



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

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

SÍNTESIS Y ACTIVIDAD GIARDICIDA DE CARBOXAMIDAS BENCIMIDAZÓLICAS

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. F. B. PATRICIA VARGAS BENÍTEZ



TUTOR: DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA.

AÑO: 2006



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:

Presidente:	Dr. Eugene A. Bratoeff Titeff	Facultad de Química, UNAM
Vocal:	Dr. Manuel Jiménez Estrada	Instituto de Química, UNAM
Secretario:	Dra. Lilián Yépez Mulia	Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS
Primer suplente:	Dra. Helgi Jung Cook	Facultad de Química, UNAM
Segundo suplente:	Dr. José Alfredo Vázquez Martínez	Facultad de Química, UNAM

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

La parte química se realizó en el laboratorio 122 del edificio E del Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM; la parte biológica se hizo en el Hospital de Pediatría, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Centro Médico Siglo XXI del IMSS, bajo la asesoría de la Dra. Lilián Yépez Mulia.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Rafael Castillo Bocanegra

SUSTENTANTE:

Q.F.B. Patricia Vargas Benítez

México D.F. Enero, 2006.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES, POR SU INFINITO AMOR, POR SU APOYO INCONDICIONAL, POR DARME COMO HERENCIA MI EDUCACIÓN, GRACIAS. NO HAY PALABRAS PARA EXPRESARLES CUANTO LOS AMO.

A MIS HERMANOS, POR TODO SU AMOR, POR ESTAR AHÍ EN LOS ÉXITOS, PERO MÁS AÚN, POR ESTAR A MI LADO EN LOS FRACASOS Y SIEMPRE APOYARME.

A STEVEN Y NANCY CEFALU, POR CREER SIEMPRE EN MÍ, POR TODO SU CARIÑO Y POR SER UNA MARAVILLOSA BENDICIÓN EN MI VIDA.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme permitido desarrollarme profesionalmente.

Al CONACYT por la beca otorgada durante la realización de mis estudios de Posgrado y al Proyecto CONACYT V 43629-M.

A la DGEP por el apoyo económico brindado.

Al Dr. Rafael Castillo Bocanegra por su apoyo y enseñanzas transmitidas, por ser un pilar importante en mi formación profesional. Además quiero agradecer al Dr. Castillo todos sus consejos, más allá del ámbito profesional, así como el cariño que me brindo, toda su confianza y paciencia.

A la M. en C. Alicia Hernández Campos por su amistad, cariño, atenciones, paciencia, consejos y ayuda incondicional.

Al Dr. Francisco Hernández Luis por sus enseñanzas, por sus sabios consejos y por el tiempo que me dedicó durante el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Lilián Yépez Mulia y Amparo Tapia por la determinación de la actividad antiprotozoaria, en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS. También, quiero agradecer a la Dra. Lilián por su apoyo en la revisión de esta tesis.

Al personal de la Unidad de Servicio de Apoyo a la Investigación (USAI): M. en C. Rosa Isela del Villar, M. en C. Víctor M. Arroyo Sánchez, Q. Marisela Gutiérrez, Q.F.B. Margarita Guzmán, Q.F.B. Nayeli López y Q. Georgina Duarte, por la determinación de los espectros de este trabajo.

A todos mis amigos por cada uno de los momentos juntos, por su apoyo y sobre todo por su amistad invaluable: Soraya, Víctor Manuel, Rosa Isela, Mtro. Arturo, Eduardo, Maricela, Araceli, Roberto Carlos, Hipócrates, pero muy en especial a Víctor Pérez Ornelas por regalarme parte de su preciado tiempo y apoyarme en los trámites de esta tesis.

A todos mis compañeros del 122. Gracias por todas las experiencias juntos, siempre recordaré el gran equipo de trabajo que es el laboratorio 122.

ÍNDICE GENERAL

	Página
INTRODUCCIÓN	1
1. Antecedentes	3
1.1 Epidemiología de las enfermedades parasitarias	3
1.2. Tratamiento de las enfermedades parasitarias	5
1.3. Nitroheterociclos como agentes antiparasitarios	5
1.4. Mecanismo de acción de los nitroheterocíclicos	7
1.5. Bencimidazoles como agentes antiparasitarios	8
1.6. Mecanismos de acción de los bencimidazoles	10
1.6.1. Inhibición del metabolismo de glucosa	10
1.6.2. Inhibición de la incorporación de glucosa	10
1.6.3. Inhibición de la polimerización de tubulina	10
1.7. Modificaciones moleculares en los bencimidazoles	11
1.8. Actividad antiparasitaria de bencimidazoles novedosos	13
2. Planteamiento del problema	15
3. Hipótesis y Objetivos	16
3.1. Hipótesis de trabajo	16
3.2. Objetivo General	16
3.3. Objetivos Particulares	16
4. Consideraciones para el diseño	18
4.1. Fármacos “híbridos” (<i>Non identical Twin Drugs</i>), una estrategia en el diseño de fármacos	18
4.2. Introducción del grupo metilo en posición 1	20
4.3. La regla de Lipinski en el diseño de fármacos	20
5. Metodología	22
5.1. Parte Química	22
5.1.1. Síntesis de las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (16, 18, 59, 71)	22

	Página
5.1.2. Síntesis de las carboxamidas 2-carbamatobencimidazólicas (31,36,63,75)	24
5.2. Parte Biológica	27
6. Resultados y discusión	28
6.1. Parte Química	28
6.1.1. Constantes físicas	28
6.1.2. Síntesis Química	28
6.1.2.1. Obtención de las materias primas 4 y 11	28
6.1.2.2. Obtención de los ácidos 2-metilbencimidazólicos precursores 7 y 14	33
6.1.2.3. Obtención de las carboxamidas bencimidazólicas 16 y 18	35
6.1.2.4. Obtención de las carboxamidas bencimidazólicas 59 y 71	36
6.1.2.5. Obtención de los ácidos 2-metoxicarbonilamino precursores 22 y 26	37
6.1.2.6. Ruta original de síntesis para las carboxamidas 2-carbamato de metilo (31, 36, 63, 75)	38
6.1.2.7. Ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-carbamato de metilo	40
6.1.3. Constantes espectroscópicas y espectrométricas	43
6.2. Parte biológica	46
6.2.1. Resultados de actividad antiprotozoaria de las carboxamidas 16, 18, 31, 59 y 71 frente a <i>Giardia intestinalis</i>	46
6.2.2. Resultados de actividad antiprotozoaria de los ácidos bencimidazólicos precursores contra <i>Giardia intestinalis</i>	48
6.2.3. Actividad antiprotozoaria de la carboxamida híbrida 59 y sus núcleos precursores	51

	Página
7. Conclusiones	53
8. Perspectivas	55
9. Parte experimental	56
9.1. Instrumentación	56
9.2. Cromatografía	57
9.3. Procedimientos generales de síntesis	58
9.3.1. Procedimiento general de <i>N</i> -acetilación de anilinas	58
9.3.2. Procedimiento general de esterificación	58
9.3.3. Procedimiento general de nitración	58
9.3.4. Procedimiento general de hidrogenación catalítica	59
9.3.5. Procedimiento general de ciclación catalizada con PPA	59
9.3.6. Procedimiento general de hidrólisis con KOH y H ₂ O en MeOH	60
9.3.7. Formación de cloruros de ácido con SOCl ₂	60
9.3.8. Formación de carboxamidas híbridas	61
9.3.9. Formación de 2-carbamatos de metilo	61
9.4. Procedimientos experimentales para la preparación de los intermediarios 2-14 de las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas	62
9.4.1. Ácido 4-Acetamidobenzoico (2)	62
9.4.2. 4-(Acetilamino)benzoato de metilo (3)	63
9.4.3. 4-(Acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (4)	63
9.4.4. 4-(Acetilamino)-3-aminobenzoato de metilo (5)	64
9.4.5. 2-Metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (6)	65
9.4.6. Ácido-2-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxílico (7)	65
9.4.7. 4-Cloro-3-nitrobenzoato de metilo (9)	66
9.4.8. 4-(Metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (10)	66
9.4.9. 4-[Acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (11)	67
9.4.10. 4-[Acetil(metil)amino]-3-aminobenzoato de metilo (12)	68

	Página
9.4.11. 1,2-Dimetil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13)	69
9.4.12. Ácido 1,2-dimetil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxílico (14)	69
9.5. Procedimientos experimentales para la preparación de las <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamidas metiladas 16 y 18	70
9.5.1. Cloruro de 2-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carbonilo (15)	70
9.5.2. 2-Metil- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol- 5(6)-carboxamida (16)	70
9.5.3. Cloruro de 1,2 dimetil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carbonilo (17)	71
9.5.4. 1,2-Dimetil- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol- 5-carboxamida (18)	72
9.6. Procedimientos experimentales para la preparación de las <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)- 1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamidas metiladas 59 y 71	72
9.6.1. 2-Metil- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol -5(6)-carboxamida (59)	72
9.6.2. 1,2-Dimetil- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol -5-carboxamida (71)	73
9.7. Metodología seguida para la síntesis de los intermediarios 19-34 de las carboxamidas bencimidazólicas 2-carbamato de metilo	74
9.7.1. 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (19)	74
9.7.2. 3,4- Diaminobenzoato de metilo (20)	75
9.7.3. 2-[(Metoxicarbonil)amino]-1 <i>H</i> -bencimidazol -5(6)-carboxilato de metilo (21)	75
9.7.4. Ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1 <i>H</i> -bencimidazol -5(6)-carboxílico (22)	76
9.7.5. 3-Amino-4-(metilamino)benzoato de metilo (24)	77
9.7.6. 1-Metil-2-[(Metoxicarbonil)amino]-1- <i>H</i> -bencimidazol -5-carboxilato de metilo (25)	78
9.7.7. Ácido 1-metil-2-[(metoxicarbonil)amino]-1 <i>H</i> -bencimidazol -5-carboxílico (26)	78

	Página
9.7.8. Ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (27)	79
9.7.9. Cloruro de 4-amino-3-nitrobenzoilo (28)	80
9.7.10. 4-Amino-3-nitro- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)benzamida (29)	81
9.7.11. 3,4-Diamino- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)benzamida (30a)	82
9.7.12. {5(6)-[[1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1 <i>H</i> -bencimidazol -2-il}carbamato de metilo (31)	82
9.7.13. Ácido 4-metilamino-3-nitrobenzoico (32)	83
9.7.14. Cloruro de 4-(metilamino)-3-nitrobenzoilo (33)	84
Bibliografía	86
Apéndice	90

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1 Derivados nitroheterocíclicos	6
Fig. 2. Mecanismo de acción de derivados nitroheterocíclicos	7
Fig. 3. Mecanismo de acción de los bencimidazoles antihelmínticos	11
Fig. 4. Sitios donde se han llevado a cabo modificaciones moleculares en el anillo de bencimidazol	12
Fig. 5. Derivados bencimidazólicos novedosos	14
Fig. 6. Diseño de las carboxamidas híbridas	19
Fig. 7. Sistema 1,2,4 trisustituído presente en los 1-metilbencimidazoles	34
Fig. 8. Pruebas de síntesis para las carboxamidas 2-carbamato de metilo	40
Fig. 9. Núcleos precursores de las carboxamidas híbridas	49

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Prevalencia de las parasitosis en México, 2001-2003	4
Gráfica 2. Actividad antiprotozoaria las carboxamidas bencimidazólicas sintetizadas y sus núcleos precursores contra <i>G. intestinalis</i>	48

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Secuencia sintética para preparar los precursores: Cloruro de 2-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carbonilo (15) y Cloruro de 1,2-dimetil-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carbonilo (17)	22
Esquema 2. Secuencia sintética seguida para preparar las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (16, 18, 59, 71)	23
Esquema 3. Secuencia sintética para preparar los precursores Cloruro de 2-(metoxicarbonilamino)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carbonilo (35) y Cloruro de 1-metil-2-(metoxicarbonilamino)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carbonilo (37)	25
Esquema 4. Ruta alterna de síntesis para las carboxamidas 31, 36, 63 y 75	26
Esquema 5. Síntesis de 2-metil- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida (59)	26

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Epidemiología de algunas parasitosis en el ámbito mundial durante el 2002	3
Tabla 2. Algunos bencimidazoles de interés terapéutico	9
Tabla 3. Carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (16, 18, 59,71) y carboxamidas 2-metilcarbamato bencimidazólicas (31, 36, 63, 75) diseñadas en el presente trabajo de tesis	17
Tabla 4. Aplicación de la Regla de Lipinski para las carboxamidas híbridas diseñadas	21
Tabla 5. Constantes físicas y rendimientos de las carboxamidas bencimidazólicas	29
Tabla 6. Constantes físicas y rendimientos de los ácidos carboxílicos precursores de las carboxamidas bencimidazólicas	30
Tabla 7. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de las carboxamidas bencimidazólicas finales sintetizadas en el presente proyecto	44
Tabla 8. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los ácidos bencimidazólicos precursores	45
Tabla 9. Actividad antiprotozoaria <i>in vitro</i> de las carboxamidas (16, 18, 31, 59 y 71) contra <i>G. intestinalis</i>	46
Tabla 10. Resultados de actividad antiprotozoaria de los núcleos precursores de las carboxamidas híbridas contra <i>G. intestinalis</i>	50
Tabla 11. Actividad antiprotozoaria de la carboxamida híbrida 59 y sus núcleos precursores	52
Tabla 12. Constantes físicas y rendimientos de los intermediarios precursores de las carboxamidas bencimidazólicas (2-13)	91
Tabla 13. Constantes físicas y rendimientos de los intermediarios precursores para las carboxamidas bencimidazólicas (19 -33)	92
Tabla 14. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los intermediarios sintetizados en el presente proyecto de tesis	93

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias, causadas por protozoarios y helmintos, son todavía uno de los principales problemas de salud pública en países en vías de desarrollo, entre ellos México. Estas enfermedades ocupan uno de los primeros lugares de morbilidad en el ámbito mundial, afectando principalmente a la población infantil. Aunque muchas veces se consideran triviales, de acuerdo a estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, más de la mitad de la población mundial padece de alguna infección parasitaria.

Aunque los índices de mortalidad de estas enfermedades son relativamente bajos, comparados con otros padecimientos mundiales, lamentablemente, los servicios de salud subestiman y no valoran adecuadamente la importancia de las parasitosis intestinales en el contexto de salud pública.

Una estrategia que se vislumbra a largo plazo para el tratamiento de estos padecimientos es la creación de vacunas; sin embargo, a mediano y corto plazo, lo más conveniente es el control quimioterapéutico de éstas, a través de la implementación de tratamientos masivos.

Actualmente existen fármacos antiparasitarios, tales como los bencimidazoles (albendazol, mebendazol y triclabendazol) y los nitroimidazoles (metronidazol), los cuales han estado en el mercado por más de 30 años; sin embargo, pocas innovaciones de estos fármacos se han realizado para incrementar su eficacia en el tratamiento de las infecciones parasitarias intestinales o sistémicas, que siguen generando problemas de morbilidad y mortalidad en el mundo. Cabe destacar que en la década de los 80's se desarrolló un fármaco denominado Nitazoxanida, con amplio espectro de actividad, que ha mostrado ser eficaz contra infecciones causadas por helmintos y protozoarios intestinales. Este fármaco tiene como grupo farmacofórico el anillo 5-nitrotiazolilo.

Hoy en día, la quimioterapia no sólo juega un papel importante en el tratamiento de pacientes enfermos, sino también en la reducción de infecciones parasitarias. Sin embargo, debido al desarrollo de resistencia que algunos parásitos han mostrado, los tratamientos disponibles en la actualidad ya no son tan efectivos; aunado a esto, algunos fármacos causan severos efectos

secundarios, además de que sus mecanismos de acción son poco conocidos. Por lo anterior el desarrollo de nuevos fármacos antiparasitarios es necesario.

La búsqueda de nuevos principios activos mediante el diseño racionalizado aporta información básica sobre las características estructurales necesarias para que una molécula tenga actividad biológica intrínseca, así también, busca moléculas con mejor biodisponibilidad y eficacia en comparación con los fármacos existentes en el mercado. Conociendo a fondo esta información se podrán generar fármacos más específicos, eficientes, y de bajo costo para uso terapéutico.

El presente trabajo de tesis aporta una serie de compuestos con posible potencial antiparasitario, y servirá para apoyar proyectos futuros que contribuyan a establecer una relación estructura-actividad antiparasitaria, enriqueciendo la base de datos ya existente.

1. ANTECEDENTES

1.1 Epidemiología de las enfermedades parasitarias

Las enfermedades gastrointestinales son un grave problema de salud pública, especialmente en los países en vías de desarrollo.¹ De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que de la población mundial actual de 6,224 millones de personas, más de la mitad (aproximadamente 3,500 millones de personas) está parasitada, de las cuales, cerca de 450 millones se enferman como resultado de estas infecciones, afectando principalmente a la población infantil.¹⁻³

Debido a su alta prevalencia, las parasitosis intestinales, causadas por helmintos y protozoarios, representan el grupo más importante de infecciones sobre el planeta (**Tabla 1**).⁴⁻⁷

Tabla 1. Epidemiología de algunas parasitosis en el ámbito mundial durante el 2002^a

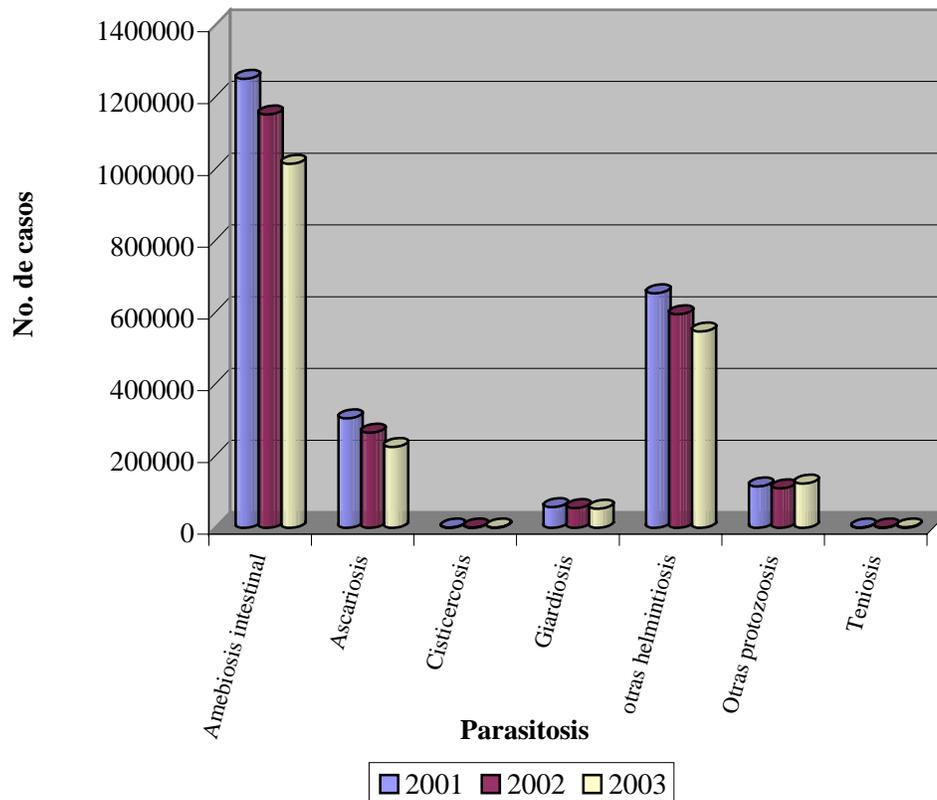
<i>Especie</i>	<i>Morbilidad^b</i>	<i>Mortalidad</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1,000	~60,000
<i>Trypanosoma cruzi</i>	16-18	~50,000
<i>Entamoeba histolytica</i>	500-400	11,000 - 14,000
<i>Enterobius vermicularis</i>	209	Desconocida
<i>Giardia intestinalis</i>	200	Desconocida, pocos
<i>Trichuris trichiura</i>	500	~65,000

^aEstimaciones realizadas por la OMS. ^bCifras en millones.

En México, las parasitosis tienen alta prevalencia (**Gráfico 1**), la cual prácticamente no ha variado en los últimos años, a pesar de los diversos programas y campañas de salud implementados.⁸

Actualmente, este grupo de enfermedades está considerado dentro de los veinte principales padecimientos en el ámbito nacional, y afecta también a la población infantil, principalmente. De acuerdo con el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud, durante el 2003 se reportaron 1,963,376 casos nuevos de parasitosis, de los cuales, más del 50 % fueron niños entre 1-9 años.^{8,9}

Entre las principales parasitosis reportadas en nuestro país se encuentran: la amebiosis intestinal, la ascariosis, la cisticercosis, la giardiosis y la teniosis.^{8,9}



Gráfica 1. Prevalencia de las parasitosis en México, 2001-2003.

1.2. Tratamiento de las enfermedades parasitarias

Estudios relacionados con el control de las enfermedades parasitarias predicen que el desarrollo de vacunas y la implementación de estrategias de educación para la salud serán los recursos factibles a largo plazo para el control de las parasitosis.¹⁰ Sin embargo, a corto y mediano plazo, la alternativa para el control de estas enfermedades es el tratamiento quimioterapéutico.¹⁰

La quimioterapia juega un papel importante, no solamente en el tratamiento de pacientes infectados sino también en la reducción de infecciones parasitarias.

Actualmente, el tratamiento de las enfermedades parasitarias causadas por helmintos y protozoarios radica básicamente en dos grupos de fármacos: los nitroheterociclos y los bencimidazoles.

1.3. Nitroheterociclos como agentes antiparasitarios

Existen numerosos heterociclos nitrados (nitrofuranos, nitroimidazoles, nitrotiazoles) con valor terapéutico que se utilizan como agentes antibacterianos, antiparasitarios o antitumorales.¹¹

La nitrofurazona es un derivado nitrofurano, fue el primer compuesto nitroheterocíclico utilizado en medicina humana por su actividad antibacterial. Durante la segunda guerra mundial se empleaba como tratamiento de aplicación tópica para quemaduras y heridas. La actividad mostrada por este compuesto despertó el interés en los compuestos nitroheterocíclicos como agentes quimioterapéuticos.¹²

El primer fármaco nitroimidazólico sintetizado fue la azomicina (2-nitro-1*H*-imidazol) la cual presenta actividad antibacterial. En 1957 se sintetizó una serie de nitroimidazoles con actividad tricomonocida, entre estos compuestos estaba el metronidazol, el cual, inicialmente se utilizó en el tratamiento de infecciones con *T. vaginalis* (**Figura 1**).^{12,13}

La década de los 70's fue un período en el que la síntesis de derivados nitroheterocíclicos tuvo un gran auge en la investigación químico-farmacéutica, dando como resultado la obtención de otros nitroderivados con actividad biológica, entre los cuales destacan: benznidazol, furazolidona, niridazol, nifurtimox, ornidazol, secnidazol, tinidazol. (**Figura 1**).¹²

Actualmente, los fármacos utilizados para el tratamiento de las protozoosis son nitroderivados, como el metronidazol y la nitazoxanida.¹³

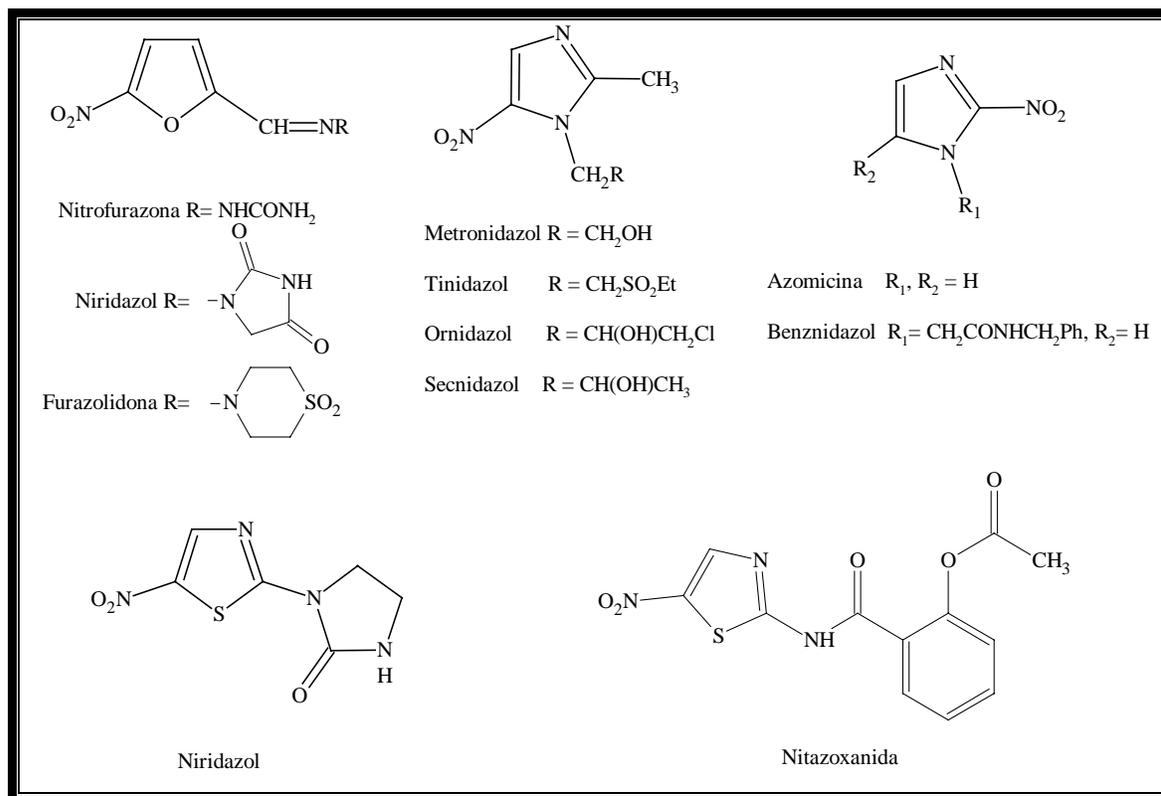


Figura 1. Derivados nitroheterocíclicos.

El metronidazol, incluido en el cuadro básico de medicamentos de la SSA, es el medicamento de elección en el tratamiento de amebiasis, giardiasis y tricomoniasis, así como de algunas infecciones bacterianas. Se absorbe rápidamente y se distribuye en todos los tejidos por difusión simple, se une en un 95% a las proteínas plasmáticas.^{13,14}

La nitazoxanida es un agente de amplio espectro que se utiliza en la amebiasis intestinal aguda o disentería amebiana, también está indicado en el tratamiento de giardiasis y tricomoniasis sintomática. Su principal metabolito es el derivado desacetilado: tizoxanida, el cual presenta actividad biológica, por lo cual, se ha considerado a la nitazoxanida como una especie de profármaco. No se han reportado efectos mutagénicos o teratógenos.¹⁴⁻¹⁶

1.4. Mecanismo de acción de los nitroheterocíclicos

La actividad biológica de los derivados nitroheterocíclicos es atribuida, generalmente, a la reducción del grupo nitro. Los derivados nitrofuranos requieren de la actividad enzimática de una nitroreductasa, mientras que los derivados nitroimidazoles y nitrotiazoles dependen de la reducción por flavoproteínas o ferredoxinas.¹⁷⁻¹⁹

El mecanismo de acción consiste en la aceptación de electrones de proteínas transportadoras con potenciales redox negativos suficientemente pequeños, como las flavoproteínas en células de mamíferos, y las ferredoxinas o su equivalente en protozoos y bacterias.^{18, 20, 21}

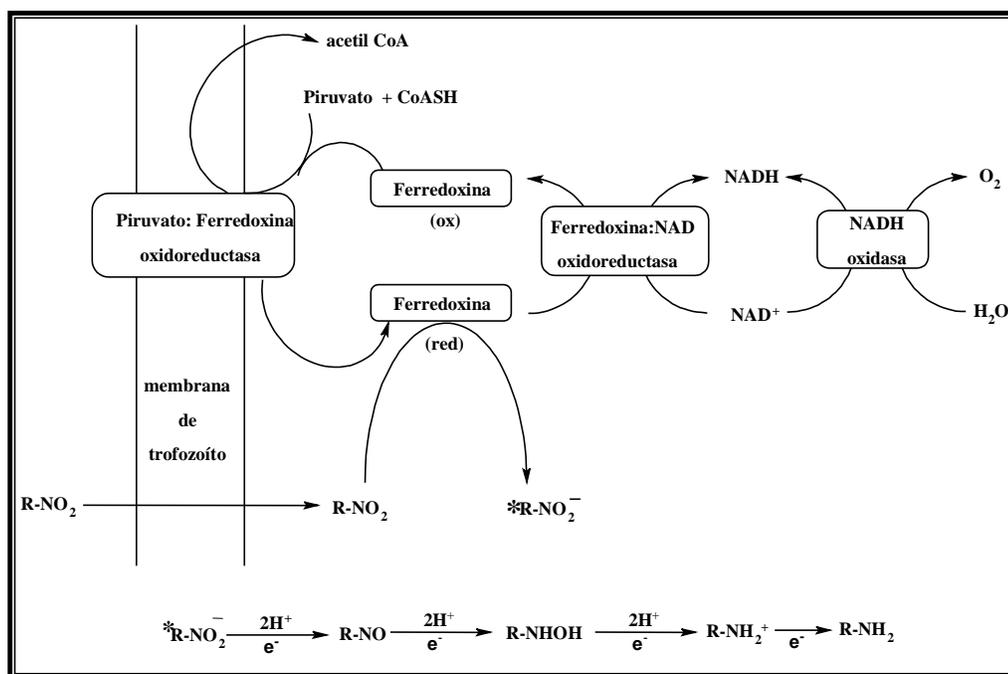


Figura 2. Mecanismo de acción de derivados nitroheterocíclicos.

El mecanismo de acción sugerido tiene como blanco de acción a la enzima transportadora de electrones: Piruvato Ferredoxina Oxidoreductasa (PFOR). Los electrones para la reducción quizá provengan de diversas sustancias reducidas endógenas como el NADH. **(Figura 2)** La actividad biológica de estos derivados se debe a la formación de intermediarios lábiles y químicamente reactivos, formados durante la reducción del grupo nitro hasta la formación de la hidroxilamina correspondiente, los cuales provocan alteraciones al DNA del parásito,

inhibición de ácidos nucleicos, pérdida de la estructura helicoidal y degradación del DNA, destruyendo así al parásito.^{18,20}

1.5. Bencimidazoles como agentes antiparasitarios

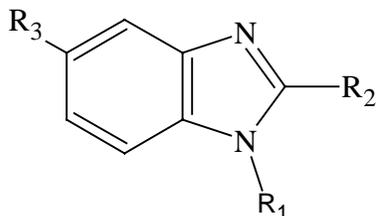
La búsqueda de principios activos para el desarrollo de nuevos y mejores antiparasitarios ha culminado en el descubrimiento de varias clases de moléculas orgánicas, de las cuales, el núcleo de bencimidazol ha sido el más estudiado en la quimioterapia de las parasitosis.

En la actualidad, el anillo de bencimidazol es reconocido como un heterociclo versátil en la investigación medicinal debido a su amplio espectro de actividad biológica: antimicrobiana, antifúngica, antiviral y sobre todo antiparasitaria.

El descubrimiento del tiabendazol en 1961 estableció la pauta para el desarrollo de una amplia variedad de bencimidazoles como antihelmínticos de amplio espectro, contra parásitos de importancia en la medicina veterinaria y clínica.²² Aunque el tiabendazol mostró un amplio espectro de actividad, éste se metaboliza rápidamente por hidroxilación aromática generando el 5-hidroxtiabendazol, el cual es inactivo, de tal forma que se limita la efectividad del fármaco.^{23,24} Por lo anterior, se desarrollaron nuevos derivados bencimidazólicos con diferentes sustituyentes en las posiciones 2 y 5, o en ambas, del anillo de bencimidazol. Surgiendo así una nueva generación de bencimidazoles 2-carbamato de metilo, entre los cuales, el mebendazol, flubendazol y albendazol han sido utilizados ampliamente como antihelmínticos.^{24,25} En 1978, se descubrió el triclabendazol, un derivado bencimidazólico no-carbamato que mostró actividad fasciolicida (**Tabla 2**).^{23,25}

El mebendazol fue introducido para el tratamiento de las infecciones gastrointestinales originadas por nematodos. Al igual que el tiabendazol se absorbe poco, se une en un 95% a las proteínas plasmáticas, se metaboliza e inactiva rápidamente. Su uso ha disminuido debido a su poca biodisponibilidad sistémica.^{27,28}

Tabla 2. Algunos bencimidazoles de interés terapéutico



<i>Nombre Genérico</i>	<i>R₁</i>	<i>R₂</i>	<i>R₃</i>
Tiabendazol	H	4-Tiazolilo	H
Cambendazol	H	4-Tiazolilo	NHCOO- <i>i</i> Pr
Carbendazim	H	NHCOOCH ₃	H
Parbendazol	H	NHCOOCH ₃	<i>n</i> -Bu
Mebendazol	H	NHCOOCH ₃	COPh
Flubendazol	H	NHCOOCH ₃	COC ₆ H ₄ -4-F
Albendazol	H	NHCOOCH ₃	S- <i>n</i> -Pr
Ricobendazol	H	NHCOOCH ₃	SO- <i>n</i> -Pr
Triclabendazol	H	SCH ₃	OC ₆ H ₃ -2,4-Cl ₂

El albendazol, fármaco incluido en el cuadro básico de medicamentos de la SSA, actualmente se utiliza como el antihelmíntico de excelencia, su espectro de acción incluye la mayor parte de las infecciones por helmintos intestinales, además, se ha convertido en el medicamento de elección para el tratamiento de la neurocisticercosis. Tiene una absorción variable e irregular después de ser ingerido, aunque ésta puede mejorar si se consume con alimentos grasos. Después de ingerido se metaboliza rápidamente a la forma de sulfóxido de albendazol, el cual, como tal, posee una potente actividad antihelmíntica y se une en un 70% a las proteínas plasmáticas.^{27,28}

El triclabendazol, a diferencia de los bencimidazoles anteriores, se encuentra sustituido en la posición 2 con un grupo metililo en lugar de un carbamato de metilo; en la posición 5 con un grupo diclorofenoxi y en la posición 6 con un cloro. Este patrón de sustitución le proporciona una disminución en su polaridad y un aumento en su biodisponibilidad. Presenta una excelente actividad fasciolicida. En un principio se utilizó exclusivamente en el área veterinaria, pero en la actualidad, también se emplea en humanos.^{27,28}

1.6. Mecanismos de acción de los bencimidazoles

1.6.1. Inhibición del metabolismo de glucosa

La enzima fumarato reductasa, unida a la membrana mitocondrial y responsable de convertir el fumarato a succinato, juega un papel importante en el metabolismo anaerobio de la glucosa de varios helmintos. La inhibición de esta enzima ha sido considerada como un obstáculo para el suministro de energía del helminto, lo que desencadena la parálisis del mismo. Además, esta enzima se encuentra únicamente en el parásito, y por lo tanto, proporciona un excelente blanco de ataque en quimioterapia.²⁵

1.6.2. Inhibición de la incorporación de glucosa

El mebendazol bloquea directa e irreversiblemente la captura de glucosa por los 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, produciéndoles inmovilización y muerte.²⁵

1.6.3. Inhibición de la polimerización de tubulina

El albendazol y otros bencimidazol 2-carbamatos actúan inhibiendo la polimerización de la tubulina para formar los microtúbulos, pero no la despolimerización, esto lleva a la desaparición selectiva de los microtúbulos citoplasmáticos de células tegumentarias e intestinales de los helmintos, y alteran la secreción de acetilcolinesterasa, el consumo de glucosa y agota el glucagón, produciendo primero la inmovilización del parásito, y posteriormente, la muerte. Se ha encontrado que para que los bencimidazol 2- carbamatos

ejerzan su efecto sobre la tubulina, éstos deben poseer un hidrógeno en la posición 1 del heterociclo (**Figura 3**).^{25,29}

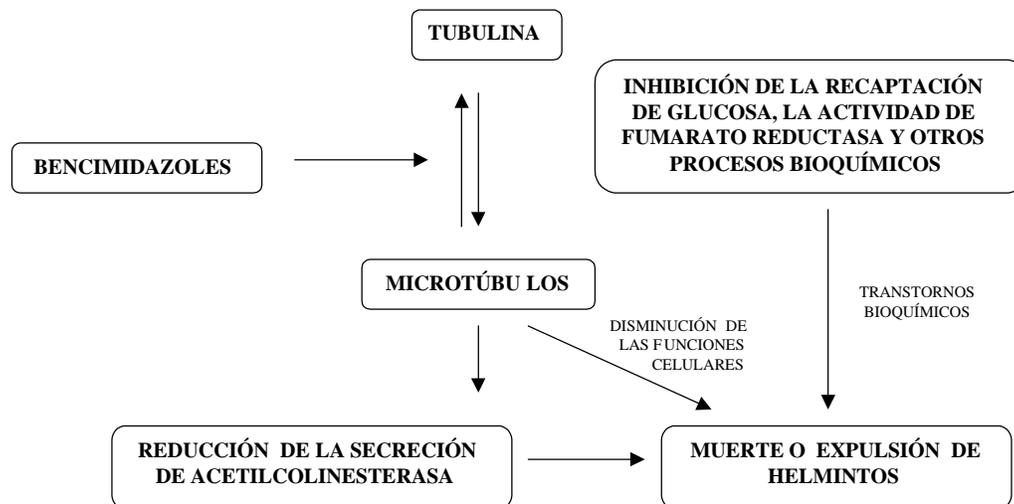


Figura 3. Mecanismo de acción de los bencimidazoles antihelmínticos.

1.7. Modificaciones moleculares en los bencimidazoles

Las modificaciones moleculares que se han hecho al anillo de bencimidazol a fin de establecer las relaciones estructura-actividad óptimas, básicamente radican en cuatro sitios, los cuales se observan en la **Figura 4**.

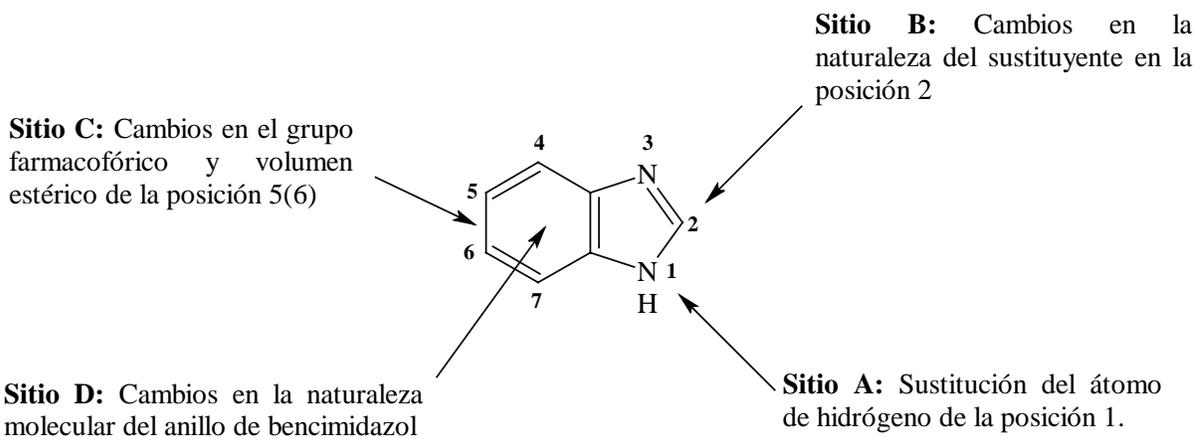


Figura 4. Sitios donde se han llevado a cabo modificaciones moleculares en el anillo de bencimidazol.

Modificaciones en el sitio A

Para comprender la importancia en la actividad biológica del átomo de hidrógeno en la posición 1 del núcleo bencimidazólico se han sintetizado un gran número de 1-alkil, 1-aril, 1-arilalkil y 1-acilbencimidazoles. Se ha determinado que la presencia del átomo de hidrógeno en la posición 1 es esencial para la actividad antihelmíntica.²⁵

Modificaciones en el sitio B

La naturaleza del sustituyente en la posición 2 del anillo de bencimidazol juega un papel importante en la actividad biológica, se han realizado una gran variedad de modificaciones estructurales en esta posición. Se ha determinado que los bencimidazoles 2-carbamato de metilo (2-NHCO₂CH₃) tienen como mecanismo de acción la unión a tubulina e inhibición de su polimerización.²⁵

Modificaciones en el sitio C

La presencia de un grupo farmacofórico en las posiciones 5(6) de los bencimidazoles 2-sustituidos es un factor importante para la determinación del perfil biológico de esta clase de compuestos. Los sustituyentes en esta posición no solamente evitan la hidroxilación metabólica de la molécula, sino también contribuyen en la actividad terapéutica contra

helmintos. Se ha encontrado que sustituyentes de tipo aminocarbonilo en esta posición presentan buena actividad antiprotozoaria.^{25,30}

Modificaciones en el sitio D

El reemplazo de uno de los átomos de nitrógeno del núcleo bencimidazólico por un átomo de oxígeno (benzoxazoles) o azufre (benzotiazoles) no han mostrado mejor actividad antihelmíntica que sus análogos bencimidazólicos.^{25,31}

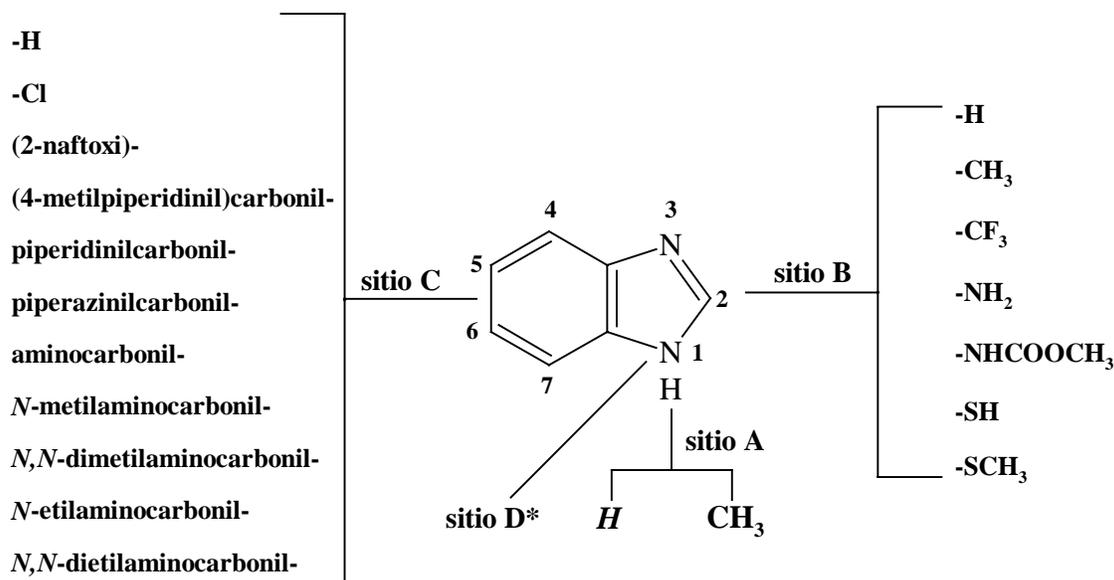
1.8. Actividad antiparasitaria de bencimidazoles novedosos

Investigaciones realizadas en el departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM en colaboración con la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Centro Médico Siglo XXI del IMSS, han aportado datos relevantes de actividad parasitaria de nuevos derivados bencimidazólicos. Los resultados obtenidos han contribuido a enriquecer la base de datos existente acerca de las relaciones estructura-actividad necesarias para el diseño de compuestos con actividad antiparasitaria (**Figura 5**).

Los derivados bencimidazólicos sintetizados por este grupo de investigación poseen diferentes sustituyentes en las posiciones 1,2,5 y 6. En general, han resultado activos contra diferentes parásitos protozoarios como *G. intestinalis*, *E. histolytica*, *T. vaginalis* y *T. spiralis*, como modelo de helminto.

Entre los resultados obtenidos se ha determinado:

Los derivados 1*H*-bencimidazólicos con diferentes sustituyentes isostéricos en posición 2, evaluados contra *G. intestinalis* y *E. histolytica*, fueron más activos que el metronidazol. Con respecto a su actividad antihelmíntica, solo algunos de ellos mostraron una actividad moderada. Destacando de este grupo aquellos derivados que en posición 2 tienen SCH₃ o CF₃ y en posición 5(6) tienen H, Cl, o algún sustituyente tipo aminocarbonilo.^{30,32,33}



* Recientemente se han evaluado algunos benzoxazoles

Figura 5. Derivados bencimidazólicos novedosos.

Los derivados 1-metilbencimidazólicos probados han mostrado una buena actividad antiprotozoaria; en cuanto a su actividad antihelmíntica, ésta fue moderada. Destacando los compuestos 5,6 diclorados que presentaron buena actividad antihelmíntica.

Además, se ha determinado que sustituyentes carboxamido voluminosos en las posiciones 5(6) favorecen la actividad antihelmíntica.³⁴

Adicionalmente, se han evaluado diferentes benzoxazoles, pero ninguno ha mostrado actividad biológica equiparable a sus análogos bencimidazólicos.^{31,35}

Se ha confirmado que es necesario el hidrógeno en posición 1 y el grupo metoxycarbonilamino en la posición 2 para que estos compuestos tengan afinidad a la tubulina del parásito. Los resultados obtenidos, sugieren que el mecanismo de acción de aquellos derivados bencimidazólicos con otros sustituyentes es diferente al tradicionalmente reportado para los bencimidazoles de tipo carbamato.^{25,36}

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones parasitarias son un gran problema de salud pública y veterinaria a nivel mundial, que afectan principalmente a la población infantil y originan cuantiosas pérdidas en el área veterinaria.²²

Los fármacos antiparasitarios, derivados nitroimidazoles y bencimidazólicos existentes en el mercado, presentan severos efectos secundarios, aunado a esto, en los últimos años se ha encontrado que en algunos casos los parásitos han desarrollado resistencia a estos antiparasitarios.³⁷

Por lo anterior, es necesario el desarrollo de nuevas moléculas que aporten información sobre los requerimientos estructurales necesarios para que un compuesto presente actividad antiparasitaria y conjuntamente ayuden a conocer mejor el mecanismo de acción por el cual ejercen su efecto. Conociendo a fondo esta información se podrá estar en mejor posición para desarrollar fármacos más específicos, eficientes, seguros y de bajo costo, para uso terapéutico humano y veterinario.

A fin de contribuir al desarrollo de nuevos principios activos, el presente trabajo aporta una serie de compuestos diseñados basándose en la unión de dos grupos farmacofóricos, el anillo de bencimidazol con el 2-amino-5-nitrotiazol, o bien con el 2-aminotiazol. Dadas sus características estructurales será interesante e importante establecer si los nuevos compuestos: ¿Presentarán una actividad antiparasitaria? En caso de ser así, ¿Su actividad será equiparable o mayor a la de los fármacos existentes en el mercado? y ¿Se potenciará la actividad antiparasitaria debido a la unión de los grupos farmacofóricos?

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La unión de dos grupos farmacofóricos como el bencimidazol y el 2-aminotiazol (o 2-amino-5-nitrotiazol) proporcionará compuestos que debido a sus características estructurales tendrán actividad antiparasitaria, equiparable o mayor a la de los fármacos que existen actualmente en el mercado (albendazol, metronidazol y nitazoxanida).

3.2. OBJETIVO GENERAL

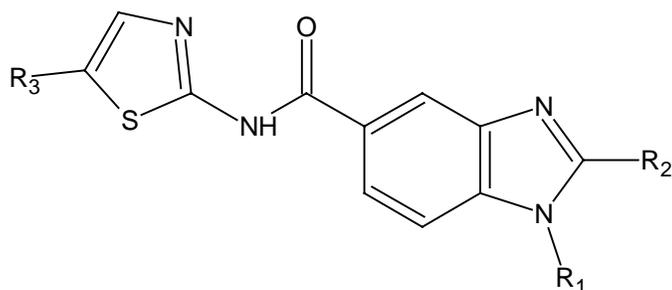
El objetivo principal de esta tesis fue diseñar, sintetizar y evaluar el potencial antiparasitario de una serie de derivados de la *N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida 2-sustituída, generados por unión de los núcleos de bencimidazol y 2-aminotiazol (o 2-amino-5-nitrotiazol).

3.3. OBJETIVOS PARTICULARES

Para lograr el objetivo anterior se planteó realizar las siguientes actividades:

- ❖ Sintetizar las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (**16, 18, 59, 71**), y, de ser posible, por la disponibilidad de tiempo, las carboxamidas 2-carbamatobencimidazólicas (**31, 36, 63, 75**) que se muestran en la **Tabla 3**.
Estas carboxamidas forman parte de un proyecto amplio de investigación y los números dados son los que les corresponden en dicho proyecto.
- ❖ Aislar, purificar y determinar las propiedades físicas como puntos de fusión y R_f de las carboxamidas sintetizadas, así como de sus materias primas e intermediarios.
- ❖ Identificar y caracterizar las carboxamidas sintetizadas, así como sus materias primas e intermediarios, empleando técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- ❖ Determinar el potencial antiprotozoario de las carboxamidas bencimidazólicas sintetizadas a través de la evaluación biológica *in vitro* frente a *Giardia intestinalis*.

Tabla 3. Carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (**16**, **18**, **59**, **71**) y Carboxamidas 2-carbamato-bencimidazólicas (**31**, **36**, **63**, **75**) diseñadas en el presente trabajo de tesis.



COMPUESTO	R ₁	R ₂	R ₃
16	H	CH ₃	H
18	CH ₃	CH ₃	H
59	H	CH ₃	NO ₂
71	CH ₃	CH ₃	NO ₂
31	H	NHCOOCH ₃	H
36	CH ₃	NHCOOCH ₃	H
63	H	NHCOOCH ₃	NO ₂
75	CH ₃	NHCOOCH ₃	NO ₂

4. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO

Para el diseño de las carboxamidas del presente proyecto (**Tabla 3**) se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

4.1. Fármacos “híbridos” (*Non identical Twin Drugs*), una estrategia en el diseño de fármacos

En el diseño y desarrollo de nuevos fármacos se han utilizado diferentes métodos, entre los cuales se encuentra la variación molecular. Este método se basa en la probabilidad de que una molécula obtenida por modificación de otra con actividad conocida presente propiedades farmacológicas.^{11,38}

Una de las estrategias del método anterior es la combinación covalente de dos grupos farmacofóricos en una sola molécula, fármacos “gemelos”. Éstos fármacos resultan de la combinación de dos grupos farmacofóricos idénticos (fármacos gemelos idénticos), o bien, de la combinación de dos grupos farmacofóricos diferentes (fármacos gemelos no idénticos o “híbridos”).³⁸

En los fármacos “híbridos”, los dos grupos farmacofóricos se unen a blancos biológicos diferentes y de esta manera se obtienen respuestas farmacológicas diferentes. Por lo anterior, estos fármacos también son denominados fármacos de acción dual.³⁸

Los compuestos sintetizados en el presente proyecto se diseñaron tomando en cuenta la estructura del anillo de bencimidazol, núcleo base en algunos fármacos antiparasitarios (mebendazol, albendazol y triclabendazol), así como el anillo de 2-amino-5-nitrotiazol, núcleo que forma parte de la molécula de la nitazoxanida, lo que llevó a una serie de carboxamidas híbridas con potencial antiparasitario del tipo “gemelos no idénticos” (**Figura 6**).

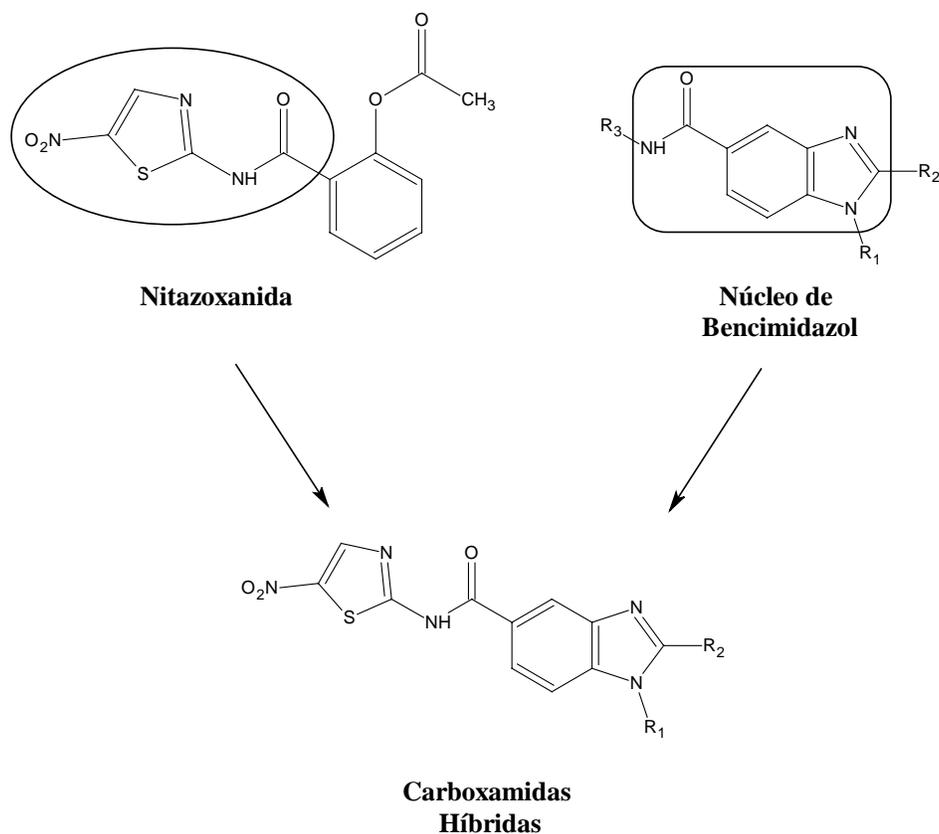


Figura 6. Diseño de las carboxamidas híbridas

La serie de carboxamidas híbridas diseñadas ofrece una expectativa interesante debido a la particular unión de dos grupos farmacofóricos (del bencimidazol y del 2-nitrotiazol) con actividad biológica *per se* y mecanismos de acción biológica diferentes.

Específicamente, en este proyecto se plantean aquellas carboxamidas híbridas con sustituyentes de diferente naturaleza polar para la posición 2 $-CH_3$ y $-NHCOOCH_3$. El sustituyente metilo le confiere a la carboxamida naturaleza poco polar y mayor liposolubilidad. El sustituyente carbamato de metilo es de sumo interés debido que proporciona a las carboxamidas híbridas cierta analogía con respecto al albendazol y contrario al sustituyente metilo, le confiere a la carboxamida naturaleza polar. Además, en la literatura existen reportes acerca de la unión a tubulina como mecanismo de acción de los 1*H*-bencimidazoles-2-carbamato de metilo.

Por lo anterior, será de sumo interés conocer cómo la diferente naturaleza, polar o no polar, del sustituyente en posición 2 afecta la biodisponibilidad del fármaco y su efecto frente al parásito.

4.2. Introducción del grupo metilo en posición 1

La introducción del grupo metilo en posición 1 de las carboxamidas híbridas (**Tabla 3**) fue considerada con la intención de disminuir su polaridad e incrementar su liposolubilidad y por tanto, su absorción a través de las membranas biológicas.

Otra finalidad fue evitar el efecto tautómero que sufren los *1H*-bencimidazoles por migración del hidrógeno de la posición 1 a la posición 3. Obteniendo, de esta forma, carboxamidas 1-metiladas con una relación de sustitución 1,5, que contribuyan con información específica acerca de los requerimientos estructurales necesarios para la actividad biológica.

4.3. La regla de Lipinski en el diseño de fármacos

Para que una molécula tenga buena biodisponibilidad, ésta debe de ser transportada a través de las membranas biológicas. Es reconocido que dentro de los factores que influyen en el comportamiento biológico de un compuesto, sus propiedades fisicoquímicas ocupan un factor preponderante. Debido a esto, las sustancias capaces de transportarse a través de membranas deben de cumplir con requerimientos de liposolubilidad, polaridad, carga eléctrica, solubilidad acuosa, tamaño molecular o similitud con sustancias endógenas.³⁹

Por lo tanto, las propiedades moleculares que correlacionen con una pobre permeabilidad membranal pueden ser usadas como filtro para detectar moléculas con características farmacocinéticas indeseables. La regla de Lipinski, también llamada regla del 5 (Rule of five), es uno de los filtros mejor conocidos y ampliamente aceptados para detectar y predecir el comportamiento de sustancias con problemas de permeabilidad. Esta regla se derivó de un análisis de 2245 sustancias candidatas a ser fármacos y que se encontraban en pruebas de fase II. Los postulados de esta regla predicen que sí un compuesto viola 2 o más de las siguientes reglas, tendrá una pobre absorción:^{40, 41}

1. El peso molecular debe ser menor de 500
2. El número de donadores de enlace (puente) de hidrógeno debe ser igual o menor a 5 (suma de grupos OH y NH en la molécula)

3. El número de aceptores de enlace (puente) de hidrógeno debe ser igual o menor a 10 (suma de grupos O y N en la molécula)
4. El Log P calculado (C log P) debe ser menor a 5

Estas consideraciones fueron tomadas en cuenta para el diseño de las carboxamidas híbridas. A continuación se presenta en la **Tabla 4** la aplicación de la regla de Lipinski a las carboxamidas diseñadas.

Tabla 4. Aplicación de la Regla de Lipinski para las carboxamidas híbridas diseñadas

<i>Compuesto</i>	<i>P A R Á M E T R O S</i>				
	<i>C Log P^a</i> (<i><5</i>)	<i>Peso Molecular</i> (<i><500</i>)	<i>No. de donadores de enlace de H</i> (<i><5</i>)	<i>No. de aceptores de enlace de H</i> (<i><10</i>)	<i>No. de Alertas (violaciones)</i>
16	1.30 ± 0.84	258.300	2	5	0
18	1.42 ± 0.92	272.270	1	5	0
31	1.19 ± 0.96	317.329	3	8	0
36	1.31 ± 0.97	331.349	2	8	0
59	1.03 ± 1.10	303.248	2	8	0
71	1.15 ± 1.16	317.323	1	8	0
63	0.92 ± 1.19	350.264	3	11	1
75	1.04 ± 1.20	376.349	2	11	1

Log P calculado con el programa ACDLabs, versión 4.5

Observando que todas las carboxamidas cumplen con la regla de Lipinski (no violan más de 2 reglas)

5. METODOLOGÍA

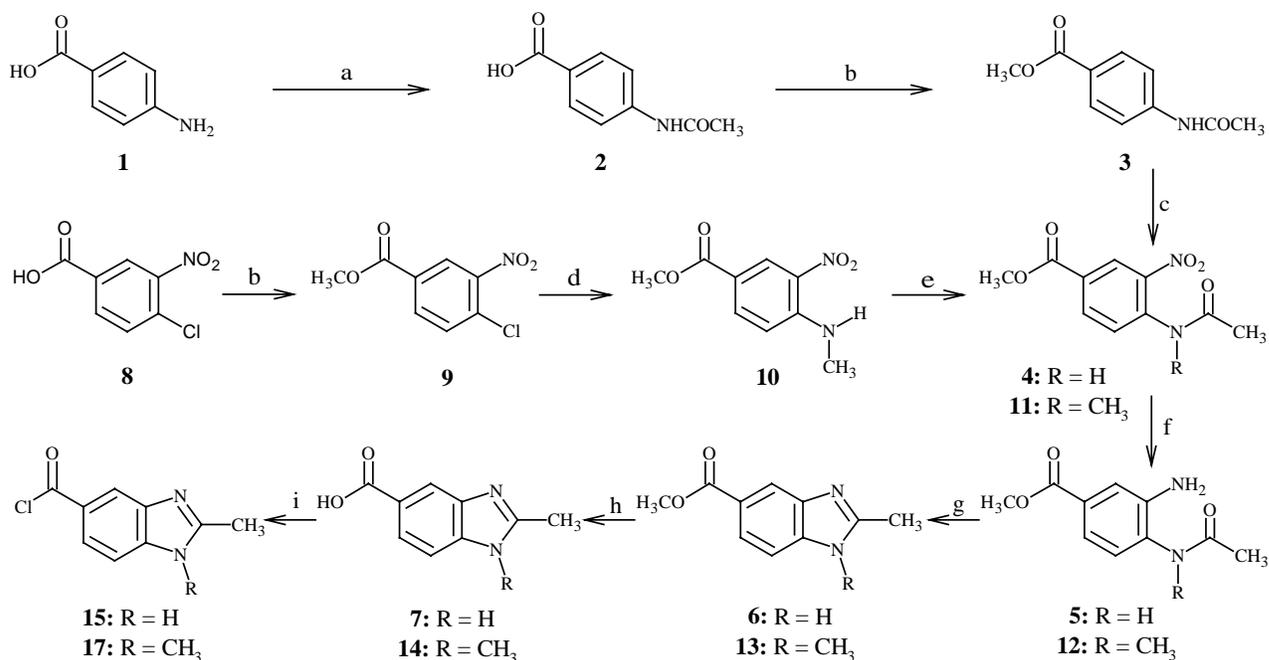
El desarrollo experimental de esta tesis comprende dos partes: la química, que describe la metodología empleada para sintetizar los compuestos diseñados; y la biológica, que describe la metodología empleada para la evaluación del efecto antiparasitario de los compuestos sintetizados frente al protozooario *G. intestinalis*.

5.1. Parte química

5.1.1. Síntesis de las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (16, 18, 59, 71)

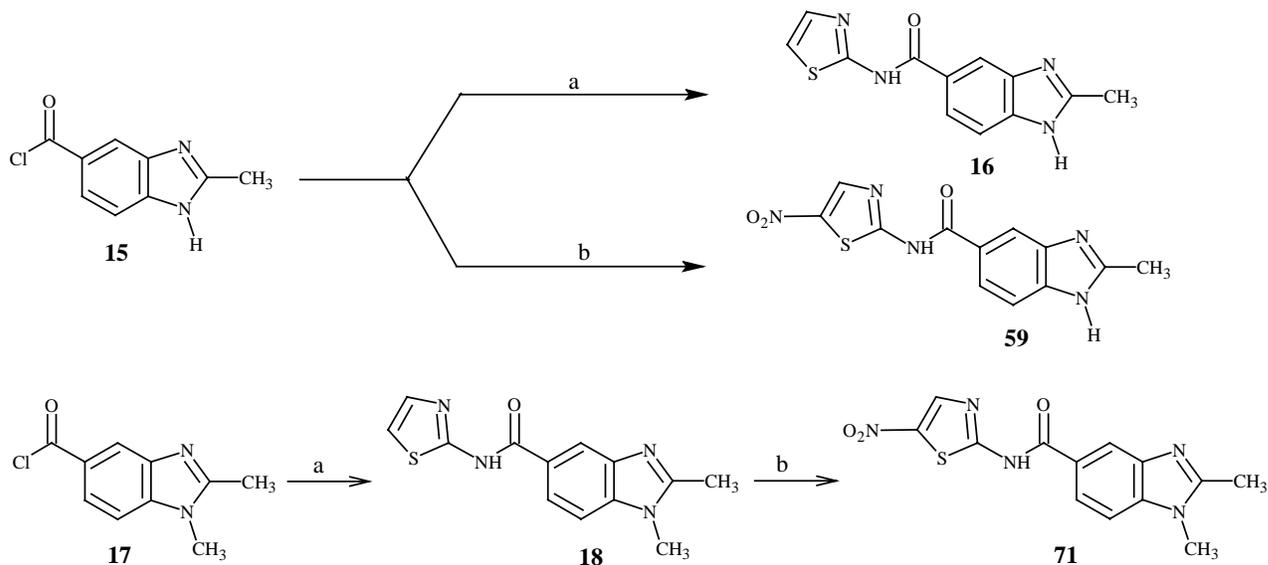
Para la síntesis de estas carboxamidas, primeramente se prepararon los cloruros de ácido precursores **15** y **17**; para ello, se siguió la secuencia sintética que se muestra en el Esquema 1. Una vez obtenidos los precursores anteriores se procedió a la preparación de las carboxamidas según la secuencia sintética del Esquema 1.

Esquema 1. Secuencia sintética para preparar los precursores: Cloruro de 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carbonilo (**15**) y Cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo (**17**)



(a) (CH₃CO)₂O; (b) (CH₃)₂SO₄, NaHCO₃, DMF; (c) HNO₃, H₂SO₄; (d) CH₃NH₂ HCl, K₂CO₃, monoglisma, presión; (e) (CH₃CO)₂O, H⁺; (f) H₂, Pd/C 5%; (g) PPA, tolueno, calor; (h) KOH, CH₃OH, H₂O; (i) SOCl₂, tolueno.

Esquema 2. Secuencia sintética seguida para preparar las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (**16**, **18**, **59**, **71**)



(a) 2-amiotiazol, Et₃N, acetona; (b) 2-amino-5-nitrotiazol, Et₃N, acetona

Se partió del ácido 4-aminobenzoico (**1**), el cual se hizo reaccionar con anhídrido acético y se obtuvo el ácido 4-acetamidobenzoico (**2**).^{31,42} Luego, **2** se esterificó con sulfato de dimetilo y bicarbonato de sodio en dimetilformamida.⁴³ El 4-acetamidobenzoato de metilo obtenido (**3**) se sometió a una reacción de nitración con mezcla sulfonítrica para dar el 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo, intermediario (**4**).^{43,44}

Por otro lado, el ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (**8**) comercial se esterificó con sulfato de dimetilo, de igual forma que **2**, lo que llevó al 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (**9**). Posteriormente, **9** se sometió a una reacción de sustitución nucleofílica aromática con clorhidrato de metilamina y carbonato de potasio a 130 °C y presión, para dar el 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**10**), el cual se acetiló con anhídrido acético y H₂SO₄, como catalizador, y se obtuvo el otro intermediario, el 4-[acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (**11**).

Seguidamente, se procedió a la reducción catalítica, con H₂ y Pd/C como catalizador,⁴⁵ del grupo nitro de los intermediarios **4** y **11** por separado. Los correspondientes ésteres obtenidos, 4-acetamido-3-aminobenzoato de metilo (**5**) y [4-acetil(metil)amino]-3-aminobenzoato de metilo (**12**) se sometieron a una reacción de ciclación catalizada por el ácido polifosfórico (PPA), lo que llevó a los derivados 2-metilbencimidazólicos: 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-

carboxilato de metilo (**6**) y 1,2-dimetil-1*H* bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**13**), respectivamente.⁴⁶ Éstos se hidrolizaron en medio básico y dieron el ácido 1*H*-2-metilbencimidazol-5(6)-carboxílico (**7**) y el ácido 1,2-dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**14**) respectivamente.⁴⁷ La última parte de esta secuencia fue la obtención de los cloruros de ácido **15** y **17**. Para ello, los ácidos precursores **7** y **14** se calentaron a reflujo con SOCl₂ en tolueno;^{48,49} los correspondientes cloruros de ácido formados se utilizaron inmediatamente en la secuencia de reacciones del Esquema 2.

A cada mezcla de reacción anterior, libre de tolueno y exceso de SOCl₂, se le adicionó 2-aminotiazol, trietilamina y acetona, lo que llevó a las carboxamidas buscadas 2-metil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**16**) y 1,2-dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**18**).

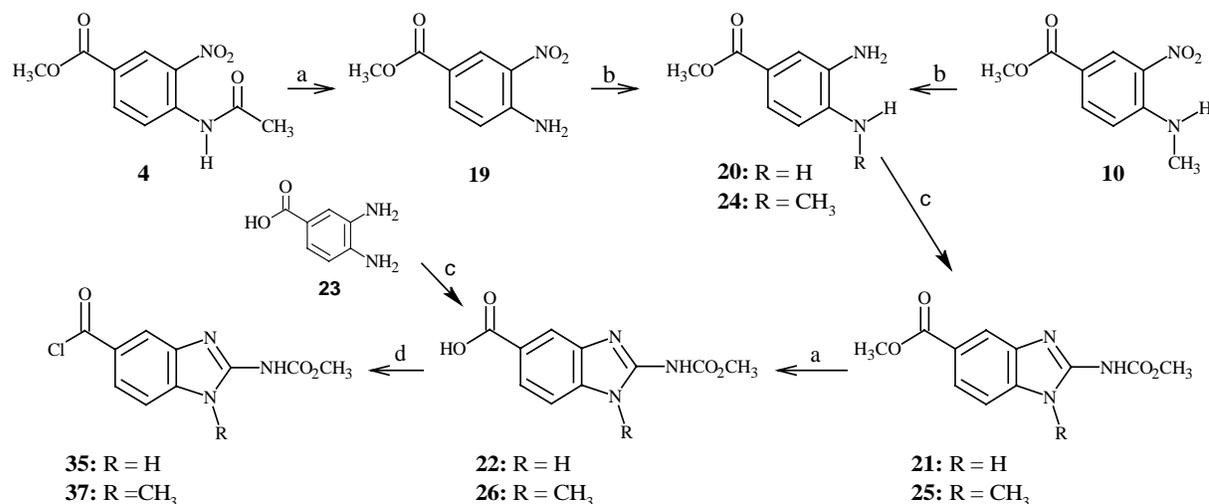
Por otro lado, cuando se trató la mezcla de reacción de formación del cloruro de ácido **15** con 2-amino-5-nitrotiazol se obtuvo otra de las carboxamidas buscadas, la 2-metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**59**).⁵⁰ La última carboxamida 2-metilbencimidazólica buscada se preparó por tratamiento de una mezcla de reacción de formación del cloruro de ácido **17**, con 2-aminotiazol y la carboxamida intermedia, 1,2-dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**18**), se sometió a una reacción de nitración con mezcla sulfonítrica para dar la 1,2-dimetil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**71**).

5.1.2. Síntesis de las carboxamidas 2-carbamato-bencimidazólicas (**31**, **36**, **63**, **75**)

Para la síntesis de estas carboxamidas, primero se propuso la ruta sintética del Esquema 3 para preparar los cloruros de ácido precursores **35** y **37**. Una vez obtenidos los precursores anteriores se procedería, posteriormente, a la preparación de las carboxamidas **31**, **36**, **63** y **75**, de manera similar a como se prepararon las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas, según la secuencia sintética del Esquema 2.

Se partió del 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (**4**), el cual se hidrolizó con potasa metanólica acuosa y se obtuvo el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**19**). Éste o el 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**10**), previamente sintetizado, se sometió a una reducción catalítica con H₂ y Pd/C como catalizador y se el obtuvo 3,4-diaminobenzoato de

Esquema 3. Secuencia sintética para preparar los precursores Cloruro de 2-(metoxicarbonilamino)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carbonilo (**35**) y Cloruro de 1-metil-2-(metoxicarbonilamino)-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo (**37**)

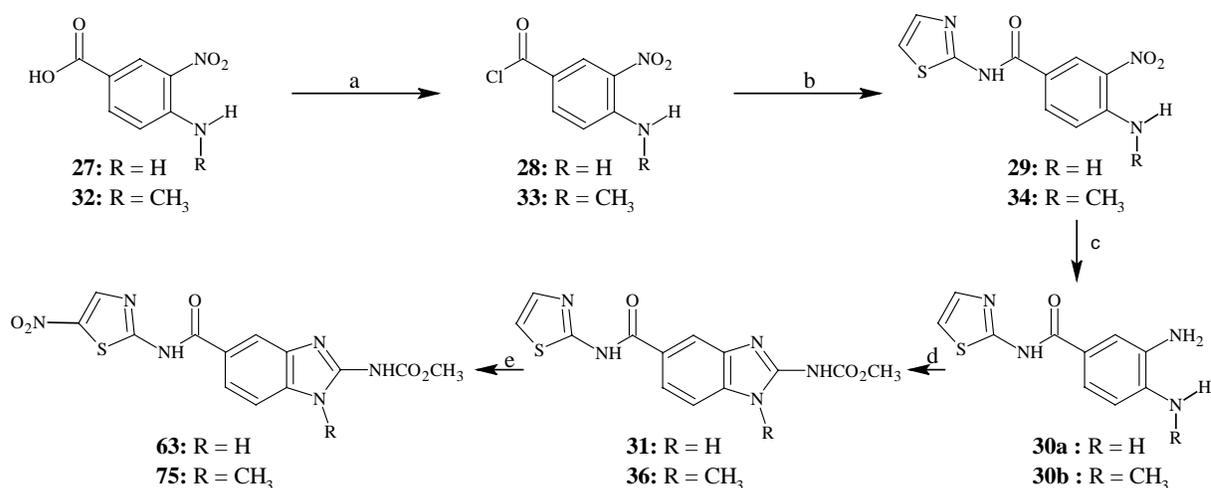


(a) KOH, MeOH, H₂O; (b) H₂, Pd/C 5%; (c) Sulfato de *S*-metilisotiurea, ClCOOCH₃; (d) SOCl₂, tolueno.

metilo (**20**) o el 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo (**24**). Estos ésteres se ciclocondensaron con sulfato de *S*-metilisotiurea y cloroformiato de metilo para obtener los correspondientes bencimidazoles: 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**21**) o 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**25**). La hidrólisis en medio básico llevó a la obtención del ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**22**) o del ácido 1-metil-2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**26**).

El ácido **22** también se sintetizó a partir del ácido 3,4-diaminobenzoico comercial (**23**) por tratamiento con sulfato de *S*-metilisotiurea y cloroformiato de metilo.

Posteriormente, los ácidos precursores **22** y **26** se calentaron a reflujo con SOCl₂ en tolueno, los correspondientes cloruros de ácido formados se utilizaron inmediatamente en pruebas de condensación con 2-aminotiazol o 2-amino-5-nitrotiazol para obtener las carboxamidas 2-carbamato de metilo **31**, **36**, **63** y **75** respectivamente. Sin embargo, debido a la insolubilidad de los cloruros **35** y **37**, las reacciones de formación de amidas no fueron posibles, en todos los casos no se obtuvo producto de reacción. Se planteó entonces una ruta alterna de síntesis para **31**, **36**, **63** y **75**, la cual se muestra en el **Esquema 4**.

Esquema 4. Ruta alterna de síntesis para las carboxamidas **31**, **36**, **63** y **75**

(a) SOCl₂, Benceno; (b) 2-Aminotiazol, Et₃N, Acetona; (c) H₂, Pd/C 5%; (d) Sulfato de *S*-metilisotiurea, ClCOOCH₃; (e) HNO₃, H₂SO₄ o Ac₂O

Esta nueva ruta partió de los ácidos 4-amino-3-nitrobenzoico (**27**) o el ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (**32**). El primero de éstos se obtuvo a partir de dos materias primas diferentes: el 4-(acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**4**) y el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**19**). Mientras que el ácido **32** se preparó por dos rutas alternativas, la primera, consistió en la hidrólisis básica del 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**10**), la segunda, fue la alquilación del 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (**4**), el cual se trató con sulfato de dimetilo en glima, como disolvente, seguido de la adición de hidróxido de sodio y posterior hidrólisis con KOH en CH₃OH.

Los ácidos **27** y **32** se calentaron a reflujo con SOCl₂ en tolueno y se obtuvieron los respectivos cloruros de ácido: cloruro de 4-amino-3-nitrobenzoilo (**28**) y cloruro de 4-metilamino-3-nitrobenzoilo (**33**). Estos cloruros se lograron aislar y purificar por recristalización; luego, se sometieron por separado a reacción con 2-aminotiazol, acetona y trietilamina, produciendo las amidas: 4-amino-3-nitro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**29**) y 4-metilamino-3-nitro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**34**).

La amida **29** se redujo con H₂ y Pd/C como catalizador y se obtuvo la 3,4-diamino-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**30a**); la cual se ciclocondensó con el sulfato de *S*-metilisotiurea y

cloroformiato de metilo, lo que llevó al {5-[(1,3-tiazol-2-ilamino)carbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il}carbamato de metilo, la carboxamida **31**. Los intentos de síntesis de las carboxamidas restantes **36**, **63** y **75** fueron infructuosos debido a la insolubilidad de las correspondientes materias primas **30b** y **31**.

5.2. PARTE BIOLÓGICA

Se empleo la cepa de *Giardia intestinalis* IMSS 0989, la cual se mantuvo en condiciones axénicas en medio TYI-S-33 modificado, suplementado con suero de ternera al 10%. Los parásitos se subcultivaron dos veces por semana.

Prueba de susceptibilidad *in vitro* para *G. intestinalis*

Se empleó el método de subcultivos previamente estandarizado. Se incubaron 4×10^6 trofozoítos de *G. intestinalis* por 48 h a 37 °C, en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes compuestos (0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 µg/mL), así como albendazol, metronidazol y nitazoxanida, como compuestos de referencia.

Como control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de fármacos. Después de la incubación se inocularon 50 µL 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 concentración inhibitoria 50 (CI₅₀), que correspondió a la concentración que inhibió al 50 % el crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se efectuaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.

6. Resultados y Discusión

Para mejor comprensión de los resultados obtenidos, este capítulo se divide en dos partes. Primeramente se abordará la parte química, donde se discutirá sobre los pormenores del trabajo sintético, los resultados obtenidos, así como las consideraciones más relevantes, derivadas del estudio detallado de la información proporcionada por los espectros de IR, RMN y EM, que permitieron la elucidación estructural de los compuestos finales e intermediarios sintetizados. Posteriormente, se abordará la parte biológica con los resultados obtenidos de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* contra *G. intestinalis*.

6.1. Parte Química

6.1.1. Constantes físicas

Las constantes físicas y los rendimientos obtenidos para las carboxamidas bencimidazólicas finales sintetizadas y sus ácidos carboxílicos precursores se muestran en la **Tablas 4 y 5**. Los resultados obtenidos para los intermediarios restantes se muestran en las **Tablas 12 y 13** del Apéndice

6.1.2. Síntesis Química

Primeramente se abordará la preparación de las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas (**16, 18, 59, 71**) y posteriormente la preparación de las carboxamidas 2-carbamato bencimidazólicas (**31, 36, 63, 75**).

6.1.2.1. Obtención de las materias primas 4 y 11.

(a) Obtención del 4-(acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (4)

La preparación de **4** procedió de manera fácil, se partió del ácido 4-aminobenzoico (**1**), el cual se trató directamente con anhídrido acético para proteger el grupo amino; debido a lo espeso de la mezcla de reacción, ésta se hizo con agitación manual. El hecho de no haber utilizado disolvente facilitó la manipulación y recuperación del producto de reacción, el ácido 4-(acetilamino)benzoico **2** (**Esquema 1**), el cual se obtuvo con un 70 % de rendimiento.

El cambio estructural se confirmó por los datos del espectro de RMN ^1H donde se observó la señal del metilo del acetilo como un singulete a 2.92 ppm. La espectrometría de masas confirmó el peso molecular del compuesto con m/z de 179 (47 %) que concuerda con la masa molecular esperada para **2**; además el ión a 137 de m/z correspondió con la pérdida del acetilo (M^+-42).

Para evitar problemas de solubilidad y/o reacciones secundarias en los pasos sintéticos posteriores se decidió proteger el grupo ácido de **2** mediante esterificación. En esta reacción se utilizó DMF para disolver a **2** y a la solución formada se le adicionó NaHCO_3 para formar el carboxilato, de tal forma que éste pudiera metilarse con el sulfato de dimetilo. La reacción procedió sin ninguna dificultad, se recuperó el éster **3** con buen rendimiento cuando se evitó el exceso de DMF, en este caso, el 4-(acetilamino)benzoato de metilo (**3**, **Esquema 1**), se obtuvo con un 86 % de rendimiento. Las ventajas de utilizar este método, en comparación con una esterificación de Fischer, fueron: tiempo corto de reacción, el empleo de pequeñas cantidades de disolvente, comparadas con las que generalmente se utilizan en la esterificación de Fischer para desplazar el equilibrio. Además es una reacción irreversible.

La esterificación de **2** se comprobó por la señal simple 3.81 ppm que integró para 3H en el espectro de RMN ^1H . correspondiente al metilo del éster; además, en el espectro de masas apareció un pico con m/z de 193 (48 %), concordante con el peso molecular de **3**, así como el fragmento M^+-31 propio de la pérdida del O-CH_3 , que originó el pico base del espectro.

El compuesto **3** se nitró disolviéndolo en H_2SO_4 concentrado, entre 0-5 °C, seguido de la adición de HNO_3 concentrado para formar el ión nitronio *in situ*, en vez de hacer previamente una mezcla sulfonítrica y luego adicionarla. La reacción procedió de forma eficiente y sin dificultades, generando el 4-(acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**4**, **Esquema 1**) con un rendimiento del 73 %. Sus datos de RMN ^1H en la región de aromáticos mostró señales con la multiplicidad característica de un patrón de sustitución 1,3,4 asignable a los protones 2, 5 y 6 del compuesto, cuya integración fue de 1 protón para cada una de ellas. En el espectro de masas se comprobó la masa molecular del compuesto por el ión molecular con m/z de 238 (19 %).

(b) Obtención del 4-[acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (11)

La síntesis de **11** se hizo en tres pasos. En el primero se partió del ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (**8**) comercial, éste se esterificó de manera similar que **3**, generando el 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (**9**, **Esquema 1**) con buenos rendimientos, 83 %. La modificación estructural se confirmó por los datos del espectro de RMN ^1H , donde se observó la señal del metilo del éster como un singulete a 3.89 ppm. La espectrometría de masas confirmó el peso molecular del compuesto con una relación m/z de 215 (40 %), así como el fragmento M^+-31 correspondiente a la pérdida del radical metoxilo.

Una vez obtenido el intermediario **9**, en el segundo paso, éste se disolvió en monoglina (1,2-dimetoxietano), se mezcló con clorhidrato de metilamina y K_2CO_3 y se calentó en un reactor a presión. Se obtuvo un solo producto, el 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**10**, **Esquema 1**) con altos rendimientos (97 %). Al recrystalizarlo de MeOH se obtuvo un 90.7 % de rendimiento.

El espectro de RMN ^1H mostró un doblete a 3.09 ppm, correspondiente a los protones del CH_3 , del grupo metilamino, acoplados con el H del NH; ésta señal simplifico al intercambio con D_2O . También se observó una señal amplia a 8.35 ppm, característica del N-H del mismo grupo, la cual desapareció cuando se realizó el intercambio con D_2O . Además, en espectroscopia de IR se observó una banda a 3365 cm^{-1} característica de N-H. En espectrometría de masas se observó el ión molecular esperado con m/z de 210, así como la ausencia del M^{+2} .

En el tercer paso, la *N*-metilamina **10** obtenida se trató con anhídrido acético y catálisis de H_2SO_4 ; a diferencia de la reacción que emplea piridina como disolvente, en este caso la reacción se llevó acabo de manera óptima, dando un solo producto con un rendimiento del 99 %. El producto crudo de reacción se recrystalizó de etanol dando el 4-[acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (**11**, **Esquema 1**) con un 96 % de rendimiento.

El espectro de IR de **11** mostró dos bandas características del grupo (C=O); la primera correspondió al carbonilo del grupo éster y la segunda al carbonilo de la acetamida. En el espectro de RMN ^1H se observó el fenómeno conocido como atropoisomerismo o isomerismo de rotación restringida,⁵³ lo cual es indicativo de que el producto obtenido

consiste de un par de rotámeros que tienen una barrera energética de rotación lo suficientemente alta para impedir la interconversión entre ellos.⁵⁴

Este fenómeno se observó mediante duplicidad en las señales esperadas (Espectro 28 en el Apéndice). A fin de corroborar la identificación del compuesto se realizó un experimento adicional, HETCOR, en el cual se observó claramente cómo las señales ^1H y ^{13}C duplicadas correspondieron entre sí, por lo que se determinó que este intermediario presentaba el fenómeno antes mencionado. En el espectro de masas no se observó el ión molecular de 252, pero se encontraron los picos M^+-42 que corresponde a la pérdida del ión radical acetilo, así como el pico de M^+-46 que corresponde a la pérdida del grupo nitro. Para confirmar que el compuesto fuera el esperado, se realizó el experimento conocido como FAB^+ , en éste fue posible encontrar el pico $\text{M}+1$ de 253 en un 100 % de abundancia, lo cual es concordante con lo esperado para el compuesto **11**.

6.1.2.2. Obtención de los ácidos 2-metilbencimidazólicos precursores 7 y 14

Para la síntesis de los ácidos carboxílicos **7** y **14** (**Esquema 1**) se partió de los compuestos **4** y **11**, los cuales se sometieron a una hidrogenación catalítica con Pd/C al 5 %. Ambas reacciones procedieron de forma fácil y rápida en comparación con otros métodos de reducción química. Ambos productos de reducción se obtuvieron sin problemas. En el caso de la reducción de **4** se obtuvo el 4-(acetilamino)-3-aminobenzoato de metilo (**5**, **Esquema 1**) con un 96 % de rendimiento como producto crudo y 93 % recristalizado. La reducción de **11**, por otro lado, llevó al 4-[acetil(metil)amino]-3-aminobenzoato de metilo, (**12**, **Esquema 1**) con un rendimiento de 97 % crudo y 36 % recristalizado.

El espectro de IR de **5** mostró dos bandas en 3416 y 3355 cm^{-1} , característico de las aminas secundarias y una banda en 3284 cm^{-1} correspondiente al enlace N-H del grupo acetilamino. Por otro lado, la amina **12** presentó una banda amplia en 3397 cm^{-1} , correspondiente al enlace NH_2 del grupo amina. El espectro de masas mostró la presencia de los iones moleculares con relación m/z de 208 para **5** y 222 para **12**, correspondientes a las aminas esperadas. El espectro de RMN ^1H mostró señales intercambiables con D_2O que integraron para 2H y 1H en el caso de **5**, y 2H para **12**, atribuidas a los enlaces N-H presentes en cada caso.

Una vez obtenidos **5** y **12**, éstos se ciclocondensaron en presencia de ácido polifosfórico en caliente. El compuesto **5** dio el 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**6**, **Esquema 1**) con un 86 % de rendimiento. En el caso de **12** se obtuvo el 1,2-dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**13**, **Esquema 1**) con un 82 % de rendimiento. En otros estudios se trató de obtener **6** y **13** durante la hidrogenación en caliente, pero la reacción no procedió de forma satisfactoria.

La modificación estructural realizada en ambos casos se comprobó por el análisis del espectro de masas donde se observó las señales de los iones moleculares con m/z de 190 (83 %) y 204 (69 %), respectivamente, correspondientes al peso molecular esperado para los ésteres. El espectro de RMN ^1H mostró, además del sistema de sustitución 1,2,4 trisustituído para el anillo bencenoide, un singulete asignado al grupo metilo de la posición 2 del anillo: para **6** en 2.53 ppm y para **13** en 2.54 ppm (**Fig. 7**).

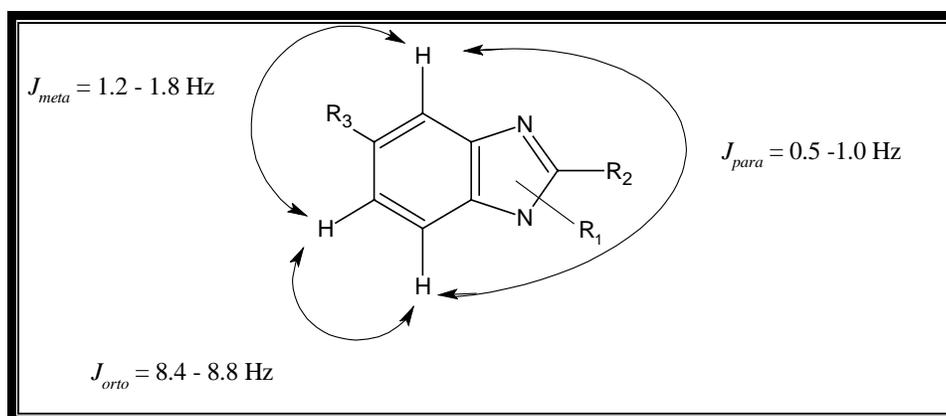


Fig. 7 Sistema 1,2,4 trisustituído presente en los 1-metilbencimidazoles

Los ésteres bencimidazólicos **6** y **13** se hidrolizaron en medio básico, originando el anión carboxilato correspondiente, el cual, una vez obtenido se llevó a pH 4. Se observó que este valor de pH es donde el equilibrio ácido-base se desplaza hacia la especie ácida, a otros pHs se perdió producto en las aguas madres de reacción (MeOH/H₂O) lo que afectó el rendimiento en estos casos. La hidrólisis de ambos ésteres se llevó a cabo sin dificultad, generando los ácidos bencimidazólicos correspondientes con rendimientos satisfactorios: **6** llevó al ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**7**, **Esquema 1**) con un 89 % de rendimiento; mientras que **13** llevó al ácido 1,2 dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico **14** (**Esquema 1**) con un 77 % de rendimiento.

En los espectros de IR de cada uno de los ácidos se observó la existencia de una banda ancha entre 3330-3450 cm^{-1} debida al OH del ácido carboxílico. En los espectros de masas los iones moleculares a 176 y 190 m/z , también fueron los picos base de los espectros, para los ácidos **7** y **14** respectivamente. El análisis de RMN ^1H mostró la presencia del grupo COOH por las señales amplias observadas a 12.53 (**7**) y 12.65 (**14**) ppm correspondientes al OH y que se intercambiaron con D_2O , así como la desaparición de las señales correspondientes al metilo del éster (3.85 y 3.84 ppm) en cada uno de los casos.

6.1.2.3. Obtención de las carboxamidas bencimidazólicas **16** y **18**

A partir de los ácidos carboxílicos **7** y **14** y cloruro de tionilo en tolueno se prepararon los correspondientes cloruros de ácido **15** y **17** (**Esquema 1**). El tiempo promedio de las reacciones fue de 4 h dando un solo producto, el cual no se aisló, sino que se utilizó *in situ* para generar las amidas bencimidazólicas. Cabe mencionar que el seguimiento de la reacción de formación del cloruro se hizo tomando una pequeña muestra de la mezcla de reacción, la cual se disolvió en metanol grado reactivo y se le adicionó bicarbonato de sodio a fin de neutralizar; de esta forma se generó el éster metílico correspondiente, su presencia se detectó al comparar en ccf la muestra, con el ácido precursor y el éster esperado previamente sintetizado, de tal forma que cuando la mezcla de reacción mostraba solamente la mancha del éster, la reacción había finalizado.

Cada mezcla de reacción de formación de los cloruros de acilo, **15** y **17**, se trató con 2-aminotiazol y exceso de trietilamina. En el caso de **15** se obtuvo la 2-metil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**16**, **Esquema 2**) con un 86 % de rendimiento. En el caso de **17** se obtuvo la 1,2-dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**18**, **Esquema 2**) con un 73 % de rendimiento.

Los espectros de masas de los compuestos obtenidos confirman en ambos casos la masa molecular de los productos por los iones moleculares con m/z de 258 y 272, respectivamente; el pico base, para ambos casos, fue el fragmento de M^+-99 correspondiente al ión acilio derivado de la ruptura del enlace de amida. El análisis de los espectros de RMN ^1H mostró para cada compuesto la presencia de dos dobletes a 7.24-7.25

y 7.53-7.54, con una constante de acoplamiento de 3.6 Hz, atribuidas a los protones 4 y 5 del anillo de tiazol.

6.1.2.4. Obtención de las carboxamidas bencimidazólicas 59 y 71

(a) Obtención de la carboxamida bencimidazólica final 59

La obtención de la carboxamida **59** (**Esquema 2**), se realizó tomando como base la patente de la nitazoxanida.⁴⁴ Para lo cual, el cloruro de ácido **15** se sometió *in situ* a una reacción de condensación con el 2-amino-5-nitrotiazol, utilizando como disolvente THF y un exceso de trietilamina. La mezcla cruda de reacción mostró tres productos en la ccf, por lo cual fue necesario buscar un método adecuado de purificación. Se realizaron diversas pruebas de recristalización, siendo una limitante la baja solubilidad que presentaba dicho producto, por lo que se descartó la posibilidad de purificarlo mediante cromatografía en columna. Finalmente, se encontró que mediante lavados con agua ligeramente ácida se eliminaba uno de los productos de la mezcla, el correspondiente a la materia prima 2-amino-5-nitrotiazol, después se recristalizó de acetonitrilo y se obtuvo el 2-metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**59**) pura con un 22 % de rendimiento.

El espectro de IR mostró bandas en 1537 y 1350 cm⁻¹ características del grupo nitro. El espectro de RMN ¹H mostró, además del patrón de sustitución ABX del anillo bencimidazólico, un singulete a 8.68 ppm correspondiente al protón 4 del anillo de tiazol. El espectro de masas en la modalidad de FAB⁺ mostró la presencia de un pico de M+1 de 304 (14 %), correspondiente al esperado para esta carboxamida.

(b) Obtención de la carboxamida bencimidazólica 71

Por los problemas presentados en la obtención de **59**, se buscó un método alternativo que ofreciera mejores rendimientos y menores dificultades en la purificación del producto crudo. Por lo cual, se probó obtener la carboxamida **71** (**Esquema 2**) mediante la nitración de la carboxamida **18**.

Para la nitración se probaron dos técnicas de nitración, la primera fue utilizando anhídrido acético y ácido nítrico fumante. Se hicieron varias pruebas modificando la temperatura, pero en todos los casos solo se obtuvo una mezcla de productos que no pudo ser purificada.

La segunda fue utilizando mezcla sulfonítrica por abajo de 5 °C. Esta reacción generó el producto deseado con un rendimiento de 46 % y fue más fácil de purificar.

En el espectro de IR del producto obtenido se observaron bandas en 1541 y 1355 cm^{-1} características del grupo nitro. En el espectro de RMN ^1H se observó la desaparición de los dos dobletes del anillo de tiazol; además del patrón de sustitución ABX del anillo bencimidazólico. El análisis del espectro de masas en su modalidad FAB⁺ mostró la presencia de un pico de M+1 de 318 (16 %), correspondiente al esperado para esta carboxamida.

Una vez obtenida la primera serie de los compuestos buscados, las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas **16**, **18**, **59** y **71**, se procedió al estudio de la síntesis de la otra serie, las carboxamidas 2-carbamato bencimidazólicas **31**, **36**, **63** y **75**. A continuación se presentan los resultados obtenidos y se discute sobre las dificultades encontradas.

6.1.2.5. Obtención de los ácidos 2-metoxycarbonilamino precursores 22 y 26.

Para la obtención de las carboxamidas 2-carbamato bencimidazólicas **31**, **36**, **63** y **75** se propuso como primera ruta de síntesis la obtención a partir de sus respectivos ácidos bencimidazólicos **22** y **26** (**Esquema 3**). Una vez obtenidos, éstos se condensarían, vía el cloruro de ácido, para formar las carboxamidas finales, siguiendo la misma ruta de síntesis utilizada para la carboxamida **59**.

En el primer paso de esta ruta, el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**19**, **Esquema 3**) obtenido por hidrólisis de **4**, o el 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo, preparado con anterioridad, se sometieron a una hidrogenación catalítica para obtener el 3,4-diaminobenzoato de metilo **20** o el 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo **24** (**Esquema 3**). Estas reducciones se desarrollaron de manera eficiente, generando solamente la amina deseada y lo suficientemente estable para recrystalizarla; los rendimientos de cristalización fueron aceptables: 64 % para **20** y 69 % para **24**.

El análisis de los espectros de IR mostró bandas características de las aminas primarias en 3435 y 3363 cm^{-1} para el compuesto **20** y en 3404 y 3327 cm^{-1} para el compuesto **24**. En el espectro de RMN ^1H se observaron los singuletes amplios intercambiables con D₂O, cuya integración correspondió al número de protones unidos a nitrógeno existentes para cada

amina. El espectro de masas confirmó el peso molecular de cada uno de los compuestos con las relaciones m/z de 166 para **20** y de 180 para **24**.

Posteriormente, las aminas **20** y **24** se ciclocondensaron por separado con el sulfato de *S*-metilisotiurea y cloroformiato de metilo, lo que llevó al 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo **21** o al 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo **25** (**Esquema 3**), con rendimientos de 73 y 82 %, respectivamente.

La formación del carbamato se comprobó mediante RMN ^1H en donde se observaron los singuletes a 3.76 ppm para **21** y 3.81 ppm para **25**, correspondientes al metoxilo del grupo carbamato. La espectrometría de masas para el éster **21** fue mediante FAB $^+$, se observó un pico con una relación m/z de 250 ($M+1$, 11 %), mientras que para el éster **25** por la técnica de IE, se observó el ión de m/z 263 (20 %), los cuales que correspondieron a los iones moleculares esperados para cada uno de los compuestos.

Los ésteres bencimidazólicos **21** y **25** se sometieron a una reacción de hidrólisis básica con KOH en metanol acuoso. El éster **21** llevó al ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**22**, **Esquema 3**) con un 94 % de rendimiento, mientras que el éster **25** llevó al ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**26**, **Esquema 3**) con un 75 % de rendimiento.

En el espectro de IR, para cada uno de los ácidos, se observó la presencia de una banda ancha entre 3315-2672 cm^{-1} debida al OH del ácido carboxílico. El espectro de RMN ^1H mostró la presencia del grupo COOH por las señales amplias observadas a 12.08 (**22**) y 12.73 (**26**) ppm correspondientes al OH y que se intercambiaron con D $_2$ O. En el espectro de masas se observó el pico M^{+1} , de 250 correspondiente al ácido **26**. Mientras, para el ácido **22** fue imposible determinar el ión molecular debido a su alto punto de fusión, pero la obtención de los productos subsecuentes a éste, así como la RMN ^1H , permitió corroborar la obtención del producto deseado.

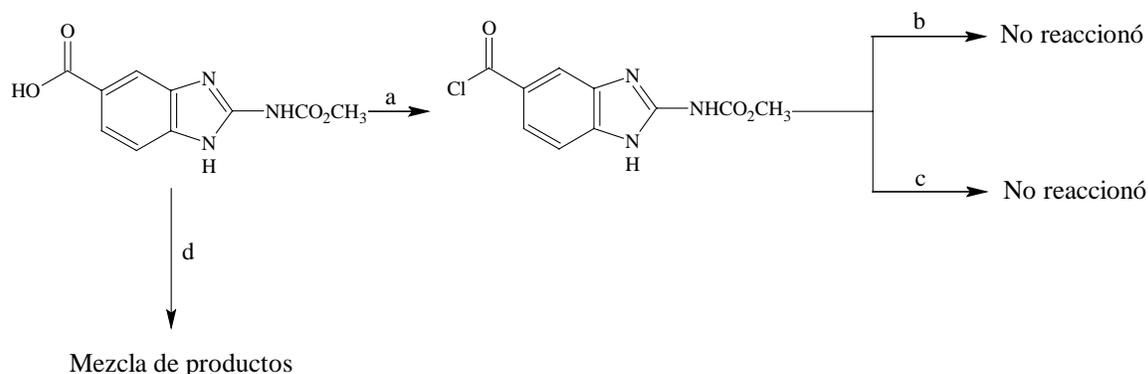
6.1.2.6. Ruta original de síntesis para las carboxamidas 2-carbamato de metilo (31, 36, 63, 75)

La estrategia que se siguió para la síntesis de las carboxamidas 2-carbamato de metilo fue semejante a la seguida para preparar las carboxamidas análogas 2-metiladas. La secuencia

se inició con la activación del ácido **22** con cloruro de tionilo en tolueno para obtener *in situ* el [5(6)-clorocarbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo **35** (**Esquema 3**). Esta reacción requirió 12 equivalentes de cloruro de tionilo y 24 h de reacción debido a la baja solubilidad del ácido **22**, el cual nunca se logró tener en solución. Después de comprobar la formación de **35** se eliminó el exceso de cloruro de tionilo y tolueno, y el residuo se trató con 2-amino-5-nitrotiazol, THF y trietilamina, de manera semejante al procedimiento seguido para la síntesis de la nitazoxanida;⁴⁴ sin embargo, no se logró sintetizar la amida correspondiente **63** (**Tabla 3**), aún después de 10 h a 65-70 °C. Una placa cromatográfica de la reacción reveló la presencia de las materias primas y ningún otro producto de reacción. Lo anterior se atribuyó a la baja solubilidad del cloruro **35** por un lado, y por otro, a la baja nucleofilicidad del grupo amino del nitrotiazol. Teniendo en cuenta estas consideraciones se volvió a preparar el cloruro **35** y se trató ahora con el 2-aminotiazol, acetona y trietilamina a 67-70 °C por 6 h, de manera similar a la reacción realizada para preparar la carboxamida **16** (**Esquema 2**). De nuevo, la solubilidad fue baja y no se logró la formación de la carboxamida análoga **31** (**Tabla 3**).

Por lo tanto, se descartó la influencia de la nucleofilicidad de la base en la cinética de la reacción, para llegar a la conclusión de que el factor limitante era solamente la solubilidad de los intermediarios 2-carbamato de metilo.

Debido a lo anterior, se realizó otra prueba de condensación del ácido **22** con el 2-amino-5-nitrotiazol, utilizando como agente acoplante el 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), con la finalidad de generar un intermediario imidazólico lábil, cuyo grupo saliente, imidazol, pudiese ser sustituido fácilmente por alguna de las aminas en cuestión. De nuevo, los resultados fueron negativos, ya que se obtuvo un producto resinoso muy poco soluble, que en ccf mostró ser una mezcla de productos, la cual no fue posible separar. En la **Figura 8** se presenta un resumen de las reacciones estudiadas.



(a) SOCl_2 , Tolueno, calor; (b) 2-amino-5-nitrotiazol, THF, Et_3N , calor; (c) 2-aminotiazol, acetona, Et_3N , calor; (d) 1) CDI, 2) 2-amino-5-nitrotiazol

Fig. 8. Pruebas de síntesis para las carboxamidas 2-carbamato de metilo

Dados los resultados de estos ensayos no se consideró conveniente intentar la preparación del resto de las carboxamidas 2-carbamato de metilo por este camino y se diseñó una nueva ruta alterna de síntesis.

6.1.2.7. Ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-carbamato de metilo

Por los problemas mencionados anteriormente, se propuso una ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-carbamato de metilo, en la cual, primero se forma la carboxamida, con el derivado activado del ácido y el derivado del 2-aminotiazol, y después la ciclocondensación para formar el 2-carbamato de metilo. Con esta estrategia se pretendía evitar los problemas de solubilidad que el sustituyente carbamato de metilo confiere a la molécula.

En esta nueva ruta sintética se propuso la formación de los cloruros de los ácidos **27** y **32** para obtener los intermediarios **28** y **33**, respectivamente (**Esquema 4**). Una vez obtenidos los cloruros, éstos se condensarían con 2-aminotiazol para formar las carboxamidas correspondientes, y, posteriormente, se llevaría a cabo la reducción catalítica de los mismos; las *o*-fenilendiaminas obtenidas se someterían a la reacción de ciclocondensación para formar los correspondientes 2-carbamato de metilo, los cuales por último se someterían a una reacción de nitración para obtener las carboxamidas deseadas.

(a) Obtención de la {5(6)-[[[(1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (31)

Se partió del ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (**27**, **Esquema 4**), el cual se obtuvo sin dificultades de la hidrólisis básica de los intermediarios **4** y **19** con rendimientos de 85 % y 89 %, respectivamente. El ácido **27** se transformó en su correspondiente cloruro de ácido con cloruro de tionilo y benceno en condiciones similares a las utilizadas para el intermediario **15**. El cloruro de 4-amino-3-nitrobenzoilo (**28**, **Esquema 4**) se pudo aislar y caracterizar, para ello, una vez que se eliminó el exceso de cloruro de tionilo y benceno de la reacción, el residuo sólido se suspendió en hexano, se filtró y se lavó con hexano, luego se recrystalizó de benceno, lo que llevó a un 65 % de producto de alta pureza.

La formación del cloruro se comprobó por espectrometría de masas; el espectro mostró un fragmento de m/z de 200, concordante con la masa del ion molecular esperado para **28**; además, se apreció el pico M^{+2} correspondiente al patrón de abundancia isotópica debida al cloro. En el espectro de RMN 1H se observó un patrón de sustitución característico de los núcleos bencénicos 1,3,4-trisustituídos, así como una señal a 5.83 ppm, intercambiable con D_2O , correspondiente a los protones del grupo amino.

Posteriormente, **28** se sometió a una reacción de condensación con 2-aminotiazol, lo que llevó a la 4-amino-3-nitro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida **29** (**Esquema 4**) con un rendimiento de 67 %. La modificación estructural se confirmó mediante el análisis del espectro de masas, en el cual se observó un pico de m/z 264 (18 %), coincidente con la masa esperada para el ión molecular; además, ya no se observó la isotopía del cloro (M^{+2}); el pico base correspondió a la pérdida del 2-aminotiazol (M^+-99). El espectro de RMN 1H mostró dos dobletes en 7.23 y 7.52 ppm con una constante de acoplamiento de 3.6 Hz, atribuidos a los protones 4 y 5 del anillo de tiazol.

En el siguiente paso, el grupo nitro en **29** se redujo por hidrogenación catalítica dando un 42 % de la 3,4-diamino-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**30a**, **Esquema 4**). En este punto se empezaron a observar problemas de solubilidad. El compuesto obtenido se caracterizó por los datos de sus espectros. En el de IR se observaron dos bandas en 3406 y 3349 cm^{-1} , propias de aminas primarias. El espectro de RMN 1H mostró dos singuletes amplios intercambiables con D_2O a 4.79 y 5.20 ppm, correspondientes a los protones de los grupos

amino de los carbonos 3 y 4. En el espectro de masas se apreció un pico de m/z , el cual fue concordante con la masa esperada para el ion molecular.

La *o*-fenilendiamina **30a** se ciclocondensó con el sulfato de *S*-metilisotiurea y cloroformiato de metilo en las mismas condiciones que el compuesto **20**. Se obtuvo la carboxamida esperada (**31**, **Esquema 4**) con un rendimiento de 76 %. La formación del carbamato se determinó por el análisis del espectro de RMN ^1H que mostró un singulete con integración para tres protones a 3.77 ppm, correspondiente al metilo del grupo carbamato, así como una señal amplia a 12.07 ppm característica de los N-H del carbamato y del anillo de bencimidazol. En el espectro de Masas se observó el pico M+1 de 318 correspondiente al ion molecular de este compuesto.

(b) Estudio para la obtención de la carboxamida 1-metil-2-carbamato de metilo (36)

Se partió del ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (**32**, **Esquema 4**), el cual se obtuvo por dos métodos. El primero fue a partir de la hidrólisis básica de **10** y dio en un 96 % de rendimiento. El otro fue mediante la *N*-metilación del éster **4** con sulfato de dimetilo para dar **11**, seguido de hidrólisis básica de éste, y, finalmente, obtener el ácido deseado (**32**). La reacción de *N*-metilación requirió un riguroso control del intervalo de temperatura (30-35°C), mediante este método se obtuvo el éster *N*-metilado **11** con excelentes rendimientos y pureza. El análisis espectroscópico de **32** en el IR mostró una banda en 3363 cm^{-1} característica de las aminas secundarias. La espectrometría de masas comprobó el cambio estructural, por el ión molecular con m/z de 196, correspondiente a la masa molecular esperada. El espectro de RMN ^1H mostró un singulete dobleteado a 3.0 ppm correspondiente al metilo, del grupo metilamino, acoplado con el H del NH; además de un cuarteto a 8.54 ppm correspondiente al N-H del mismo grupo (-NHCH₃), la cual desapareció con el intercambio de D₂O.

A partir del ácido **32** se sintetizó el cloruro de 4-(metilamino)-3-nitrobenzoilo (**33**, **Esquema 4**), en las condiciones anteriormente mencionadas en la preparación del cloruro de ácido **28**. El cloruro **33** también se pudo aislar y caracterizar, obteniéndose un rendimiento de 59 %. El espectro de masas mostró un pico con m/z de 214, coincidente con la masa molecular esperada, además del pico M^{+2} debido a la abundancia isotópica del cloro. En el espectro de RMN ^1H se observó el patrón de sustitución característico de los

núcleos bencénicos 1,3,4-trisustituidos, así como una señal a 7.97 ppm, correspondiente al grupo N-H del grupo metilamino, señal que desapareció al hacer el intercambio con D₂O.

Una vez obtenido el cloruro de ácido **33**, éste se trató con el 2-aminotiazol y trietilamina en acetona y se formó una mezcla de tres productos los cuales fueron prácticamente imposibles de separar.

Se procedió entonces a la síntesis de la carboxamida **63** por nitración de **31**.

(c) Estudio para la obtención de la carboxamida 1-metil-2-carbamato de metilo 63

La carboxamida **31** (**Esquema 4**) se sometió a varias pruebas de nitración, variando las condiciones de reacción. Una de las pruebas realizadas consistió en disolver el compuesto en ácido sulfúrico concentrado y posteriormente adicionar el ácido nítrico para que a medida que éste se incorporaba a la mezcla de reacción, se nitrara la materia prima. Esta reacción de nitración se hizo manteniendo la temperatura a 0-5 °C, pero se obtuvo una mezcla resinosa que fue imposible purificar.

Tratando de evitar la mezcla de productos se realizó una nitración en condiciones más suaves, para esto se utilizó ácido nítrico fumante con anhídrido acético, pero nuevamente se obtuvo una mezcla de productos, que no pudo ser purificada.

Por los problemas de purificación de las mezclas complejas de reacción antes mencionados no fue posible, en ambos casos, aislar el producto **63** puro. Por falta de tiempo ya no se pudo profundizar en el estudio, por lo que queda pendiente en trabajos posteriores incursionar en la búsqueda de condiciones de reacción adecuadas para la obtención de las carboxamidas **36**, **63** y **75**; por ejemplo: utilizando nitrobenzono como disolvente. Se espera que el extenso trabajo realizado sirva como antecedente para la obtención de las carboxamidas faltantes.

6.1.3. Constantes espectroscópicas y espectrométricas

A continuación se muestra en las Tablas **7** y **8**, a modo de resumen, las constantes espectroscópicas y espectrométricas determinadas para las carboxamidas bencimidazólicas finales sintetizadas y sus ácidos bencimidazólicos precursores. La elucidación espectroscópica y espectrométrica de los intermediarios restantes se muestran en la **Tabla 14** del Apéndice.

Tabla 7. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de las carboxamidas bencimidazólicas finales sintetizadas en el presente proyecto

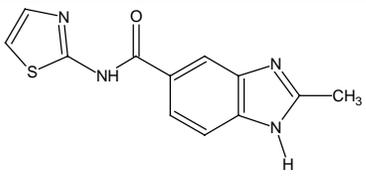
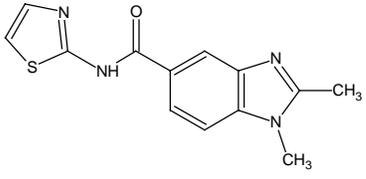
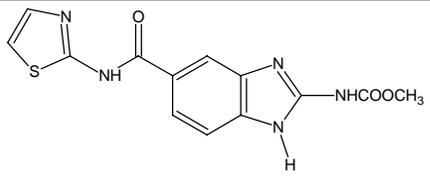
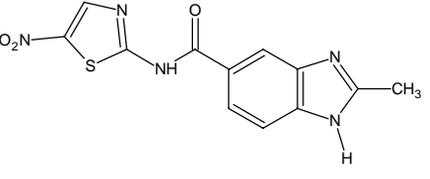
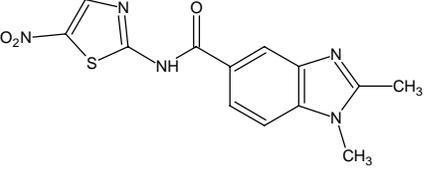
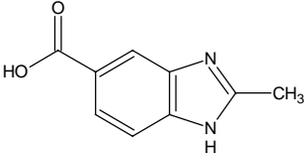
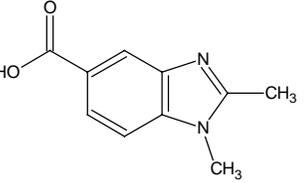
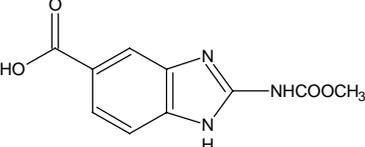
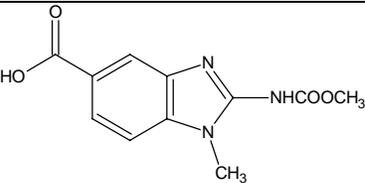
COMPUESTO	SEÑALES
 <p style="text-align: center;">16</p>	<p>Espectro 1 IR (KBr, cm⁻¹): 3206, 1545, 1323. Espectro 2 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.50(s, 3H, CH₃), 7.24(d, <i>J</i> = 3.6 Hz, 1H, H-3 tiazol), 7.53 (d <i>J</i> = 3.6 Hz, 1H, H-4 tiazol), 7.50(d, <i>J</i>_o = 8.40 Hz, 1H H-7), 7.91(dd, <i>J</i>_o = 8.49 Hz, <i>J</i>_m = 1.50 Hz, 1H, H-6), 8.29(d <i>J</i>_m = 1.2, 1H, H-4), 12.55 (sa, 2H, int. con D₂O, N-H) Espectro 3 EM (IE) <i>m/z</i>: 258 (M⁺, 15 %), 159 (M⁺-99, 100 %), 131(M⁺-99-28).</p>
 <p style="text-align: center;">18</p>	<p>Espectro 4 IR (KBr, cm⁻¹): 3423, 2964, 1658, 1127. Espectro 5 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.88(s, 3H, 2-CH₃), 3.01(s, 3H, N-CH₃), 7.25(d, <i>J</i> = 3.30 Hz, 1H, H-5 tiazol), 7.54 (d <i>J</i> = 3.60 Hz, 1H, H-4 tiazol), 7.60(d, 1H, <i>J</i> = 8.40 Hz, H-7), 7.97(dd, <i>J</i> = 1.80 Hz, <i>J</i> = 8.40 Hz, H-6), 8.34(d, <i>J</i> = 1.50 Hz, 1H, H-4), 13.03(sa, 1H, int. con D₂O, N-H). Espectro 6 EM (IE) <i>m/z</i>: 272(M⁺, 20 %), 173 (M⁺-99, 100 %), 145(M⁺-99-28).</p>
 <p style="text-align: center;">31</p>	<p>Espectro 7 IR(KBr, cm⁻¹): 3399, 2851, 1717. Espectro 8 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 3.77(s, 3H, NHCOOCH₃), 7.24(d, 1H, <i>J</i> = 3.60 Hz, H-5 Tiazol), 7.48(d, 1H, <i>J</i> = 8.70 Hz, H-7), 7.53(d, 1H, <i>J</i> = 3.60 Hz, H-4 Tiazol), 7.88(dd, 1H, <i>J</i>_o = 8.70 Hz, <i>J</i>_m = 1.80 Hz, H-6), 8.17(d, 1H, <i>J</i>_m = 1.20 Hz, H-4), 12.70(sa, 3H, int. con D₂O, NH). Espectro 9 EM (FAB⁺) <i>m/z</i>: 234(M⁺, 8 %).</p>
 <p style="text-align: center;">59</p>	<p>Espectro 10 IR (KBr, cm⁻¹): 3359, 3114, 2915, 1671, 1537, 1350. Espectro 11 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.53(s, 3H, 2-CH₃), 7.58(d, <i>J</i>_o = 8.7 Hz, 1H, H-7), 7.94 (dd <i>J</i>_o = 8.7, <i>J</i>_m = 1.20 Hz, 1H, H-6), 8.34(s, 1H, H-4), 8.68(s, 1H, H-4 tiazol), 13.03(sa, 2H, int. con D₂O, N-H). Espectro 12 EM (FAB⁺) <i>m/z</i>: 304 (M⁺, 14 %).</p>
 <p style="text-align: center;">71</p>	<p>Espectro 13 IR (KBr, cm⁻¹): 3406, 2927, 1654, 1541, 1355. Espectro 14 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.57(s, 3H, C-CH₃), 3.78 (s, 3H, N-CH₃), 7.65 (d, <i>J</i> = 8.40 Hz, 1H, H-6), 8.02 (d <i>J</i> = 8.70 Hz, 1H, H-7), 8.41 (s, 1H, H-4), 8.69(s, 1H, H-4, Tiazol) Espectro 15 EM (FAB⁺) <i>m/z</i>: 318 (M⁺, 16 %).</p>

Tabla 8. Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los ácidos bencimidazólicos precursores

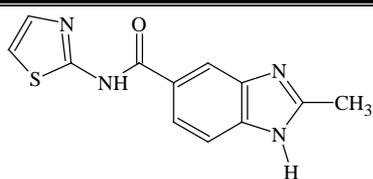
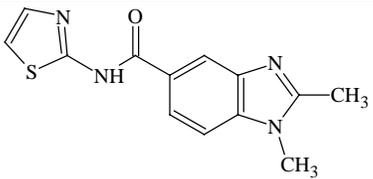
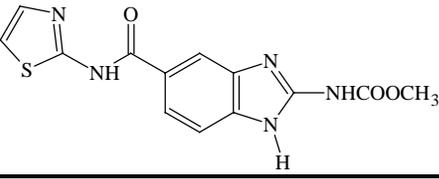
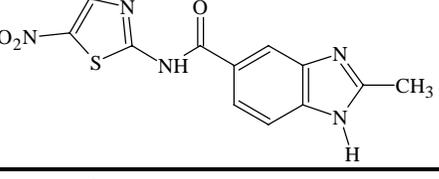
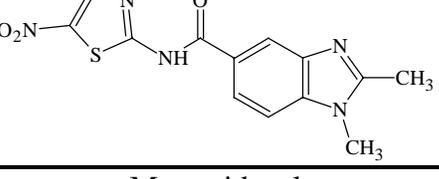
COMPUESTO	SEÑALES
 <p style="text-align: center;">7</p>	<p>Espectro 16 IR (KBr, cm⁻¹): 3330, 2503, 1632, 1361.</p> <p>Espectro 17 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.50(s, 3H, CH₃), 7.49(d, 1H, <i>J</i>_o = 8.40 Hz, H-7), 7.74(dd, 1H, <i>J</i>_o = 8.40 Hz, <i>J</i>_p = 1.8 Hz, H-6), 8.03(s, 1H, H-4), 12.53(sa, 1H, int con D₂O, COOH).</p> <p>Espectro 18 EM (IE) m/z: 176 (M⁺, 100 %); 159 (M⁺-17, 73 %), 131 (M⁺-17-28).</p>
 <p style="text-align: center;">14</p>	<p>Espectro 19 IR (KBr, cm⁻¹): 3450, 2949, 1693.</p> <p>Espectro 20 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 2.57(s, 3H, C-CH₃), 3.77(s, 3H, N-CH₃), 7.59(dd, 1H, <i>J</i>_o = 8.70 Hz, <i>J</i>_p = 0.6 Hz, H-7), 7.84 (dd, 1H, <i>J</i>_o = 8.70 Hz, <i>J</i>_m = 1.5 Hz, H-6), 8.10(d, <i>J</i>_m = 1.20 Hz, H-4), 12.65(sa, 1H, int. con D₂O, COOH).</p> <p>Espectro 21 EM (IE) m/z: 190 (M⁺, 100 %), 173 (M⁺-17, 79 %), 145(M⁺-17-28).</p>
 <p style="text-align: center;">22</p>	<p>Espectro 22 IR(KBr, cm⁻¹): 3305,2954-2672, 1684, 1647, 1106.</p> <p>Espectro 23 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 3.76 (s, 3H, NHCOOCH₃), 7.43(d, 1H, <i>J</i>_o = 8.40 Hz, H-7), 7.72(dd, 1H, <i>J</i>_o = 8.40 Hz, H-6), 8.01(d, 1H, <i>J</i>_m = 1.20 Hz, H-4), 12.08(sa, 1H, int. con D₂O, COOH).</p> <p>Espectro 24 EM (FAB⁺) m/z: No se pudo determinar el pico M⁺.</p>
 <p style="text-align: center;">26</p>	<p>Espectro 25 IR (KBr, cm⁻¹): 3315, 2957, 1588,1656.</p> <p>Espectro 26 RMN¹H (DMSO-d₆) δ: 3.51(s, 3H, COOCH₃), 3.62(s, 3H, N-CH₃), 7.45(d, 1H, <i>J</i> = 8.40 Hz, H-7), 7.81(dd, 1H, <i>J</i> = 1.50 Hz, <i>J</i> = 8.40 Hz, H-6), 7.98(s, 1H, H-4), 12.21(sa, 1H, int. con D₂O, N-H), 12.73(sa, 1H, int. con D₂O, COOH).</p> <p>Espectro 27 EM (FAB⁺) m/z:250 (M⁺, 20 %).</p>

6.2. Parte Biológica

6.2.1. Resultados de actividad antiprotozoaria de las carboxamidas 16, 18, 31, 59 y 71 frente a *Giardia intestinalis*.

La actividad antiprotozoaria de las carboxamidas bencimidazólicas se determinó mediante las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *G. intestinalis*, los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Actividad antiprotozoaria *in vitro* de las carboxamidas 16, 18, 31, 59 y 71 contra *G. intestinalis*

No.	Compuesto	CI ₅₀ ^a (μM)
16		0.201
18		0.709
31		0.873
59		0.016
71		0.059
	Metronidazol	1.228
	Albendazol	0.037
	Nitazoxanida	0.013

a. Concentración inhibitoria 50

Los datos reportados en la **Tabla 9** indican que todas las carboxamidas tuvieron buena actividad contra de la *G. intestinalis*. Se aprecia que no es imprescindible el grupo nitro en el anillo del tiazol para la actividad; sin embargo, las carboxamidas que tienen el grupo nitro, **59** y **71**, fueron más activas. Lo anterior sugiere que estas carboxamidas actúan por un mecanismo diferente o dual, en donde el grupo nitro participa en la formación de radicales de manera semejante a como lo hace en los nitroderivados antiparasitarios, como la nitazoxanida y otro desconocido, semejante al de otras carboxamidas bencimidazólicas con actividad antiprotozoaria. También se aprecia que las carboxamidas más potentes en cada serie fueron las que tienen un hidrógeno en la posición 1 del anillo bencimidazólico y un metilo en la posición 2 (**16** y **59**). Sorpresivamente, la carboxamida **31**, con un grupo carbamato de metilo en la posición 2, como el albendazol, fue el compuesto menos potente; tal vez debido a la pobre solubilidad del compuesto en las condiciones del ensayo.

Al comparar ahora los resultados de actividad obtenidos para las carboxamidas sintetizadas con los datos de actividad de los fármacos de referencia, se aprecia lo siguiente:

* Comparación con Metronidazol (**Gráfica 2**)

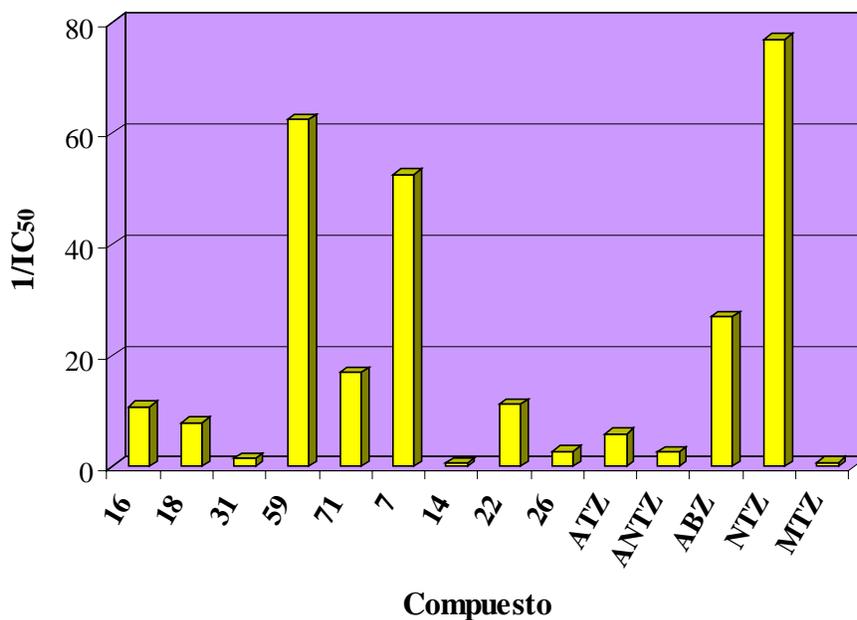
Los compuestos **59** y **71** tuvieron una actividad del orden micromolar contra *Giardia intestinalis* y fueron 76 y 20 veces más potentes que el Metronidazol (medicamento de elección para las protozoosis), respectivamente. Mientras que la carboxamida **16** fue 6 veces más potente que el metronidazol.

* Comparación con Albendazol (**Gráfica 2**)

Solamente la carboxamida **59** mostró una actividad antiprotozoaria ligeramente mayor que el Albendazol (2 veces más potente).

* Comparación con Nitazoxanida (**Gráfica 2**)

Solamente la carboxamida **59** tuvo actividad antiprotozoaria del mismo orden que la Nitazoxanida.



Gráfica 2. Actividad antiprotozoaria las carboxamidas bencimidazólicas sintetizadas y sus núcleos precursores contra *G. intestinalis*.

6.2.2. Resultados de actividad antiprotozoaria de los ácidos bencimidazólicos precursores contra *Giardia intestinalis*

Debido a la naturaleza estructural de los precursores ácidos carboxílicos **7**, **14**, **22** y **26** de las carboxamidas híbridas sintetizadas y considerando una posible hidrólisis metabólica de las mismas, que llevara a los ácidos carboxílicos y al núcleo de tiazol, según se aprecia en la **Figura 9**, también se evaluaron estos precursores y los núcleos 2-aminotiazol (**ATZ**) y 2-amino-5-nitrotiazol (**ANTZ**). frente a *G. intestinalis*. Los resultados obtenidos en estas evaluaciones se muestran en la **Tabla 10**.

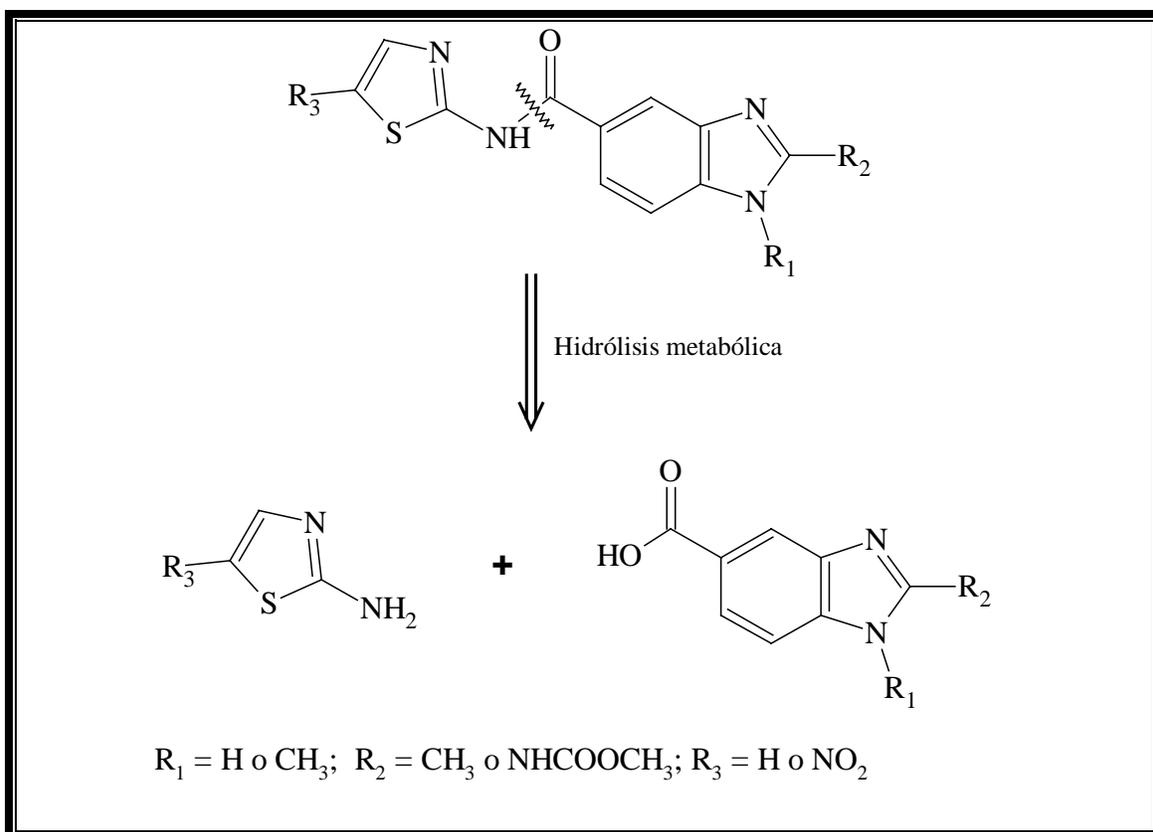
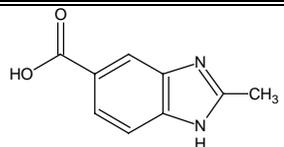
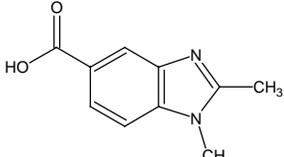
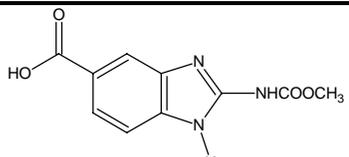
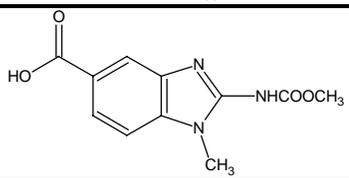
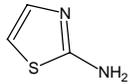
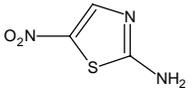


Figura 9. Núcleos precursores de las carboxamidas híbridas

Los datos reportados en la **Tabla 10** indican que los ácidos carboxílicos precursores tuvieron actividad inhibitoria de la *G. intestinales*, los más potentes, con un hidrógeno en la posición 1 del anillo bencimidazólico, independientemente del sustituyente en la posición 2. Por otro lado, los compuestos con el anillo de tiazol (**ATZ** y **ANTZ**) también mostraron actividad inhibitoria de la *G. intestinales*, aunque de menor magnitud que la mostrada por los precursores ácidos **7** y **22**.

Tabla 10. Resultados de actividad antiprotozoaria de los núcleos precursores de las carboxamidas híbridas contra *G. intestinalis*

<i>No.</i>	<i>Compuesto</i>	<i>CI</i> 50 ^a (μ M)
7		0.019
14		1.572
22		0.089
26		0.361
ATZ		0.260
ANTZ		0.372
	Metronidazol	1.228
	Albendazol	0.037
	Nitazoxanida	0.013

a. Concentración inhibitoria 50

Al analizar los resultados obtenidos tenemos:

*** Comparación con Metronidazol (Gráfica 2)**

El ácido **7** fue 64 veces más potente que el Metronidazol, mientras que los ácidos **22** y **26** fueron 13 y 3 veces más potentes, respectivamente. Solamente el ácido **14** no mostró una actividad giardicida equiparable al Metronidazol.

Con respecto a los derivados de tiazol, éstos fueron 4(**ATZ**) y 3(**ANTZ**) veces más potentes que el Metronidazol.

* Comparación con Albendazol (**Gráfica 2**)

Solamente el ácido **7** fue 1.9 veces más potente que el Albendazol.

* Comparación con Nitazoxanida (**Gráfica 2**)

Solamente el precursor ácido **7** tuvo actividad antiprotozoaria del mismo orden que la nitazoxanida.

La actividad antiprotozoaria presentada por las carboxamidas híbridas con respecto a sus núcleos precursores fue propia para cada uno de los compuestos probados. Sin embargo, se observó que los ácidos **7** y **22** fueron 10 veces más potente que sus carboxamidas híbridas sin nitrar. Solamente la carboxamida nitrada **59** y su ácido carboxílico precursor **7**, mostraron una actividad similar.

6.2.3. Actividad antiprotozoaria de la carboxamida híbrida 59 y sus núcleos precursores.

Como se mencionó anteriormente, el híbrido **59** ($CI_{50} = 0.016 \mu M$) y su ácido carboxílico precursor **7** ($CI_{50} = 0.019 \mu M$), mostraron una actividad antiprotozoaria similar, mientras que el núcleo **ANTZ** (IC_{50} de $0.372 \mu M$) presentó un valor 20 veces menos potente que éstos.

Dada la similitud de los valores obtenidos para los compuestos **59** y **7** se decidió descartar que la actividad de la carboxamida **59** correspondiera únicamente al ácido carboxílico **7** para lo cual se probó una mezcla física equimolecular del ácido **7** y el núcleo de **ANTZ**.

El resultado obtenido por la mezcla física mostró que para inhibir el 50 % del crecimiento de los trofozoítos de *G. intestinalis* se necesitó una concentración final de $0.0095 \mu g/mL$ de los cuales $0.0052 \mu g$ corresponden al ácido **7** y $0.0042 \mu g$ corresponden al **ANTZ**. (**Tabla 11**).

Al comparar estos valores con los obtenidos en los correspondientes ensayos para el ácido carboxílico **7**, la carboxamida **59** y el **ANTZ** (en $\mu g/mL$) se observó que los resultados son diferentes, por lo cual podemos decir que la actividad mostrada por la carboxamida **59** y el precursor **7** son características para cada uno de los compuestos probados. (**Tabla 11**)

Tabla 11. Actividad antiprotozoaria de la carboxamida híbrida **59** y sus núcleos precursores.

No.	Compuesto	CI ₅₀ ^a (μ M)	Conc. Final μ g /mL
7		0.019	0.0035
ANTZ		0.372	0.0540
59		0.016	0.005
Mezcla		nd	0.0095 .00524(ácido) .00425(ANTZ)

a. Concentración inhibitoria 50

nd = no se determinó

Además, para inhibir el 50 % del crecimiento de los trofozoítos de *G. intestinalis* la mezcla física requirió concentraciones pequeñas (0.0052 y 0.0042 μ g) comparadas con las concentraciones finales presentadas por los núcleos **7** y **ANTZ** (0.0035 y 0.0540 μ g), lo anterior, nos podría sugerir alguna relación de sinergismo o potenciación¹³ entre ambos núcleos.

7. CONCLUSIONES

- ❖ Los resultados obtenidos en este estudio permitieron comprobar la hipótesis de trabajo, puesto que las carboxamidas sintetizadas mostraron actividad giardicida.
- ❖ Se sintetizaron las carboxamidas bencimidazólicas: 2-Metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**59**); 1,2-Dimetil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**71**); 2-Metil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**16**); 1,2-Dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**18**) y {5(6)-[[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il}carbamato de metilo (**31**).
- ❖ Los compuestos sintetizados (**2-33**) así como las carboxamidas **16**, **18**, **31**, **59** y **71**, se identificaron mediante la utilización de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- ❖ La reacción de ciclocondensación de las 1,2-fenilendiaminas con ácido polifosfórico para la formación de los ésteres bencimidazólicos 2-metilados procedió con buenos rendimientos.
- ❖ La ruta alterna para la síntesis de carboxamidas bencimidazólicas 2-carbamato de metilo es una buena opción para la síntesis de 2-(aminocarbonil)-*N*-(1,3-tiazol-2-il)bencimidazol-5-carboxamidas.
- ❖ La actividad antiprotozoaria mostrada por las carboxamidas bencimidazólicas sintetizadas se ve incrementada por la presencia del hidrógeno en la posición 1.
- ❖ Las carboxamidas híbridas **59** y **71** (con grupo -NO₂) mostraron mejor actividad antiprotozoaria que sus correspondientes análogos **16** y **18** (sin grupo -NO₂), lo cual sugiere que el grupo nitro está actuando como grupo farmacofórico y que el mecanismo de acción de las carboxamidas bencimidazólicas nitradas podría ser dual,

uno vía la reducción del grupo nitro, como se menciona anteriormente para los derivados nitroheterocíclicos, y otro desconocido, semejante al de otras carboxamidas bencimidazólicas con actividad antiprotozoaria.

- ❖ Las carboxamidas bencimidazólicas **59** y **71** fueron 76 y 20 veces más potentes, respectivamente, que el metronidazol. Mientras que la carboxamida **59** fue 2 veces más potente que el albendazol.
- ❖ Los ácidos **7** y **22** fueron 10 veces más potentes que sus respectivas carboxamidas híbridas sin nitrar **16** y **31**.
- ❖ Los núcleos de 2-amino-5-nitrotiazol (**ANTZ**) y 2-aminotiazol (**ATZ**) mostraron buena actividad, 3 y 7 veces más potentes, comparadas con el fármaco de elección (metronidazol).
- ❖ A pesar de que los resultados obtenidos son preliminares, éstos son prometedores ya que hacen ver la potencialidad de estos derivados como nuevos agentes antiparasitarios.

8. PERSPECTIVAS

- ❖ Determinar las condiciones de reacción para la nitración de las 2-(aminocarbonil)-*N*-(1,3 tiazol-2-il)bencimidazol-5-carboxamidas.
- ❖ Iniciar estudios de estabilidad del compuesto **59** en el medio de cultivo y en el fluido intracelular de *G. intestinalis*.
- ❖ Determinar el mecanismo de acción de las carboxamidas **59** y **71** a nivel molecular.
- ❖ Determinar la actividad antiparasitaria *in vivo* de las carboxamidas más activas.
- ❖ Utilizar los resultados obtenidos para enriquecer la base de datos ya existente y poder generar otras moléculas activas mediante el estudio cuantitativo de las relaciones estructura-actividad (QSAR), para, posteriormente, incursionar en el diseño de fármacos asistido por computadora.

9. PARTE EXPERIMENTAL

9.1. Instrumentación

- * Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un aparato marca Büchi modelo B-540 mediante capilar y no fueron corregidos.
- * La evaporación de los disolventes se realizó a presión reducida empleando un rotaevaporador marca Büchi modelo RE 114, con vacío generado con una bomba marca GAST modelo 0523-V4F, baño de agua modelo B-480 y compresora VWR Scientific Modelo 1107.
- * La hidrogenación catalítica se realizó empleando un hidrogenador marca Parr Modelo 3916 EG con 60 lb/plg² y 250 cc como máxima capacidad, utilizando hidrógeno de tanque de la casa INFRA y como catalizador Pd/C al 5 % de la casa Aldrich.
- * Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier, marca Perkin Elmer modelo FT-IR-1600 en pastilla de bromuro de potasio (KBr), las señales se reportan en cm⁻¹.
- * Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN ¹H) se determinaron en un espectrómetro marca VARIAN modelo Unity Inova 300 MHz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolventes DMSO-d₆, CDCl₃ y D₂O para el intercambio de protones unidos a heteroátomos. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm).
- * Los espectros de masas (EM) se determinaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), por impacto electrónico (70 eV) y FAB⁺ en un

espectrofotómetro de masas JEOL Modelo JMS-SX-102. acoplado a un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard Modelo 5890 Serie II.

- * Para calcular el valor de $C \log P$ se empleó una computadora pentium 4 con el programa computacional ACD/Labs software v. 4.5 instalado, este programa se basa en la adición de los valores de π de Hansch para cada uno de los sustituyentes.

9.2. Cromatografía

- * El avance de las reacciones y la pureza de los productos obtenidos se determinaron por cromatografía en capa fina (ccf) en placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60 F₂₅₄ de la casa Merck. La visualización de los compuestos orgánicos se realizó con una lámpara de luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo.
- * Los sistemas de elución utilizados para la cromatografía en capa fina se enlistan en la siguiente tabla:

SISTEMA	COMPOSICIÓN	PROPORCIÓN
I	Cloroformo-Metanol	90:10
II	Cloroformo-Metanol ^a	90:10
III	Cloroformo-Metanol ^b	95:5
IV	Cloroformo-Acetona	65:35
V	Hexano-Cloroformo-Acetato de Etilo	50:35:15
VI	Cloroformo-Metanol	80:20
VII	Cloroformo-Acetona-Eter- Ac. Acético	10: 6:15:0.6
VIII	Cloroformo-Metanol ^b	90:10

^a10 mL de la mezcla + 2 gotas de hidróxido de amonio

^b10 mL de la mezcla + 2 gotas de ácido acético

9.3. Procedimientos generales de síntesis

A continuación se presentan los procedimientos de síntesis que se siguieron para un mismo tipo de transformación y que en particular, cada uno permitió la síntesis de varios compuestos.

9.3.1. Procedimiento general de *N*-acetilación de anilinas

En un vaso de precipitados apropiado, adaptado con baño de agua, agitación manual con varilla de Teflón o magnética y termómetro, se colocó el anhídrido acético y se le adicionó, poco a poco, y sin rebasar los 70 °C, la anilina por acetilar. La mezcla de reacción se agitó hasta que una ccf indicó el consumo total de la materia prima (30 min). Después, se vertió en agua y el sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua, con solución al 5 % de NaHCO₃, de nuevo con agua y se dejó secar al aire. El producto crudo, o una muestra, se purificó y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **2 y 11**

9.3.2. Procedimiento general de esterificación

En un matraz bola con tres bocas esmeriladas 24/40, adaptado con agitación magnética, termómetro, embudo de adición, columna Vigreux en posición de reflujo y baño de agua, se disolvió el ácido por esterificar en DMF y se adicionaron 2 equivalentes de NaHCO₃ disueltos en agua, se calentó entre 30 y 40 °C por 30 min y se verificó que el pH de la mezcla estuviera en 7. Posteriormente se adicionó, lentamente, el sulfato de dimetilo, la mezcla se calentó hasta 55-65 °C y se mantuvo así, con agitación, hasta que una ccf indicó el consumo total del ácido (2.5-3 h). Pasado este tiempo, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se vertió en agua, se agitó por 30 min y se filtró. El sólido residual se lavó con agua repetidas veces y se dejó secar al aire. El producto crudo se purificó por recristalización y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **3 y 9**

9.3.3. Procedimiento general de nitración

En un vaso de precipitados, acondicionado con baño de hielo-sal, agitación magnética y termómetro, se disolvió el compuesto por nitrar en H₂SO₄ concentrado. La disolución se hizo

por adición, poco a poco, del sustrato finamente pulverizado sobre el ácido frío a una temperatura entre 5 y 10 °C. Posteriormente, se goteó el HNO₃ concentrado, manteniendo la temperatura por debajo de 5°C. La mezcla de reacción se dejó en agitación en frío hasta que una ccf indicó el consumo total de la materia prima y después se vertió sobre hielo, se llevó a pH de 6 y el producto se aisló, purificó. y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **4 y 71**

9.3.4. Procedimiento general de hidrogenación catalítica

En una botella de hidrogenación de 500 mL se suspendieron, bajo atmósfera de nitrógeno, el nitro derivado por reducir y un 10 % en peso Pd/C al 5 % un disolvente adecuado. La botella se acopló al hidrogenador, se eliminó el aire presente en la botella mediante tres veces la admisión de hidrógeno (30 lb/plg²) seguido de expulsión por succión con vacío. Luego, se cargó con hidrógeno hasta 60 lb/plg² y se agitó hasta 30 min después de que ya no se consumió más hidrógeno. Durante el proceso de reducción se recargó la botella con hidrógeno hasta 60 lb/plg². Se anotó el consumo total de hidrógeno y el tiempo recurrido de reducción hasta que una ccf indicó el consumo total de la materia prima y la formación de una sola mancha. Posteriormente, la mezcla de reacción se filtró al vacío a través de un embudo Büchner con papel filtro grueso y celita para separar el catalizador. El filtrado se llevó a sequedad en el rotaevaporador, el residuo se purificó y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **5, 12, 20, y 30a**

9.3.5. Procedimiento general de ciclación catalizada con PPA

En un matraz bola de 100 mL con boca esmerilada 24/40, adaptado con un baño de aceite, una columna Vigreux en posición de reflujo y trampa de humedad en el extremo, se mezclaron el sustrato por ciclar, el ácido polifosfórico y el tolueno. Esta mezcla se calentó hasta llegar al reflujo y se mantuvo así hasta que una ccf indicó el consumo total de la materia prima. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se llevó a pH de 7 con NaHCO₃. El sólido color beige que precipitó se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se dejó secar al aire. El producto crudo se recrystalizó de agua y se

le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **6 y 13**

9.3.6. Procedimiento general de hidrólisis con KOH y H₂O en MeOH

En un matraz Kontes Taper apropiado, adaptado con termómetro, condensador en posición de reflujo, agitación magnética, canastilla de calentamiento y reóstato, se disolvió, o suspendió, el compuesto por hidrolizar en metanol y agua. A la mezcla se le adicionó, gota a gota, una solución de KOH en agua (1:1 p/v) y se calentó con agitación hasta que una ccf indicó la total hidrólisis. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se vertió en un vaso de precipitados, se acidificó con una solución de H₂SO₄ al 20 % hasta pH 4 y el precipitado formado se separó por filtración con vacío, se lavó repetidas veces con agua y se dejó secar al aire. El producto crudo se purificó y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **7, 14, 19, 22, 26, 27 de 4, 27 de 19 y 32**

9.3.7. Formación de cloruros de ácido con SOCl₂

En un matraz kontes Taper apropiado, acondicionado con termómetro agitación magnética, fuente de calentamiento externo, y un condensador de agua en posición de reflujo en cuyo extremo se colocó una trampa de humedad conectada a tres frascos lavadores en serie, el primero vacío y los dos últimos con solución de NaOH al 25%, se mezclaron el ácido carboxílico y el cloruro de tionilo en tolueno. La mezcla anterior se calentó hasta llegar al reflujo y se mantuvo así hasta que una ccf indicó el consumo total del ácido. Posteriormente se eliminó el tolueno y el exceso de cloruro de tionilo a presión reducida sin llegar a sequedad. Para eliminar las trazas de SOCl₂ se destiló nuevamente con tolueno (3 X 25 mL). El cloruro de ácido obtenido se empleó sin aislar para la siguiente reacción, o bien se aisló en algunos casos, se recrystalizó, se le determinaron sus propiedades físicas de punto de fusión y R_f cromatográfico, así como sus datos espectroscópicos y espectrométricos para su caracterización. Siguiendo este procedimiento se prepararon **15, 17, 28 y 33**.

9.3.8. Formación de carboxamidas híbridas

En un matraz Kontes Taper apropiado, equipado con un condensador de agua en posición de reflujo, trampa anhídrica, agitación magnética, termómetro y baño de agua, se mezclaron el cloruro de ácido y el aminotiazol en acetona o THF; después, lentamente se adicionó Et₃N. La mezcla se calentó hasta que una ccf indicó el consumo total del cloruro de ácido y luego se filtró en caliente y se lavó con acetona, o bien se dejó enfriar y se vertió en agua, se filtró. El producto crudo se purificó por recristalización de agua o acetonitrilo y se le determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Siguiendo este procedimiento se prepararon **16, 18, 29 y 59**.

9.3.9. Formación de 2-carbamatos de metilo

En un matraz Kontes Taper apropiado, adaptado con termómetro, tapón séptum de hule, agitación magnética, baño de hielo-sal y de preferencia un potenciómetro, se suspendió y agitó, a 5°C, el hemisulfato de *S*-metilisotiourea en H₂O, al cual se le adicionó el cloroformiato de metilo con ayuda de una jeringa. A esta mezcla se adicionó, lentamente, una solución de NaOH al 25%, a una velocidad tal, que el pH se aproximara a 7 a una temperatura de entre 10 y 15 °C. Después de haber logrado el pH de 7 se formó un precipitado blanco esponjoso. Este intermediario se empleó sin aislar inmediatamente después de haberse formado.

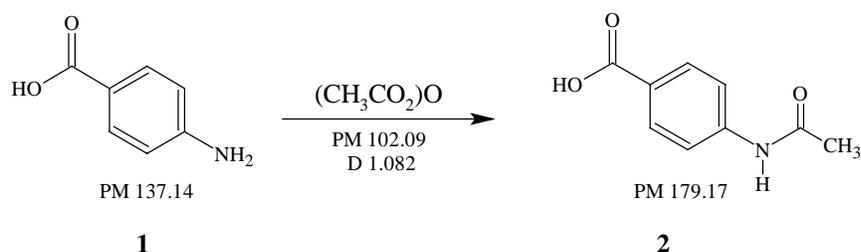
Por otro lado, en un matraz de bola adecuado con una boca esmerilada 24/40, acondicionado con agitación magnética y un condensador de agua en posición de reflujo, cuyo extremo superior se conectó a tres frascos lavadores, el primero vacío y los dos últimos con solución hipoclorito de sodio (blanqueador de ropa), se disolvió en frío la *o*-fenilendiamina en un volumen adecuado de solución amortiguadora de acetatos preparada con 15.4 mL de ácido acético, 5.46 g de acetato de sodio y 54.6 mL de H₂O. A esta solución se le incorporó la mezcla de reacción anterior y se calentó lentamente hasta llegar al reflujo donde se mantuvo con agitación por 2 h. Durante el calentamiento se detectó el desprendimiento de un gas (fétido) que se logró atrapar en los frascos lavadores con hipoclorito de sodio. Posteriormente, se retiró la fuente de calor y se dejó en agitación hasta que el sistema alcanzó la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtro dentro de una campana bien ventilada, el sólido

residual se lavó con abundante agua y se dejó secar al aire. Las aguas de filtrado y todo el material utilizado se sumergió en un vaso de precipitados con hipoclorito de sodio. El producto crudo se suspendió en metanol y la suspensión se mantuvo en agitación durante 2 h; transcurrido este tiempo, se filtró, se lavó con metanol frío y se dejó secar al aire. Al producto obtenido se le determinaron sus constantes físicas de p_f y R_f cromatográfico y sus datos espectroscópicos y espectrométricos. Siguiendo este procedimiento se prepararon **21**, **22**, **25** y **31**.

Una vez establecidos los procedimientos generales de síntesis, ahora se describen los procedimientos particulares por grupo de compuestos

9.4. Procedimientos experimentales para la preparación de los intermediarios 2-14 de las carboxamidas 2-metilbencimidazólicas

9.4.1. Ácido 4-Acetamidobenzoico (2)

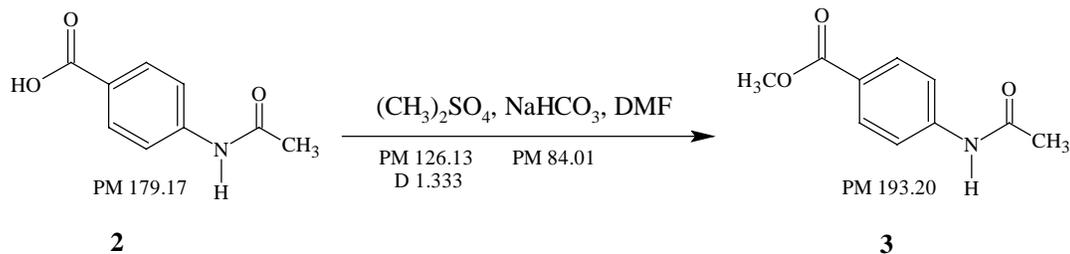


Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.1**. Se partió de 537 mL (581g, 5.69 mol, 1.95 eq) de anhídrido acético y 400 g (2.9167 mol) de ácido 4-aminobenzoico (**1**). Se obtuvieron 496.6 g (95 %) de un sólido blanco. Recristalizado de EtOH/H₂O dio un 70 % de cristales color crema en forma de hojuelas con un p_f de 259.1-259.7 °C, [Lit.³¹ 259-262 °C]; una sola mancha por ccf ($R_f = 0.15$, Sistema II).

IR (KBr): 3305, 2823, 2550, 1671, 1607- 1425 cm^{-1} . **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ : 2.92(s, 3H, COOCH₃), 7.69(dd, $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 1.95$ Hz, 2H, H-3, H-5), 7.87(dd, $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 1.95$ Hz, 2H, H-2, H-6), 10.24(s, 1H, int. con D₂O, N-H), 12.68 (sa, 1H, int. con D₂O, COOH).

EM (IE) m/z : 179(M^+ , 47 %); 137 (M^+ -42, 100 %); 120 (M^+ -42-17)

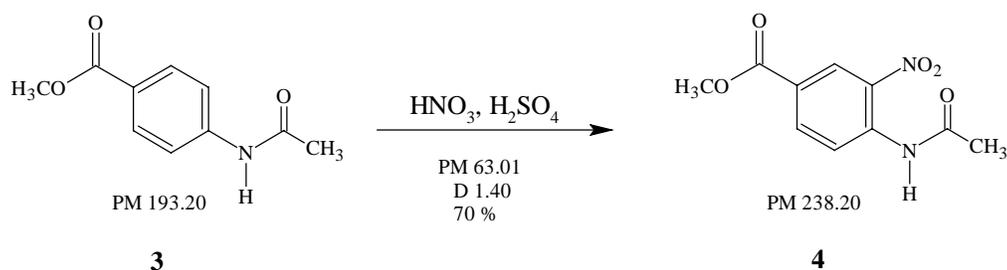
9.4.2. 4-(Acetilamino)benzoato de metilo (3)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.2. Se partió de una mezcla de 100 g (0.5072 mol) de ácido 4-acetamido benzoico (2) en 300 mL de DMF y una solución de 94 g (1.1189 mol, 2.2 eq) de NaHCO_3 en 100 mL de H_2O , a la cual se le adicionaron 79.5 mL (105.97 g, 0.8402 mol, 1.66 eq) de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$. Se obtuvieron 97.7 g (99 %) de un sólido blanco. Recristalizado de MeOH dio 83.88 g (86 %) de agujas de color blanco con pf de 128.0-129.3 °C, [Lit.³¹ 128.3-128.7 °C]; una sola mancha por ccf (R_f 0.45, Sistema III)

IR (KBr): 3360, 1686, 1524, 1443 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 2.07(s, 3H, NHCOOCH_3), 3.81(s, 3H, COOCH_3), 7.69-7.33 (m, 2H, H-3, H-5), 7.87-7.92 (m, 2H, H-2, H-6), 10.28 (s, 1H, int. con D_2O , NHCOOCH_3). **EM (IE) m/z :** 193 (M^+ , 49 %); 120 (M^+-73 , 100 %), 151 (M^+-42)

9.4.3. 4-(Acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (4)

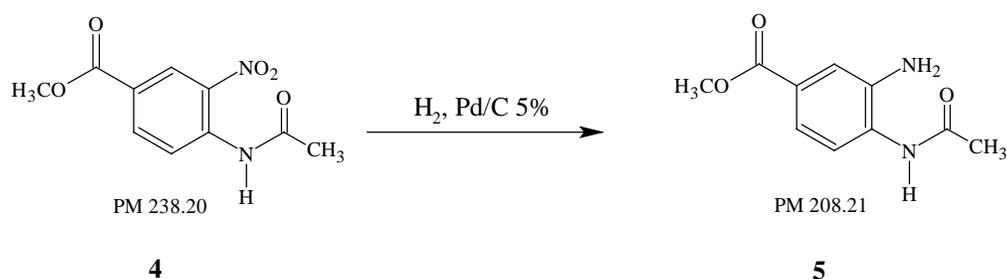


Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.3. Se partió de 20 g (0.1035 mol) de 4-acetamidobenzoato de metilo (3) disueltos en 80 mL de H_2SO_4 concentrado a los que se le adicionaron 9 mL (12.78 g de sln, 8.946 g, 0.1420 mol, 1.37 eq.) de HNO_3 concentrado. Se obtuvieron 22.2 g (90 %) de un sólido amarillo. Recristalizado de MeOH dio

16.2 g (73 %), de agujas amarillas con pf de 128.8-129.6 °C, [Lit ³¹ 129.4-130.0 °C]; una sola mancha por ccf (R_f de 0.54, Sistema I).

IR (KBr): 3353, 2961, 1380, 1719, 1619, 1508, 1300 y 1260 cm^{-1} . **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 2.12(s, 3H, NHCOOCH_3), 3.88(s, 3H, COOCH_3), 7.85(d, $J_o = 8.4$ Hz, H-5), 8.19-8.22(dd, $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 2.10$ Hz, H-6), 8.38(d, $J_m = 2.10$ Hz, H-2), 10.56(sa, 1H, int. con D_2O , NHCOOCH_3). **EM (IE) m/z :** 238 (M^+ , 20 %); 196(M^+-42 , 100 %), 165($\text{M}^+-42-31$).

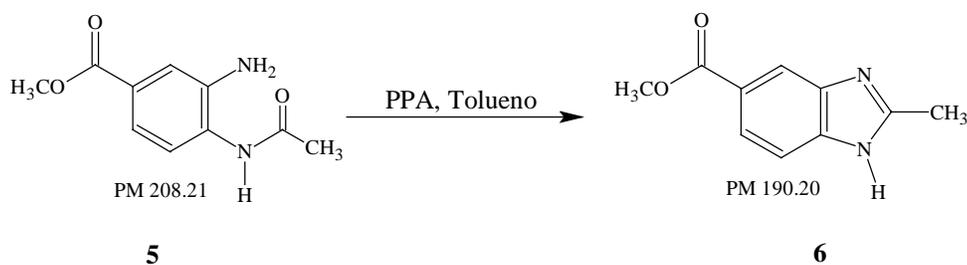
9.4.4. 4-(Acetilamino)-3-aminobenzoato de metilo (5)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.4**. Se partió 20g (0.0840 mol) de 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo(**4**) y 2.0 g de Pd/C al 5 % en 150 mL de metanol. Se consumieron 561 lb/plg² de hidrógeno en 2h. Se obtuvieron 14.19 g (81 %) de agujas cristalinas con pf de 187.2–187.9 °C; una sola mancha por ccf (R_f 0.28, Sistema I).

IR (KBr): 3416, 3355, 3284, 2952, 1713, 1651, 1446 cm^{-1} . **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 2.90(s, 3H, COOCH_3), 3.98(s, 3H, NHCOOCH_3), 7.47(sa, 2H, int. con D_2O , NH_2), 7.71(d, 1H, $J_m = 1.49$ Hz, H-2), 7.89(dd, 1H, $J_o = 8.69$ Hz, $J_m = 1.79$ Hz, H-6), 8.23(d, $J_o = 8.69$ Hz, H-5), 8.39(sa, 1H, int. con D_2O , NHCOOCH_3). **EM (IE) m/z :** 208 (M^+ , 90 %); 166 (M^+-42 , 100 %), 135 ($\text{M}^+-42-31$), 107($\text{M}^+-42-31-28$).

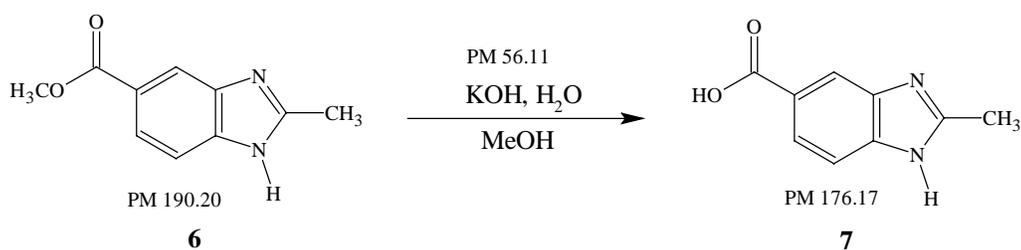
9.4.5. 2-Metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (6)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.5. Se mezclaron 10.47 g (0.0503 mol) de 4-acetamido-3-aminobenzoato de metilo (5), 26.18 g de ácido polifosfórico y 30 mL de tolueno se calentó durante 3 h con ayuda de un baño de aceite. Se obtuvieron 8.55 g de producto crudo, 7.35 g (77 %) de un sólido con pf de 175.9-177.3 °C recristalizado; una sola mancha por ccf ($R_f = 0.74$, Sistema I).

IR (KBr): 3416, 2951, 2681, 1694, 1716 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 2.53(s, 3H, 2- CH_3), 3.85(s, 3H, COOCH_3), 7.54 (d, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, H-7), 7.78(dd, 1H $J_o = 8.40$ Hz, $J_m = 1.50$ Hz, H-6), 8.07(d, $J_m = 1.50$ Hz, H-4), 12.57(sa, 1H, int. con D_2O , N-H). **EM (IE) m/z :** 190 (M^+ , 83 %); 159 ($\text{M}^+ - 31$, 100 %), 131 ($\text{M}^+ - 31 - 28$).

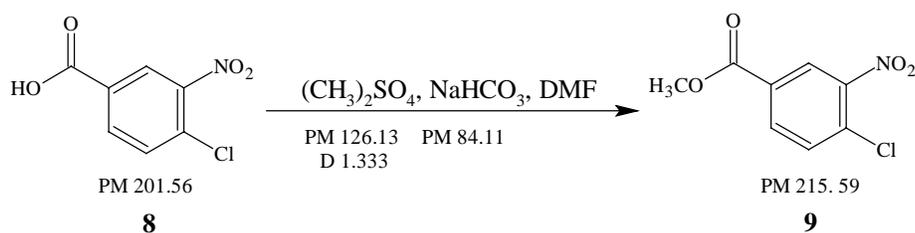
9.4.6. Ácido-2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (7)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.6. Una solución 8.0 g (0.0421 mol) de 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (6) en una mezcla de 77 mL de metanol y 191 mL de H_2O se le goteó una solución concentrada de KOH (5.15 g, 0.0918 mol, 2.18 eq. en 5 mL de H_2O) y se calentó a 75-78 °C por 3 h. El producto crudo se recristalizó de etanol dando 6.58 g (89 %) de cristales color beige, una sola mancha por ccf ($R_f = 0.11$, Sistema I) y un punto de fusión de 310.4-311.2 °C (con descomposición).

IR (KBr): 3330, 2503, 1632, 1555, 1361 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 2.50(s, 3H, CH_3), 7.49(d, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, H-7), 7.74(dd, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, $J_p = 1.8$ Hz, H-6), 8.03(s, 1H, H-4), 12.53(sa, 1H, int con D_2O , COOH). **EM (IE) m/z :** 176 (M^+ , 100 %); 159 ($\text{M}^+ - 17$, 73 %), 131 ($\text{M}^+ - 17 - 28$).

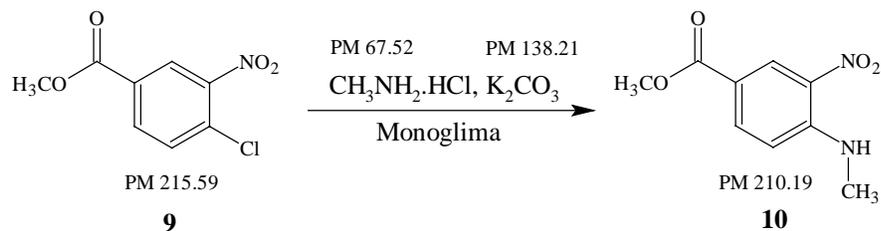
9.4.7. 4-Cloro-3-nitrobenzoato de metilo (9)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.2**. Una mezcla de 200.0 g (0.9923 mol) de ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (**8**) y 166.68 g (1.9817 mol) de NaHCO_3 disueltos en H_2O , en 600 mL de DMF se trató con 187.68 g (140.79 mL, 1.4880 mol) de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ y se obtuvieron 179.38 g (84 %) recristalizados de MeOH. Cristales amarillos con $\text{p}f$ de 80.7-82.0 $^\circ\text{C}$; una sola mancha por ccf (R_f 0.41, Sistema V).

IR (KBr): 2961, 1716, 1538, 1248 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 3.89 (s, 3H, OCH_3), 7.93 (d 1H, $J_o = 8.40$ Hz, H-2), 8.18 (dd, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, $J_m = 2.0$ Hz, H-6), 8.51 (d, 1H, $J_m = 2.0$ Hz, H-2). **EM (IE) m/z :** 215 (M^+ , 40 %), 217 (M^{+2} , 14 %), 184 ($\text{M}^+ - 31$, 100 %), 186 ($\text{M}^{+2} - 31$, 34 %), 138 ($\text{M}^+ - 77$, 34 %).

9.4.8. 4-(Metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (10)

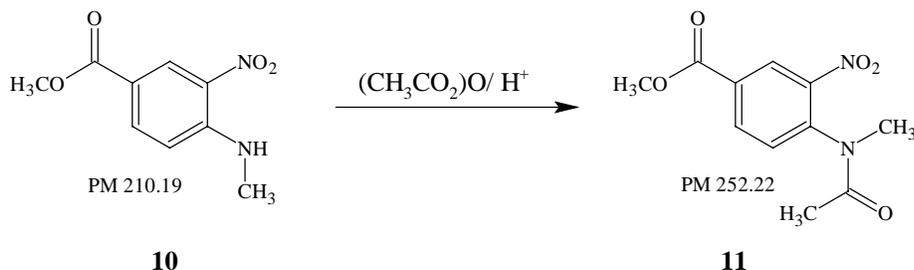


En un reactor Parr de 300 mL se mezclaron 7.20 g (0.0334 mol) de 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (**9**), 13.54 g (0.0980 mol) de K_2CO_3 , 8.92 g (0.1321 mol) de $\text{CH}_3\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$, 7.0 mL de

H₂O y 200 mL de monoglíma. El reactor se cerró y se calentó con agitación a 130°C durante 2 h. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y el líquido sobrenadante se decantó y concentró a sequedad en el rotaevaporador. Se obtuvo un sólido amarillo que se suspendió en agua, se separó por filtración con succión, se lavó repetidas veces con agua fría y se dejó secar al aire. Se obtuvieron 6.73g de producto crudo. Una recrystalización de 2 g en etanol dio 1.81 g (90 %) de cristales amarillos con un pf de 145.2-146.0 °C, una sola mancha en la ccf (R_f 0.38, Sistema V).

IR (KBr): 3365, 2920,1708, 1623,1224 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 3.09 (d, 3H, *J* = 4.8 Hz, N-CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 6.86(d, 1H, *J_o* = 9.0 Hz, H-5), 8.08 (dd, 1H, *J_o* = 9.0 Hz, *J_m* = 2.1 Hz, H-6), 8.35 (sa, 1H, *J_m* = 1.8 Hz, H-2). **EM (IE) *m/z*:** 210(M⁺, 100 %), 173(M⁺-37, 50 %), 145(M⁺-37-28).

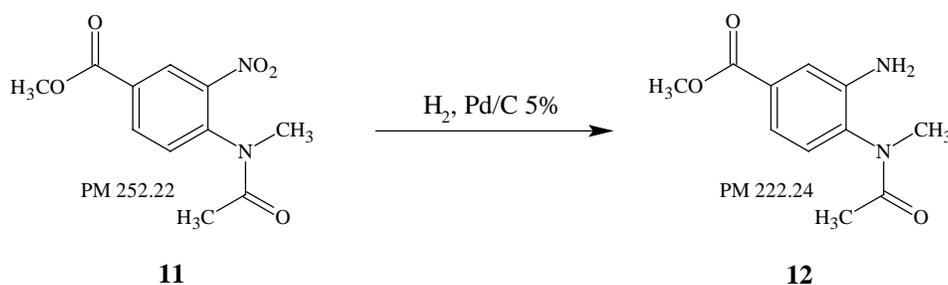
9.4.9. 4-[Acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (11)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.1**. Se partió de una mezcla de 5 g (0.0238 mol) de 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**10**) y 31 mL de anhídrido acético, la cual se calentó a 30 °C y se le goteó 0.9 mL de H₂SO₄ conc., como catalizador. La mezcla de reacción se mantuvo en esas condiciones por media hora. Una vez transcurrido este tiempo se vertió sobre 30 mL de agua fría dejándose en agitación durante 30 minutos, formándose un precipitado amarillo el cual se filtró, lavo una vez con solución de NaHCO₃ al 5% y después con agua. El producto crudo obtenido se recrystalizó de EtOH/H₂O dando un total de 5.76 g (96 %) de cristales con un pf de 100.1-100.9 °C; una sola mancha en la ccf (R_f 0.45, Sistema IV).

IR (KBr): 2958, 1725, 1316, 1297, 1664, 1539, 1274 y 1261 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 1.84 (s, 3H, NCOCH_3), 4.01(s, 3H, OCH_3), 7.52(d, 1H, $J = 8.39$ Hz, H-5), 8.36 (dd, 1H, $J_o = 8.24$ Hz, $J_m = 1.5$ Hz, H-6), 8.64 (d, 1H, $J_m = 1.8$ Hz, H-2). **RMN ^{13}C δ :** 21.9 (COCH_3), 36.6 (NCH_3), 52.9 (OCH_3), 131.5 C1, 126.7 C2, 131.2 C5, 134.9 C6, 141.4 C4, 146.6 C3, 163.9 OCO , 192.2 NCO . **EM (FAB $^+$) m/z :** 253 (M^+ , 100 %), 211 ($\text{M}^+ - 42$)

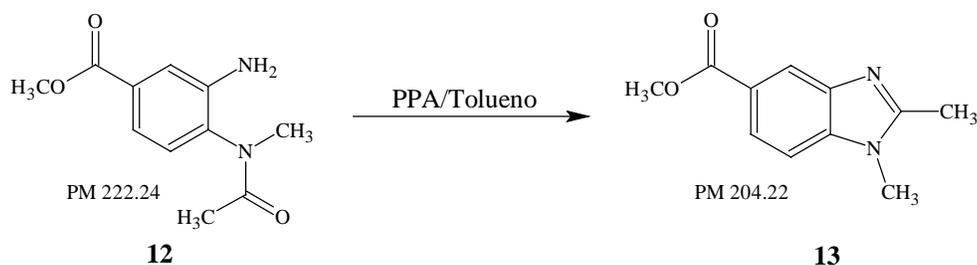
9.4.10. 4-[Acetil(metil)amino]-3-aminobenzoato de metilo (12)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.4. Una mezcla de 8.0 g (0.0317 mol) de 4-[acetil(metil)amino]-3-nitrobenzoato de metilo (**11**) y 0.4 g de Pd/C al 5% en 200 mL de MeOH consumió 120 lb de H_2 en un lapso de 1.5. El producto crudo que se obtuvo se recrystalizó de agua, bisulfito de sodio y carbón activado bajo atmósfera de nitrógeno, dando un total de 2.47 g (35 %) de cristales blancos con pf de 160.0-160.7 $^\circ\text{C}$; una sola mancha en la ccf (R_f 0.24, Sistema V).

IR (KBr): 3397, 2995, 2951, 2845, 1706 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 2.54(s, 3H, COOCH_3), 3.75(s, 3H, $\text{N(CH}_3\text{)COOCH}_3$), 3.84(s, 3H, NR-CH_3), 7.57(dd, 1H, $J = 8.40$ Hz, $J = 0.60$ Hz, H-5), 7.82(dd, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, $J_m = 1.50$ Hz, H-6), 8.10(dd, 1H, $J_m = 1.50$ Hz, H-2). **EM (IE/ID) m/z :** 222(M^+ , 18 %), 180($\text{M}^+ - 42$, 100 %), 149($\text{M}^+ - 42 - 31$).

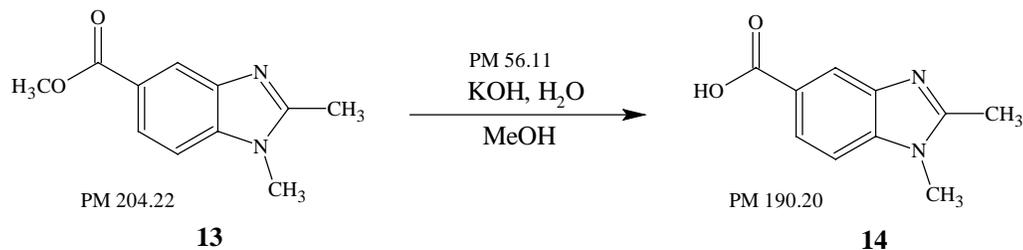
9.4.11. 1,2-Dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (13)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.5. Se partió de una mezcla de 3.5 g (0.0157 mol) de 4-[acetil(metil)amino]-3-aminobenzoato de metilo (**12**), 17.5 g de ácido polifosfórico y 15 mL de tolueno, la cual se calentó 1 h. El producto crudo se recrystalizó de agua dando un total de 2.64 g (82 %) de un sólido con un pf de 160.3-161 °C; una sola mancha en al ccf (R_f 0.76, Sistema IV).

IR (KBr): 2950, 2846, 1705, 1296 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 2.54(s, 3H, C-CH₃), 3.75(s, 3H, N-CH₃), 3.84(s, 3H, COOCH₃), 7.57(d, *J*_o = 8.40 Hz, H-7), 7.82 (dd, 1H, *J*_m = 1.50 Hz, *J*_o = 8.40 Hz, H-6), 8.10(sd, *J*_m = 1.50 Hz, H-4). **EM m/z:** 204(M⁺, 69 %), 173(M⁺-31, 100 %), 145(M⁺-31-28, 34 %).

9.4.12. Ácido 1,2-dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (14)



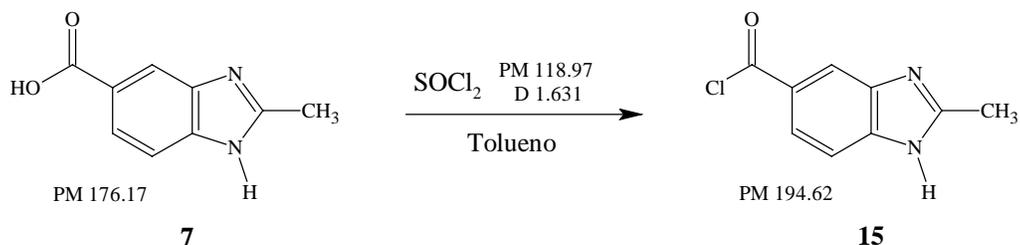
Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.6. Se partió de una solución de 2.5 g (0.0122 mol) de 1,2 dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**13**) en 30 mL de MeOH y 60 mL de H₂O a la cual se le adicionó 1.0 g (0.0178 mol, 1.46 eq) de KOH disuelto en 10 mL H₂O. La mezcla se calentó 75-80°C por 3 h con agitación. El producto

crudo obtenido se recristalizó de MeOH/H₂O. Se obtuvieron 1.7848 g (77 %) de cristales blancos con pf de 295.2-295.8 °C; una sola mancha en la ccf (R_f 0.36, Sistema III).

IR: 3450, 2949, 1693 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 2.57(s, 3H, C-CH₃), 3.77(s, 3H, N-CH₃), 7.59(dd, 1H, *J*_o = 8.70 Hz, *J*_p = 0.6 Hz, H-7), 7.84 (dd, 1H, *J*_o = 8.70 Hz, *J*_m = 1.5 Hz, H-6), 8.10(d, *J*_m = 1.20 Hz, H-4), 12.65(sa, 1H, int. con D₂O, COOH). **EM (IE) *m/z*:** 190 (M⁺, 100 %), 173 (M⁺-17, 79 %), 145(M⁺-17-28).

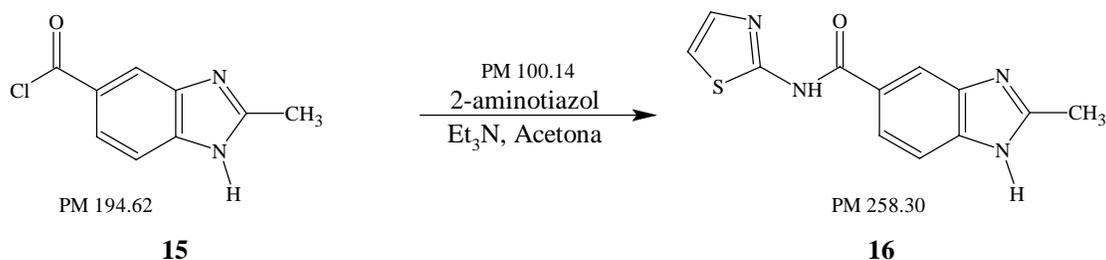
9.5. Procedimientos experimentales para la preparación de las *N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamidas metiladas 16 y 18.

9.5.1. Cloruro de 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carbonilo (15)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.7. Una mezcla de 3.80 g (0.0216 mol) de ácido-2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**7**), 12.77 g de SOCl₂ (7.83 mL, 0.1494 mol, 4.97 eq) y 40 mL de tolueno se calentó por 4 h. El sólido obtenido no se purificó y se utilizó tal cual en la siguiente reacción.

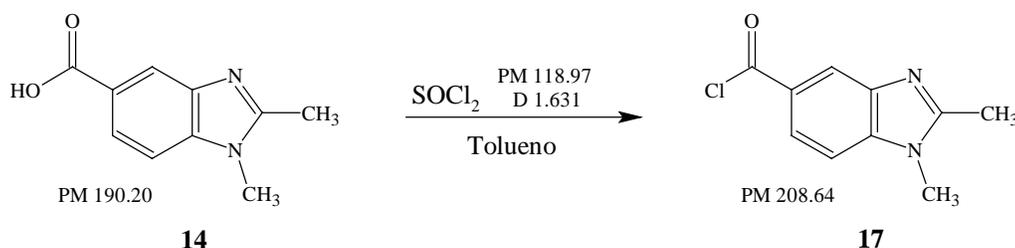
9.5.2. 2-Metil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (16)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.8**. Se partió de 3.8 g (0.0195 mol) de cloruro de 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo (**15**), 2.01 g (0.0201 mol, 1.028 eq) de 2-aminotiazol, 40 mL de acetona y 5.4 mL (2 eq) de Et₃N, los cuales se calentaron por 4 h aire. El producto crudo se recristalizó de agua obteniéndose 4.31 g (86 %) de cristales color beige con pf de 260.0-262.6 °C; una sola mancha por ccf (R_f 0.18, Sistema I).

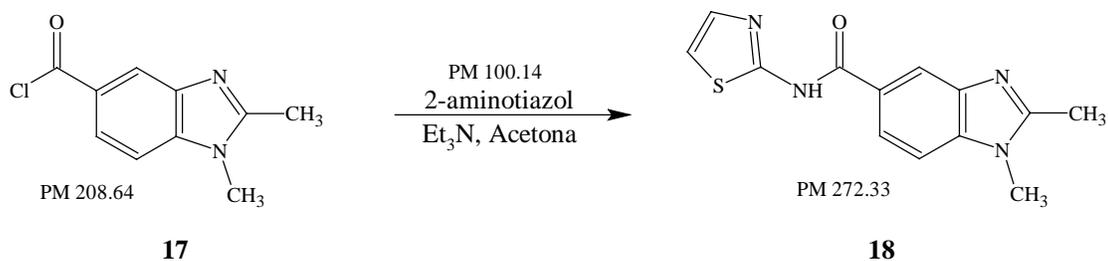
IR (KBr): 3206, 1545, 1323 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 2.50(s, 3H, CH₃), 7.24(sd, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-3 tiazol), 7.53 (sd *J* = 3.6 Hz, 1H, H-4 tiazol), 7.50(d, *J*_o = 8.40 Hz, 1H H-7), 7.91(dd, *J*_o = 8.49 Hz, *J*_m = 1.50 Hz, 1H, H-6), 8.29(sd *J*_m = 1.2, 1H, H-4), 12.55 (sa, 2H, int. con D₂O, N-H). **EM (IE)** *m/z*: 258 (M⁺, 15 %), 159 (M⁺-99, 100 %), 131(M⁺-99-28).

9.5.3. Cloruro de 1,2 dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo (**17**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.7**. Una mezcla de 1.30 g (0.0068 mol) de ácido 1,2 dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**14**) y 4.85 g (2.96 mL, 0.0408 mol, 6.8 eq.) de cloruro de tionilo en 30 mL de tolueno se calentó por 4 h. El sólido obtenido no se purificó y se utilizó tal cual en la siguiente reacción.

9.5.4. 1,2-Dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (18)

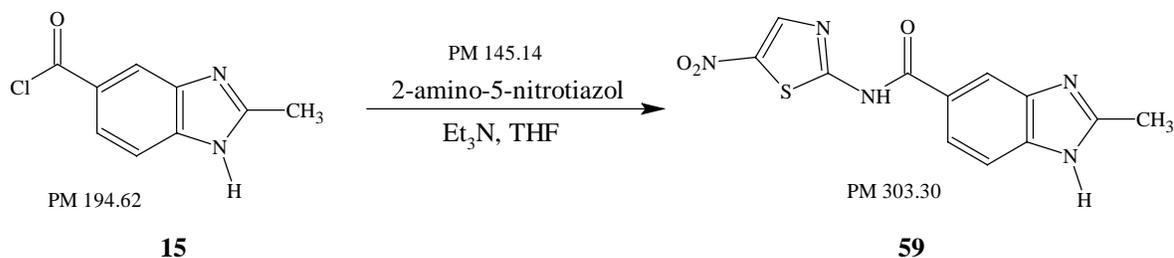


Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.8. Se partió de 1.41 g (0.0068 mol) de cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-bencimidazol-5-carbonilo (**17**), 0.681 g (0.0068 mol, 1 eq), de 2-aminotiazol, 25 mL de acetona y 1.10 mL de Et₃N. Se calentó durante 4.5 h. El producto crudo se recrystalizó de MeOH/H₂O dando 1.39 g (75 %) de cristales color beige con pf de 268.8-269.4 °C y una sola mancha por ccf (R_f de 0.31, Sistema I).

IR (KBr): 3423, 2964, 1658, 1127 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 2.88(s, 3H, 2-CH₃), 3.01(s, 3H, N-CH₃), 7.25(d, *J* = 3.30 Hz, 1H, H-5 tiazol), 7.54 (d *J* = 3.60 Hz, 1H, H-4 tiazol), 7.60(d, 1H, *J* = 8.40 Hz, H-7), 7.97(dd, *J* = 1.80 Hz, *J* = 8.40 Hz, H-6), 8.34(d, *J* = 1.50 Hz, 1H, H-4), 13.03(sa, 1H, int. con D₂O, N-H). **EM (IE) *m/z*:** 272(M⁺, 20 %), 173 (M⁺-99, 100 %), 145(M⁺-99-28).

9.6. Procedimientos experimentales para la preparación de las *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamidas metiladas 59 y 71

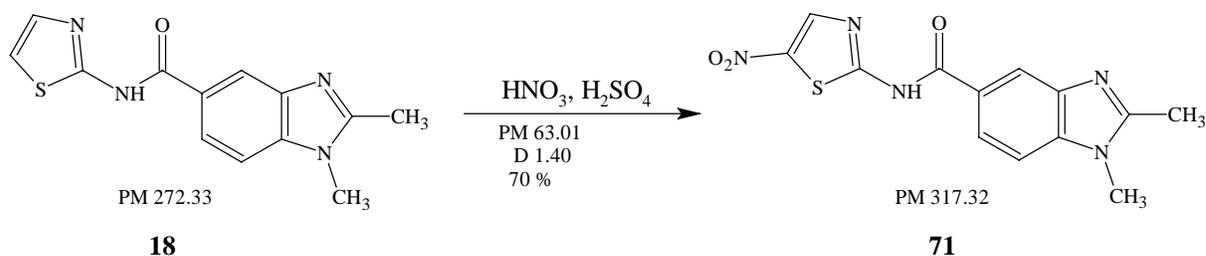
9.6.1. 2-Metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (59)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.8**. En esta reacción se mezclaron 1.10 g (0.0056 mol) de cloruro de 2-metil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carbonilo (**15**), 0.82 g (0.0056 mol, 1 eq) de 2-amino-5-nitrotiazol y 2.5 mL de THF se agitó vigorosamente y se adicionó 0.8 mL de Et₃N; la temperatura se incrementó hasta 60 °C, donde se mantuvo por 1 h. El sólido obtenido resultó ser una mezcla de tres productos principales: uno con R_f de 0.69 correspondiente a la materia prima 2-amino-5-nitrotiazol, el segundo con R_f de 0.60 posible producto y el tercero con R_f = 0.0. La mezcla de productos se suspendió en H₂O/H⁺ (pH = 6) y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 1 h, después, se filtró, se lavó con agua y se dejó secar. El producto crudo se recrystalizó de acetonitrilo con carbón activado, obteniéndose 320 mg (19 %) de cristales amarillos con pf de 289.9-291.3 °C; una sola mancha en la ccf (R_f de 0.60, Sistema I).

IR (KBr):3359, 3114, 2915, 1671, 1537, 1350 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 2.53(s, 3H, 2-CH₃), 7.58(d, *J*o = 8.7 Hz, 1H, H-7), 7.94 (dd *J* = 1.20 Hz, 1H, H-6), 8.34(s, 1H, H-4), 8.68(s, 1H, H-4 tiazol), 13.03(sa, 2H, int. con D₂O, N-H). **EM (FAB⁺)** *m/z*: 304 (M+1, 14 %).

9.6.2. 1,2-Dimetil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**71**)



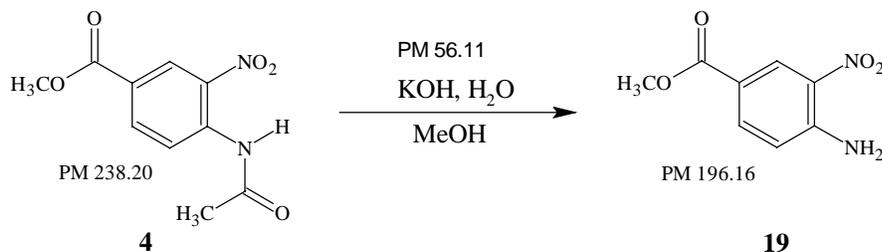
Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.3**. Una solución de 0.30 g (1.1 mmol) de 1,2-dimetil-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**18**) en 10 mL de H₂SO₄ concentrado se trató con 0.08 mL (0.0784 g, 1.1 mmol) de HNO₃ concentrado durante 2 h (0-5°C). El producto crudo se extrajo del agua con AcOEt (3 X 75 mL) y el sólido se suspendió en hexano, se agitó durante 1 h; posteriormente, se filtró, se lavó con hexano y se

dejó secar al aire. Se obtuvieron 137 mg (39 %) de un sólido amarillo con pf de 304-308 °C (con descomposición); una sola mancha por ccf (R_f de 0.45, Sistema I).

IR (KBr): 3406, 2927, 1654, 1541, 1355 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 2.57(s, 3H, C-CH₃), 3.78 (s, 3H, N-CH₃), 7.65 (d, *J* = 8.40 Hz, 1H, H-6), 8.02 (d *J* = 8.70 Hz, 1H, H-7), 8.41 (s, 1H, H-4), 8.69(s, 1H, H-4, Tiazol). **EM (FAB⁺)** *m/z*: 318 (M⁺, 16 %).

9.7. Metodología seguida para la síntesis de los intermediarios 19-34 de las carboxamidas bencimidazólicas 2-carbamato de metilo.

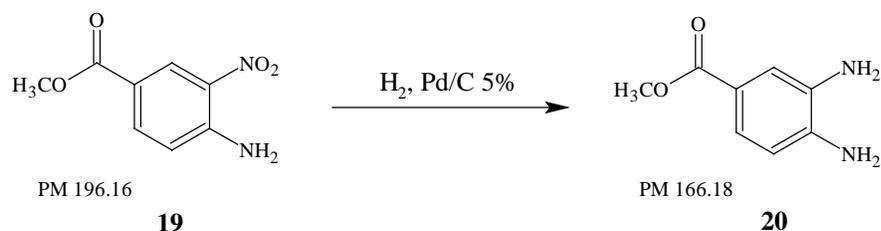
9.7.1. 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (19)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.6. Se partió de 25 g (0.1050 mol) de 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4) en 300 mL de metanol y 8.84 g (0.1575 mol, 1.5 eq) de KOH disueltos en 10 mL de H₂O. El producto crudo se recrystalizó de MeOH dando 18.5 g (90 %) de agujas amarillas con un pf de 197-202 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.42, Sistema VI).

IR (KBr): 3475, 3341, 2962, 1701, 1632, 1356, 1477 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 3.79 (s, 3H, COOCH₃), 7.15(d, 1H, *J*_o = 9.0 Hz, H-5), 7.84 (dd, 1H, *J*_o = 9.0 Hz, *J*_m = 2.10 Hz, H-6), 7.98 (sa, 2H, int. con D₂O, NH₂), 8.53 (d, 1H, *J*_m = 2.10 Hz, H-2). **EM (IE)** *m/z*: 196 (M⁺, 100 %), 165 (M⁺-31, 99 %), 119(M⁺-31-46).

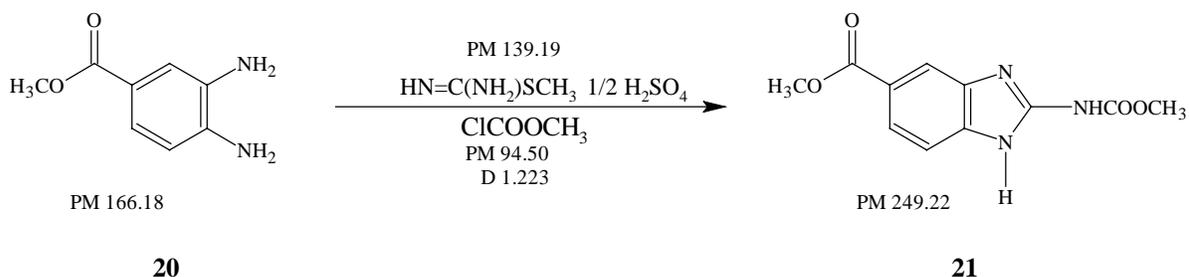
9.7.2. 3,4- Diaminobenzoato de metilo (20)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.4**. Se partió de 18.60 g (0.0948 mol) de 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**19**) y 0.9 g de Pd/C al 5% en 200 mL de etanol absoluto. La reacción se llevó acabo en 2 h consumiéndose 286 lb/plg² de hidrógeno. El producto crudo se recrystalizó de agua con bisulfito de sodio y carbón activado bajo atmósfera de nitrógeno. Se obtuvieron 10 g (63 %) de agujas con color café con pf de 107.4-108.5 °C; una mancha principal por ccf (R_f. 0.55, Sistema II).

IR (KBr): 3435 y 3363, 1692, 1628 y 1453, 1317 y 1295 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 3.69(s, 3H, COOCH₃), 4.65 (s, 2H, NH₂, en C-3, int. con D₂O), 5.27(s, 2H, NH₂, en C-4, int. con D₂O), 6.48(d, *J*_o = 8.09 Hz, 1H, H-5), 7.07(dd, *J*_o = 8.9 Hz, *J*_m = 2.10 Hz), 7.14 (d, *J* = 1.79 Hz, 1H H-2). **EM (IE) m/z:** 166 (M⁺, 100 %); 135 (M⁺-31, 83 %) 107 (M⁺-31-28).

9.7.3. 2-[(Metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (21)



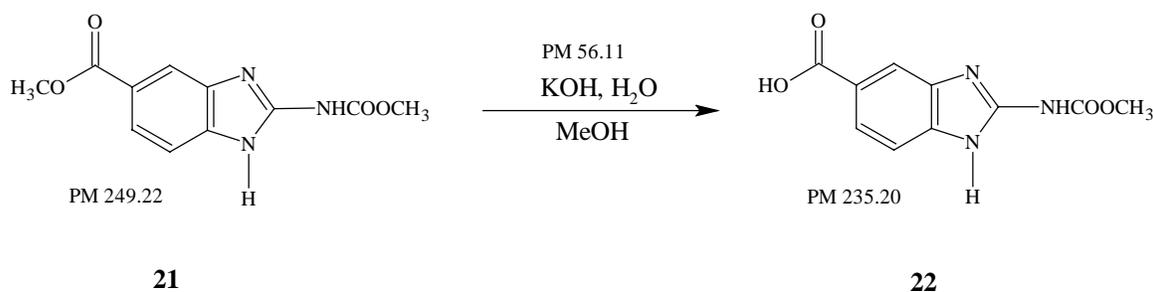
Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.9**. Por un lado se formó el precipitado esponjoso a partir de 9.41 g (0.0676 mol) de hemisulfato de *S*-metilisotiourea en 31 ml de H₂O y 12.79 g (10.5 mL, 0.1353 mol, 2 eq) de cloroformiato de metilo. Por otro lado,

el precipitado anterior se adicionó a una disolución de 10.3 g (0.0620 mol) de 3,4-diaminobenzoato de metilo, obtenido con anterioridad, en 70 mL de solución amortiguadora de acetatos y se llevó al reflujo donde se mantuvo con agitación por 2 h. El producto crudo se suspendió en metanol con agitación durante 2 h. Se obtuvieron 12.27 g (79 %) de un sólido rosa con pf de 297.4-298.1 °C; una sola mancha en la ccf (R_f de 0.41, Sistema I).

IR(KBr): 3372, 2956, 1731, 1708, 1262 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 3.76(s, 3H, NHCOOCH_3), 3.82(s, 3H, COOCH_3), 7.45(d, 1H, $J = 8.40$ Hz, H-7), 7.72(dd, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, $J_m = 1.80$ Hz, H-6), 8.02(sd, 1H, H-4), 11.84(sa, 2H, int. con D_2O , NH). **EM(FAB $^+$):** m/z : 250 (M^{+1} , 11 %).

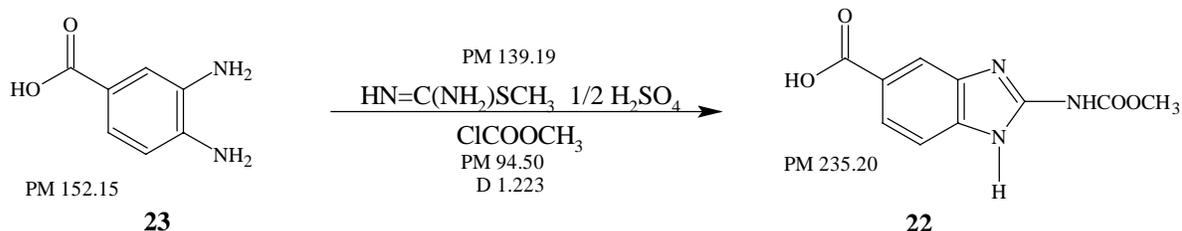
9.7.4. Ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (22)

- A partir de 2-[(Metoxicarbonil)amino]-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (21)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.6. Se partió de 4.0572 g (0.0163 mol) de 2-[(metoxicarbonil)amino]-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (21), 86 mL de H_2O , 42.9 mL de MeOH y 1.95 g (0.0348 mol) de KOH disueltos en 10 mL de agua. Se obtuvieron 3.02 g (79 %) de un sólido rosa con pf de 385-388 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.16, Sistema I).

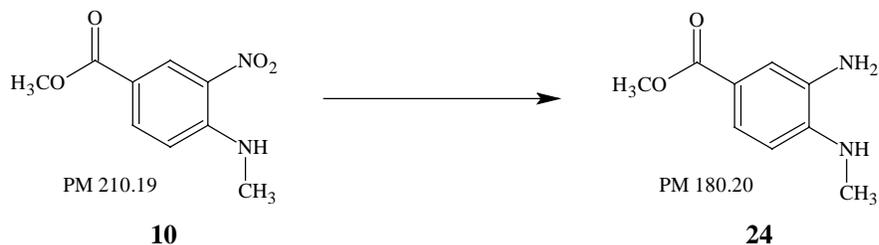
- A partir del Ácido 3,4-diaminobenzoico (23)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.9**. Por un lado se formó el precipitado esponjoso a partir de 4.59 g (0.0330 mol) de hemisulfato de *S*-metilisotiourea en de 16.6 mL H₂O y de 6.69 g (5.47 mL, 0.0708 mol, 2.14 eq) cloroformiato de metilo. Por otro lado, el precipitado anterior se adicionó a una disolución de 5.0 g (0.329 mol) de ácido 3,4-diaminobenzoico (**23**) en 30 mL de solución amortiguadora de acetatos y se llevó al reflujo donde se mantuvo con agitación por 2 h. El producto crudo se suspendió en metanol con agitación durante 2 h. Se obtuvieron 7.22 g (93 %) de un sólido café con pf de 385-388 °C.

IR(KBr): 3305,2954-2672, 1684, 1647 y 1106 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)δ:** 3.76 (s, 3H, NHCOOCH₃), 7.43(d, 1H, *J*_o = 8.40 Hz, H-7), 7.72(dd, 1H, *J*_o = 8.40 Hz, H-6), 8.01(d, 1H, *J*_m = 1.20 Hz, H-4), 12.08(sa, 1H, int. con D₂O, COOH). **Espectro 24 EM (FAB⁺) *m/z*:** No se pudo determinar el pico M⁺¹.

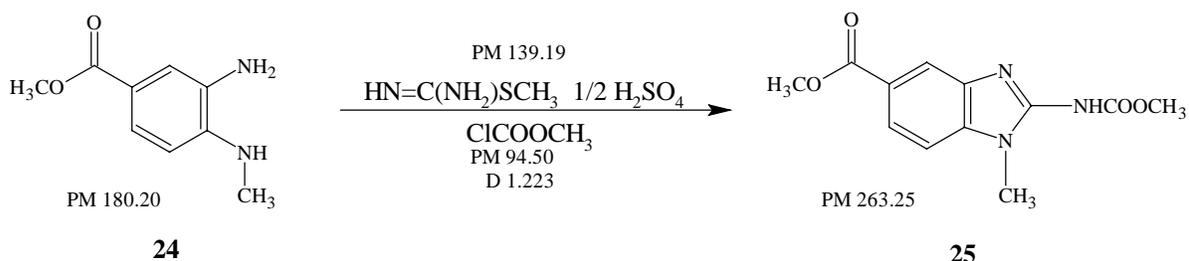
9.7.5. 3-Amino-4-(metilamino)benzoato de metilo (**24**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.4**. Se partió de 4.0 g (0.01903 mol) de 4-metilamino-3-nitrobenzoato de metilo (**10**) y 0.4 g de Pd /C al 5% en 200 mL de acetato de etilo. El producto crudo obtenido se recrystalizó de agua, bisulfito de sodio y carbón activado, bajo atmósfera de nitrógeno, dando 2.37 g (69 %) de cristales blancos en forma de agujas con pf de 112.9 – 113.5 °C; una mancha por ccf (R_f de 0.41, Sistema VII).

IR (KBr): 3404, 3327, 2942, 2826, 1681, 1599 cm^{-1} . **RMN ^1H (CDCl_3 - d_3) δ :** 2.91(s, 3H, COOCH_3), 3.38(sa, 3H, int. con D_2O , NHCH_3 , NH_2), 3.84(s, 3H, NHCH_3), 6.58(d, 1H, $J_o = 8.10$ Hz, H-5), 7.40(dd, 1H, $J_o = 8.10$ Hz, $J_m = 1.80$ Hz, H-6). **EM (IE) m/z :** 180(M^+ , 100 %); 149($\text{M}^+ - 31$, 76 %); 165 ($\text{M}^+ - 15$).

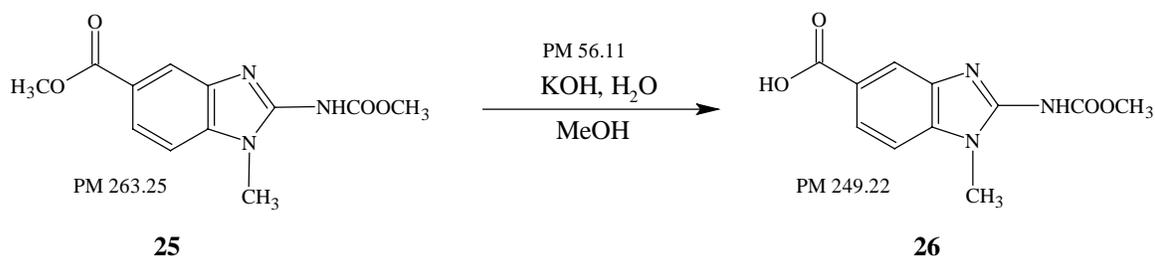
9.7.6. 1-Metil-2-[(Metoxicarbonil)amino]-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (25)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.9**. Por un lado se formó el precipitado esponjoso a partir de 2.60 g (0.0187 mol) de hemisulfato de *S*-metilisotiourea en 18 mL de agua y 3.55 g (2.90 mL, 0.0376 mol, 2 eq) de cloroformiato de metilo. Por otro lado, el precipitado anterior se adicionó a una disolución de 3.38 g (0.0188 mol) de 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo (**24**) en 25 mL de solución amortiguadora de acetatos (12.4 mL de ácido acético, 4.4 g de acetato de sodio y 44 mL de H_2O) y se llevó al reflujo donde se mantuvo con agitación por 2 h. El producto crudo se suspendió en metanol con agitación durante 2 h. El producto seco obtenido se recrystalizó de etanol dando 4.01 g (81 %) de unas finas agujas blancas con pf de 189.4-191.0 $^\circ\text{C}$; una sola mencha por ccf (R_f de 0.57, Sistema D).

IR (KBr): 3289, 2946, 1715, 1643 cm^{-1} . **RMN ^1H (CDCl_3 - d_3) δ :** 3.65(s, 3H, COOCH_3), 3.81(s, 3H, NHCOOCH_3), 3.94(s, 3H, NHCH_3), 7.21(d, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, H-7), 7.94(d, 1H, $J = 0.90$ Hz, H-4), 8.0(dd, 1H, $J_o = 8.40$ Hz, $J_m = 1.50$ Hz, H-6). **EM (IE) m/z :** 263(M^+ , 20 %); 231($\text{M}^+ - 32$, 100 %); 200 ($\text{M}^+ - 32 - 31$).

9.7.7. Ácido 1-metil-2-[(metoxicarbonil)amino]-1H-bencimidazol-5-carboxílico (26)



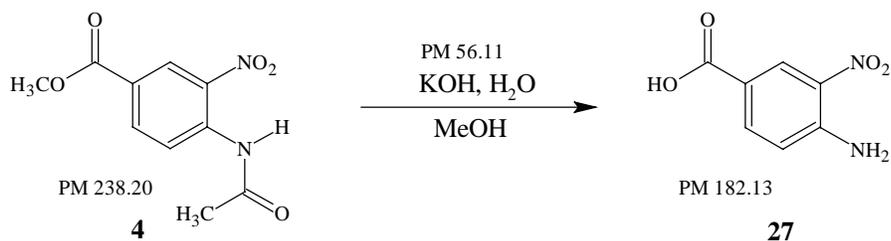
Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.6**. Se partió de una mezcla de 1.0 g (3.8 mmol) de 1-metil-2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**25**), 20 mL de H₂O, 10 mL de MeOH y una solución de 0.39 g (7 mmol) de KOH disueltos en 1 mL de H₂O. Luego, se calentó 2 h. Se obtuvieron 0.673 g (71 %) de un producto blanco con pf de 328 - 331°C (con descomposición); una sola mancha por ccf (R_f de 0.37, Sistema II).

IR (KBr): 3315, 2957, 1588, 1656 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 3.51(s, 3H, COOCH₃), 3.62(s, 3H, N-CH₃), 7.45(d, 1H, J = 8.40 Hz, H-7), 7.81(dd, 1H, J = 1.50 Hz, J = 8.40 Hz, H-6), 7.98(s, 1H, H-4), 12.21(sa, 1H, int. con D₂O, N-H), 12.73(sa, 1H, int. con D₂O, COOH).

EM (FAB⁺) m/z: 250 (M⁺, 20 %).

9.7.8. Ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (**27**)

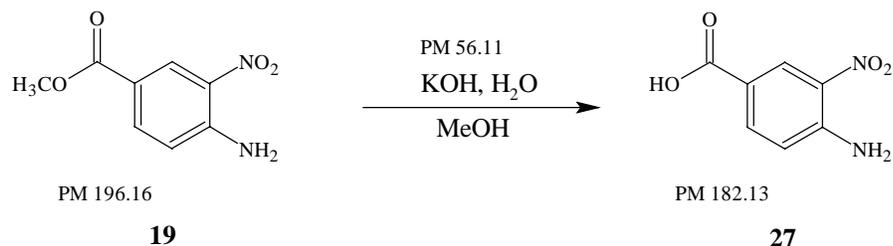
- A partir de 4-(Acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**4**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.6**. Se partió de una mezcla de 35g (0.1469 mol) de 4-(acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**4**), 100 mL de MeOH, 250 mL de H₂O y una solución de 24.73 g (0.4407 mol, 3 eq) de KOH disueltos en 30 mL de H₂O. La mezcla de reacción se calentó 3 h. El producto crudo se recristalizó de acetonitrilo,

obteniéndose 22.74 g (85 %) de un producto con pf de 289.8-290.1°C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.24, Sistema I)

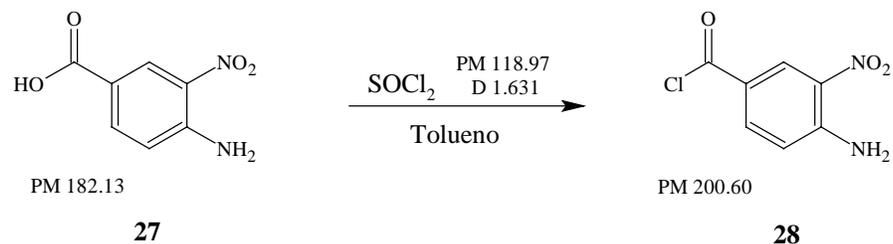
- A partir de 4-Amino-3-nitrobenzoato de Metilo (**19**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.6**. Se partió de una mezcla de 15 g (0.0765 mol) de 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**19**), 60 mL de MeOH, 250 mL de H₂O y una solución de 6.43 g (0.1146 mol, 1.5 eq) de KOH en 7 mL de H₂O. La mezcla se calentó por 3 h. El producto crudo se recrystalizó de acetonitrilo, obteniéndose 12.40g (89 %) de un producto con pf de 289.7-290.2 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.23, Sistema I).

IR (KBr): 3479, 3366, 1627 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 7.02(d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-5), 7.82(dd, 1H, $J = 8.70$ Hz, $J_m = 1.80$ Hz, H-6), 7.91(sa, 2H, int. con D₂O, NH₂), 8.52(d, 1H, $J_m = 1.80$ Hz, H-2), 12.88 (sa, 1H, COOH). **EM (IE) m/z:** 182(M⁺, 100 %); 165(M⁺-17, 12 %); 152(M⁺-17-29).

9.7.9. Cloruro de 4-amino-3-nitrobenzoilo (**28**)

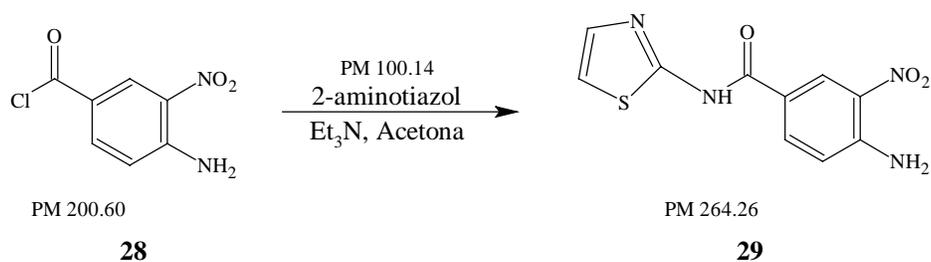


Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.7**. Partiendo de una mezcla de 26.30 g (0.1444 mol) de ácido 4-amino-3-nitrobenzoico (**27**), 250 mL de benceno y 42 mL (68.61 g, 0.5767 mol, 3.99 eq) de SOCl₂, calentada por 11 h, se obtuvieron 24.86 g (86 %).

Una parte de 1.3 g del producto crudo se recrystalizó de benceno, obteniéndose 0.84g (65 %) de cristales amarillos con pf de 160.0-160.2°C.

IR (KBr):3334, 1739, 1558, 1354 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 5.83(sa, 2H, int. con D_2O , NH_2), 7.05(d, 1H, $J = 8.70$ Hz, H-5), 7.83(dd, 1H, $J_o = 9.0$ Hz, $J_m = 2.10$ Hz, H-6), 8.53(dd, 1H, $J = 2.10$ Hz, H-2). **EM (IE) m/z :** 200(M^+ , 10 %); 202 (M^{+2}); 165(M^+-35 , 100 %).

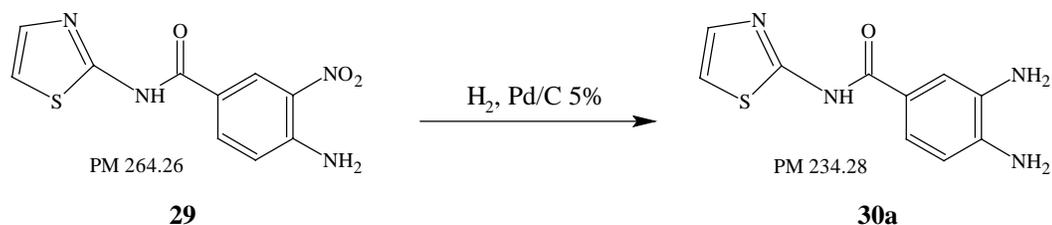
9.7.10. 4-Amino-3-nitro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**29**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.8**. Se mezclaron 14.76 g (0.0736 mol) de cloruro de 4-amino-3-nitrobenzoilo (**28**), 7.36 g (0.0735) de 2-aminotiazol, 50 mL de acetona y 20.5 mL de Et_3N y calentaron por 2 h. El producto crudo se suspendió en etanol obteniéndose 16.46 g (85 %). Una muestra de 1.0 g del producto crudo se recrystalizó de DMF / H_2O obteniéndose 0.67g (67 %) de cristales amarillos con pf de 272.9-274.1 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.31, Sistema I).

IR (KBr): 3472, 3362, 2924, 2629, 1541, 1347 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 7.06(d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-5), 7.23(d, 1H, $J = 3.60$ Hz, H-4 Tiazol), 7.52 (d, 1H, $J = 3.60$ Hz, H-5 Tiazol), 7.93(sa, 2H, NH_2 , int. con D_2O), 8.05(dd, $J_o = 9.0$ Hz, $J_m = 2.10$ Hz, H-2), 12.61(sa, 1H, int. con D_2O , N-H). **EM (IE) m/z :** 264(M^+ , 18 %); 165(M^+-99 , 100 %); 119($\text{M}^+-99-46$).

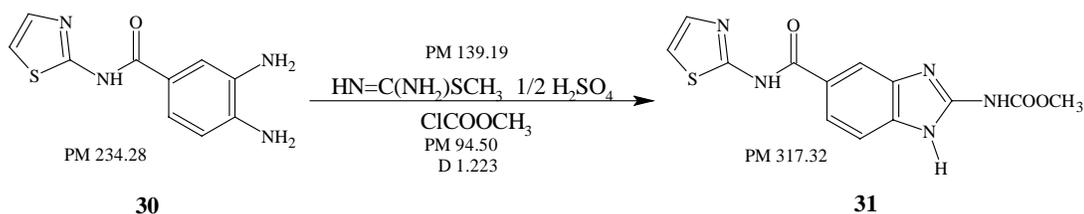
9.7.11. 3,4-Diamino-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**30a**)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.4**. Se partió de 5.80 g (0.0598 mol) de 4-amino-3-nitro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)benzamida (**29**) y 1.5 g de Pd/C al 5 % en 250 mL de etanol absoluto. La reacción se lleva a cabo en 6 h, consumiéndose 166 lb/plg₂ de hidrógeno. El producto obtenido se recristalizó de etanol obteniéndose 5.90 g (42 %) de un producto café con un pf de 240-240.4 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.18, Sistema I).

IR (KBr): 3406, 3349, 2927, 1625, 1313, 1266 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 4.79(sa, 2H, int. con D₂O, C4-NH₂), 5.20(sa, 2H, int. con D₂O, C3-NH₂), 6.52(d, 1H, *J* = 8.39 Hz, H-5), 7.15(d, 1H, *J* = 3.59 Hz, H-4 Tiazol), 7.24(d, 1H, *J* = 2.09 Hz, H-2), 7.32(d, 1H, *J* = 3.59 Hz, H-5 Tiazol), 11.93(sa, 1H, int. con D₂O, NH). **EM (IE) *m/z*:** 234(M⁺, 26 %); 135(M⁺-99, 100 %); 107(M⁺-99-28).

9.7.12. {5(6)-[[1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1*H*-bencimidazol-2-il}carbamato de metilo (**31**)



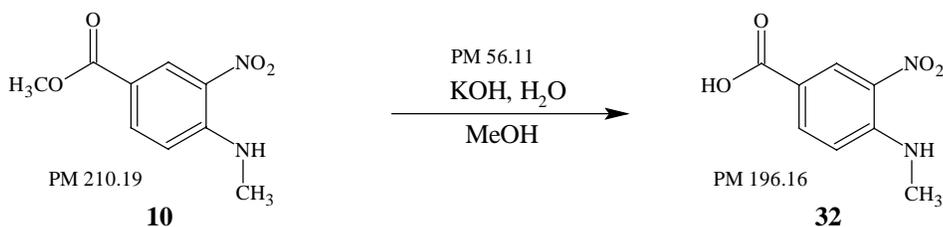
Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.9**. Por un lado se formó el precipitado esponjoso a partir de 1.06 g (7.6 mmol) de hemisulfato de *S*-metilisotiurea en 4

mL de H₂O y 1.45 g (1.18 mL, 0.0153 mol, 2 eq) de cloroformiato de metilo. Por otro lado, el precipitado anterior se adicionó a una disolución de 1.80g (7.7 mmol) de 3,4-diamino-*N*-(1,3,tiazol-2-il)benzamida (30a) en 7 mL de solución amortiguadora de acetatos (12.4 mL de ácido acético, 4.4 g de acetato de sodio y 44 mL de H₂O) y se llevó al reflujo donde se mantuvo con agitación por 2 h. El producto crudo se suspendió en metanol con agitación durante 2 h. Se obtuvieron 1.79 g (73 %) de un sólido café claro con pf de 310.1-310.8 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.39, Sistema I).

IR (KBr): 3399, 2851, 1717 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 3.77(s, 3H, NHCOOCH₃), 7.24(d, 1H, *J* = 3.60 Hz, H-5 Tiazol), 7.48(d, 1H, *J* = 8.70 Hz, H-7), 7.53(d, 1H, *J* = 3.60 Hz, H-4 Tiazol), 7.88(dd, 1H, *J*_o = 8.70 Hz, *J*_m = 1.80 Hz, H-6), 8.17(sd, 1H, *J*_m = 1.20 Hz, H- 4), 12.70(sa, 3H, int. con D₂O, NH). **EM (FAB⁺) *m/z*:** 234(M⁺, 8 %).

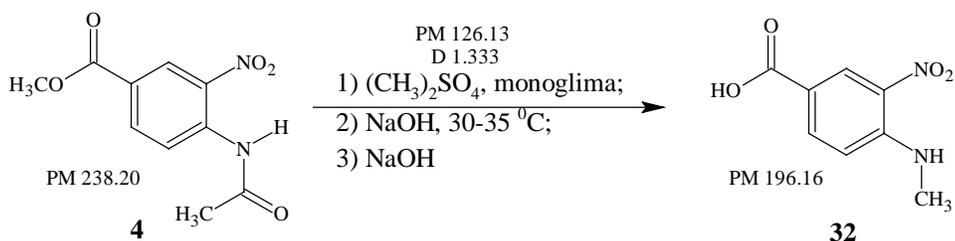
9.7.13. Ácido 4-metilamino-3-nitrobenzoico (32)

- A partir de 4-(Metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (10)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general 9.3.6. Se partió de una mezcla de 4.0 g (0.0190 mol) de 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (10), 35 mL de MeOH, 75 mL de H₂O y una solución de 1.25 g (0.0223 mol, 1.17 eq) de KOH en solución acuosa. Se calentó durante 2 h y el producto crudo se recrystalizó de acetonitrilo dando 3.60 g (97 %) de cristales amarillos con pf de 309.1-310.2 °C; una sola mancha por ccf (R_f de 0.42, Sistema VIII).

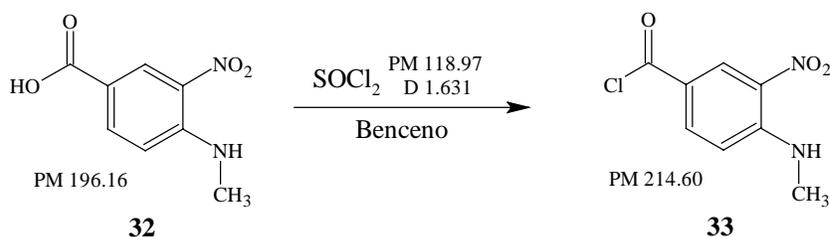
- A partir de 4-(Acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (4)



Esta preparación se hizo siguiendo el procedimiento general **9.3.2**. Se partió de una mezcla de 51.06 g (0.2144 mol) de 4-(acetilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (**4**), 37.52 mL de 1,2-dimetoxietano y 54.08 g (40.57 mL, 0.4288 mol, 2 eq) de sulfato de dimetilo, la cual se trató con 17.15 g de NaOH (0.4288 mol) disueltos en 17.20 mL de H₂O a 30-35°C. Después de una se adicionaron 36 g (0.9 mol, 4.2 eq) de NaOH, dejando en agitación durante 1 h. Se obtuvieron 40.18 g (96 %) del producto esperado, semejante al obtenido anteriormente.

IR (KBr): 3363, 2924, 2563, 1686, 1565, 1366 cm⁻¹. **RMN ¹H (DMSO-d₆)** δ: 3.0(sd, 3H, CH₃), 7.03(d, 1H, *J*_o = 9.30 Hz, H-5), 7.96(dd, 1H, *J*_o = 9.0 Hz, *J*_m = 1.80 Hz, H-6), 8.54(c, 1H, int. con D₂O, NH-CH₃), 8.59(d, 1H, *J*_m = 2.10 Hz, H-2), 12.85(sa, 1H, int. con D₂O, COOH). **EM (IE) m/z:** 196(M⁺, 100 %), 161(M⁺-35, 29 %), 179(M⁺-17).

9.7.14. Cloruro de 4-(metilamino)-3-nitrobenzoilo (**33**)



En un matraz Kontes Taper de 500 mL, adaptado con una trampa Dean-Stark y sobre ésta un condensador en posición de reflujo con trampa anhidra conectada a tres frascos lavadores en serie, los dos últimos con solución de NaOH al 25 %, se colocaron 40.18 g (0.2048 mol) de ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzoico (**32**) y 250 mL de benceno. La suspensión se llevó a reflujo y se mantuvo así hasta eliminar toda la humedad de **32**; en este caso, se destilaron 30

mL de benceno. Posteriormente, se dejó enfriar, se quitó la trampa Dean-Stark y en su lugar se colocó el condensador en posición de reflujo con el resto de las conexiones mencionadas; se agregaron 50 mL de benceno adicionales y 76.41 g (46.85 mL, 0.6423 mol, 3.14 eq) de SOCl_2 . La mezcla se calentó a reflujo hasta que una ccf indicó el consumo total de **32** (14 h). Se adaptó un sistema de destilación y se eliminó el exceso de SOCl_2 a presión reducida. El residuo se suspendió en hexano, se filtró con vacío, se lavó con hexano y se dejó secar al aire. El producto crudo obtenido pesó 40g (90 %) Una muestra de 4 g se recristalizó de benceno y se obtuvieron 2.37g (59 %) de cristales amarillos con pf de 142.1-143.6 °C.

IR (KBr): 3361, 2928, 1747, 1564, 1362 cm^{-1} . **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 2.99(s, 3H, CH_3), 7.02(d, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-5), 7.96(dd, 1H, $J_o = 9.0$ Hz, $J_m = 2.10$ Hz, H-6), 7.97(sa, 1H, int. con D_2O , NH), 8.58(d, 1H, $J = 2.10$ Hz, H-2). **EM (IE) m/z :** 214(M^+ , 13 %); 216(M^{+2}); 179($\text{M}^+ - 35$, 100 %).

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO-World Health Organization 2002. TDR Strategic emphases matriz for tropical disease research. Switzerland, Octubre
2. <http://www.uniquindio.edu.co/eventos/parasitología/documents/Helminthiasis.pdf>
3. WHO-World Health Organization *The World Health Report*, 2004.
4. Corry, J.; Kucik, L.; Martin, G.L.; Common Intestinal Parasites, *American Family Physician* **2004**, 69(5): 1161-1168.
5. <http://www.monografías.com/trabajos/en fin.html>
6. <http://www.sbri.org/diseases/chagas/asp>
7. <http://www.aventispharma.com.ve/educando05c.asp>
8. <http://www.dgepi.salud.gob.mx>
9. <http://www.ssa.gob.mx>
10. <http://www.who.int/ctd/intpara/strategies.htm>
11. Avendaño, C. Diseño de fármacos basados en la Química de Radicales Libres. En: *Introducción a la Química Farmacéutica*, Mc. Graw-Hill, Interamericana. 2a. Ed. **2001**.
12. Raether, W.; Hänel, H. Nitroheterocyclic drugs with broad spectrum activity, *Parasitology Research* **2003**, 90: S19-S39.
13. Goodman y Gilman. Fármacos utilizados en la quimioterapia de las helmintiasis. En *las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, Editorial Médico Panamericana, México, D.F., **1996**; Vol. 2:1049-1060, 1073-1091.
14. Cuadro básico y Catálogo de Medicamentos, **2004**. <http://www.ssa.gob.mx>
15. Broekhuysen, A.; Lins, R.L.; De Graeve, J. and Rossignol, J.F. Nitazoxanide: pharmacokinetics and metabolism in man. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* **2000**, 38(8): 387-394.
16. Laboratorios Columbia, S.A. de C.V., Daxón, Nitazoxanida, Publicación de Información, **1996**, 1-68.
17. Katzung, B. Principios básicos de la quimioterapia antiparasitaria. En: *Farmacología básica y clínica*. Editorial El Manual Moderno. 15ª. Ed. **1999**
18. Upcroft, P.; Upcroft, J. Drug Targets and Mechanisms of Resistance in the anaerobic Protozoa, *Clinical Microbiology Reviews* **2001**, 14(1):150-164.

19. Sisson, G.; Goodwin, A.; Raudonikiene, A.; Hughes, N.J. Enzymes Associated with Reductive Activation and Action of Nitazoxanide, Nitrofurans, and Metronidazole in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, 46(7): 2116-2123.
20. Sharma, S.; Anand N. Nitroheterocycles. En *Approaches to design and Synthesis of Antiparasitic drugs*. Pharmaco Chemistry Library, Elsevier Ed. E.U.A. **1997**, Vol 25: 258-272, 421-438.
21. Samarawickrema, N.; Brown, D.; Upcroft, J.; Upcroft, P. Involvement of superoxide dismutase and pyruvate: ferredoxin oxidoreductase in mechanisms of metronidazole resistance in *Entamoeba histolytica*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **1997**, 40:833-840.
22. Horton, R. J. Benzimidazoles in a Wormy World. *Parasitology Today*, **1990**, 6(4): 106.
23. Townsend, L.B.; Wise, D.S. The Synthesis and Chemistry of Certain Anthelmintic Benzimidazoles. *Parasitology Today*, **1990**, 6(4): 107-112.
24. Sharma S.; Abuzar, S. The benzimidazole anthelmintics-chemistry and biological activity *Prog. Drug. Res.* 27, 85-161.
25. Sharma, S. Design of New Drugs for Helminth Diseases: Lead Optimization in Benzimidazoles. *Advances in Drug Research* **1994**, 25: 103-172.
26. Burger's. Anthelmintics. En *Medicinal and Drug Discovery* 6a. Ed., **2003** Vol. 5 pp. 1089 - 1096.
27. Gottschall, D.W.; Wang, T.; Wang, R. The Metabolism of Benzimidazole Anthelmintics. *Parasitology Today*, **1990**, 6(4):115-124.
28. Ciba-Geigy A.G. Pat. Belg. 865-870 (**1978**). Chem. Abst. 90, 137817z (**1979**).
29. Lacey, E. Mode of action of Benzimidazoles. *Parasitology Today*, **1990**, 6(4): 112-115.
30. Navarrete V. G. Diseño, Síntesis y Actividad Antiparasitaria de derivados del 2-(Trifluorometil)bencimidazol. Tesis de Doctorado, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM, **2004**.
31. Vargas, B. P. Síntesis de Derivados del 5-aminocarbonil-1H-bencimidazol con Potencial Actividad Antiparasitaria. Tesis de Licenciatura, Escuela de Ciencias Químicas, UABJO, **2002**.
32. Arroyo, S. V. M. Síntesis de Benzoxazoles Sustituídos en Posición 2 con Potencial Actividad Antiparasitaria. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. **2003**
33. Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández-Campos, A.; Yépez, L.; Hernández-Luis, F.; Navarrete-Vásquez, G.; Tapia, A.; Castillo, R. Synthesis and Parasitic Activity of 1H-Benzimidazole Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2002**, 12: 2221-2224.

34. Navarrete-Vásquez, G.; Yépez, L.; Hernández-Campos, A.; Tapia, A.; Hernández-Luis, F.; Cedillo, R.; González, J.; Martínez-Grueiro, M. Síntesis and Antiparasitic Activity of Albendazole and Mebendazole Analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2003**, 11:4615-4622.
35. Hernández-Campos, A.; Castillo, R.; Morales, R.; Yépez, L.; Basilio, P.; Cedillo, R.; Hernández-Luis, F. Síntesis and Anthelmintic Activity in Experimental Trichinellosis of 1-Methyltriclabendazoles. 213th. American Chemical Society Meeting. San Francisco, CA, USA. Abril 13 al 17 **1997**, p.259.
36. Luna-González, A. Síntesis y actividad antiprotozoaria contra *G. lamblia* de 5 clorobenzoxazoles 2-sustituidos. Tesis de maestría. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. **2003**.
37. Lacey, E. The Role of Cytoskeletal Protein, Tubulin in the Mode of Actina and Mechanism of Drug Resistense to Benzimidazoles. *International Journal for Parasitology* **1988** 18(7): 885-936.
38. Sangster N.C.; Gill, J. Pharmacology of Anthelmintic Resistance. *Parasitology Today* **1999**, 15(4):141-146.
39. Wermuth C.G.; Identical and Nonidentical Twin Drugs En:*The Practice of Medicinal Chemistry* Editorial Academic Press. **1996**, pp. 661-693.
40. Krogsgard-Larsen, P.; Liljefors, T.; madsen, U. A textbook of drug design and development, 2a. Ed. Hardwood Academic Publishers, Amsterdam **1996**, pp. 36-45.
41. Lipinski, C.; Lombardo, F.; Dominy, B.; Feeney, P. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug. Delivery Rev.* **1997**, 23, 3-25.
42. Giral F.; Rojahn, C.A. "Productos Químicos y Farmacéuticos", Edit. Atlante, S.A. México D.F., **1956** p.848.
43. Hernández-Campos M.A. Síntesis de bencimidazoles con actividad antihelmíntica potencial. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM. **1990**
44. Gunhter, F.A., Blinn, R.C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69, 1215
45. Sharma, S.; Rostagi, R. *Synthesis Reviews*, **1983**, 861.
46. DeLuca, M.; Kerwin S.M. The *para*-Toluensulfonic Acid-Promoted Synthesis of 2-Substituted Benzoxazoles and Benzimidazoles from Diacylated Precursors. *Tetrahedron*. **1997**, 53, 457-464.

47. Sánchez-Díaz, M. R. Síntesis de derivados del 1-metilbencimidazol con actividad Antihelmíntica potencial. Tesis de maestría. Facultad de Química, UNAM. **1999**.
48. Paquette, L. A. Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis. Editor-in-chief. **1998**, p. 4873-4876.
49. Göker, H.; Tebrizli, E. Synthesis of 1,2-disubstituted benzimidazoles-5(6)-carboxamides and evaluation of their antimicrobial activity. *Il Farmaco*, **1996**, 51(1), 53-58.
50. Rossignol, J. Cavier, R. New Derivatives of 2-Benzamido-5-Nitro thiazoles. United States Patent No. 3,950,351. April, 13 **1976**.
51. Kumar, S.; Manju, S.;Bhaduri, P.; Gupta, S. Synthesis and Anthelmintic Activity of Alkyl 5(6)-(Substituted-carbamoyl)-and 5(6)-(Disubstituted-carbamoyl)benzimidazole-2-carbamates and Related Compounds. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 1083-1089.
52. Siya, R.; Wise, D.; McCall, J.W. Synthesis and Biological Activity of Certain Alkyl 5-(Alkoxy-carbonyl)-1H-benzimidazole-2-carbamates and Related Derivatives: A New Class of Potential Antineoplastic and Antifilarial Agents. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 539-547.
53. Arroyo, S. V. M. Síntesis de Nitrocarboxamidas aromáticas. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM. **2003**
54. Arroyo, S. V. M. *op. cit.* p.52.

Tabla 5. Constantes físicas y rendimientos de las carboxamidas bencimidazólicas.

<i>Comp.</i>	<i>Formula</i>	<i>PM (g)</i>	<i>Rend. Crist. (%)</i>	<i>Edo. físico</i>	<i>Cristalización</i>	<i>Pf (°C)</i>	<i>Rf (Sistema)^h</i>
16	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ OS	258.30	86	Cristales beige	H ₂ O	260.0 - 262.6	0.18 (I)
18	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ OS	272.327	73	Cristales beige	MeOH/H ₂ O	268.8 - 269.4	0.31 (I)
31	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₃ S	316.316	76	Sólido café claro	MeOH ^g	310.1 - 310.8	0.39 (I)
59	C ₁₂ H ₉ N ₅ O ₃ S	303.298	22	Cristales amarillos	CH ₃ CN, C act.	289.9 - 291.3	0.60 (I)
71	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₃ S	317.324	46	Sólido amarillo	1) Ac. Etilo 2) Hexano	304.0 - 308.0 ^f	0.45 (I)

f. Funde con descomposición

g. Tratamiento con el disolvente

h. Sistemas de elución (pp. 57)

Tabla 6. Constantes físicas y rendimientos de los ácidos carboxílicos precursores de las carboxamidas bencimidazólicas.

<i>Comp.</i>	<i>Formula</i>	<i>PM (g)</i>	<i>Rend. Crist. (%)</i>	<i>Edo. físico</i>	<i>Cristalización</i>	<i>Pf (°C)</i>	<i>Rf(Sistema)</i>
7	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	176.172	89	Cristales beige	EtOH	310.4 - 311.2 ^c	0.11(I)
14	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₂	190.199	77	Cristales beige	MeOH/H ₂ O	295.2 - 295.8	0.36 (III)
22	C ₁₀ H ₉ N ₃ O ₄	235.196	94	Sólido café	MeOH ^g	385.2 - 388.0	0.16 (I)
26	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₄	249.223	75	Sólido blanco	MeOH ^g	328 - 331 ^f	0.37 (II)

f. Funde con descomposición

g. Tratamiento con el disolvente

h. Sistemas de elución (pp. 57)

Tabla 12. Constantes físicas y rendimientos de los intermediarios precursores para las carboxamidas bencimidazólicas (2-13)

<i>Comp.</i>	<i>Formula</i>	<i>PM (g)</i>	<i>Rend. Crist. (%)</i>	<i>Edo. físico</i>	<i>Cristalización</i>	<i>Pf (°C)</i>	<i>Rf</i>
2	C ₉ H ₉ NO ₃	179.17	70	Cristales beige	EtOH/H ₂ O	259.1 - 259.7 ⁱ	0.15 (II)
3	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	193.19	86	Cristales blancos	MeOH	128.4 - 128.9	0.45 (III)
4	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₅	238.19	73	Cristales amarillos	MeOH	128.8 - 129.6	0.54 (II)
5	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	208.21	94	Cristales blancos	H ₂ O, NaHSO ₃ , C act. ⁱ	187.2 - 187.9	0.28 (I)
6	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₂	190.19	86	Cristales beige	H ₂ O	175.9 - 177.3	0.74 (I)
9	C ₈ H ₆ ClNO ₄	215.59	83	Cristales amarillos	MeOH	80.7 - 82.0	0.41 (V)
10	C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₄	210.18	91	Cristales amarillos	EtOH	145.2 - 146.0	0.38 (V)
11	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₅	252.22	96	Cristales amarillos	EtOH/H ₂ O	100.1 - 100.9	0.45 (IV)
12	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O ₃	222.24	36	Cristales blancos	H ₂ O, NaHSO ₃ , C act. ^j	160.0 - 160.7	0.24 (V)
13	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.22	82	Cristales blancos	H ₂ O	160.3 - 161.0	0.76 (IV)

i. Atmósfera de Nitrógeno

j. Coincide con el reportado en la Literatura XX.

Tabla 13. Constantes físicas y rendimientos de los intermediarios precursores para las carboxamidas bencimidazólicas (19 -33)

<i>Comp.</i>	<i>Formula</i>	<i>PM (g)</i>	<i>Rend. Crist. (%)</i>	<i>Edo. físico</i>	<i>Cristalización</i>	<i>Pf (°C)</i>	<i>Rf</i>
19	C ₈ H ₈ N ₄ O ₄	196.160	91	Cristales amarillos	MeOH	197.0 - 202.0	0.42 (VI)
20	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂	166.177	64	Cristales café	H ₂ O, NaHSO ₃ , C act. ⁱ	107.4 - 108.5	0.55 (II)
21	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₄	249.22	73	Sólido rosa	MeOH ⁱ	297.4 - 298.1	0.41 (I)
24	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₂	180.204	69	Cristales blancos	H ₂ O, NaHSO ₃ , C act. ⁱ	112.9 - 113.5	0.41(VII)
25	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₄	263.249	82	Cristales blancos	EtOH	189.4 - 191.0	0.57 (I)
27	C ₇ H ₆ N ₂ O ₄	182.134	89	Cristales amarillos	CH ₃ CN	289.7 - 290.2	0.23 (I)
28	C ₇ H ₅ ClN ₂ O ₃	200.579	65	Cristales amarillos	Benceno	160.0 - 160.2	nd
29	C ₁₀ H ₈ N ₄ O ₃ S	264.262	67	Cristales amarillos	DMF/H ₂ O	272.9 - 274.1	0.31 (I)
30	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ OS	234.279	42	Cristales blancos	EtOH	240.0 - 240.4	0.18 (I)
32	C ₈ H ₈ N ₂ O ₄	196.160	97	Cristales amarillos	CH ₃ CN	309.1 - 310.2	0.42 (VIII)
33	C ₈ H ₇ ClN ₂ O ₃	214.606	59	Cristales amarillos	Benceno	142.1 - 143.6	nd ^k

i. Atmósfera de Nitrógeno

k. no determinado