. Una muestra se recristalizó de etanol.

3.4.2. 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida (3)



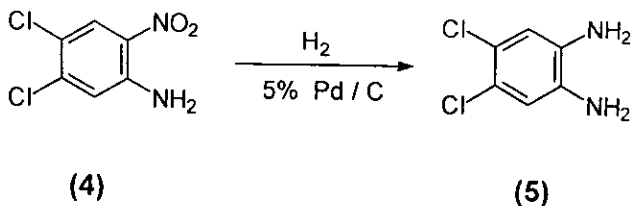
En un vaso de precipitados de 4 L, acondicionado con termómetro, agitación mecánica y enfriado con baño de hielo-sal, se disolvieron 462.3 g (2.2656 moles) de 4,5-dicloroacetanilida (2) en 1L de ácido sulfúrico concentrado. La incorporación de (2) se hizo poco a poco, a 10-15°C, con agitación suave. Después se agregó gota a gota 400 ml de mezcla sulfonitrica (1:1) fría, manteniendo la temperatura a 17-20°C por espacio de 1 h. Terminada la adición se retiró el baño de hielo y agitó por 30 min más. Se comprobó el consumo total de la materia prima por ccf y la mezcla se vertió cuidadosamente sobre 12 Kg de hielo. El sólido formado se separó por filtración, se lavó con agua repetidas veces hasta pH neutro y dejó secar al aire para dar 553 g de producto crudo. Este se suspendió en 1500 ml de metanol y agitó en frío durante 30 min. Se filtró con succión y lavó con metanol frío. Esta operación se repitió una vez más. El sólido amarillo claro residual (366.78 g), mostró por ccf un compuesto principal y trazas de un producto secundario de mayor polaridad. Una muestra se recrystalizó de metanol-agua.

3.4.3. 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4)



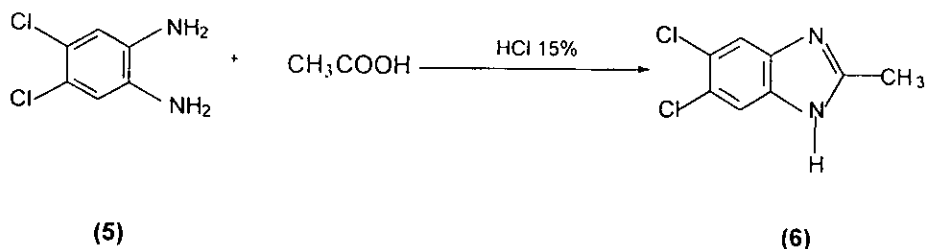
En un vaso de precipitados de 4 L acondicionado con agitación mecánica y termómetro, se colocaron 700 ml de ácido sulfúrico concentrado y agitaron suavemente mientras se incorporaron 348.68 g (1.4 moles) de la 4,5-dicloro-2-nitroacetanilida (3) obtenida con anterioridad. La mezcla se calentó a 80-90°C durante 30 min., comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar a 50 °C y se vertió sobre 5 Kg de hielo. El sólido anaranjado que se formó se separó por filtración al vacío y lavó repetidas veces con agua hasta pH neutro, luego se dejó secar al aire. Se obtuvieron 276.15 g de un polvo anaranjado, una mancha por ccf. Una parte de este sólido se recristalizó de ácido acético-agua.

3.4.4. 4,5-Dicloro-1,2-fenilendiamina (5)



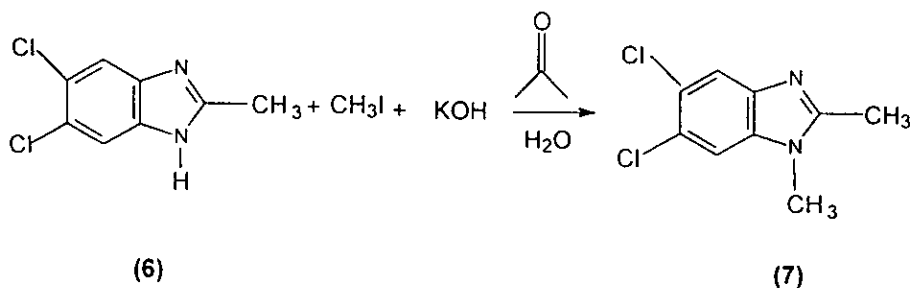
En una botella de hidrogenación Parr de 500 ml se colocaron 51.6 g (0.2493 mol) de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4), 2.5 g de Pd/C al 5% y 200 ml de etanol. La botella se acopló al hidrogenador, llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y succionó con vacío, esta operación se repitió tres veces; finalmente se llenó siempre a 60 lb/in² y agitó hasta que consumieron 1546 lb/in² en un lapso de 3 horas. La mezcla se filtró con succión empleando doble papel filtro Whatman No.2. El filtrado oscuro se llevo a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador. Se obtuvieron 44 g de un sólido oscuro una sola mancha por ccf. Este sólido se utilizó inmediatamente para las reacciones siguientes de ciclación. Una muestra se recrystalizó de etanol-agua.

3.4.5. 5,6-Dicloro-2-metilbencimidazol (6)



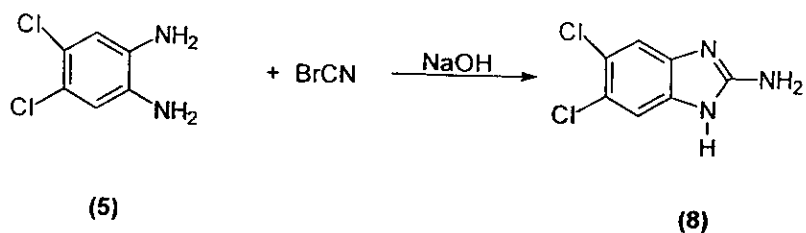
En un matraz bola de 1000 ml equipado con agitación magnética, condensador de aire en posición de reflujo y atmosfera de N_2 , se colocaron 22 g (0.1243 mol) de 4,5-dicloro-1,2-fenilendiamina (5), recién obtenida, 27.27 g (26 ml, 0.4544 mol, 3.66 eqs) de ácido acético glacial y 217 ml de HCl al 15%. La mezcla se calentó hasta llegar a un reflujo suave y se mantuvo así durante 2 h. Posteriormente, se dejó enfriar a 25 °C y adicionó una solución de NaOH al 50 % hasta que empezó a precipitar una resina oscura. Se filtró por gravedad y el filtrado amarillento cristalino se trató con más NaOH hasta precipitación total de un sólido color durazno, el cual se separó por filtración al vacío, lavó con agua fría hasta pH neutro y dejó secar al aire. El producto crudo (22 g) se recrystalizó de etanol-agua (70 :30) con carbón activado y dio 16 g de cristales amarillos, una sola mancha por ccf. Una segunda recrystalización de una muestra de 5 g llevó a 2 g de cristales blancos.

3.4.6. 5,6-Dicloro-1,2-dimetilbencimidazol (7)



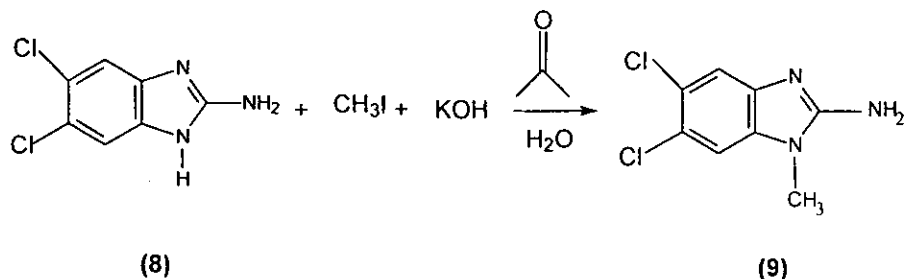
En un matraz bola de 100 ml con una boca 24/40, equipado con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y embudo de adición, se colocaron 13 g (0.0646 mol) de 5,6-dicloro-2-metilbencimidazol (6) en 35 ml de acetona, 4.34 g (0.0775 mol) de KOH en 8 ml de agua y se gotearon 11.0 g (4.82 ml, 0.0775 mol) de yoduro de metilo, diluido en 10 ml de acetona. Al terminar la adición se formó un sólido color café claro y se dejó agitando 40 min más. Después de comprobar la total conversión de la materia prima por ccf, el sólido formado se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron cristales ligeramente amarillentos, que al lavarse con acetona fría se volvieron blancos (12.3 g). Estos se recrystalizaron de metanol- agua, dando 9.5 g de cristales blancos.

3.4.7. 2-Amino-5,6-diclorobencimidazol (8)



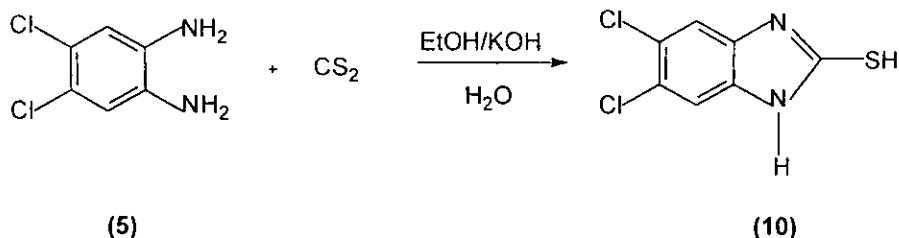
En un matraz de bola de 1000 ml con tres bocas 24/40, equipado con agitación magnética y condensador de aire en posición de reflujo, se suspendió el producto de reducción de la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4) (22 g, 0.1062 mol) en 200 ml de agua y 20 ml de tetrahidrofurano. Posteriormente, se incorporaron 12.38 g (0.1168 mol) de bromuro de cianógeno y se dejó reaccionar en reflujo por 1 h a 28 °C. La reacción fue monitoreada por ccf. Terminada la reacción, el producto precipitó dando agujas de color amarillo. La mezcla se vertió sobre agua y trató con NH_4OH , el sólido amarillo formado se separó por filtración al vacío y lavó con agua. Se obtuvieron 19.1 g de cristales ligeramente amarillos. Una muestra de 1.5g se recristalizó de etanol dando 1.2 g de cristales blancos.

3.4.8. 2-Amino-5,6-Dicloro-1-metilbencimidazol (9)



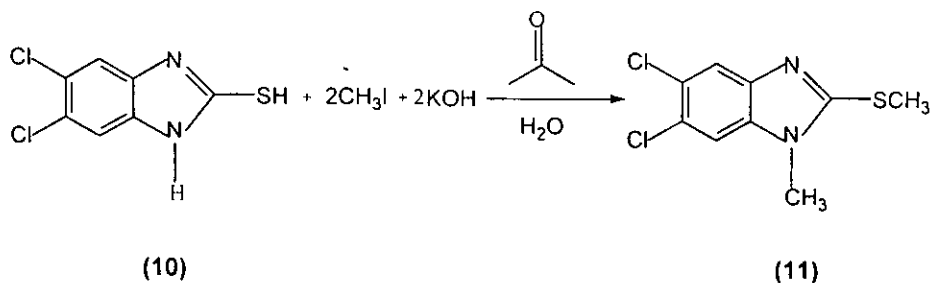
En un matraz de bola de 250 ml con una boca 24/40, equipado con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y embudo de adición, se colocaron 17.6 g (0.0870 mol) de 5,6-dicloro-2-aminobencimidazol (8), 52 ml de acetona, 6.1 g (0.1088 mol, 1.25 eqs) de KOH en 21 ml de agua. En seguida se adicionó gota a gota una solución de 14.81 g (6.5 ml, 0.1044 mol, 1.2 eqs) de yoduro de metilo diluido en 10.5 ml de acetona. Al término de la adición se formó un precipitado café y la reacción se dejó seguir por 30 min. El sólido café se separó por filtración al vacío y lavó con acetona fría. Se obtuvieron 15 g de cristales con ligero color amarillo. El producto crudo se recristalizó de etanol, dando 9.6 g de cristales blanco grandes.

3.4.9. 5,6-Dicloro-2-mercaptobencimidazol (10)



El producto crudo de la reducción de 5 g (0.0242 mol) de 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4), se suspendió en 33 ml de etanol y 6.5 ml de agua. Luego se incorporó una solución de 2.3 g (0.0410 mol, 1.6938 eqs) de KOH en 1.8 ml de agua. Se agitó vigorosamente y se adicionó gota a gota 3 ml (3.798g, 0.0499 mol, 2.0612 eqs) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción se calentó a 60-65°C durante 2 horas. Se adicionó 1 ml más de disulfuro de carbono y calentó 1 hora más. A la solución oscura se le adicionaron 5 g de carbón activado y dejó toda la noche con agitación (14 h). Después de separar el carbón activado y lavar con etanol, se diluyó en 50 ml de agua caliente y llevó a pH 6 con ácido acético al 20%. El producto (10) se extrajo con 3 porciones de 50 ml de acetato de etilo, lavó en agua, secó con Na₂SO₄, y concentró a presión reducida dando 4.8 g de cristales color durazno. El producto crudo se recristalizó de acetonitrilo con carbón activado, obteniéndose 3.9 g de cristales color blanco.

3.4.10. 5,6-Dicloro-1-metil-2-metiltiobencimidazol (11)



En un matraz de bola de 100 ml con 3 bocas 14/20, equipado con agitación magnética, embudo de adición, atmósfera de nitrógeno y baño de hielo, se colocaron 1.5 g (0.0068 mol) de 5,6-dicloro-2-mercaptobencimidazol (10), 10 ml de acetona y 1.24 g (0.0222 mol, 3.26 eqs) de hidróxido de potasio en 5 ml de agua. Cuando la temperatura llegó a 4°C se adicionó gota a gota 3.15 g (1.38 ml, 0.0222 mol, 3.26 eqs) de yoduro de metilo en un lapso de 15 min. Se retiró el baño de hielo y se dejó llegar a temperatura ambiente con lo cual se formó un precipitado cristalino blanco, el cual se separó por filtración al vacío y lavó con acetona fría. El producto seco pesó 1.5 g, una mancha por cc. Se recrystalizó de etanol dando 1.3 g.

3.5. Pruebas de Actividad Biológica

Parásitos. Se empleó la cepa de *Giardia lamblia* IMSS:0989:1, la que se mantuvo en condiciones axénicas en medio TYI-S-33 modificado, suplementado con suero de ternera descomplementado al 10%. Los parásitos se subcultivaron 2 veces por semana. Por otro lado, se empleó una cepa de *T. spiralis* que fue aislada de cerdo por el Dr. Martínez-Marañón del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas (INDRE). Con el objeto de mantener el ciclo de vida de este parásito, ratas de la cepa Sprague-Dawley de 2 a 3 meses de edad fueron infectadas con 3000 larvas musculares resuspendidas en Bacto agar al 0.02%. La infección se realizó por vía intragástrica con cánula y jeringa.

Pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *Giardia lamblia*: Se empleó el método de subcultivos previamente estandarizado: se incubaron 5×10^4 trofozoítos/mL por 48 h a 37°C, en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes 1-metilbencimidazoles, además del albendazol y del metronidazol que sirvieron como compuestos de referencia. Como control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de fármacos. Después de la incubación se inocularon 50 μ L de los trofozoítos tratados, en medio fresco, ya sin la adición de los compuestos y se incubaron por otras 48 h. El número final de trofozoítos se determinó en una cámara cuentaglóbulos. Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control y posteriormente mediante análisis Probit se calculó la CI_{50} que correspondió a la concentraciones que inhibió al 50% el crecimiento de

los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.

Obtención de los organismos adultos de *T. spiralis*. Los parásitos adultos se obtuvieron siguiendo lo recomendado por Dennis y cols. Ratas de la cepa Sprague-Dawley se infectaron con 3000 larvas musculares de *T. spiralis* y fueron sacrificadas a los 3 días. Se obtuvieron los intestinos, se abrieron longitudinalmente y se colocaron en un aparato de Bearman con amortiguador de fosfatos salino pH 7.3 (PBS). Los adultos recuperados se lavaron 2 veces con PBS y posteriormente se incubaron a 37 °C por 12 h en RPMI 1640 adicionado con 500 U/mL de penicilina, 500 µg/mL de estreptomicina y 1.25 µg/mL de amfotericina B. Los organismos se resuspendieron en Bacto agar al 0.02% para contar el número de parásitos adultos disponibles para los ensayos *in vitro*.

Obtención de las larvas musculares de *T. spiralis*. Las larvas musculares se obtuvieron de acuerdo a lo descrito por Dennis y cols. Ratas de la cepa Sprague-Dawley se infectaron con 3000 larvas musculares de *T. spiralis*. A los 28 días post-infección, los animales fueron sacrificados y el músculo esquelético fue macerado y digerido artificialmente con una solución de pepsina-HCl al 1% durante 3 h a 37°C con agitación constante. Posteriormente la solución se pasó por un tamiz, dejando que las larvas se sedimentaran por 15 min. Las larvas así obtenidas se lavaron con PBS hasta que no quedaran restos de carne y se incubaron por 12 h a 37 °C con medio RPMI 1640 al cual se le adicionaron 500 U/mL de penicilina, 500 µg/mL de estreptomicina y 1.25 µg/mL de amfotericina B.

Una vez realizado lo anterior, las larvas se lavaron con PBS y se resuspendieron en Bacto agar al 0.02% para contar el número de larvas.

Ensayo *in vitro* (MTT/PMS) para evaluar el efecto de derivados de 1-metilbencimidazol sobre el adulto de *T. spiralis*. Los organismos adultos (fase intestinal) se obtuvieron como se indicó previamente y se colocaron 100 parásitos en cajas de cultivo de 24 pozos (Nunc) en medio RPMI 1640 al cual se adicionaron 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de los diferentes fármacos. Los parásitos se incubaron durante 3 días a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%, con cambio diario de medio más compuesto. Como control positivo se incluyeron parásitos en presencia de albendazol a las mismas concentraciones y como control negativo, parásitos incubados sólo con los disolventes utilizados. Después de la incubación se determinó la viabilidad de los parásitos mediante un método colorimétrico basado en la reducción de la sal de tetrazolio MTT a formazán de acuerdo a lo descrito por Townson y cols., con algunas modificaciones. Así, los parásitos cultivados con los diferentes compuestos se transfirieron a tubos de microcentrifuga de 2 mL y se centrifugaron a 2,500 rpm por 2 min. Posteriormente se realizó un lavado con PBS y se añadió 1 mL de una solución de MTT al 0.75% (Sigma), 50 μL de una solución de metosulfato de fenazina al 5% (PMS, Sigma) como catalizador y 100 μL de dimeltisulfóxido (DMSO, Sigma). Los tubos se incubaron a 37°C durante 50 min, con agitación constante. Después de la incubación se realizó otro lavado con PBS y se agregaron 500 μL de DMSO, los parásitos se resuspendieron y se dejaron a temperatura ambiente por 1 h. Al

finalizar este tiempo los tubos se centrifugaron y se transfirió el sobrenadante a placas de ELISA, las cuales se leyeron a 492 nm. Se calculó el porcentaje de reducción de la densidad óptica en comparación con el control negativo y de acuerdo a esto se calculó el porcentaje de reducción de la viabilidad. Se realizaron 3 experimentos por duplicado cada uno de ellos.

Ensayo *in vitro* (MTT/PMS) para evaluar el efecto de derivados de 1-metilbenzimidazol sobre la larva muscular de *T. spiralis*. Las larvas musculares de *T. spiralis* se obtuvieron de acuerdo a lo descrito anteriormente y se colocaron 1000 larvas por pozo en cajas de cultivo de 24 pozos (Nunclon) en medio RPMI 1640 conteniendo el fármaco a evaluar a una concentración de 1 $\mu\text{g/mL}$ y 10 $\mu\text{g/mL}$. Los parásitos se incubaron por 3 días a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%, con cambio diario de medio más fármaco. Como control positivo se incluyeron parásitos en presencia de albendazol y como control negativo se incluyeron larvas musculares sin tratamiento. Después de la incubación, se determinó la viabilidad de las larvas musculares mediante el método de MTT/PMS descrito previamente.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Parte química.

Los resultados de rendimientos y constantes físicas para los compuestos 2 -11 se pueden apreciar en la Tabla 2.

Los puntos de fusión más altos correspondieron a los bencimidazoles 5,6-diclorados que tienen en la posición 2, un grupo -SH o -NH₂ como era de esperarse, dada la polaridad de estas moléculas; y los más bajos a los que tienen en la misma posición un grupo -CH₃ o -SCH₃.

TABLA 2. Datos de rendimiento y constantes físicas de los compuestos 2 - 11.

Compuesto	Rendimiento (%)		pf (°C)		Cristalización	Rf (sistema)
	Crudo	Recristalizado	Encontrado	Reportado		
2	97	-	122-124	120.5 ^a	Etanol	0.1 ⁽ⁱ⁾
3	98	85	121-123	123-124 ^b	Metanol-Agua	0.4 ⁽ⁱ⁾
4	95.3	-	174-176	177-179 ^c	Ac. acético-Agua	0.42 ⁽ⁱ⁾
5	98	-	159-162	159-162 ^d	Etanol-Agua	0.26 ⁽ⁱⁱ⁾
6	88	78	248-250	-	Etanol-Agua	0.1 ⁽ⁱⁱⁱ⁾
7	88.4	77.2	197-200	-	Metanol-Agua	0.3 ⁽ⁱⁱⁱ⁾
8	88.5	80	260-262	-	Etanol	0.37 ^(iv)
9	85	74	245-247	-	Etanol	0.52 ^(iv)
10	90	82	>320	-	Acetonitrilo	0.4 ⁽ⁱⁱⁱ⁾
11	89.3	77.3	121-122	-	Etanol	0.6 ⁽ⁱⁱⁱ⁾

a. Belstein.

b. Belstein.

c. Aldrich,1996-1997 .

d. Aldrich,1996-1997.

La espectroscopía de IR mostró las bandas características para el núcleo bencimidazólico a 1645-1600 y 1480-1450 cm⁻¹ (Castillo R., Sanchez R.,1994).

Para el caso del compuesto **9**, se observaron las dos bandas características del grupo -NH_2 a $3460\text{-}3374$ y $3280\text{-}3306$ cm^{-1} . Para el tiol **10**, se observó una banda pequeña para el SH a $2930\text{-}2700$ cm^{-1} . La ^1H RMN integró para los hidrógenos de cada molécula resaltando en ellos la señal a $3.2\text{-}3.7$ ppm asignada para el metilo unido al nitrógeno de la posición 1. Un caso especial resultó el tiol (**10**), el cual se tautomerizó a tiona, por lo cual sólo aparece señal a 12.7 ppm correspondiente a los hidrógenos unidos al N_1 y N_3 . En todos los casos que se determinó el espectro de masas, el ión molecular (M^+) correspondió al peso molecular del compuesto, el $\text{M}+2$ y $\text{M}+4$ demostraron la presencia de 2 cloros en la molécula (Relación $9 : 6 : 1$).

TABLA 3. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos **6 - 11**.

Comp.	Espectroscopia ^c
6	^1H RMN (TMS) δ : 7.68 (s, 2H, H-C7, H-C4), 3.19 (sa, 2H, H-N1, H-N3), 2.55 (s, 3H, CCH ₃) ppm IR (KBr) ν : 3120, 1534, 1519, 1491, 1384, 861 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 200.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).
7	^1H RMN (TMS) δ : 7.73 (s, 1H, H-C7), 7.68 (s, 1H, H-C4), 3.7 (s, 3H, NCH ₃), 2.5 (s, 3H, CCH ₃) ppm. IR (KBr) ν : 3060, 1613, 1519, 1475, 1439, 1390 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 214.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).
8	^1H RMN (TMS) δ : 7.28 (s, 2H, H-C7, H-C4), 7.07 (sa, 1H, NH), 6.09 (sa, 2H, NH ₂), ppm. IR (KBr) ν : 3152, 3065, 1686, 1513, 1466, 1056 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 201.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).
9	^1H RMN (TMS) δ : 7.4 (s, 1H, H-C4), 7.2 (s, 1H, H-C7), 6.76 (s, 2H, NH ₂), 3.47 (s, 3H, NCH ₃) ppm. IR (KBr) ν : 3462, 3039, 3050, 1656, 1543, 1488, 1460 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 215.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).
10	^1H RMN (TMS) δ : 12.7 (s, 2H, H-N1, H-N3), 7.29 (s, 2H, H-C7, H-C4) ppm. IR (KBr) ν : 3084, 2919, 2522, 1606, 1461, 1314, 851, 665 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 218.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).
11	^1H RMN (TMS) δ : 7.8 (s, 1H, H-C4), 7.76 (s, 1H, H-C7), 3.64 (s, 3H, NCH ₃), 2.70 (s, 3H, SCH ₃) ppm. IR (KBr) ν : 2930, 1615, 1461, 1445, 1419, 1356, 786, 673, 635 cm^{-1} . EM (IE) m/z : 246.0 M^+ (100%), $\text{M}+2$ (66%), $\text{M}+4$ (11%).

Respecto a la síntesis, el compuesto 8, dada la polaridad conferida a la molécula por el grupo $-NH_2$, fue muy difícil de recristalizar. Se realizaron varios ensayos para purificarlo; entre ellos la formación del clorhidrato correspondiente, sin tener buenos resultados. Se cristalizó de varios disolventes: metanol, metanol-agua, etanol-agua, hasta encontrar el disolvente de cristalización ideal, que fue etanol.

De la misma manera se comportó el compuesto 9, que tendía a oxidarse al estar secándose con succión, adquiriendo una coloración rojiza. Nuevamente, la recristalización con etanol, condujo a la formación de cristales blancos grandes.

El compuesto 10 presentó bajos rendimientos al recristalizarse con disolventes convencionales (metanol, etanol, tolueno, acetona). Al utilizar acetonitrilo con carbón activado en caliente y filtrar posteriormente, cristalizó de manera uniforme conduciendo a la formación de agujas blancas y de buen rendimiento.

PARTE BIOLÓGICA.

Efecto de los 1-metilbencimidazole sobre *Giardia lamblia*. En la evaluación de la actividad biológica de los derivados del 1-metilbencimidazol se utilizaron 3 diferentes compuestos diclorados en 5 y 6.

En las Tabla 4 se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de *G. lamblia* a los 1-metilbencimidazoles, en donde se puede apreciar que son efectivos contra los trofozoitos del parásito. La efectividad de estos compuestos fue superior a la del albendazol y a la del metronidazol.

Los compuestos sintetizados (7, 9 y 11) mostraron todos una actividad superior a la del metronidazol.

Compuesto	Cl ₅₀	Int-Conf. 95%
Albendazol	0.01	0.007-0.013
Metronidazol	0.21	0.14-0.27
7	0.15	0.06-0.32
9	0.13	0.14-0.26
11	0.15	0.06-0.32

Tabla 4. Susceptibilidad de trofozoitos de *Giardia lamblia* a 3 derivados del 1-metilbencimidazol

Efecto de los 1-metilbencimidazoles sobre *Trichinella spiralis*. El albendazol a una concentración de 1 µg/mL, redujo la viabilidad del parásito adulto un 28% (Tabla 5). En este ensayo el compuesto 11 tuvo una efectividad similar a la del albendazol, reduciendo la viabilidad del parásito un 29%. Para el compuesto 7, el efecto sobre la viabilidad fue ligeramente menor a la del albendazol (23%).

Por otro lado, la evaluación del efecto antihelmíntico de estos compuestos sobre la larva muscular de *T. spiralis* a una concentración de 1 µg/mL, mostró que los compuestos 7, 9 y 11, fueron efectivos contra el parásito, observándose un porcentaje de reducción de la viabilidad entre 22% y 30%, siendo el compuesto 9 el más activo (Tabla 5). Los compuestos restantes tuvieron menor efecto que el albendazol sobre esta fase de desarrollo de *T. spiralis*. A mayor concentración (10 µg/mL), los compuestos 9 y 11 aumentaron su actividad, reduciendo la viabilidad de la larva muscular un 34% y un 46% respectivamente, presentando mayor efecto que el albendazol cuyo porcentaje de reducción fue del 23%. (tabla 5).

Compuesto	Adulto 1 $\mu\text{g/mL}$	Adulto 10 $\mu\text{g/mL}$	LM 1 $\mu\text{g/mL}$	LM 10 $\mu\text{g/mL}$
Albendazol	28 \pm 7	31 \pm 10	22 \pm 12	23 \pm 14
7	23 \pm 5	23 \pm 13	24 \pm 6	27 \pm 8
9	NR	NR	26 \pm 2	34 \pm 3
11	29 \pm 5	27 \pm 4	22 \pm 11	46 \pm 5

El porcentaje de reducción de la viabilidad del parásito se calculó con respecto al control.

NR = No Redujo

Tabla 5. Porcentaje de reducción de la viabilidad del adulto y larva muscular (LM) de *Trichinella spiralis* utilizando los 1-metilbencimidazoles.

DISCUSION

Los compuestos utilizados en este estudio se diseñaron para estudiar la importancia del H en posición 1 de la molécula al ser sustituido por el grupo metilo, lo que además evita la formación de tautómeros. Las modificaciones realizadas al introducir átomos de Cl en posiciones 5 y 6 de la molécula de bencimidazol permitieron observar su efecto en la actividad biológica, y por otro lado, estudiar la participación de los diferentes sustituyentes en posición 2 (metilio, amino y metilo) en la actividad de la molécula.

Los resultados obtenidos muestran que los 1-metilbencimidazoles sintetizados son efectivos *in vitro* contra trofozoitos de *G. lamblia*. Cuando menos en lo que respecta a *G. lamblia*, parece ser que los radicales en posición 2 no influyen sustancialmente en su efecto y más bien parece que es de mayor importancia la presencia de Cl en posiciones 5 y 6.

En relación con el efecto de estos compuestos sobre *T. spiralis*, sólo los compuestos **7** y **11** (con sustituyentes metilo y metiltio respectivamente), empleados a 1 µg/mL y 10 µg/mL redujeron la viabilidad del organismo adulto. Sin embargo, los 3 compuestos sintetizados tuvieron actividad contra la larva muscular del parásito semejante al albendazol, sin importar el sustituyente en posición 2 de la molécula. Los compuestos **9** y **11** con sustituyentes amino y metiltio respectivamente, aumentaron su actividad de manera importante contra el parásito, al ser utilizados a una concentración de 10 µg/mL.

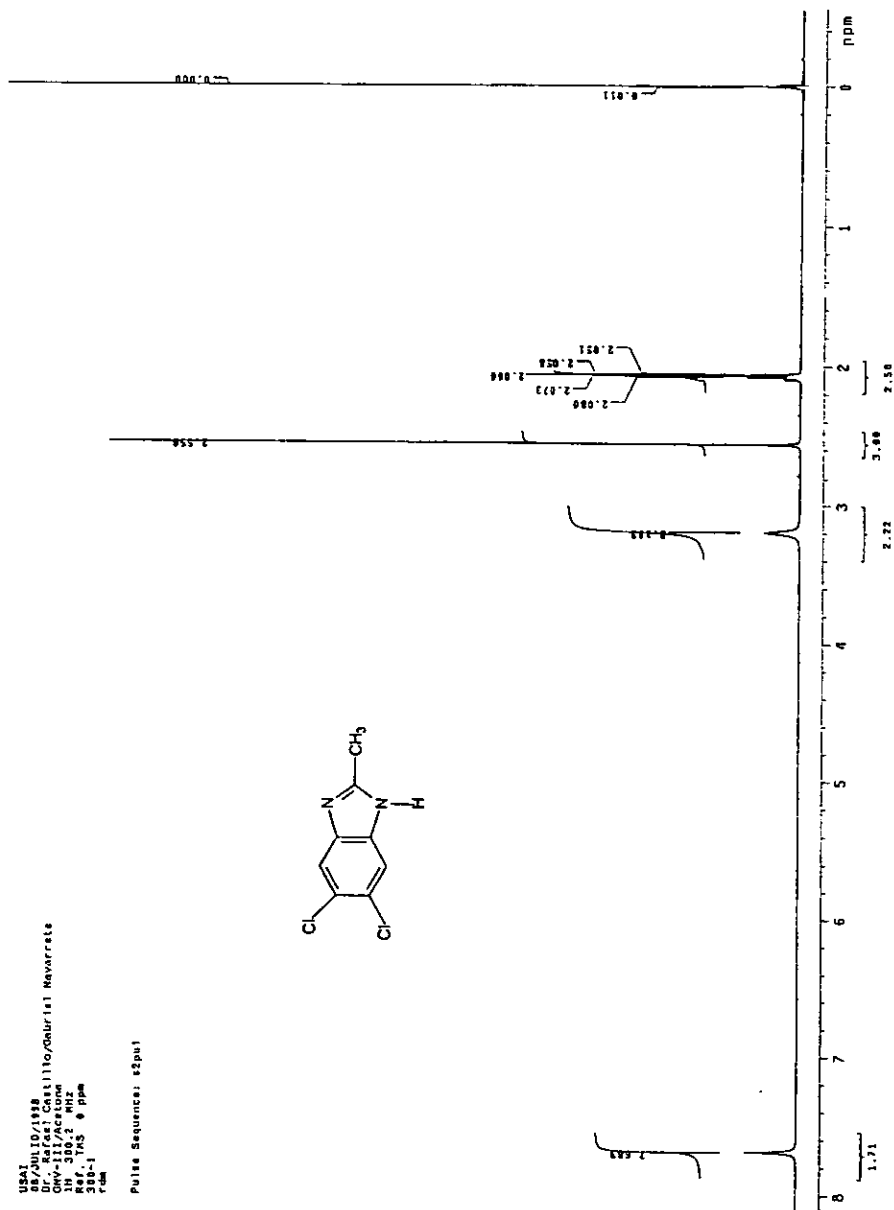
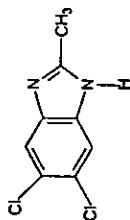
De este análisis resulta evidente que el compuesto **11** con un sustituyente metiltio en posición 2 de la molécula y el compuesto **7** con un grupo metilo en posición 2, tuvieron actividad tanto en contra del adulto como de la larva muscular de *T. spiralis*. De lo anterior se desprende que los compuestos **7** y **11** son efectivos contra ambas fases del parásito. Además se observó que los grupos metiltio y metilo confirieron mayor actividad antihelmíntica a los 1-metilbencimidazoles.

5. CONCLUSIONES

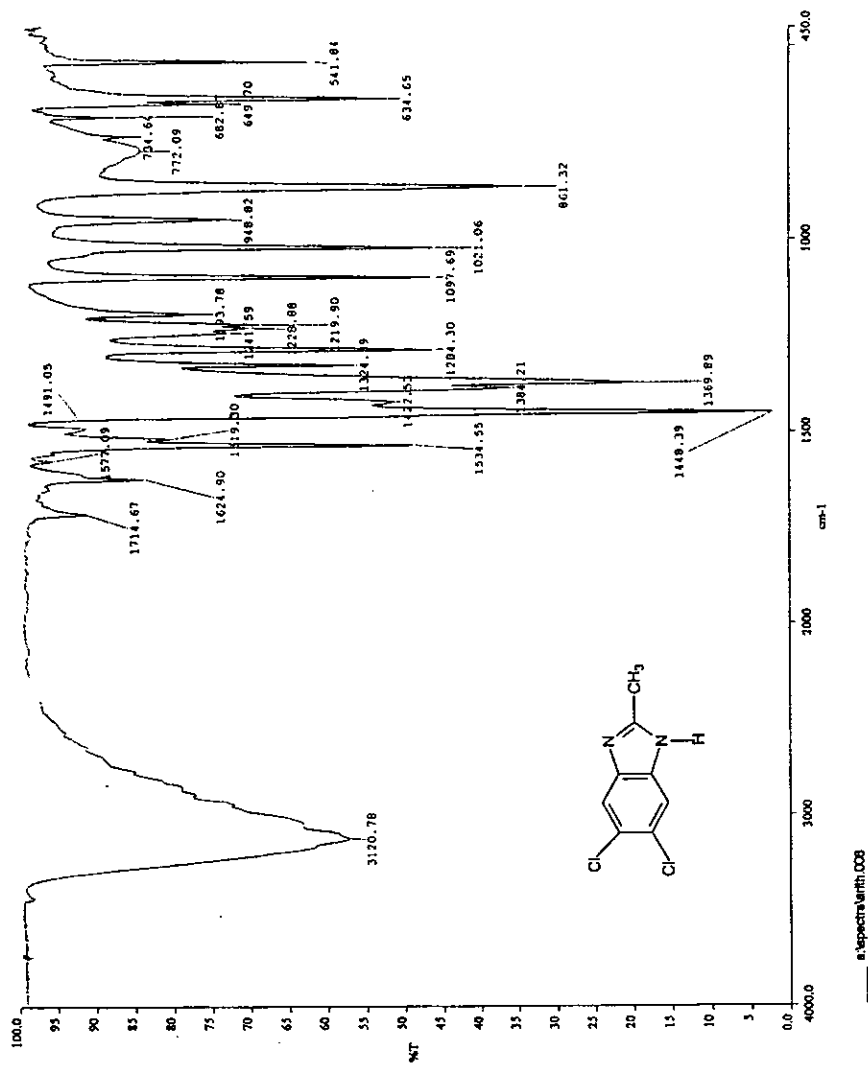
- Se desarrolló un método alternativo para la síntesis de 3 compuestos 1-metilbencimidazoles-5,6-diclorados (7, 9, 11), que dió como resultado mejores rendimientos que los obtenidos con el método reportado por Castillo B. y cols. ; además de presentar una pureza aceptable.
- Al evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* contra *T. spiralis* y *G. lamblia*, se confirmó el potencial antihelmíntico y antiprotozoario de los compuestos 7, 9, 11.
- El compuesto más activo contra *G. lamblia* fue el 9, que resultó ser tan efectivo como el albendazol y el metronidazol respectivamente.
- En relación a *T. spiralis*, dos de los tres compuestos (7 y 11) mostraron buena actividad contra ambas fases del parásito.
- Los compuestos fueron especialmente activos contra la larva muscular de *T. spiralis*, aumentando de manera importante su efecto al incrementarse la concentración de los compuestos.
- Los resultados hasta ahora obtenidos, son alentadores para continuar nuevos estudios hacia una evaluación *in vivo* de la actividad de los 1-metilbencimidazoles, que nos permitan determinar características farmacológicas importantes como: absorción, biodisponibilidad, metabolismo, toxicidad, entre otras.

USA1
 7/20/70 10:1588
 DR. Rafael Castillio/Oblivisil Mavarrete
 ONV-111/Acetone
 846. 303 MHz
 388-1
 7dm

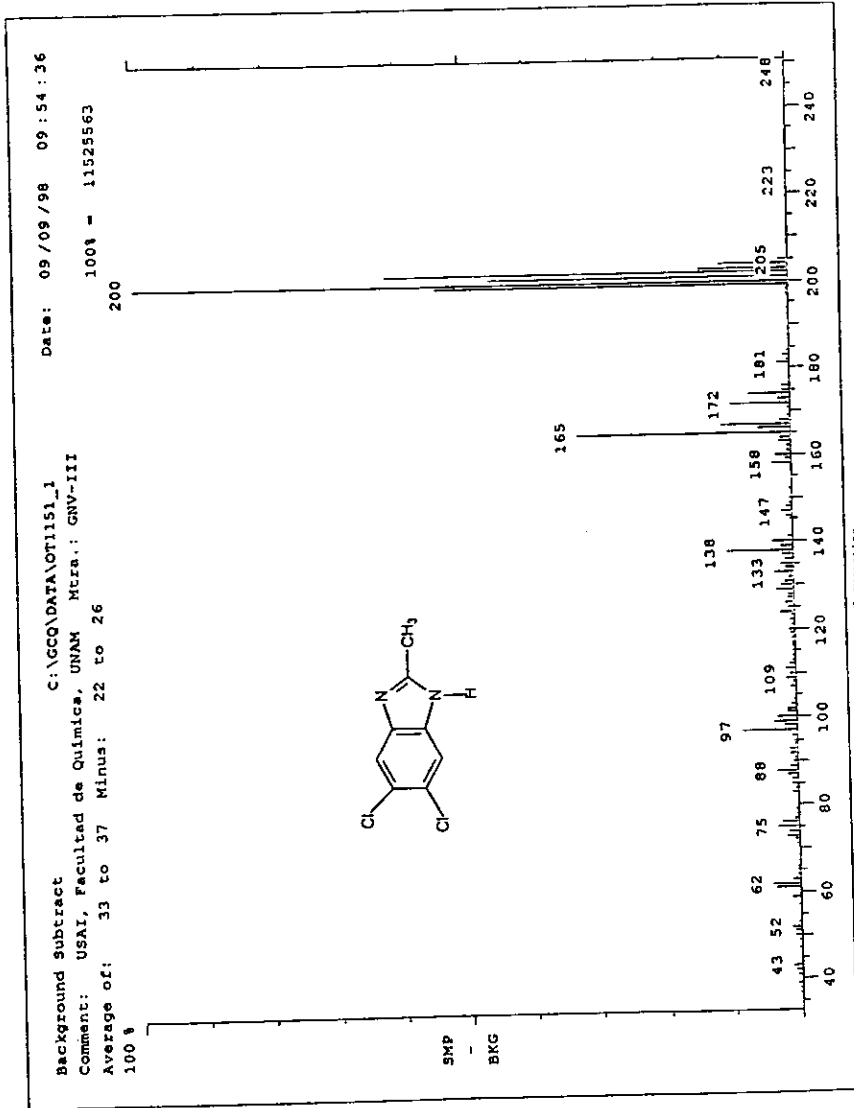
Pulse Sequence: s2pu1



ESPECTRO No . 1. ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5,6-DICLORO-2-METILBENZIMIDAZOL (6).

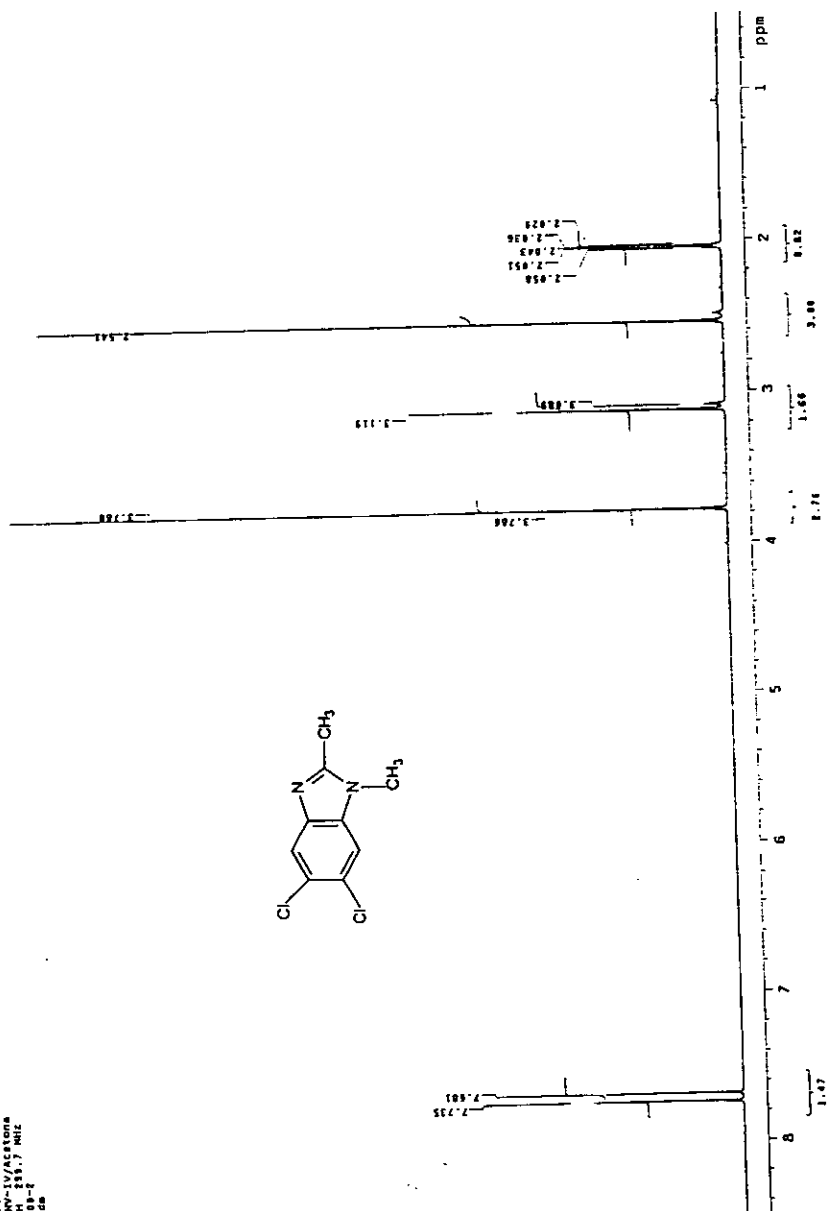
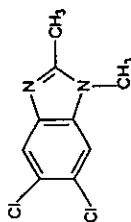


ESPECTRO No. 2. ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-2-METILBENZIMIDAZOL (6).

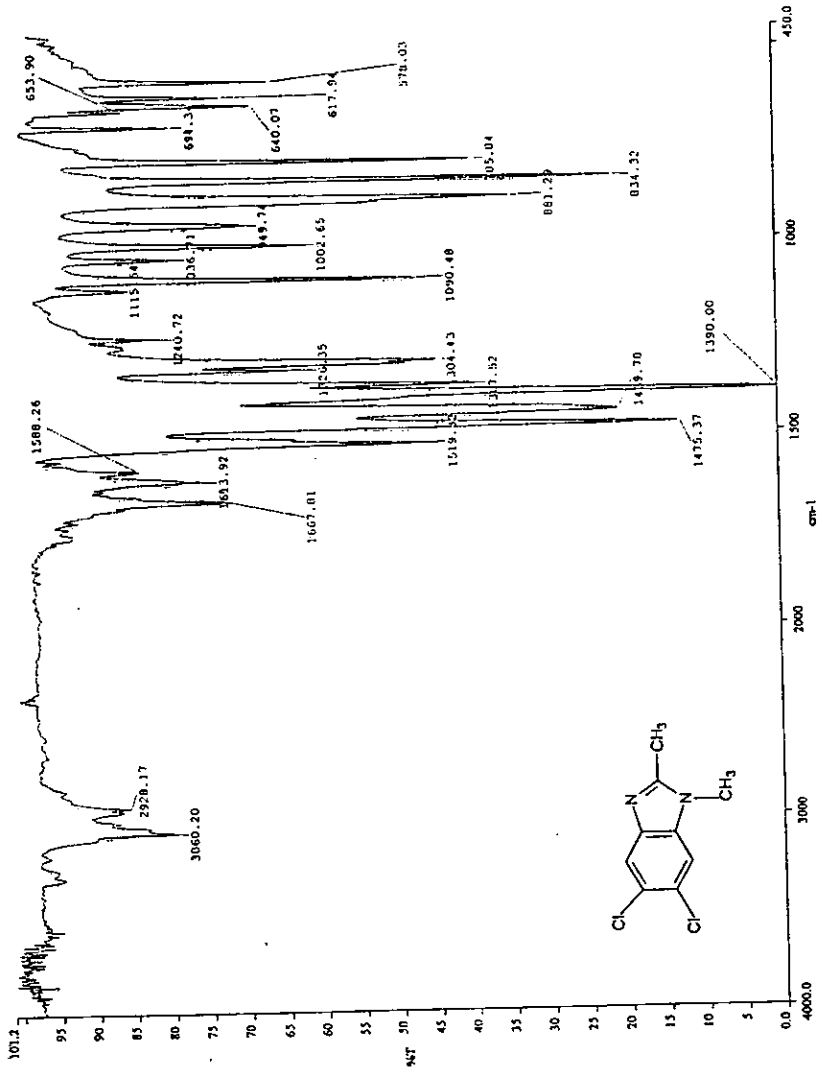


ESPECTRO No. 3. ESPECTRO DE MASAS DE 5,6-DICLORO-2-METILBENZIMIDAZOL (6).

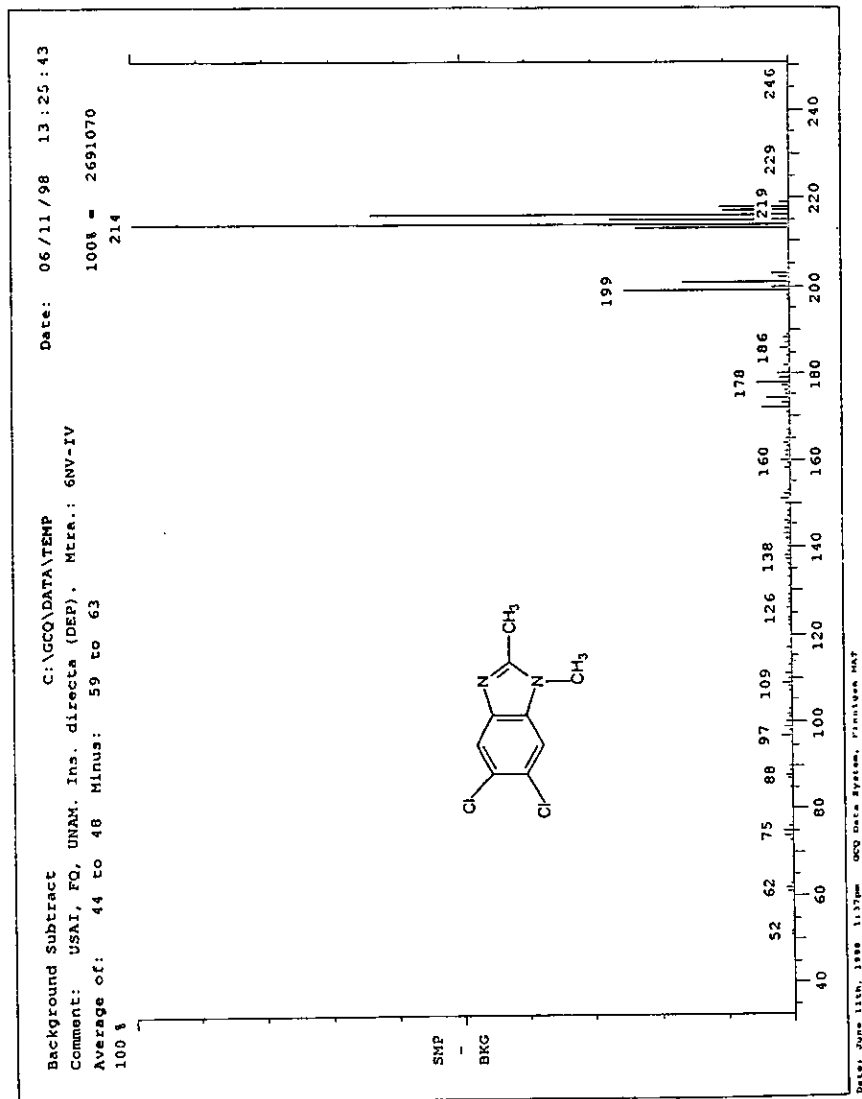
USAI
 07/01/82
 D. J. Reyes Castillo/Gabriel Navarrete
 CIV-IV/ALTONA
 310-2 35.7 MHz
 PSE



ESPECTRO No . 4 . ESPECTRO DE ¹H RMN DE 5.6-DICLORO-1,2-DIMETILBENZIMIDAZOL (7).



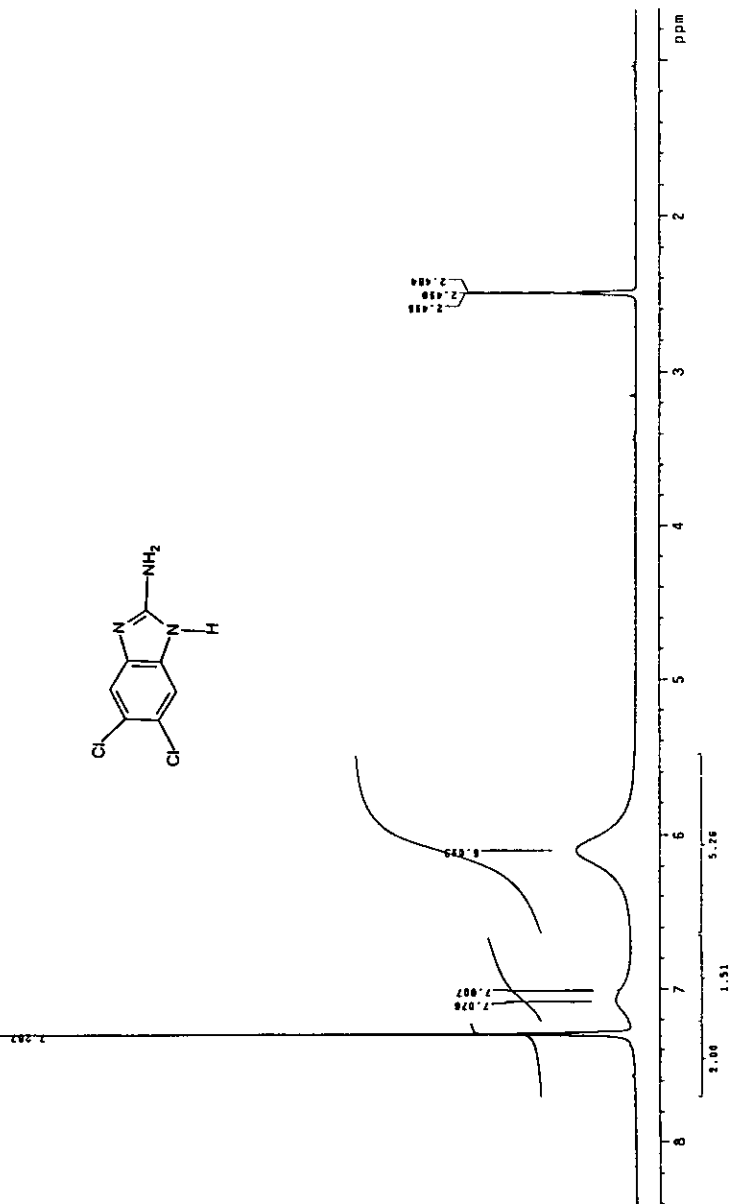
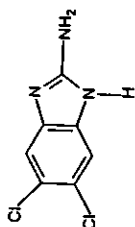
ESPECTRO No . 5 . ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-1,2-DIMETILBENZIMIDAZOL (7).



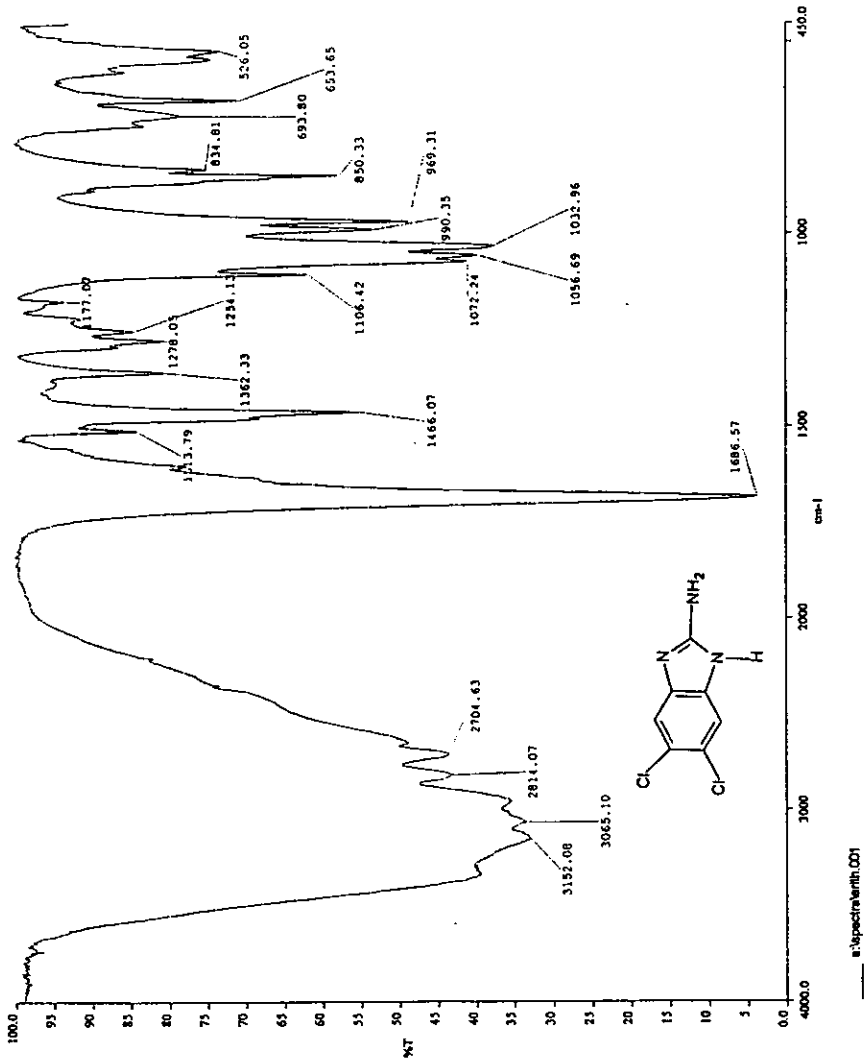
ESPECTRO No . 6 . ESPECTRO DE MASAS DE 5,6-DICLORO-1,2-DIMETILBENZIMIDAZOL (7).

USAI
 02/SEPTIEMBRE/1986
 Castiño/Gabriel Maverrero
 DMF-d₇/MSO
 300.2 MHz
 300.1 MSO 2.49 ppm
 rdm

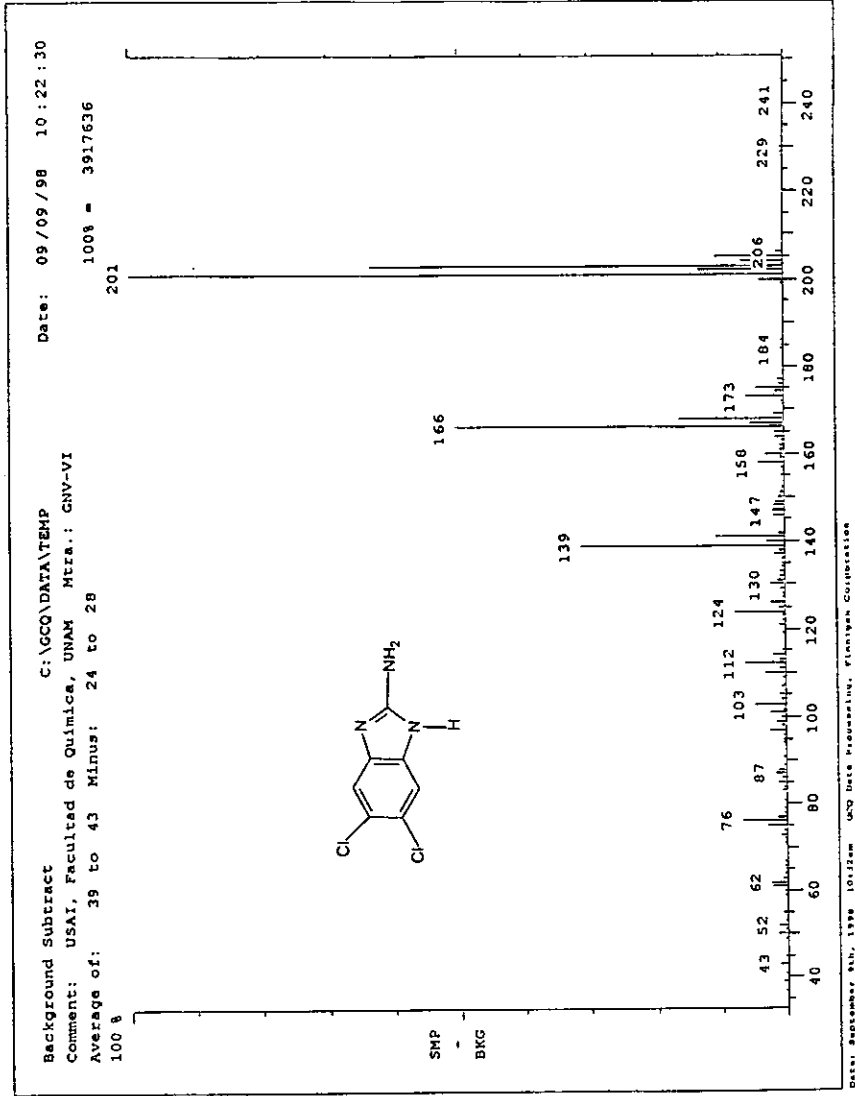
Pulse Sequence: szpu1



ESPECTRO No . 7 . ESPECTRO DE ¹H RMN DE 2-AMINO-5,6-DICLOROBENZIMIDAZOL (8).



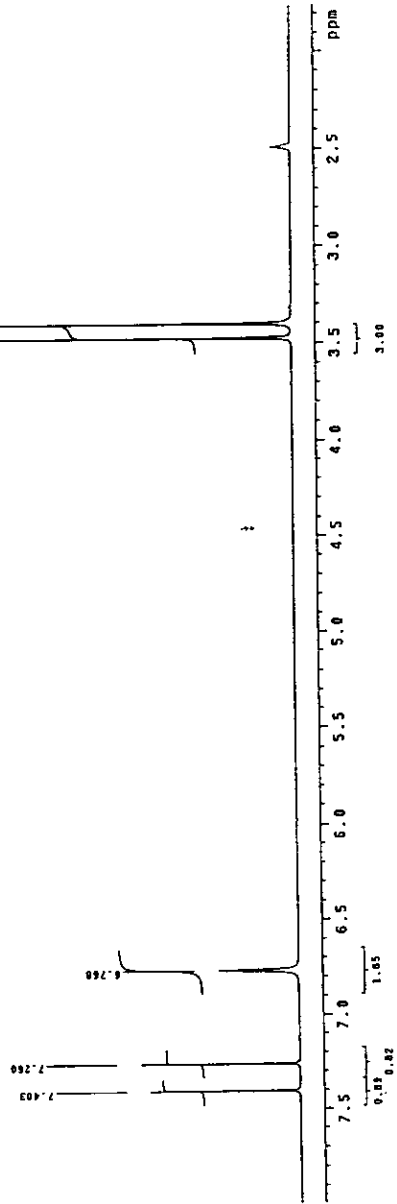
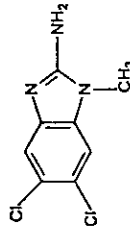
ESPECTRO No. 8. ESPECTRO DE IR DE 2-AMINO-5,6-DICLOROBENZIMIDAZOL (8).



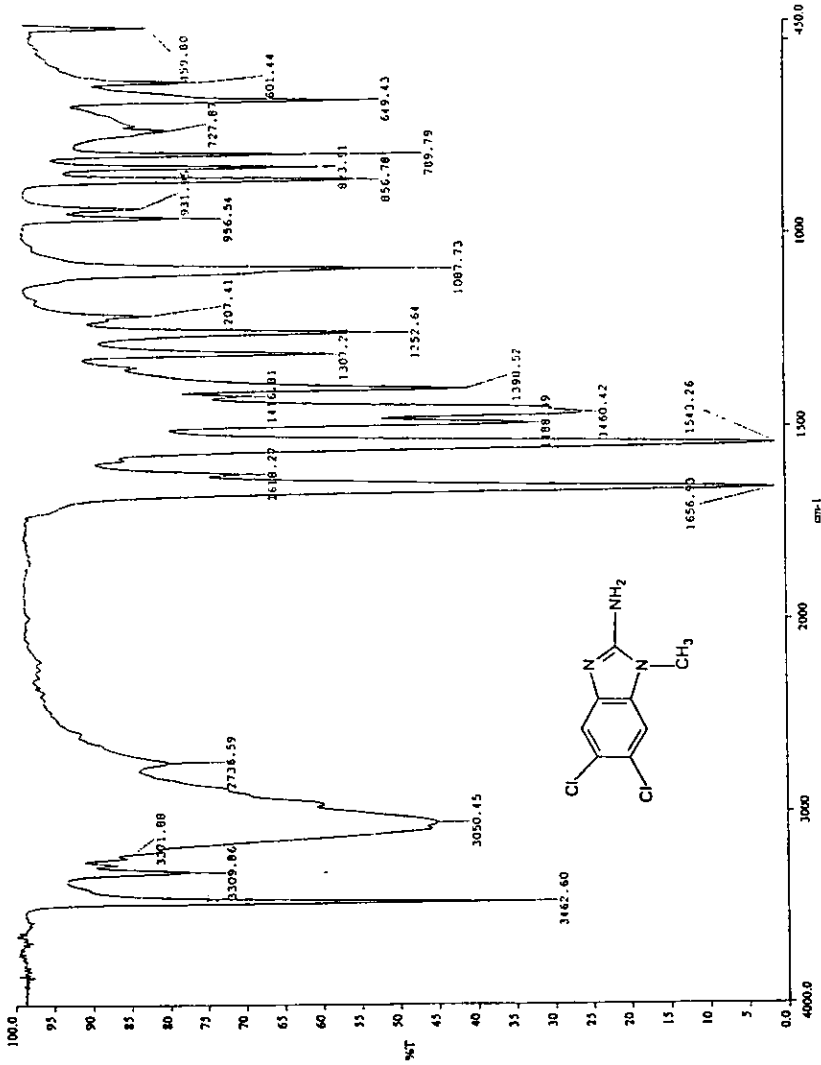
ESPECTRO No. 9 . ESPECTRO DE MASAS DE 2-AMINO-5,6-DICLOROBENZIMIDAZOL (8).

USAI
 DE/00260/1958
 DE/00260/1 Castellano/Gabriel Mavarrate
 CHN-VII/DMSO
 IN 300 MHz
 300-1 DMSO 2.48 ppm
 7.00

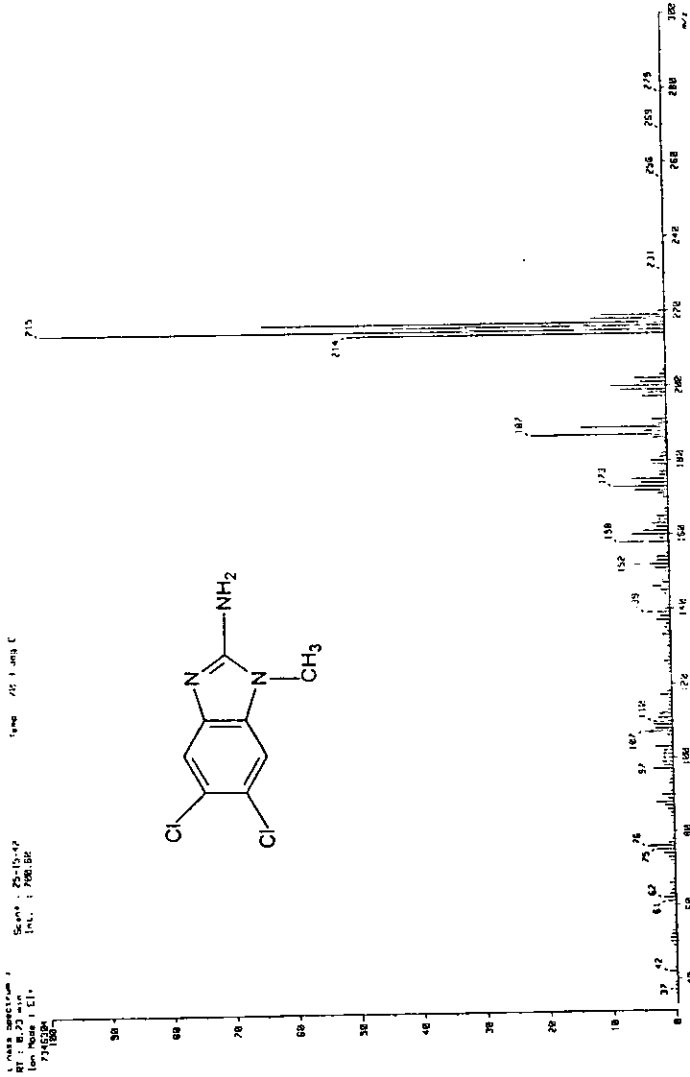
Pulse Sequence: s2pul



ESPECTRO No. 10 . ESPECTRO DE ^1H RMN DE 2-AMINO-5,6-DICLORO-1-METILBENZIMIDAZOL (9).

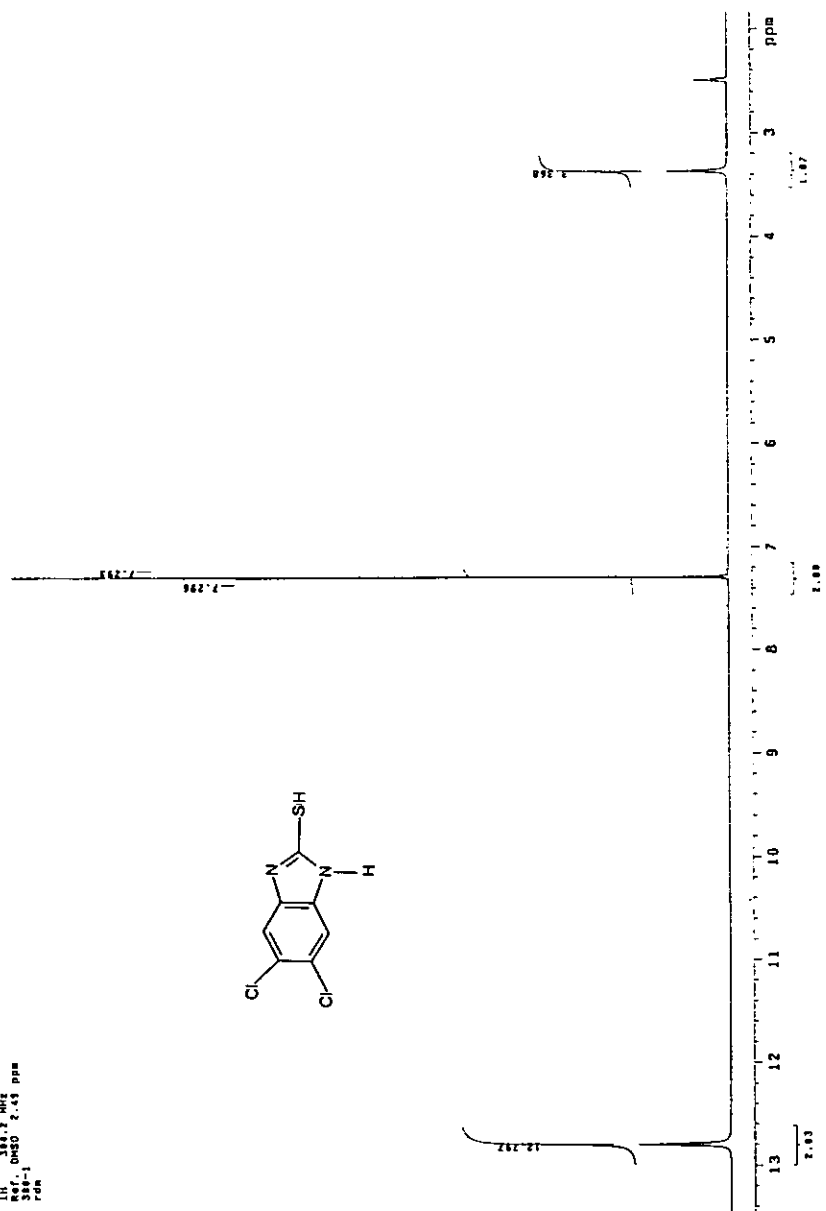
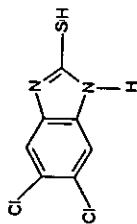


ESPECTRO No. 11. ESPECTRO DE IR DE 2-AMINO-5,6-DICLORO-1-METILBENZIMIDAZOL (9).

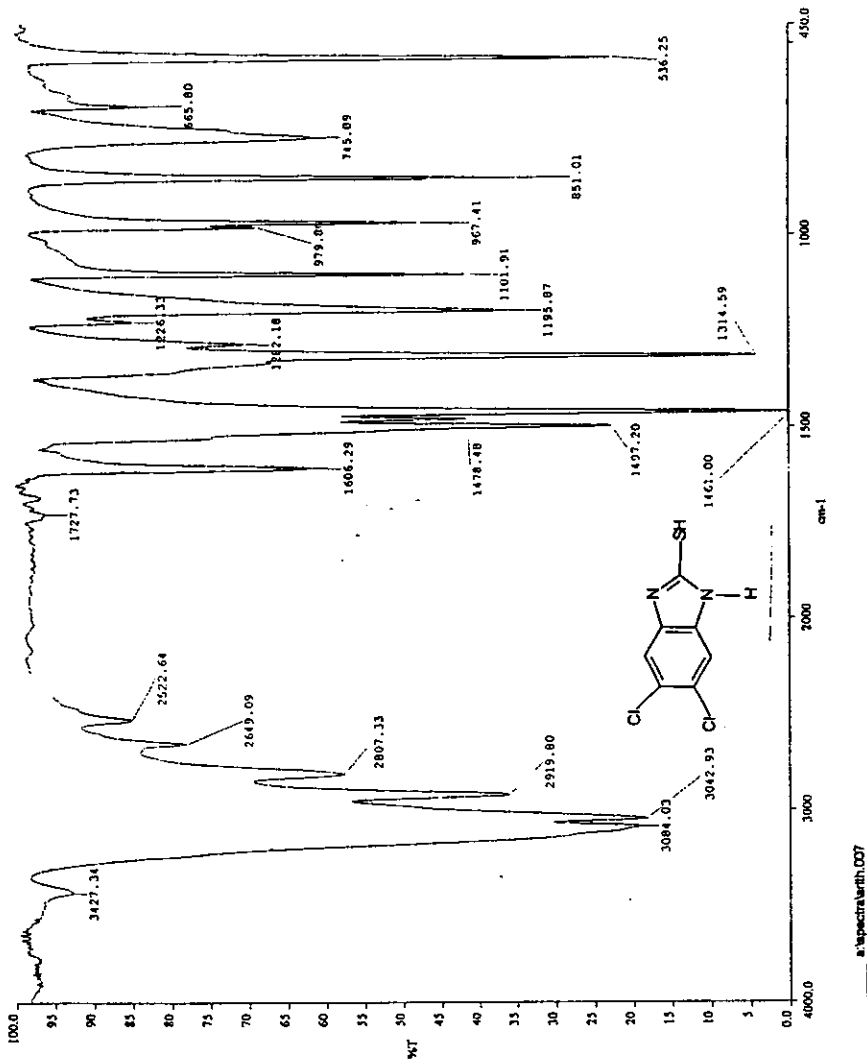


ESPECTRO No. 12 . ESPECTRO DE MASAS 2-AMINO-5,6-DICLORO-1-METILBENZIMIDAZOL (9).

USAL
 07/11/2010/1986
 OF/RA/ELI COLLILLO/Dabr/EL Navarrete
 CHV-1/DMSO
 318-1
 318-1
 318-1
 rdm

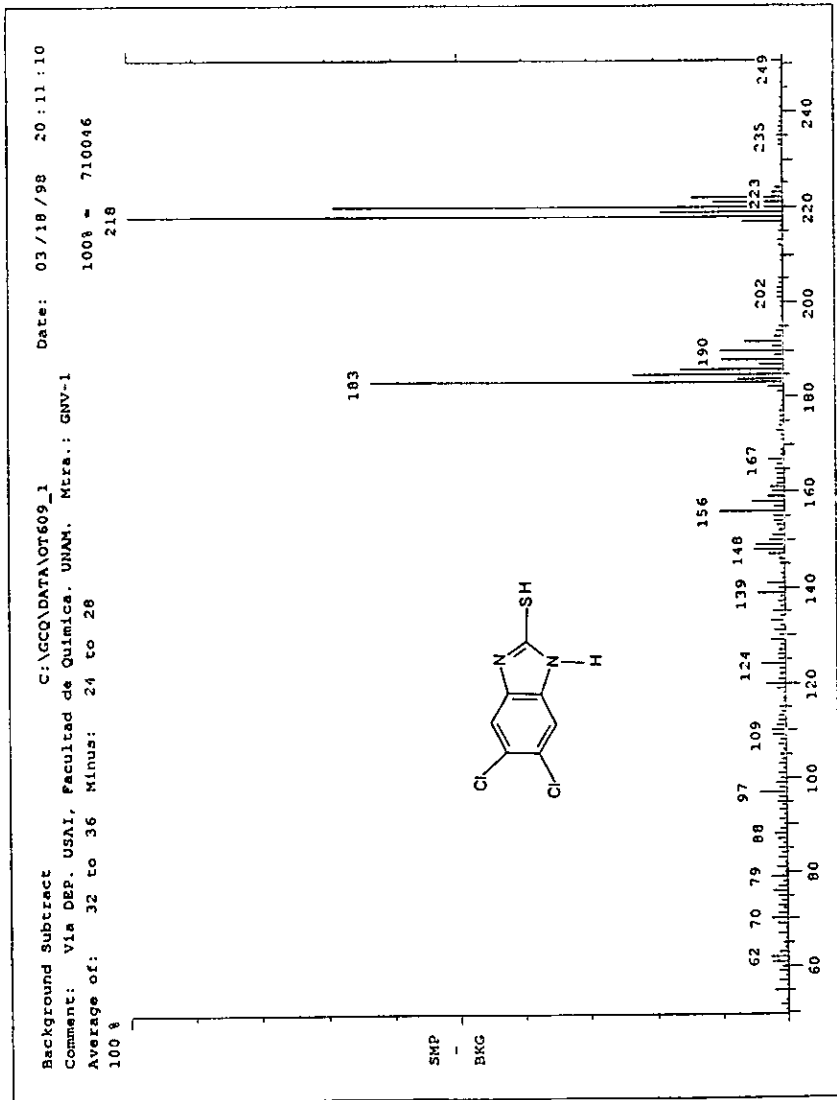


ESPECTRO No . 13 . ESPECTRO DE ^1H RMN DE 5,6-DICLORO-2-MERCAPTOBENZIMIDAZOL (10).



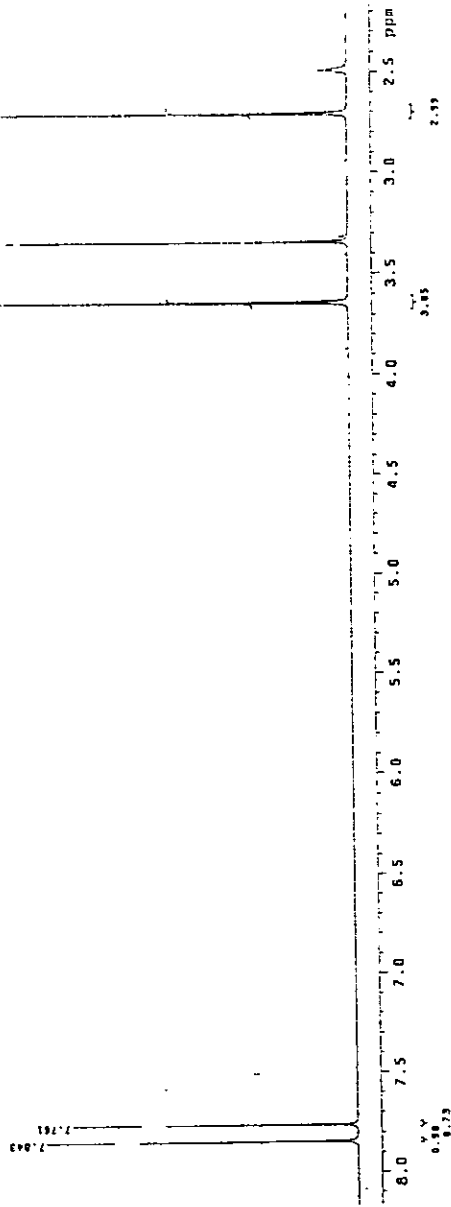
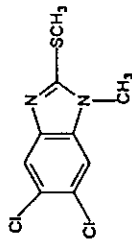
ESPECTRO No. 14. ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-2-MERCAPTOBENZIMIDAZOL (10).

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

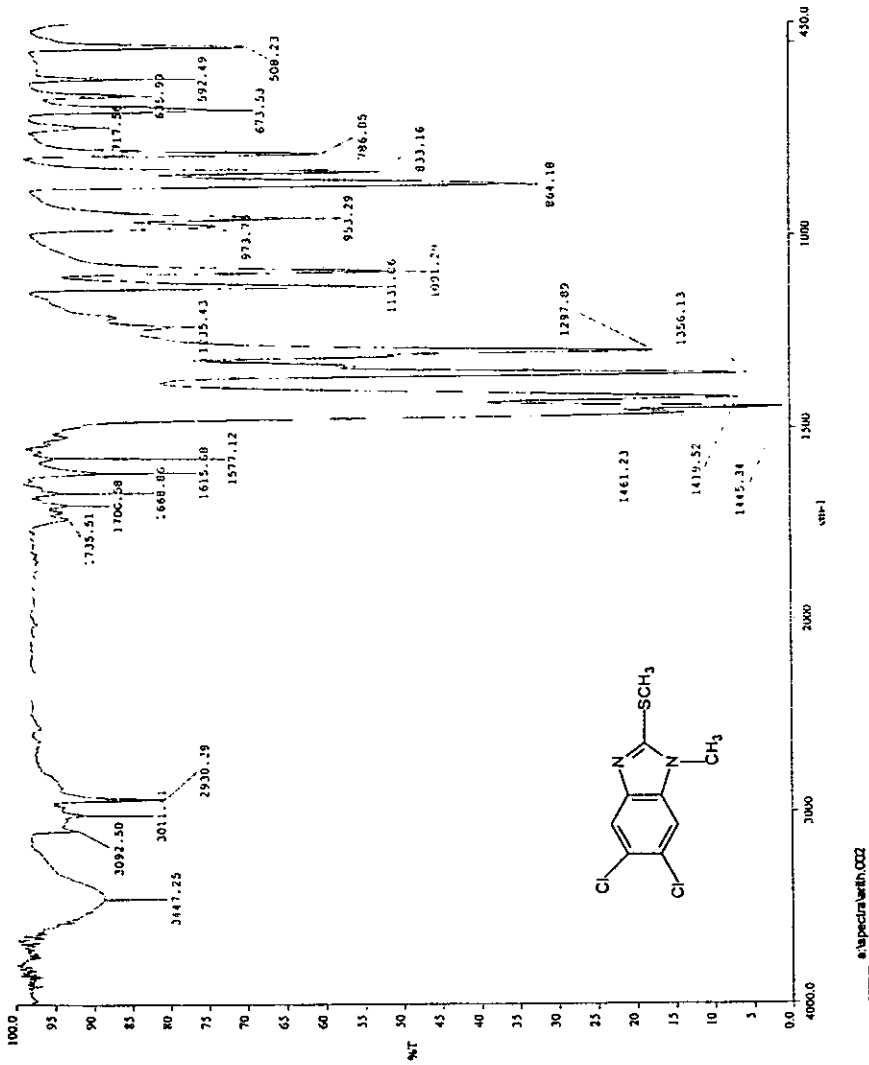


ESPECTRO No . 15 . ESPECTRO DE MASAS DE 5,6-DICLORO-2-MERCAPTOBENZIMIDAZOL (10).

USAT
 8/ABRIL/1986
 C/CASTILLO/DABR/CI NAVARRA
 CIV-11/MSO
 LN 300.2 MHZ
 99.7 MSO 2.45 ppm
 F28



ESPECTRO No. 16. ESPECTRO DE ^1H RMN DE 5,6-DICLORO-1METIL-2-METILTIOBENCIMIDAZOL (11).



ESPECTRO No. 17. ESPECTRO DE IR DE 5,6-DICLORO-1METIL-2-METILTIOBENCIMIDAZOL (11).

7. BIBLIOGRAFIA

- Belstein Organische Chemie. Band XII, pp. 626.
- Belstein Organische Chemie. Band XII, pp. 734.
- Brown H.D., Matzuk A.R., Ilves I. R., Peterson L. H., Harris S A, Sarret L.H., Egerton J.R., Yakstis J.J., Campbell W.C., Cuckler A.C. (1961). Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazole, A New Anthelmintic. *J. Am. Chem. Soc.* **83**: 1764-1765.
- Catalogo Aldrich ; 1996-1997 ; pp. 492.
- Catalogo Aldrich ; 1996-1997 ; pp. 494.
- Castillo-Bocanegra, R. , Sánchez Díaz R. (1994). Synthesis and biological activity of metilbencimidazoles against *Trichinella spiralis*. *J. Med. Microbiol.* **35**:123-127.
- Cedillo-Rivera R., Muñoz O. (1992). *In vitro* susceptibility of *Giardia lamblia* to albendazole, mebendazole and other chemotherapeutic agents. *J. Med. Microbiol.* **37**:221-224.

- Cedillo-Rivera R., Ramírez A., Muñoz O. (1992). A rapid colorimetric assay with the tetrazolium salt MTT and phenazine methosulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*. *Arch. Med. Res.* **23**:59-61 (Special issue).
- Chávez B., Cedillo-Rivera R., Martínez-Palomo A. (1992). *Giardia lamblia*: Ultrastructural study of the *in vitro* effect of benzimidazoles. *J. Protozool.* **39**:510-515.
- De la Torre, R.A., Cortinas de Nava, C. (1994). Genotoxic activity of mebendazole in *A. nidulans*. *Mutation Research.* **305** : 139-144.
- Dennis, D.T., Despommier, D.D., Davis, N. (1970). Infectivity of the newborn larvae of *Trichinella spiralis* in the rat. *J. Parasitol.* **56**(5): 974-977.
- Fitton A O, Smalley R K. Practical Heterocyclic Chemistry. Academic Press, London 1968; pp. 59.
- Gottschall, D.W., Theodorides, V. and Wang, R. The metabolism of bencimidazole anthelmintics. *Parasitology Today.* **6** : 115-124.
- Horton, R.J. (1990). Bencimidazole in a wormy World. *Parasitology Today.* **6** :106.

-
- Korolkovas A. Essentials of Molecular Pharmacology. Wiley-Interscience, EUA, 1970, pp. 54-55.
 - Lacey E. (1988). The Role of Cytoskeletal Protein, Tubulin, in the Mode of Action and Mechanism of Drugs Resistance to Benzimidazoles. *Int J Parasitol*; **18**: 885-936.
 - Lacey E. (1990). Mode of Action of Benzimidazoles. *Parasitol. Today* **6**: 112-115.
 - Lacey E, Watson T R. (1985). Structure-Activity Relationships of Benzimidazoles Carbamates as Inhibitors of Mammalian Tubulin, *in vitro*. *Biochem Pharmacol.* **34**: 1073-1077.
 - McCracken RO. (1978). Efficacy of mebendazole and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice. *J Parasitol.* **64**(2), 214-219.
 - Morgan, U.M., Reynoldson, J.A., Thompson,R. (1993). Activities of several benzimidazoles and tubulin inhibitors against *Giardia* spp. *In vitro*. *Antimicrobial Agents Chemother.* **37** :328-331.

- PLM. Diccionario de Especialidades Farmaceuticas. (1998). pp 50, 158, 680, 1527, 1604.
- Sánchez, D.M.R. Sintesis Total de Derivados Clorados del 1-Metilbencimidazol con Actividad Antihelmíntica Potencial. Tesis de Licenciatura de Q.B. , Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca, 1991.
- Sharma S, Abuzar S. (1983). The Benzimidazole Anthelmintics-Chemistry and Biological Activity. *Prog Drug Res.*; **27**: 85-161.
- Sharma S. (1994). Design of new drugs for helminth diseases. Lead optimization in Benzimidazole. *Adv.in Drug Res.*; **25**: 104-172.
- Townson DH, Morris DL. (1989). *Echinococcus granulosus*: *in vitro* maintenance of whole cysts and the assessment of effects of albendazole sulphoxide and praziquantel on the germinal layer, *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **83**:664-669.
- Vanden Bossche, H., *et al.* (1982). *Adv. Pharmacol. Chemoter.* **19** :67-128.