



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE DERIVADOS BENCIMIDAZÓLICOS
CON POSIBLE ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA-BIÓLOGA

P R E S E N T A
SONIA AGUILAR GONZÁLEZ



MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE

Q. F. B. María Luisa García Padilla

VOCAL

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha

SECRETARIO

M. en C. María Alicia Hernández Campos

1er. SUPLENTE

Q. F. B. Marisol Reyes Lezama

2do. SUPLENTE

Q. F. B. José Cordero Hernández

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ LA TESIS:

Laboratorio 122 del Departamento de Farmacia, Edificio E.

Facultad de Química. UNAM.

ASESOR

M. en C. María Alicia Hernández Campos

SUSTENTANTE

Sonia Aguilar González

*“Si Dios no nos ha dado alas, en cambio nos ha dado el pensamiento,
que vuela más que todos los pájaros, porque llega hasta el mismo Dios”*

Benito Pérez Galdós

DEDICATORIA

A mi querida mamá, por tu apoyo incondicional, porque gracias a ti ahora veo realizado uno de mis sueños. Gracias por tu ejemplo y por enseñarme que todo obstáculo puede superarse teniendo la voluntad suficiente.

A Rafael, porque siempre has sido un apoyo gracias al cual nunca me faltó tiempo para continuar y a mamá Lupita, por el cariño que siempre tuviste con la familia y por todo lo que en algún momento hiciste por nosotros.

A mi familia por estar ahí, por su comprensión, apoyo, sonrisas, cariño y paciencia. Gracias en particular a mis tías Hilda y Yazmin, y a mis primos Janely, Jazmin, Omar, Pedro y Rubi, porque con su cariño me hacen continuar y con su felicidad alegran mi vida.

A Marco, por tu amor y compañía. Por tu apoyo, comprensión y paciencia, pero sobre todo por existir y por ser como eres, por ser parte de esto y de mi vida. Eres una gran inspiración y ejemplo; además de ser el Arco iris más maravilloso que puede haber y de lo más increíble que me ha pasado. Por todo esto y más: Te Amo.

A mis amigos Diana, Paty, Lucila, Víctor, Vicky, Cynthia... Por su compañía, por los buenos momentos, por hacerme sentir mejor en los malos, por su confianza en mí, por las alegrías que hemos pasado juntos y por su comprensión en mis ratos menos agradables. Me faltan palabras para agradecer su amistad y cariño.

Por último, en esta parte quisiera pedir una disculpa a todas aquellas personas a quienes en forma general tendré que agradecer y cuyos nombres no aparecen. Sin embargo para mí es muy claro que este mensaje va dirigido a todos aquellos que de una forma u otra me brindaron su amistad en esta etapa de mi vida. Por lo cual, me gustaría que al leer estas líneas sientan que están dedicadas a cada uno de ustedes, ya que en verdad los tengo muy presentes. Quiero también agradecer todo su afecto con la humildad de una sonrisa, que por insignificante que parezca, representa toda la gratitud y cariño que siento al ver parte de su afecto reflejado en la culminación de este trabajo. Muchas gracias por el cariño, comprensión y apoyo que me han brindado y con el cual sé que cuento siempre. Los quiero mucho a todos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la maestra Alicia por todas sus enseñanzas, apoyo, paciencia, por compartir conmigo su conocimiento y sobre todo su cariño.

A CONACYT por la beca otorgada durante la realización de ésta tesis en el proyecto V 43629 M.

A la UNAM y la DGAPA por el apoyo económico brindado para la elaboración de ésta tesis, en el proyecto PAPIIT IN211806-3.

Al Dr. Rafael Castillo y al Dr. Francisco Hernández, por su apoyo y por el esfuerzo que realizan y que mantiene funcionando a todo el equipo. Gracias también por compartir con todos nosotros parte de su experiencia y conocimientos.

A la Dra. Lilián Yépez y su equipo de trabajo por la determinación de la actividad antiparasitaria *in vitro* de los compuestos sintetizados y reportados en ésta tesis.

A todo el equipo de trabajo que conforma al laboratorio 122: Maestra Olivia Soria, a mis compañeros Toño Hernández, Toño Romo, Israel, Eliana, Gisela; por compartir conmigo parte de su conocimiento pero más aún por hacer del laboratorio un segundo hogar.

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

Al jurado asignado para la revisión de ésta tesis por sus valiosos comentarios y sugerencias.

Y a mi querida Universidad, por mi formación académica y porque es aquí donde conocí a mis mejores amigos, además de pasar los mejores momentos de mi vida.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Epidemiología de las enfermedades parasitarias	3
2.2 Tratamiento de las parasitosis intestinales	4
2.2.1 Bencimidazoles en la quimioterapia de enfermedades parasitarias	4
2.2.2 Nitroheterociclos en la quimioterapia de enfermedades parasitarias	6
2.3 Diseño de compuestos novedosos con posible actividad antiparasitaria	8
2.3.1 Modificaciones moleculares de los bencimidazoles	9
2.3.2 Compuestos “híbridos” como una estrategia en la innovación de fármacos	10
2.4 Métodos generales de síntesis	12
2.4.1 Métodos de obtención de bencimidazoles	12
2.4.2 Métodos de obtención de carboxamidas	13
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
4.1 Hipótesis	16
4.2 Objetivo general	16
4.3 Objetivos particulares	16
5. METODOLOGÍA	18
5.1 Parte química	18
5.1.1 Síntesis de los carboxilatos de metilo 1 <i>H</i> -bencimidazólicos (10a y 10b)	18
5.1.2 Síntesis de las carboxamidas 1 <i>H</i> -bencimidazólicas (19 y 61)	20
5.2 Parte biológica	21
5.2.1 Prueba de susceptibilidad <i>in vitro</i> para <i>G. intestinalis</i>	21
5.2.2 Prueba de susceptibilidad <i>in vitro</i> para <i>T. vaginalis</i>	22
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
6.1 Parte química	23

6.1.1 Constantes físicas_____	23
6.1.2 Síntesis química_____	23
6.1.2.1 <i>Obtención de los precursores 7, 9a y 9b</i> _____	23
a) <i>Síntesis del 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)</i> _____	23
b) <i>Síntesis de la 2-cloro-N-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a) y de la 2-cloro-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)</i> _____	26
6.1.2.2 <i>Obtención de los carboxilatos de metilo finales 10a y 10b</i> _____	27
6.1.2.3 <i>Síntesis del ácido 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (12) y del cloruro del ácido 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico(13)</i> _____	29
6.1.2.4 <i>Ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-mercapto bencimidazólicas 19 y 61</i> _____	30
6.1.2.5 <i>Segunda ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-mercaptobencimidazólicas 19 y 61</i> _____	32
6.1.2.6 <i>Síntesis de la 2-mercapto-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19) y de la 2-Mercapto-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)</i> _____	33
6.1.2.7 <i>Síntesis de la 2-(Metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)</i> _____	35
6.1.3 Parte biológica_____	36
6.1.3.1 <i>Resultados de la actividad antiprotozoaria de los compuestos 10a, 10b, 19 y 61 frente a G. intestinalis y T. vaginalis</i> _____	36
7. CONCLUSIONES _____	40
8. PARTE EXPERIMENTAL _____	42
8.1 Instrumentación_____	42
8.2 Cromatografía_____	42
8.3 Procedimientos experimentales para la obtención de los precursores y de los compuestos finales_____	43
8.3.1 <i>Síntesis del ácido 4-acetamidobenzoico (2)</i> _____	43
8.3.2 <i>Síntesis del 4-acetamidobenzoato de metilo (3)</i> _____	44

8.3.3 Síntesis del 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4)_____	45
8.3.4 Síntesis del 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (5)_____	46
8.3.5 Síntesis del 3,4-diaminobenzoato de metilo (6)_____	46
8.3.6 Síntesis del 2-mercapto-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)_____	47
8.3.7 Síntesis de la 2-cloro-(<i>N</i> -1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a)_____	48
8.3.8 Síntesis del 2-{[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio}-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a)_____	49
8.3.9 Síntesis de la 2-cloro- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)_____	50
8.3.10 Síntesis del 2-{[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio}-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b)_____	51
8.3.11 Síntesis del ácido 2-mercapto-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxílico (12)_____	52
8.3.12 Síntesis del cloruro del ácido 2-mercapto-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxílico (13)_____	53
8.3.13 Síntesis de la 2-mercapto- <i>N</i> -(1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxamida (19)_____	54
8.3.14 Síntesis de la 2-mercapto- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)_____	55
8.3.15 Síntesis de la 2-(metiltio)- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)_____	56
9. BIBLIOGRAFÍA _____	58
10. APÉNDICE _____	62
10.1 Constantes físicas y rendimientos de los compuestos finales sintetizados_____	62
10.2 Constantes físicas y rendimientos de los precursores sintetizados_____	63
10.3 Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los carboxilatos de metilo y carboxamidas finales_____	64
10.4 Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los precursores sintetizados_____	65
10.5 Espectros_____	68

ABREVIATURAS

(d)	Funde con descomposición.
°C	Grado Celsius
ABZ	Albendazol
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
ANTZ	2-Amino-5-nitrotiazol
ATZ	2-Aminotiazol
ccf	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CDI	1,1'-Carbonildiimidazol
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
d	Doblete
dd	Doble de dobles
D ₂ O	Agua deuterada
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	Dimetilformamida
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
Et ₃ N	Trietilamina
EtOH	Etanol
eV	Electron volts
FAB ⁺	Bombardeo rápido de átomos modalidad positiva
g	Gramo
IR	Espectroscopia de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
M ⁺	Ión molecular
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitros

MTZ	Metronidazol
NOESY	Espectroscopia de aumento nuclear overhauser
NTZ	Nitazoxanida
pf	Punto de fusión
PFOR	Piruvato Ferredoxin Oxidoreductasa
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
s	Singulete
sa	Señal amplia
TMS	Tetrametilsilano
δ	Desplazamiento químico

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones parasitarias causadas por protozoarios y helmintos son consideradas como las enfermedades de mayor prevalencia en el mundo dañando a millones de personas, principalmente a la población infantil. No sólo la población humana se ve afectada, sino también el sector pecuario en donde las pérdidas son millonarias. Hoy en día la prevención de dichas parasitosis depende principalmente de medidas ecológicas como el saneamiento y control de los vectores causantes de dichas enfermedades; además del uso de fármacos antiparasitarios.

En la actualidad existen fármacos eficaces para tratar este tipo de problemas como los bencimidazoles (albendazol, mebendazol y tiabendazol) y los nitroimidazoles (metronidazol, benznidazol, tinidazol); sin embargo, se han realizado pocas innovaciones de estos fármacos para incrementar su eficacia en el tratamiento de las infecciones parasitarias intestinales o sistémicas. En las últimas décadas surgió un nuevo fármaco de amplio espectro: la nitazoxanida, que ha mostrado eficacia en el tratamiento de infecciones debidas a protozoarios y helmintos. Pero debido al desarrollo de resistencia que algunos parásitos han mostrado, los tratamientos disponibles han perdido efectividad.

Por otra parte, algunos fármacos presentan serios efectos secundarios que restringen su uso, particularmente en individuos inmunocomprometidos, que requieren el tratamiento por largos períodos. Por tales razones, se hace necesario el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

Actualmente la optimización y búsqueda de principios activos se desarrolla mediante el diseño racionalizado de moléculas, proceso que permite detectar átomos o conjuntos de átomos importantes en la estructura del fármaco que le confieren las propiedades terapéuticas esperadas, con lo cual se busca optimizar las propiedades biofarmacéuticas de los compuestos, disminuir su toxicidad y al mismo tiempo obtener fármacos más específicos y eficientes.

En esta tesis se busca conocer más sobre los requerimientos estructurales para la actividad antiparasitaria, a través de la síntesis de nuevas moléculas de tipo bencimidazólico, así como la determinación de su actividad antiprotozoaria. Es por ello que en el presente proyecto se aborda el estudio de la síntesis y actividad de nuevos derivados del

bencimidazol, empleando como modelos de evaluación antiparasitaria los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis*.

Los datos que se obtengan, complementados con estudios computacionales, servirán para establecer posteriormente relaciones cuantitativas estructura-actividad y para el diseño de nuevas moléculas con mejores probabilidades de actividad antiparasitaria, apoyando así proyectos futuros.

2. ANTECEDENTES

2.1 Epidemiología de las enfermedades parasitarias

Las parasitosis intestinales representan las afecciones más frecuentes en niños y adultos en el mundo, sobretodo en países en vías de desarrollo. Se estima que más del 50% de la población mundial padece alguna parasitosis, afectando principalmente a niños de 1-9 años.^{1,2} Debido a su prevalencia, las parasitosis ocasionadas por helmintos y protozoarios son las de mayor importancia a nivel mundial.²⁻⁸

De acuerdo con lo reportado por el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica, en el 2005 se reportaron en nuestro país 1 695 717 casos de parasitosis, siendo la más común de estas infecciones la amebiosis intestinal (**Gráfico 2.1**),^{1,4} enfermedad que afecta aproximadamente al 10% de la población mundial, causando entre 50 000 y 100 000 muertes al año.^{2,9}

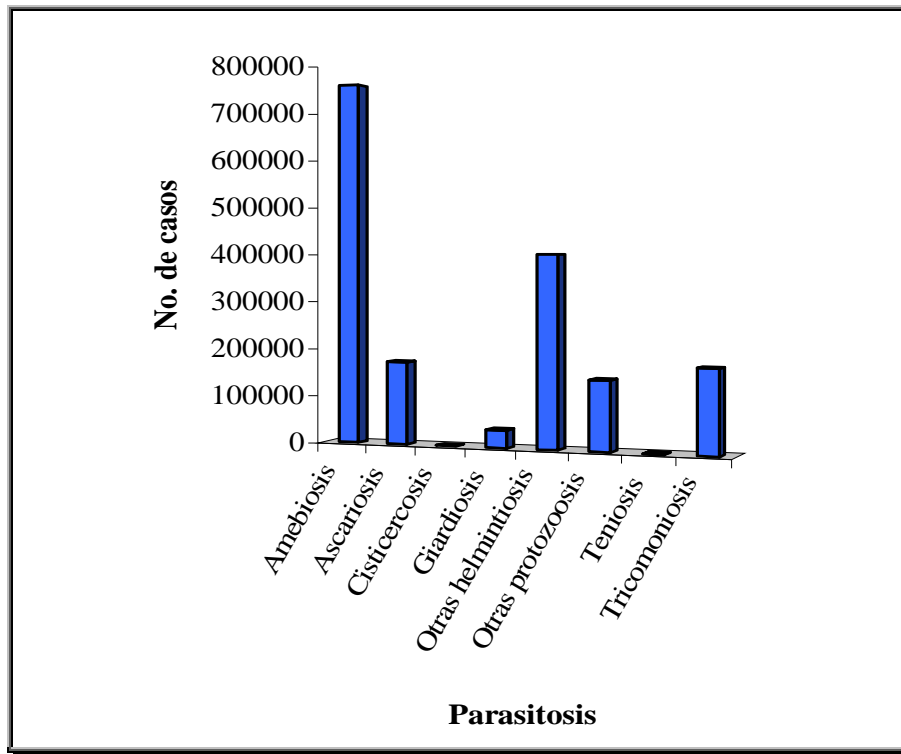


Gráfico 2.1 Prevalencia de las parasitosis intestinales en México durante el 2005.

La importancia de prevenir y tratar oportunamente dichas afecciones recae tanto en la alta propagación de estos parásitos, como en las consecuencias surgidas de ellas, entre las que

destaca la reducción en la absorción de micronutrientes esenciales en el desarrollo humano, lo que aunado a síntomas como diarrea y anorexia, promueve cuadros de anemia y desnutrición que van de leves a moderados.^{1,5} Además, la capacidad invasiva inherente al ciclo infectivo de estos parásitos puede conducir a daños sistémicos, pudiendo ocasionar así la muerte del individuo infectado.¹⁻⁸

2.2 Tratamiento de las parasitosis intestinales

Hoy en día la quimioterapia juega un papel importante tanto en el tratamiento como en el control de las enfermedades parasitarias, y los principales fármacos utilizados con este fin son los derivados del bencimidazol y nitroheterociclos.^{8,12-13}

2.2.1 Bencimidazoles en la quimioterapia de enfermedades parasitarias

Los derivados del bencimidazol son de gran importancia en diferentes líneas de investigación, sobretodo en áreas relacionadas con la salud, debido al amplio espectro de actividad biológica que presentan.^{8,12} Este heterociclo forma parte de numerosos fármacos entre los que se encuentran: fungicidas, antiinflamatorios, antibacterianos, antivirales, antitumorales y antiparasitarios.¹⁴⁻¹⁷

Actualmente los compuestos bencimidazólicos de uso común en la práctica clínica para el tratamiento de las enfermedades parasitarias son el albendazol, el flubendazol y el mebendazol (**Figura 2.1**), los cuales son efectivos y poco tóxicos.¹²

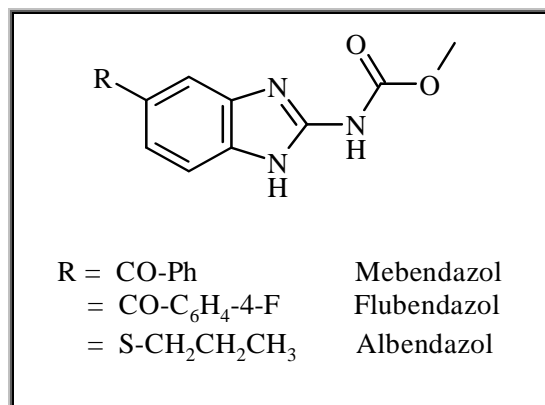


Figura 2.1 Algunos compuestos bencimidazólicos de interés terapéutico.

Los mecanismos por medio de los cuales se conoce que los bencimidazoles ejercen su efecto biológico son principalmente tres (**Figura 2.2**):

1. Se ha demostrado que fármacos como el mebendazol inhiben directa y selectivamente la absorción de glucosa en helmintos, lo que lleva a un consumo significativo del glucógeno del parásito. Debido a la falta de sus principales fuentes de energía, se presenta una disminución en la formación de ATP, indispensable para la sobrevivencia y reproducción de los parásitos, produciéndose su inmovilización y muerte.^{14,18}

2. El bloqueo del metabolismo anaerobio de la glucosa en helmintos, a través de la inhibición de la enzima fumarato reductasa, lo que priva al parásito de una importante fuente de energía causando su parálisis y muerte. Es conveniente mencionar que esta enzima no se presenta en humanos por lo que representa una diana importante para la innovación de fármacos antiparasitarios.^{14,18}

3. Adicionalmente, el mebendazol y sus congéneres actúan inhibiendo la polimerización de la tubulina impidiendo así la formación de microtúbulos en los parásitos.^{3,14} Esta interrupción de la agregación de microtúbulos afecta varias funciones del parásito; entre ellas funciones de transporte de nutrientes y alteración en la secreción de acetilcolinesterasa, produciendo así su inmovilización y muerte.¹⁸⁻²² Cabe señalar que la afinidad de los bencimidazoles por la tubulina del parásito es mucho mayor que por la de los mamíferos (entre 250-400 veces superior), lo que se traduce en la alta selectividad de estos compuestos.^{14,18,20}

Aún cuando el modo de acción de los bencimidazoles como antihelmínticos ha sido ampliamente estudiado, los mecanismos que describen su actividad antiprotozoaria son todavía escasos.¹⁸ Al respecto estudios *in vitro* muestran que los bencimidazoles derivados del carbendazim (1*H*-bencimidazol-2-carbamato de metilo), mebendazol y albendazol presentan actividad antiprotozoaria contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.²³ Asimismo, estudios de microscopía electrónica sugieren que estos fármacos se unen directamente a la tubulina del parásito destruyendo así su disco de adhesión en el que hay una gran cantidad de dicha proteína y ocasionando de esta manera su muerte.^{18,20,23}

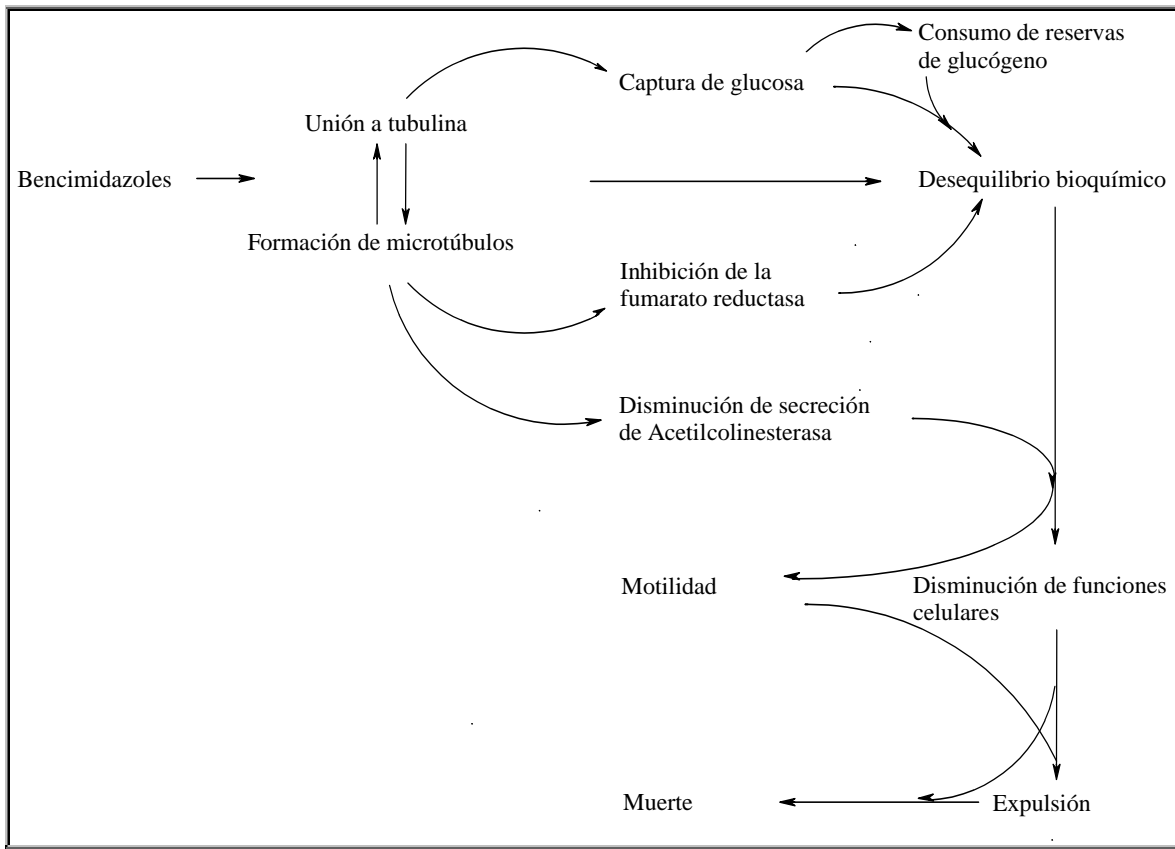


Figura 2.2 Mecanismo de acción de los bencimidazoles.

Una característica importante de los bencimidazoles es que además de presentar un amplio espectro antihelmíntico, muestran una baja ocurrencia de efectos secundarios debido, además de su selectividad, a su baja absorción y su alta unión a proteínas plasmáticas (70-95%).^{14,24} Sin embargo, esta característica es también una desventaja, ya que infecciones sistémicas tratadas con estos fármacos requieren la administración de altas dosis por largos períodos, lo que resulta en el desarrollo de resistencia a este tipo de compuestos.^{3,25-26}

2.2.2 Nitroheterociclos en la quimioterapia de enfermedades parasitarias

Otro grupo importante dentro de los fármacos antiparasitarios son los nitroheterociclos, entre los que destacan el benznidazol, nitazoxanida, metronidazol, furazolidona, nitrofurazona y ornidazol (**Figura 2.3**).^{13-14,27-28}

Los nitroimidazoles, particularmente el metronidazol, son los fármacos de elección en la terapia de protozoosis como tricomoniosis, giardiosis y amebiosis.^{5,25} Cabe resaltar que dicho fármaco se encuentra incluido dentro del cuadro básico de medicamentos de la SSA.²⁹

Por otra parte, la nitazoxanida es un fármaco antiparasitario notable por su amplio espectro de actividad, ya que estudios recientes muestran su efectividad tanto en el tratamiento de protozoarios como *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*, y contra los helmintos *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Trichuris trichiura*, *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana* y *Fasciola hepatica*.¹³ La nitazoxanida tiene una excelente biodisponibilidad después de una dosis oral, y sus principales metabolitos (tizoxanida y el glucónido de tizoxanida) son derivados activos, por lo que se ha considerado a este compuesto como una especie de profármaco.^{13,25} Por otro lado, a diferencia del metronidazol, la nitazoxanida y sus metabolitos parecen estar libres de efectos mutagénicos y teratogénicos.^{13,25,27}

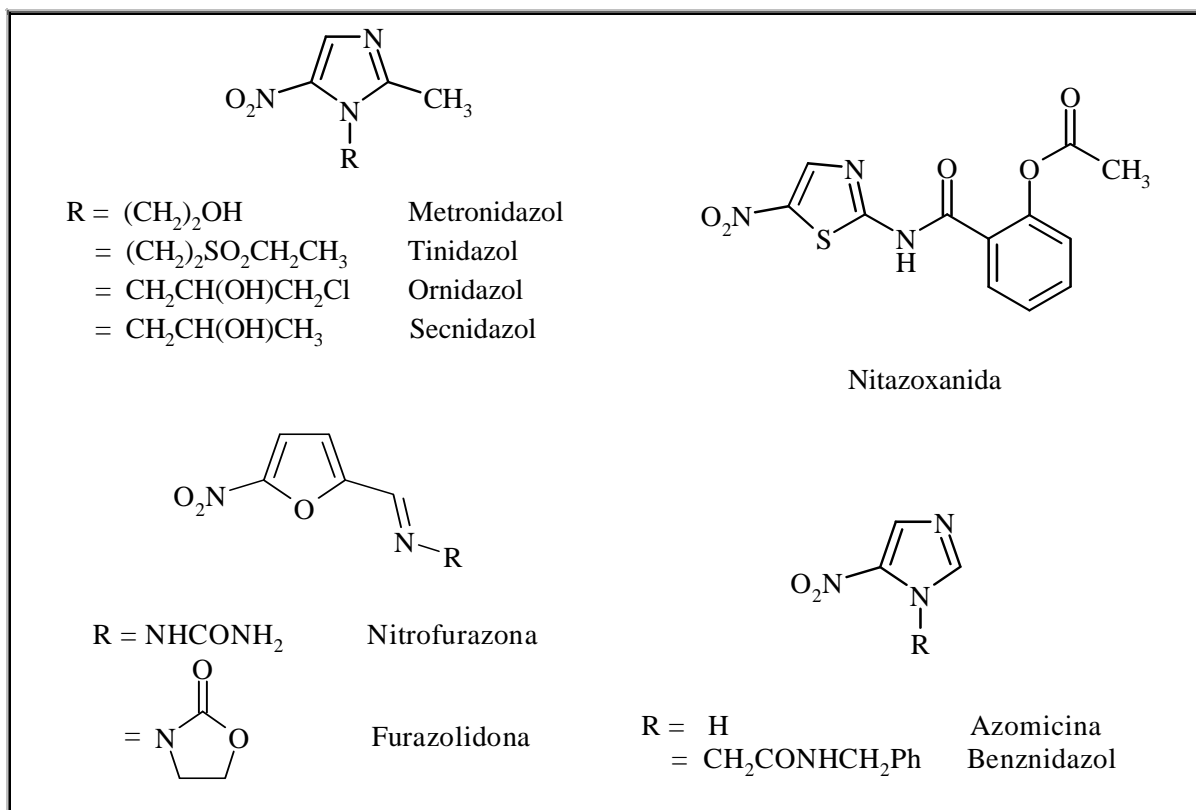


Figura 2.3 Algunos derivados nitroheterocíclicos de interés terapéutico.

El mecanismo de acción de los nitroimidazoles y nitrofuranos se atribuye a la reducción de su grupo nitro por componentes de la cadena de transporte de electrones como flavoproteínas y ferredoxinas; siendo la enzima responsable de dicha reacción la Piruvato Ferredoxin Oxidoreductasa (PFOR).¹³⁻¹⁴ Los productos de la reducción son principalmente especies reactivas de oxígeno que reaccionan con macromoléculas como el ADN, ARN,

proteínas endógenas e incluso ocasionan la lipoperoxidación de la membrana del parásito, lo que produce consecuentemente la muerte del mismo (**Figura 2.4**).¹³⁻¹⁴ La enzima oxidoreductasa responsable de la reducción de los derivados de nitroheterociclos no tiene una contraparte en mamíferos, lo que se traduce en la baja toxicidad del fármaco.^{22,27}

En contraste con los nitroimidazoles, la nitazoxanida parece interactuar directamente con la PFOR (es decir, no depende de la presencia de ferredoxina reducida), y los productos de dicha interacción no producen mutaciones en el ADN. Aún cuando el mecanismo de acción de la nitazoxanida en helmintos no ha sido determinado, las enzimas de la cadena de transporte de electrones son consideradas los blancos potenciales de este fármaco.^{13,27}

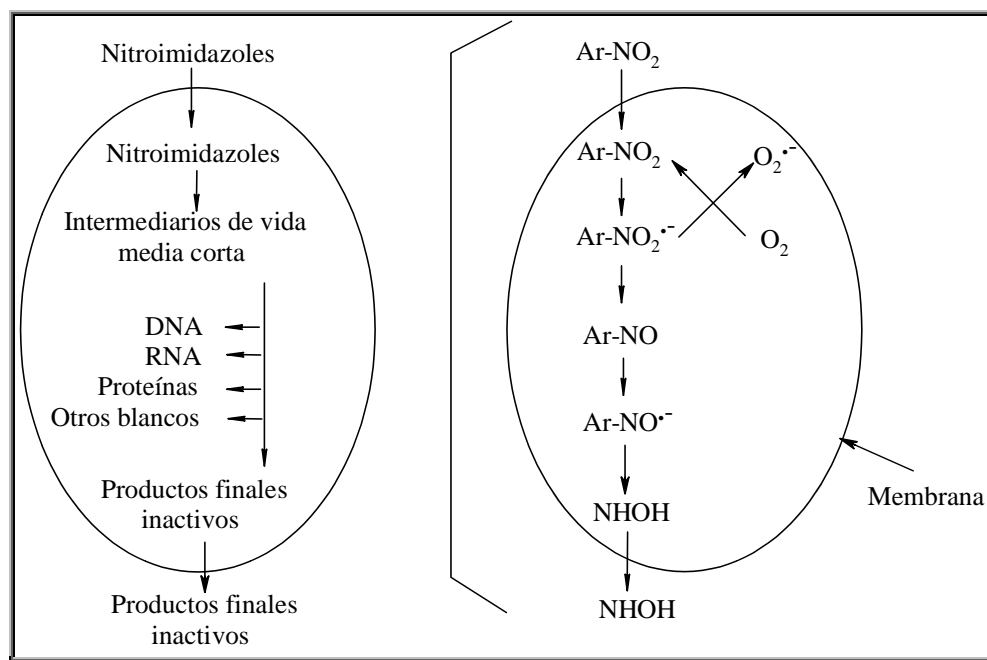


Figura 2.4 Principales especies reactivas formadas por acción de los nitroimidazoles.

2.3 Diseño de compuestos novedosos con posible actividad antiparasitaria

Una vez planteada la situación actual de las parasitosis y su tratamiento, así como la necesidad del desarrollo de nuevos fármacos, se resumen a continuación las modificaciones moleculares y estrategias mediante las que han sido desarrollados nuevos compuestos con posible actividad antiparasitaria.

2.3.1 Modificaciones moleculares de los bencimidazoles

Como parte de la búsqueda de información acerca de los requerimientos estructurales para la actividad antiparasitaria, se han sintetizado una serie de derivados del bencimidazol, cuyas principales modificaciones se indican a continuación (**Figura 2.5**).^{18,30}

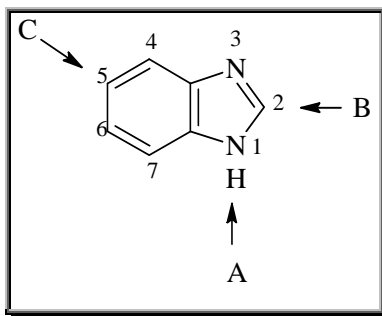


Figura 2.5 Posiciones donde se han realizado modificaciones estructurales al anillo bencimidazólico.

⊕ *Modificaciones en la posición A.* Con el fin de establecer la importancia del hidrógeno en esta posición se han sintetizado varios 1-alkil, 1-aril, 1-acil y 1-arilalkilbencimidazoles.^{3,18,23} Los resultados obtenidos indican que la presencia del hidrógeno en esta posición favorece la actividad antihelmíntica, mientras que un grupo metilo incrementa la actividad antiprotozoaria.^{3,8,23} Adicionalmente, con este reemplazo se evita el efecto tautomérico debido a la migración del hidrógeno de la posición 1 a la posición 3 del anillo bencimidazólico (**Figura 2.6**).^{30-31,36}

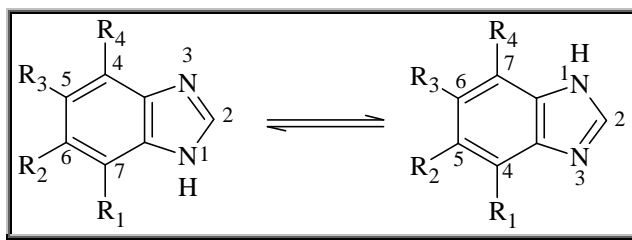


Figura 2.6 Formas tautoméricas del 1H-bencimidazol.

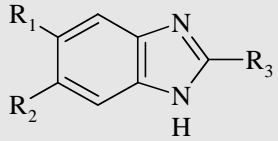
⊕ *Modificaciones en la posición B.* Los cambios efectuados en esta posición son principalmente en cuanto a la naturaleza polar del sustituyente (-H, -CH₃, CF₃, -NH₂, -NHCOOCH₃, -SH, -SCH₃), con el fin de establecer como afecta este factor la biodisponibilidad del compuesto y su efecto antiparasitario.^{18,30}

⊕ *Modificaciones en la posición C.* La presencia de sustituyentes en las posiciones 5 y/ó 6 de los bencimidazoles es un factor importante para determinar el perfil

antiparasitario de estos compuestos. Además dichos sustituyentes previenen que la molécula sufra de metabolismo y pierda actividad.^{18,30}

A continuación se enlista la actividad giardicida de algunos compuestos derivados del bencimidazol (**Tabla 2.1**) previamente sintetizados.

Tabla 2.1 Actividad giardicida de algunos derivados del bencimidazol

				CI ₅₀ * (μM)
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	<i>G. intestinalis</i>
1	H	H	CH ₃	0.317
2	H	H	NH ₂	1.902
3	H	H	NHCOOCH ₃	0.057
4	H	H	SH	0.040
5	H	H	SCH ₃	0.045
6	H	H	H	0.008
7	Cl	H	CH ₃	0.156
8	Cl	H	NH ₂	0.030
9	Cl	H	NHCOOCH ₃	0.066
10	Cl	H	SH	0.081
11	Cl	H	SCH ₃	0.005
Albendazol				0.037

* Concentración inhibitoria 50

2.3.2 Compuestos “híbridos” como una estrategia en la innovación de fármacos

La variación molecular es uno de los métodos utilizados en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos y se basa en la modificación de una molécula con actividad conocida a fin de obtener un nuevo compuesto que puede presentar actividad farmacológica.³²⁻³⁴

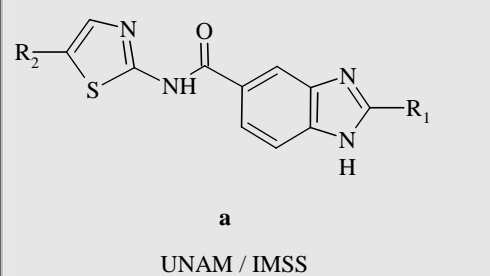
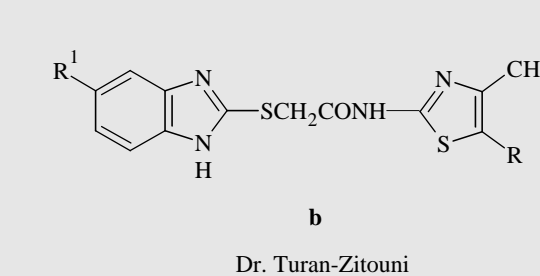
Uno de los métodos de variación molecular es la combinación covalente de dos grupos farmacofóricos en una sola molécula. Como resultado de dicha unión se obtienen compuestos “gemelos idénticos”, cuando ambos grupos farmacofóricos son iguales; o bien compuestos “gemelos no idénticos” o “híbridos”, si son distintos.³³

Como resultado de la unión de distintos grupos farmacofóricos se obtienen compuestos cuyas características estructurales les permiten actuar en distintos blancos biológicos, por lo que los fármacos híbridos son también denominados fármacos de acción dual.³³

Por otro lado, 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 del Centro Médico Nacional siglo XXI del IMSS,^{30,35} y otras realizadas por el grupo de trabajo del Doctor Turan-Zitouni,¹⁶⁻¹⁷ han aportado datos relevantes que muestran que compuestos híbridos derivados del bencimidazol y la nitazoxanida, presentan buena actividad biológica como antiparasitarios^{30,35} o bien como antibacterianos y fungicidas.^{16-17,36}

Aún cuando en ambos casos los núcleos precursores son los mismos, la diferencia entre ellos radica en que los compuestos sintetizados en la Facultad de Química de la UNAM están unidos vía un enlace carboxamida en la posición 5 del anillo bencimidazólico^{30,35} y aquellos reportados por el Doctor Turan-Zitouni presentan una unión ariltioacetamida en la posición 2 del anillo bencimidazol.¹⁶⁻¹⁷ Adicionalmente la ubicación de sustituyentes como los grupos nitro y metilo se intercambian del tiazol al bencimidazol, lo que confiere a estos compuestos actividades biológicas distintas (**Tabla 2.2**).^{35,16-17}

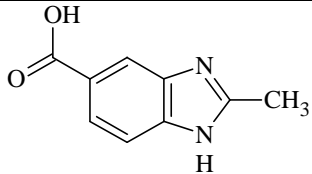
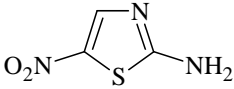
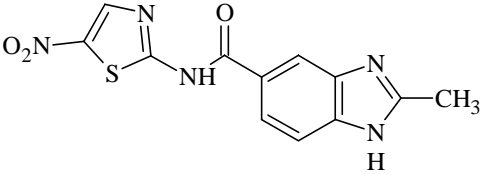
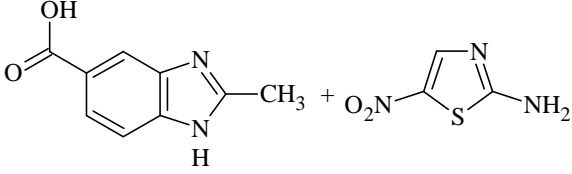
Tabla 2.2 Algunos híbridos sintetizados en la Facultad de Química de la UNAM (**a**) y por el equipo de trabajo del Doctor Turan-Zitouni (**b**) y su correspondiente actividad giardicida

 <p style="text-align: center;">a UNAM / IMSS</p>			 <p style="text-align: center;">b Dr. Turan-Zitouni</p>		
Compuesto	R ₁	R ₂	R	R ¹	CI ₅₀ * (μM)
PVB-16	CH ₃	H	-	-	0.201
PVB-59	CH ₃	NO ₂	-	-	0.016
VMAS-62	SCH ₃	NO ₂	-	-	0.161
III-b	-	-	H	NO ₂	Nr
III-c	-	-	CH ₃	H	Nr
III-h	-	-	COOC ₂ H ₅	NO ₂	Nr

* Concentración inhibitoria 50 contra *G. intestinalis*; Nr: No reportada

Cabe resaltar, que previamente se ha reportado que los núcleos precursores de este tipo de híbridos presentan una actividad giardicida inferior cuando se evalúan por separado o en una mezcla física, que cuando están unidos covalentemente en el compuesto híbrido (Tabla 2.3).³⁵

Tabla 2.3 Actividad giardicida de la carboxamida híbrida **PVB-59** y sus núcleos precursores

Compuesto	CI ₅₀ * (μM)	Conc. final (μg/mL)
 <p>PVB-7</p>	0.019	0.0035
 <p>ANTZ</p>	0.372	0.0540
 <p>PVB-59</p>	0.016	0.0050
 <p>PVB-7 + ANTZ</p>	Nd	0.0095 0.00524 (ácido) 0.00425 (ANTZ)

* Concentración inhibitoria 50 contra *G. intestinalis*; Nd: No determinada

2.4 Métodos generales de síntesis

Para la síntesis de los derivados benzimidazólicos, del tipo híbrido, es necesario partir del núcleo benzimidazólico adecuadamente sustituido y posteriormente adicionar los otros grupos. A continuación se describen algunos métodos que han sido utilizados con dicho fin.

2.4.1 Métodos de obtención de benzimidazoles

Uno de los principales métodos de síntesis de derivados benzimidazólicos consiste en la reacción de ciclocondensación entre la 1,2-fenilendiamina y un ácido carboxílico cuya naturaleza determina el sustituyente en posición 2, obteniéndose generalmente buenos rendimientos (**Figura 2.8**).³⁷⁻³⁹

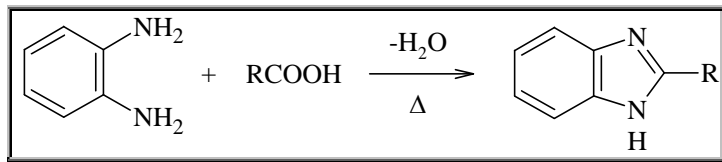


Figura 2.8 Síntesis de benzimidazoles a partir de 1,2-fenilendiaminas y ácidos.

Si se requiere funcionalizar la posición 2 del benzimidazol con grupos como NH_2 ó SH , se emplean reactivos electrofílicos como BrCN para obtener el 2-aminobenzimidazol, o bien el CS_2 para sintetizar el 2-mercaptobenzimidazol (**Figura 2.9**).^{3,40-41}

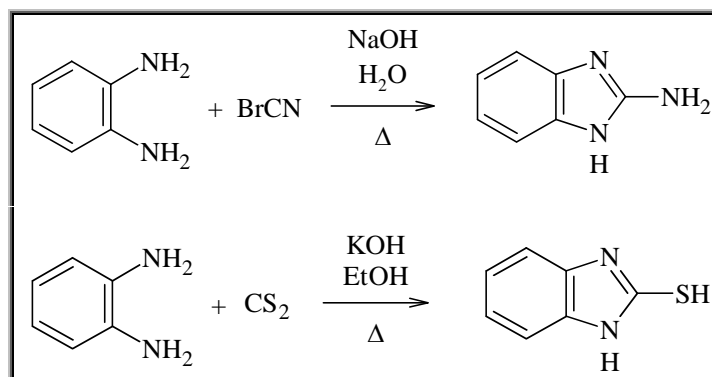


Figura 2.9 Métodos de obtención de 2-mercapto-1*H*-benzimidazoles y 2-amino-1*H*-benzimidazoles.

2.4.2 Métodos de obtención de carboxamidas

La elaboración de estos compuestos resulta un tanto difícil si se quieren hacer reaccionar directamente los ácidos carboxílicos con aminas, ya que se obtienen las sales correspondientes debido a la reacción ácido-base que ocurre entre ellos, además el grupo hidroxilo del ácido es un mal grupo saliente.⁴² Por tal motivo, la preparación de este tipo de compuestos se lleva a cabo utilizando una forma más activa del ácido carboxílico (como es el caso de los anhídridos y halogenuros de ácido), o mediante el uso de agentes que forman aductos inestables con el ácido, para después hacerlos reaccionar con las aminas deseadas. Algunos ejemplos de métodos de síntesis de carboxamidas se ilustran a continuación (**Figura 2.10**).⁴³⁻⁵¹

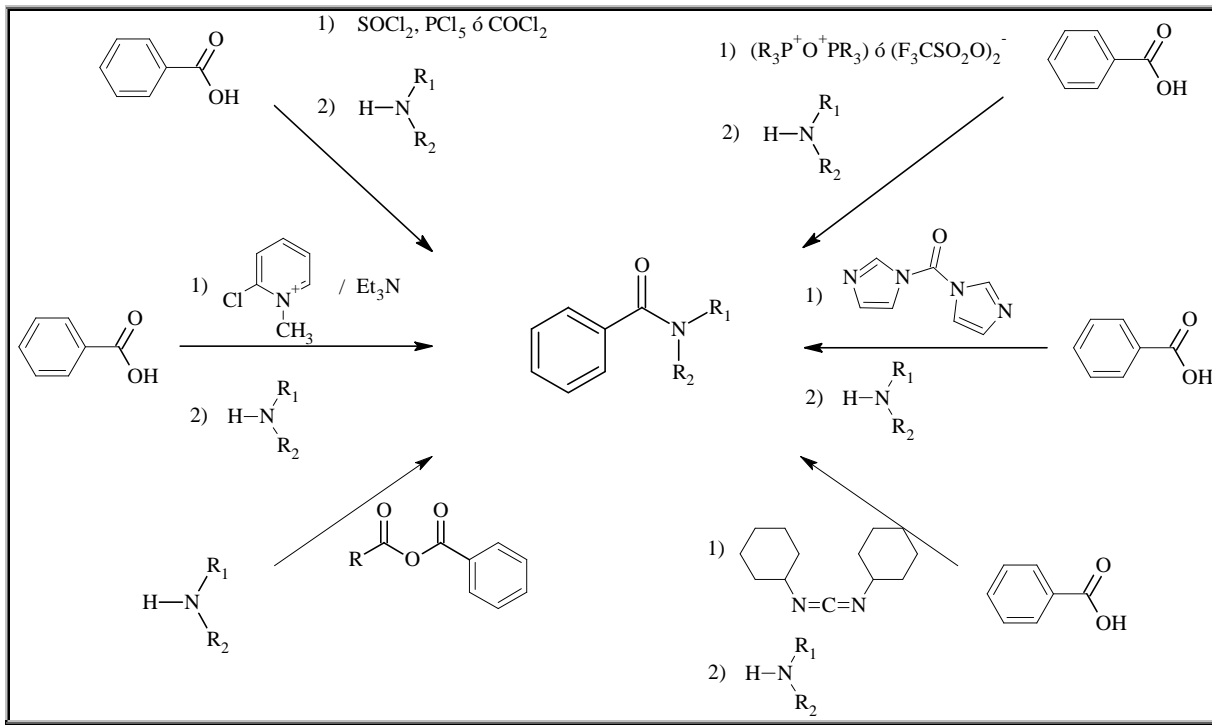


Figura 2.10 Métodos de síntesis de carboxamidas.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la alta incidencia de enfermedades parasitarias, tanto en humanos como en el sector pecuario, así como los efectos colaterales producidos por los fármacos de uso actual para su tratamiento, la pobre solubilidad en agua que los derivados bencimidazólicos presentan y los mecanismos de resistencia generados por los parásitos, es necesario el desarrollo de nuevos compuestos antiparasitarios. Asimismo es urgente obtener información básica acerca de las características estructurales requeridas para que un compuesto presente una actividad biológica determinada.

Ahora bien, con base en las características estructurales de los compuestos que forman parte de este proyecto pueden plantearse las siguientes preguntas: La unión de los grupos farmacofóricos bencimidazol y tiazol ¿potenciará la actividad antiparasitaria de igual manera si están conectados vía un enlace carboxamida en posición 5 del bencimidazol que vía una unión ariltioacetamida en la posición 2 del anillo bencimidazólico?, si se elimina el grupo nitro del anillo de tiazol ¿disminuirá la actividad antiparasitaria?, ¿existe la posibilidad de que la introducción del grupo tiol en la posición 2 del anillo bencimidazólico mejore la actividad de estos compuestos en relación a otros híbridos reportados?

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 Hipótesis

Los compuestos híbridos derivados de los núcleos bencimidazol y tiazol, presentarán una mejor actividad antiparasitaria *in vitro* que dichos compuestos evaluados aisladamente. Adicionalmente, la actividad presentada por los híbridos unidos vía un enlace ariltioacetamida en posición 2 del bencimidazol, será equiparable a la actividad de los híbridos que se encuentran unidos vía un enlace carboxamida en la posición 5 del anillo bencimidazólico. Se espera también que la ausencia del grupo nitro disminuirá la potencia, pero los compuestos seguirán siendo activos. En conjunto todos los compuestos por sus características estructurales tendrán una actividad equiparable con la de los fármacos antiparasitarios de uso actual (albendazol, metronidazol, nitazoxanida).

4.2 Objetivo general

Sintetizar y evaluar la actividad antiprotozoaria de dos derivados híbridos del bencimidazol y del 5-nitrotiazol y sus correspondientes análogos no nitrados, unidos mediante un enlace carboxamida en la posición 5 del bencimidazol o por una unión ariltioacetamida en la posición 2 del anillo bencimidazólico.

4.3 Objetivos particulares

- ✦ Sintetizar y purificar los siguientes compuestos híbridos derivados del bencimidazol y tiazol.

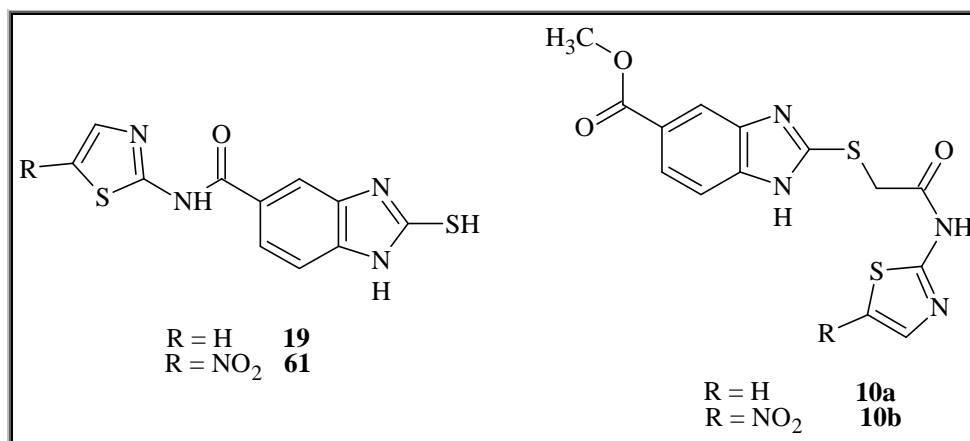


Figura 4.1 Carboxamidas (**19** y **61**) y carboxilatos de metilo (**10a** y **10b**) derivados de los núcleos bencimidazol y tiazol.

- ✦ Sintetizar y purificar los compuestos precursores necesarios para la obtención de las carboxamidas y carboxilatos bencimidazólicos finales.
- ✦ Determinar las constantes físicas y caracterizar estructuralmente los compuestos sintetizados, mediante el uso de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- ✦ Evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* de los compuestos híbridos, frente a los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis*.
- ✦ Determinar la influencia de la posición del sustituyente tiazol en la actividad antiparasitaria de los derivados bencimidazólicos finales.
- ✦ Enriquecer la base de datos de compuestos antiparasitarios derivados del bencimidazol, con el fin de establecer una relación estructura-actividad.

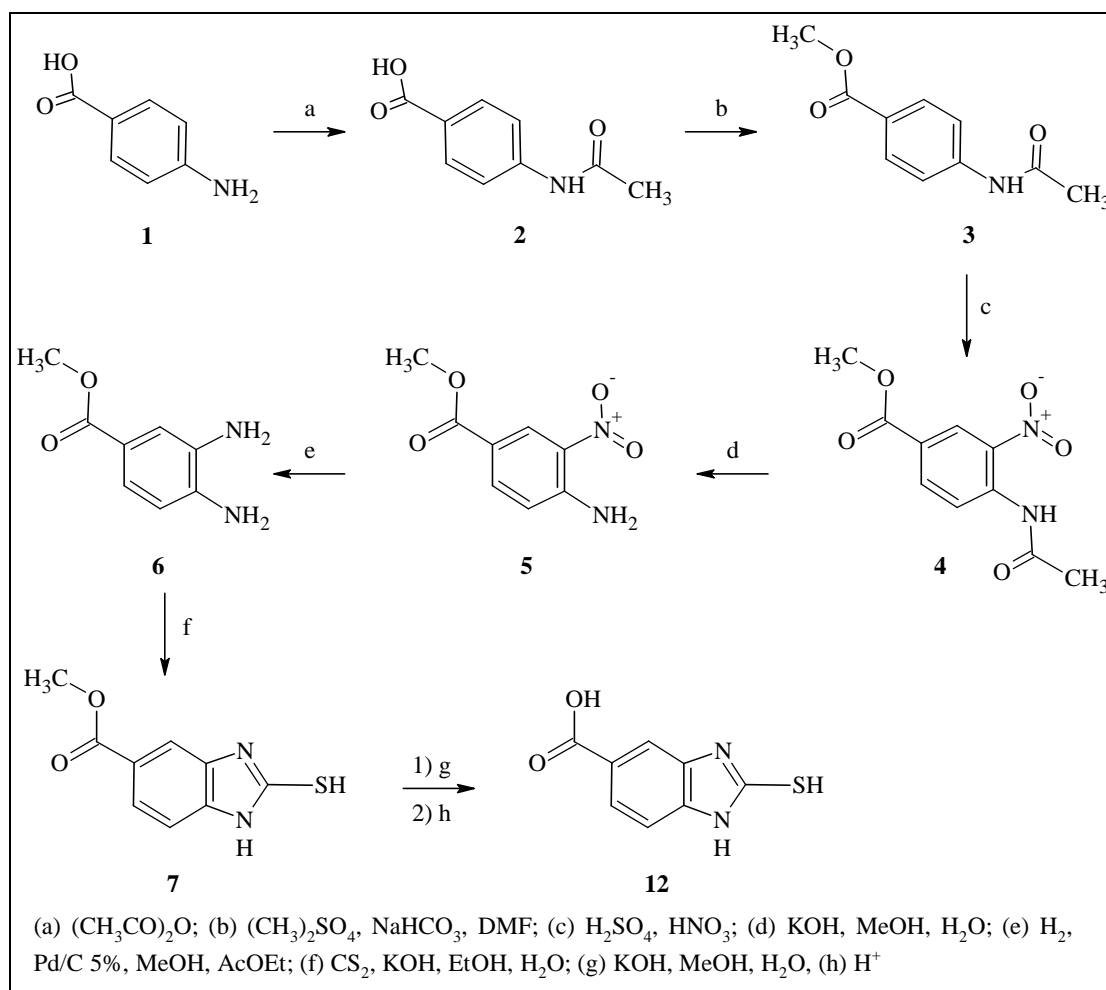
5. METODOLOGÍA

El desarrollo experimental de esta tesis comprende la descripción de la metodología empleada para sintetizar los compuestos derivados del bencimidazol diseñados. Además, se incluye la descripción de la metodología realizada por el grupo de trabajo del Centro Médico Nacional siglo XXI, para la evaluación del efecto antiparasitario de los compuestos sintetizados contra los protozoarios *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

5.1 Parte química

5.1.1 Síntesis de los carboxilatos de metilo 1H-bencimidazólicos 10a y 10b

Para la síntesis de estos carboxilatos se prepararon inicialmente los precursores **7**, **9a** y **9b**; para lo cual se siguieron las secuencias sintéticas mostradas en los **Esquemas 5.1** y **5.2**, respectivamente. Habiendo obtenido dichos precursores, se procedió a la preparación de los compuestos híbridos como se indica en el **Esquema 5.3**.



Esquema 5.1 Secuencia sintética para preparar los precursores **7** y **12**.

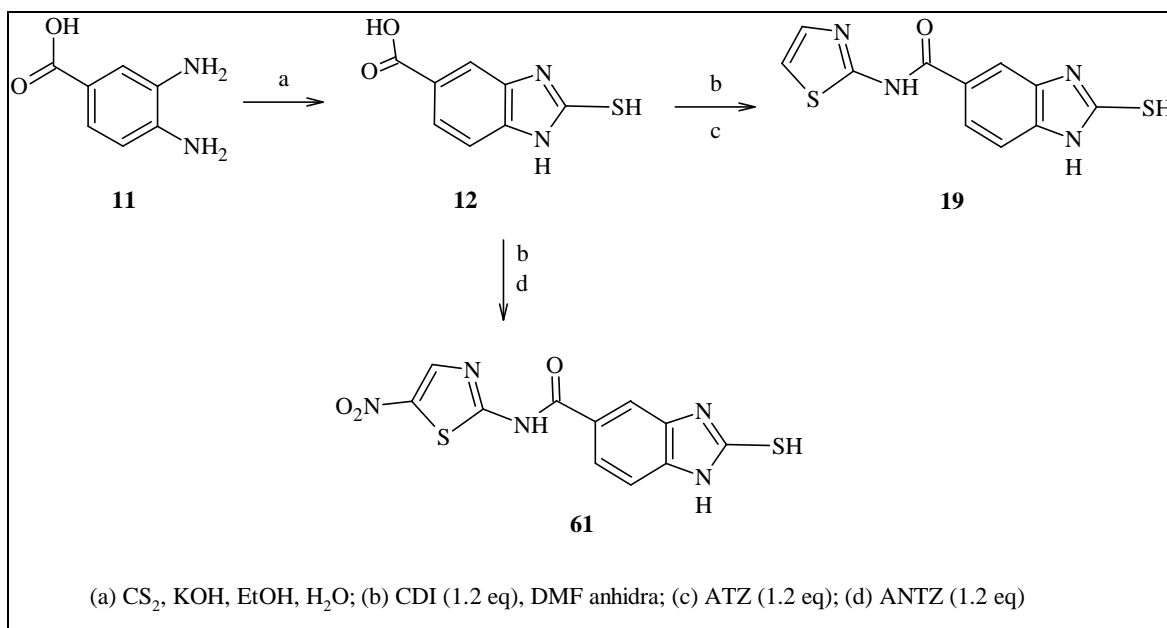
obtuvo el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**5**)⁵⁴⁻⁵⁵, que se sometió a una reducción catalítica, utilizando Pd/C 5% como catalizador, para formar el 3,4-diaminobenzoato de metilo (**6**).³⁵ Posteriormente se llevó a cabo la ciclación de **6**, utilizando disulfuro de carbono y potasa etanólica acuosa, con lo cual se obtuvo el 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**7**).^{3,40,41}

Por otro lado, se llevaron a cabo las reacciones del 2-aminotiazol (**8a**) y 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) por separado con cloruro de cloroacetilo en presencia de trietilamina anhidra y glima como disolvente para obtener los precursores 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9a**) y 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9b**), respectivamente.^{16,36}

Finalmente, se realizó la formación de los compuestos híbridos 2-{{[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio}-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10a**) y 2-{{[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio}-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10b**), mediante la reacción de **9a** (ó **9b**) con **7** en acetona y carbonato de potasio.^{16-17,36}

5.1.2 Síntesis de las carboxamidas 1*H*-bencimidazólicas 19 y 61

Se inició a partir del ácido 3,4-diaminobenzoico (**11**) que se sometió a una reacción de ciclocondensación con CS₂ y potasa etanólica acuosa para obtener **12**.^{3,40-41} También puede obtenerse el ácido **12** mediante la hidrólisis alcalina de **7** (**Esquema 5.1**), según lo reportado por P. Vargas y V. Arroyo.^{30,35} Posteriormente se hizo reaccionar el ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**) con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) en DMF anhidra y, luego de formado el intermediario imidazólido, se adicionó a la mezcla de reacción **8a** (u **8b**) disuelto también en DMF, para obtener así las carboxamidas 1*H*-bencimidazólicas **19** ó **61**, respectivamente (**Esquema 5.4**).⁴⁴⁻⁴⁵



Esquema 5.4 Ruta sintética para la obtención de las carboxamidas **19** y **61**.

5.2 Parte biológica

Esta parte fue realizada por el equipo de trabajo de la Dra. Lilián Yépez Mulia, en el Centro Médico Nacional siglo XXI y consistió en la evaluación antiparasitaria *in vitro* de los derivados bencimidazólicos **10a**, **10b**, **19** y **61**, contra los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis*.

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

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

Como control negativo se emplearon trofozoitos en medio libre de fármacos. Después de la incubación se inocularon 50 µL de trofozoitos tratados, en medio fresco, ya sin la adición de los compuestos y se incubaron por 48 horas más. El número final de trofozoitos se determinó en una cámara cuentaglobulos. Se calculó el porcentaje de inhibición del 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 el 50% del crecimiento de los trofozoitos. Los experimentos se realizaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.⁵⁶

5.2.2 Prueba de susceptibilidad in vitro para *T. vaginalis*

Se empleó el método de subcultivos, previamente estandarizado. Se incubaron 4×10^6 trofozoitos de *T. vaginalis* por 48 horas a 37 °C, en tubos con concentraciones crecientes de los diferentes compuestos (0.005, 0.01, 0.05, 0.1 y 0.5 µg/mL).

Como control negativo se emplearon trofozoitos en medio libre de fármacos. Después de la incubación se inocularon 50 µL de trofozoitos tratados, en medio fresco, ya sin la adición de los compuestos y se incubaron por 48 horas más. El número final de trofozoitos se determinó en una cámara cuentaglóbulos. Se calculó el porcentaje de inhibición del 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 el 50% del crecimiento de los trofozoitos. Los experimentos se realizaron por triplicado y se repitieron en tres ocasiones.⁵⁶

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Parte química

6.1.1 Constantes físicas

Las constantes físicas y los rendimientos obtenidos para los compuestos finales sintetizados, se muestran en la **Tabla 11.1** y los resultados obtenidos para los intermediarios restantes, se muestran en la **Tabla 11.2** del apéndice.

6.1.2 Síntesis química

En esta parte primero se abordará la preparación de los carboxilatos de metilo **10a** y **10b** y posteriormente lo relativo a la preparación de las carboxamidas bencimidazólicas **19** y **61**.

6.1.2.1 Obtención de los precursores 7, 9a y 9b

a) Síntesis del 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)

Para la preparación de **7** se partió del ácido 4-aminobenzoico (**1**), que se trató con anhídrido acético con el fin de proteger el grupo amino; debido a lo espeso de la mezcla de reacción, ésta se realizó con agitación manual. El hecho de prescindir del uso de disolventes, facilitó la recuperación del producto de reacción, el ácido 4-acetamidobenzoico (**2**), que se obtuvo con un rendimiento del 92 %. La recristalización de este compuesto se llevó a cabo con una mezcla de etanol/acetato de etilo en proporción 80:20, con lo cual se redujo el consumo de disolvente en aproximadamente un 70 % y se incrementó el rendimiento de recristalización en un 17 %, con respecto a la recristalización reportada³⁵ por par de disolventes etanol/agua. El cambio estructural se confirmó por los datos obtenidos del espectro de RMN ¹H, donde se observó la señal del grupo metilo correspondiente al grupo acetilo, como una señal simple a 2.064 ppm. La espectrometría de masas presentó el pico correspondiente al ión con *m/z* de 179 (M^+ , 47%), que concuerda con la masa molecular calculada; además de presentarse el ión 137 de *m/z* correspondiente a la pérdida del grupo acetilo ($M^+ - 42$).

Con el fin de evitar reacciones secundarias en los pasos sintéticos posteriores y/o problemas de solubilidad, se protegió el grupo ácido de **2**, mediante una esterificación. En dicha reacción se utilizó DMF para disolver a **2** y a la solución formada se adicionó NaHCO₃ para

formar el carboxilato de sodio, de tal forma que éste pudiera metilarse con el sulfato de dimetilo. La reacción procedió de manera rápida y se recuperó el producto formado 4-acetamidobenzoato de metilo (**3**) con un rendimiento del 99 %. En comparación con el método de Fischer, esta esterificación presenta ventajas como: disminución del tiempo de reacción y de la cantidad de disolventes utilizada; además de tratarse de una reacción irreversible.

La formación de **3** se comprobó en el espectro de RMN ^1H por la señal simple a 3.796 ppm que integró para 3H, correspondiente al grupo metilo del éster y la presencia en el espectro de masas del pico m/z 193 (100%) concordante con la masa molecular calculada para **3**, y el fragmento $\text{M}^+ - 31$ correspondiente a la pérdida del grupo metoxilo.

Posteriormente, se realizó la nitración de **3** disolviendo éste en H_2SO_4 concentrado, entre 10-15 °C, seguido del enfriamiento de la mezcla de reacción a una temperatura entre 0-8 °C, y la posterior adición de HNO_3 concentrado para formar el ión nitronio *in situ*. La temperatura de disolución de **3** es superior a la de reacción, ya que de esta forma el proceso de solvatación es más rápido y al enfriar se evitó la generación de productos de nitración secundarios. Se llevó a cabo la reacción de forma eficiente, obteniéndose con un 88 % de rendimiento el 4-acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (**4**). Las señales de RMN ^1H de este compuesto en la región de aromáticos, se observaron con la multiplicidad característica de sustitución asignable a los protones 2, 5 y 6 del compuesto, cuya integración fue de 1H para cada una de ellas, respectivamente. El espectro de masas presentó el pico correspondiente al ión m/z 238 (18%), concordante con la masa molecular calculada.

El siguiente paso fue la desprotección del grupo amino de **4** por medio de una hidrólisis alcalina a una temperatura inferior a los 22 °C, con la finalidad de hidrolizar quimiosselectivamente el grupo acetamido, quedando intacto el éster metílico; lo cual fue posible gracias a la presencia del grupo nitro en posición *orto*. Se obtuvo así el 4-amino-3-nitrobenzoato de metilo (**5**), con un rendimiento del 90 % y sin la presencia de productos de reacción secundarios.

La obtención de este compuesto se confirmó con el espectro de RMN ^1H en el que se presenta una señal amplia a 7.967 ppm, que integró para 2H y que desaparece con el intercambio con D_2O además de la señal a 3.786 ppm que confirmó la permanencia del éster metílico. Asimismo, en el espectro de IR se presentan dos bandas finas a 3475 y 3341

cm^{-1} , correspondientes a la amina primaria formada. La espectrometría de masas mostró el ión m/z 196 (50%), que concordó con la masa molecular esperada.

El 3,4-diaminobenzoato de metilo (**6**) se obtuvo a partir de la hidrogenación catalítica de **5**, utilizando como catalizador Pd/C al 5 %. La reacción procedió rápidamente y la separación del catalizador se llevó a cabo de forma fácil en comparación con otros métodos de reducción química. Se obtuvo **6** con un rendimiento del 99 % y debido a su inestabilidad fue utilizado tal cual en la reacción de ciclocondensación siguiente.

Para la obtención del 2-mercapto-1*H*-5(6)-carboxilato de metilo (**7**), se llevó a cabo la ciclocondensación de **6** mediante la formación *in situ* del xantato de etilo, adicionando disulfuro de carbono y potasa etanólica acuosa, a una temperatura entre 65-75 °C. La reacción procedió de forma rápida, obteniéndose **7** con un rendimiento del 93 %. Cabe resaltar que la formación de este compuesto se ve favorecida al incrementar a 1.5 equivalentes el disulfuro de carbono y la potasa adicionados, manteniendo la proporción soluto-disolvente 1:10 y la temperatura cercana a 65 °C.

La formación de este compuesto se confirmó en el espectro de RMN ^1H donde se observaron las señales características del sistema de sustitución 2,5 del anillo bencimidazólico (**Fig. 6.1**), además de una señal simple a 3.819 ppm que integró para 3H, asignable al grupo metoxilo del éster y las señales amplias intercambiables con D_2O correspondientes al grupo tiol en posición 2 y al protón en posición 1 del anillo. La espectrometría de masas mostró el pico correspondiente al ión m/z 208 (98%), que concordó con la masa molecular calculada para este compuesto.

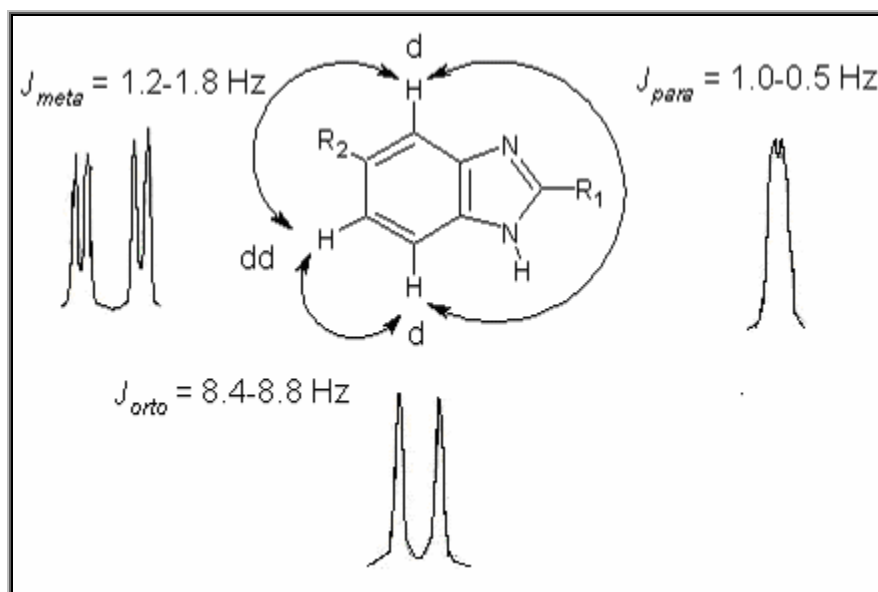


Figura 6.1 Sistema de sustitución 2,5 del anillo bencimidazólico.

b) Síntesis de la 2-Cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a) y de la 2-Cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)

Para la obtención del compuesto **9a** se hizo reaccionar el 2-aminotiazol con cloruro de cloroacetilo, utilizando glima como disolvente en presencia de trietilamina. Esta reacción se realizó en baño de hielo y la formación del producto fue rápida y eficiente, al obtenerse la 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9a**) con un rendimiento del 72 % y sin presencia de productos secundarios. En este caso el rendimiento de la reacción fue moderado debido a la solubilidad del producto obtenido en el disolvente utilizado para llevar a cabo la reacción, no obstante en este disolvente se presentó el mejor resultado ya que al cambiarlo por acetonitrilo la reacción presentó un menor rendimiento y el progreso de la reacción fue más lento.

La formación de **9a** se corroboró en espectrometría de masas con el pico correspondiente al ión m/z 177 (45%) concordante con la masa molecular calculada y el fragmento $M^+ - 76$ correspondiente a la pérdida del grupo cloroacetilo. Además se observó en el espectro de RMN 1H una señal simple a 4.447 ppm que integró para 2H asignable al grupo metileno y la presencia de una señal amplia intercambiable con D_2O a 11.366 ppm, con integración para 1H, correspondiente al protón de la amida. En el espectro de IR se observó una banda en 1703 cm^{-1} propia del grupo carbonilo de la amida formada.

La 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9b**) se obtuvo llevando a cabo una reacción de sustitución nucleofílica entre el cloruro de cloroacetilo y el 2-amino-5-nitrotiazol, de manera similar que para la obtención de **9a**, sin embargo el producto de reacción se obtuvo con un mayor rendimiento (86 %), ya que la presencia del grupo nitro en este compuesto modificó la solubilidad del mismo, favoreciendo así su recuperación de la mezcla de reacción.

La obtención de **9b** se confirmó en IR donde apareció una banda a 1694 cm^{-1} propia del grupo carbonilo de la amida formada. Además, la espectrometría de masas mostró el ión con m/z 221 (34 %), que concordó con la masa molecular calculada, y el fragmento $M^+ -76$, assignable a la pérdida del grupo cloroacetilo. En el espectro de RMN ^1H apareció una señal simple a 4.566 ppm, que integró para 2H, assignable al grupo metileno en 2 y la señal simple en 8.446, con integración para 1H correspondiente al protón del anillo tiazol.

6.1.2.2 Obtención de los carboxilatos de metilo finales 10a y 10b

Para la obtención del 2-([2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10a**) se realizó una reacción de sustitución nucleofílica entre el 2-mercapto-1*H*-5(6)-carboxilato de metilo (**7**) y la 2-cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9a**), en K_2CO_3 y utilizando acetona como disolvente. El carbonato de potasio fue utilizado para abstraer el protón ácido del tiol incrementando así la nucleofilia del átomo de azufre. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente para evitar la formación de productos secundarios. El producto esperado se formó en poco tiempo y su purificación no presentó dificultades. El empleo de acetona como disolvente, presentó la ventaja que en ésta, ambas materias primas fueron muy solubles y no así el producto de reacción, lo que contribuyó al fácil aislamiento del producto **10a** y con ello a un buen rendimiento (89 %).

Se observó en IR la presencia de dos señales características del grupo carbonilo a 1702 y 1671 cm^{-1} , correspondientes a la amida y al éster metílico. Por otra parte, el espectro de masas generado por la técnica de FAB^+ , modalidad positiva, presentó el ión *quasimolecular* (M^{+1}) en una relación m/z 349 (29%), que concuerda con la masa molecular esperada para este compuesto. Las señales que presentó el espectro de RMN ^1H confirmaron la formación de **10a** al presentarse una señal simple a 3.828 ppm que integró para 3H, correspondiente al grupo metoxilo y otra señal simple a 4.291 ppm que integró para 2H correspondiente al

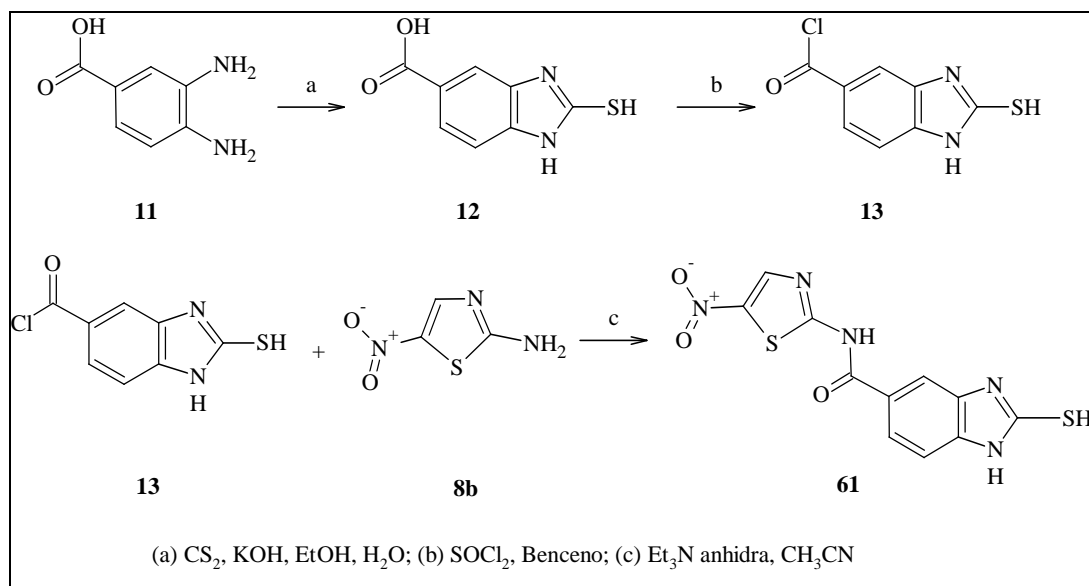
grupo metileno (-S-CH₂-CO-). Además se observó la presencia de las señales asignables a los protones aromáticos (tanto del bencimidazol como del tiazol) entre 7.178 y 8.001 ppm y los protones intercambiables con D₂O a 12.891 ppm correspondientes a los protones de la amida y del nitrógeno bencimidazólico. Por otro lado, para confirmar que la sustitución se llevó a cabo en el azufre y no en el nitrógeno del bencimidazol se realizó un experimento NOESY (**Espectro 21**), en el que no se observó interacción entre los protones del grupo metileno y los hidrógenos aromáticos correspondientes al anillo bencimidazólico, lo cual corroboró que la sustitución se llevó a cabo en el grupo tiol.

La síntesis del 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio]-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10b**) se realizó de manera similar a **10a**, por sustitución nucleofílica entre la 2-cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9b**) y el 2-mercapto-1*H*-5(6)-carboxilato de metilo (**7**), en carbonato de potasio y utilizando acetona como disolvente. Se obtuvo un rendimiento del 93 %; cabe resaltar que este compuesto no se recrystalizó debido a su pobre solubilidad, pero al generarse un solo producto de reacción, sólo fue necesario un lavado con éter dietílico con el fin de eliminar parte de la humedad del compuesto.

El IR de este compuesto mostró una banda ancha a 1699 cm⁻¹ correspondiente a los dos grupos carbonilo del éster metílico y la amida. Por otra parte, el espectro de masas generado por la técnica de FAB⁺, modalidad positiva, presentó el ión *quasimolecular* (M⁺) en una relación *m/z* 395 (10%), que concordó con la masa molecular esperada. La estructura de este compuesto se estableció con base en los resultados obtenidos de RMN ¹H, donde aparecieron señales tales como una señal simple a 3.835 que integró para 3H, correspondiente al grupo metoxilo y una señal simple a 4.213 ppm que integró para 2H asignable al grupo metileno (-S-CH₂-CO-). Se presentaron también señales entre 7.471 y 8.441 ppm, que en base a su desplazamiento químico, constantes de acoplamiento e integración fueron asignadas a los protones aromáticos del bencimidazol y del tiazol. Además se observó una señal amplia a 12.681 ppm con integración para 2H, intercambiable con D₂O, correspondiente a los protones de la amida y del nitrógeno bencimidazólico. Se realizó también el experimento NOESY (**Espectro 28**) con la finalidad de descartar la unión de **9b** al nitrógeno bencimidazólico. En dicho espectro no se observó interacción entre los protones del grupo metileno y los protones aromáticos del bencimidazol, por lo que se concluyó que la unión se llevó a cabo en el azufre como se esperaba.

6.1.2.3 Síntesis del ácido 2-Mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**) y del Cloruro del ácido 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**13**)

Para la obtención de las carboxamidas 2-mercaptobencimidazólicas **19** y **61**, se propuso como primera ruta sintética su formación a partir del cloruro de ácido común a ambos compuestos (**13**) (**Esquema 6.1**), para lo cual, primero se sintetizó el ácido precursor **12** que también se obtuvo mediante la hidrólisis de **7** según el **Esquema 5.1**.³⁵



Esquema 6.1 Secuencia sintética para la obtención de la carboxamida **61**.

Se sintetizó el ácido 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**), realizando la ciclocondensación del ácido 3,4-diaminobenzoico comercial mediante la formación *in situ* del xantato de etilo, adicionando disulfuro de carbono y potasa etanólica acuosa, a una temperatura entre 65-75 °C. La reacción procedió de forma rápida obteniéndose **12** con un rendimiento del 94 %. Cabe resaltar que al igual que para el compuesto **7**, la formación de **12** se ve favorecida al incrementar a 1.5 equivalentes el disulfuro de carbono y la potasa adicionados, manteniendo la proporción soluto-disolvente 1:10 y la temperatura cercana a los 65° C.

La obtención de **12** se confirmó en RMN ¹H, donde aparecen las señales características de la sustitución 2,5 del bencimidazol (**Figura 6.1**), además de la presencia de una señal amplia a 5.502 ppm intercambiable con D₂O y con integración para 1H correspondiente al protón del grupo ácido. Debido a la tautomería de la molécula (**Figura 6.2**), se observó una señal amplia a 12.781 ppm, intercambiable con D₂O y con integración para 2H

correspondientes a los nitrógenos bencimidazólicos. Por otro lado, la espectrometría de masas presentó un pico con una relación m/z 194 (M^+ , 100%), correspondiente a la masa molecular calculada para este compuesto.

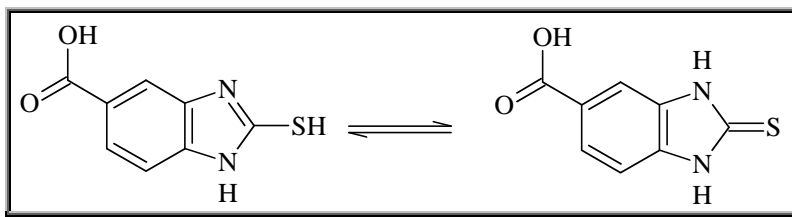


Figura 6.2 Formas tautoméricas del ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico.

Posteriormente se llevó a cabo la formación del cloruro del ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**13**), a partir del ácido carboxílico **12** y cloruro de tionilo en tolueno, a temperatura de reflujo. El tiempo promedio de la reacción fue de 4 horas, generándose un solo producto, que se utilizó sin purificar para generar las amidas bencimidazólicas.

Una vez obtenido el cloruro de acilo **13**, éste se trató con 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) utilizando acetonitrilo como disolvente y trietilamina en exceso, para llevar a cabo la formación de la amida correspondiente. Sin embargo, no se obtuvo el producto de reacción esperado, debido tanto a la baja solubilidad del cloruro de ácido en el disolvente, como a la pobre nucleofilia presentada por el nitrógeno del 2-amino-5-nitrotiazol (**Figura 6.3**); además de la alta nucleofilia que presenta el grupo tiol, sobretodo tratándose de medio alcalino donde ésta se ve incrementada, lo que originó la formación de una mezcla resinosa que no fue posible separar.

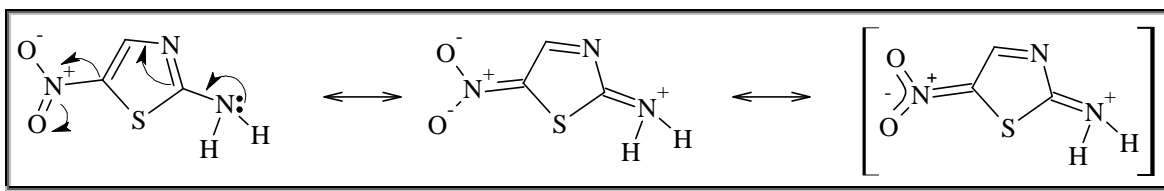


Figura 6.3 Estructuras resonantes del 2-Amino-5-nitrotiazol.

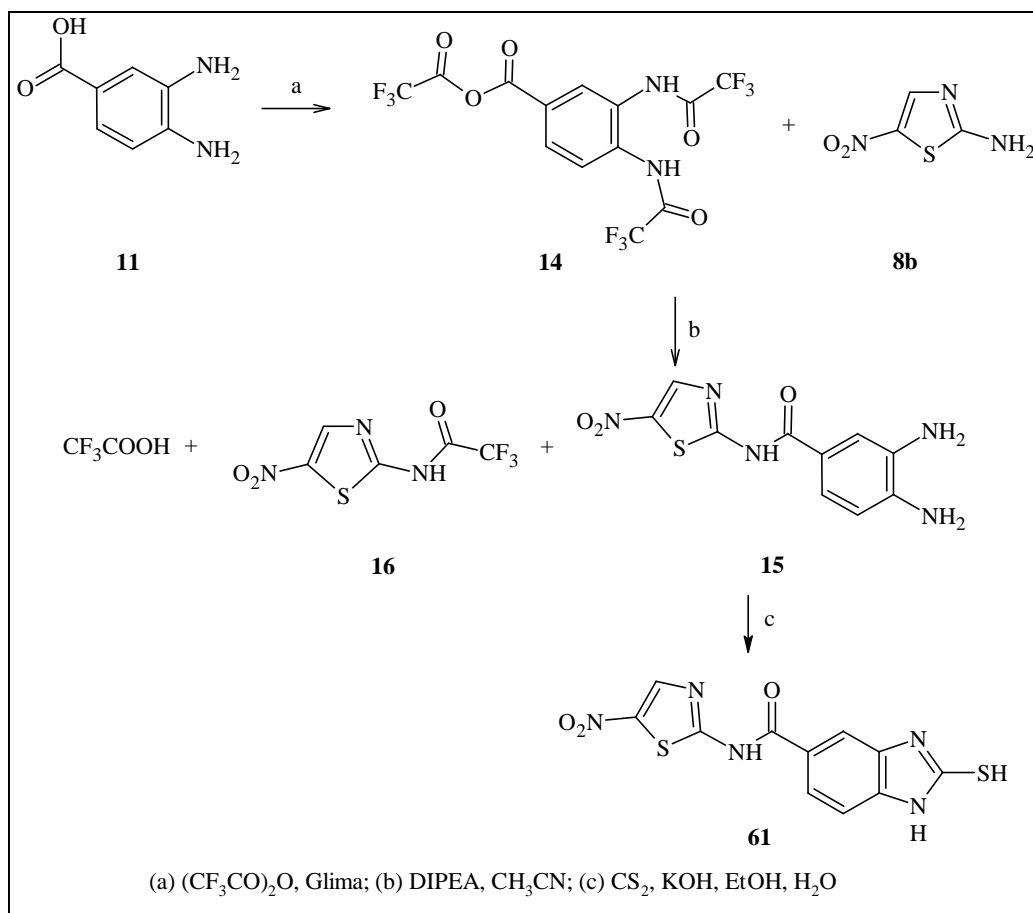
6.1.2.4 Ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-mercaptobencimidazólicas 19 y 61

Debido a lo anterior, se diseñó una nueva ruta sintética que se muestra en el **Esquema 6.2**. En esta nueva ruta se inició a partir del ácido 3,4-diaminobenzoico (**11**), que se hizo

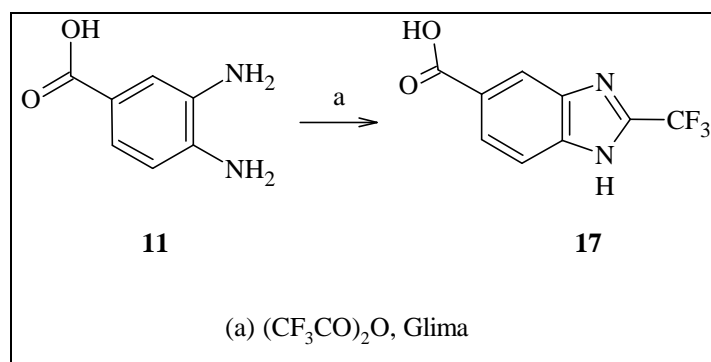
reaccionar con anhídrido trifluoroacético, para formar el anhídrido mixto de los ácidos 3,4-bis[(trifluoroacetil)amino]benzoico y trifluoroacético (**14**). La reacción procedió de forma lenta, por lo que se incrementó en varias ocasiones la temperatura a fin de propiciar la formación del producto. Después de 4 horas de reacción, esta concluyó mostrándose la formación de un solo producto por análisis en ccf, que no se purificó y se utilizó tal cual para la siguiente reacción. Después de neutralizar y destilar la glicina que se utilizó como disolvente, se adicionó acetonitrilo, diisopropiletilamina y 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) disuelto también en acetonitrilo con el fin de generar la 3,4-diamino-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)benzamida (**15**), que luego sería ciclada con disulfuro de carbono y potasa etanólica acuosa, para obtener la carboxamida **61**. No obstante, la reacción no procedió y se recuperaron tanto el supuesto anhídrido mixto **14**, como **8b**. Ambos compuestos se analizaron mediante ccf, y se realizaron los debidos espectros.

Se determinó el espectro de IR de **8b** y se comparó con uno de los sólidos aislado en la reacción anterior, obteniéndose las mismas bandas en ambos casos, lo que corroboró que se había recuperado sólo materia prima.

Por otro lado, en el espectro de masas del supuesto compuesto **14** se observó un pico con m/z de 230 (M^+ , 100%), que no concordó con la masa molecular calculada para este precursor, sino más bien con el producto de la ciclocondensación entre el ácido 3,4-diaminobenzoico y el anhídrido trifluoroacético, (**Esquema 6.3**) es decir, se formó el ácido 2-trifluorometil-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**17**), compuesto para el cual concordó el patrón de fragmentación observado en el espectro de masas. Además, en su espectro de IR se observaron bandas características del ácido a 3292-3084, 1174 y 770 cm^{-1} y la banda del grupo carbonilo a 1704 cm^{-1} .



Esquema 6.2 Ruta alterna de síntesis para la obtención de la carboxamida **61**.



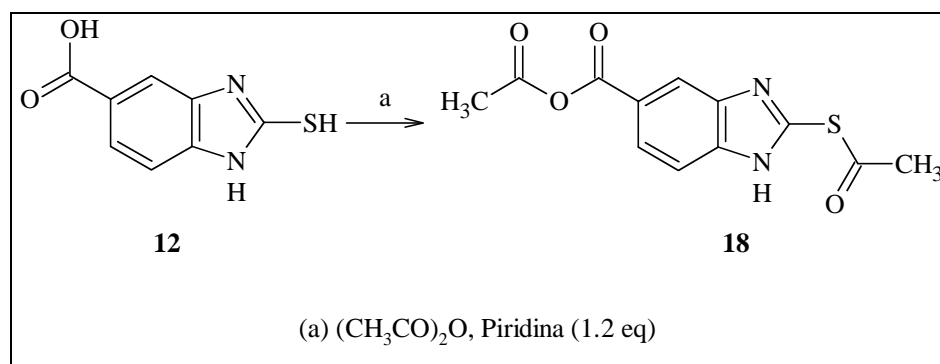
Esquema 6.3 Producto obtenido a partir de la ruta alterna mostrada en el Esquema 6.2.

6.1.2.5 Segunda ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas 2-mercaptobencimidazólicas **19** y **61**

Debido a los problemas mencionados anteriormente, se propuso una nueva ruta alterna para la síntesis de las carboxamidas **19** y **61** (Esquema 6.4), en la cual se partió del precursor

anhídrido del ácido 2-(acetiltio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico acético (**18**) que posteriormente se haría reaccionar con **8a** y **8b**, para obtener las carboxamidas **19** y **61**, respectivamente.

Para la síntesis del precursor **18** se partió del ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**), que se hizo reaccionar con anhídrido acético, utilizando glima como disolvente. Después de incrementar paulatinamente la temperatura hasta 90° C y no observar avance en la reacción, se procedió a adicionar piridina a la mezcla, con el fin de incrementar la nucleofilia tanto del tiol como del ácido, y favorecer así el ataque al anhídrido acético,⁵⁸ sin embargo, aún bajo estas condiciones la reacción no procedió. Por tanto, no pudo obtenerse el anhídrido del ácido 2-(acetiltio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico acético (**18**), debido a la alta insolubilidad de **12**.



Esquema 6.4 Síntesis del precursor Anhídrido 2-(acetiltio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico acético.

6.1.2.6 Síntesis de la 2-Mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**19**) y de la 2-Mercapto-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**61**)

A causa de las dificultades para la síntesis de los precursores y por tanto de las carboxamidas **19** y **61**, se planteó el uso del 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) como agente acoplante, con la finalidad de generar un intermediario imidazólido lábil, cuyo grupo saliente, el imidazol, pudiera ser sustituido fácilmente por alguna de las aminas en cuestión. Este agente ofrece la ventaja de que las condiciones de reacción son más suaves en comparación con las usadas con el cloruro de tionilo, además de fácil purificación y buen rendimiento.^{44, 45}

Para la obtención de **19** se inició a partir del ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**) que se disolvió en DMF anhidra y se hizo reaccionar con CDI. Esta

reacción procedió a una temperatura entre 45-50 °C, en un término de 3 horas. Posteriormente se adicionó a la mezcla de reacción el 2-aminotiazol (**8a**), disuelto también en DMF anhidra, y se incrementó la temperatura a 65 °C. Luego de aproximadamente 3 horas de reacción, se formó un precipitado blanco y se confirmó por ccf el término de la reacción. El compuesto se obtuvo con un buen rendimiento (83 %) y no se presentaron productos de reacción secundarios.

En el espectro de IR se observó la desaparición de las bandas a 3064 y 1683 cm^{-1} (correspondientes al ácido carboxílico) y la aparición de las bandas a 3439 y 1644 cm^{-1} que confirmaron la formación de la amida. Además la espectrometría de masas, en modalidad impacto electrónico (IE), mostró el ión correspondiente a una relación m/z 276 (M^+ , 14%) que concordó con la masa molecular calculada para la carboxamida sintetizada. El cambio estructural de este compuesto se confirmó también por RMN ^1H , donde apareció una serie de señales entre 7.218 y 7.933 ppm, que por su desplazamiento, integración y constantes de acoplamiento presentadas, son asignables a los protones aromáticos (del bencimidazol y tiazol) y señales amplias intercambiables con D_2O a 12.867 y 12.915 ppm correspondientes a los protones del grupo tiol y del nitrógeno bencimidazólico.

De manera similar se llevó a cabo la síntesis de la carboxamida **61**, sólo que en este caso en lugar de adicionar el compuesto **8a** se adicionó el 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**). Al término de la reacción no se formó ningún tipo de sólido, debido a que el cambio estructural del compuesto final trajo consigo también un cambio en la solubilidad del compuesto análogo. El producto se obtuvo por precipitación en agua con un buen rendimiento (79%) y sin productos de reacción secundarios. Debido a la alta insolubilidad del compuesto, su recristalización no fue posible y sólo se realizaron lavados con etanol a fin de eliminar las trazas del 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) que se encontraba en exceso.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **61** se observó duplicidad en las señales esperadas (**Espectros 49 y 50**), lo cual es indicativo de que se pueden estar observando el par de tautómeros (tiol-tiona) o bien un par de rotámeros, cuya velocidad de interconversión es lo suficientemente baja (a la temperatura a la que se realizó el espectro) como para ser detectados mediante esta técnica. Dicho fenómeno es conocido como isomerismo de rotación restringida o atropoisomerismo^{59,60} y en algunas ocasiones estos atropoisómeros pueden separarse y/o detectarse por rayos X o RMN. No obstante, es posible observar en

este espectro las señales características de la sustitución 2,5 del bencimidazol (**Figura 6.1**), una señal duplicada a 8.693 ppm con integración para 1H correspondiente al hidrógeno del anillo tiazólico y señales amplias a 12.911, 12.963 y 13.560, intercambiables con D₂O, asignables a los protones de la amida, del tiol y del nitrógeno bencimidazólico. La espectrometría de masas mediante la técnica de impacto electrónico (IE) mostró el ión con m/z 321 (M^+ , 11%), concordante con la masa molecular del compuesto esperado.

6.1.2.7 Síntesis de la 2-(Metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)

A fin de confirmar químicamente que el compuesto obtenido se trataba de la carboxamida **61**, se procedió a realizar una reacción de metilación para obtener su derivado 2-metiltio **VMAS-62** sintetizado por V. Arroyo.³⁰

El compuesto **61** se suspendió en potasa etanólica y se utilizó yoduro de metilo como agente alquilante. La reacción se llevó a cabo a una temperatura entre 0-5 °C para evitar la metilación del nitrógeno bencimidazólico, y la duración de la misma fue alrededor de 3 horas. El producto obtenido se comparó mediante ccf y punto de fusión con el producto sintetizado previamente **VMAS-62** y se realizaron los análisis espectroscópico y espectrométrico que corroboraron la formación del compuesto esperado, al coincidir con lo reportado en la literatura correspondiente³⁰.

6.1.3 PARTE BIOLÓGICA

6.1.3.1 Resultados de la actividad antiprotozoaria de los compuestos 10a, 10b, 19 y 61 frente a *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis*

La actividad antiprotozoaria de los carboxilatos de metilo y carboxamidas bencimidazólicas finales se determinó mediante pruebas de susceptibilidad *in vitro* para *G. intestinalis* y *T. vaginalis*, los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 6.1**.

Tabla 6.1 Actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis* y su respectivo pCI₅₀ (-log CI₅₀)

Compuesto	CI ₅₀ ^a (μM)		pCI ₅₀ ^a	
	<i>G. intestinalis</i>	<i>T. vaginalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	<i>T. vaginalis</i>
10a	0.195	0.230	5.124	4.355
10b	0.089	0.330	11.240	3.026
19	0.221	0.232	4.530	4.317
61	0.126	0.046	7.937	21.739
VMAS-62	0.161	0.228	6.211	4.386
2-Aminotiazol	2.016	-	2.016	-
2-Amino-5-nitrotiazol	0.372	-	2.688	-
Nitazoxanida	0.013	0.110	76.923	9.091
Albendazol	0.037	1.592	27.027	0.628
Metronidazol	1.280	0.216	0.781	4.630

^a Concentración inhibitoria 50

Los resultados reportados en la **Tabla 6.1** indican que todos los compuestos sintetizados presentaron una buena actividad contra los protozoarios evaluados en el ensayo. Por una parte se aprecia que la presencia del grupo nitro en el anillo de tiazol no es imprescindible para que el compuesto presente actividad; ya que inclusive el compuesto **10a** mostró una ligera superioridad (1.4 veces más activo) contra *T. vaginalis* que su análogo nitrado. En tanto que para las carboxamidas sí aparece una influencia positiva en el caso del compuesto que tiene el grupo nitro, **61**, que presentó una actividad 1.75 y 5 veces mejor contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis* respectivamente, que su compuesto equivalente no nitrado **19**, en ambos parásitos.

Al comparar los valores de CI_{50} del compuesto **61** con los de su derivado 2-metiltio, **VMAS 62**, se observa que hay una disminución importante de la actividad contra *T. vaginalis* y no así contra *G. intestinalis*.

De lo anterior resaltan algunas observaciones importantes:

✦ Aun cuando en reportes anteriores se observa que el grupo nitro en el anillo de tiazol favorece la actividad antiprotozoaria de los compuestos evaluados^{30,35}, los resultados obtenidos no concuerdan totalmente, lo que sugiere que estos compuestos actúan por un mecanismo diferente o dual, en donde el grupo nitro puede participar en la formación de radicales, de manera similar a como lo hace en los nitroderivados antiparasitarios, y otro desconocido, semejante al de los bencimidazoles con actividad antiprotozoaria.

✦ Que la fusión de los grupos farmacofóricos (en este caso el anillo de tiazol y el bencimidazol) no necesariamente debe ser en la posición 5 del anillo bencimidazólico, sino que la unión covalente de estos grupos puede realizarse en la posición 2, sin pérdida de actividad, siendo ésta comparable y/o superior a la presentada por aquellos compuestos cuya unión se realizó en posición 5.

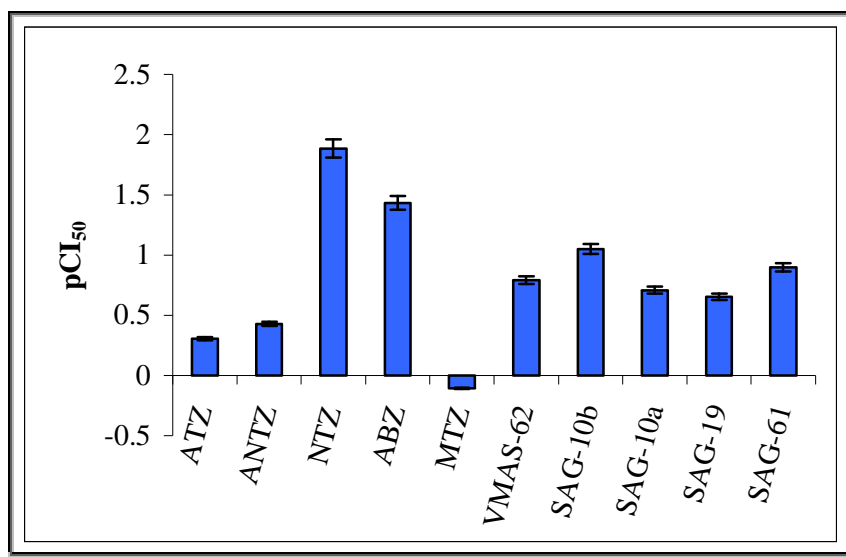
La comparación de los resultados de actividad de los compuestos híbridos sintetizados con los datos de actividad de los fármacos de referencia, indica lo siguiente:

✦ Actividad contra *G. intestinalis* (Gráfica 6.1)

✦ Todos los compuestos fueron más activos que el metronidazol. En este caso, el compuesto **10b** fue 14 veces más activo que el metronidazol, siendo así el de mayor actividad. Le siguió en potencia el compuesto **61**, que fue 10 veces más activo que el metronidazol. Los compuestos **10a** y **19** presentaron actividades aproximadamente 6 veces superiores al mismo fármaco.

✦ Ninguno de los compuestos evaluados presentó mayor actividad que el albendazol. Sin embargo, este fármaco fue solamente 2 veces más activo que el compuesto **10b**.

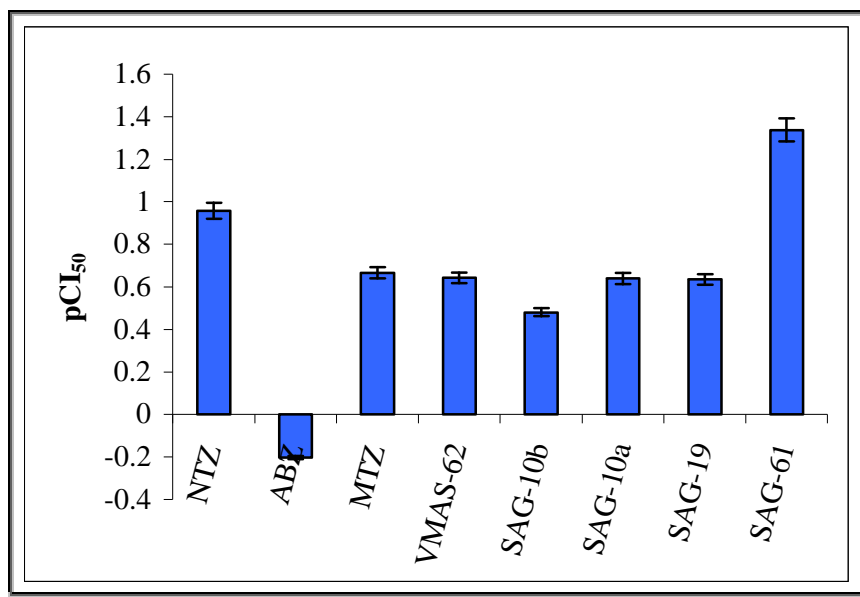
- Tampoco se observó una mejor actividad de los compuestos evaluados en comparación con la nitazoxanida. En este caso, la nitazoxanida fue 6.8 veces más potente que el compuesto **10b**, el más activo de la serie.
- Todos los compuestos evaluados presentaron una mayor actividad que los núcleos precursores 2-aminotiazol y 2-amino-5-nitrotiazol, lo que puede deberse al mecanismo de acción dual que se manifiesta en estos híbridos.



Gráfica 6.1 pCI₅₀ de los compuestos finales sintetizados, fármacos de referencia y núcleos precursores contra *G. intestinalis*.

⊕ **Actividad contra *T. vaginalis* (Gráfica 6.2)**

- Todos los compuestos evaluados presentan una actividad superior al Albendazol, siendo la carboxamida **61** la de mayor actividad (33 veces más activa que este fármaco). Los compuestos **10a**, **10b** y **19** presentaron actividades entre 18 y 7 veces superiores al mismo fármaco.
- Sólo el compuesto **61** superó la actividad presentada por el metronidazol y la nitazoxanida, siendo 4.7 y 2.4 veces más activo que estos fármacos, respectivamente.



Gráfica 6.2 pCI₅₀ de los compuestos finales sintetizados y fármacos de referencia contra *T. vaginalis*.

Cabe mencionar que se realizó un análisis estadístico (ANOVA al 95% de confianza), y los resultados obtenidos del mismo indicaron que para la evaluación contra *G. intestinalis* no existió una diferencia estadísticamente significativa entre los compuestos **10a** y **19**, ni entre los compuestos **61** y **VMAS-62**. Mientras que contra *T. vaginalis* no se presentó diferencia estadísticamente significativa entre los compuestos **10a**, **19**, **VMAS-62** y el fármaco metronidazol, lo que significa que la actividad antiprotozoaria observada, es estadísticamente equiparable en cada uno de estos grupos de compuestos. Los resultados obtenidos para los compuestos y fármacos restantes fueron estadísticamente distintos, lo que indicó que las comparaciones realizadas en los párrafos anteriores son válidas.

7. CONCLUSIONES

- ⊕ La fusión de los grupos farmacofóricos (en este caso el anillo de tiazol y el bencimidazol) no necesariamente debe ser en la posición 5 del anillo bencimidazólico vía una unión carboxamida, sino que también puede realizarse en la posición 2, a través de una conexión ariltioacetamida, sin pérdida de actividad, siendo ésta comparable y/o superior a la presentada por aquellos compuestos cuya unión se realizó en posición 5.
- ⊕ Los compuestos híbridos derivados de los núcleos bencimidazol y tiazol sintetizados presentaron una buena actividad antiparasitaria, siendo todos los resultados comparables con aquellos reportados para los fármacos de uso actual, lo que corroboró la hipótesis planteada.
- ⊕ Hay notorias diferencias en el caso de *T. vaginalis*, donde la fusión vía carboxamida en la posición 5 del bencimidazol, provocó un mejor efecto antiprotozoario.
- ⊕ Se sintetizaron los compuestos carboxilatos de metilo: 2-([2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10a**) y 2-([2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**10b**) mediante una síntesis convergente según el método de Turan-Zitouni, con muy buenos rendimientos.
- ⊕ El mejor método para la obtención de las carboxamidas 2-mercaptobencimidazólicas: 2-mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**19**) y 2-mercapto-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**61**), fue a partir del ácido carboxílico y el 2-aminotiazol correspondiente utilizando CDI como agente acoplante.
- ⊕ A todos los compuestos puros se les determinaron sus constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.

✦ La presencia del grupo nitro en los compuestos obtenidos no es factor determinante para que se presente actividad; sin embargo el compuesto **10b** (fusión 2-ariltioacetamida) que está nitrado, fue el más activo contra *G. intestinalis*. Y el compuesto **61** (fusión 5 carboxamida) también nitrado, fue el más activo contra *T. vaginalis*.

✦ Aún cuando la diferencia presentada no es mucho mayor, si debe considerarse la probabilidad de un mecanismo de acción dual en estos compuestos, en el que puede presentarse tanto la reducción del grupo nitro, como un mecanismo similar al de otros derivados bencimidazólicos con actividad antiparasitaria y quizás la actividad presentada dependa de las diferencias metabólicas en los parásitos, lo cual puede ser un tema de estudio posterior.

✦ Los resultados obtenidos en este trabajo ya forman parte de la base de datos de derivados bencimidazólicos evaluados como antiparasitarios, por lo que contribuyen a que en un futuro se conozcan los parámetros que establecen la relación estructura-actividad de estos compuestos.

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 Instrumentación

- ⊕ Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un aparato marca Büchi modelo B-540 mediante capilar y no están 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 capacidad, utilizando hidrógeno de tanque marca INFRA y como catalizador Pd/C al 5% de marca 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 las técnicas de cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), por impacto electrónico (70 eV) y/o FAB⁺ en un espectrofotómetro de masas marca JEOL, modelo JMS-SX-102, acoplado a un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard, modelo 5890 Serie II.

8.2 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 marca 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:

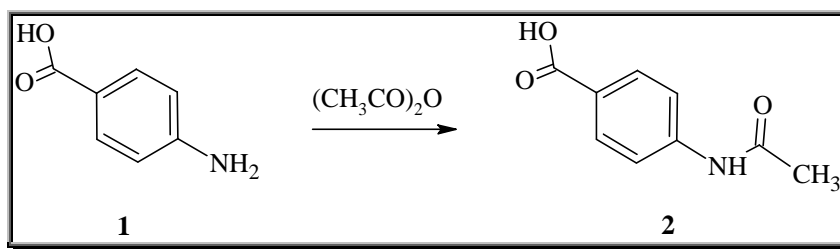
Tabla 8.1 Sistemas de elución utilizados para la ccf

Sistema	Composición	Proporción
I	CHCl ₃ /MeOH	95:5
II	CHCl ₃ /MeOH	90:10
III	CHCl ₃ /MeOH	98:2
IV	CHCl ₃ /Acetona	80:20
V	Hexano/AcOEt	50:50
VI	CHCl ₃ /MeOH ^a	95:5
VII	CHCl ₃ /Acetona	95:5

^a5 mL de la mezcla con 1 gota de ácido acético.

8.3 Procedimientos experimentales para la obtención de los precursores y compuestos finales

8.3.1 Síntesis del ácido 4-Acetamidobenzoico (2) a partir del ácido 4-Aminobenzoico

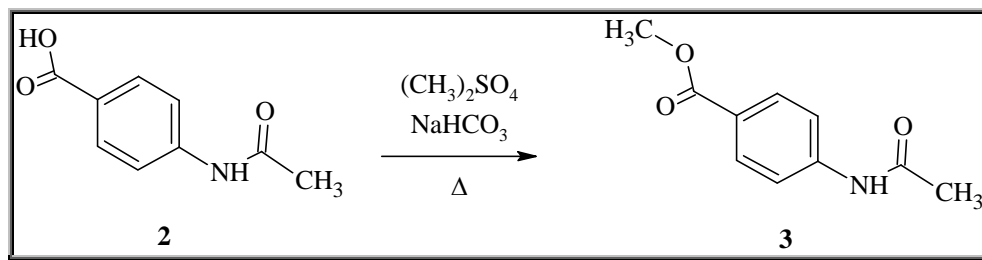


En un vaso de precipitados de 600 mL se colocaron 19.984 g (145.7 mmol) de ácido 4-aminobenzoico, a los cuales se adicionaron 20.7 mL (186.3 mmol) de anhídrido acético. Se mantuvo la mezcla de reacción con agitación manual a una temperatura de 60 °C durante 40 minutos, tiempo durante el cual se consumió la totalidad de materia prima. Posteriormente se agregaron 150 mL de agua-hielo a la mezcla de reacción. Precipitó un sólido blanco que se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua helada y se secó al aire. Se obtuvieron 23.992 g del compuesto con una sola mancha en el sistema II ($R_f = 0.30$), que recrystalizados por una mezcla de disolventes EtOH/AcOEt 80:20 dieron

20.993 g (80.3% de rendimiento) de cristales con forma de hojuelas color crema, con pf de 259.1-259.5 °C [Lit.^{35,52} 259-262 °C].

IR (KBr): 3305, 2824, 2548, 1670, 1607, 1521, 1426, 1205, 1178 cm⁻¹. **EM (IE) m/z:** 179 (M⁺, 47%); 137 (M⁺ -42, 100%); 120 ([M⁺ -42] -17, 35%). **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 2.064 (s, 3H, NHCOCH₃); 7.674 (d, *J*_o = 8.8 Hz, 2H, H en C₃ y H en C₅); 7.866 (d, *J*_o = 8.8 Hz, 2H, H en C₂ y H en C₆); 10.235 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃); 12.653 (sa, 1H, int. con D₂O, COOH).

8.3.2 Síntesis del 4-Acetamidobenzoato de metilo (3) a partir del Ácido 4-acetamidobenzoico

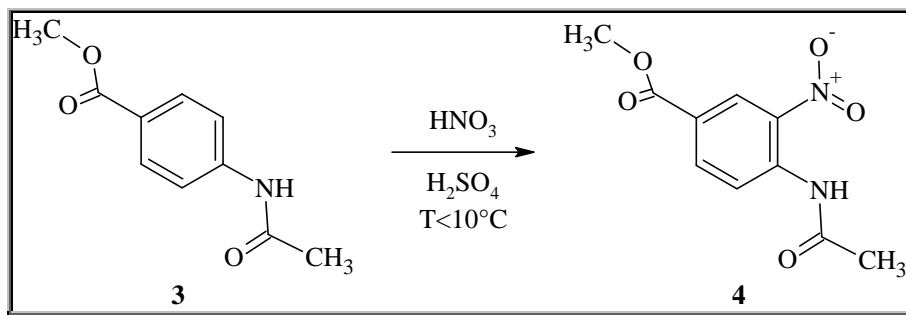


En un matraz de bola de tres bocas de 250 mL, adaptado con termómetro, refrigerante, embudo de adición y agitación magnética, se disolvieron 23.992 g (133.9 mmol) de **2** en 50 mL de DMF a una temperatura de aproximadamente 30 °C. A la solución así obtenida se adicionaron 39.425 g (469.3 mmol) de bicarbonato de sodio en polvo, manteniendo la agitación, y se determinó el pH de la solución (pH=7). Después, se incrementó la temperatura a 45 °C y se adicionaron 25.4 mL (268.3 mmol) de sulfato de dimetilo, por goteo lento, manteniéndose la temperatura menor o igual a 55 °C. Dos horas después de culminar la adición del sulfato de dimetilo, concluyó el consumo de la materia prima. Posteriormente se vertió la mezcla de reacción sobre 200 mL de agua fría, con lo cual se formó un sólido blanco que se filtró y lavó con agua helada repetidas veces. Se obtuvieron 25.708 g de un polvo color crema, con una sola mancha en el sistema VII (*R_f* = 0.45), que recristalizados de metanol dieron 21.955 g (84.9% de rendimiento) de cristales en forma de agujas pequeñas color crema, con un pf de 128.8-129.4 °C [Lit.^{35,52} 128.3-128.7 °C].

IR (KBr): 3360, 2951, 1685, 1524, 1443, 1251, 1175 cm⁻¹. **EM (GC) m/z:** 193 (M⁺, 100%); 151 (M⁺ -42, 45%); 120 (M⁺ -73, 50%). **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 2.068 (s, 3H, NHCOCH₃);

3.796 (s, 3H, COOCH₃); 7.687-7.714 (m, 2H, H en C₃ y H en C₅); 7.867-7.900 (m, 2H, H en C₂ y H en C₆); 10.269 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃).

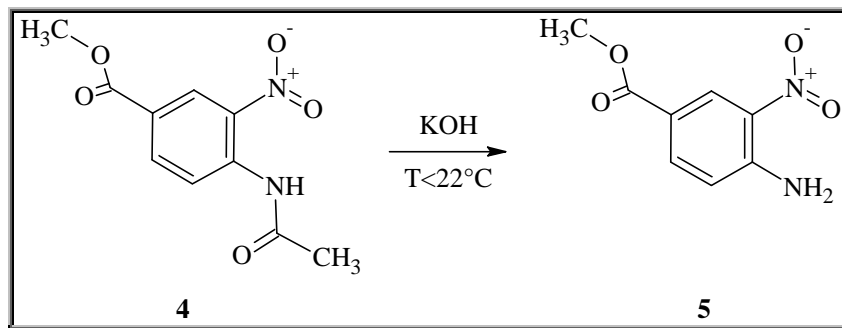
8.3.3 Síntesis del 4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4) a partir del 4-Acetamidobenzoato de metilo



En un vaso de precipitados de 600 mL, se disolvieron 25.708 g (133.1 mmol) de **3** en 70 mL de ácido sulfúrico concentrado, manteniendo la temperatura por debajo de los 20 °C; la disolución se llevó a cabo con agitación mecánica. Posteriormente, se adicionaron 9.0 mL (201.1 mmol) de ácido nítrico concentrado gota a gota y en frío, manteniendo la temperatura de reacción por debajo de los 10 °C. Después de 20 minutos de terminada la adición del ácido nítrico, concluyó el consumo de la materia prima. La mezcla de reacción se vertió entonces sobre 350 g de hielo, formándose un sólido amarillo canario que se separó por filtración al vacío y se lavó con agua hasta que las aguas de lavado tuvieron pH neutro. Se obtuvieron 28.061 g de producto crudo, con una sola mancha en el sistema I ($R_f = 0.70$), que recristalizados de etanol dieron 17.735 g (55.9% de rendimiento) de cristales en forma de agujas color amarillo-naranja con pf de 128.5-129.2 °C [Lit.^{35,52} 129.4-130.0 °C].

IR (KBr): 3354, 2962, 1731, 1720, 1619, 1509, 1342, 1300, 1221. **EM (GC) m/z :** 238 (M^+ , 18%); 196 ($M^+ - 42$, 80%); 165 ($[M^+ - 42] - 31$, 100%). **RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ :** 2.109 (s, 3H, NHCOOCH₃); 3.871 (s, 3H, COOCH₃); 7.836 (d, $J_o = 8.406$ Hz, 1H, H en C₅); 8.198 (dd, $J_o = 8.7$ Hz, $J_m = 1.8$ Hz, 1H, H en C₆); 8.369 (d, $J_m = 2.1$ Hz, 1H, H en C₂); 10.564 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃).

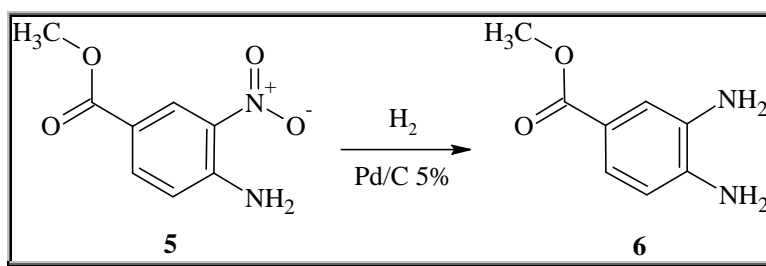
8.3.4 Síntesis del 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (5) a partir del 4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo



En un vaso de precipitados de 250 mL se suspendieron 10.001 g (41.9 mmol) de **4** en 100 mL de metanol. Posteriormente se adicionaron 2.830 g (50.4 mmol) de KOH disueltos en 4.5 mL de agua, por goteo lento y con agitación magnética, manteniendo una temperatura inferior a los 22 °C. Una hora después de la adición del hidróxido de potasio, se terminó la materia prima, por lo que se procedió a neutralizar la mezcla de reacción con HCl al 15%, formándose así un sólido amarillo canario que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua helada y se secó al aire. Se obtuvieron 7.412 g de producto con una sola mancha en el sistema III ($R_f = 0.36$), que recristalizados de etanol dieron 6.230 g (84.1% de rendimiento) de cristales amarillo paja y un pf de 200.3-201.7 °C [Lit.³⁰ 197-202 °C].

IR (KBr): 3475, 3341, 2962, 1701, 1632, 1521, 1356, 1477 cm^{-1} . **EM (GC) m/z :** 196 (M^+ , 50%); 165 ($M^+ - 31$, 100%); 119 ($[M^+ - 31] - 46$, 65%). **RMN ^1H (DMSO- d_6) δ :** 3.790 (s, 3H, COOCH_3); 7.034 (d, $J_o = 8.8$ Hz, 1H, H en C_5); 7.821 (dd, $J_o = 8.8$ Hz, $J_m = 2.0$ Hz, 1H, H en C_6); 7.967 (sa, 2H, int. con D_2O , NH_2); 8.516 (d, $J_m = 2.0$ Hz, 1H, H en C_2).

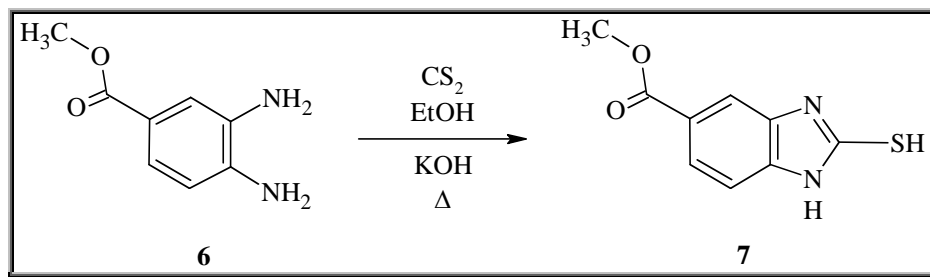
8.3.5 Síntesis del 3,4-Diaminobenzoato de metilo (6) a partir del 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo



En una botella de hidrogenación de 500 mL se mezclaron 5.143 g (26.2 mmol) de **5** en 100 mL de metanol, 75 mL de acetato de etilo y 300 mg de Pd/C al 5%. La botella se colocó en

el sistema de hidrogenación, se purgó la línea con tres lavados de 30 lb/plg² de H₂ y se inició la reacción con 60 lb/plg² de H₂ a temperatura ambiente. Después de 1.5 horas de reacción cesó el consumo de H₂. Se consumieron en total 82 lb/plg² de H₂. La mezcla de reacción se filtró sobre celita para separar el catalizador y el residuo se lavó repetidas veces con metanol. Después de concentrar la mezcla de disolventes se obtuvieron 4.334 g (99.5% de rendimiento crudo) de un sólido café, con R_f de 0.53 en el Sistema I. El sólido obtenido no se purificó y se utilizó tal cual en la siguiente reacción.

8.3.6 Síntesis del 2-Mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7) a partir del 3,4-Diaminobenzoato de metilo

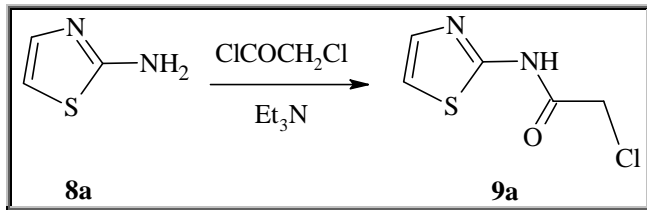


En un matraz bola de 250 mL, adaptado con condensador de reflujo, se mezclaron 4.334 g (26.1 mmol) de **6** y 50 mL de una mezcla de etanol-agua 80:20. Posteriormente se adicionaron 2.147 g (38.3 mmol) de KOH disueltos en 3.5 mL de agua y 2.4 mL (39.8 mmol) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción se mantuvo bajo atmósfera de nitrógeno y agitación magnética en un baño de aceite a una temperatura entre 65-75 °C durante 2.5 horas, tiempo en el que se consumió la materia prima. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió sobre 120 mL de agua fría, manteniéndose la agitación. Luego se aciduló a pH 5 con una disolución de AcOH al 10%. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 5.075 g de producto, con una sola mancha en el sistema I (R_f = 0.33), que recristalizados de metanol dieron 3.964 g (73.0% de rendimiento) de cristales amarillos, con un pf de 209.5-291.7 °C.

IR (KBr): 3310, 2944, 1690, 1342, 1299, 1173. **EM (GC) m/z:** 208 (M⁺, 98%); 177 (M⁺ - 31, 100%); 149 ([M⁺ - 31] - 28, 62%). **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 3.819 (s, 3H, COOCH₃); 7.201 (d, J_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₇); 7.633 (d, J_m = 0.8 Hz, 1H, H en C₄); 7.741 (dd, J_o =

8.0 Hz, $J_m = 2.0$ Hz, 1H, H en C₆); 12.798 (s, 1H, int. con D₂O, N-H); 12.854 (s, 1H, int. con D₂O, S-H).

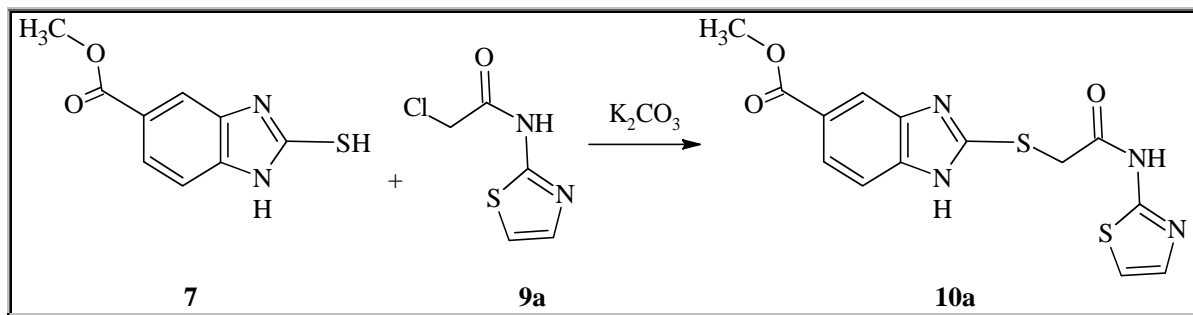
8.3.7 Síntesis de la 2-Cloro-N-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a) a partir del 2-Aminotiazol



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con embudo de adición y trampa anhidra, se colocaron 2.026 g (19.6 mmol) de 2-aminotiazol (**8a**) suspendidos en 9.5 mL de glima anhidra; luego se adicionaron 1.50 mL (20.7 mmol) de trietilamina anhidra. A la mezcla fría (con baño de hielo) y agitada, se adicionaron 1.72 mL (21.2 mmol) de cloruro de cloroacetilo por goteo lento. Una vez concluida la adición se mantuvo la mezcla de reacción con agitación magnética, en baño de agua a temperatura ambiente, por dos horas. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua helada y se secó al aire, obteniéndose 2.506 g de producto crudo. Finalmente, el producto obtenido se recrystalizó de acetonitrilo, y se obtuvieron 2.258 g de cristales en forma de agujas grisáceas con un rendimiento del 65.1%. Este compuesto presentó un R_f de 0.52 en el sistema I y pf de 176.5-177.7 °C.

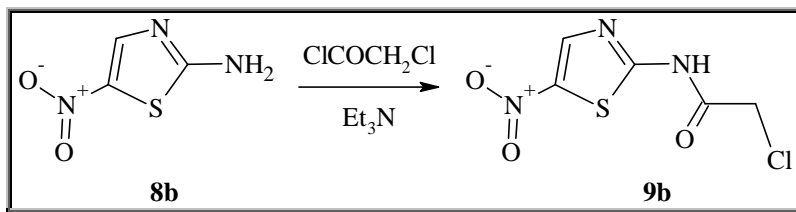
IR (KBr): 3185, 2949, 2733, 1703, 1585, 1166. **EM (GC) m/z :** 178 ($M^+ +2$, 15%); 176 (M^+ , 45%); 100 ($M^+ -76$, 100%). **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 4.447 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 7.201 (d, $J_o = 3.6$ Hz, 1H en C₄); 7.473 (d, $J_o = 3.6$ Hz, 1H en C₅); 11.366 (sa, 1H, int. D₂O, NH).

8.3.8 Síntesis del 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio]-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a) a partir de la 2-Cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida y del 2-Mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo



En un matraz bola de 100 mL, adaptado con trampa anhidra, se disolvieron 0.590 g (2.8 mmol) del 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**7**) en 5.0 mL de acetona. Posteriormente se adicionaron 0.392 g (2.8 mmol) de carbonato de potasio disueltos en 1 mL de agua, y 0.502 g (2.8 mmol) de **9a** disueltos en 5.0 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente, utilizando un baño de agua a temperatura controlada de 20°C, durante dos horas. Después de este tiempo, se observó el consumo total de materia prima por ccf y la precipitación de un sólido blanco que se separó por filtración al vacío, se lavó con acetona y se secó al aire. Se obtuvieron 0.881 g de producto, con una sola mancha en el sistema I ($R_f = 0.21$), que recristalizados de etanol dieron 0.729 g (73.4% de rendimiento) de polvo blanco, con un pf de 204.9-211.6 °C. **IR (KBr):** 3309, 3251, 2948, 1702, 1292, 1234. **EM (FAB⁺) m/z :** 349 ($[M^{+1}]^+$, 29%); 249 ($[M^{+1}]^+ - 100$, 15%); 192 ($[M^{+1}]^+ - 157$, 30%). **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 3.828 (s, 3H, $\underline{CH_3}$ -O); 4.291 (s, 2H, S- $\underline{CH_2}$ -CO); 7.178 (d, $J_o = 4.8$ Hz, 1H en C_5'); 7.453-7.481 (m, 2H, H en C_7 , H en C_4'); 7.711 (dd, $J_o = 8.4$, $J_m = 1.5$, 1H, H en C_6); 8.001 (s, 1H en C_4); 12.891 (sa, 2H, int. con D_2O , CO-NH y N-H).

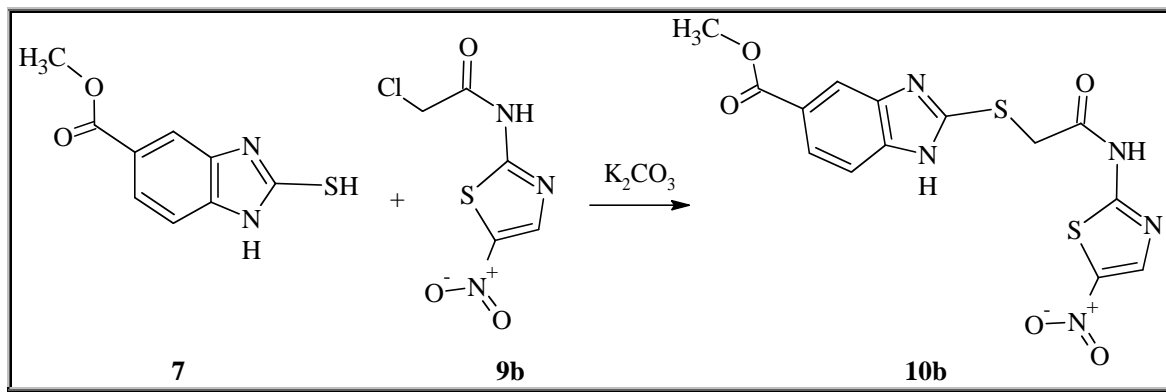
8.3.9 Síntesis de la 2-Cloro-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (**9b**) a partir del 2-Amino-5-nitrotiazol



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con embudo de adición y trampa anhidra, se colocaron 5.329 g (36.7 mmol) de 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) disueltos en 25 mL de glima anhidra. A la solución fría (en baño de hielo), y con agitación magnética se adicionaron 2.74 mL (37.7 mmol) de trietilamina anhidra. Posteriormente se añadieron 3.1 mL (38.1 mmol) de cloruro de cloroacetilo, por goteo lento. Una vez concluida la adición se mantuvo la mezcla de reacción con agitación magnética en baño de agua a temperatura constante (20°C), por 2.5 horas. Transcurrido este tiempo, se observó mediante análisis en ccf el consumo total de materia prima y se determinó un pH=3 por lo que se procedió a neutralizar la mezcla de reacción con K₂CO₃ para después eliminar por destilación la glima. Posteriormente se llevó a cabo una extracción con AcOEt, que luego fue concentrado y el sólido obtenido se suspendió en agua helada, se separó por filtración al vacío, se lavó con agua fría y se secó al vacío. Se obtuvieron 6.967 g de producto, con una sola mancha en el sistema I (R_f = 0.45), que recristalizados de acetonitrilo dieron 5.615 g (69.0% de rendimiento) de cristales amarillo claro, con un pf de 157.1-157.9 °C.

IR (KBr): 3148, 2941, 2717, 1694, 1556, 1493, 1351, 1177. **EM (GC) m/z:** 223 (M⁺ +2, 12%); 221 (M⁺, 34%); 145 (M⁺ -76, 100%). **RMN ¹H (DMSO-d₆) δ:** 4.566 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 8.446 (s, 1H, H en C₄); 11.466 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CO).

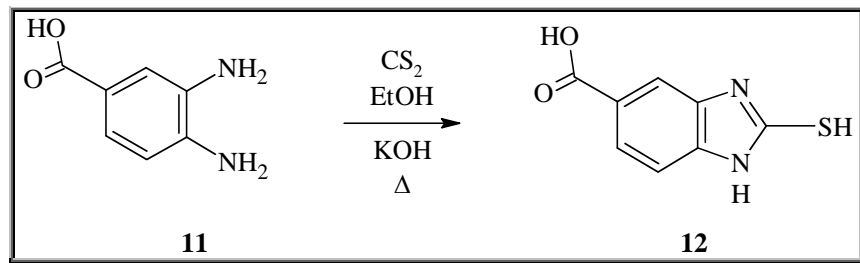
8.3.10 Síntesis del 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio}-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b) a partir de la 2-Cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida y del 2-Mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo



En un matraz bola de 100 mL adaptado, con trampa anhidra se disolvieron 1.411 g (6.8 mmol) del 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (**7**) en 5.0 mL de acetona. Posteriormente se adicionaron 1.716 g (12.4 mmol) de carbonato de potasio disueltos en 2.5 mL de agua, y 1.503 g (6.8 mmol) de **9b** disueltos en 5.0 mL de acetona. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente (en baño de agua a 20°C) y con agitación magnética durante tres horas. Una vez concluido este tiempo, se observó el consumo total de materia prima por análisis en ccf; el sólido que precipitó en la mezcla de reacción se separó por filtración al vacío, se lavó con acetona y se secó al aire. Se obtuvieron 2.495 g de un sólido amarillo ocre, con una sola mancha en el sistema I ($R_f = 0.31$), que lavados por suspensión en éter dietílico dieron 2.313 g (86.7% de rendimiento) con un p_f de 209.9-211.4 °C (con descomposición).

IR (KBr): 3180, 1698, 1577, 1425, 1354, 1297, 1179. **EM (FAB⁺) m/z :** 395 ([M⁺]⁺, 10%); 192 ([M⁺]⁺ -204, 100%). **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 3.835 (s, 3H, CH₃-O); 4.213 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.471 (dd, $J_o = 8.7$ Hz, $J_p = 0.3$ Hz, 1H, H en C₇); 7.736 (dd, $J_o = 8.4$ Hz, $J_m = 1.8$ Hz, 1H, H en C₆); 7.993-8.001 (m, 1H, H en C₄); 8.441 (s, 1H, H en C_{4'}); 12.681 (sa, 2H, int. D₂O, NH-CO y NH).

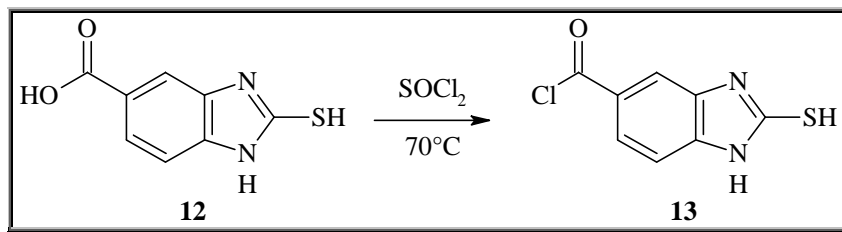
8.3.11 Síntesis del Ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**) a partir del Ácido 3,4-diaminobenzoico



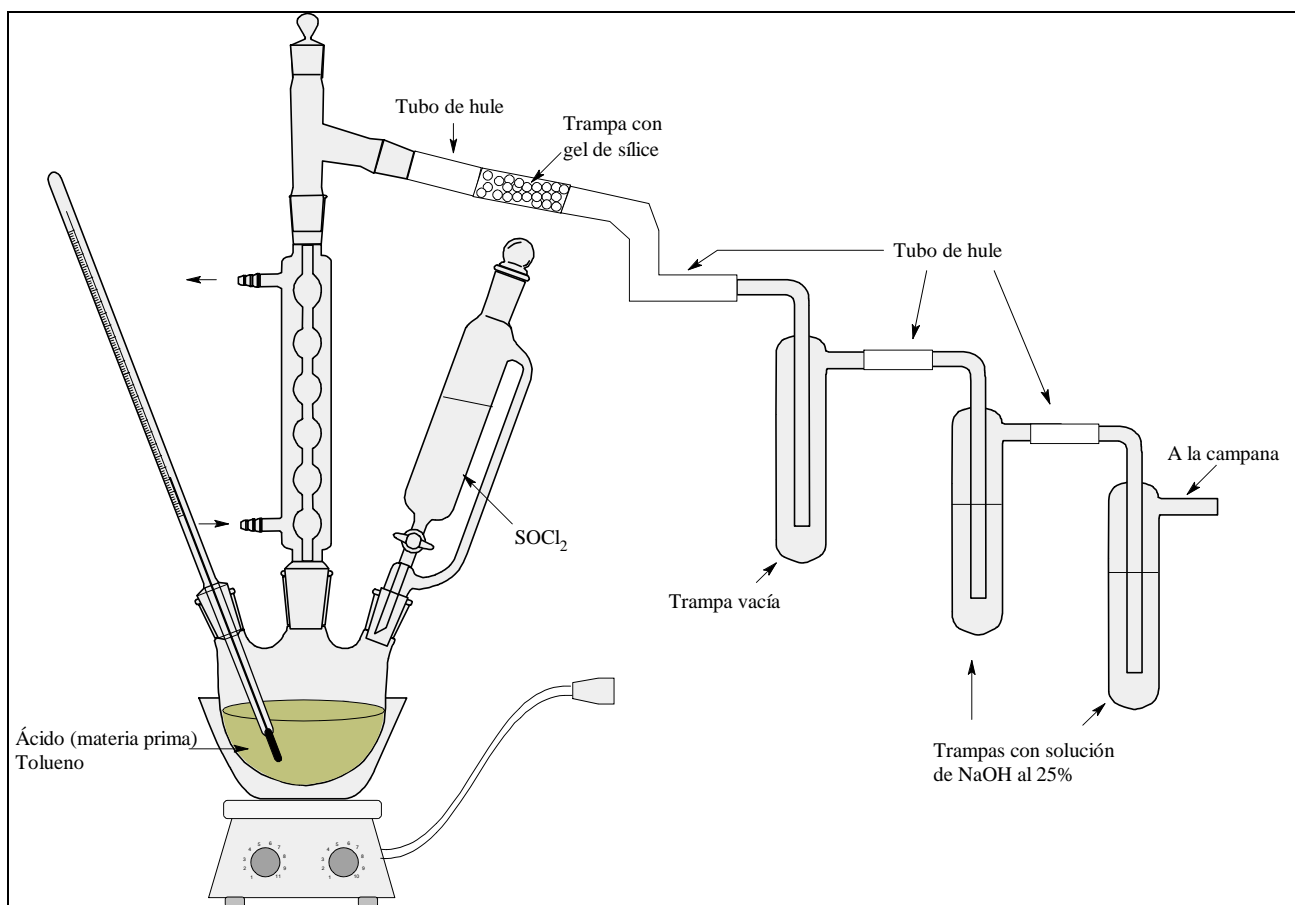
En un matraz bola de 250 mL, adaptado con condensador de reflujo se suspendieron 6.129g (40.3 mmol) de ácido 3,4-diaminobenzoico (**11**), en 60 mL de una mezcla de etanol-agua 80:20. Posteriormente se adicionaron 3.322 g (59.2 mmol) de KOH disueltos en 4.0 mL de agua y 3.6 mL (59.7 mmol) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción se calentó, bajo atmósfera de nitrógeno y agitación magnética en un baño de aceite, a una temperatura entre 65-75° C, durante 2.5 horas. Terminada la materia prima, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en 120 mL de agua fría. Luego, la mezcla se aciduló a pH entre 4 y 5 con una disolución de AcOH al 10%. El sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó repetidas veces con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 7.356 g de producto, con una sola mancha en el sistema II ($R_f = 0.42$), que recristalizados de EtOH/DMF dieron 5.157 g (65.9% de rendimiento) de cristales blancos, con un pf de 353.0-356.2 °C.

IR (KBr): 3064-2565, 1683, 1521, 1303, 1181. **EM (GC) m/z :** 194 (M^+ , 100%); 177 ($M^+ - 17$, 60%); 149 ($[M^+ - 17] - 28$, 34%). **RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ :** 5.600 (sa, 1H, int. con D₂O, COO-H); 7.176 (dd, $J_o = 8.4$ Hz, $J_p = 0.3$ Hz, 1H, H en C₇); 7.669 (dd, $J_m = 1.5$ Hz, $J_p = 0.6$ Hz, 1H, H en C₄); 7.749 (dd, $J_o = 8.1$ Hz, $J_m = 1.5$ Hz, 1H, H en C₆); 12.781 (sa, 2H, int. con D₂O, N-H y S-H).

8.3.12 Síntesis del Cloruro del ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (13) a partir del Ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico

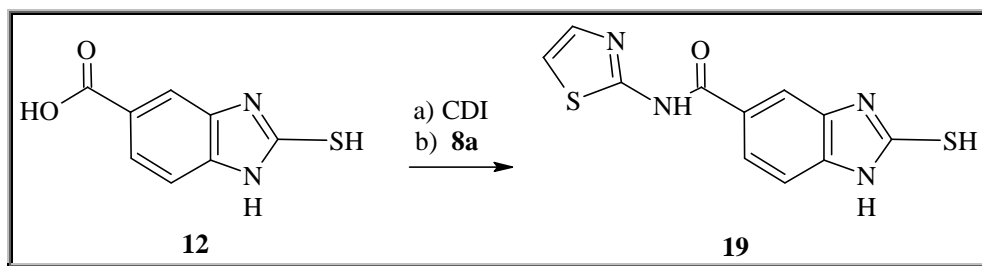


En un matraz Kontes Taper de tres bocas de 100 mL, adaptado con termómetro, embudo de adición y un refrigerante en posición de reflujo, en cuyo extremo se colocó una trampa de gel de sílice conectada a tres trampas en serie, la primera vacía y las siguientes dos con 250 mL de una solución de NaOH al 25%, como se muestra en el **Esquema 8.1**, se suspendieron 3.140 g (16.2 mmol) de **12** en 40 mL de tolueno; después se adicionaron 3.6 mL (49.3 mmol) de SOCl₂. La mezcla se calentó a reflujo con agitación magnética por 5 horas. El seguimiento de la reacción de formación del cloruro del ácido se realizó por conversión rápida de éste en su correspondiente éster metílico, el cual se comparó por análisis en ccf con una muestra pura del éster **7** sintetizado previamente. La ccf presentó materia prima todavía por lo que se agregó más SOCl₂ (1.2 mL, 16.4 mmol). Una hora después, culminó el consumo de materia prima. Posteriormente se colocó en lugar del refrigerante y las trampas, un sistema de destilación a presión reducida y se procedió a eliminar el exceso de SOCl₂, por arrastre con tolueno. Luego de 3 lavados de 25 mL de tolueno, se consiguió eliminar el exceso de SOCl₂. El compuesto así obtenido presentó un R_f de 0.53 en el sistema IV. El sólido obtenido no se purificó y se utilizó tal cual en la siguiente reacción.



Esquema 8.1 Sistema para la síntesis de cloruros de acilo.

8.3.13 Síntesis de la 2-Mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19) a partir del Ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico

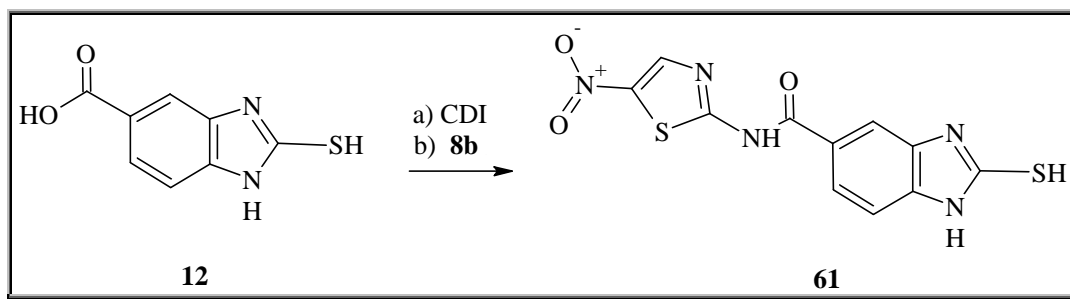


En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL se pesaron, bajo atmósfera de nitrógeno y en condiciones anhidras, 1.306 g (8.1 mmol) de CDI. Luego se adicionaron 6.0 mL de DMF anhidra y 1.513 g (7.8 mmol) del ácido **12** manteniendo agitación magnética. Posteriormente se adaptó al matraz un refrigerante, trampa anhidra, embudo de adición, termómetro y baño de agua a 45-50 °C. El monitoreo de esta reacción se llevó a cabo de la misma forma que en el caso de la formación del cloruro de ácido, es decir, se formó el éster

metílico correspondiente, mediante la reacción entre una pequeña muestra de la mezcla de reacción y alcohol metílico grado reactivo, y un ligero calentamiento. Luego se compararon mediante análisis en ccf la muestra, el ácido precursor y el éster metílico previamente sintetizado, de tal forma que cuando la mezcla de reacción mostró solamente la mancha del éster, la reacción había terminado. Luego de 3.0 horas de reacción concluyó el consumo de materia prima. Después, a la mezcla de reacción fría a 10 °C, se le adicionaron 0.820 g (7.9 mmol) de 2-aminotiazol (**8a**) disueltos en 2.5 mL de DMF; después de lo cual se aumentó la temperatura a 65 °C. La reacción se mantuvo a esta temperatura por 2.5 horas, tiempo en el cual precipitó un sólido blanco. La mezcla de reacción se vertió en 20 mL de agua y el sólido formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua fría repetidas veces y se secó al aire. Se obtuvieron 1.787 g de producto, con una sola mancha en el sistema II ($R_f = 0.36$), que recristalizados por par de disolventes DMF/H₂O dieron 1.305 g (60.5% de rendimiento) de cristales blancos, con un pf de 378.0-381.0 °C (con descomposición).

IR (KBr): 3439, 3118, 2951-2811, 1644, 1543, 1478, 1200. **EM (IE) m/z :** 276 (M^+ , 14%); 177 ($M^+ - 99$, 100%); 149 ($[M^+ - 99] - 28$, 94%). **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 7.218-7.257 (m, 2H, H en C_{5'} y H en C₇); 7.540 (d, $J_m = 3.6$ Hz, 1H, H en C₄); 7.892-7.933 (m, 2H, H en C₆ y H en C_{4'}); 12.867 (sa, 1H, int. con D₂O, CO-NH); 12.915 (sa, 1H, int. con D₂O, S-H).

8.3.14 Síntesis de la 2-Mercapto-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (**61**) a partir del Ácido 2-mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxílico (**12**)

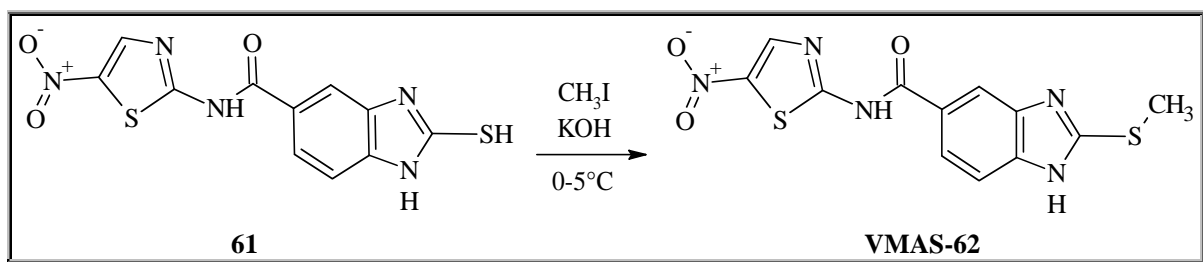


En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL se pesaron, bajo atmósfera de nitrógeno y en condiciones anhidras, 5.002 g (30.8 mmol) de CDI. Luego se adicionaron 24.0 mL de DMF anhidra y 5.712 g (29.4 mmol) del ácido **12** manteniendo agitación magnética. Posteriormente se adaptó al matraz un refrigerante, trampa anhidra, embudo de adición, termómetro y baño de agua a temperatura entre 45-50 °C. El monitoreo de esta reacción se llevó a cabo de la misma forma que en el caso anterior, es decir, se formó el éster metílico

correspondiente mediante la reacción entre una muestra de la mezcla de reacción y alcohol metílico grado reactivo, y un ligero calentamiento. Luego se compararon por análisis en ccf la muestra, el ácido precursor y el éster metílico previamente sintetizado, de tal forma que cuando la mezcla de reacción mostró solamente la mancha del éster, la reacción había terminado. Luego de 3.0 horas de reacción concluyó el consumo de materia prima. A la mezcla de reacción fría a 10 °C se le adicionaron 4.350 g (30.0 mmol) de 2-amino-5-nitrotiazol (**8b**) disueltos en 3.5 mL de DMF, después de lo cual se aumentó la temperatura a 65 °C. Después de 2.5 horas de reacción concluyó el consumo de materia prima. Posteriormente se dejó enfriar la mezcla de reacción; luego, se vertió en 35 mL de agua fría, con agitación magnética y se formó un sólido amarillo ocre. El sólido así formado se separó por filtración al vacío, se lavó con agua fría repetidas veces y se secó al aire. Se obtuvieron 7.495 g de producto, con una sola mancha en el sistema VI ($R_f = 0.35$), se purificaron por lavados con etanol y dieron 5.591 g (59.2% de rendimiento) de un sólido amarillo ocre, con un pf de 300.5-301.7 °C (con descomposición).

IR (KBr): 3317, 3104-2944, 1672, 1536, 1474, 1361, 1299. **EM (IE) m/z :** 321 (M^+ , 11%); ($M^+ - 144$, 45%); 149 ($[M^+ - 144] - 28$, 32%). **RMN 1H (DMSO- d_6) δ :** 7.255 (d, $J_o = 8.7$ Hz, 1H, H en C₇); 7.939-7.969 (m, 2H, H en C₄ y H en C₆); 8.682 (s, 1H, H en C_{4'}); 12.911 (s, 1H, int. con D₂O, N-H); 12.963 (s, 1H, int. con D₂O, CO-NH); 13.560 (sa, 1H, int. con D₂O, S-H).

8.3.15 Síntesis de la 2-(Metiltio)-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62) a partir de la 2-Mercapto-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida



En un matraz Kontes de tres bocas de 50 mL, adaptado con trampa anhidra, termómetro y embudo de adición, se suspendieron 2.512 g (7.8 mmol) de **61** en 15 mL de EtOH. Posteriormente se adicionaron 0.437 g (7.8 mmol) de KOH disueltos en 1.0 mL de agua,

con agitación magnética y en baño de hielo. Luego se agregaron a la mezcla de reacción, por goteo lento 0.50 mL (8.0 mmol) de CH₃I, a una temperatura entre 0 y 5 °C. Al terminó de la adición del CH₃I la reacción se mantuvo a esa temperatura y con agitación, durante 3 horas más, tiempo al que se presentó el consumo total de materia prima. La mezcla de reacción se vertió en 10 mL de agua y se neutralizó con HCl al 15%. Se formó un sólido ocre que se separó por filtración al vacío, se lavó con agua y se secó al aire. Se obtuvieron 2.163 g de producto, con una sola mancha en el sistema II ($R_f = 0.60$), que recristalizados de DMF/H₂O dieron 1.806 g (69.2% de rendimiento) de un sólido color ocre, con un pf de 268.4-269.5 °C (con descomposición) [Lit.³⁰ 268.7-269.9 °C].

IR (KBr): 3119, 2931, 1672, 1537, 1477, 1350, 1280. **EM (IE) m/z :** 335 (M^+ , 5 %); 191 ($M^+ -144$, 100%); 163 ($[M^+ -144] -28$, 18%). **RMN ¹H (DMSO- d_6) δ :** 2.719 (s, 3H, S-CH₃); 7.521 (d, $J_o = 8.2$ Hz, 1H, H en C₇); 8.942 (dd, $J_o = 8.2$ Hz, $J_m = 3.5$ Hz, 1H, H en C₆); 8.281 (d, $J_m = 3.4$ Hz, 1H, H en C₄); 8.702 (s, 1H, H en C_{4'}); 13.526 (sa, 2H, int. con D₂O, CO-NH y N-H).

9. BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.ssa.gob.mx>
2. <http://www.who.int/ctd/intpara/strategies.htm>
3. Valdez, J.; Cedillo, R.; Hernández, A.; Yépez, L.; Hernández, F.; Navarrete, G.; Tapia, A.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R. Synthesis and Antiparasitic Activity of 1*H*-Benzimidazole Derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2002**, *12*, 2221–2224
4. <http://www.dgepi.salud.gob.mx>
5. Kumate. Manual de Infectología Clínica, **1998**, 101
6. Markell. Parasitología Médica, **1999**, 151
7. <http://www.uniquindio.edu.co/eventos/parasitologia/documents/Helminthiasis.pdf>
8. Navarrete, G.; Cedillo, R.; Hernández, A.; Yépez, L.; Hernández, F.; Valdez, J.; Morales, R.; Cortés, R.; Hernández, M.; Castillo, R. Synthesis and Antiparasitic Activity of 2-(Trifluoromethyl)-benzimidazole Derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2001**, *11*, 187-190
9. Byington C.; Dunbrack, R.; Whitby, F.; Cohen, F.; Agabian, N. *Entamoeba histolytica*: Computer-Assisted Modeling of Phosphofructokinase for the Prediction of Broad-Spectrum Antiparasitic Agents, *Experimental Parasitology*, **1997**, *87*, 194–202
10. <http://www.funcei.org.mx>
11. <http://www.funsalud.org.mx>
12. Horton, R. J. Benzimidazoles in a Wormy World, *Parasitology Today*, **1990**, *6*(4), 106
13. Petri, W. Therapy of intestinal protozoa, *Trends in Parasitology*, **2003**, *19*(11), 523-526
14. Frayha, G; Smyth, J.; Gobert, J. The Mechanisms of Action of Antiprotozoal and Anthelmintic Drugs in Man, *Gen. Pharmac.* **1997**, *28*, 273-299
15. Andrzejewska, M.; Yépez, L.; Tapia, A.; Cedillo, R.; Laudy, A.; Starósciak, B.; Kazimierczuk, Z. Synthesis, and antiprotozoal and antibacterial activities of S-substituted 4,6-dibromo- and 4,6-dichloro-2-mercaptobenzimidazoles, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2004**, *21*, 323–329

16. Kaplancikli, Z.; Turan-Zitouni, G.; Reviel, G.; Guven, K. Synthesis and Study of Antibacterial and Antifungal Activities of Novel 2-[[Benzoxazole/benzimidazole-2-yl)sulfanyl]acetyl amino]thiazoles, *Archives of Pharmacal Research*, **2004**, *11*, 1081-1085
17. Turan-Zitouni, G.; Demirayak, S.; Özdemir, A. ; Kaplancikli, Z. ; Yildiz, M. Synthesis of some 2-[(benzazole-2-yl)thioacetyl amino]thiazole derivatives and their antimicrobial activity and toxicity, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *39*, 267-272
18. Sharma, S. Design New Drugs for Helminth Diseases: Lead Optimization in Benzimidazoles, *Advances in Drug Research*, **1994**, *25*, 105-163
19. Martin, J. Modes of Action of Anthelmintic Drugs, *The Veterinary Journal*, **1997**, *154*, 11-34
20. Lacey, E. The Role of The Cytoskeletal Protein, Tubulin, In The Mode Of Action And Mechanism Of Drug Resistance To Benzimidazoles, *International Journal for Parasitology*, **1988**, *18*(7), 885-936
21. Roos, M. The Molecular Nature of Benzimidazole Resistance in Helminths, *Parasitology Today*, **1990**, *6*(4), 125-127
22. Katzung, B. Farmacología Básica Clínica 8a Edición, *Manual Moderno*, **2002**, 864-865, 869, 873-882
23. Sánchez Díaz, M. R. Síntesis de Derivados del 1-Metilbencimidazol con Actividad Antihelmíntica Potencial. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, **1999**.
24. Gottschall, D.; Wang, T.; Wang, R. The Metabolism of Benzimidazole Anthelmintics, *Parasitology Today*, **1990**, *6*(4), 115-124
25. Bogitsh, B. Human Parasitology 3ª edición, *Elsevier Academia Press*, **2005**, 443-447
26. Waller, P. Livestock to the Benzimidazole Anthelmintics, *Parasitology Today*, **1990**, *6*(4), 127-129
27. Gilles, H.; Hoffman, P. Treatment of intestinal parasitic infections: a review of nitazoxanide, *Trends in Parasitology*, **2002**, *18*(3), 95-97
28. Raether, W.; Hänel, H. Nitroheterocyclic drugs with broad spectrum activity, *Parasitology Research*, **2003**, *90*, S19-S39
29. Cuadro básico y Catálogo de Medicamentos, **2004**. <http://www.ssa.gob.mx>

30. Arroyo, S. V. Síntesis de nitrocarboxamidas aromáticas, Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM. **2003**
31. Elguero, J. The tautomerism of heterocycles, *Academic Press*, **1978**, 395-396, 425-426
32. Avendaño, C. Introducción a la Química Farmacéutica, 2ª edición, *Mc Graw-Hill, Interamericana*, **2001**
33. Wermuth C. Identical and Non Identical Twin Drugs, en *The Practice of Medicinal Chemistry*, *Academic Press*, **1996**, 661-693
34. <http://www.cambridge-medical.com/esa/contents/EPP.htm>
35. Vargas, B. P. Síntesis y Actividad Giardicida de Carboxamidas Bencimidazólicas. Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, **2006**
36. Turan-Zitouni, G.; Kaplancikli, Z. ; Yildiz, M.; Chevallet, P.; Kaya, D. Synthesis and antimicrobial activity of 4-phenyl/cyclohexyl-5-(1-phenoxyethyl)-3-[N-(2-thiazolyl)acetamido]thio-4H-1,2,4-triazole derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, *40*, 607-613
37. Phillips, M. A. *Journal of Medical Society*, **1928**, 2393
38. Blatt, A. H. Organic Synthesis, *Collective vol. 2, John Wiley and Sons, Inc.*, **1943**, 65
39. Brown, E. L.; Campbell, N. *Journal of Chemistry Society*, **1937**, 1699
40. Bywater, W. G.; McGinty, D.; Jenesel, N. *Journal of Pharmacology*, **1995**, *85*, 14
41. Van Allan, J. A.; Deagon, B. D. Organic Syntheses Collect; *Wiley: New York*, **1963**, *4*, 569
42. Mc Murry. Química Orgánica, **1999**, *Editorial Iberoamericana*, 781-793
43. Cativiela, C.; Mayoral, J.; Avenoza, A.; Peregrina, J.; Lahoz, F.; Gimeno, S. Asymmetric Diels-Alder Reactions of Charal [-2-Cyanocinnamates with Cyclopentates, *American Chemical Society*, **1992**, *57*, 4664-4669
44. Staab, H. A. *Angewandte Chemie*, **1962**, *74*, 407
45. Pettit, G. R.; Van Tamelen, E. E. *Organic Reactions*, **1962**, *12*, 356
46. Pine, S.; Hendrickson, J.; Cram, D. J.; Hammond, G. S. Química Orgánica, 4a edición, *Editorial Mc Graw-Hill Interamericana*, 346-348
47. Fersht, A. R.; Jencks, W. P. The Acetylpyridinium Ion Intermediate in Pyridine-Catalyzed Hydrolysis and Acyl Transfer Reactions of Acetic Anhydride. Observation,

- Kinetics Structure-Reactivity Correlations, and Effects of Concentrated Salt Solutions, *Journal of the American Chemical Society*, **1970**, 92, 5432-5442
48. Adans, R; Ulich, L. The Use of Oxalyl Chloride and Bromide for Producing Acid Chlorides, Acid Bromides or Acid Anhydrides, *Journal of the American Chemical Society*, **1920**, 42, 599-611
49. Furnish, B.; Hannaford, A.; Smith, P.; Tatchell, A. Vogel's: A Textbook of Practical Organic Chemistry, 3a edición, *Longmans Scientific & Technical*, **1990**, 693-697, 916-918
50. Sorrel, T.; Organic Chemistry, *Sausalito*, **1999**, 929-932
51. Höfle, G.; Steglich, W.; Vorbrüggen, H. 4-Dialkylaminopyridines as Highly Active Acylation Catalysts. *Angewandte Chemie*, **1978**, 17, 569-582
52. Vargas, B. P. Síntesis de derivados del 5-aminocarbonil-1*H*-bencimidazol con Potencial Actividad Antiparasitaria. Tesis de Licenciatura, Escuela de Ciencias Químicas, UABJO, **2002**.
53. Giral, F.; Rojahn, C. A. Productos Químicos y Farmacéuticos, *Editorial Atlante, S. A.*, **1956**, 848
54. Paquette, L. A. Enciclopedia of Reagents for Organic Synthesis, *Editor-in-chief*, **1998**, 4873-4876
55. Gunther, F. A.; Blinn, R. C. *Journal of the American Chemical Society*, **1947**, 69, 1215
56. Cedillo, R.; Chávez, B.; González, R. A.; Tapia, A.; Yépez, L. *In vitro* Effect of Nitazoxanide Against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis* Trophozoites, *Journal Eukaryot Microbiology*, **2002**, 49(3), 201-208
57. Sharma, S.; Anand, N. Approaches to design and synthesis of antiparasitic drugs, *Pharmaco Chemistry Library, Elsevier Science*, **1997**, 25, 258-272, 421-438
58. SudhakarRao T., *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 7793
59. Morrison, T. R.; Boyd, N. R. Organic Chemistry, 3a edición, *Allyn and Bacon, Inc.*, **1981**, 140-141
60. Breitmaier, E. Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry, A Practical Guide, *John Wiley and Sons*, **2002**, 51-53

10. APÉNDICE

10.1 Constantes físicas y rendimientos de los carboxilatos de metilo y carboxamidas bencimidazólicas finales

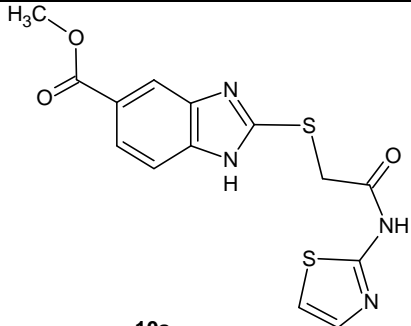
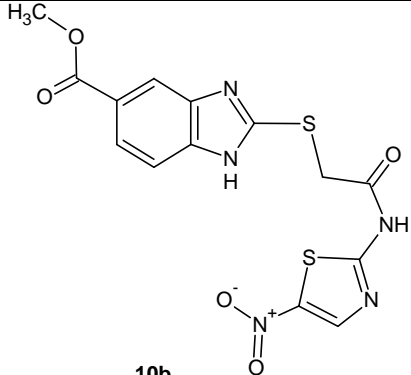
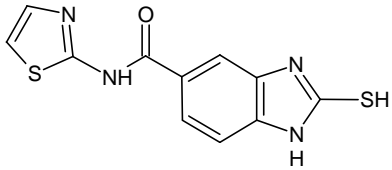
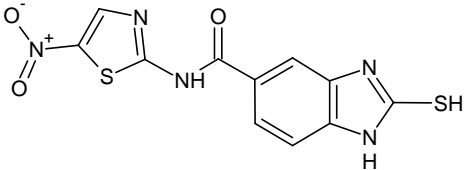
Tabla 10.1 Constantes físicas y rendimientos de los carboxilatos de metilo y carboxamidas bencimidazólicas finales							
Compuesto	PM	Rendimiento crudo (%)	Disolvente de recristalización	Rendimiento recristalizado (%)	Sistema de elución^a	R_f	pf (°C)
10a	348.40	88.8	EtOH	73.4	I	0.21	204.9-211.6 (d)
10b	393.40	93.5	Éter dietílico ^b	86.7	I	0.31	209.9-211.4 (d)
19	276.34	82.9	DMF/H ₂ O	60.5	II	0.36	378.0-381.0 (d)
61	321.33	79.4	EtOH ^b	59.2	VI	0.35	300.5-301.7 (d)
VMAS-62	335.36	82.9	DMF/H ₂ O	69.2	II	0.60	268.4-269.5 (d)

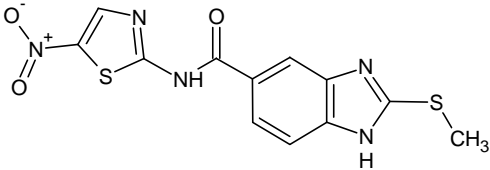
^a Sistemas de elución en página 43
^b No se recristalizó, sólo se suspendió
(d). Funde con descomposición

Tabla 10.2 Constantes físicas y rendimientos de los compuestos precursores sintetizados								
Compuesto	PM	Rendimiento crudo (%)	Disolvente de recristalización	Rendimiento recristalizado (%)	Sistema de elución ^a	R _f	pf reportado (°C)	pf experimental (°C)
2	179.17	91.8	EtOH/AcOEt 80:20	80.3	II	0.30	259.0-262.0 ³⁵	259.1-259.5
3	193.20	99.4	MeOH	84.9	VII	0.45	128.3-128.7 ³⁵	128.8-129.4
4	238.20	88.5	EtOH	55.9	I	0.70	129.4-130.0 ³⁵	123.5-129.2
5	196.16	90.2	EtOH	84.1	III	0.36	197.0-202.0 ³⁰	200.3-201.7
6	166.18	99.5	-	-	I	0.53	107.4-108.5 ³⁰	Nd
7	208.24	93.5	MeOH	73.0	I	0.33	Nr	290.5-291.7
9a	176.62	72.3	CH ₃ CN	65.1	I	0.52	Nr	176.5-177.7
9b	221.62	85.6	CH ₃ CN	69.0	I	0.45	Nr	157.1-157.9
12	194.21	94.0	EtOH/DMF	65.9	II	0.42	Nr	353.0-356.2
13	212.66	-	-	-	IV	0.53	Nr	Nd
17	230.14	93.2	-	-	V	0.21	Nr	Nd

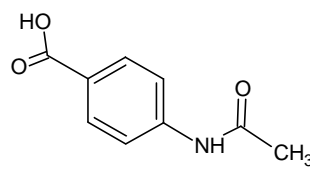
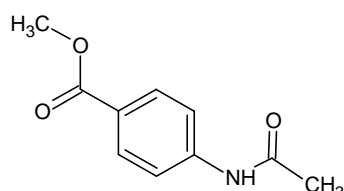
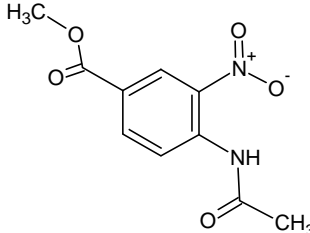
^a Sistemas de elución en página 43
 (d). Funde con descomposición
 Nd. No determinado
 Nr. No reportado

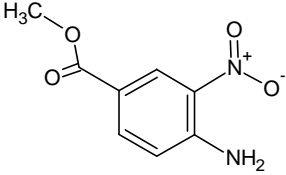
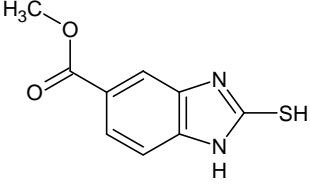
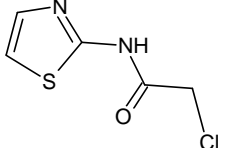
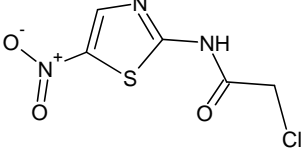
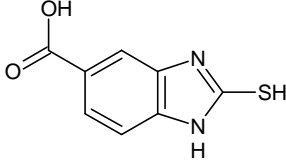
10.3 Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los carboxilatos de metilo y carboxamidas finales

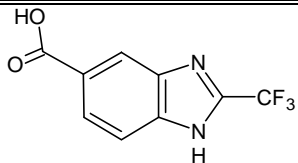
Compuesto	Señales
 <p>10a 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ylamino)etil]tio]-1H-benzimidazol-5(6)-carboxilato de metilo</p>	<p>Espectro 18 IR (KBr, cm⁻¹): 3309, 3251, 2948, 1702, 1292, 1234. Espectro 19 EM (FAB⁺) m/z: 349 ([M⁺]⁺, 29%). Espectro 20 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.828 (s, 3H, CH₃-O); 4.291 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.178 (d, <i>J_o</i> = 4.8 Hz, 1H en C₅'); 7.453-7.481 (m, 2H, H en C₇, H en C₄'); 7.711 (dd, <i>J_o</i> = 8.4, <i>J_m</i> = 1.5, 1H, H en C₆); 8.001 (s, 1H en C₄); 12.891 (sa, 2H, int. con D₂O, CO-NH y N-H).</p>
 <p>10b 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ylamino)etil]tio]-1H-benzimidazol-5(6)-carboxilato de metilo</p>	<p>Espectro 25 IR (KBr, cm⁻¹): 3180, 1698, 1577, 1425, 1354, 1297, 1179. Espectro 26 EM (FAB⁺) m/z: 395 ([M⁺]⁺, 10%). Espectro 27 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.835 (s, 3H, CH₃-O); 4.213 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.471 (dd, <i>J_o</i> = 8.7 Hz, <i>J_p</i> = 0.3 Hz, 1H, H en C₇); 7.736 (dd, <i>J_o</i> = 8.4 Hz, <i>J_m</i> = 1.8 Hz, 1H, H en C₆); 7.993-8.001 (m, 1H, H en C₄); 8.441 (s, 1H, H en C₄'); 12.681 (sa, 2H, int. D₂O, NH-CO y NH).</p>
 <p>19 2-Mercapto-N-(1,3-tiazol-2-yl)-1H-benzimidazol-5(6)-carboxamida</p>	<p>Espectro 34 IR (KBr, cm⁻¹): 3439, 3118, 2951-2811, 1644, 1543, 1478, 1200. Espectro 35 EM (EI) m/z: 276 (M⁺, 14%). Espectro 36 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 7.218-7.257 (m, 2H, H en C₅' y H en C₇); 7.540 (d, <i>J_m</i> = 3.6 Hz, 1H, H en C₄); 7.892-7.933 (m, 2H, H en C₆ y H en C₄'); 12.867 (sa, 1H, int. con D₂O, CO-NH); 12.915 (sa, 1H, int. con D₂O, S-H).</p>
 <p>61</p>	<p>Espectro 38 IR (KBr, cm⁻¹): 3317, 3104-2944, 1672, 1536, 1474, 1361, 1299. Espectro 39 EM (IE) m/z: 321 (M⁺, 11%). Espectro 40 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 7.255 (d, <i>J_o</i> = 8.7 Hz, 1H, H en C₇); 7.939-7.969 (m, 2H, H en C₄ y H en C₆); 8.682 (s, 1H, H en C₄'); 12.911 (s, 1H, int. con D₂O, N-H);</p>

<p>2-Mercapto-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5(6)-carboxamida</p>	<p>12.963 (s, 1H, int. con D₂O, CO-NH); 13.560 (sa, 1H, int. con D₂O, S-H).</p>
 <p style="text-align: center;">VMAS-62</p> <p>2-(Metiltio)-<i>N</i>-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1<i>H</i>-bencimidazol-5(6)-carboxamida</p>	<p>Espectro 42 IR (KBr, cm⁻¹): 3119, 2931, 1672, 1537, 1477, 1350, 1280. Espectro 43 EM (IE) <i>m/z</i>: 335 (M⁺, 5 %). Espectro 44 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.719 (s, 3H, S-CH₃); 7.521 (d, <i>J_o</i> = 8.2 Hz, 1H, H en C₇); 8.942 (dd, <i>J_o</i> = 8.2 Hz, <i>J_m</i> = 3.5 Hz, 1H, H en C₆); 8.281 (d, <i>J_m</i> = 3.4 Hz, 1H, H en C₄); 8.702 (s, 1H, H en C_{4'}); 13.526 (sa, 2H, int. con D₂O, CO-NH y N-H).</p>

10.4 Constantes espectroscópicas y espectrométricas de los precursores sintetizados

Compuesto	Señales
 <p style="text-align: center;">2</p> <p>Ácido 4-acetamidobenzoico</p>	<p>Espectro 1 IR (KBr, cm⁻¹): 3305, 2824, 2548, 1670, 1607, 1521, 1426, 1205, 1178. Espectro 1a EM (GC) <i>m/z</i>: 179 (M⁺, 47%). Espectro 2 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.064 (s, 3H, NHCOCH₃); 7.674 (d, <i>J_o</i> = 8.8 Hz, 2H, H en C₃ y H en C₅); 7.866 (d, <i>J_o</i> = 8.8 Hz, 2H, H en C₂ y H en C₆); 10.235 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃); 12.653 (sa, 1H, int. con D₂O, COOH).</p>
 <p style="text-align: center;">3</p> <p>4-Acetamidobenzoato de metilo</p>	<p>Espectro 3 IR (KBr, cm⁻¹): 3360, 2951, 1685, 1524, 1443, 1251, 1175. Espectro 4 EM (GC) <i>m/z</i>: 193 (M⁺, 100%). Espectro 5 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.068 (s, 3H, NHCOCH₃); 3.796 (s, 3H, COOCH₃); 7.687-7.714 (m, 2H, H en C₃ y H en C₅); 7.867-7.900 (m, 2H, H en C₂ y H en C₆); 10.269 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃).</p>
 <p style="text-align: center;">4</p> <p>4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo</p>	<p>Espectro 6 IR (KBr, cm⁻¹): 3354, 2962, 1731, 1720, 1619, 1509, 1342, 1300, 1221. Espectro 7 EM (GC) <i>m/z</i>: 238 (M⁺, 18%). Espectro 8 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 2.109 (s, 3H, NHCOOCH₃); 3.871 (s, 3H, COOCH₃); 7.836 (d, <i>J_o</i> = 8.406 Hz, 1H, H en C₅); 8.198 (dd, <i>J_o</i> = 8.7 Hz, <i>J_m</i> = 1.8 Hz, 1H, H en C₆); 8.369 (d, <i>J_m</i> = 2.1 Hz, 1H, H en C₂); 10.564 (sa, 1H, int. con D₂O, NHCOCH₃).</p>

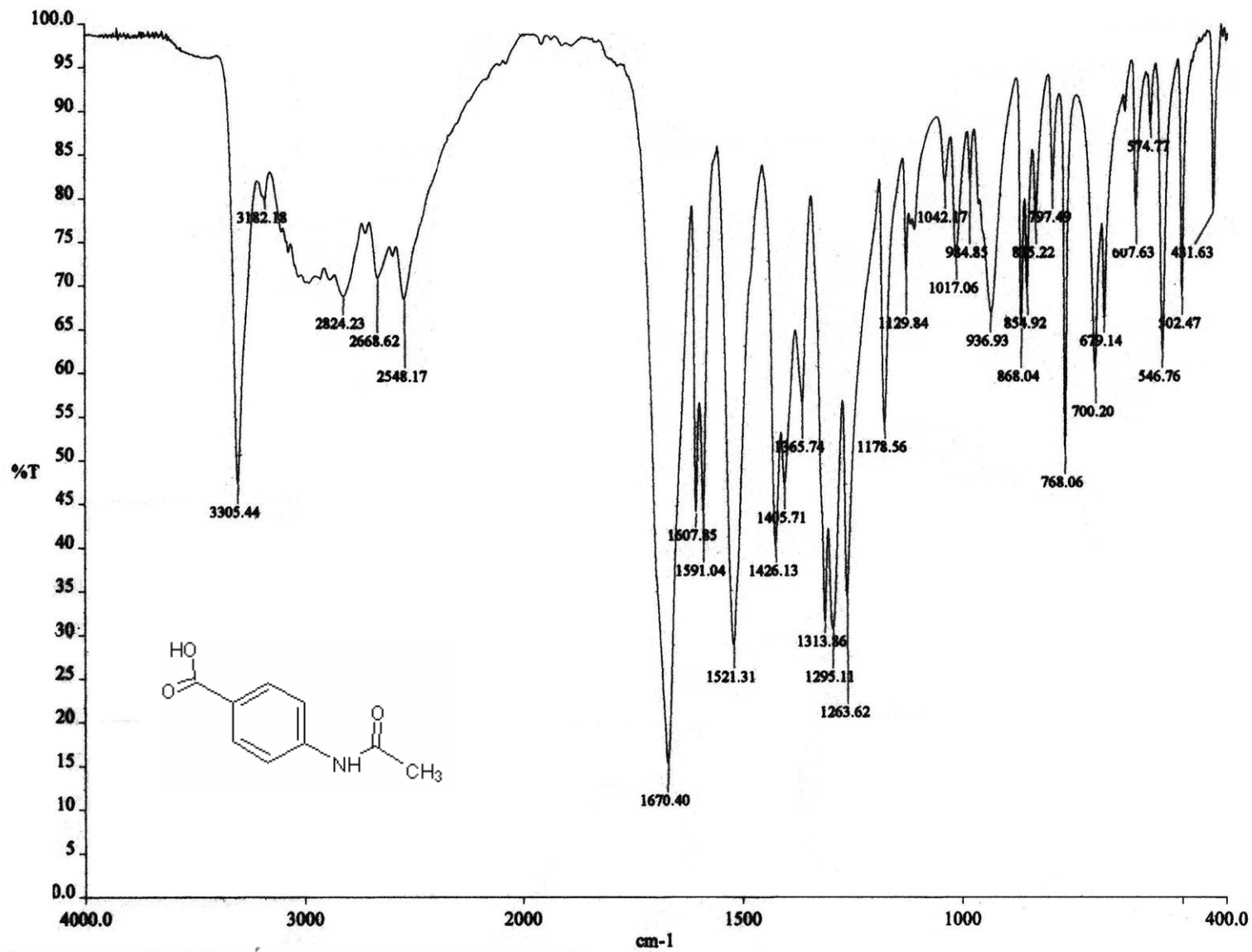
 <p style="text-align: center;">5</p> <p style="text-align: center;">4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo</p>	<p>Espectro 9 IR (KBr, cm⁻¹): 3475, 3341, 2962, 1701, 1632, 1521, 1356, 1477.</p> <p>Espectro 10 EM (GC) m/z: 196 (M⁺, 50%).</p> <p>Espectro 11 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.790 (s, 3H, COOCH₃); 7.034 (d, <i>J</i>_o = 8.8 Hz, 1H, H en C₅); 7.821 (dd, <i>J</i>_o = 8.8 Hz, <i>J</i>_m = 2.0 Hz, 1H, H en C₆); 7.967 (sa, 2H, int. con D₂O, NH₂); 8.516 (d, <i>J</i>_m = 2.0 Hz, 1H, H en C₂).</p>
 <p style="text-align: center;">7</p> <p style="text-align: center;">2-Mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo</p>	<p>Espectro 12 IR (KBr, cm⁻¹): 3310, 2944, 1690, 1342, 1299, 1173.</p> <p>Espectro 13 EM (GC) m/z: 208 (M⁺, 98%).</p> <p>Espectro 14 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 3.819 (s, 3H, COOCH₃); 7.201 (d, <i>J</i>_o = 8.4 Hz, 1H, H en C₇); 7.633 (d, <i>J</i>_m = 0.8 Hz, 1H, H en C₄); 7.741 (dd, <i>J</i>_o = 8.0 Hz, <i>J</i>_m = 2.0 Hz, 1H, H en C₆); 12.798 (s, 1H, int. con D₂O, N-H); 12.854 (s, 1H, int. con D₂O, S-H).</p>
 <p style="text-align: center;">9a</p> <p style="text-align: center;">2-Cloro-N-(1,3-tiazol-2-il)acetamida</p>	<p>Espectro 15 IR (KBr, cm⁻¹): 3185, 2949, 2733, 1703, 1585, 1166.</p> <p>Espectro 16 EM (GC) m/z: 176 (M⁺, 45%).</p> <p>Espectro 17 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.447 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 7.201 (d, <i>J</i>_o = 3.6 Hz, 1H en C₄); 7.473 (d, <i>J</i>_o = 3.6 Hz, 1H en C₅); 11.366 (sa, 1H, int. D₂O, NH).</p>
 <p style="text-align: center;">9b</p> <p style="text-align: center;">2-Cloro-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida</p>	<p>Espectro 22 IR (KBr, cm⁻¹): 3148, 2941, 2717, 1694, 1556, 1493, 1351, 1177.</p> <p>Espectro 23 EM (GC) m/z: 221 (M⁺, 34%).</p> <p>Espectro 24 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 4.566 (s, 2H, CO-CH₂-Cl); 8.446 (s, 1H, H en C₄); 11.466 (sa, 1H, int. D₂O, NH-CO).</p>
 <p style="text-align: center;">12</p> <p style="text-align: center;">Ácido 2-mercapto-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico</p>	<p>Espectro 29 IR (KBr, cm⁻¹): 3064-2565, 1683, 1521, 1303, 1181.</p> <p>Espectro 30 EM (IE) m/z: 194 (M⁺, 100%).</p> <p>Espectro 31 RMN ¹H (DMSO-d₆) δ: 5.600 (sa, 1H, int. con D₂O, COO-H); 7.176 (dd, <i>J</i>_o = 8.4 Hz, <i>J</i>_p = 0.3 Hz, 1H, H en C₇); 7.669 (dd, <i>J</i>_m = 1.5 Hz, <i>J</i>_p = 0.6 Hz, 1H, H en C₄); 7.749 (dd, <i>J</i>_o = 8.1 Hz, <i>J</i>_m = 1.5 Hz, 1H, H en C₆); 12.781 (sa, 2H, int. con D₂O, N-H y S-H).</p>



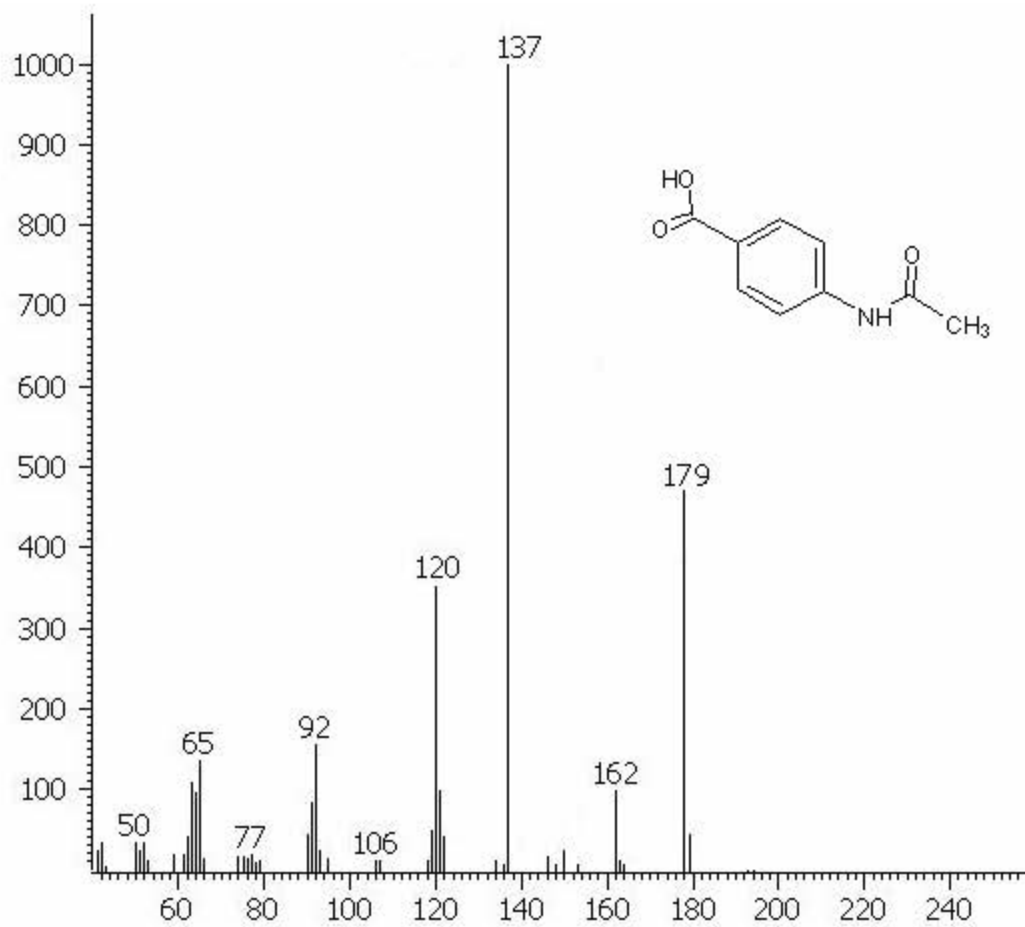
Ácido 2-trifluorometil-1*H*-
bencimidazol-5(6)-carboxílico

Espectro 32 IR (KBr, cm^{-1}): 3292-3084, 1704, 1164, 770.

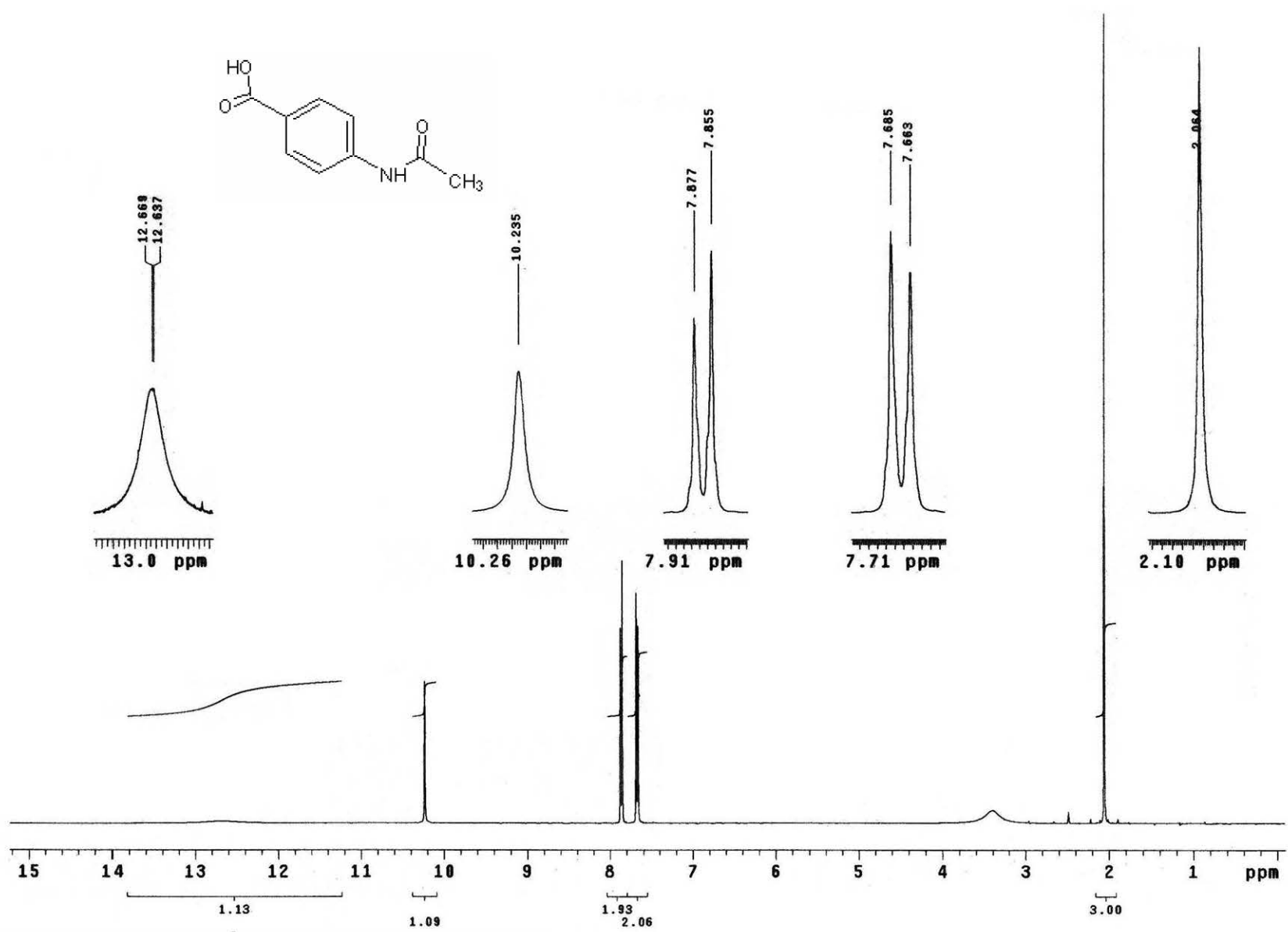
Espectro 33 EM (GC) m/z : 230 (M^+ , 98 %).



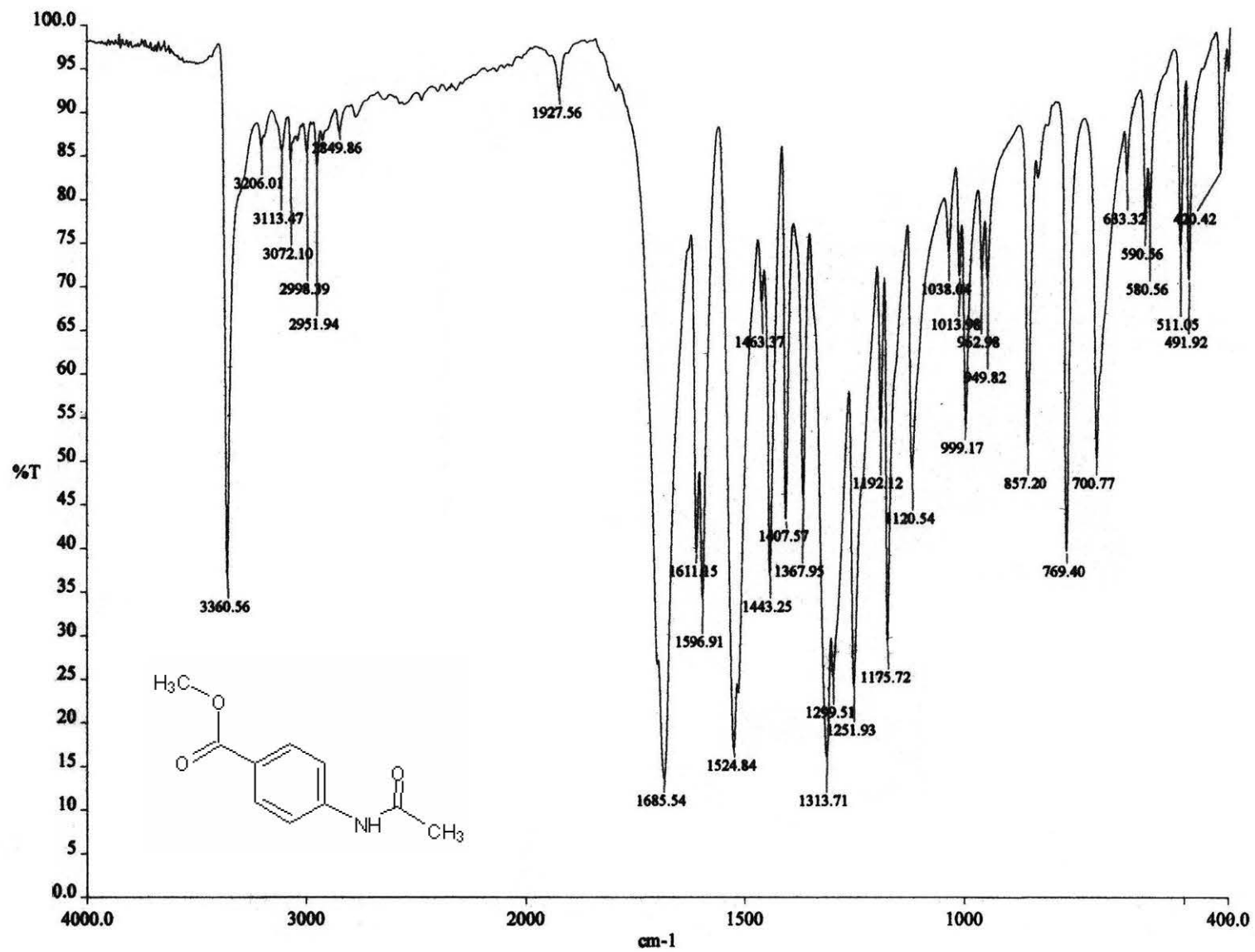
Espectro 1: IR (KBr) Ácido 4-acetamidobenzoico (2)



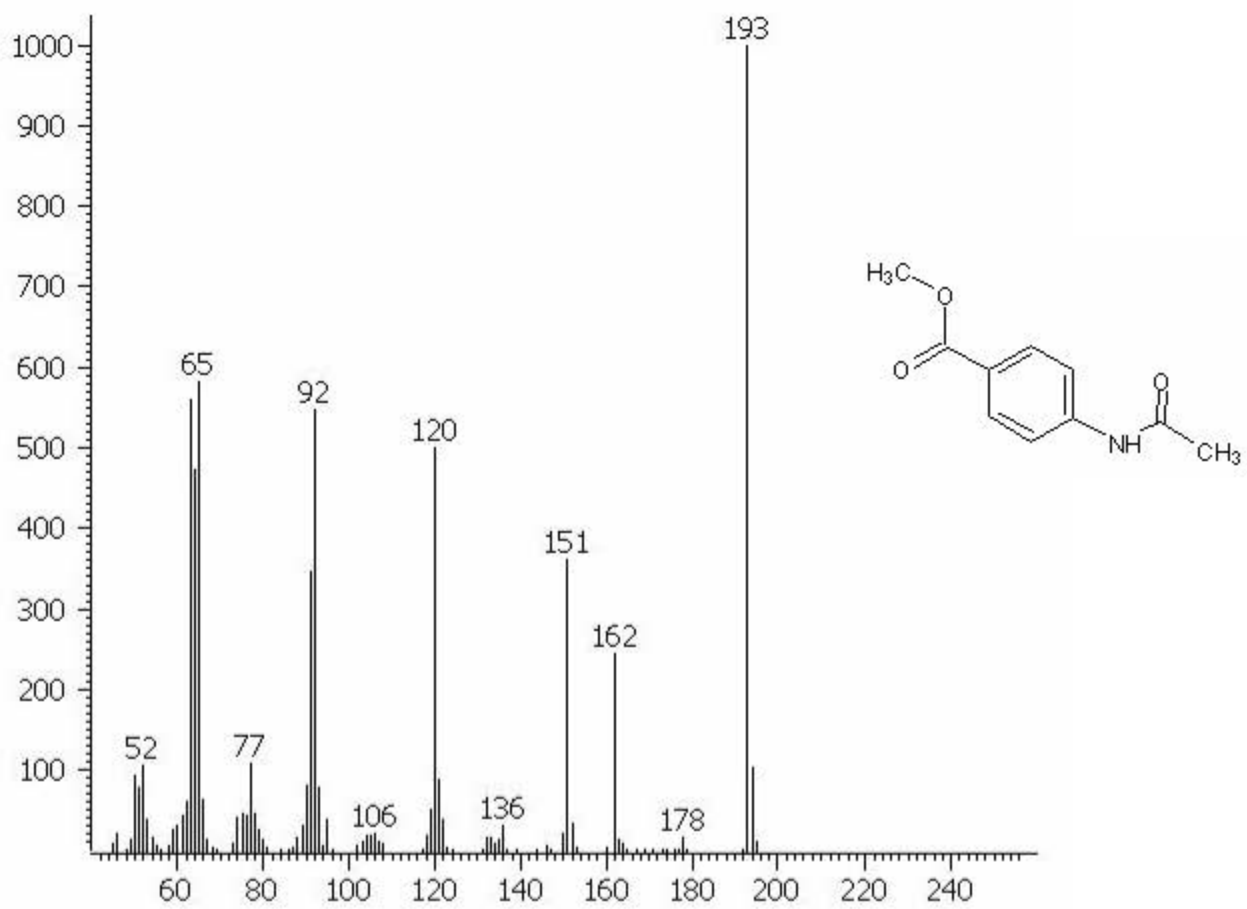
Espectro 1a: EM (GC) Ácido 4-acetamidobenzoico (2)



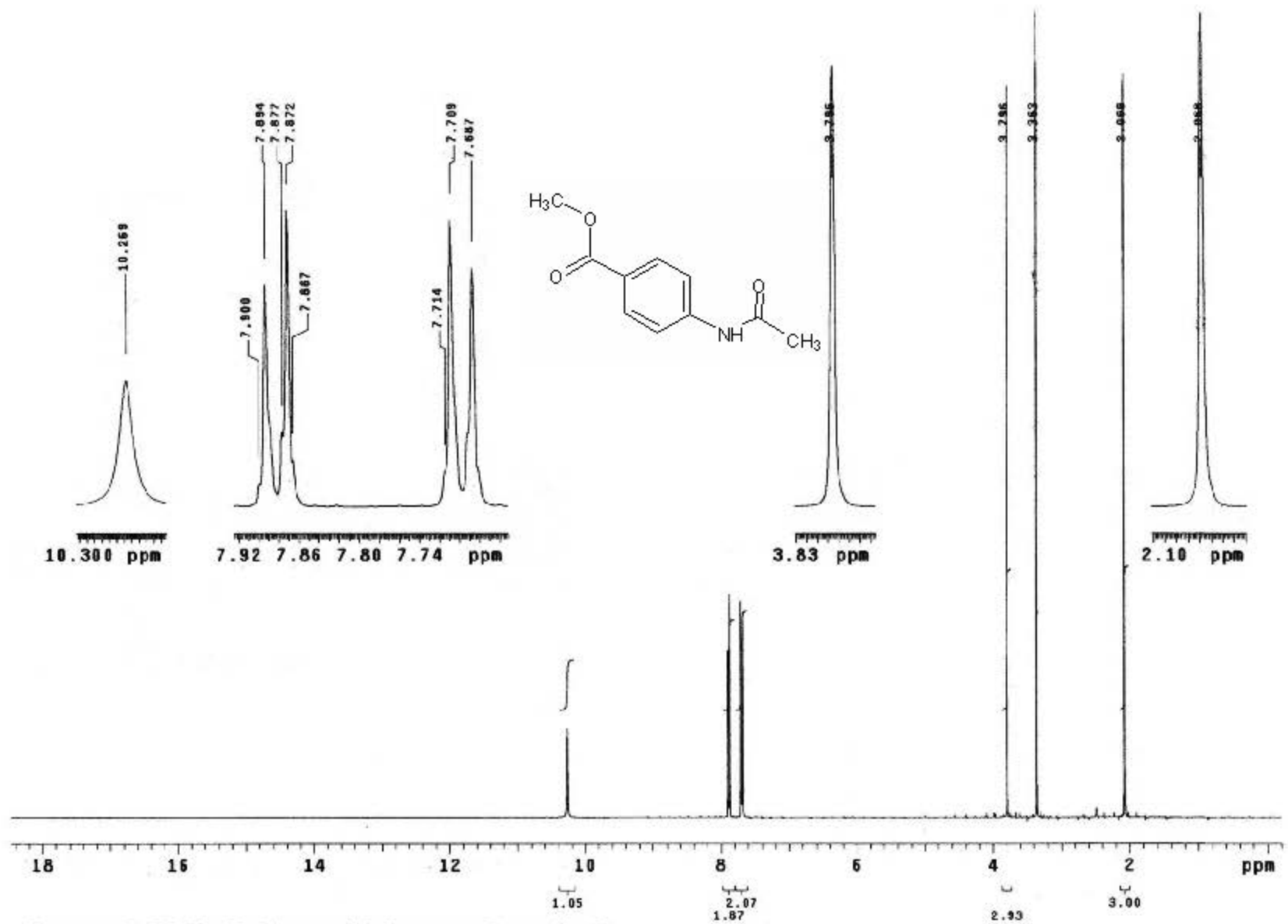
Espectro 2: RMN ¹H Ácido 4-acetamidobenzoico (2)



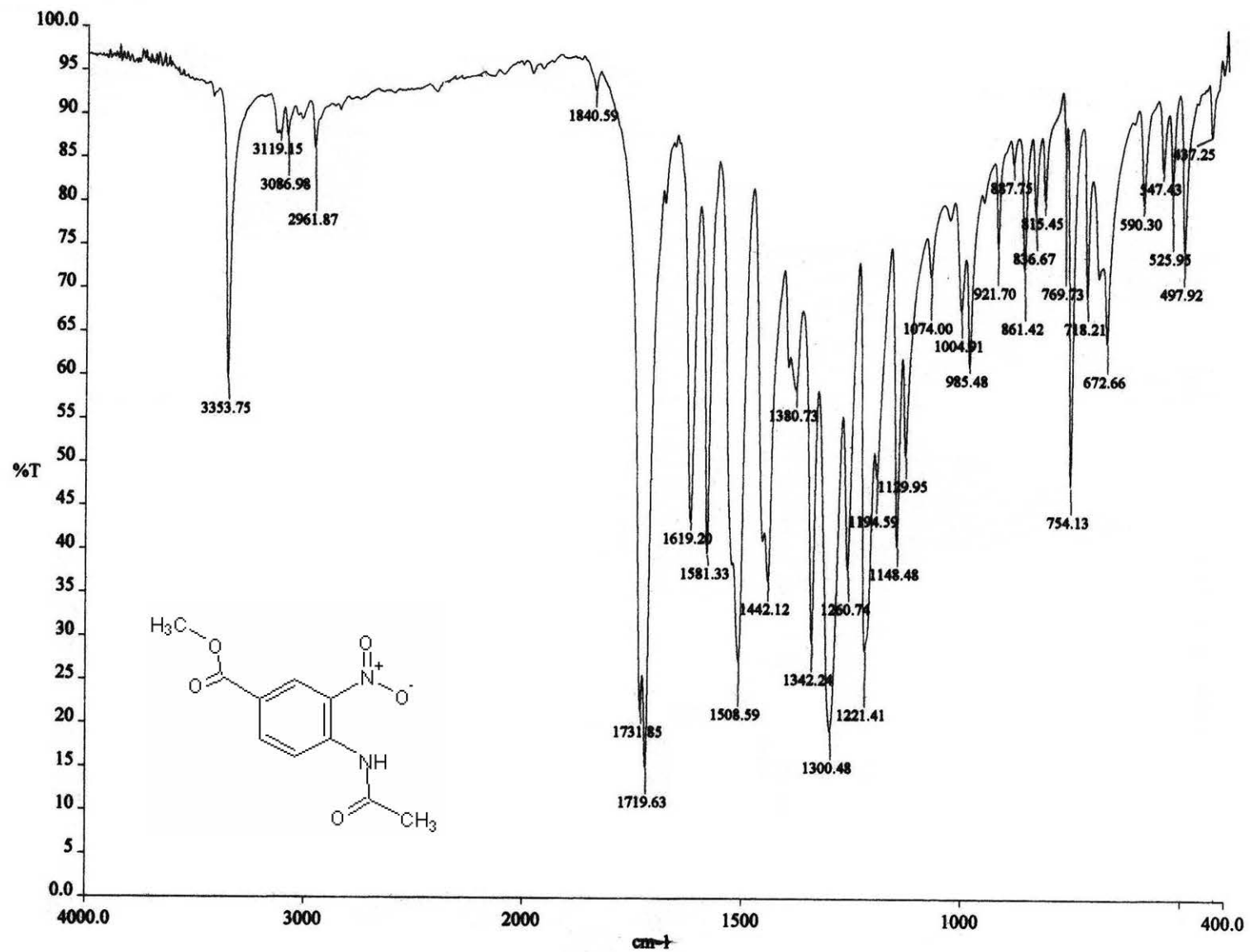
Espectro 3: IR (KBr) 4-Acetamidobenzoato de metilo (3)



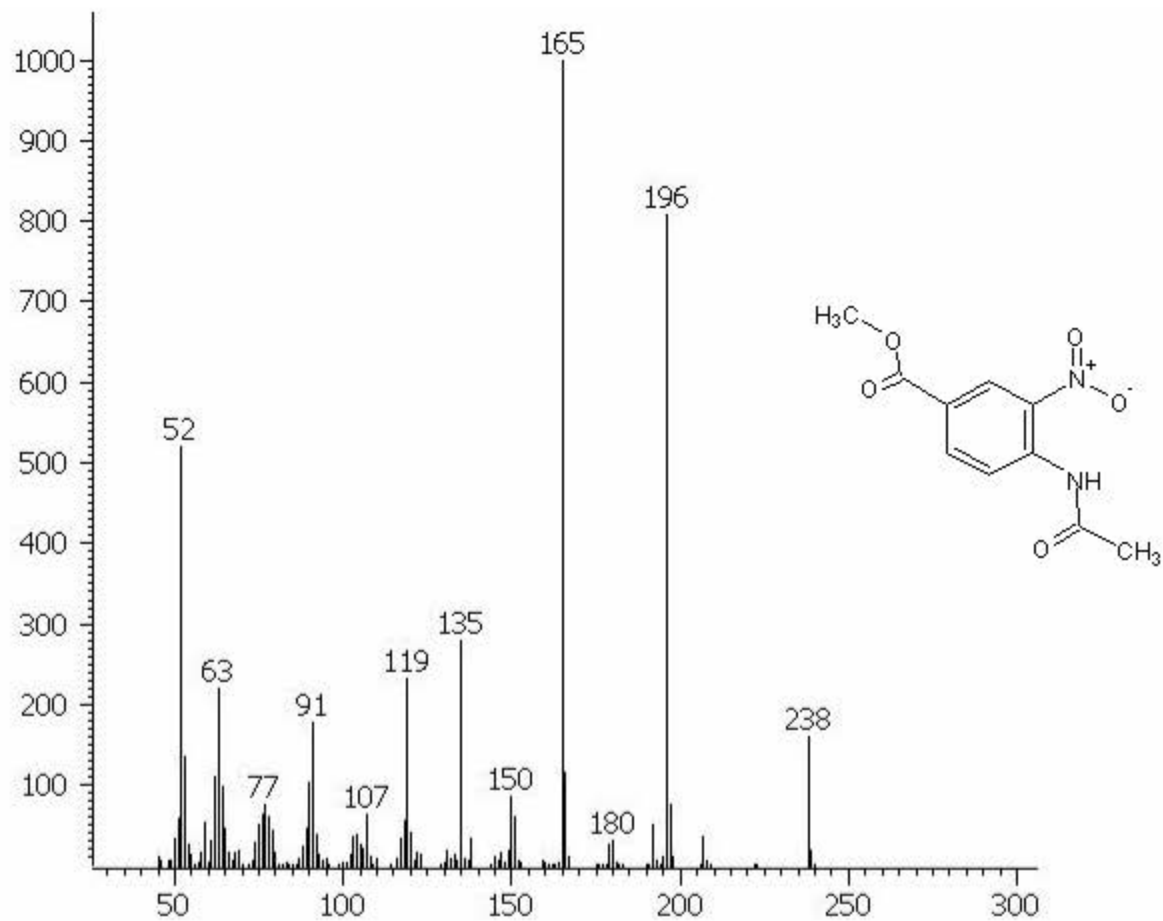
Espectro 4: EM (GC) 4-Acetamidobenzoato de metilo (3)



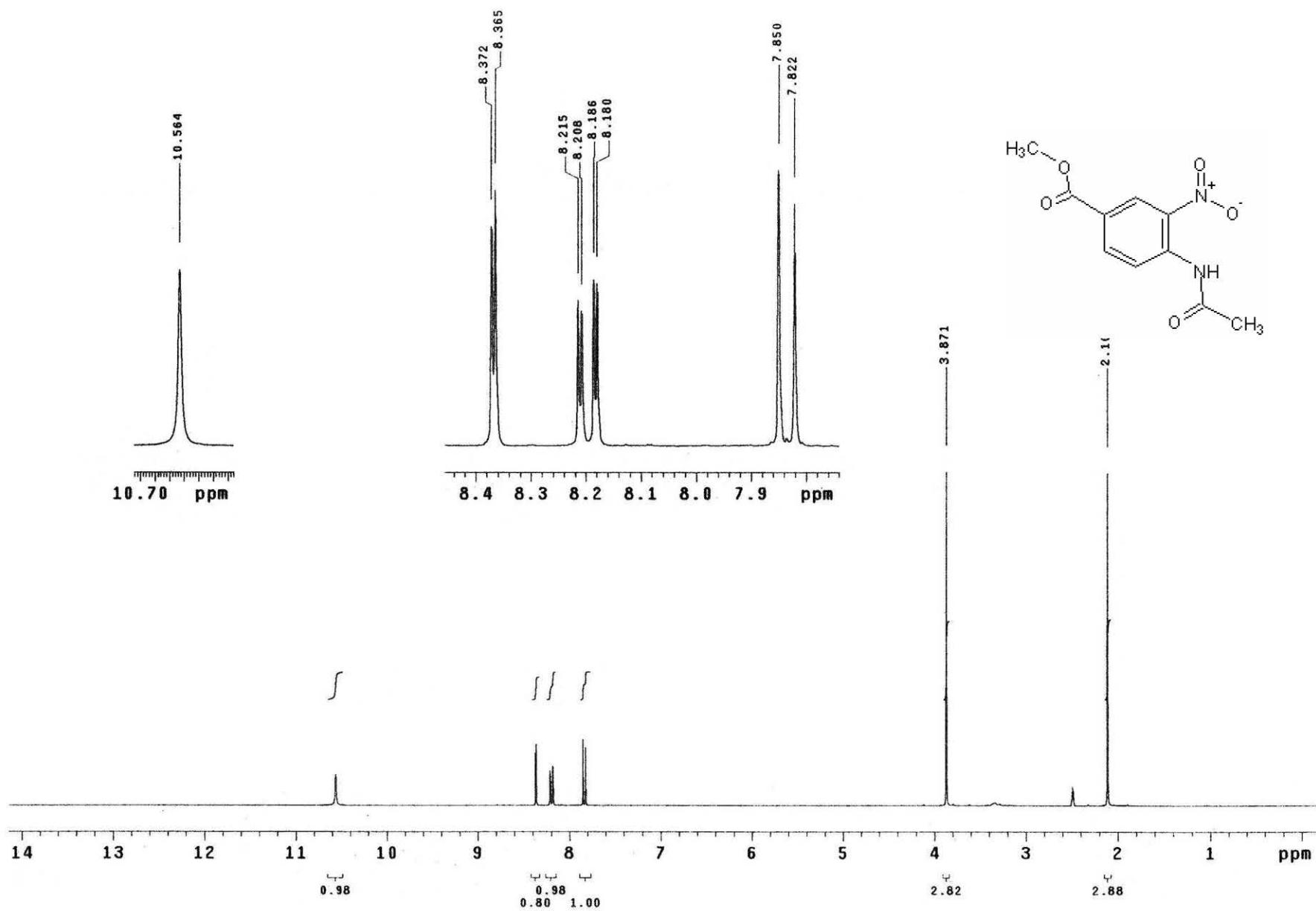
Espectro 5: RMN 1H 4-Acetamidobenzoato de metilo (3)



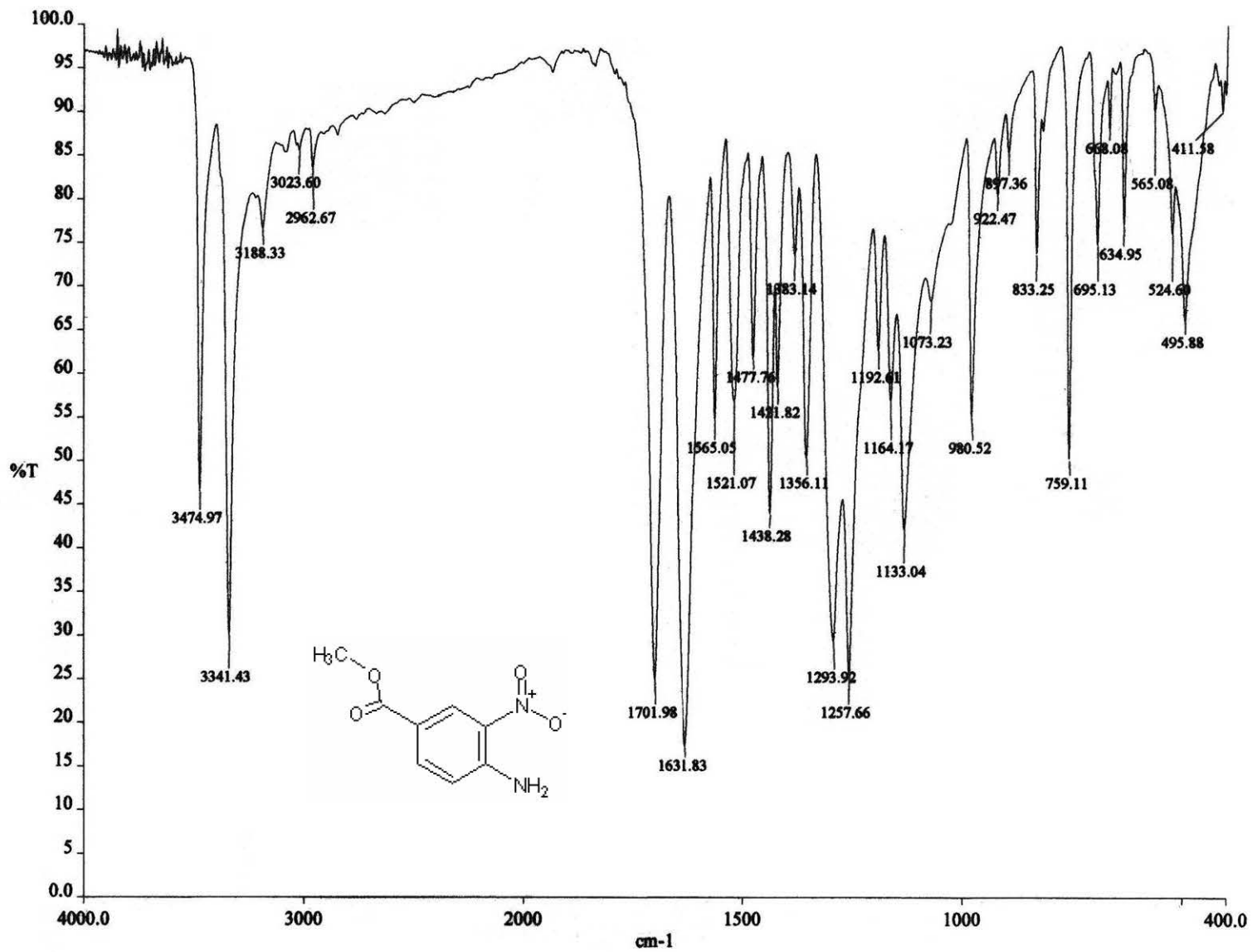
Espectro 6: IR (KBr) 4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4)



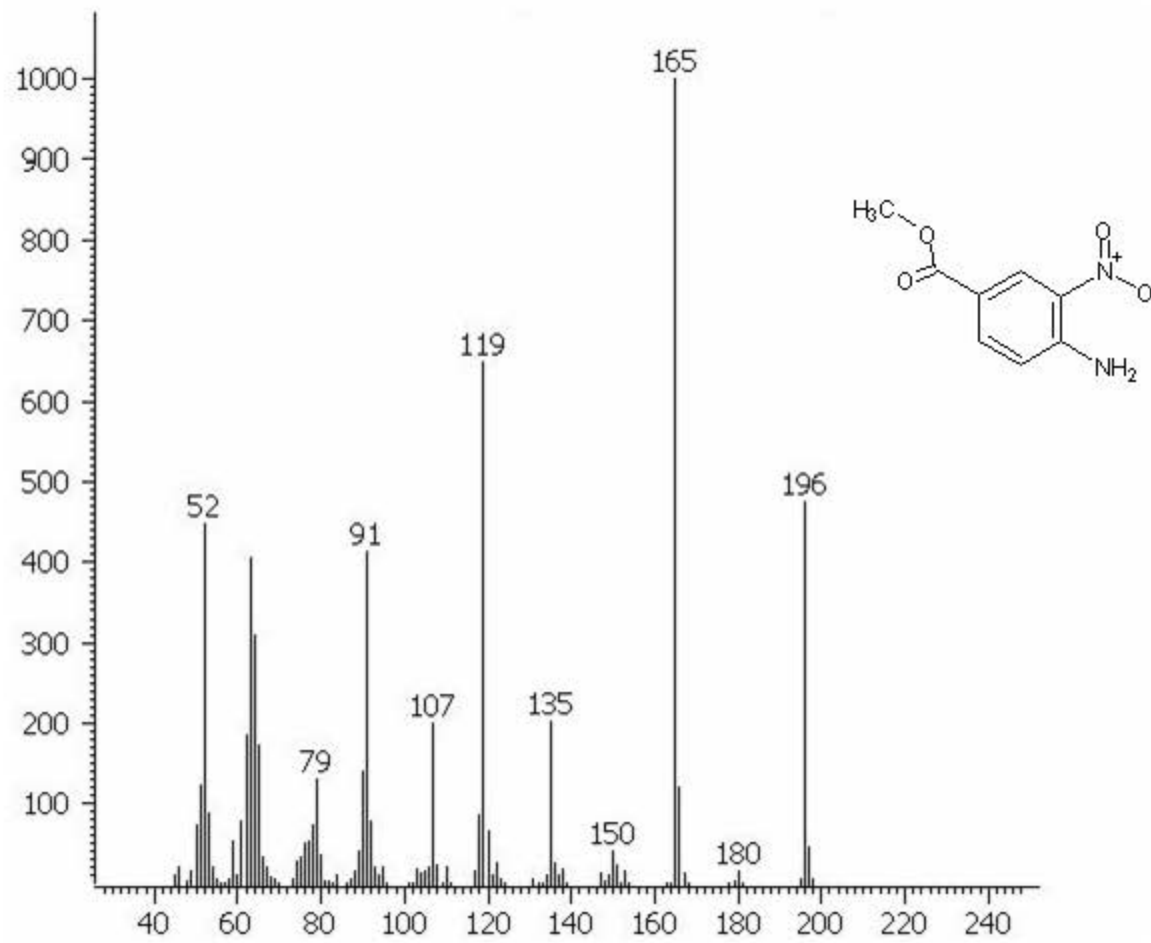
Espectro 7: EM (GC) 4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4)



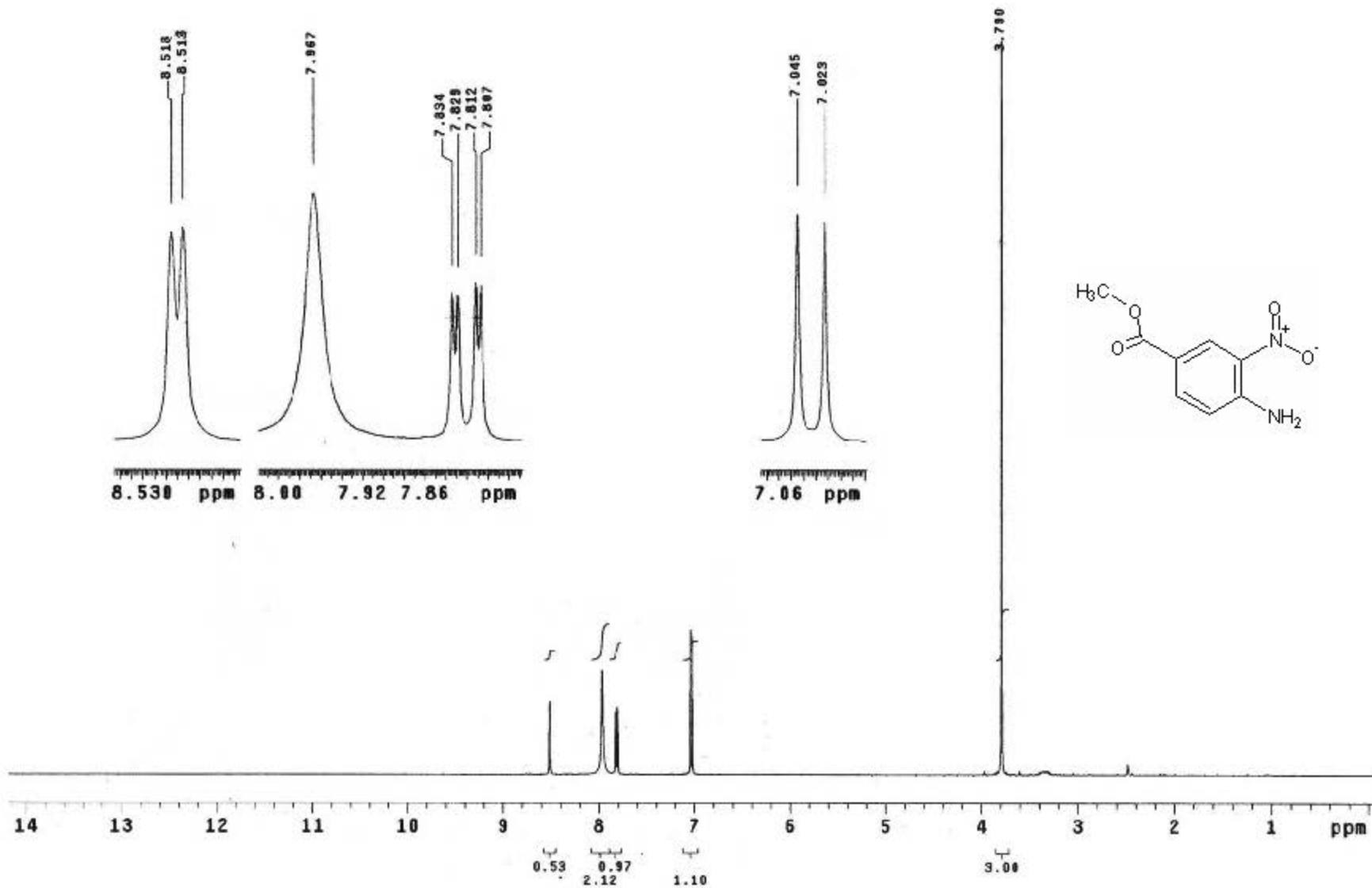
Espectro 8: RMN ¹H 4-Acetamido-3-nitrobenzoato de metilo (4)



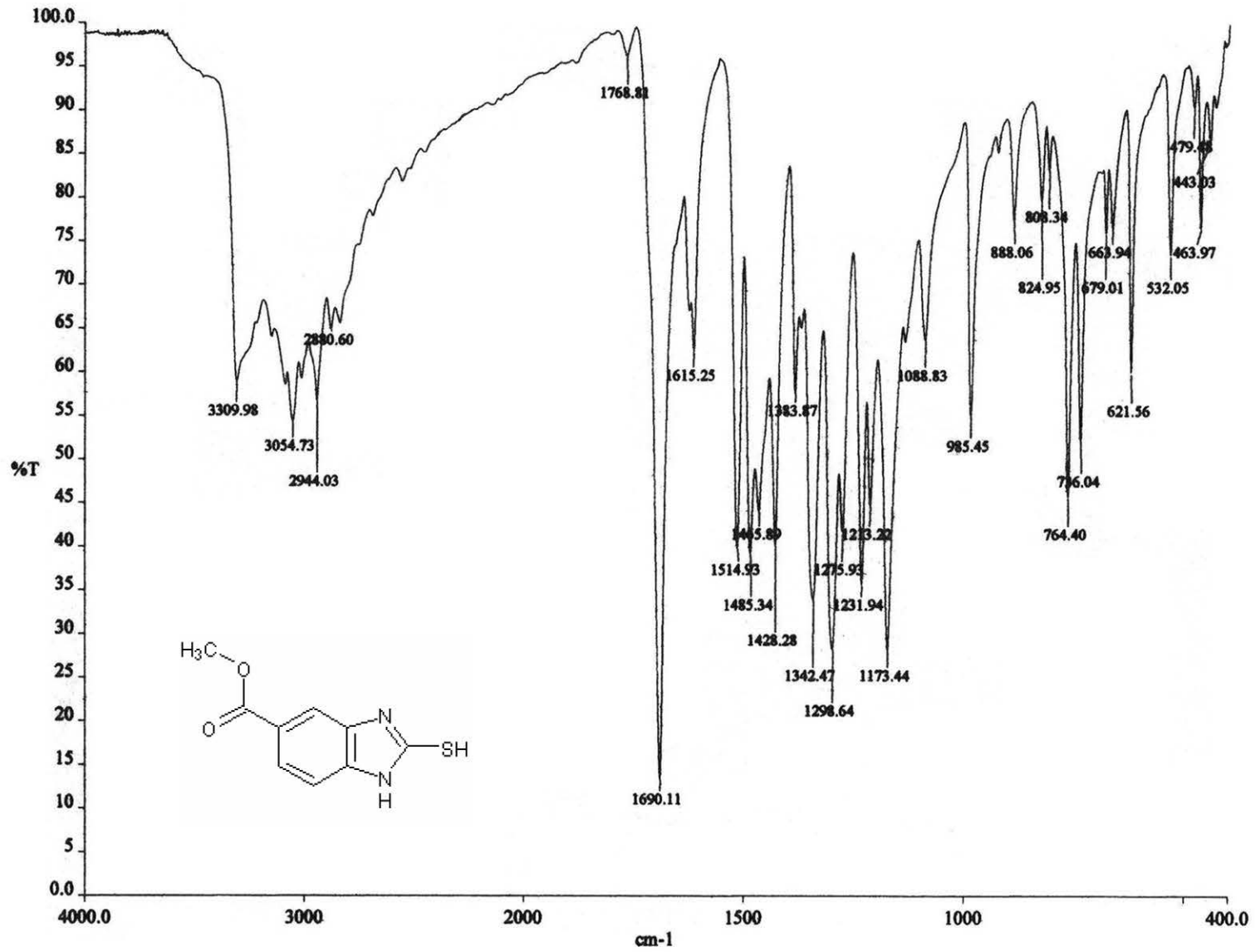
Espectro 9: IR (KBr) 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (5)



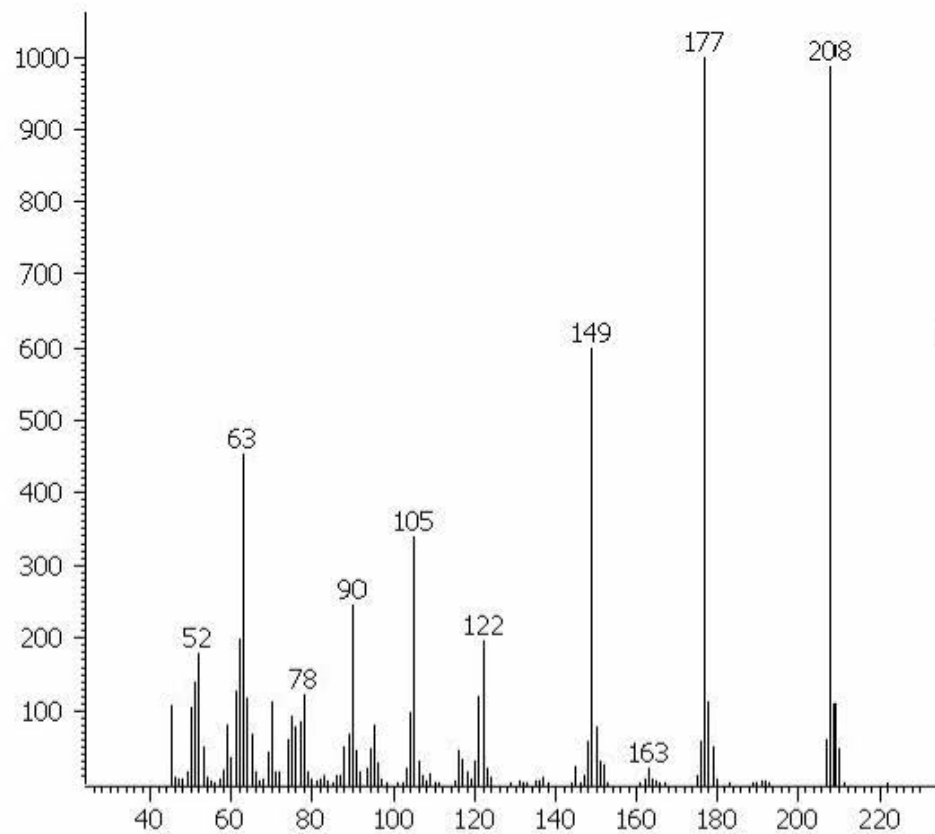
Espectro 10: EM (GC) 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (5)



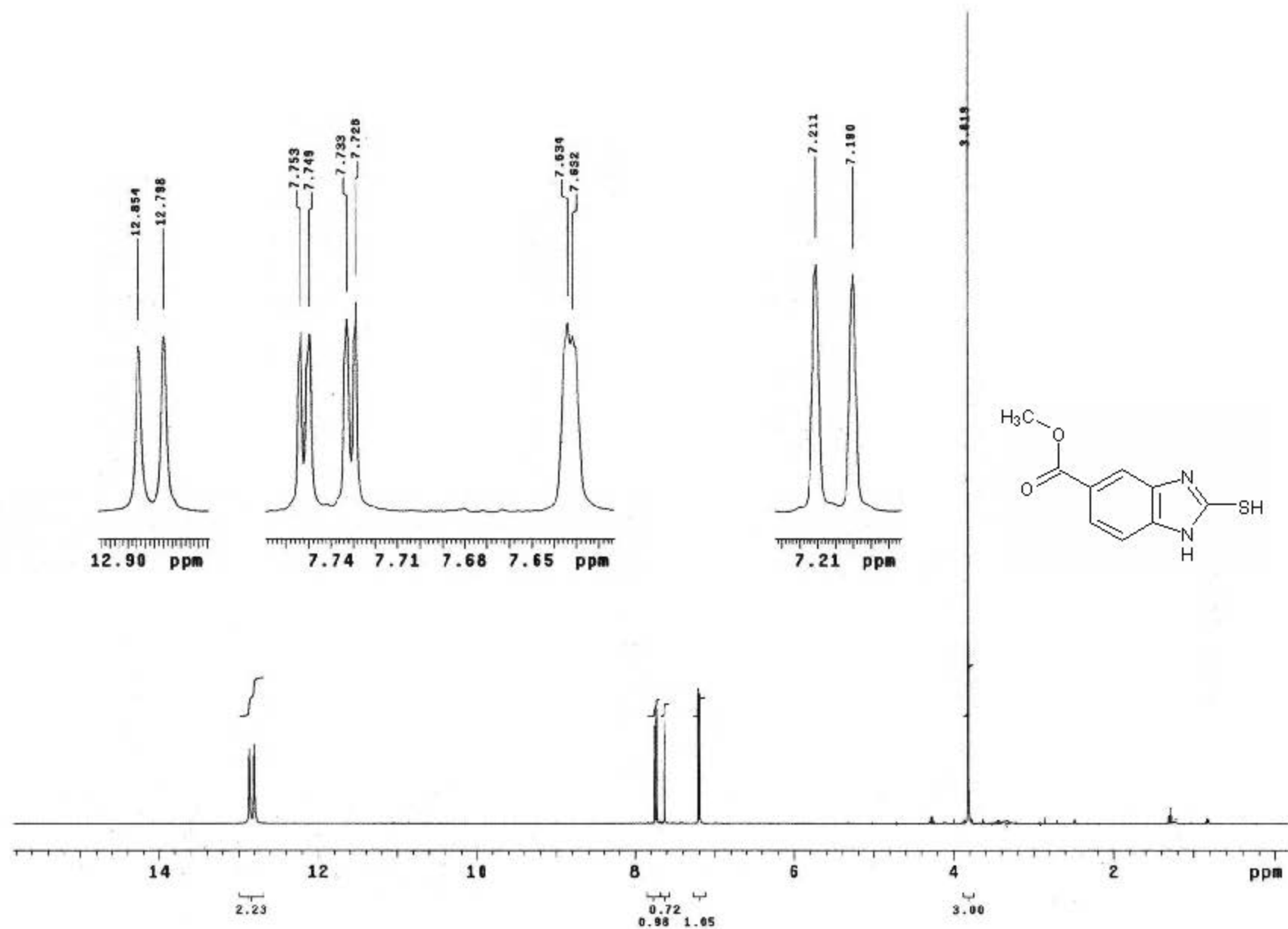
Espectro 11: RMN ¹H 4-Amino-3-nitrobenzoato de metilo (5)



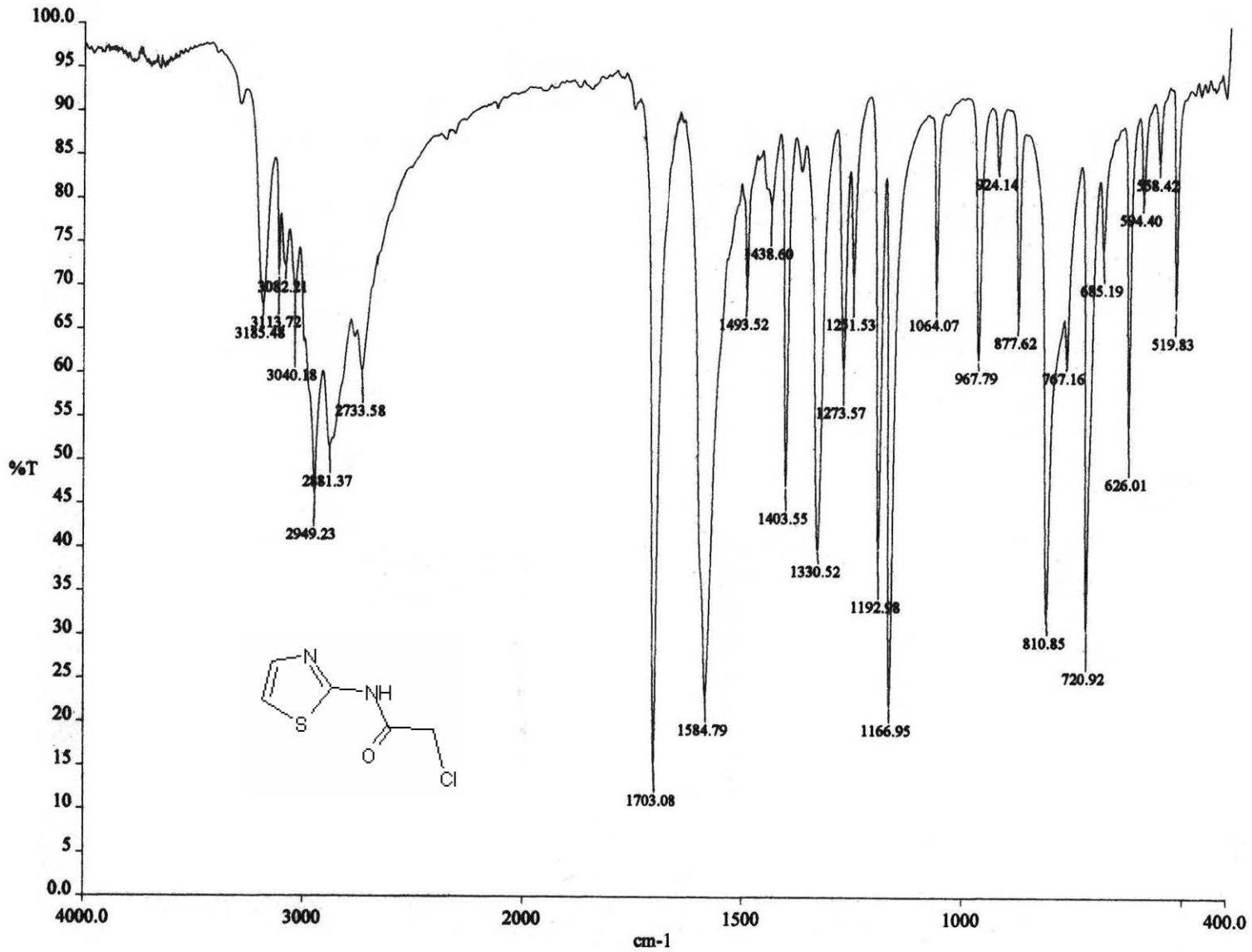
Espectro 12: IR (KBr) 2-Mercapto-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)



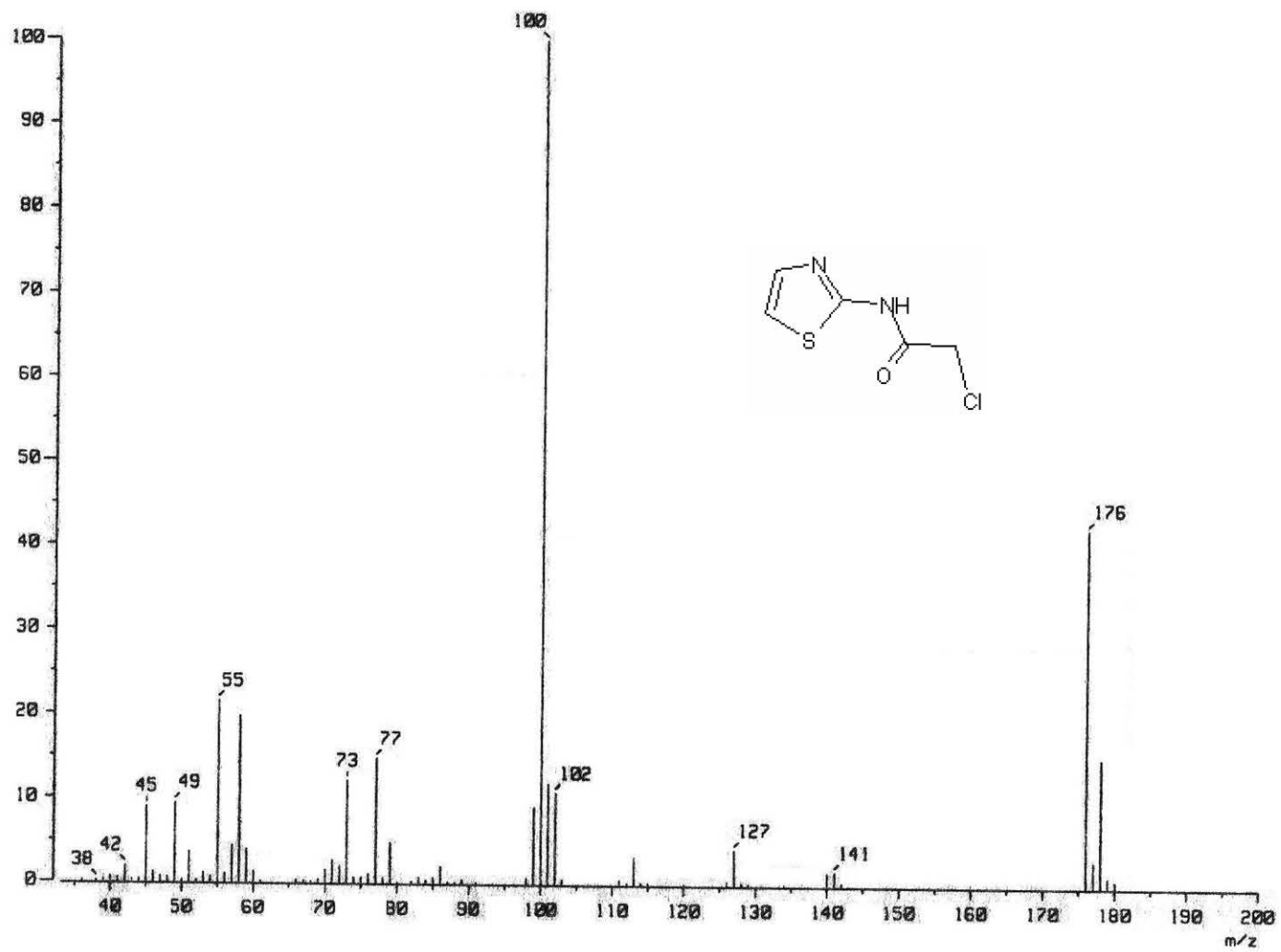
Espectro 13: EM (GC) 2-Mercapto-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)



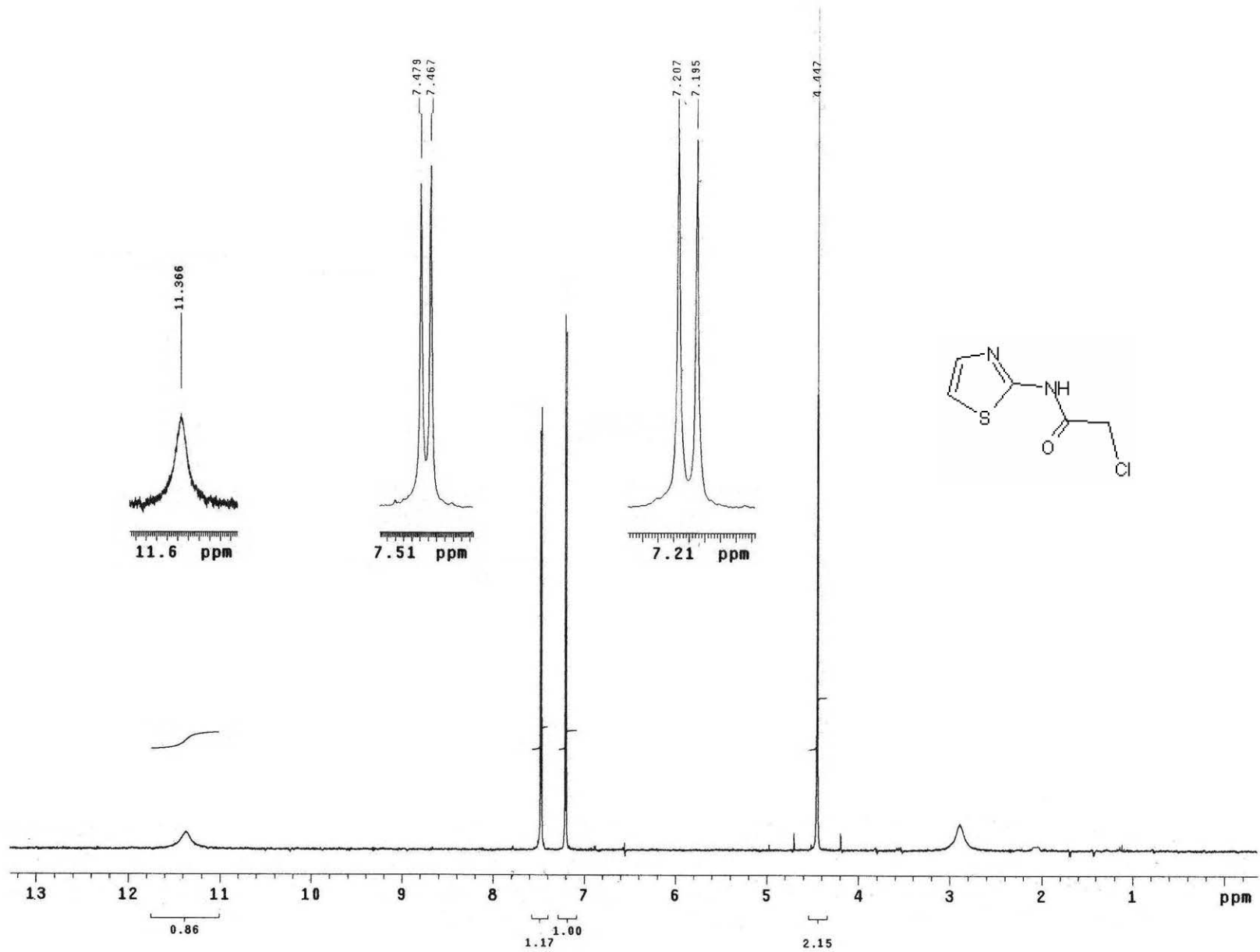
Espectro 14: RMN ^1H 2-Mercapto-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (7)



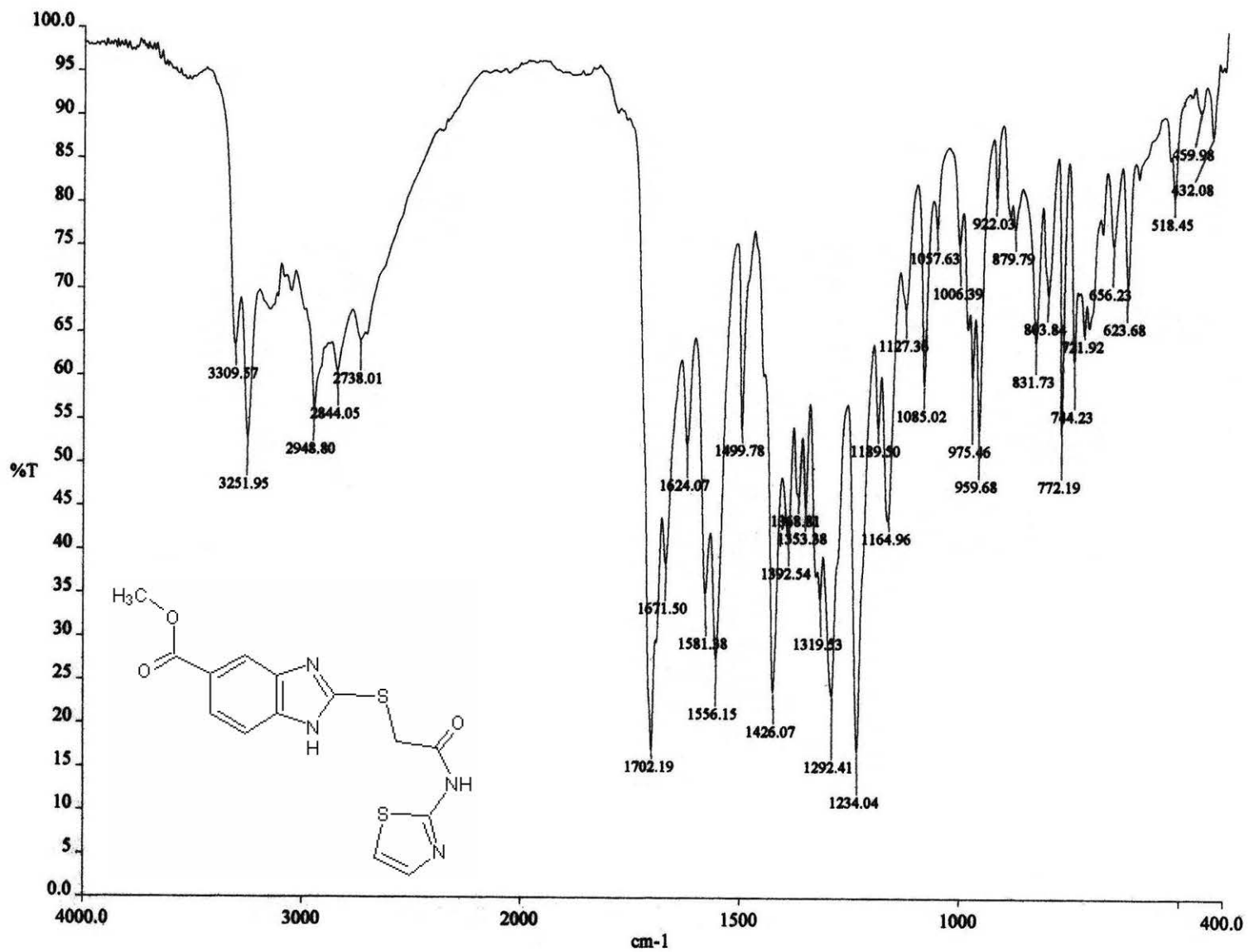
Espectro 15: IR (KBr) 2-Cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a)



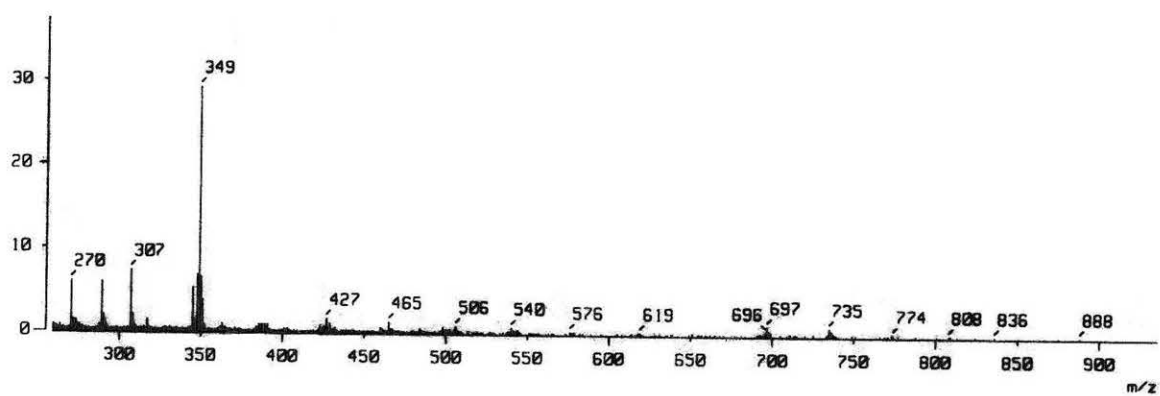
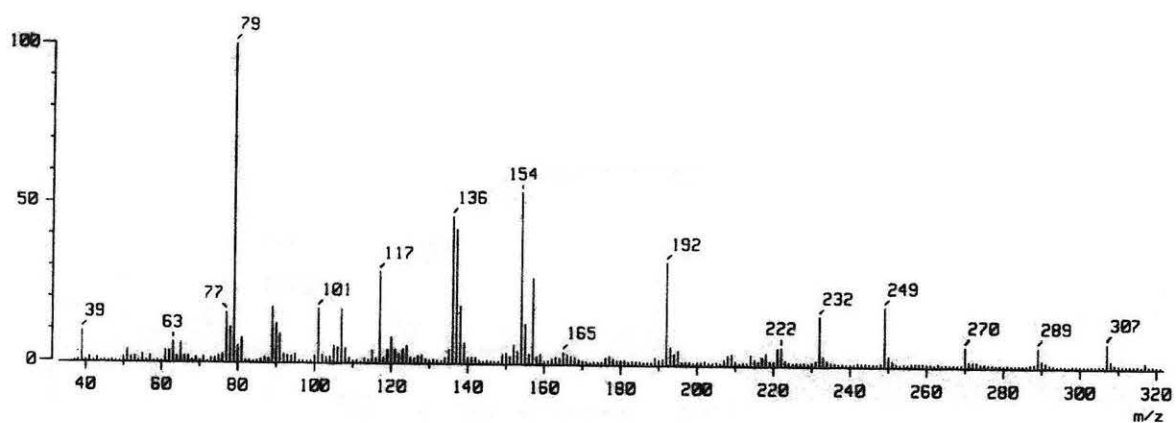
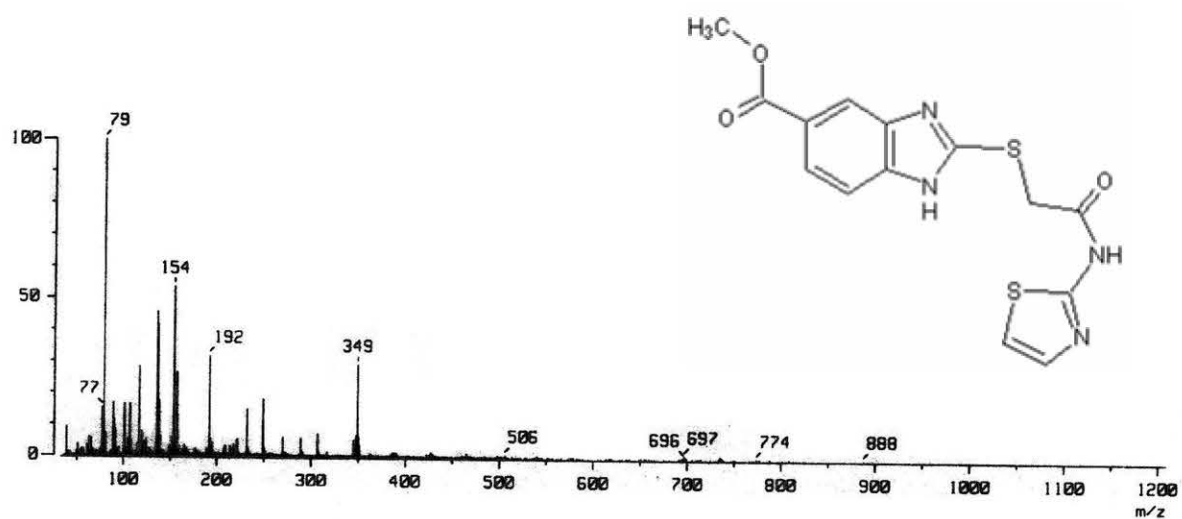
Espectro 16: EM (GC) 2-Cloro- *N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a)



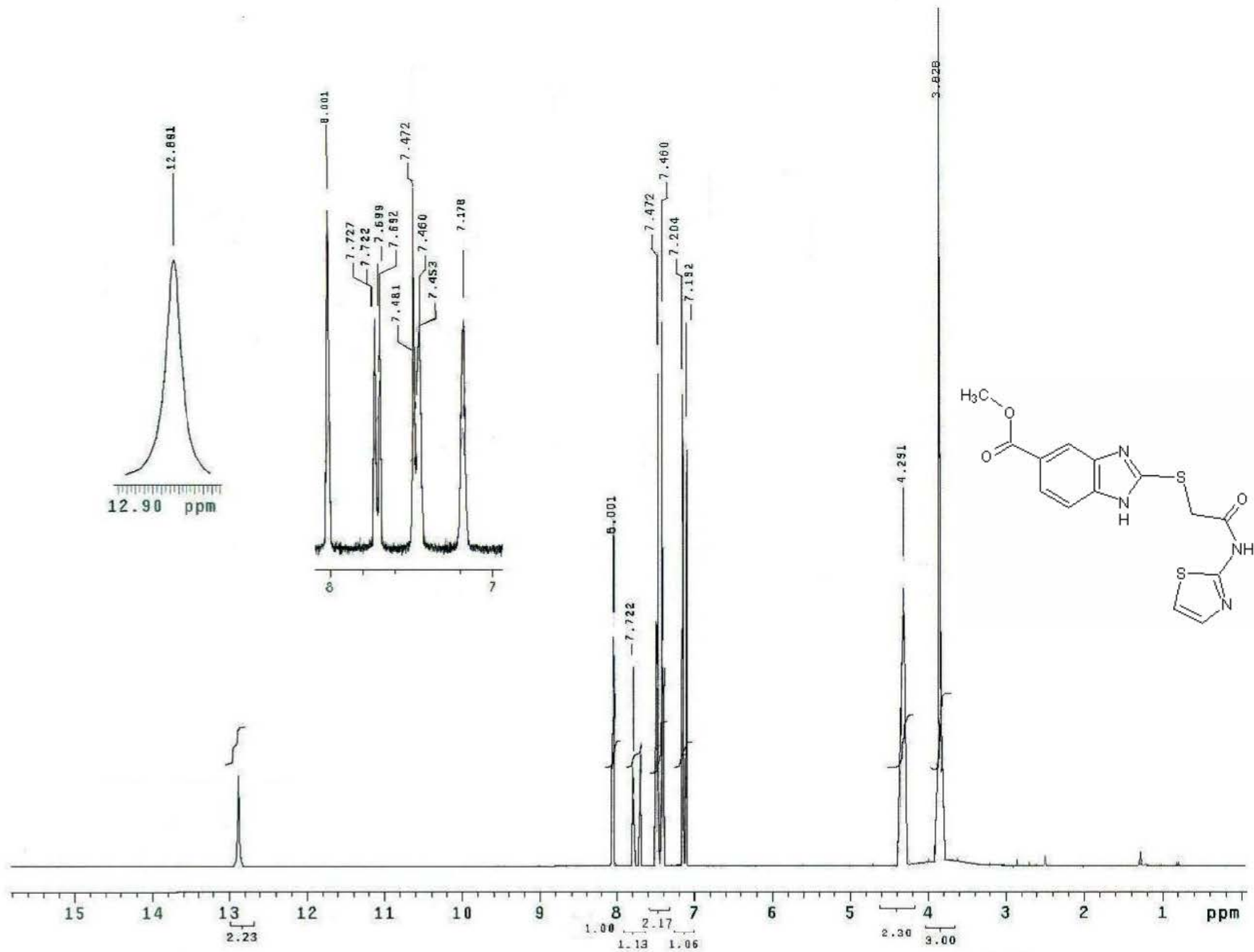
Espectro 17: RMN ^1H 2-Cloro-*N*-(1,3-tiazol-2-il)acetamida (9a)



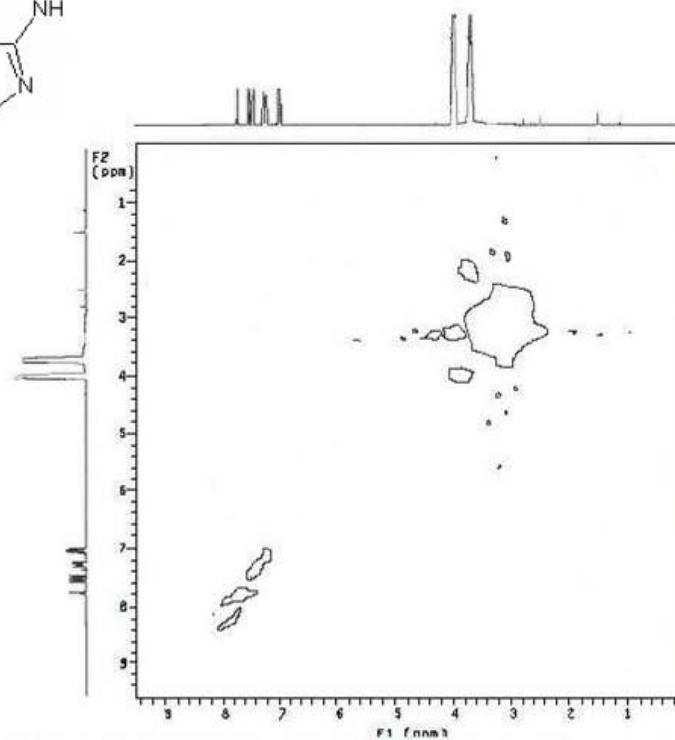
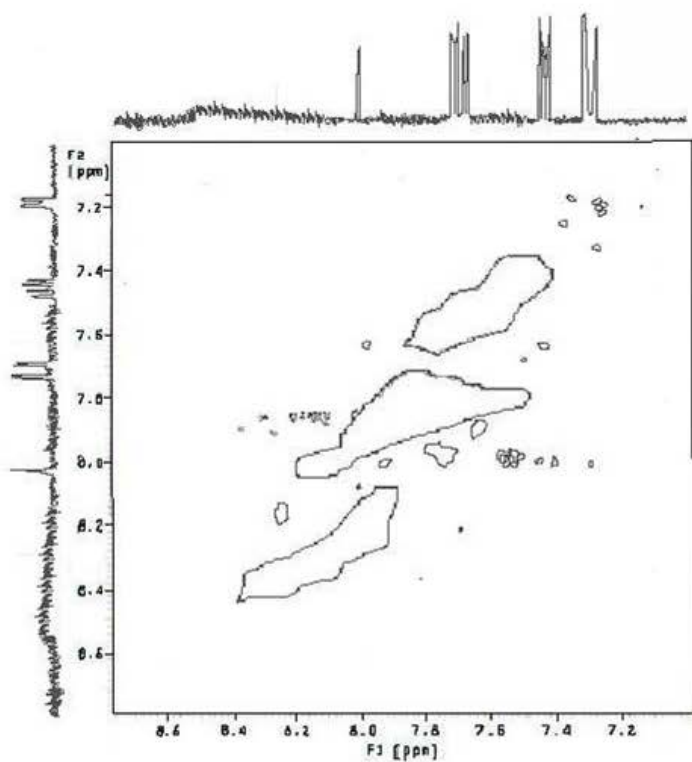
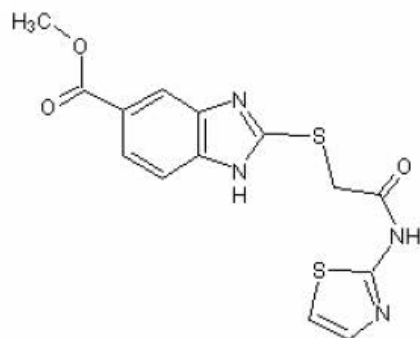
Espectro 18: IR (KBr) 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio]-1 H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a)



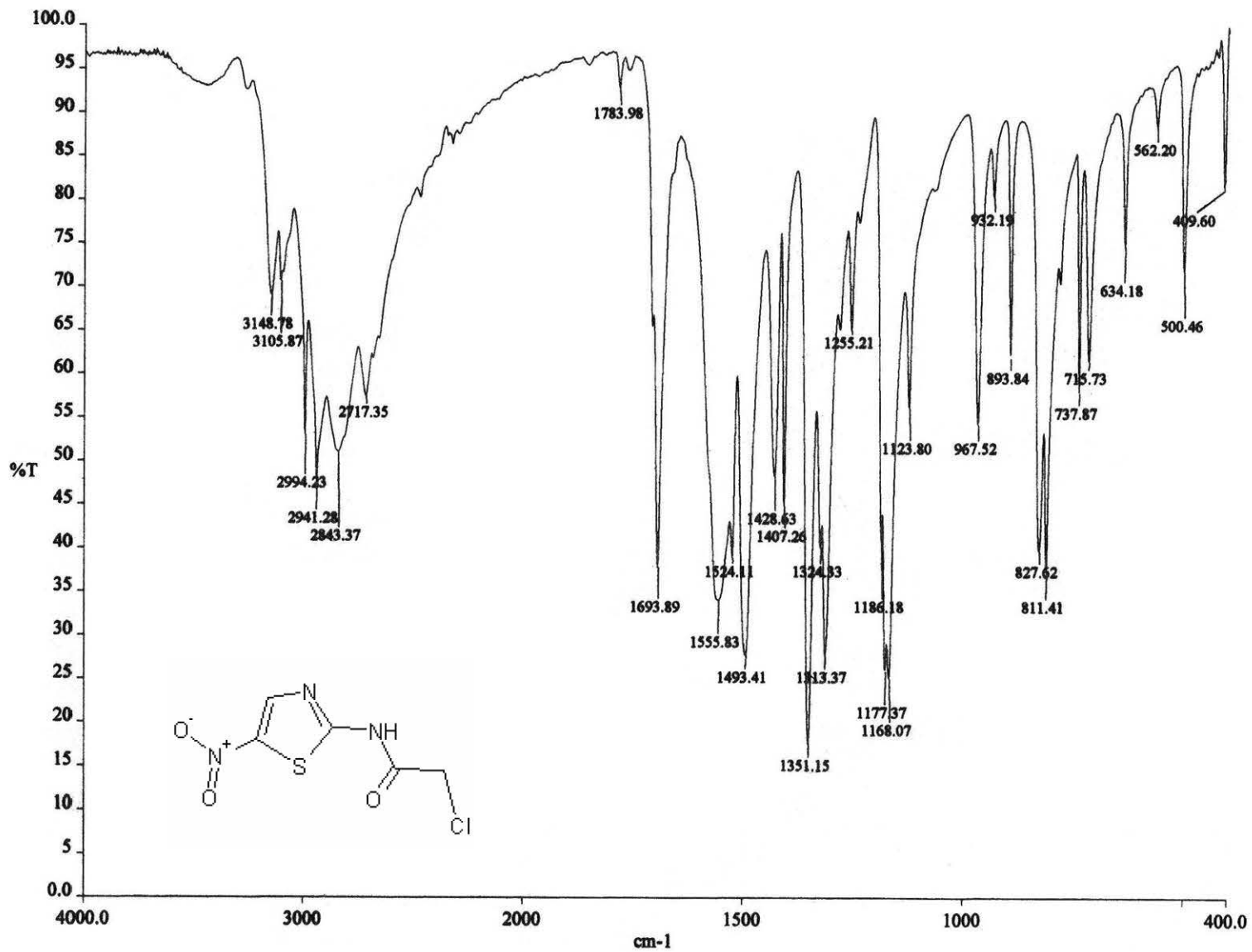
Espectro 19: EM (FAB+) 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio]-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a)



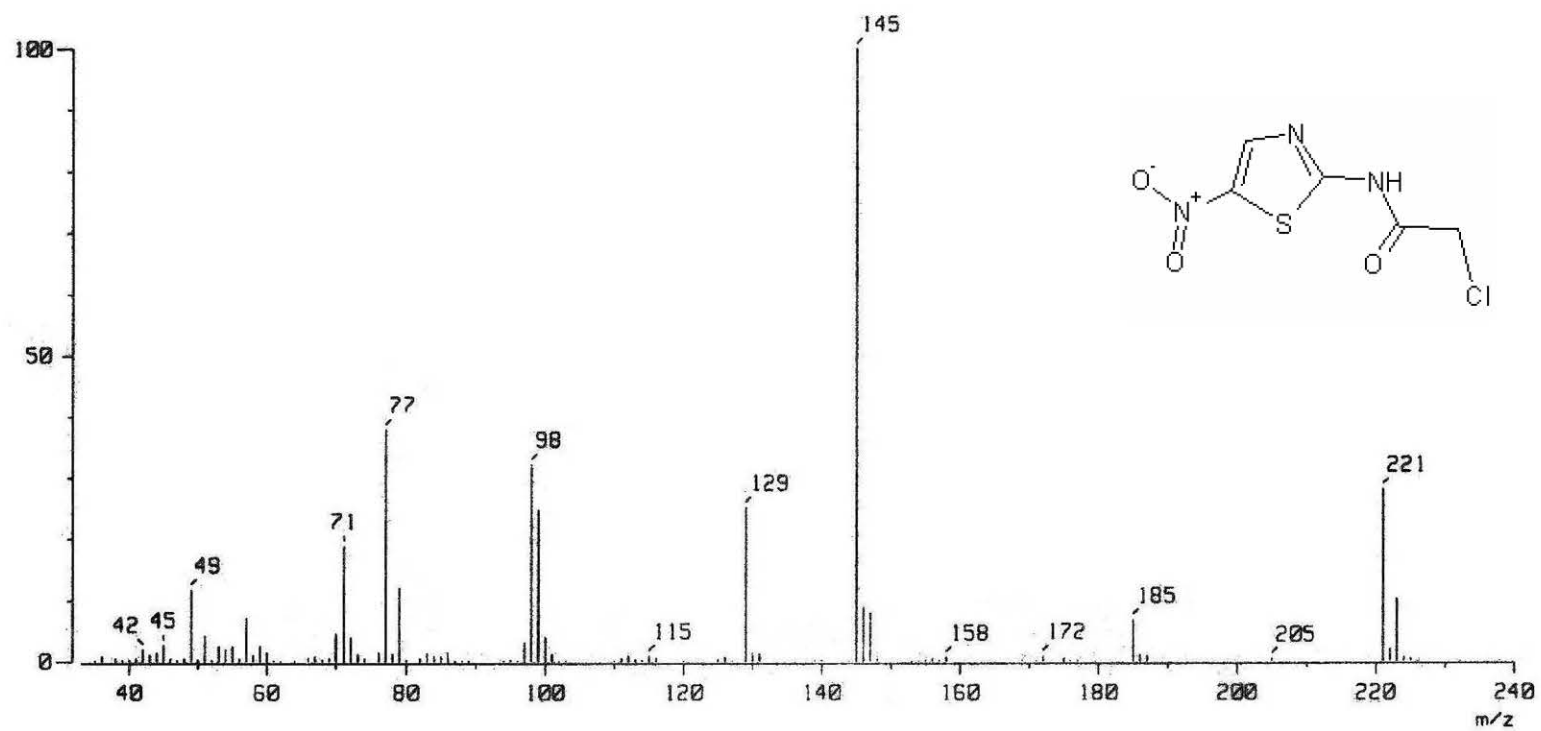
Espectro 20: RMN ^1H 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio]-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a)



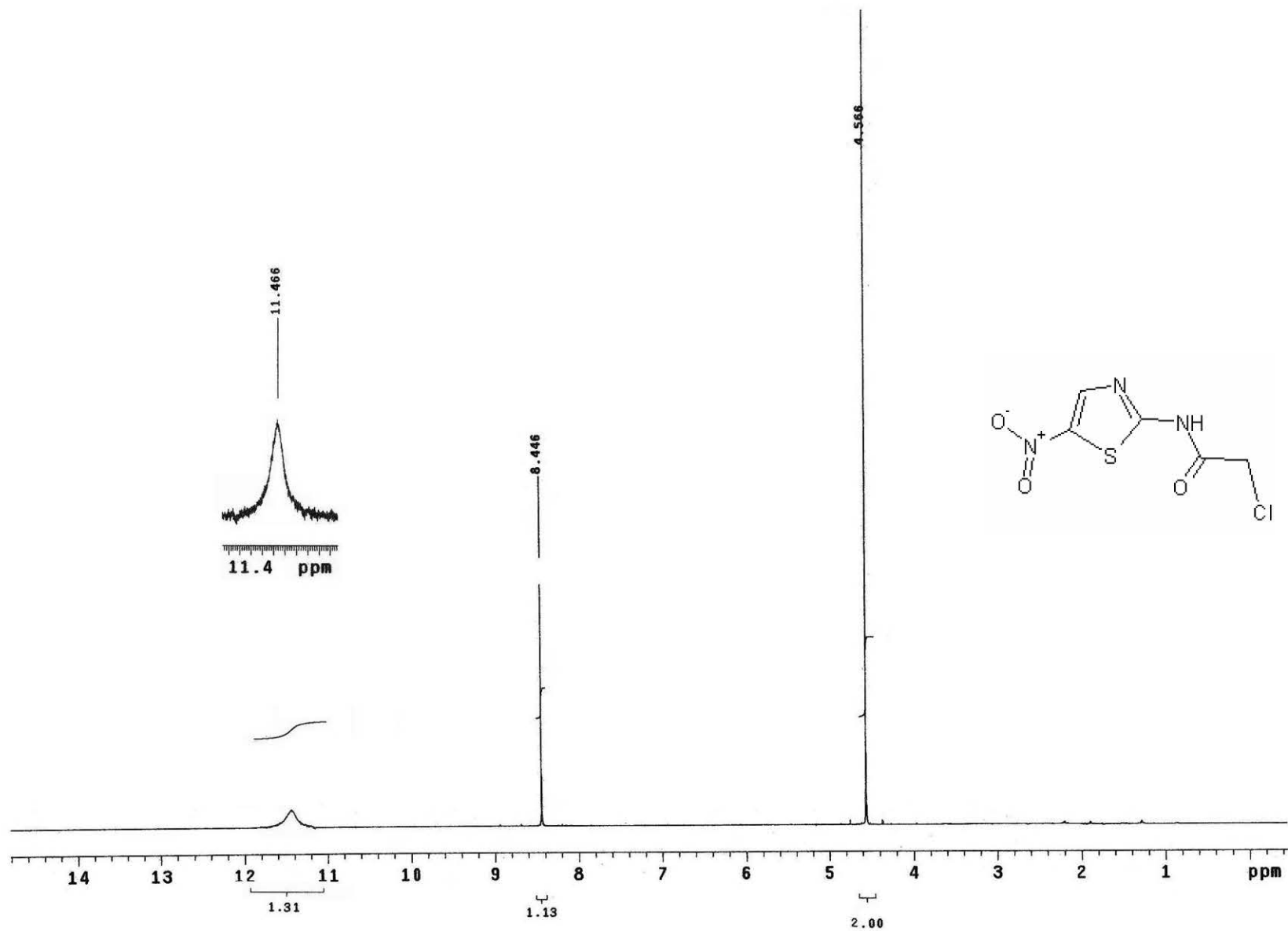
Espectro 21: NOESY 2-[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-2-ilamino)etil]tio]-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10a)



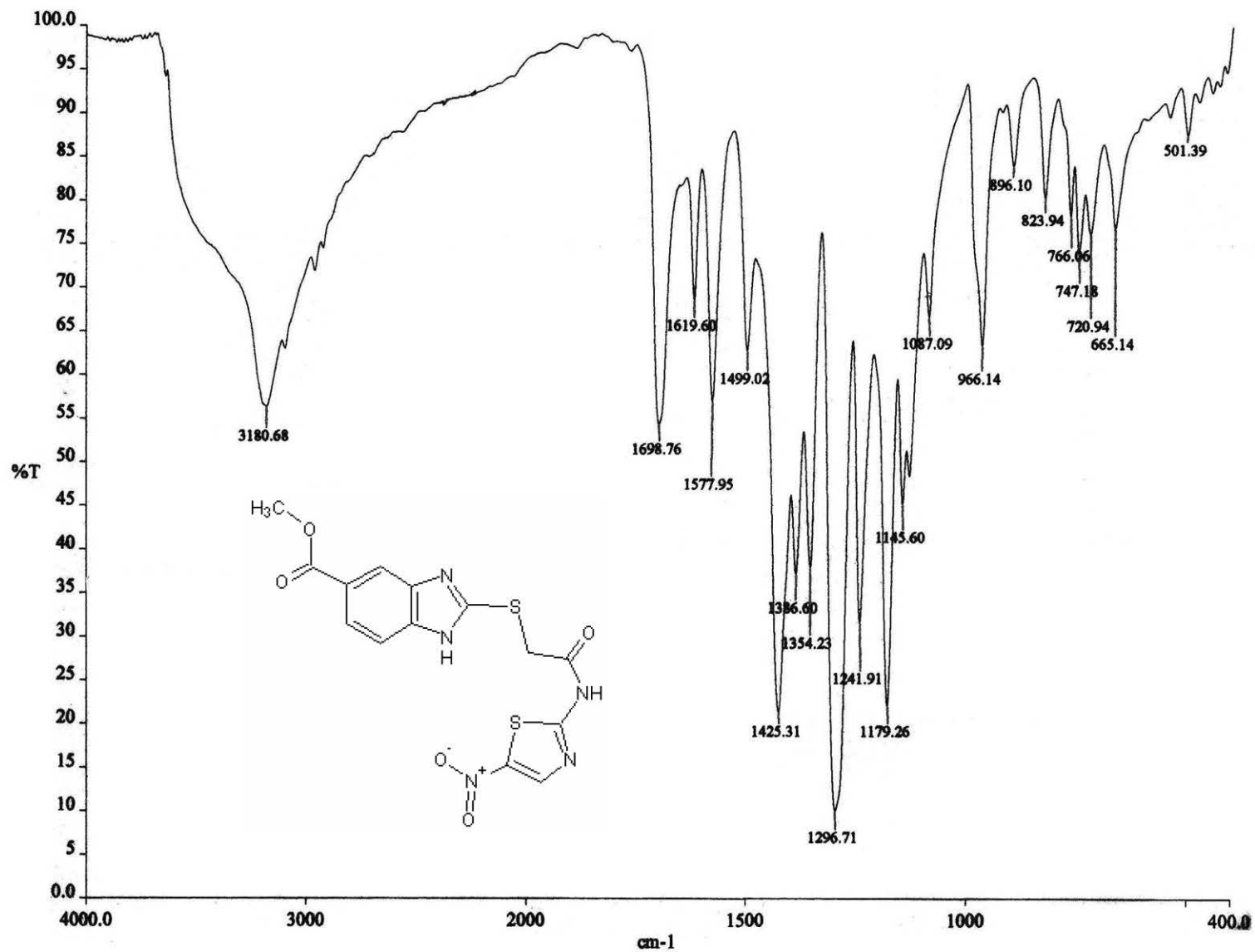
Espectro 22: IR (KBr) 2-Cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)



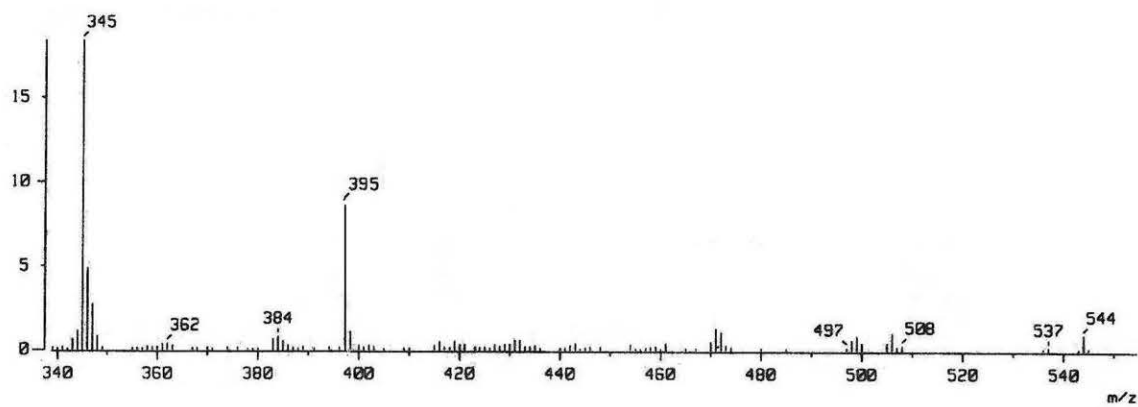
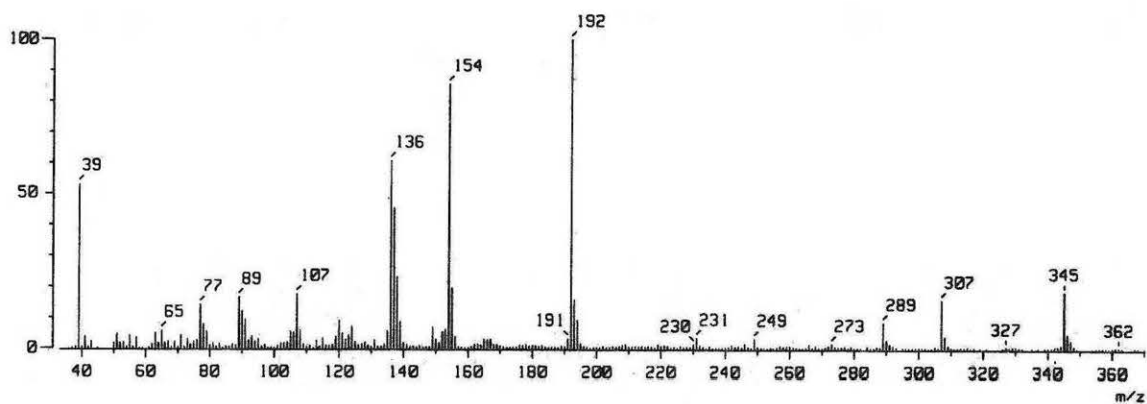
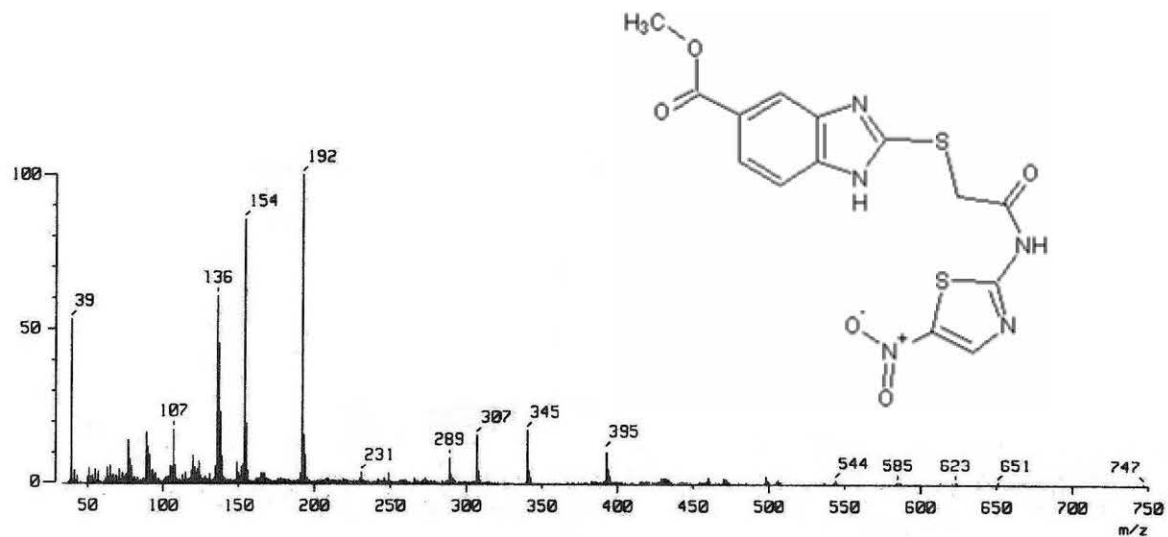
Espectro 23: EM (GC) 2-Cloro- *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)



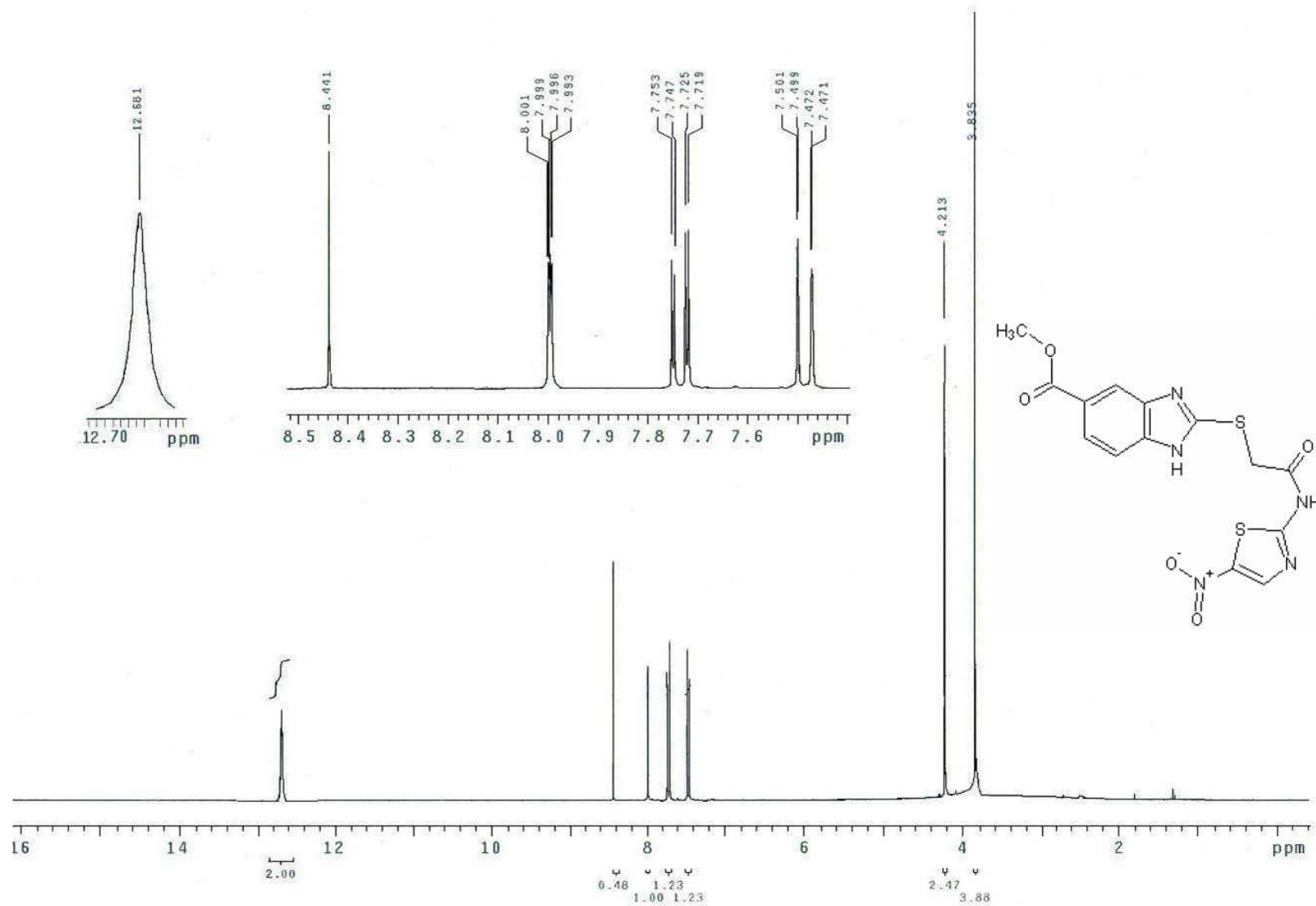
Espectro 24: RMN ^1H 2-Cloro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)acetamida (9b)



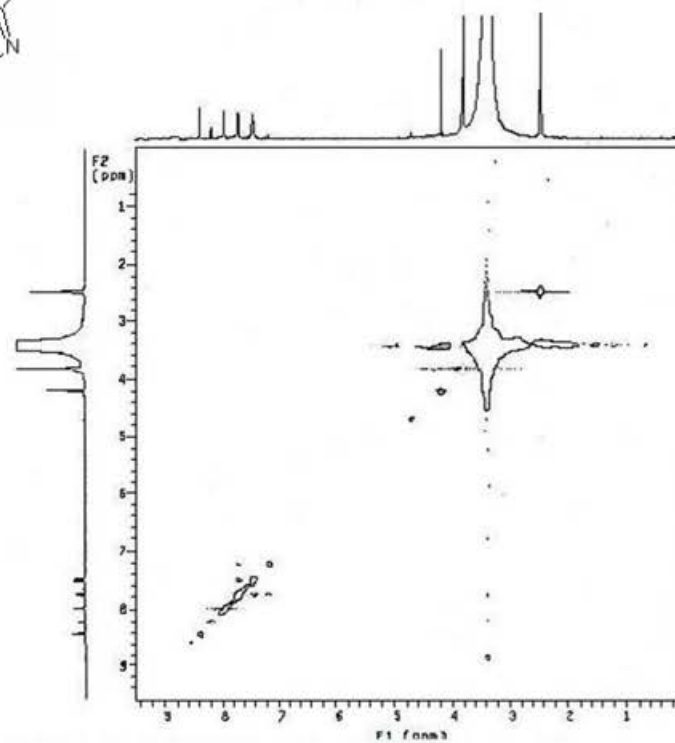
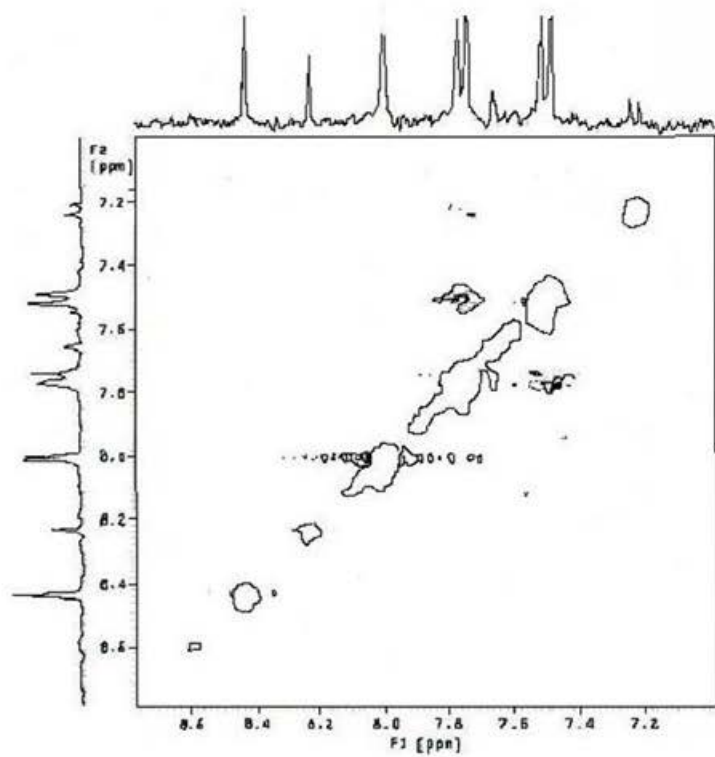
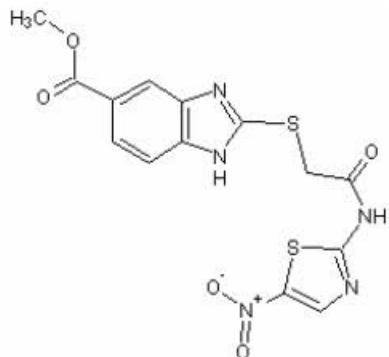
Espectro 25: IR (KBr) 2[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio]-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b)



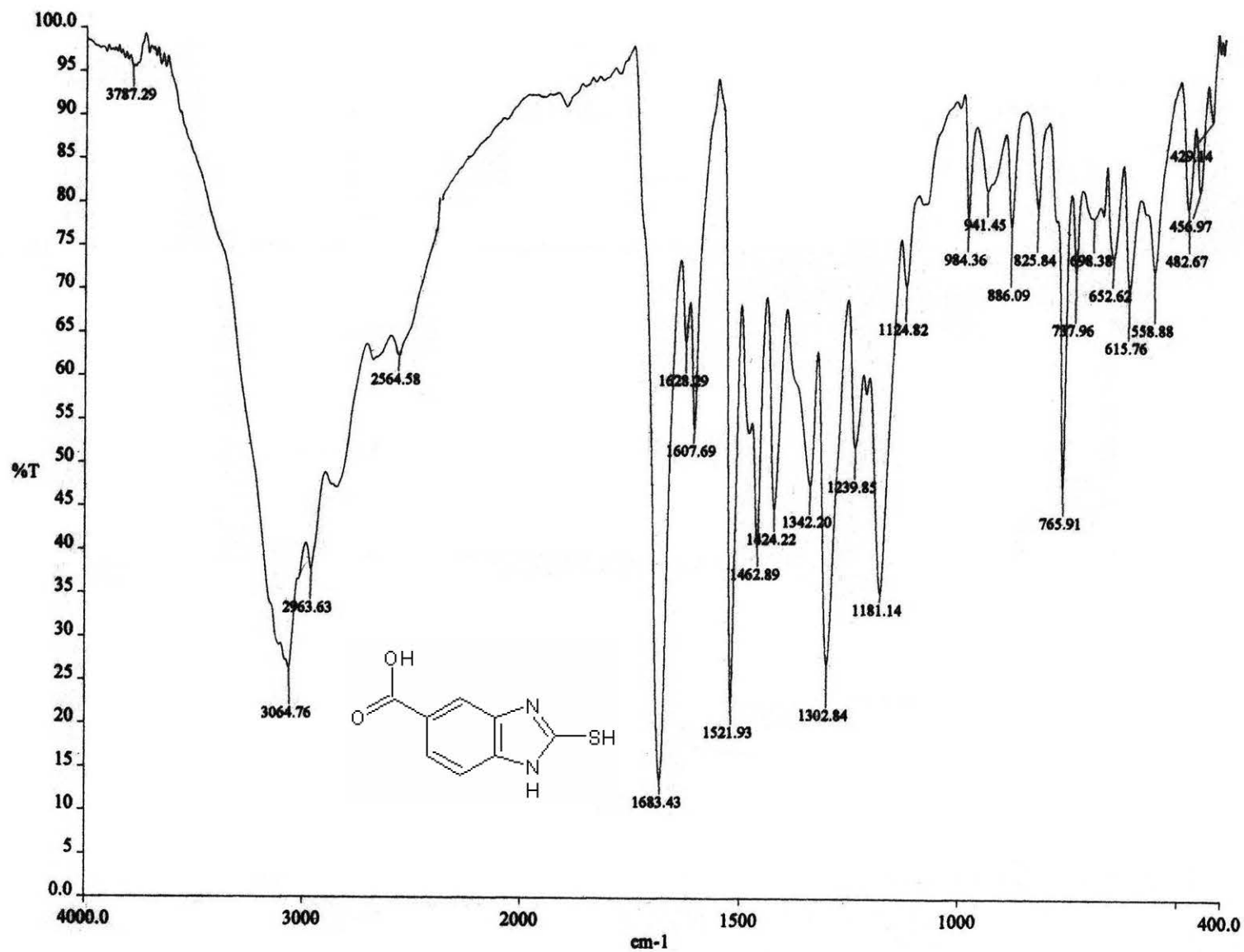
Espectro 26: EM (FAB+) 2[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio]-1H-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b)



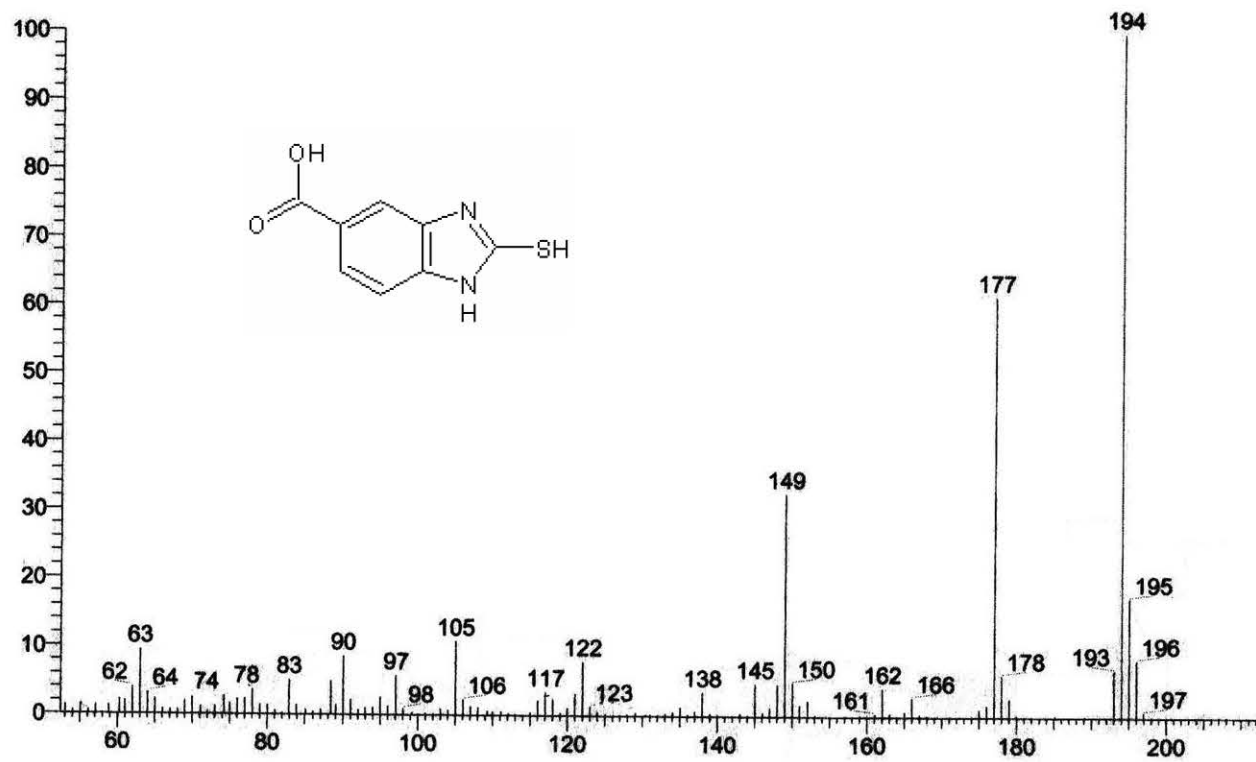
Espectro 27: RMN ^1H 2[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio]-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b)



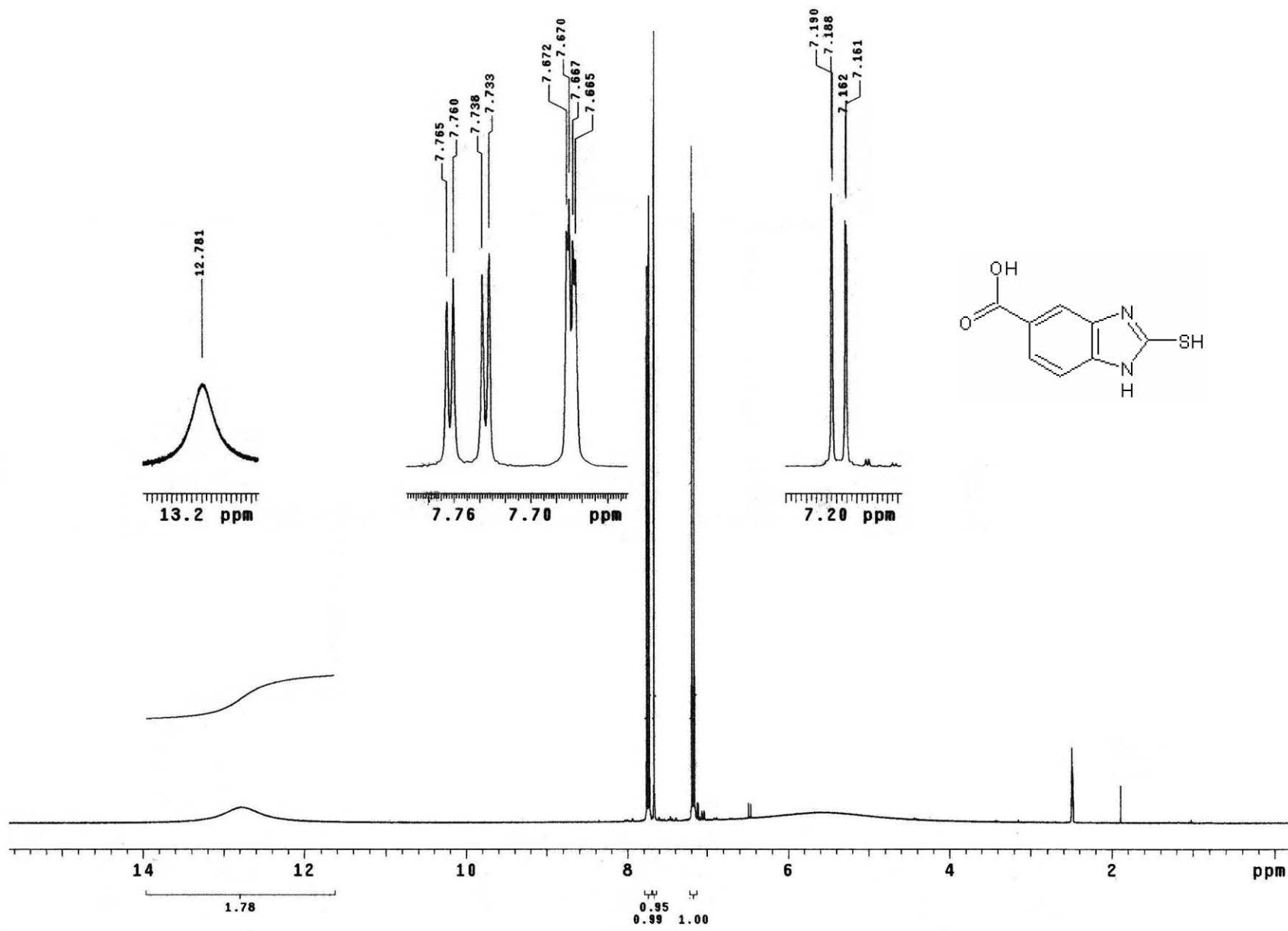
Espectro 28: NOESY 2[[2-oxo-2-(1,3-tiazol-5-nitro-2-ilamino)etil]tio]-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxilato de metilo (10b)

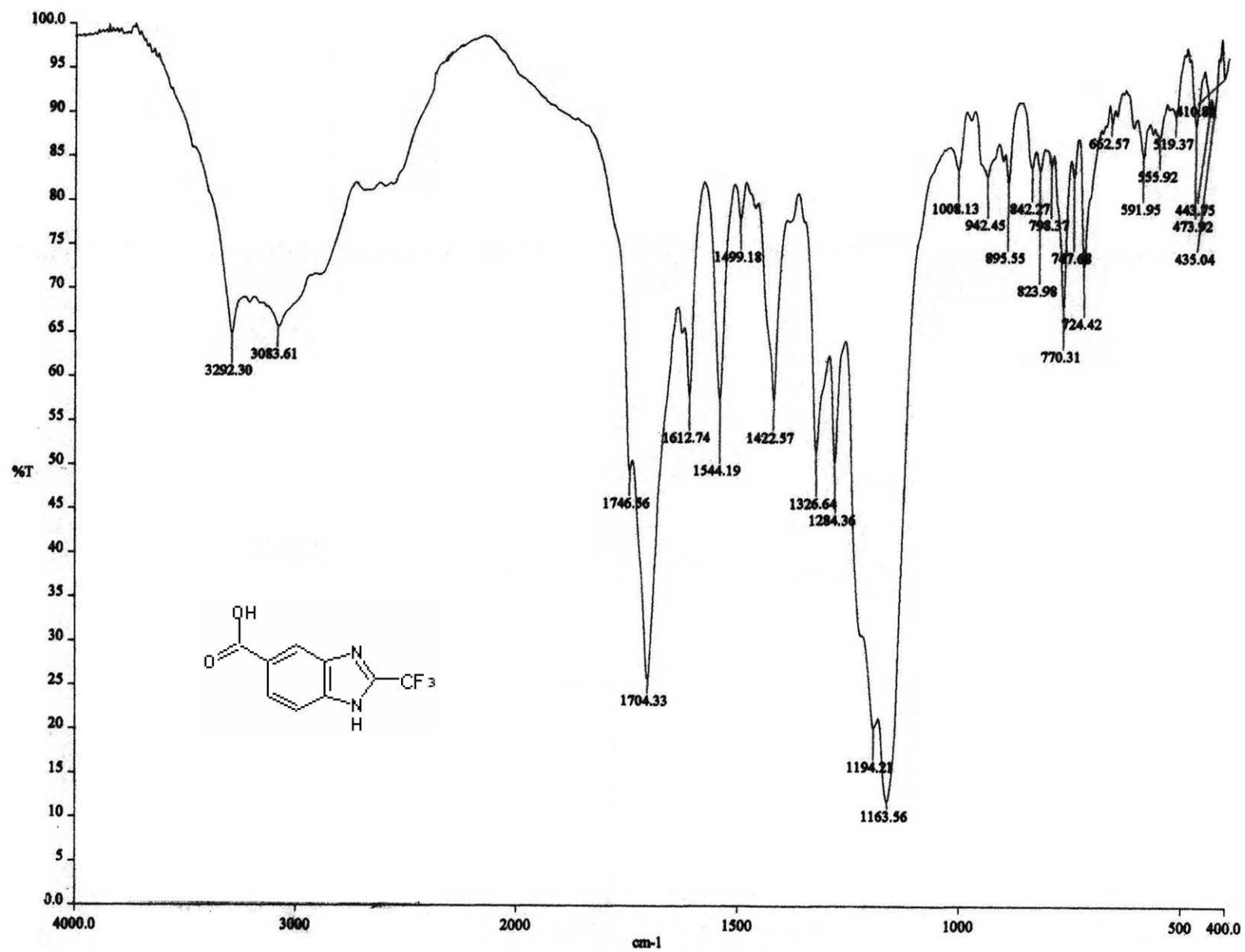


Espectro 29: IR (KBr) Ácido 2-mercapto-1H-benzimidazol-5(6)-carboxílico (12)

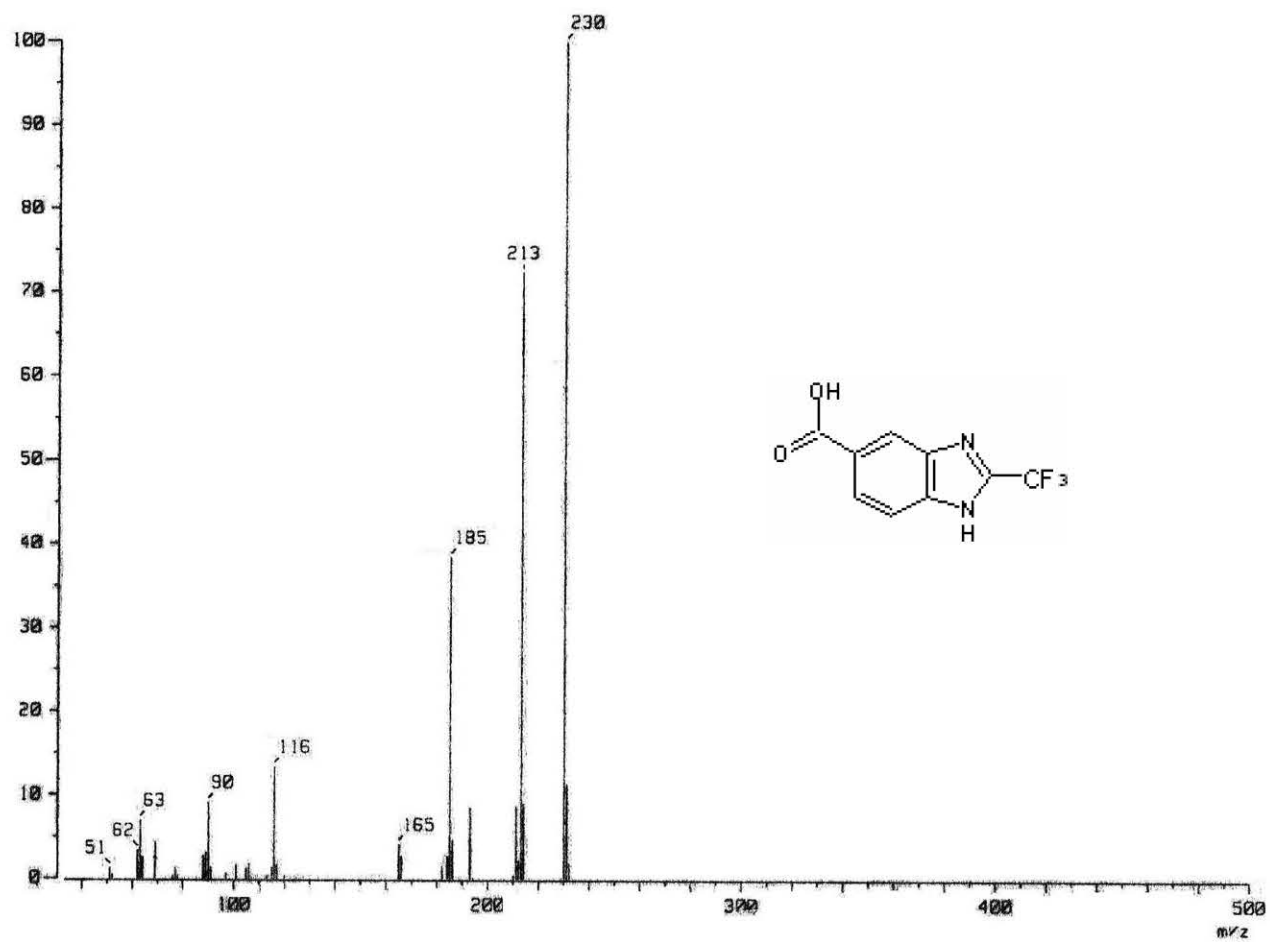


Espectro 30: EM (IE) Ácido 2-mercapto-1H-benzimidazol-5(6)-carboxílico (12)

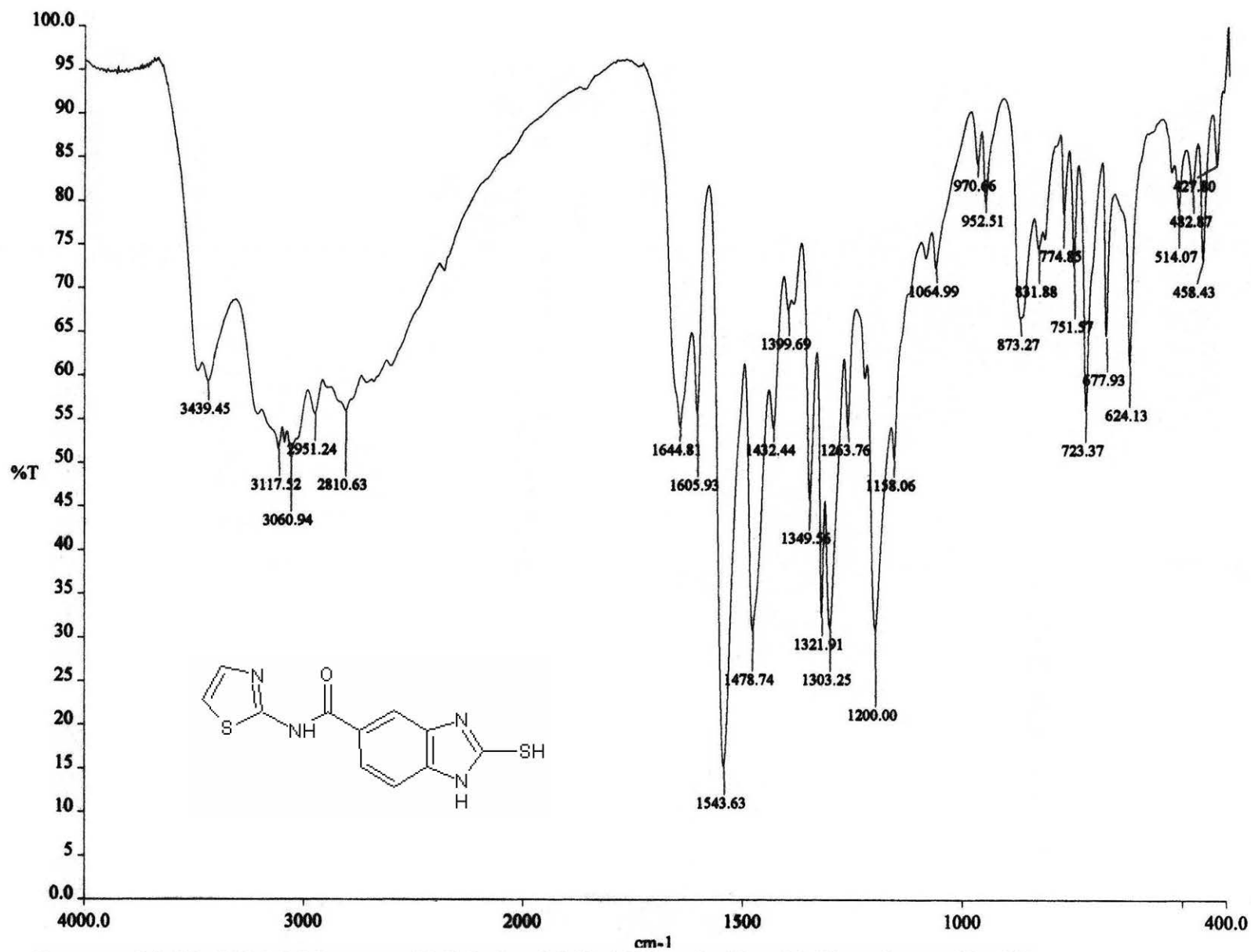
Espectro 31: RMN ^1H Ácido 2-mercapto-1H-benzimidazol-5(6)-carboxílico (12)



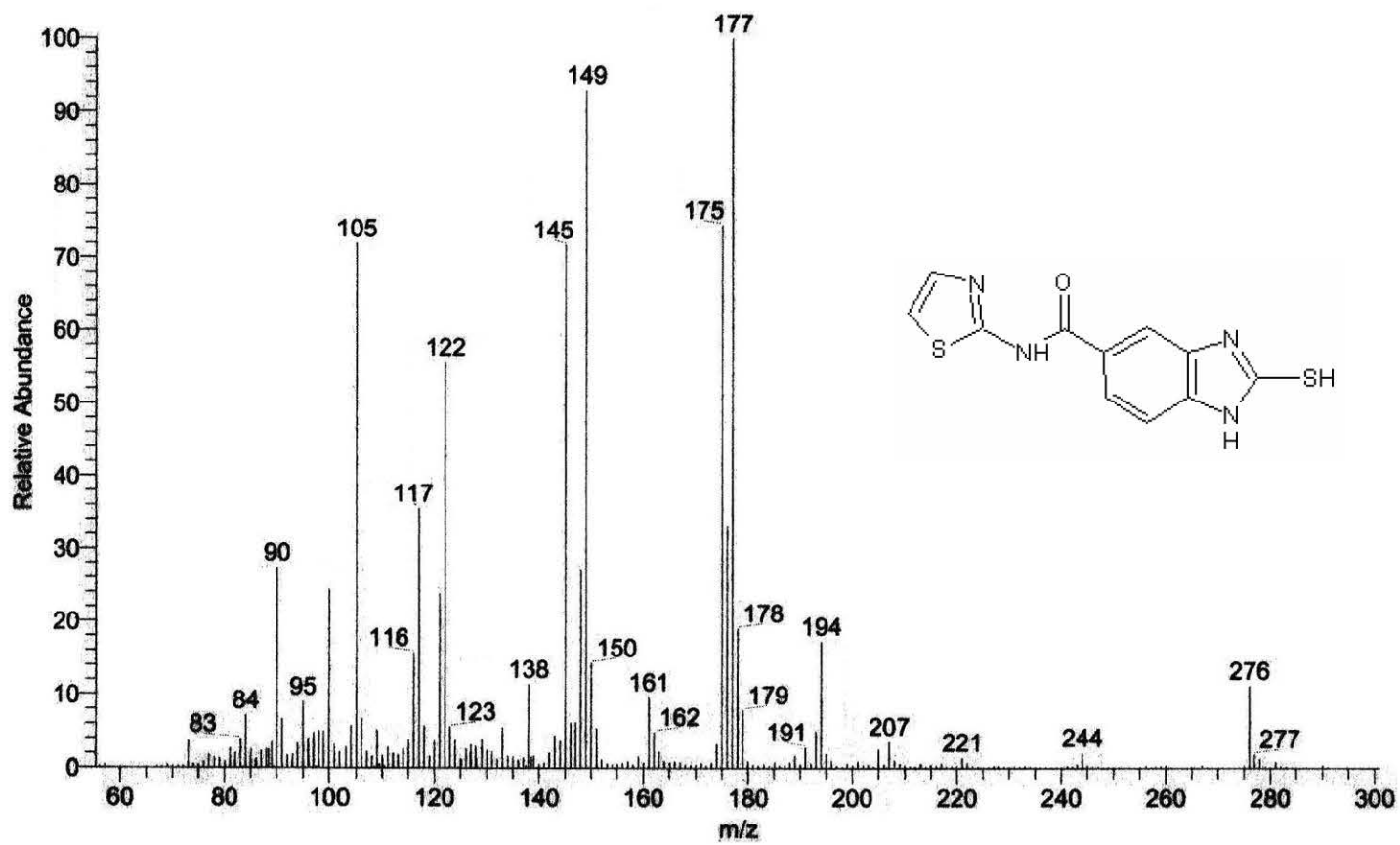
Espectro 32: IR (KBr) Ácido 2-trifluorometil-1H-benzimidazol-5(6)-carboxílico (17)



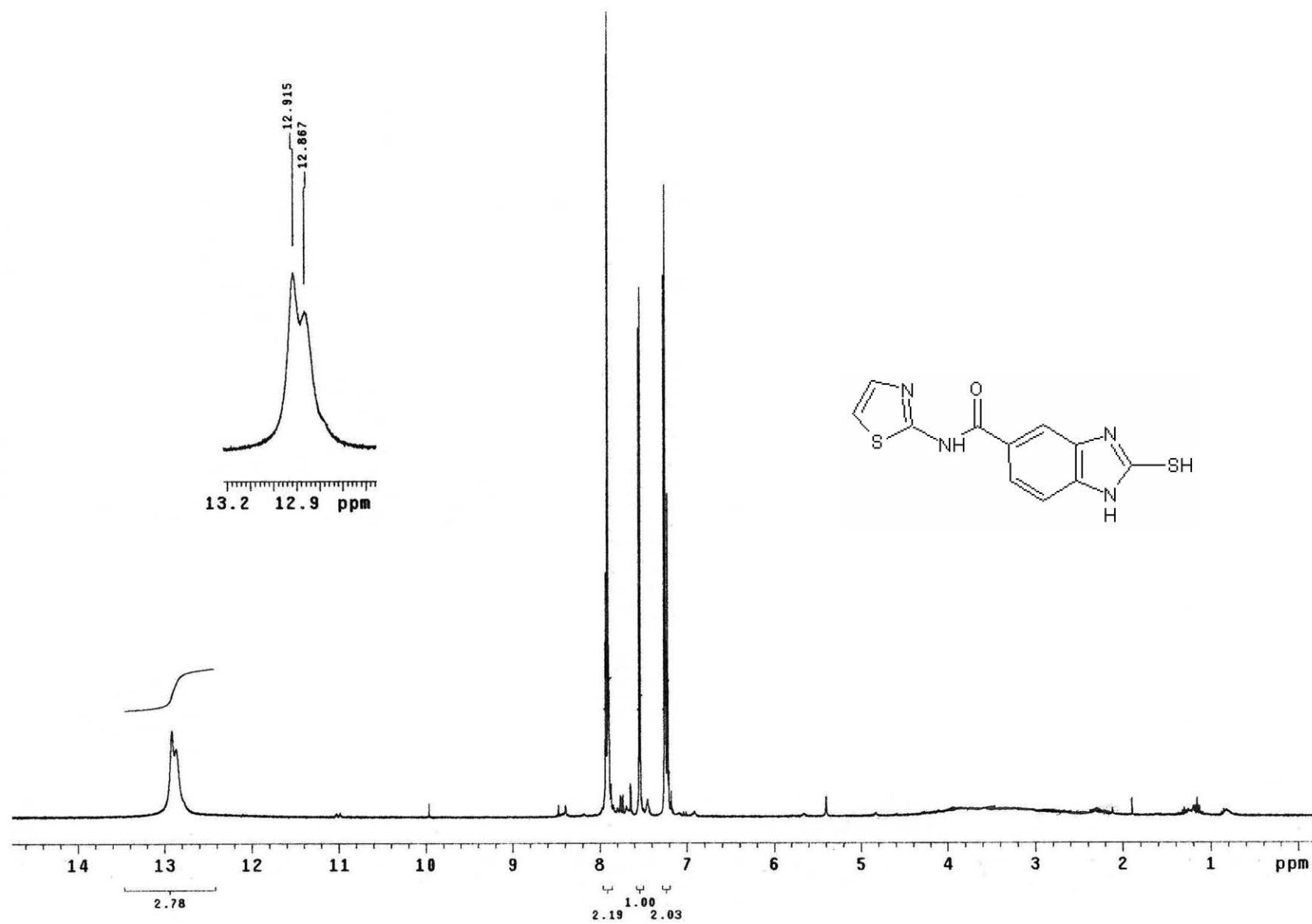
Espectro 33: EM (GC) Ácido 2-trifluorometil-1H-bencimidazol-5(6)-carboxílico (17)



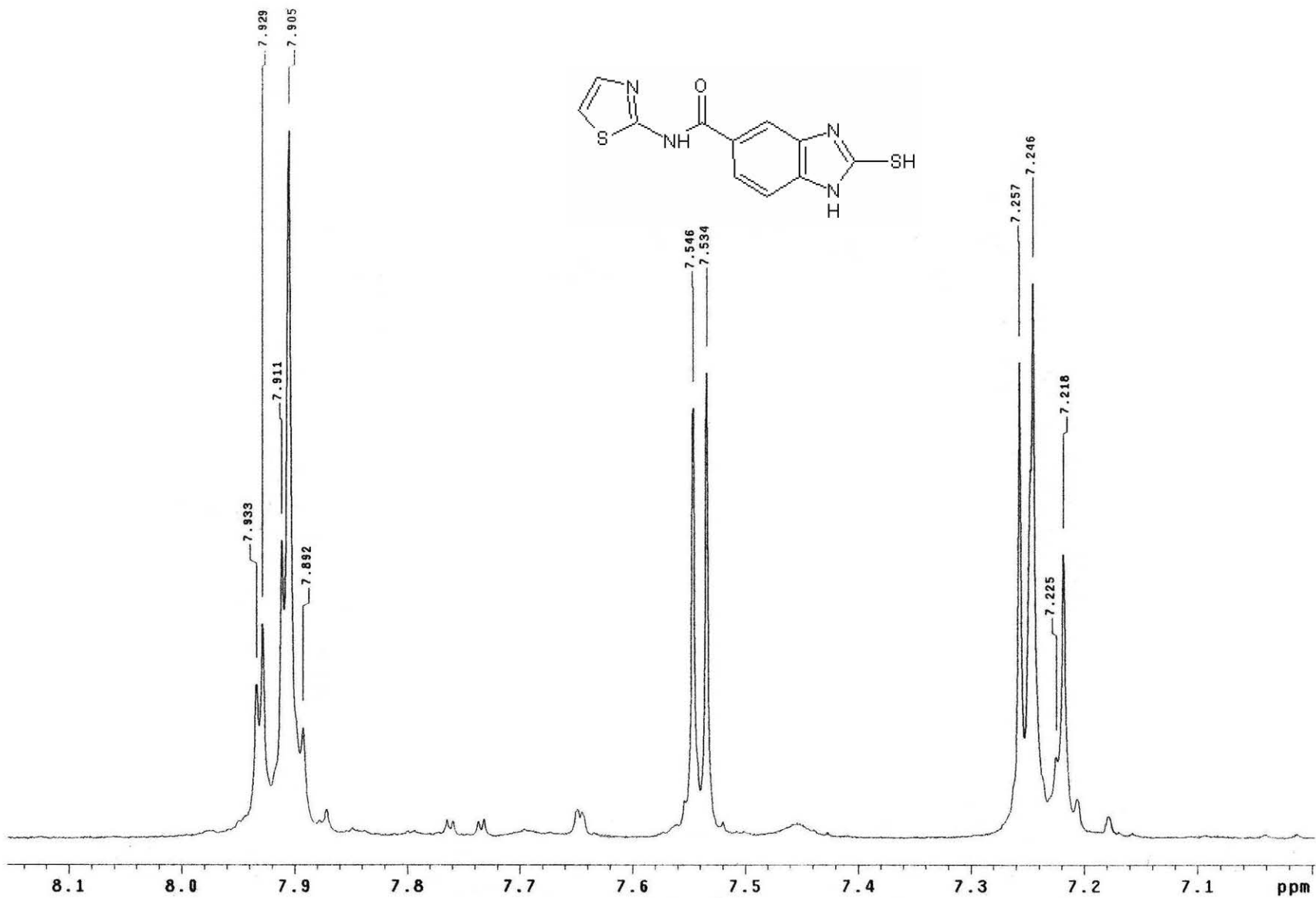
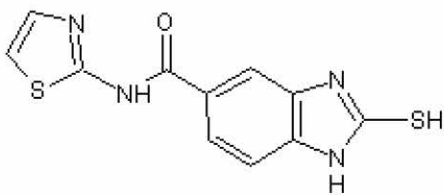
Espectro 34: IR (KBr) 2-Mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19)



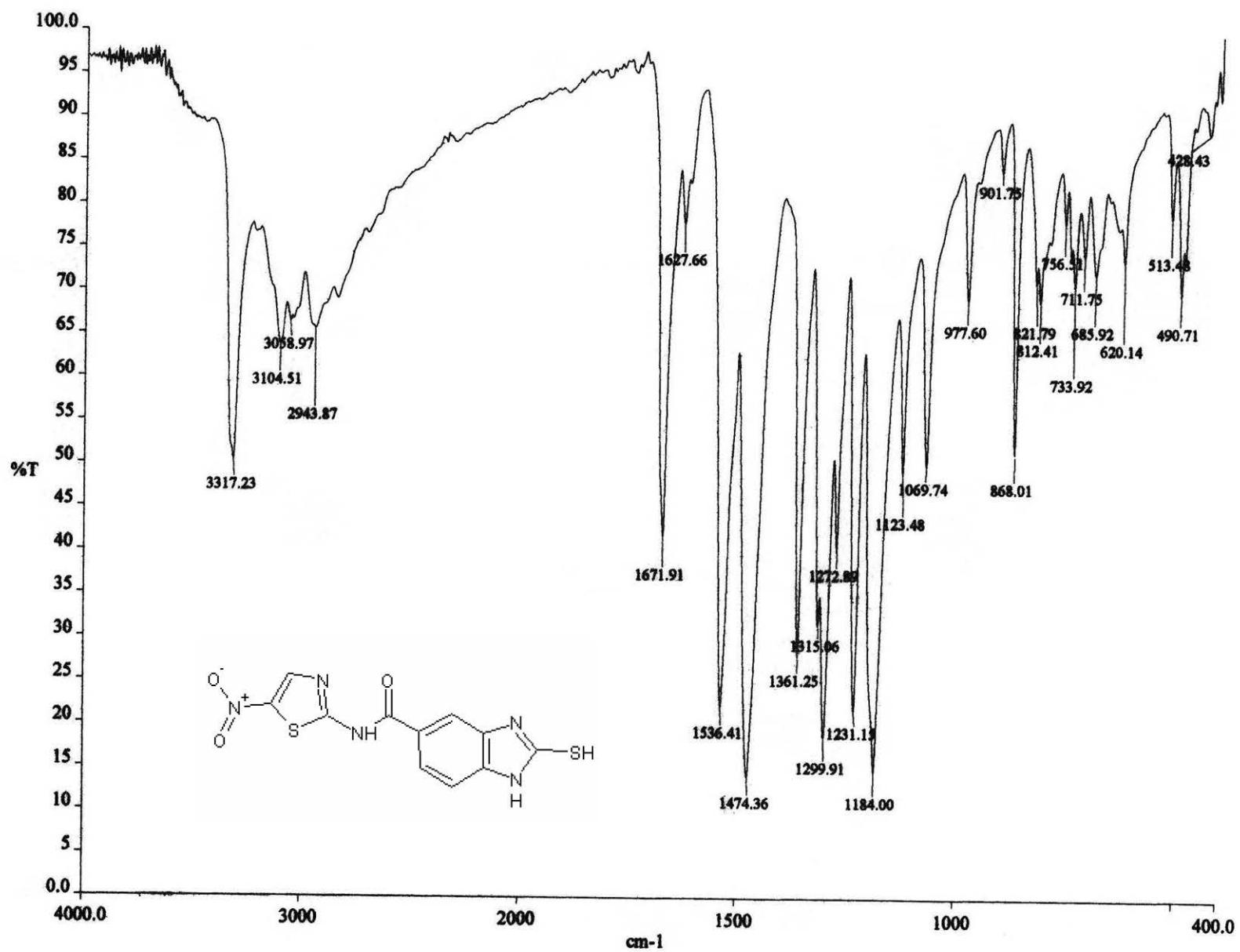
Espectro 35: EM (EI) 2-Mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19)



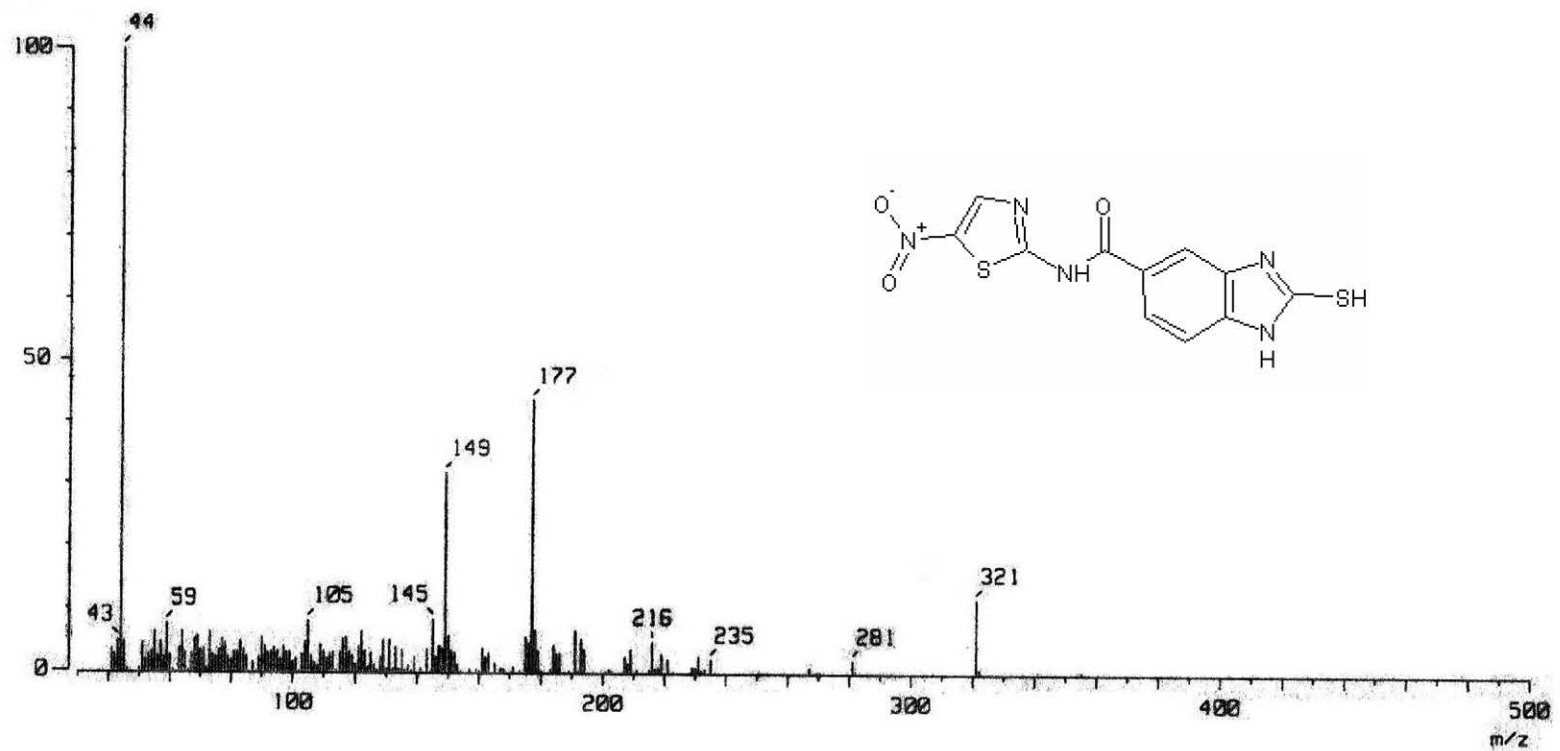
Espectro 36: RMN ^1H 2-Mercapto-*N*-(1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19)



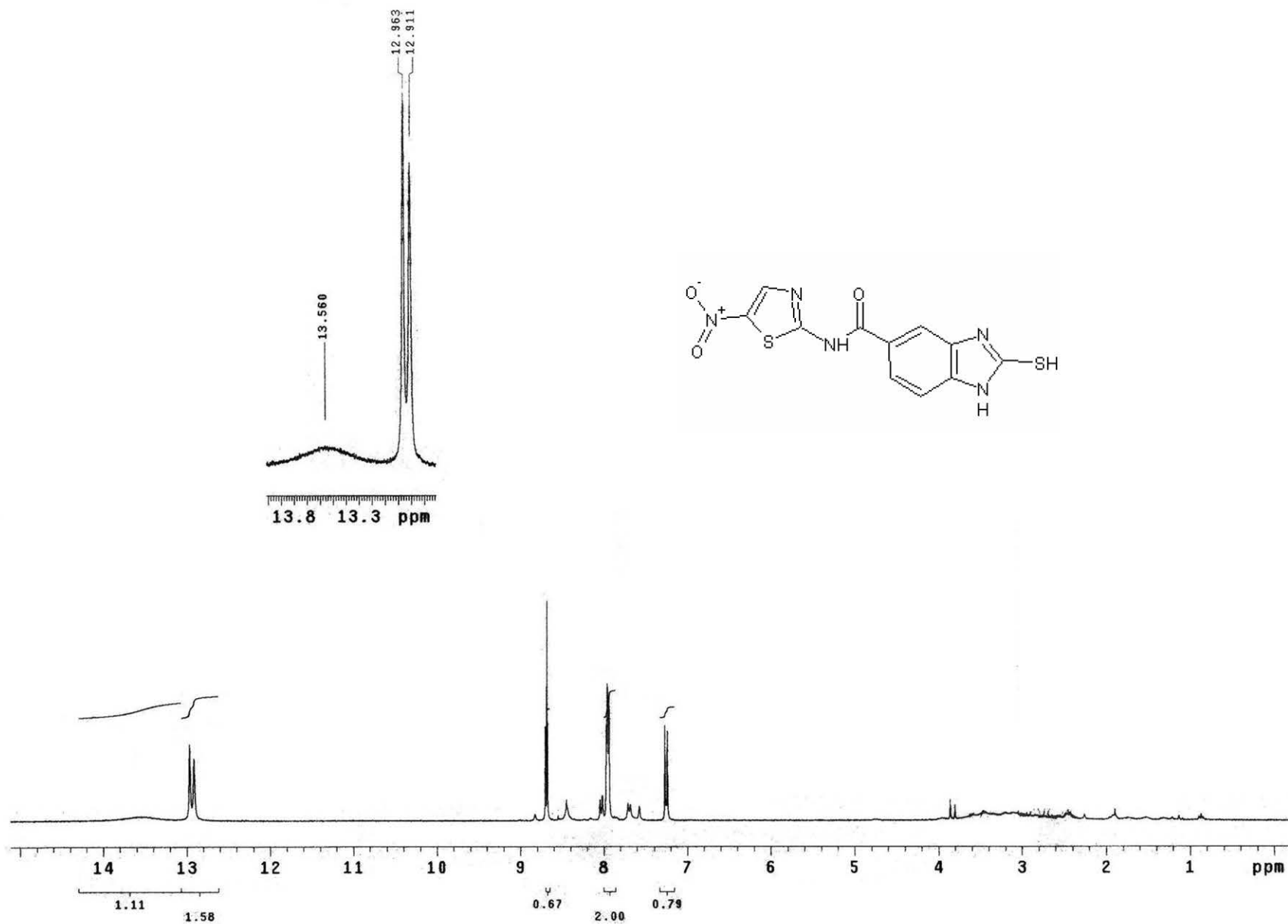
Espectro 37: Expansión de la RMN ¹H 2-Mercapto-N-(1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (19)



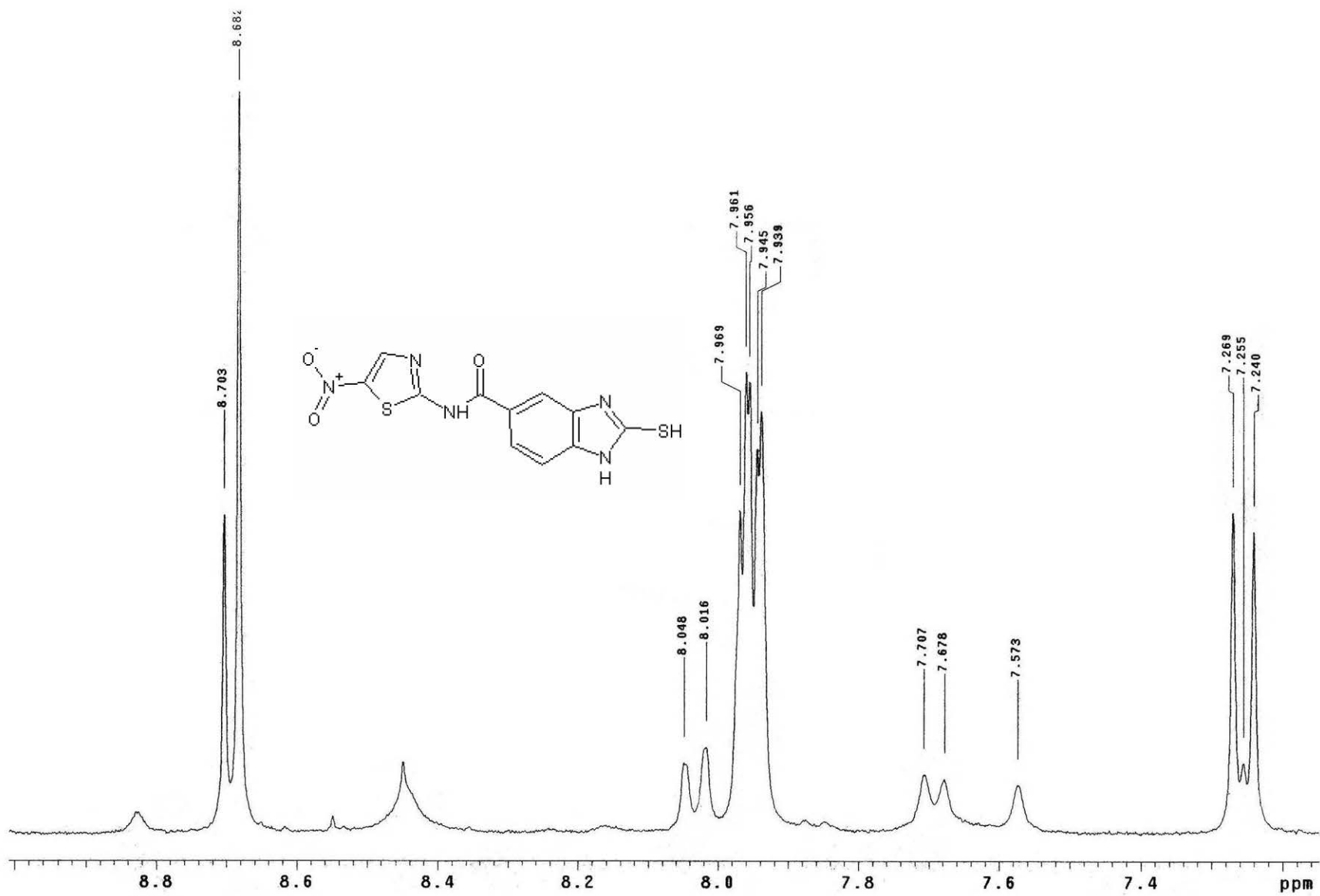
Espectro 38: IR (KBr) 2-Mercapto- *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)



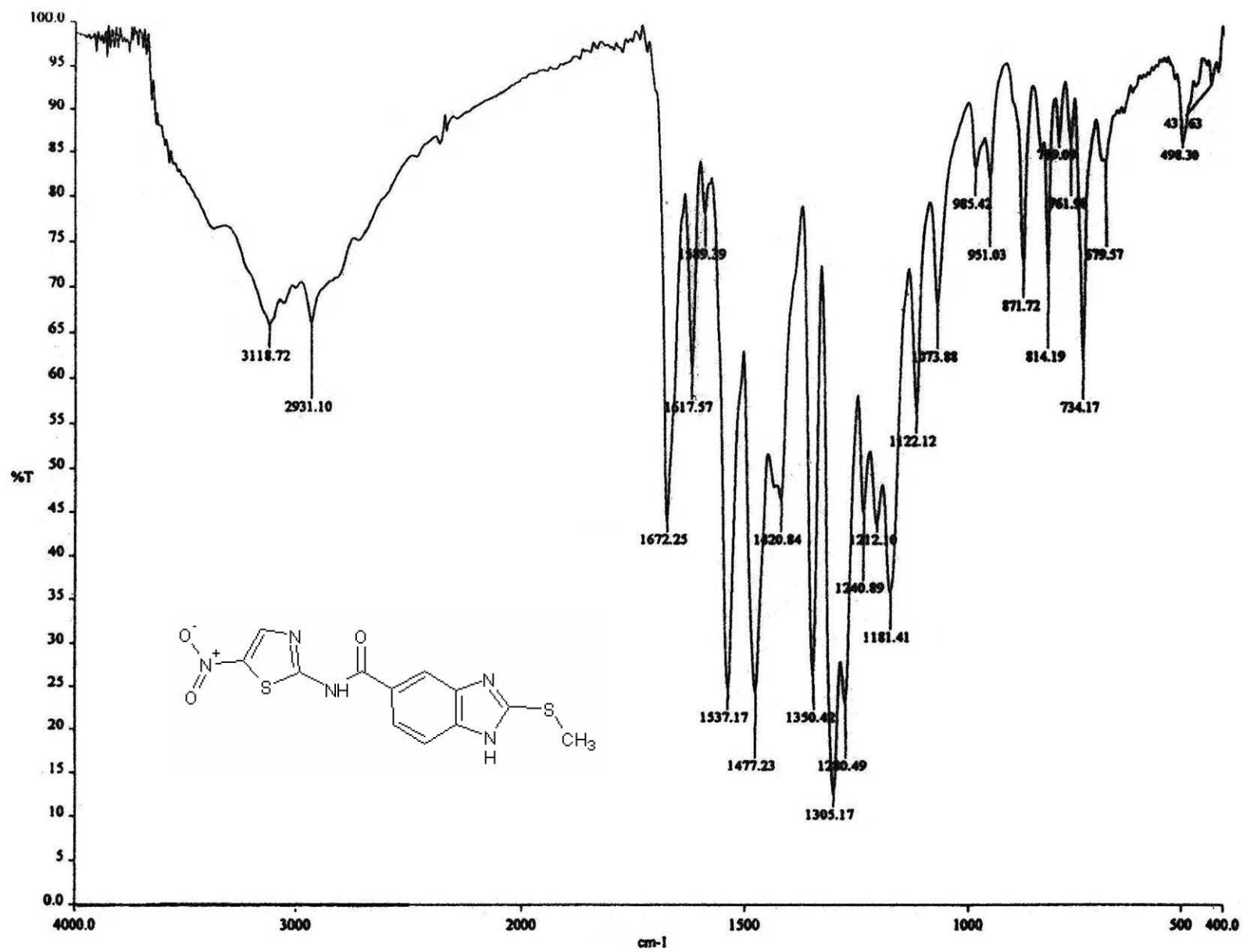
Espectro 39: EM (EI) 2-Mercapto- *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)



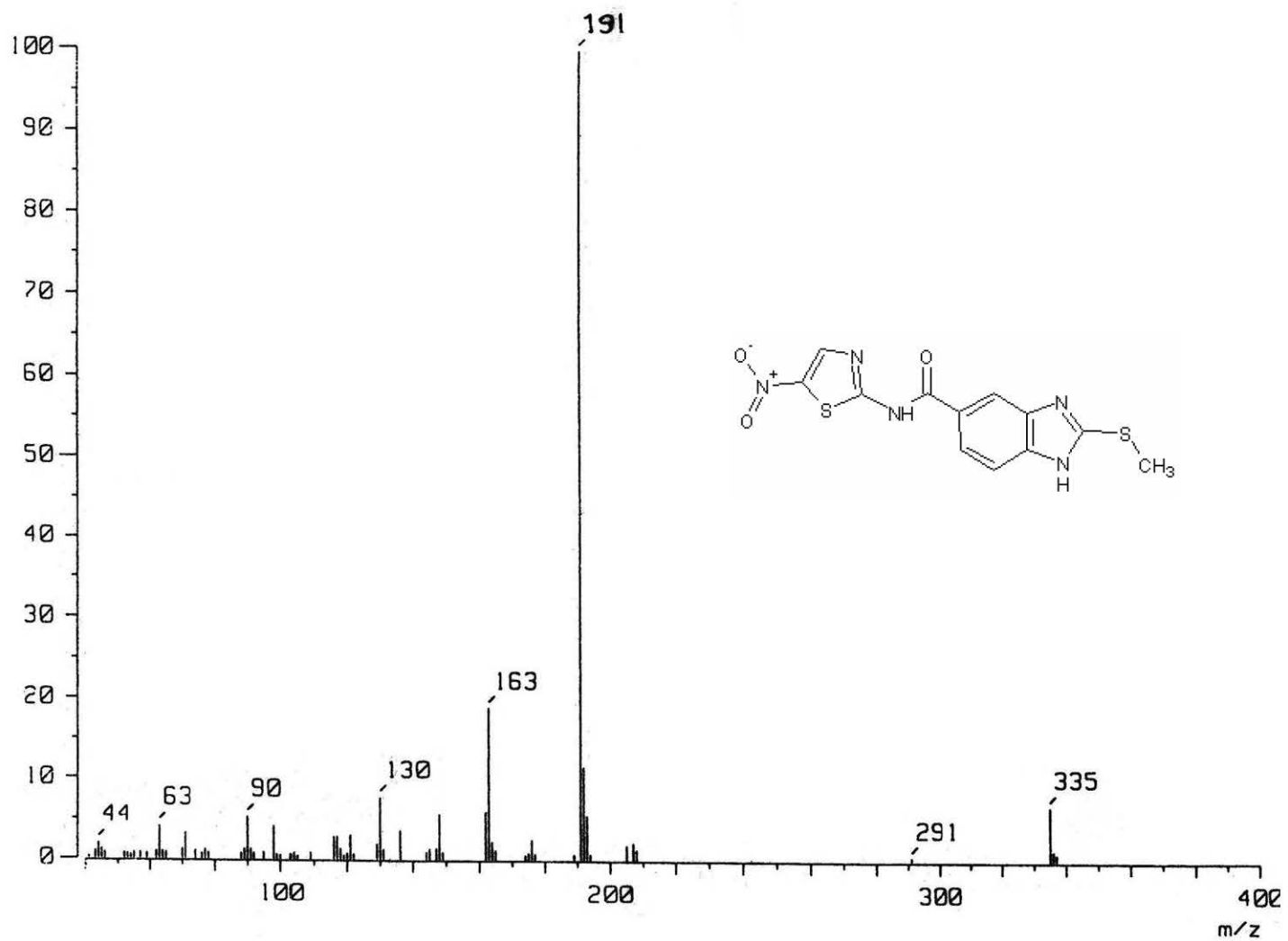
Espectro 40: RMN ¹H 2-Mercapto- *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)



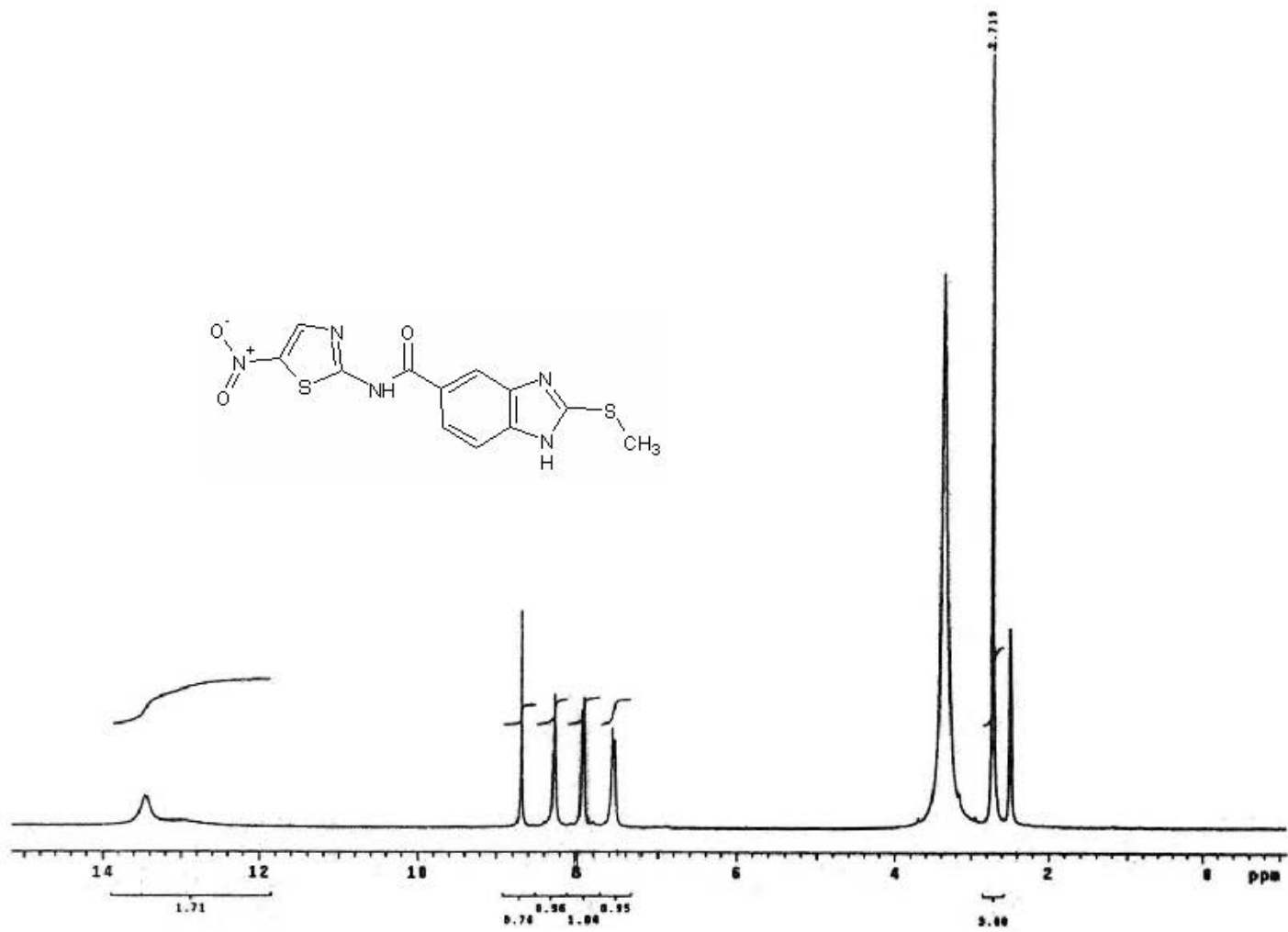
Espectro 41: Expansión de la RMN ^1H 2-Mercapto-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (61)



Espectro 42: IR (KBr) 2-(Metilitio)- N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 H-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)



Espectro 43: EM (EI) 2-(Metiltio)- *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 *H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)



Espectro 44: RMN ¹H 2-(Metiltio)-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5(6)-carboxamida (VMAS-62)