



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“SÍNTESIS DE DERIVADOS DEL ÁCIDO 2-  
METIL-1H-BENCIMIDAZOL-5-CARBOXILICO  
COMO AGENTES DE ACCIÓN  
ANTIPARASITARIA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA:**

**MARIANA LIZBETH DIAZ SANCHEZ**

**Ciudad Universitaria, México D.F.**

**2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES .....	2
2.1 Epidemiología de la Enfermedad de Chagas.....	2
2.1.1 El Parásito .....	5
2.1.2 Ciclo de vida y transmisión .....	7
2.1.3 Cuadro clínico de la Enfermedad de Chagas.....	9
2.1.4 Tratamiento .....	10
2.2 Derivados del Bencimidazol: Compuestos Biológicamente Activos.....	12
2.2.1 Antiprotozoario/ Antiparasitario.....	12
2.2.2. Métodos de Síntesis de derivados del bencimidazol.....	13
2.2.2.1 Síntesis de Bencimidazoles por el Método Phillips.....	14
2.2.2.2 Síntesis de Bencimidazoles a partir de <i>N</i> -acil y <i>N, N'</i> -diacil- <i>o</i> -feniléndiamina.....	15
2.2.2.3 Síntesis de Bencimidazoles a partir de bases de Schiff.....	16
2.2.2.4 Métodos de Síntesis de Carboxamidas.....	16
2.2.2.4.1 Vía cloruros de acilo.....	16
2.2.2.4.2 Vía Esteres.....	17
2.2.2.4.3 Vía agentes acoplantes.....	17
2.3 Modificación Molecular.....	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	21
4. HIPÓTESIS.....	21
4.1 Consideraciones para el diseño.....	21

5. OBJETIVOS .....	21
5.1 Objetivo General.....	21
5.2 Objetivos Específicos.....	22
6. METODOLOGIA .....	23
6.1 Parte Química.....	23
6.2 Parte Biológica .....	25
7. RESULTADOS .....	26
7.1 Parte Química.....	26
7.2 Parte Biológica.....	29
8. DISCUSIÓN.....	31
8.1 Parte Química.....	31
8.2 Parte Biológica.....	39
9. CONCLUSIONES.....	42
10. BIBLIOGRAFÍA.....	43
11. APENDICE I .....	45
11.1 Instrumentación.....	46
11.2 Cromatografía.....	46
11.3 Reactivos y disolventes.....	47
11.4 Metodologías y técnicas para la síntesis de Intermediarios y Compuestos finales.....	48
12. APENDICE II .....	55

## **JURADO ASIGNADO**

**Presidente:** PROF. FEDERICO JESÚS JIMÉNEZ CRUZ

**Vocal:** PROF. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS

**Secretario:** PROF. ELENA GUADALUPE RAMÍREZ LÓPEZ

**1er. Suplente:** PROF. OCTAVIO FUENTES RAMIREZ

**2do. Suplente:** PROF. NORMA CASTILLO RANGEL

El sitio donde se desarrolló el tema fue en el laboratorio 122 del Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

### **ASESOR:**

Dr. Francisco Hernández Luis

---

### **SUSTENTANTE:**

Mariana Lizbeth Díaz Sánchez

---

“Porque las cosas invisibles de él, su eterno poder y deidad, se hacen claramente visibles desde la creación del mundo, siendo entendidas por medio de las cosas hechas, de modo que no tienen excusa.

Pues habiendo conocido a Dios, no le glorificaron como a Dios, ni le dieron gracias, sino que se envanecieron en sus razonamientos, y su necio corazón fue entenebrecido.

Profesando ser sabios, se hicieron necios”

Romanos 1:20-22

“Y nosotros no hemos recibido el espíritu del mundo, sino el Espíritu que proviene de Dios, para que sepamos lo que de Dios nos ha concedido, lo cual también hablamos, no con palabras enseñadas por sabiduría humana, sino con palabras que enseña el Espíritu, acomodando lo espiritual a lo espiritual.

Pero el hombre natural NO percibe las cosas que son del Espíritu de Dios, porque para el hombre es locura, y no las puede entender, porque se han de discernir espiritualmente”

1 Corintios 2: 12-14

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme dado la vida, por dejarme gozarla, entenderla, y sufrirla pero sobre todo por darme la oportunidad de conocerle; por darme un poco de su infinita sabiduría, por dotarme de paciencia y capacidad para salir adelante en todos mis proyectos, por llevarme en este camino científico para apreciar una vez más tu eterno poder e inmensa sabiduría, por conocer a las personas correctas y permitirme amarlas con todo mi corazón. Gracias mi Dios Todopoderoso!

A mis Padres Leopoldo Díaz Sánchez y Alicia Sánchez Gallegos, por darme la vida, sus cuidados, la educación, los valores, por sus grandes consejos y maravillosos momentos familiares, por su incondicional apoyo, simplemente les agradezco a Dios por ser mis Padres, les debo todo lo que soy. Los amo infinitamente.

A mis hermanos Fátima e Isaac por todos los hermosos momentos que pasamos y nos divertimos, por su humor que me hacen privarme de la risa, gracias por su gran apoyo manitos. Los amo demasiado.

Adrián: Por ser la persona que me apoyo en los momentos más difíciles de mi vida personal y académica, por ser ese gran pilar para no derrumbarme en muchas ocasiones y brindarme tanto amor, cariño y mucha comprensión. Por ser la persona que ha dejado huella en mi corazón y mostrarme un mundo diferente.

A mis amigos del laboratorio 122 (Valeria, Paulina, Nayeli, Gustavo, Rodrigo Aguayo, Miguel Flores, Miguel Velázquez, Peter, Toño y Rodrigo Tercero): Gracias a todos por su apoyo incondicional en los momentos de depresión sintética y darme sus sabios consejos para salir adelante en mi proyecto de tesis, por su buen humor y momentos tan hermosos y divertidos, por su tiempo y sobre todo por su valiosa amistad, le doy gracias a Dios por habérmelos puesto en mi camino. Enfatizo mi mayor agradecimiento a mi hermanito Gustavo por estar siempre ayudándome en mi tesis, por brindarme sus conocimientos y su valioso tiempo para explicarme lo que no entendía, muchísimas gracias hermanito por absolutamente todo. Los quiero exageradamente amiguitos.

A mis amigos Edwin y Martha por darme momentos tan divertidos y desestresantes, por brindarme su muy valioso tiempo e incondicional amistad, gracias por ser parte de mi vida que de ustedes he aprendido mucho. Los quiero demasiado.

A mi supervisora Silvia Melchor, por darme lugar en su mesa de trabajo, por compartir sus excelentes conocimientos conmigo, por su enorme paciencia y su amistad.

A mi tutor el Dr. Francisco Hernández Luis por aceptarme en su grupo de trabajo y confiar en mí, por sus grandes conocimientos compartidos y momentos de alegría, por siempre brindarme la atención adecuada acompañada con una gran sonrisa y su hermosa personalidad .

Al Dr. Rafael Castillo por adoptarme como pseudo integrante de su grupo de trabajo, por tomarme en cuenta siempre en sus reuniones, por darle al laboratorio un ambiente de armonía y cariño.

A la Dra. Alicia Hernández, por ser una mujer ejemplar para las niñas del laboratorio, por darle al laboratorio un toque de feminismo y de alegría con su peculiar risa.

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco a las siguientes instituciones por su gran apoyo en la realización de mi proyecto de tesis:

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir mi estancia en sus aulas y ser mi segunda casa.

A la Facultad de Química por brindarme a excelente profesores para adquirir una preparación académica de calidad y por forjarme con una mentalidad humanista.

A la Dirección General del Personal Académica UNAM por el apoyo recibido para la compra de reactivos y materias primas dentro del proyecto **PAPIIT-UNAM IN210809**.

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química y a todo su personal involucrado que realizo el registro de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (Rosa Isela del Villar Morales; Espectrometría de Masas (Georgina Artemisa Duarte Lisci); Espectroscopia de Infrarrojo (Marisela Patricia Gutiérrez Franco).

Al **Programa 127 “Formación básica en Investigación”**, por la beca otorgada para la realización de esta tesis.

A la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (ENCB-IPN) en el Departamento de Parasitología a cargo del Dr. Benjamín Noguera Torres, por las pruebas biológicas realizadas con el parásito *Trypanosoma cruzi* (trípomastigotes).



## **LISTA DE ACRONIMOS**

CCF: Cromatografía en Capa Fina

CDI: Carbonildiimidazol

CH<sub>3</sub>CN: Acetonitrilo

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: Diclorometano

cm<sup>-1</sup>: Centímetros a la menos uno

CI<sub>50</sub>: Concentración Inhibitoria 50

DCC: *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida

DIPEA: *N,N'*-diisopropiletilamina

DMSO: Dimetil sulfóxido

EM: Espectrometría de Masas

ID: Introducción Directa

IE: Impacto electrónico

FAB<sup>+</sup>: por sus siglas en inglés Fast Atom Bombardmen (Bombardeo rápido de atomos)

Hz: Hertz

IR: Infrarrojo

M<sup>+</sup>: Ion molecular

MeOH: Metanol

µg: microgramos

mL: mililitros

m/z: relación masa/ carga

ppm: partes por millón

PyBOP: por sus siglas en inglés (benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate)

RMN de <sup>1</sup>H: Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno

sol. NH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>: Solución de Hidracina

THF: Tetrahidrofurano

UV: Ultravioleta

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades tropicales desatendidas son el resultado de cuatro agentes patógenos causales diferentes —virus, bacterias, protozoarios y helmintos—, resultando así un total de 17 padecimientos priorizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estas enfermedades afectan a más de mil millones de personas en todo el mundo y son endémicas en 149 países.

La cobertura universal de las intervenciones de prevención y control de las enfermedades tropicales desatendidas depende fundamentalmente de la existencia de sistemas de salud eficientes y del acceso a los medicamentos esenciales para su tratamiento.

El presente trabajo tiene la intención principal de contribuir al conocimiento sobre moléculas que puedan servir al tratamiento de la enfermedad de Chagas, causado por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad es un problema de salud pública en América Latina, donde existen 10 millones de personas infectadas. Debido a la ausencia de vacunas y a las dificultades vinculadas con el control del vector del parásito, el único recurso terapéutico es la quimioterapia. Actualmente, se disponen de dos fármacos para combatirla: el Nifurtimox (Nfr) y el Benznidazol (Bzn); mismos que fueron introducidos en la clínica hace más de treinta años. Esta situación conlleva a la posibilidad de que se presenten cepas de parásitos resistentes a los fármacos. El Nfr y el Bzn son eficaces en la etapa aguda pero no en la etapa crónica de la enfermedad, donde presentan baja eficacia y efectos tóxicos en el paciente. Por lo anterior, es necesario el desarrollo de nuevos fármacos eficaces y seguros para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

Durante la realización de esta tesis se realizó una amplia búsqueda bibliográfica sobre derivados del bencimidazol, encontrando que varios de ellos presentan actividad antiprotozoaria, tal es el caso del ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico. Para este trabajo se utilizó la estrategia de la hibridación molecular para intentar que la molécula resultante pudiese presentar actividad tripanocida. Por lo que el objetivo de este trabajo fue la síntesis de híbridos derivados del ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico con carbohidrazidas y carboxamidas, con el fin de producir moléculas más potentes y eficaces que los dos fármacos empleados en la actualidad (Nfr y Bzn).

## 2. ANTECEDENTES

En este apartado se presenta la información que sustenta el problema planteado y la hipótesis del presente informe de tesis. El contenido se organizó en tres capítulos. El primero aborda los aspectos generales de la enfermedad de Chagas, el segundo trata sobre los derivados del bencimidazol como agentes antiparasitarios y el tercero sobre la estrategia usada en el diseño de las moléculas sintetizadas.

### 2.1 Epidemiología de la enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas, también conocida como Tripanosomiasis Americana, fue descrita en 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas, quien dio nombre al parásito causante, *Trypanosoma cruzi*, en honor a su maestro, Oswaldo Cruz. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 8 a 10 millones de personas están infectadas en todo el mundo, principalmente en América Latina, donde la enfermedad es considerada endémica; no obstante, en las últimas décadas, el perfil epidemiológico ha cambiado debido a los movimientos migratorios, que han llevado tanto a la urbanización y la globalización de la enfermedad. La enfermedad de Chagas está asociada casi directamente a las condiciones de pobreza en las zonas rurales<sup>1</sup>. En lo que respecta a México, hay un total de 18 áreas endémicas, ubicadas principalmente en los estados de Oaxaca, Jalisco, Yucatán, Chiapas, Veracruz, Puebla, Guerrero, Hidalgo y Morelos; todos ellos con el denominador de ser zonas rurales. En el año 2001 (Guzmán-Bracho, 2001) se reportó que la región Noreste del país tenía la mayor prevalencia de casos con la Enfermedad de Chagas, correspondiente a la zona Huasteca la cual es comprendida por los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz y Tamaulipas; y se destacó que en esta región, la prevalencia ha aumentado en los últimos años<sup>2</sup>.

Una encuesta serológica nacional llevada a cabo entre 1994 y 1996 (Guzmán et. al. 1998), se informó que había una seroprevalencia total de 1.6 % de *T. cruzi* (996 personas positivas a las pruebas de tamizaje de anticuerpos contra *T. cruzi*, de un total de 64969 de personas donantes de sangre de 18 entidades federativas participantes). Algunas estimaciones actuales (Ramsey et. al 2003) indican que por lo menos 1-2 millones de habitantes están expuestos al parásito en el país, con cerca de 70,000 nuevos casos por año y una mortalidad del 5-6 %<sup>2</sup>.

Sin embargo, con respecto a los datos del párrafo anterior, otros estudios han identificado niveles de seroprevalencia mucho más altos, los cuales llegan hasta el 5.9 % en regiones específicas.

En cuanto al porcentaje de Prevalencia los estados de Chiapas, Oaxaca, Veracruz y Guerrero se encuentran entre los estados más afectados, puesto que la prevalencia puede ser superior al 10 %, esto nos da como información la posibilidad de padecer la enfermedad (Ver tabla 1, sombreado con color rosa). Finalmente se indicó el número de personas potencialmente afectadas en México y que es de 5.5 millones<sup>2</sup>.

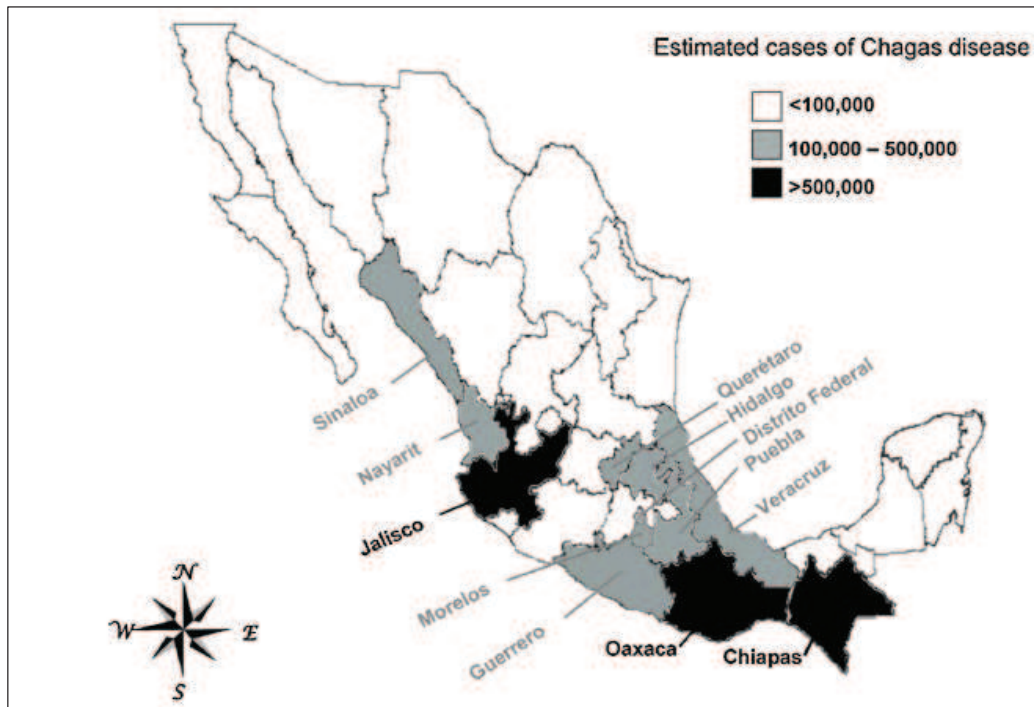
**Tabla 1.-** Estimación de la población en situación de riesgo para la infección por *Trypanosoma cruzi* en México, de acuerdo con el (%) de prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en 2006 por los estudios serológicos, manifestaciones clínicas, y los informes de los bancos de sangre (Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006). (Tabla tomada y modificada de la referencia 2)

<b>Prevalencia de la Enfermedad de Chagas</b>			
<b>Estado</b>	<b>Estimación de la población en México por estado 2010<sup>a</sup> (x10<sup>6</sup>)</b>	<b>Número estimado de individuos infectados (casos)</b>	<b>Prevalencia (%)<sup>b</sup></b>
Querétaro	1.82	347,125	18.99
Oaxaca	3.80	672,947	17.70
Chiapas	4.79	611,564	12.75
Nayarit	1.08	132,259	12.19
Jalisco	7.35	890,168	12.11
Morelos	1.77	203,315	11.44
Guerrero	3.38	383,947	11.33
Hidalgo	2.66	164,698	6.18
Veracruz	7.64	438,719	5.74
Zacatecas	1.49	83,776	5.62
Sinaloa	2.76	154,441	5.58
Tabasco	2.23	84,171	3.76
Distrito Federal	8.85	331,916	3.75
Puebla	5.77	205,184	3.55
Yucatán	1.95	61,992	3.17
Baja California	3.15	87,711	2.78
San Luis Potosí	2.58	66,965	2.59
Quintana Roo	1.32	31,946	2.41
Michoacán	4.35	96,158	2.21
Durango	1.63	35,598	2.18
Nuevo León	4.65	90,277	1.94
Aguascalientes	1.18	21,685	1.83
Tamaulipas	3.26	54,912	1.68
Sonora	2.66	43,132	1.62

Campeche	0.82	12,830	1.56
Tlaxcala	1.16	15,560	1.33
Colima	0.65	7481	1.15
Baja California Sur	0.63	6625	1.04
Guanajuato	5.48	44,988	0.82
Estado de México	15.17	95,608	0.63
Coahuila	2.74	16,765	0.61
Chihuahua	3.4	15,329	0.45
<b>TOTAL</b>	<b>112.17</b>	<b>5,509,794</b>	

a Instituto Nacional de Estadística Geografía e informática (2010). <http://www.inegi.gob.mx>.  
b Cruz-Reyes and Pickering-Lopez (2006).

El censo nacional de 2010 (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, 2010) reportó 112.3 millones de personas que viven en México y basado en la obtención del porcentaje de prevalencia publicado por Cruz-Reyes y Pickering-López (2006), realizó una estimación del número de individuos infectados por *T. cruzi* por estado en el país, destacando que los estados de Jalisco, Oaxaca y Chiapas tienen el mayor número de infectados por la enfermedad de Chagas (no se alude al % de prevalencia, sino de casos reportados), seguido de Veracruz, Guerrero, Querétaro, Ciudad de México, Puebla, Morelos, Hidalgo, Sinaloa y Nayarit (Figura 1). Realizando un pequeño análisis de la tabla 1, se puede destacar que el elevado número de casos que podrían estar presentes en el Distrito Federal (Ciudad de México), solo sea una subestimación, pues el número en realidad podría ser más elevado, y a pesar de que el Distrito Federal sea una zona urbana en donde no existen informes de la presencia de vectores, se sabe que existen otras vías de transmisión así que es necesario aclarar estas rutas para reducir el riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas<sup>2</sup>.

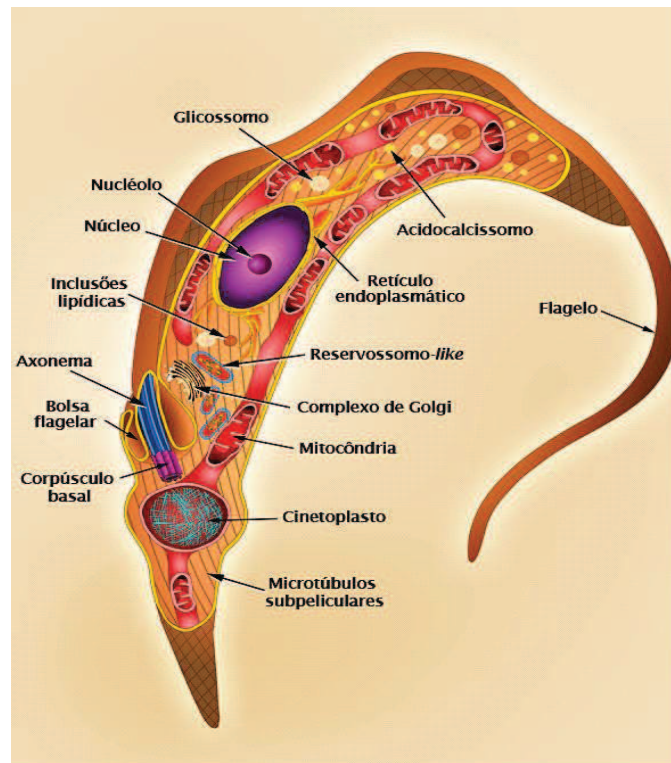


**Figura 1.** Número estimado de individuos infectados con *Trypanosoma cruzi* en México (Imagen tomada de la referencia 2).

Por último, cabe mencionar que la migración de las zonas rurales que se produjeron en América Latina en los años 1970 y 1980 ha cambiado el patrón epidemiológico tradicional, convirtiendo a la enfermedad de Chagas de una infección rural a una infección urbana. Tal es el caso de la existencia de la enfermedad en Europa, donde los inmigrantes de los países endémicos ahora viven. Muchos médicos consideran que el Chagas se limita a México y América Latina, y este supuesto hace que los médicos generales de Estados Unidos y Europa ignoren hacer un diagnóstico diferencial en pacientes que presenten síntomas pertinentes a la enfermedad de Chagas (Miocardiopatías)<sup>1</sup>.

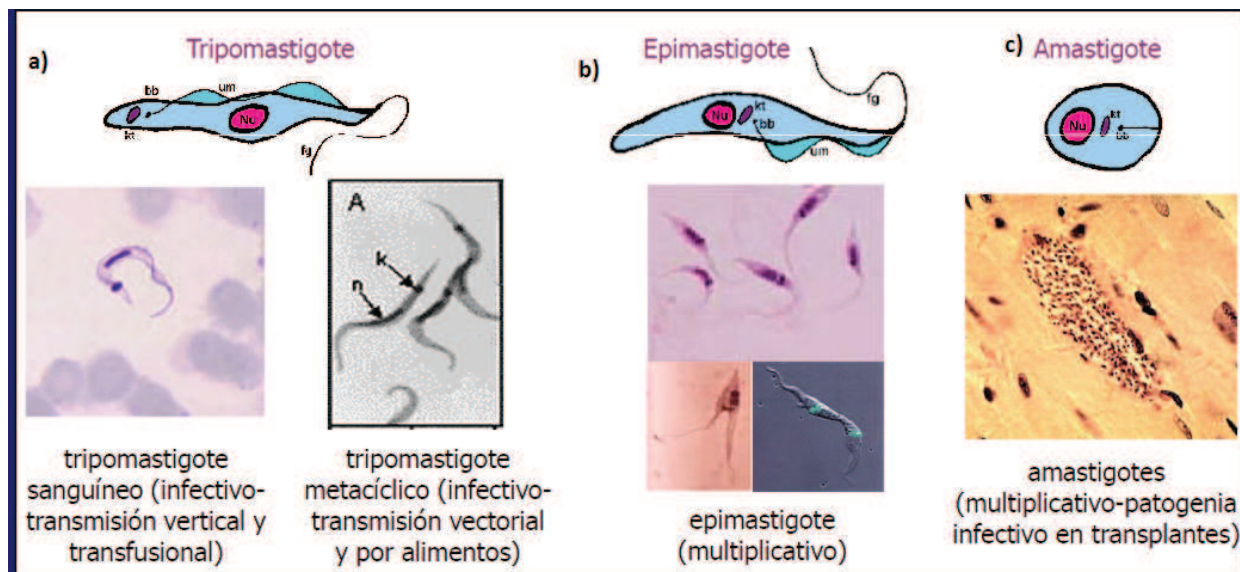
### 2.1.1 El Parásito

La enfermedad es causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi* perteneciente al subfilo Mastigophora, orden Kinetoplastida que se caracteriza por tener la presencia de un organelo peculiar que lo define dentro de la mitocondria de la célula y se conoce como Cinetoplasto (Figura 2). Pertenece a la familia Tripanosomatidae dentro de la cual se adoptó el subgénero Schizotrypanum para designar a los tripanosomas que se multiplican intracelularmente en los vertebrados. En la actualidad el nombre taxonómico completo es *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. Se considera que esta especie conforma un conjunto de poblaciones de parásitos o cepas que circulan entre reservorios animales, humanos y vectores intradomiciliarios y silvestres, con diferencias en patogenicidad<sup>3</sup>. La enfermedad de Chagas es transmitido por vectores artrópodos; específicamente por insectos pertenecientes a la familia Reduviidae (orden Hemiptera), en los cuales destacan *Tripanosoma infestans*, *Rhodnius prolixus* y *Panstrongylus megistus* como los vectores más importantes<sup>4</sup>. Estos insectos, están presentes en Sudamérica, América Central, México y el sur de Estados Unidos.



**Figura 2.** Ilustración de *T. cruzi* en corte longitudinal mostrando las principales estructuras celulares (imagen de <http://labspace.open.ac.uk/mod/resource/view.php?id=459545>)

El *Trypanosoma cruzi* infecta a células de mamíferos y es altamente pleomórfico, por consecuencia podemos encontrar distintos estadios o fases evolutivas en su ciclo de vida. Cada estadio presenta propiedades únicas y los cambios que ocurren entre estos se desarrollan en respuestas a variaciones en las condiciones de su entorno. La identificación de estas fases evolutivas está basada en características morfológicas, tales como la forma general de la célula, la posición del Cinetoplasto y núcleo, así como la región donde el flagelo emerge del saco flagelar. Acorde a esto, encontramos que el *Trypanosoma cruzi* presenta 3 fases evolutivas principales de desarrollo: amastigote, epimastigote y tripomastigote <sup>5</sup> (Figura 3).



**Figura 3.** Diferentes estadios morfológicos asociados a distintas etapas del ciclo de vida de *T. cruzi* (Imagen tomada de la referencia 6).

La forma o estadio Tripomastigote, es la forma flagelada del parásito y morfológicamente es alargado, fusiforme y su tamaño es alrededor de 20 micras de longitud, y es la que se encuentra en la sangre circulante de las personas o animales infectados, especialmente en los periodos agudos o iniciales de la infección <sup>3</sup>.

Posee un núcleo grande cerca de la parte central y a lo largo de su cuerpo tiene una membrana ondulante bordeada por un flagelo que se inicia en el Cinetoplasto y sale del parásito por el extremo anterior <sup>3</sup>(Fig. 2(a)). El Cinetoplasto es una red fibrosa, que contiene el 20% aproximadamente del ADN total del parásito presente en su mitocondria y que está localizada en la región subterminal del protozoo. El tamaño notoriamente grande del Cinetoplasto constituye una de las principales características morfológicas, que lo diferencia de otras especies de tripanosomas <sup>3</sup>.

### 2.1.2 Ciclo de vida y transmisión

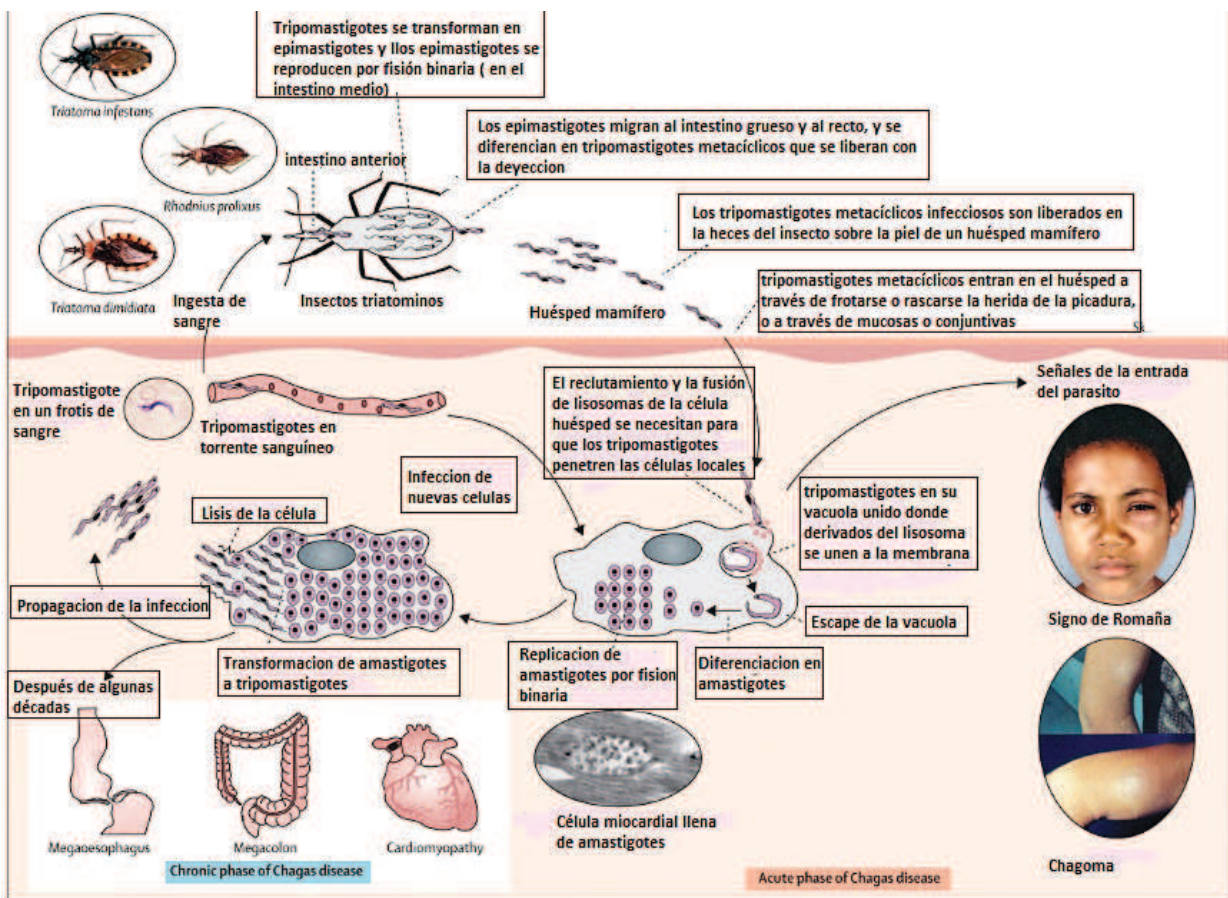
El ciclo biológico del parásito desde la picadura hasta el nuevo contagio de otro vector, se da de la siguiente manera:

Los epimastigotes, flagelados anchos, muy móviles, con el Cinetoplasto entre el núcleo y el flagelo libre, son una forma no infecciosa del parásito que se encuentra en el intestino medio de insectos vectores, donde se multiplican un gran número de veces por fisión binaria. Los epimastigotes pasan al intestino grueso del insecto, donde se diferencian en tripomastigotes metacíclicos, estos migran al intestino posterior donde son excretados con las heces en el momento de la picadura; estas formas son resistentes al complemento mamífero y tienen la capacidad de infectar las células del hospedero. El insecto permanece toda su vida infectado, y al parecer no le causa daño. Cuando el insecto se alimenta de la sangre del huésped mamífero, inmediatamente defeca sobre la piel, provocando la contaminación debido a que el huésped se frota o rasca la zona lesionada, ocasionando la entrada de los tripomastigotes metacíclicos a través de las escoriaciones de la piel, membranas mucosas o conjuntivas. Los tripomastigotes pueden invadir rápidamente las células de entrada (macrófagos) o



pueden ser transportados en la sangre a otros sitios, frecuentemente invaden células del bazo, hígado, vasos linfáticos, células de los músculos cardiacos, liso y esquelético <sup>7,8</sup>. Dentro de estas células se transforman en amastigotes, la tercera forma morfológica. Los amastigotes son redondeados con un flagelo externo muy corto o inexistente, se multiplican rápidamente dentro de la célula huésped hasta que se provoca la lisis de la misma, momento en el que se transforman en tripomastigotes sanguíneos. Al destruir los macrófagos, los tripomastigotes se liberan en el torrente sanguíneo y linfático, a través del cual se extienden a sitios distantes e invaden nuevas células. Los tripomastigotes encontrados en la sangre circulante no son capaces de multiplicarse en la sangre.

Este proceso continua de forma asincrónica para la vida del huésped. Un pequeño número de tripomastigotes pueden ser ingeridos por chinches no infectadas. Dentro del insecto, el tripomastigote se transforma en epimastigote en el intestino medio, completando así el ciclo (Figura 4).



**Figura 4.** Transmisión vectorial y el ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* (Imagen tomada y editada de la referencia 8).

El hombre puede infectarse con el parásito *Trypanosoma cruzi*, por 3 mecanismos de transmisión actualmente conocidos:

#### ❖ Por deyecciones de Triatomíneos

Es la forma más importante de transmisión, ya que es el mecanismo natural de la infección y sucede como ya se ha explicado, cuando un triatomíneo defeca sobre el huésped, depositando junto con las materias fecales a los tripomastigotes metacíclicos, los cuales pueden penetrar la piel por escoriaciones al rascarse, por el sitio de la picadura en el momento del rascado, al frotarse los ojos con los dedos contaminados con materias fecales de triatomíneos o por la mucosa oral o nasal.

- Por transfusión Sanguínea

Esta vía de transmisión sucede con relativa frecuencia, ya que en los países que no se tiene un control adecuado de los donadores de sangre, al usar sangre infectada pasa *T. cruzi* a otras personas, ya que mantiene su viabilidad a la temperatura del refrigerador de 4°C hasta por dos meses.

- Por traspaso de la Placenta

Constituye la tercera vía más importante de transmisión de la Enfermedad de Chagas, ya que la segunda mitad de la gestación, los tripomastigotes sanguíneos de la madre pueden atravesar la barrera placentaria e infectar al producto.

No obstante, la transmisión oral por el consumo de alimentos contaminados con heces del artrópodo, ha sido reconocida recientemente como la causa de los pequeños brotes esporádicos, en la región amazónica y otras zonas no endémicas.

#### 2.1.3 Cuadro clínico de la Enfermedad de Chagas

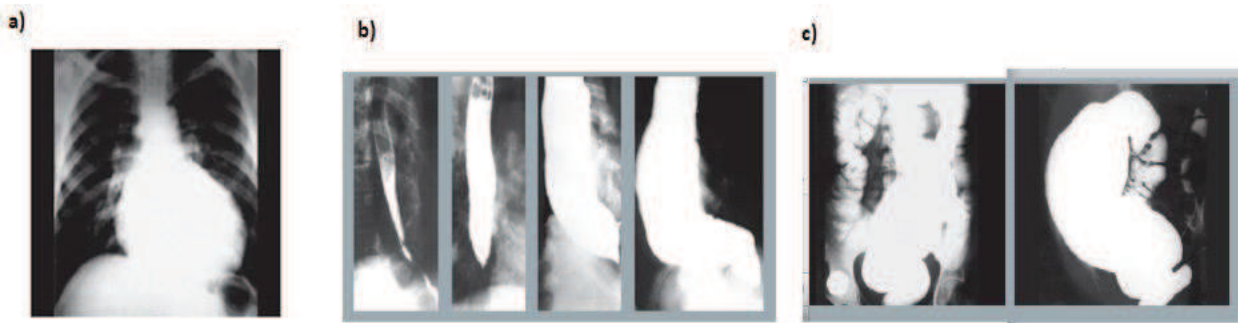
El concepto de enfermedad no debe ser confundido con el de infección, pues la mayoría de individuos permanecen infectados toda su vida sin manifestaciones clínicas. La enfermedad se presenta en dos fases, la fase aguda y la crónica <sup>9</sup>.

La mayoría de los casos en fase aguda se presenta antes de los 15 años, principalmente entre edades de 1-5 años <sup>4</sup>. Por lo general en esta fase no se presentan síntomas, sin embargo cuando esto si sucede, se presenta malestar general, dolor de cabeza, anorexia, mialgia, y en poca frecuencia fiebre intermitente<sup>4</sup>. Algunos pacientes tienen lesiones en la puerta de entrada del parásito, es decir, cuando la vía de entrada es a través de la piel se observa una lesión conocida como Chagoma (hinchazón edematoso en el sitio de infección); si el parásito ingresa a través de las membranas mucosas oculares, se desarrolla una conjuntivitis unilateral sin dolor conocida como Signo de Romaña y es un signo clásico de la enfermedad de Chagas en fase aguda, pero se desarrolla en pocas personas que se infectan <sup>4, 7, 9</sup>. Sin embargo, no todo queda en signos y síntomas, ya que se ha reportado que la fase aguda presenta una tasa de mortalidad del 5%, debido a miocarditis o meningoencefalitis en infantes.

En la gran mayoría de las personas con la enfermedad en esta fase, las manifestaciones clínicas desaparecen espontáneamente dentro de 3-8 semanas, pero es seguido de la fase latente o indeterminada, la cual es asintomática. Algunos autores consideran que la proliferación del parásito dentro de las células se da en este periodo. Con el aumento gradual de los síntomas característicos de la fase crónica, se estima que el 70-85% de las personas infectadas permanecen en este estado latente por el resto de sus vidas; si bien el 15-30% desarrollan daños en algunos órganos (fase crónica

sintomática), el corazón es el más común, produciendo arritmias cardíacas, extrasístoles ventriculares, taquicardia así como cardiomegalia, síndrome del seno enfermo y bloqueo auriculoventricular. A pesar de que *Trypanosoma cruzi* puede parasitar cualquier célula del organismo, éste suele aparecer con mayor frecuencia en células musculares (cardíacas y esqueléticas). Otros órganos comúnmente afectados son el aparato digestivo y el sistema Nervioso. En cuanto al aparato digestivo se genera aperistaltismo, así como el agrandamiento del esófago (Megaesófago) provocando disfagia y el agrandamiento del colon (Megacolon) teniendo como síntomas estreñimiento, dolor y en casos avanzados obstrucción intestinal <sup>4,7</sup>. Probablemente, la intensidad de las formas clínicas en la fase crónica está directamente relacionada con alguna destrucción neuronal autonómica y periférica ocurrida en la fase aguda (Figura 5).

No se sabe qué factores del huésped o características del parásito causa que algunas personas infectadas por *Trypanosoma cruzi* desarrollen las lesiones que caracterizan la fase crónica, mientras que otros permanezcan solamente infectados durante el resto de su vida. La cepa del parásito, la nutrición, la edad de la primera infección, la inmunogenética u otras condiciones médicas pueden jugar un papel en la patogénesis de la fase crónica sintomática de la enfermedad de Chagas; actualmente no hay forma de predecir si una persona infectada en la fase indeterminada o latencia este propenso a desarrollar la fase crónica sintomática.



**Figura 5.-** Hallazgos comunes en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. (Imagen tomada de la referencia 8)

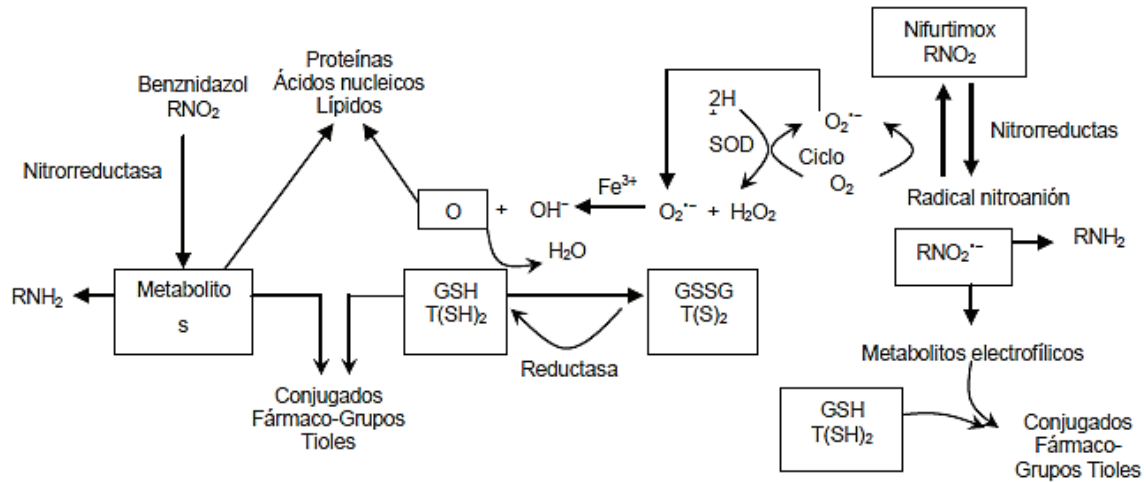
a) Megacardia; b) Megaesófago; c) Megacolon

#### 2.1.4 Tratamiento

El tratamiento para la enfermedad de Chagas se limita a dos fármacos actualmente disponibles, el Nifurtimox (Nfr) desarrollado por la Farmacéutica Bayer en 1960, y el Benznidazol (Bzn) por Roche en 1974. Ambos compuestos nitroheterocíclicos fueron descubiertos hace más de tres décadas y que lamentablemente están lejos de ser ideales debido a las numerosas limitaciones como su alta toxicidad y eficacia sólo en la fase aguda <sup>10</sup>.

El Nfr y el Bzn realizan su actividad tripanocida mediante la generación de radicales libre o metabolitos electrofílicos. El grupo nitro de ambas moléculas es reducido a un grupo amino, por acción de las nitrorreductasas, con la formación de varios radicales libres y metabolitos electrofílicos. Este proceso se inicia gracias a la enzima NADPH-citocromo P450 reductasa que actúa en el grupo nitro de la molécula (R-NO<sub>2</sub>) produciendo el radical nitro anión intermedio (R-NO<sub>2</sub><sup>•-</sup>). Este radical ingresa a un ciclo redox donde reduce al oxígeno molecular y forma el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), mientras que el

fármaco se regenera. Aquí la enzima Superóxido dismutasa (SOD) convierte a este anión en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). El  $H_2O_2$  junto con  $O_2^{\cdot-}$  producen el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), el cual se va a unir a macromoléculas del parásito provocando la peroxidación de lípidos, destrucción de membranas, daño al ADN, unión a proteínas y por consecuencia inactivación de enzimas (Figura 6). Dentro de las enzimas que se pueden ver inactivadas se encuentra la Tripanotión reductasa, la cual es importante para la detoxificación del parásito; de la misma manera puede unirse a tioles libres como el tripanotión y el glutatión del parásito, limitando así sus mecanismos de detoxificación de radicales libres<sup>5,10</sup>.



**Figura 6.-** Mecanismo de acción del Nifurtimox y Benznidazol. (Imagen tomada de la referencia 5)

Tanto el Nfr como el Bzn tienen actividad tripanocida significativa en lo que es la fase aguda, demostrando hasta un 80% de la cura parasitológica en pacientes bajo tratamiento, es decir, un resultado totalmente negativo para todas las pruebas serológicas y parasitológicas, no obstante su eficacia varía de acuerdo a la zona geográfica, probablemente debido a las diferencias en la sensibilidad de las cepas *T. cruzi*<sup>10</sup>.

Se ha informado en la última década, que al administrar Bzn en la fase crónica de la enfermedad, éste tiene una actividad tripanocida significativa, ya que un 60% de niños infectados en Argentina y Brasil fueron curados de la parasitosis. Sin embargo los nuevos resultados, demostraron lo contrario al utilizar ambos fármacos (Nfr y Bzn)<sup>10</sup>. Como se mencionó en un principio, una de las limitaciones de utilizar estos fármacos, es su alta toxicidad, ya que provocan efectos colaterales serios, posiblemente por el daño oxidativo o reductivo en los tejidos del hospedero; específicamente para el caso del Nfr son la intolerancia gastrointestinal —la cual se manifiesta en anorexia—, vómito y dolor abdominal; los efectos neurológicos incluyen insomnio, desorientación y polineuritis. Por otro lado se ha reportado que el Bzn genera neuropatía y supresión de la médula ósea. Los efectos colaterales de ambos fármacos son reversibles cuando se suspende el tratamiento o se reduce su dosis<sup>11</sup>.

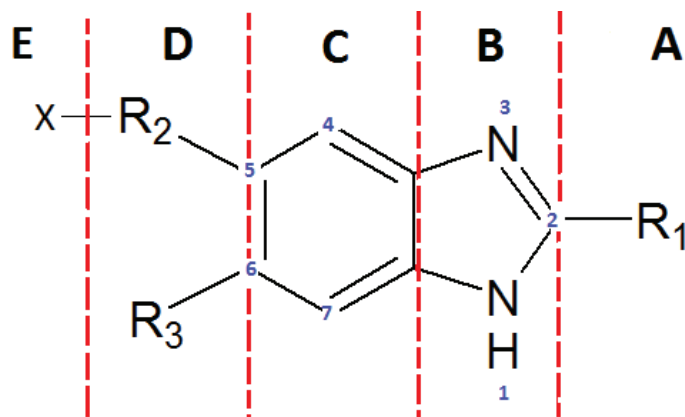
El tratamiento específico de esta enfermedad ha sido motivo de controversia en muchos lugares, pero no existe un consenso creciente de que la eliminación de *T. cruzi* puede ser un requisito previo para detener realmente la evolución de la enfermedad<sup>10</sup>.

## 2.2. Derivados del bencimidazol: Compuestos biológicamente activos

El bencimidazol, un compuesto bicíclico que consiste en la fusión de un anillo de benceno en la posición 4 y 5 de un anillo de imidazol, está presente prominentemente en la naturaleza como *N*-ribosil-dimetilbencimidazol, en donde sirve como un ligando axial para el Cobalto en la Vitamina B<sub>12</sub> (Figura 7). El interés en la estructura del bencimidazol comenzó aproximadamente en 1950 cuando Brink identificó que derivados de la Vitamina B<sub>12</sub> tenían actividad biológica, entre ellos el 5,6-dimetilbencimidazol. La presencia del núcleo del bencimidazol ha dado lugar a numerosas categorías de agentes terapéuticos, tales como antimicrobianos, antihipertensivos, antiparasitarios, anticancerosos, etc. Convirtiéndose en una estructura privilegiada en la química farmacéutica, puesto que la optimización de los sustituyentes alrededor de este núcleo ha dado lugar a diversos fármacos como lo es el albendazol, mebendazol, omeprazol, telmisartán, envirodine, entre otros<sup>12</sup>. A continuación se mencionan las tendencias de la actividad farmacológica de acuerdo a la posición de los sustituyentes:

### 2.2.1 Antiprotozoario/ Antiparasitario

Se ha demostrado que los derivados del bencimidazol di- o tri-sustituídos presentan actividad antiparasitaria; por ello, son un punto de partida importante en la búsqueda de agentes quimioterapéuticos contra las enfermedades parasitarias.



**Figura 7.-** Modificaciones moleculares en el núcleo de bencimidazol

Sitio **A**.- La sustitución en esta posición desempeña un papel sumamente notable en el perfil antiparasitario. Se obtiene una actividad de moderada a buena con derivados de acilo y ureas, pero la actividad óptima se obtiene al ser sustituido por grupos carbamato<sup>15</sup>; sin embargo la mayoría de las publicaciones respaldan que los compuestos con actividad antiparasitaria probados son sustituidos en la posición 2.

Sitio **B**.- En la posición 1 es indispensable la presencia de H para una actividad antihelmíntica y antiprotozoaria, mediante la inhibición de la polimerización de la tubulina; su sustitución por lo general conduce a compuestos menos eficaces o la pérdida de actividad<sup>5, 12</sup>.

Sitio **C**.- Es preferente que se conserve igual, porque se ha demostrado que la inserción de algún

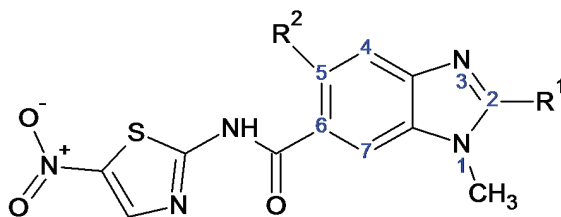
heteroátomo provoca la disminución de la actividad antiparasitaria<sup>15</sup>.

Sitio **D**.- La sustitución en posiciones 5/6 impide la desactivación metabólica evitando la generación de metabolitos inactivos<sup>15</sup>. Se ha documentado que grupos dimetilo, dibromo en alguna de estas posiciones generan actividad específicamente antiprotozoaria<sup>12</sup>.

Sustituyentes en alguna de estas posiciones que actúen como espaciador entre moléculas generan actividad y selectividad contra helmintos intestinales y tisulares; en general Bencimidazoles con grupos en posición 5/6 como OCO, S, SO o CONH, muestran buena actividad, sin embargo la actividad optima se obtiene con grupos O ó CO<sup>15</sup>.

Sitio **E**.- Los cambios estructurales en este sitio son cruciales para determinar el perfil de actividad de los Bencimidazoles, en la mayoría de los casos grupos Fenilo, alquilo, alquenos, cicloalquilos y heteroarilos, muestran un amplio espectro de acción.

Aunado a lo anterior, se reportó actualmente la síntesis de compuestos híbridos entre Nitazoxanida y *N*-metilbencimidazol, para encontrar nuevas moléculas en el tratamiento de enfermedades protozoarias; el proyecto evaluó 13 compuestos derivados de bencimidazol que llevan diferentes sustituyentes en las posiciones 1, 2, 5, y 6 y los evaluaron in vitro contra 3 tipos diferentes de protozoos (*Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*), demostrando mayor eficacia que los fármacos de referencia utilizados actualmente como antiprotozoarios (ABZ, MTZ y NTZ)<sup>16</sup>. La importancia química de esta nueva información destaca lo siguiente:

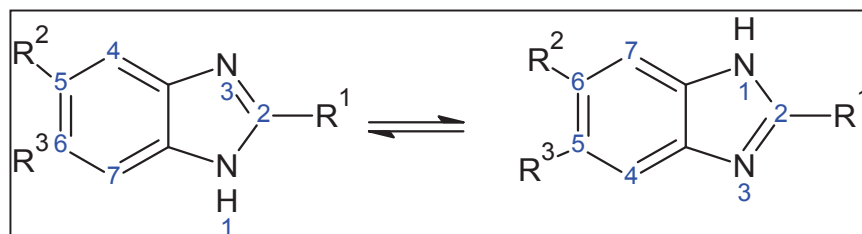


**Figura 8.**- Estructura de uno de los híbridos de la nitazoxanida-*N*-metilbencimidazol <sup>16</sup>.

- Compuestos con Cloro en R<sup>2</sup> exhiben la misma eficacia que si no lo tuviera, por lo tanto no es indispensable la presencia de dicho elemento.
- Compuestos con grupos CH<sub>3</sub> o CF<sub>3</sub> en el sustituyente R<sup>1</sup> muestran una mejor actividad antiprotozoaria y potencia con respecto a los fármacos de referencia mencionados. Sustituido con H la actividad es menor que cuando hay otro sustituyente.
- La actividad de los compuestos con el grupo carboxamida en la posición 6 fueron más activos que cuando está en la posición 5.

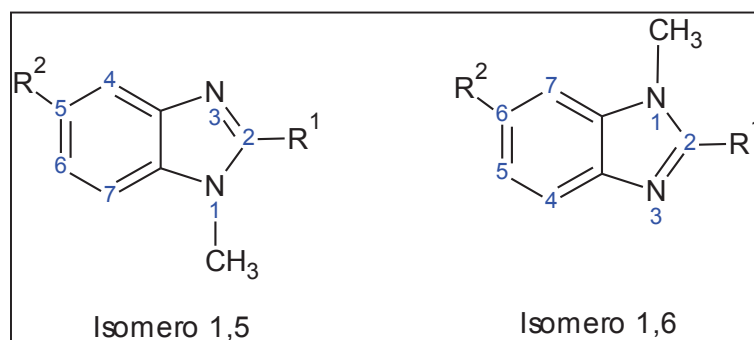
## 2.2.2 Métodos de Síntesis de derivados del bencimidazol

La estructura del bencimidazol consiste de un anillo de benceno unida a las posiciones 4 y 5 de un anillo de imidazol. La molécula de bencimidazol se encuentra en equilibrio tautomérico protónico, donde el protón de la posición 1 migra a la posición 3, dando como resultado 2 estructuras tautoméricas (Figura 9)<sup>17</sup>.



**Figura 9.** Tautomerismo del anillo del bencimidazol

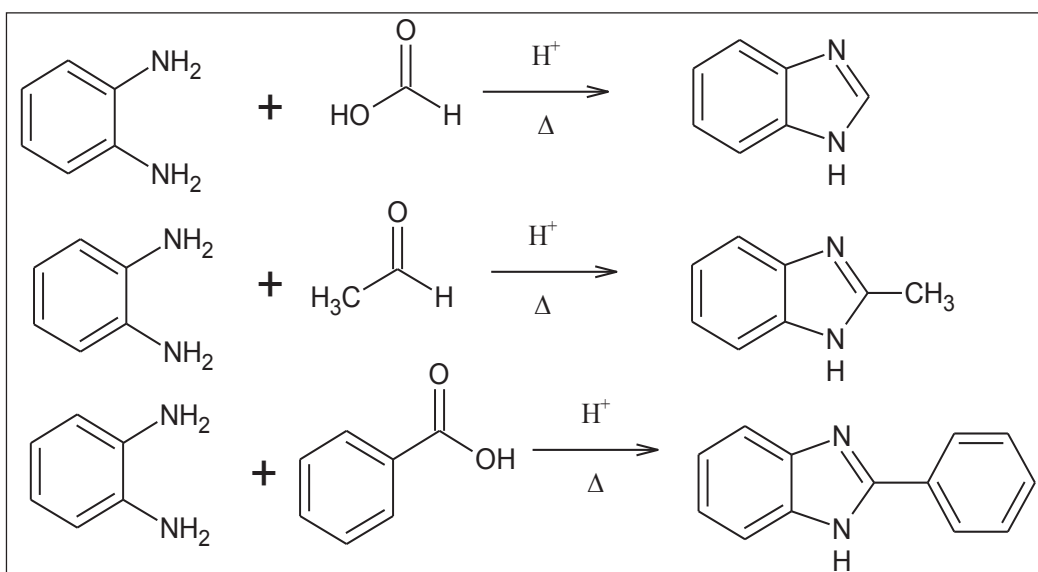
Sin embargo, en bencimidazoles *N*-sustituídos el tautomerismo no es posible, porque los dos isómeros pueden ser aislados y caracterizados (Figura 10).



**Figura 10.** Isómeros del 1-metilbencimidazol

### 2.2.2.1 Síntesis por el Método Phillips

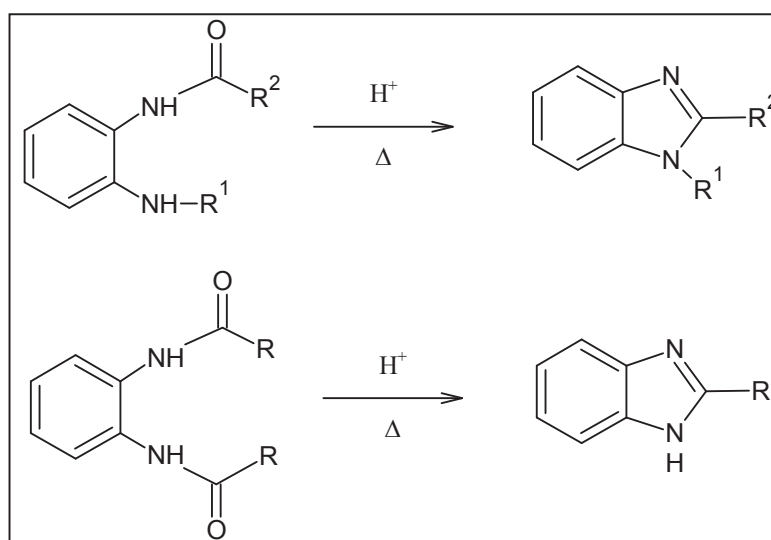
Es el método más importante de síntesis en la cual se ciclocondensa una *o*-feniléndiamina con ácidos carboxílicos o sus derivados. El bencimidazol puede hacerse con un 80% de rendimiento colocando una mezcla de *o*-feniléndiamina y ácido fórmico a temperatura ambiente por 5 días. A 100°C el proceso finaliza en 2 horas. Las condiciones de reacción son esenciales para obtener buenos rendimientos. Las condiciones más empleadas en el método de Phillips consiste en calentar los reactivos en presencia de ácido clorhídrico 4M (Figura 11)<sup>17</sup>.



**Figura 11.-** Método de Phillips para la síntesis de Bencimidazoles.

#### 2.2.2.2. Síntesis de Bencimidazoles a partir de *N*-acil y *N,N'*-diacil-*o*-feniléndiamina

Los Bencimidazoles pueden prepararse directamente a partir de monoacil-*o*-feniléndiaminas. La reacción se lleva a cabo por el calentamiento de la materia prima en presencia de ácido mineral, ácido acético o por calentamiento en solución alcohólica a reflujo (Figura 12).

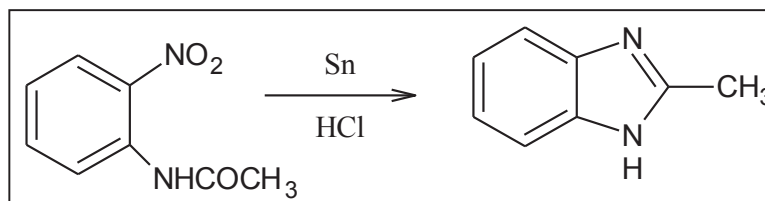


**Figura 12.-** Síntesis de Bencimidazoles a partir de *N*-acil y *N,N'*-diacil-*o*-feniléndiamina

Este método también puede ser aplicado cuando se reducen acil-*o*-nitroanilinas con estaño o algún otro agente reductor y ácido clorhídrico, produciendo la monoacil-*o*-feniléndiamina. Bajo las condiciones de reducción inmediatamente se realiza la ciclación. Este método se utiliza



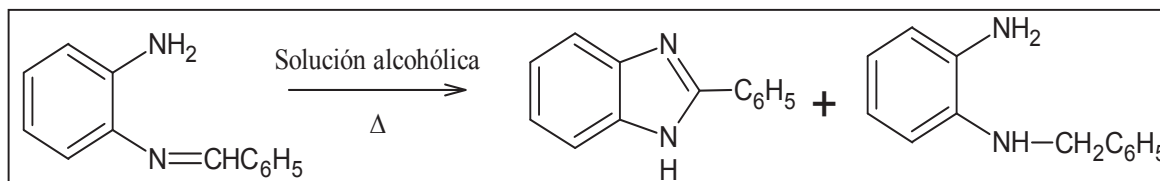
extensamente en la síntesis de 2-arilbencimidazoles, en conjunto con el método de Phillips constituyen los métodos más usados en la síntesis de Bencimidazoles.



**Figura 13.-** Síntesis de Bencimidazoles a partir de N-acil-o-nitroanilinas.

### 2.2.2.3. Síntesis de Bencimidazoles a partir de bases de Schiff

La preparación de Bencimidazoles usando aldehídos, se inicia con la formación de bases de Schiff de la o-feniléndiamina. La conversión de bases de Schiff mono alquiliden-o-feniléndiaminas a núcleo del bencimidazol implica oxidación y la reacción puede llevarse a cabo, por ejemplo, por la exposición prolongada de una solución en el aire, o por calentamiento a reflujo en una solución alcohólica o etérea de la base de Schiff. La conversión de mono alquiliden-o-feniléndiaminas a bencimidazoles puede ser realizada también con agentes oxidantes, tales como óxido de mercurio, acetato cúprico y tetra acetato de plomo (Figura 14)<sup>17</sup>.



**Figura 14.-** Síntesis del núcleo del bencimidazol a partir de bases de Schiff

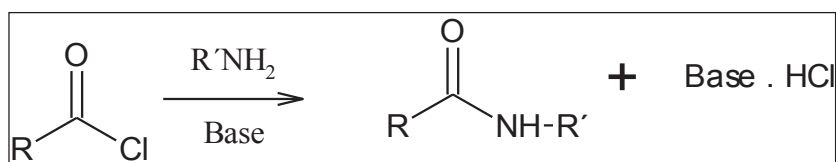
### 2.2.2.4. Métodos de Síntesis de Carboxamidas

La elaboración de estos compuestos resulta un poco difícil cuando directamente se hacen reaccionar ácidos carboxílicos y aminas, debido a que la reacción ácido-base entre ellos da como resultado la formación de la sal. Entre los procedimientos reportados para la preparación de las carboxamidas se han adoptado las condensaciones entre ácidos carboxílicos y aminas por diferentes vías, entre ellas está la activación del ácido mediante Cloruros de acilo o utilizando agentes acoplantes, o bien realizando ésteres.

#### 2.2.2.4.1. Vía cloruros de acilo

La formación de los cloruros de acilo (también llamados cloruros de ácido) es uno de los métodos más convenientes para activar un ácido carboxílico. Aunque hay numerosos cloruros de acilo comercialmente disponibles, cuando un cloruro en particular no se puede comprar, se prepara en el laboratorio calentando el ácido carboxílico con diversos agentes clorados en exceso para evitar la

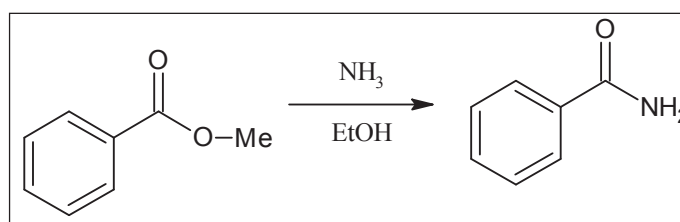
formación del anhídrido del ácido. Los agentes clorados más empleados son: cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ), cloruro de oxalilo ( $\text{COCl}_2$ ), tricloruro de fósforo ( $\text{PCl}_3$ ), oxiclóruo de fósforo ( $\text{POCl}_3$ ) o pentacloruro de fósforo ( $\text{PCl}_5$ ). El cloruro de acilo generado se libera del exceso del agente clorado y en un segundo paso se trata con la amina. Usualmente se requiere una base adicional para neutralizar el HCl formado y evitar la conversión de la amina en su sal no reactiva. El acoplamiento se realiza generalmente en disolventes inertes secos, en presencia de una amina terciaria no nucleofílica ( $\text{NEt}_3$ , DIPEA o *N*-metilmorfolina)<sup>17</sup>.



**Figura 15.-** Acoplamiento del cloruro de acilo con la amina

#### 2.2.2.4.2 Vía Ésteres

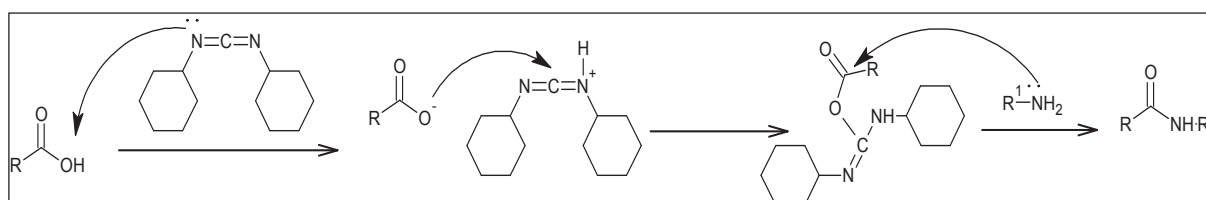
Los ésteres sufren sustitución nucleofílica en sus carbonos acílicos cuando se les trata con amoníaco o con aminas primarias y secundarias. Estas reacciones ocurren con más lentitud que las de los cloruros, por lo que generalmente no se utiliza<sup>17</sup>.



**Figura 16.-** Formación de Carboxamidas a partir de ésteres

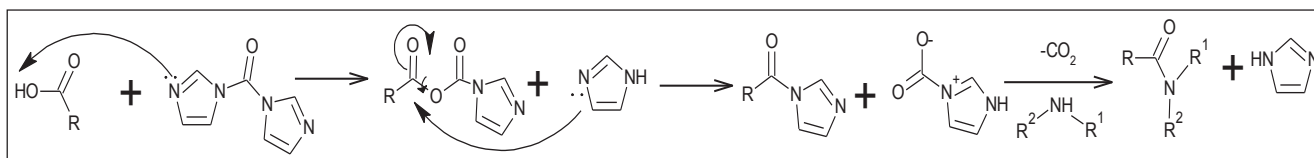
#### 2.2.2.4.3. Vía agentes acoplantes

Es un método excelente para la preparación de amidas y ácidos carboxílicos, se utiliza comúnmente la *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) como reactivo activante. Los rendimientos son generalmente elevados y las condiciones sumamente suaves como para permitir la utilización de este reactivo muy costoso en muchas síntesis de péptidos complejos (Figura 17).



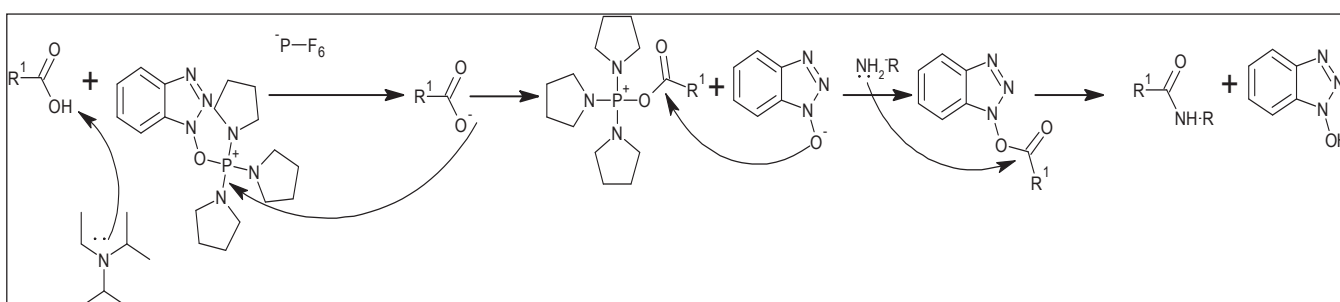
**Figura 17.-** Formación de carboxamidas empleando DCC como agente acoplante

Otra vía de preparación de carboxamidas, empleando un agente acoplante, consiste en la reacción de ácidos carboxílicos con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI). Su reacción conlleva a la formación de un intermediario imidazólico, al cual, posteriormente se le adiciona la amina, para finalmente producir la amida correspondiente. Este método reporta buenos rendimientos y el proceso es prácticamente fácil de realizar (Figura 18)<sup>17</sup>.



**Figura 18.-** Formación de carboxamidas empleando CDI como agente acoplante<sup>18</sup>.

Desde la década de 1970, un gran número de sales de fosfonio han sido desarrolladas para su uso como reactivos de acoplamiento directos. Ellos tienen la ventaja de no generar subproductos guanidinicos. Un ejemplo de tales sales es el PyBOP cuyo reactivo es un sólido cristalino muy estable capaz de activar aminoácidos con cierto impedimento estérico. Todos los subproductos se eliminan fácilmente y los rendimientos son generalmente buenos, con pocas reacciones secundarias <sup>18</sup>.



**Figura 19.-** Formación de carboxamidas empleando PyBOP como agente acoplante<sup>18</sup>.

### 2.3. Modificación Molecular

La modificación molecular o estructural de un prototipo tiene por objeto optimizar su actividad biológica principal, a fin de tener:

- Fármacos más selectivos y así aumentar su actividad
- Reducir efectos colaterales
- Disminuir toxicidad
- Aminorar los problemas de formulación farmacéutica (solubilidad)
- Facilitar la obtención por síntesis

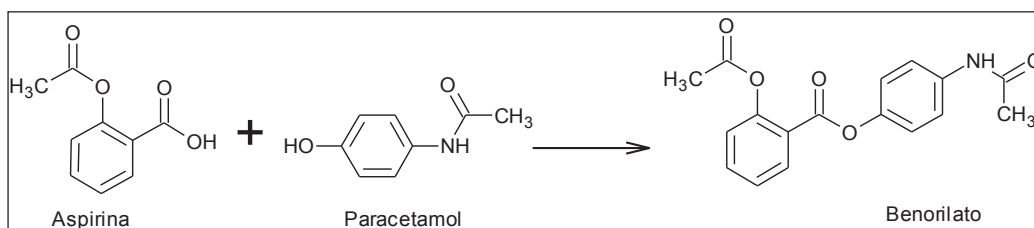
Este proceso de búsqueda de fármacos suele ser más productivo que estar ensayando sin una base suficientemente sólida nuevos compuestos aislados en la naturaleza o sintetizados en el laboratorio. Aunado a este ahorro de tiempo y esfuerzo, se suma la ventaja de ser económico, ya que tanto los métodos de síntesis como los ensayos farmacológicos de los análogos serán semejantes a los

utilizados para el compuesto de referencia. Incluso si no llegan a conseguirse análogos de gran actividad, las correlaciones cualitativas y cuantitativas que pueden establecerse entre las modificaciones estructurales realizadas y los datos de actividad biológica son de gran utilidad para avanzar en el conocimiento del grupo farmacóforo.<sup>19</sup>

Existen tres principales modalidades del procedimiento de Modificación Molecular

1) Simplificación del prototipo: es un método, conocido tradicionalmente como “variación estructural disyuntiva”, que se aplica fundamentalmente a productos naturales de estructura compleja. Aunque en algunos casos la simplificación de la estructura supone la pérdida de la actividad biológica, es frecuente que una porción estructural de prototipo posea su misma actividad (ejemplo la Morfina como prototipo y sus derivados: Metadona, Meperidina, Pentazocina y Levorfanol).<sup>19</sup>

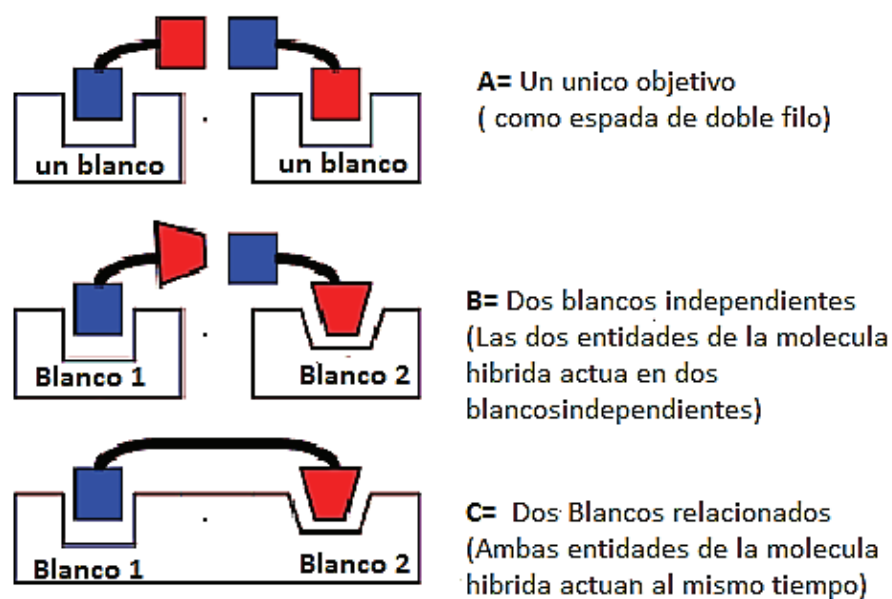
2) Asociación de 2 moléculas: es la asociación de 2 o más fármacos, a través de enlaces covalentes, para formar una nueva estructura que potencie la acción de ambos (fármacos gemelos o híbridos). Por ejemplo, el analgésico Benorilato que procede de la unión covalente de la aspirina y el paracetamol (Figura 19), Prizidilol (hidralazina con un  $\beta$ -bloqueador) y la Estramustina (Estradiol con una mostaza nitrogenada)<sup>19</sup>



**Figura 20.-** Compuesto obtenido por Hibridación molecular

Hibrido molecular: También llamadas moléculas híbridas o estructura quiméricas, y estas se definen como entidades químicas que tienen dos o más dominios estructurales que tienen diferentes funciones biológicas y por lo tanto doble actividad, lo que indica que una molécula híbrida actúa como dos farmacóforos distintos<sup>19</sup>.

Las moléculas híbridas con un modo de acción dual se pueden clasificar en tres categorías diferentes (ver **Figura 20**). La categoría A se refiere a que actúan en un único objetivo, es decir, las dos entidades de la molécula híbrida son capaces de interactuar con la diana. En la categoría B, las dos entidades de la molécula híbrida actúan de forma independiente en dos objetivos diferentes y no relacionados. La categoría C ambas porciones de la molécula híbrida actúan en una misma diana pero dentro de diferentes sitios de la misma y al mismo tiempo.<sup>19</sup>



**Figura 21.-** Representación de los tres posibles diferentes modos de interacción de las moléculas híbridas. (Imagen tomada y editada de la referencia 19)

3) Replicación moduladora: Consiste en la modificación sistemática de determinados grupos o porciones estructurales de la estructura modelo. Normalmente la actividad farmacológica del prototipo se mantiene, pero en algunos casos se descubre en un análogo con un nuevo perfil farmacológico. Esta metodología es la más utilizada para la optimización del prototipo<sup>18</sup>. Dentro de la modalidad de la Modificación sistemática hay criterios clásicos para la llevarla a cabo:

a) Homología y ramificación de cadena: Un homólogo de un compuesto determinado es el análogo a éste que resulta de la adición (o sustracción) de un carbono a una cadena o anillo.

b) Introducción o remoción de anillos: La adición de anillos en una estructura prototipo, conlleva en cierto grado a evadir algunas reacciones del metabolismo humano. También se ha comprobado, en muchas ocasiones, que la introducción de un sistema aromático extenso en una estructura capaz de provocar una respuesta por unión a un determinado receptor puede conducir a un antagonista de dicho receptor.<sup>18</sup>

c) Apertura y cierre de anillo: La apertura de anillos es una modificación habitual en la simplificación de un prototipo, por ejemplo la pentazocina puede considerarse un análogo de los benzomorfanos en el que se ha abierto un anillo. También es habitual la modificación contraria, es decir, el cierre de una cadena para formar un anillo, esta estrategia se ha utilizado con frecuencia para diseñar análogos más rígidos, a fin de reducir las rotaciones.<sup>18</sup>

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente la enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es considerada una de las enfermedades con mayor incidencia en América Latina, siendo un serio problema de salud pública en lo que respecta a nuestro país; debido a esto, se ha tenido la necesidad de incursionar en la investigación de los derivados del bencimidazol ya que demuestran tener actividad contra el parásito causante de la enfermedad.

En virtud de que los derivados del bencimidazol di o trisustituidos han mostrado tener actividad antiprotozoaria ¿Será posible obtener moléculas sustituidas con una actividad tripanocida igual e incluso mejor que los fármacos utilizados en la actualidad?

### 4. HIPÓTESIS

Si se emplea la estrategia de hibridación molecular utilizando diversas moléculas o grupos como sustituyentes en el núcleo del bencimidazol, se tendrán moléculas híbridas capaces de tener una mejor actividad tripanocida con respecto a los fármacos Nifurtimox y Benznidazol.

#### 4.1 Consideraciones para el diseño

Se ha reportado que fármacos antiparasitarios derivados del bencimidazol se hidroxilan fácilmente en posición 5/6 por medio del citocromo P450, ejemplo de ello es el Tiabendazol que es transformado a 5-hidroxi-tiabendazol; sustituciones con diferentes grupos en estas posiciones ayudan a proteger el benceno del anillo de bencimidazol, tal es el caso del Parabendazol que tiene grupos metilo en posición 5, sin embargo estos grupo metilo siguen siendo hidroxilados. El Cambendazol tiene un carbamato como sustituyente, en donde el metilo perteneciente del carbamato sigue siendo hidroxilado por citocromo P450. Fármacos como el Triclabendazol donde su sustituyente es un benceno diclorado, la hidroxilación se ve desfavorecida debido a la presencia de estos grupos presentes.

Tomando como premisa estos puntos y como parte de una búsqueda básica acerca de los requerimientos de la actividad antiprotozoaria y antihelmíntica, se sintetizaron 4 derivados del bencimidazol sustituidos en posición 5 con grupos carboxamida y carbohidrazida; con el fin de obtener moléculas estables en presencia del citocromo P450 u otras enzimas presentes en el metabolismo.

### 5. OBJETIVOS

#### 5.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar por métodos espectroscópicos y espectrométricos cuatro derivados del Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico con el propósito de perfilar moléculas con ciertas estructuras para generar una mejor actividad antiprotozoaria contra la Enfermedad de Chagas y contribuir al desarrollo de nuevos agentes antiparasitarios.

## 5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Síntesis de la *N'*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**6**)

5.2.2 Síntesis del 2-metil- *N'*-[(5-nitrofurán-2-il)carbonil]-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**7**)

5.2.3 Síntesis de la *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**8**)

5.2.4 Síntesis de la *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**9**)

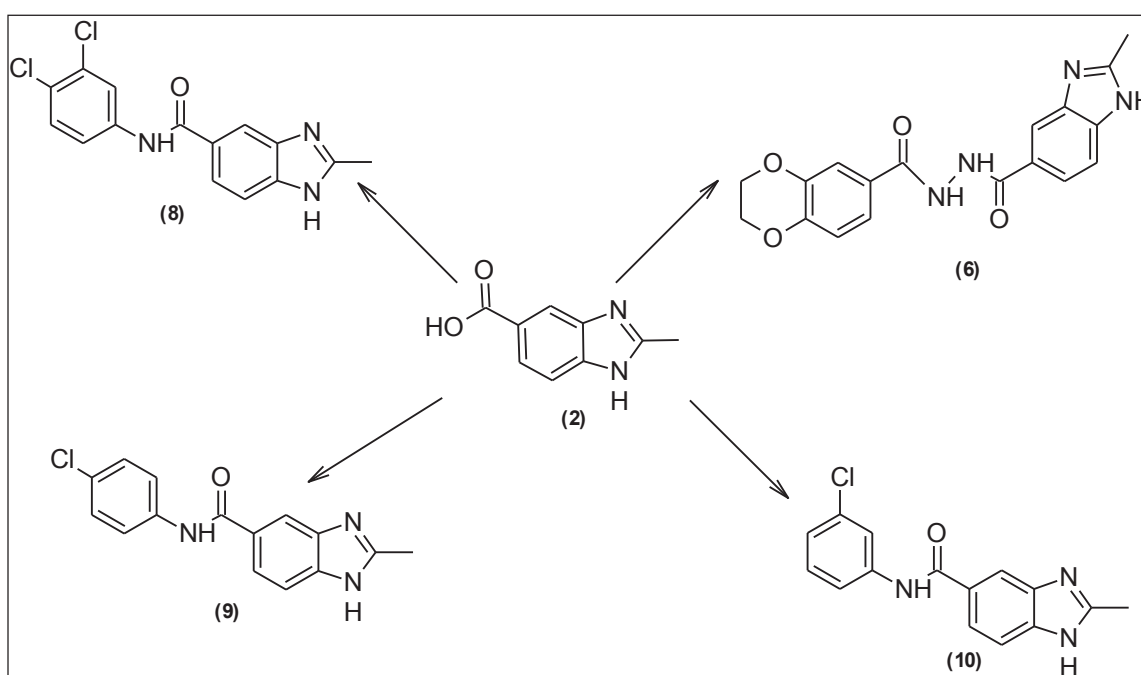
5.2.5 Síntesis de la *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**10**)

## 6. METODOLOGÍA

El presente bloque se ha fraccionado en dos partes: la parte química, en la que se describen los métodos sintéticos realizados para la preparación de los compuestos mencionados en los objetivos, y la parte biológica en la cual se mencionan las técnicas utilizadas de los ensayos de la actividad a la que fueron sometidos los compuestos finales. Los detalles de cada procedimiento sintético se muestran en el Apéndice I.

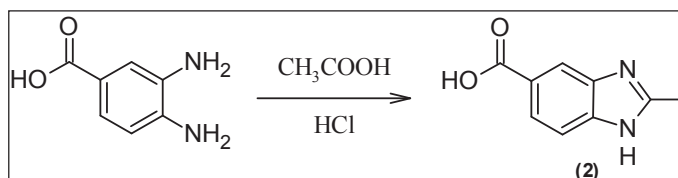
### 6.1 Parte Química

Para la síntesis de los compuestos **6**, **8**, **9** y **10**, primero se sintetizó el ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**2**), compuesto que es considerado como materia prima de partida para la posterior obtención de los compuestos finales; esto es ejemplificado en el Esquema 6.1.



**Esquema 6.1** Derivados del Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico

#### 6.1.1 Síntesis del Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**2**)



**Esquema 6.1.1** Síntesis del compuesto (**2**)

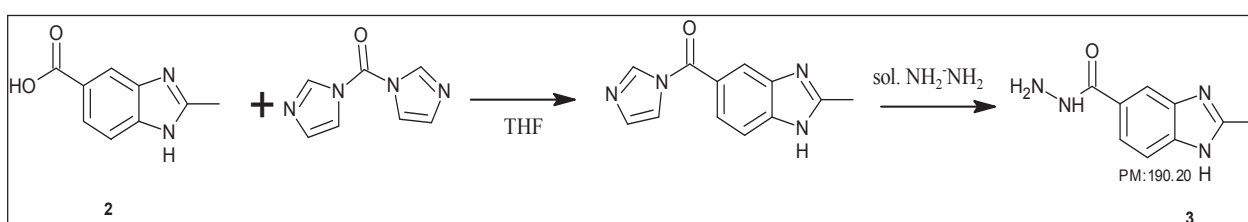
La síntesis consistió en partir del ácido 3-4-diaminobenzoico comercial, el cual fue ciclado en condiciones ácidas (método de Phillips) para generar el compuesto ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-



carboxílico (**2**), usando ácido acético como disolvente y unas cuantas gotas de HCl como catalizador. Transcurridas 8 horas de reflujo, la mezcla se enfrió hasta alcanzar temperatura ambiente y se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> sólido. El sólido obtenido se separó por filtración al vacío obteniéndose un sólido color café, que fue purificado por decoloración con carbón activado.

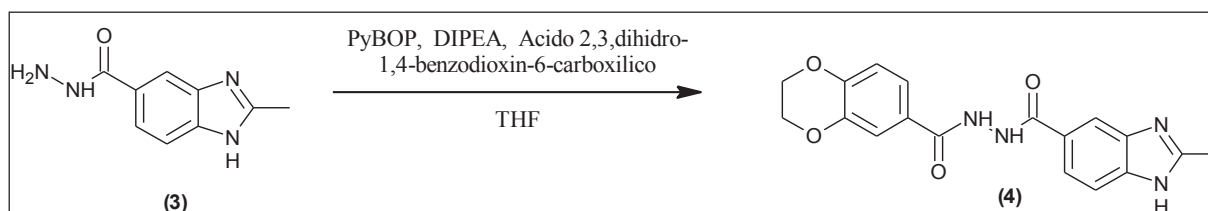
### 6.1.2 Síntesis de la 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carbohidrazida (**3**)

Para la síntesis de nuestro compuesto final (**6**), primeramente se obtuvo la carbohidrazida del ácido bencimidazólico (**3**); éste se sintetizó mediante la activación del compuesto (**2**) empleando como acoplante CDI y teniendo como disolvente THF. Al concluir la activación se prosiguió a la adición de solución de hidracina y después de transcurrir 8 horas se visualizó la formación de un sólido color café claro, que fue separado por filtración a vacío y secado durante 2 días; para así finalmente producir la correspondiente carbohidrazida del ácido de bencimidazol (**3**).



**Esquema 6.1.2** Síntesis del compuesto (**3**)

### 6.1.3 Síntesis de la *N*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**6**)



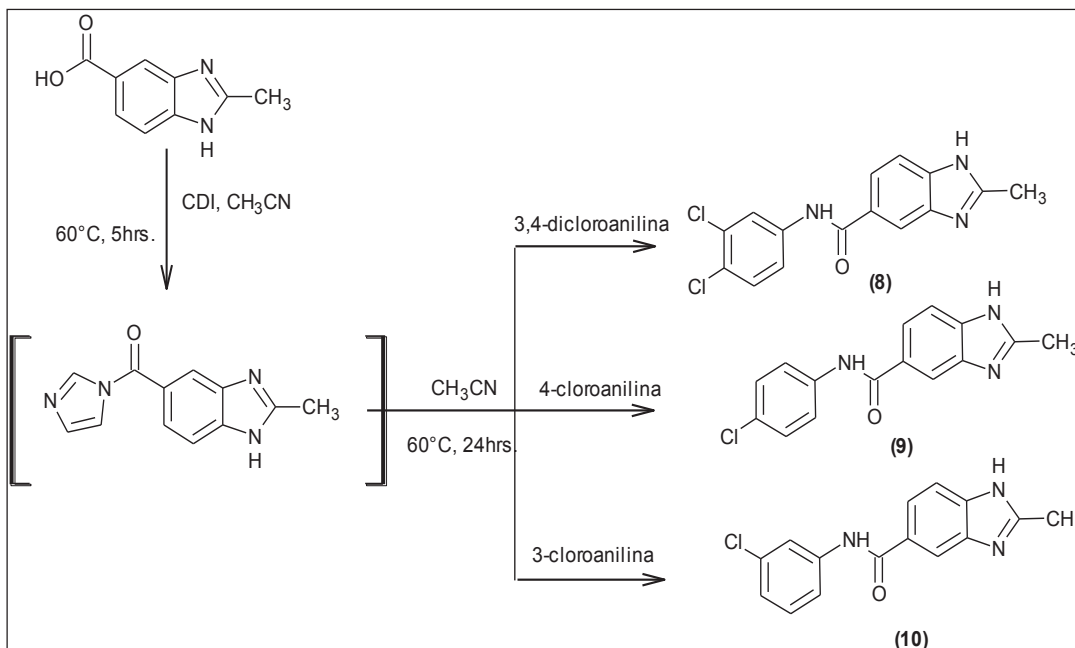
**Esquema 6.1.2** Síntesis del compuesto (**6**)

Para la obtención del compuesto final (**6**), primeramente se disolvió el compuesto intermediario (**3**) en THF y la reacción se colocó en un baño de hielo. Posteriormente se agregó el ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico, PyBOP y DIPEA, una vez añadido lo mencionado el baño de hielo fue retirado y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 h. La suspensión obtenida se separó por filtración, obteniéndose finalmente un sólido color beige que fue purificado mediante el uso de una columna de gel sílice.

### 6.1.4 Síntesis de las carboxamidas bencimidazólicas (**8**, **9** y **10**)

Los compuestos finales **6**, **8**, **9** y **10** son considerados carboxamidas, por lo que la metodología de síntesis es similar para todos ellos. La síntesis comenzó al activar al Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-

5-carboxílico (**2**), mediante el uso de CDI para dar un intermediario imidazólico, que posteriormente fue acoplado a las diferentes cloroanilinas. Para el caso del compuesto *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**8**) se usó la 3,4-dicloroanilina; para la obtención de la *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**9**) se empleó la 4-cloroanilina, y finalmente para la síntesis de la *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**10**) se utilizó la 3-cloroanilina. Todas las reacciones fueron llevadas a cabo en Acetonitrilo. En el esquema 6.1.3 se presentan las condiciones empleadas así como la ejemplificación de la metodología descrita.



**Esquema 6.1.3** Secuencia de síntesis de las carboxamidas finales **8**, **9** y **10**

## 6.2 Parte Biológica

La parte experimental correspondiente a este apartado fue realizada en la Escuela Nacional de Ciencias Biológica del Instituto Politécnico Nacional (ENCB-IPN) a cargo del Dr. Benjamín Noguera Torres.

### 6.2.1 Material y método utilizado para la Evaluación de la susceptibilidad in vitro para *Trypanosoma cruzi*

- Se utilizaron ratones de la cepa CD1 del bioterio de la ENCB-IPN.
- Se utilizaron los tripomastigotes de *T. cruzi* cepas NINOA del Departamento de Parasitología de la ENCB-IPN

A partir de las heces del triatomio *Meccus pallidipennis*, se mantuvieron los aislados de *T. cruzi*, y se inocularon en ratones por vía intraperitoneal. Después de 15 días, se revisaron diariamente la sangre de los roedores, obtenida por un pequeño corte en la vena caudal, hasta detectar que la parasitemia se hiciera patente.

Posteriormente a un lote de 10 ratones, se les inocularon por vía intraperitoneal una cantidad de  $1 \times 10^4$  de tripomastigotes sanguíneos, los cuales eran provenientes de ratones infectados en los que se mantuvieron a los aislados de T cruzi. Los ratones se revisaron cada tercer día, obteniéndose una gota (5 mm) de sangre por medio de un pequeño corte en la vena caudal y se determinó la parasitemia por cuenta mediante el método de Pizzi. La virulencia se estableció a través de las curvas de parasitemia, observando la parasitemia máxima que alcanzó, mientras que la patogenicidad se registró a través de las posibles muertes de los ratones (Martínez et al., 2001). La sangre obtenida en el pico máximo de parasitemia de ratones infectados con los aislados de NINOA fue utilizada en los ensayos.

Las evaluaciones se realizaron en placas con 96 pozos. A cada uno de los pozos se les agregó 195  $\mu\text{L}$  de la sangre infectada ( $2 \times 10^6$  parásitos/ mL), e incorporaron 5  $\mu\text{L}$  de las soluciones de los compuestos a evaluar en DMSO a diferentes concentraciones: 5, 10,50 y 100  $\mu\text{L}$ . Las placas se mantuvieron a 4 °C por 24 h. La concentración de parásitos se evaluó usando un microscopio óptico a 40X por el método de Pizzi. La reducción de la concentración del parásito (lisis del parásito) se determinó en comparación con los parásitos sin tratar. El control positivo a la lisis de los protozoarios fue el Nifurtimox y el Benznidazol.

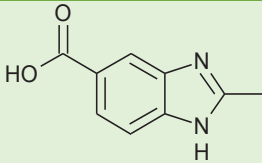
## 7. RESULTADOS

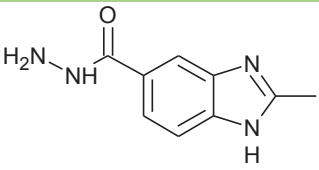
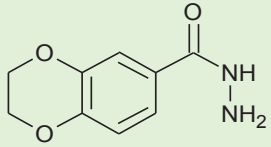
Para una mejor comprensión de los resultados obtenidos de este trabajo experimental, el presente apartado se ha dividido en 2 partes. La primera aborda los resultados químicos donde se presentan todos los datos fisicoquímicos, espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos sintetizados. La segunda parte consiste en la evaluación biológica, en donde se presentan los resultados de las pruebas de susceptibilidad in vitro contra *Trypanosoma cruzi*.

### 7.1. Parte química

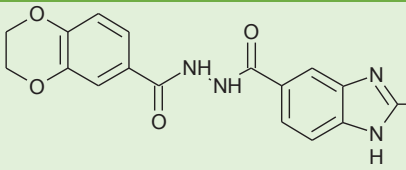
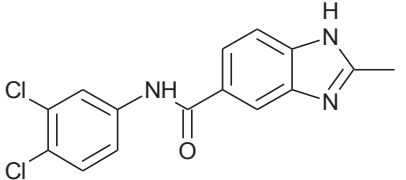
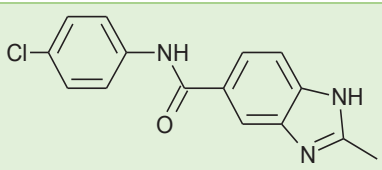
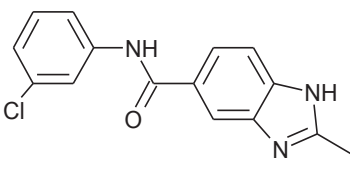
En la Tabla 1 se muestran los resultados arrojados de las constantes fisicoquímicas y rendimientos de los compuestos intermediarios sintetizados y en la Tabla 2 de los compuestos finales 6, 8,9 y 10 (Tabla 2). Por otro lado en la Tabla 3 se expone la información proporcionada por los datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos intermediarios y finales para la elucidación estructural.

**Tabla 1.-** Características fisicoquímicas y rendimientos de los compuestos intermediarios

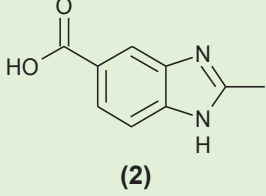
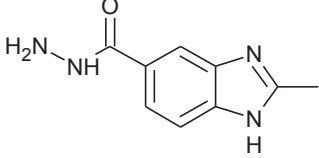
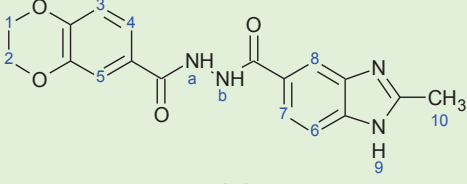
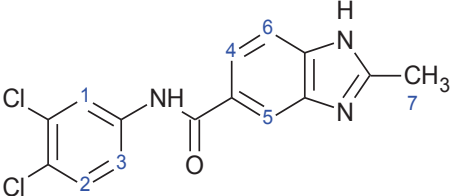
Compuesto	Estructura	pf (°C) Aspecto	R <sub>f</sub>	Rendimiento
2		302.1 -305.3 sólido color crema	0.25	98.9%

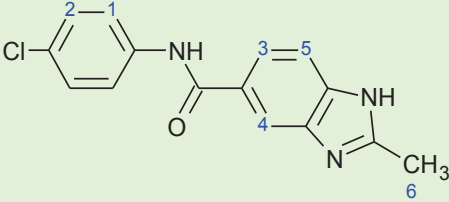
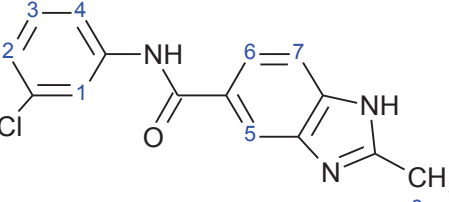
3		260.0 Sólido color café claro	0.27	71.3%
4		220.2 Sólido color beige	0.52	11.6%

**Tabla 2.-** Características fisicoquímicas y rendimientos de los compuestos finales.

Compuesto	Estructura	pf (°C) Aspecto	R <sub>f</sub>	Rendimiento
6		173-176 Sólido color café claro	0.35	80%
8		227-229 Sólido color crema	0.38	56.0%
9		243-245 Sólido color beige	0.46	68.0%
10		235-238 Sólido color crema - blanquecino	0.30	64.3%

**Tabla 3.-** Constantes espectroscópicas (IR, RMN <sup>1</sup>H) y espectrométricas (EM) de los compuestos intermedios sintetizados y finales.

COMPUESTO	DATOS ESPECTROSCÓPICOS Y ESPECTROMÉTRICOS
 <p style="text-align: center;"><b>(2)</b></p>	<p><b>Espectro 1. EM (FAB+):</b> 177 [M+1].</p> <p><b>Datos de RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz) (ppm):</b> 8.03 (d, 1H, J=0.6Hz, H-4), 7.74 (dd, 1H, J=1.2Hz, J=6.3Hz, H-6), 7.48 (d, 1H, J=6.3Hz, H-7), 2.49 (s, 3H, H de CH<sub>3</sub>).</p> <p><b>Datos de IR <math>\nu_{\max}</math> (Reflectancia/ATR) (cm<sup>-1</sup>):</b> 3320.57(N-H), 3106.18 y 1445.28 (CH<sub>3</sub>), 2495.62(R-COOH), 1631.68 (C=O)</p>
 <p style="text-align: center;"><b>(3)</b></p>	<p><b>Dato de EM (FAB+):</b> 191 [M+1].</p> <p><b>Datos de RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz) (ppm):</b> 12.46 (amplia, 1H, NH, int. D<sub>2</sub>O), 9.72 (amplia, 1H, NH, int. D<sub>2</sub>O), 7.99 (s, 1H, H-4), 7.67 (d, 1H, J=8.4Hz, H-6), 7.49 (d, 1H, J=8.4Hz, H-7), 4.48 (s, NH<sub>2</sub>, int. D<sub>2</sub>O), 2.5 (s, 3H, H de CH<sub>3</sub>).</p>
 <p style="text-align: center;"><b>(6)</b></p>	<p><b>Espectro 2. EM (FAB+):</b> 353[M+1].</p> <p><b>Espectro 3. RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz) (ppm):</b> 12.54 (amplia, 1H, H-9), 10.39 y 10.33 (Singuletes, 2H, H-ab), 8.06 (s, 1H, H-8), 7.71 (dd, 1H, J<sub>1</sub>=3 J<sub>2</sub>=6 H-4) 7.51 (d, 1H, J=6 H-7), 7.44 (s, 1H, H-5), 7.43 (d, 1H, J=3 H-6), 6.96 (d, 1H, J=6 H-3), 4.29 (m, 4H, H-1y2), 2.56 (s, 3H, H-10).</p> <p><b>Espectro 4. IR <math>\nu_{\max}</math> (Reflectancia/ATR) (cm<sup>-1</sup>):</b> 3206.35 (NH), 1621.89 (C=O), 1579.33 (NH) cm<sup>-1</sup>.</p>
 <p style="text-align: center;"><b>(8)</b></p>	<p><b>Espectro 5. EM (ID/IE):</b> 319(M<sup>+</sup>, 5%); 321 (M<sup>+</sup> +2, 3%); 323 (M<sup>+</sup> +4, 0.5%); 159(M<sup>+</sup> -160, 100%); 131(M<sup>+</sup> -188, 23%)</p> <p><b>Espectro 6. RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) (ppm):</b> 8.20(d, 1H, J=2.4, H-1), 8.15(d, 1H, J=1.2, H-5), 7.8(dd, 1H, J<sub>1</sub>=8.8 J<sub>2</sub>=2.4, H-3), 7.77(dd, 1H, J<sub>1</sub>=8.4 J<sub>2</sub>=1.2, H-4), 7.6 (d, 1H, J=8.8, H-2), 7.56 (d, 1H, J=8.4 H-6), 2.5 (s, 3H, H-7)</p>

	<p><b>Espectro 7. IR <math>\gamma_{\max}</math> (Reflectancia/ATR) (<math>\text{cm}^{-1}</math>):</b> &gt;3000(C-H arom), 3179.91(N-H de amida), 1654.22(C=O de amida), 1454.82(<math>\text{CH}_3</math>)</p>
 <p style="text-align: center;"><b>(9)</b></p>	<p><b>Espectro 8. EM (ID/IE):</b> 285(<math>\text{M}^+</math>, 9%); 287(<math>\text{M}^+ + 2</math>, 3%); 159(<math>\text{M}^+ - 126</math>, 100%); 131(<math>\text{M}^+ - 152</math>, 29%)</p> <p><b>Espectro 9. RMN<sup>1</sup>H (DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>, 400MHz) (ppm):</b> 8.13(d, 1H, <math>J=1.3</math>, <i>H-4</i>), 7.85(d, 2H, <math>J=8.9</math>, <i>H-2</i>), 7.7(dd, 1H, <math>J_1=8.4</math> <math>J_2=1.6</math>, <i>H-3</i>), 7.54(d, 1H, <math>J=8.4</math>, <i>H-5</i>), 7.4 (d, 2H, <math>J=8.9</math>, <i>H-1</i>), 2.4 (s, 3H, <i>H-6</i>).</p> <p><b>Espectro 10. IR <math>\gamma_{\max}</math> (Reflectancia/ATR) (<math>\text{cm}^{-1}</math>):</b> &gt;3000(C-H arom), 3115.95(N-H de amida), 1652.80(C=O de amida), 1492.50(<math>\text{CH}_3</math>)</p>
 <p style="text-align: center;"><b>(10)</b></p>	<p><b>Espectro 119. EM (ID/IE):</b> 285(<math>\text{M}^+</math>, 9%); 287(<math>\text{M}^+ + 2</math>, 1%); 159(<math>\text{M}^+ - 126</math>, 100%); 131(<math>\text{M}^+ - 152</math>, 29%)</p> <p><b>Espectro 12. RMN<sup>1</sup>H (DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>, 400MHz) (ppm):</b> 10.35(s, 2H), 8.14(s, 1H, <i>H-5</i>), 8.01(s, 1H, <i>H-1</i>), 7.76(t=señales juntas 2H, <i>H-6</i>), 7.55(d, 1H, <math>J=8.2</math>, <i>H-4</i>), 7.37(t, 1H, <math>J=7.9</math>, <i>H-3</i>), 7.14(d, 1H, <math>J=7.5</math>, <i>H-2</i>), 2.53(s, 3H, <i>H-7</i>)</p> <p><b>Espectro 13. IR <math>\gamma_{\max}</math> (Reflectancia/ATR) (<math>\text{cm}^{-1}</math>):</b> &gt;3000(C-H arom), 3106.18 (N-H de amida), 1631.68(C=O de amida), 1445.28 (<math>\text{CH}_3</math>)</p>

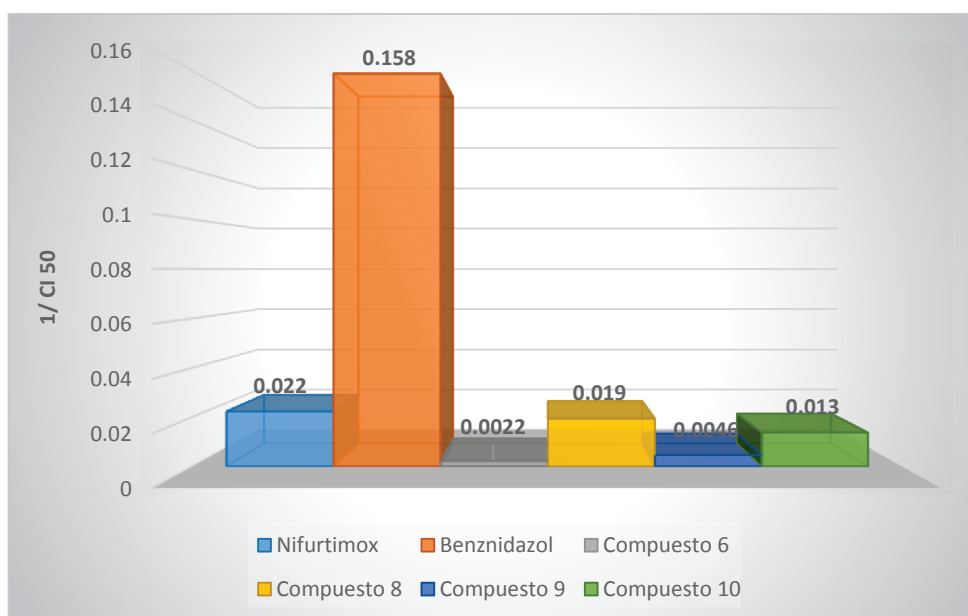
## 7.2 Parte Biológica

A continuación se presentan los datos biológicos arrojados tras la evaluación in vitro del efecto tripanocida de los compuestos finales **6**, **8**, **9** y **10** empleando como fármacos de referencia al Nifurtimox y al Benznidazol, contra las formas sanguíneas de la cepa NINOA de *Trypanosoma cruzi*. Los resultados fueron obtenidos como porcentaje de lisis (**Tabla 7.2.1**) y posteriormente fueron convertidos y expresados a valores de  $\text{Cl}_{50}$  mediante un análisis Probit para su mayor visualización (**Tabla 7.2.2**).

**Tabla 7.2.1** Resultados de actividad tripanocida (Porcentaje de lisis) *in vitro* sobre formas sanguíneas de la cepa NINOA de *Trypanosoma cruzi*.

µg/mL	% de Lisis					
	Nifurtimox	Benznidazol	Compuesto 6	Compuesto 8	Compuesto 9	Compuesto 10
5	12.6	46.1	0.2	10.1	5	15.2
10	30.2	56	1.1	30.2	10.3	29.3
50	56.5	59.3	8.1	50.1	24.4	45.2
100	60.9	62	19.3	59.2	39.1	53.4

**Tabla 7.2.2** Datos de  $1/CI_{50}$  de los compuestos finales 6, 8,9 y 10 sintetizados frente a los fármacos de referencia



## 8. DISCUSIÓN

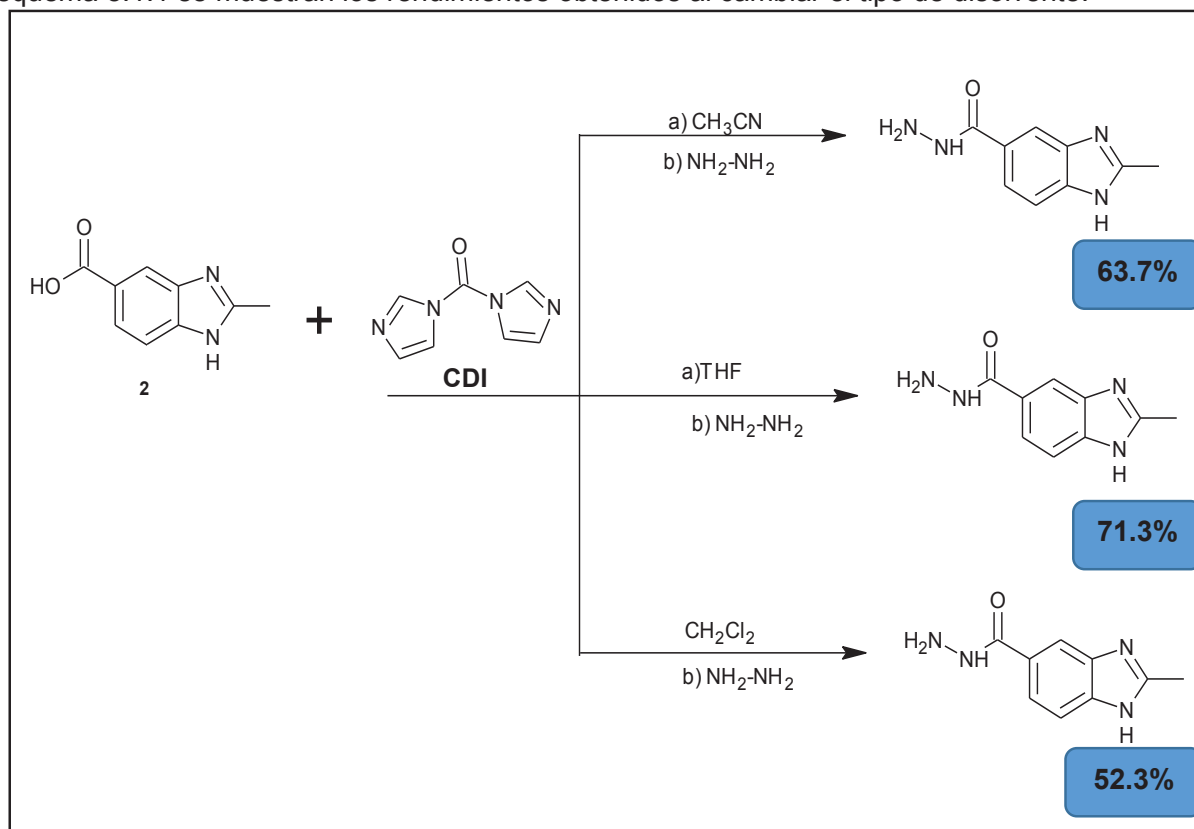
### 8.1 Parte Química

#### ❖ Síntesis y caracterización del Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**2**),

Para la obtención del compuesto (**2**), se usó como materia prima el ácido 3-4-diaminobenzoico comercial, el cual fue ciclado en condiciones ácidas (método de Phillips) puesto que se empleó ácido acético como medio de reacción; la reacción finalizada fue precipitada con NaHCO<sub>3</sub> sólido y filtrada a vacío, obteniéndose un sólido color café, que fue purificado por decoloración con carbón activado, dando origen al compuesto (**2**) con excelentes rendimientos (98.9%). Dicho compuesto, al ser punto de partida para la síntesis de los derivados bencimidazólicos (**6,8, 9** y **10**) fue caracterizado mediante IR, RMN de <sup>1</sup>H y EM (FAB<sup>+</sup>), así mismo se aseguró la pureza. El espectro IR mostró una señal en 3320.57 en forma de una banda aguda perteneciente al estiramiento N-H del imidazol, una señal amplia en 2495.62 característica del grupo hidroxilo del ácido, y una señal en 1631.68 correspondiente al carbonilo del ácido. Este espectro se obtuvo solo para confirmar el producto de la reacción, puesto que la obtención del producto está previamente comprobada en la referencia 7, y como dato se dice que solo puede dar dicho compuesto.

#### ❖ Síntesis de la 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carbohidrazida (**3**)

Como se hizo mención en la metodología, para producir el compuesto final (**6**) previamente se tuvo que sintetizar la carbohidrazida del ácido del bencimidazol (**3**), lográndose mediante la activación del Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**2**) empleando CDI, y utilizando diferentes disolventes con el fin de obtener mejores rendimientos, puesto que en el primer intento de síntesis utilizando CH<sub>3</sub>CN el rendimiento fue pobre, esto debido probablemente a la solubilidad del compuesto (**2**). En el esquema 8.1.1 se muestran los rendimientos obtenidos al cambiar el tipo de disolvente.



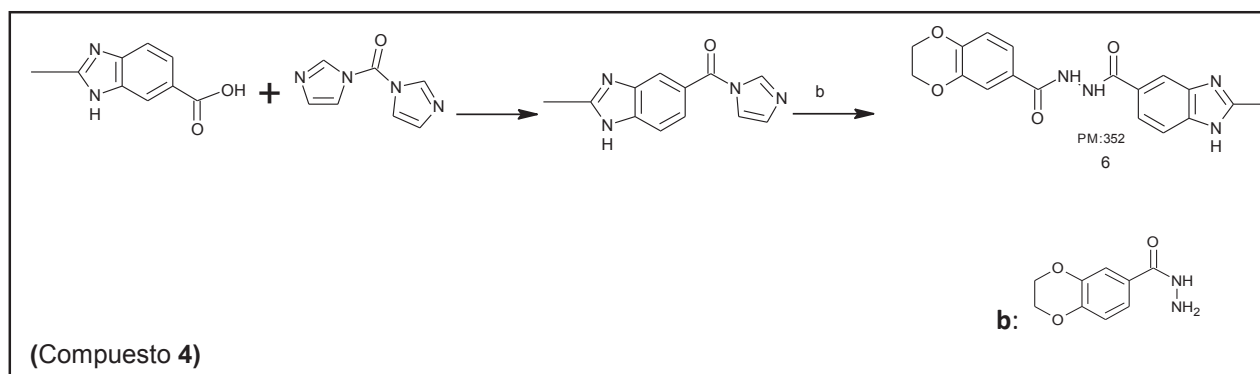


### Esquema 8.1.1. Ruta sintética y disolventes empleados para la síntesis del compuesto (3)

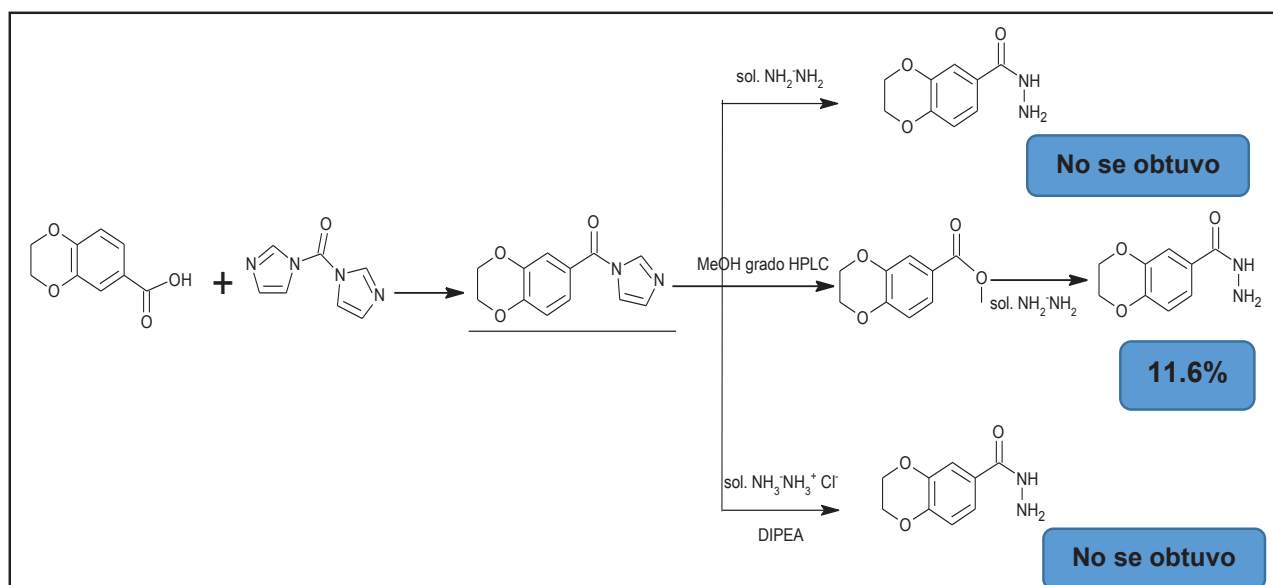
El compuesto fue elucidado por técnicas espectrométricas y espectroscópicas, en donde el espectro RMN  $^1\text{H}$  y EM comprobó la estructura química del respectivo compuesto (3).

#### ❖ Síntesis del 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carbohidrazida (4)

Para producir el compuesto (6) de una forma alterna tal como se muestra en el Esquema 8.1.2, se sintetizó el compuesto intermediario (4), para que finalmente este sea acoplado al intermediario imidazólico formado gracias al CDI; sin embargo los intentos por sintetizar al compuesto intermediario (4) fueron bastantes exhaustivos, puesto que se intentaron 3 metodologías diferentes para obtenerlo, y solo una de ellas se logró con éxito pero con un insignificante rendimiento (Esquema 8.1.3). Por lo que se descartó la idea de sintetizar al compuesto (6) por esta vía que requería al compuesto intermediario (4).



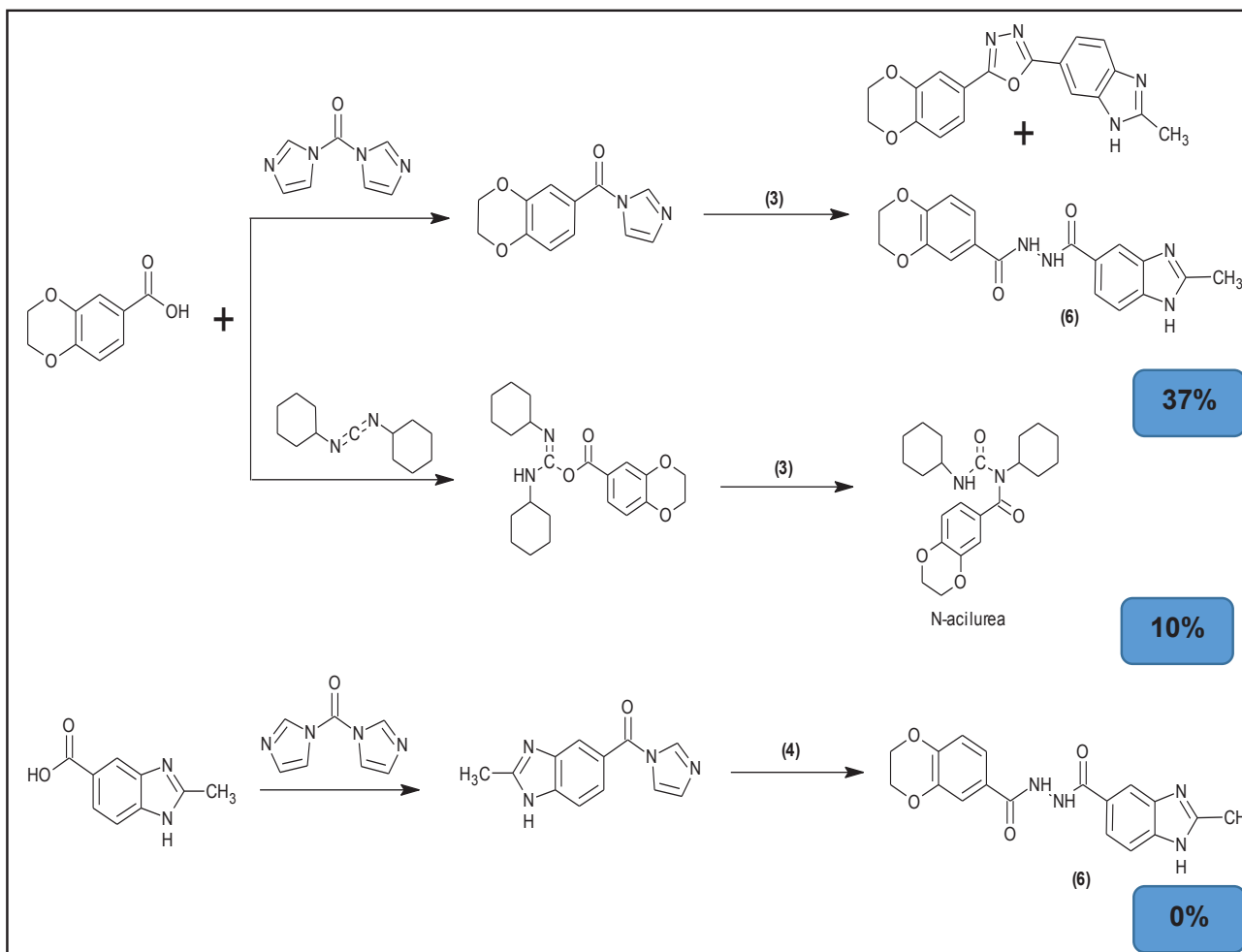
Esquema 8.1.2 Alternativa de síntesis para el compuesto (6)



Esquema 8.1.3 Vías sintéticas empeladas para la producción del compuesto (4)

❖ Síntesis y caracterización de la *N'*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonyl)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**6**)

La obtención del compuesto (**6**), se logró con buenos rendimientos siguiendo la metodología descrita en el esquema 6.1.2, sin embargo en la búsqueda de obtener mejores rendimientos, se utilizó diferentes agentes acoplantes así como también se modificó la ruta sintética establecida generando diversos rendimientos, tal como se muestra en el esquema 8.1.4.



**Esquema 8.1.4** Rutas sintéticas y acoplantes empleados para la síntesis del compuesto (**6**)

En vista de que los rendimientos eran bajos, se optó solo utilizar la vía sintética descrita en el esquema 6.1.2 empleando como agente acoplante PyBOP, puesto que como ya se mencionó generó buenos rendimientos (80%); el compuesto (**6**) sintetizado por esta vía mostro en el espectro IR una señal amplia en  $3206.35\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo N-H y una segunda señal en  $1579.33\text{ cm}^{-1}$  asegurando tal estiramiento, en  $1621.89\text{ cm}^{-1}$  una banda aguda perteneciente al estiramiento C=O. El Espectro RMN<sup>1</sup>H exhibe una señal amplia en 12.54 ppm perteneciente al grupo NH del anillo del imidazol, dos Singuletes seguidos que corresponden a los grupos NH de la doble Carbohidrazida en 10.39 y 10.33 ppm, una señal de singulete en 8.06 ppm del Hidrogeno 8, un doble de doble en 7.71 ppm del H-4 que se acopla con el H-1y H-3, en 7.51 ppm se ve un doblete correspondiente al H-7, un singulete en 7.44 ppm del H-5, en 7.43 ppm un doblete del H-6, un último doblete que pertenece al H-

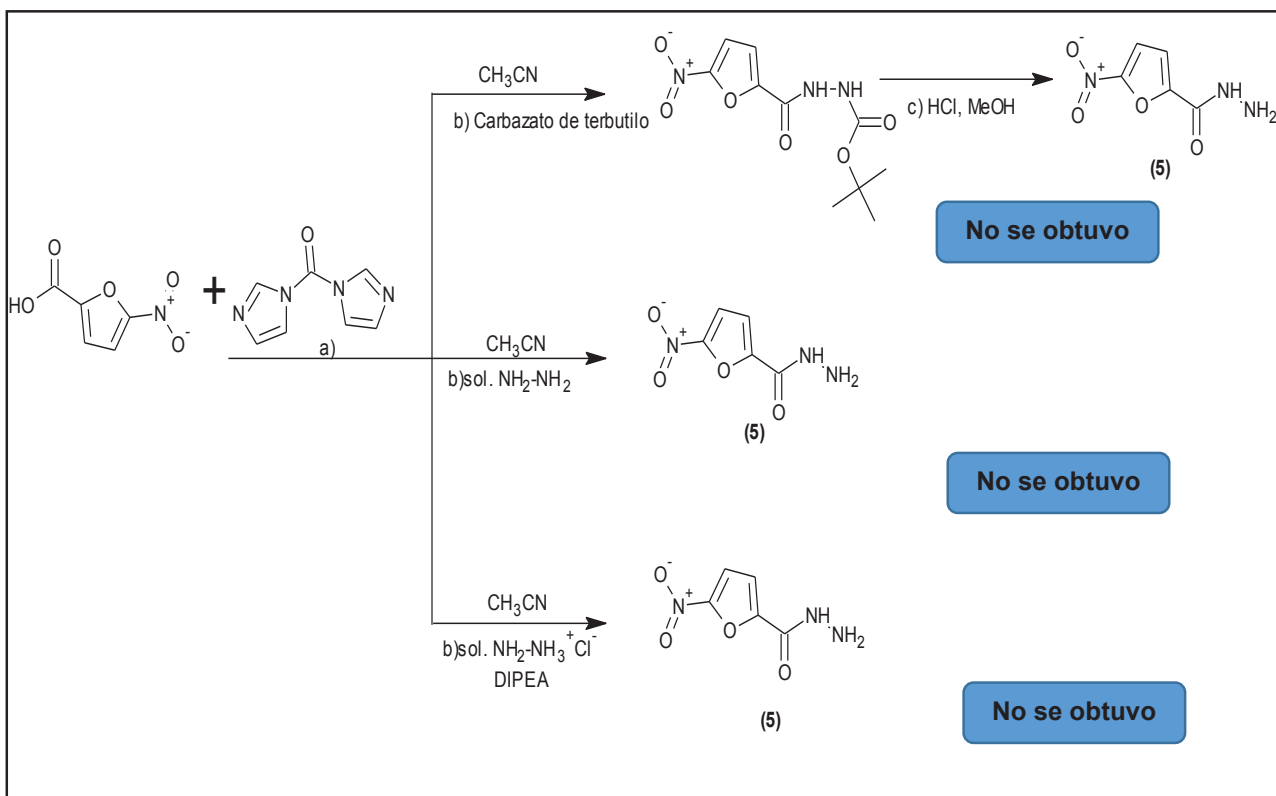
3, una señal de multiplete de los Hidrógenos 1 y 2 que integran para 4 hidrógenos debido a la presencia de CH<sub>2</sub> y como última señal se presenta el singulete clásico del grupo metilo en 2.56 ppm.

❖ Síntesis del 2-metil- *N'*-[(5-nitrofurano-2-il)carbonil]-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**7**)

Con la intención de adquirir diferentes compuestos con propiedades antiparasitarias, basándonos en ciertas estructuras establecidas que generan daño tripanocida, nos vimos a la tarea de sintetizar una molécula con porciones químicas que generaran especies reactivas, como en el caso del Nifurtimox; siendo el grupo nitrofurano claro ejemplo de liberar tales especies.

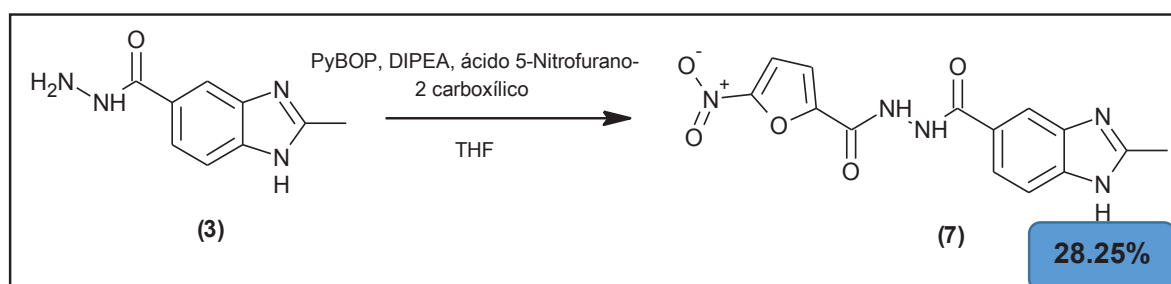
Para la síntesis del compuesto final (**7**) el cual incluye en su estructura al grupo nitrofurano, previamente se tuvo que sintetizar la Carbohidrazida del ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico (**5**), con el fin de integrar esta porción a la molécula de ácido del benzimidazol (**2**) empleando algún agente acoplante y obtener así el compuesto (**7**); sin embargo los esfuerzos realizados para obtener al compuesto (**5**) fueron nulos, ya que nunca se obtuvo este compuesto intermediario. El fracaso pudo deberse probablemente a que el Carbono del ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico es poco electrofílico debido a la presencia de un grupo electroattractor en su estructura, provocando que el ataque nucleofílico por parte del CDI (Nucleófilo) sea débil y por consecuencia no se forme el intermediario imidazólico (en su mayoría), el cual su existencia es esencial para que la amina pueda sustituir y generar al compuesto deseado.

En el esquema 8.1.5 se muestra la ruta seguida y las diferentes condiciones establecidas para lograr la síntesis de 5-nitrofurano-2-carbohidrazida (**5**).



**Esquema 8.1.5** Ruta sintética empleada con diversas condiciones para la obtención del compuesto (**5**)

A pesar de los fracasos en la tentativa de producir el compuesto (5), se implementó otra vía sintética en la cual no se usara dicha molécula y se obtuviera al compuesto final (7); esta vía consistió en acoplar al ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico con el compuesto (3) previamente obtenido y caracterizado, mediante el uso del agente acoplante PyBOP en el disolvente THF. Al término de 12 horas de reacción, fue tratada la mezcla y al finalizar el proceso se obtuvo un sólido color marrón el cual fue elucidado por RMN de  $^1\text{H}$ , comprobando la presencia de la estructura deseada y concluyendo la exitosa producción del compuesto final (7). La metodología mencionada anteriormente se describe en el esquema 8.1.6 así como también se indica el rendimiento obtenido del compuesto.



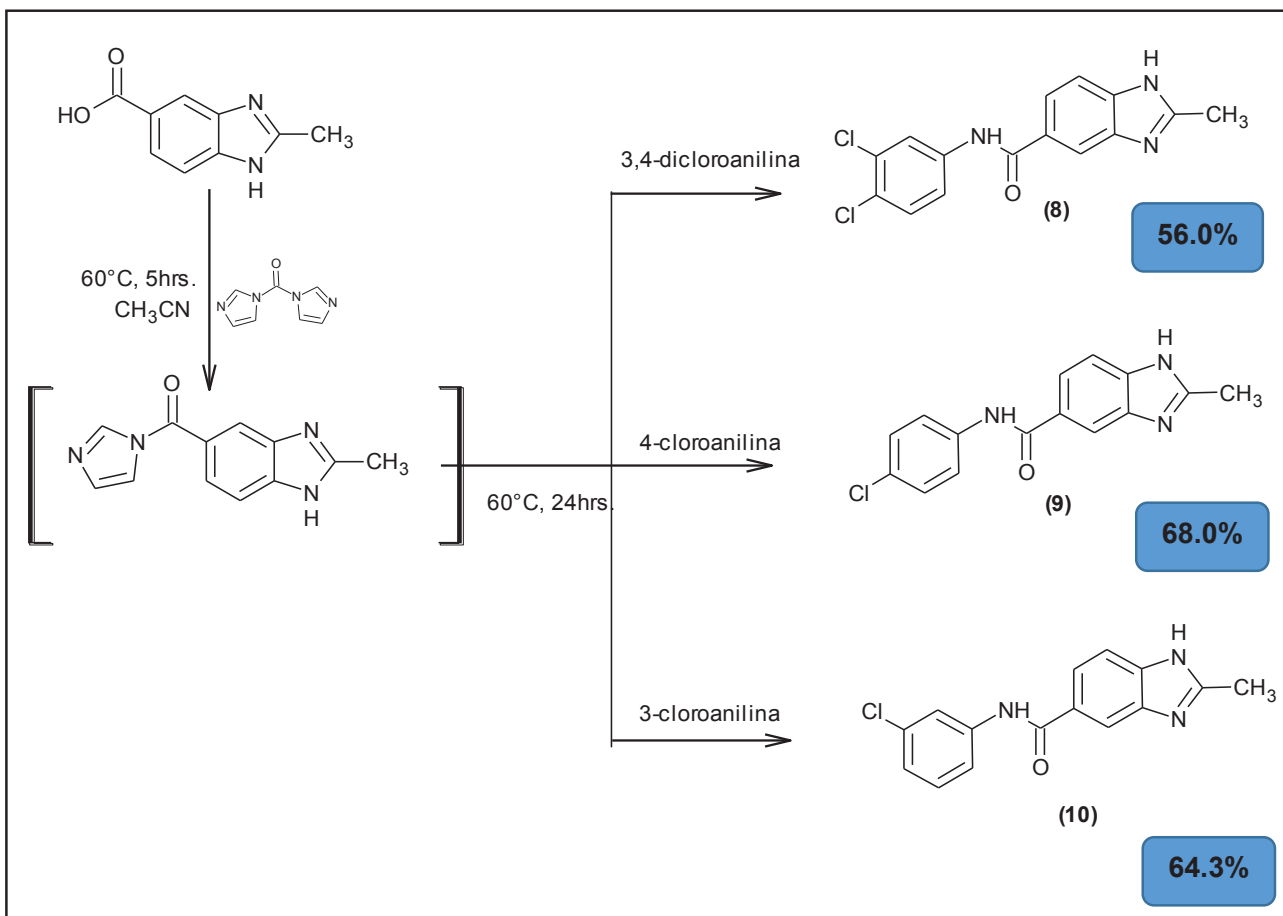
**Esquema 8.1.6** Vía sintética implementada para la obtención del compuesto (7)

Posteriormente al aumentar la escala de producción del compuesto, éste no volvió a adquirirse, puesto que se intentó sintetizar más de 4 meses, probablemente a factores como la calidad del acoplante u errores técnicos durante el proceso de síntesis.

#### ❖ Síntesis de las carboxamidas bencimidazólicas (8, 9 y 10)

Las carboxamidas finales (8, 9 y 10) se sintetizaron de la misma manera, empleando como activador y agente acoplante al CDI, y utilizando la misma materia prima que es el Ácido 2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico (2). Las cloroanilinas agregadas difieren en su estructura para dar los diversos compuestos finales, cabe mencionar que los rendimientos fueron diferentes aun siguiendo la misma metodología, esto probablemente a la presencia de la cantidad y posición del átomo de Cl.

El protocolo establecido para la síntesis de las carboxamidas finales se muestra en el esquema 8.1.7.



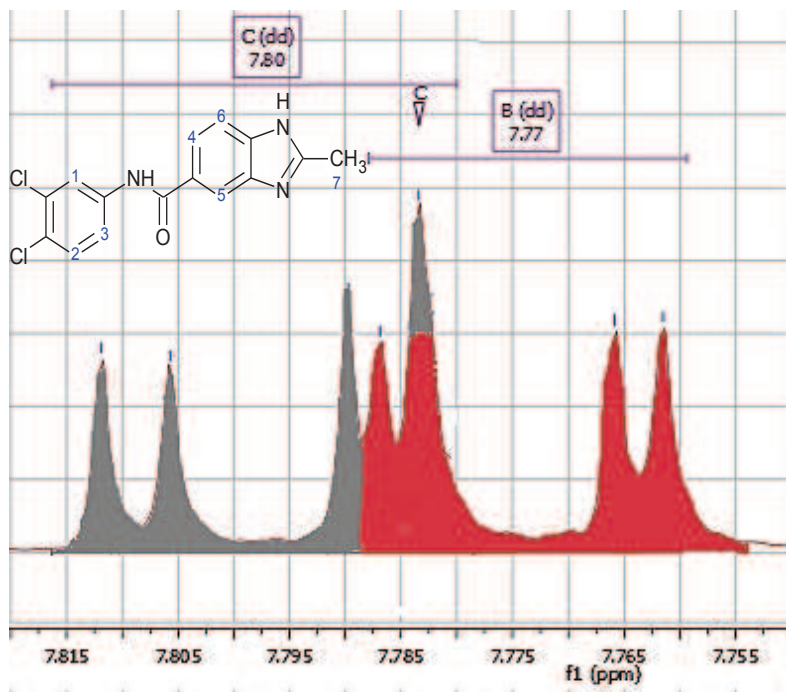
**Esquema 8.1.7** Vía sintética implementada para la obtención del compuesto (7)

Los espectros de IR para el compuesto (8) exhiben señales contundentes de la presencia de los grupos funcionales principales, en regiones  $>3000\text{ cm}^{-1}$  se presenta el estiramiento C-H del anillo aromático, en  $3179.91\text{ cm}^{-1}$  corresponde al N-H de la amida, en  $1654.22\text{ cm}^{-1}$  se observa el estiramiento C=O también de la amida, y en  $1454.82\text{ cm}^{-1}$  se presenta la señal del grupo  $\text{CH}_3$  de la molécula.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  fueron vistas señales claras de cada hidrogeno presente, sin embargo las señales de los hidrógenos 3 y 4 no se mostraban tan evidentes puesto que se superpusieron en una misma zona y el análisis fue el siguiente: para el Hidrógeno 3 se debe ver una señal doble de dobles puesto que se ve acoplado por el H-1 y el H-2, así pues para identificar su señal se determinaron las constantes de acoplamiento por separado de H-1 así como de H-2 ( $J_1=2.4$  y  $J_2=8.8$  Hz respectivamente) y se buscó que señales coincidían con esas constantes ya determinadas, así pues se escudriñó en las señales superpuestas y al final se visualizó que efectivamente estaba presente la señal de doble de dobles junto con las constantes de acoplamiento perfectamente coincidentes con las constantes previamente asignadas; en la figura 8.1.8 en la zona iluminada de color gris se muestra la señal del H-3.

La elucidación de la señal del Hidrógeno 4 fue de la misma manera que para el hidrógeno 3; el H-4 también proyecta una señal doble de doble por el acoplamiento del H-5 y el H-6, así pues para identificar la señal del hidrogeno 4, se determinaron primeramente las constantes de acoplamiento de

los hidrógenos 5 y 6 ( $J_5=1.2$  y  $J_6=8.4$  Hz), esto para hallar que señales coincidían con esas constantes y asignar correctamente el doble de dobles perteneciente a H-4. En la figura 8.1.8 se observa la señal doble de dobles iluminada en color rojo correspondiente al H-4.

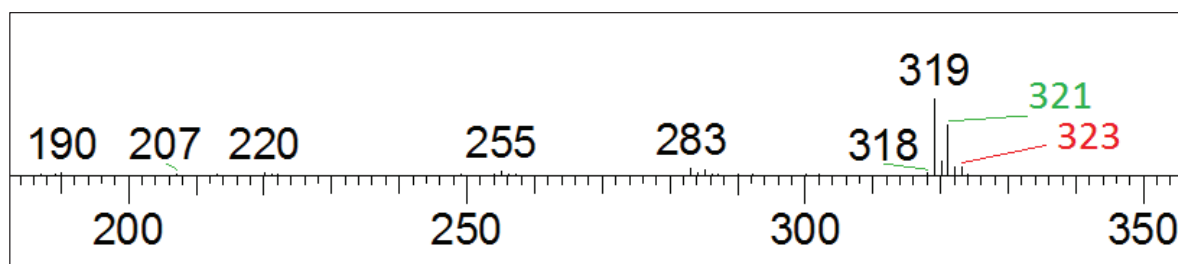


**Figura 8.1.8** Señales superpuestas y proyectadas por los Hidrógenos 4 y 5 del compuesto (8).

\*Zona roja: señal de H-4 en 7.77 ppm, doble de dobles ( $J_5=1.2$  y  $J_6=8.4$ )

\*Zona gris: señal de H-3 en 7.80 ppm, doble de dobles ( $J_1=2.4$  y  $J_2=8.8$ )

El espectro de masas se realizó mediante la técnica de IE, y la interpretación fue la siguiente: se visualizó el ion molecular de nuestro compuesto 8 en  $m/z$  de 319 con una abundancia del 5% aludiendo a que el ion molecular generado es poco estable, también se observó dos picos en  $m/z$  de 321 y 323 con una abundancia de 3% y 0.5% respectivamente, estas señales son por la disustitución del Cloro en la molécula, el pico en  $m/z$  de 323 no se visualiza bien, ya que es muy pequeño pero en el **esquema 8.1.9** se señala y se escribe claramente la ubicación de ambos picos correspondientes a la sustitución diclorada.



**Esquema 8.1.9** Picos de las señales del compuesto diclorado en  $m/z$  de 321 (verde) y 323 (rojo)

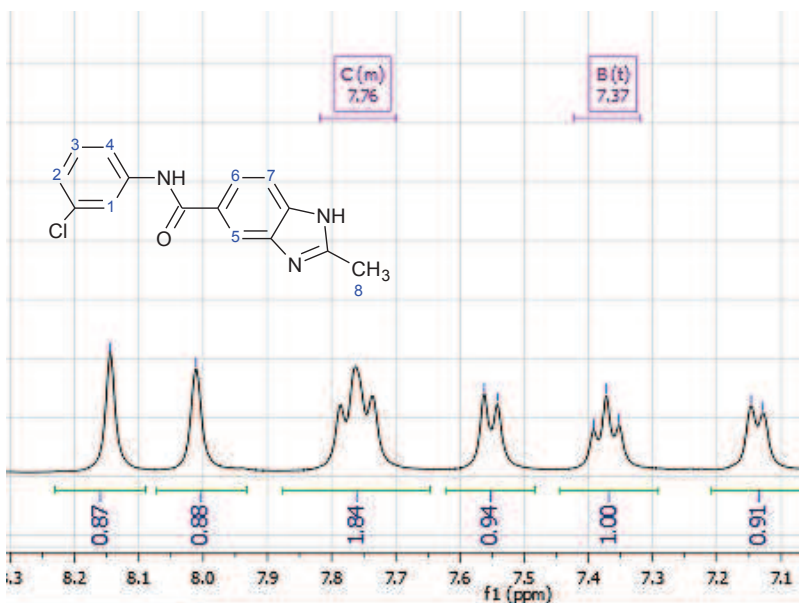
El espectro IR del compuesto (9) mostró las señales correspondientes a los grupos funcionales presentes en la molécula, en  $3115.95\text{ cm}^{-1}$  una banda ancha perteneciente al estiramiento N-H y una segunda banda del estiramiento C=O, ambas señales de la amida; por arriba de  $3000\text{ cm}^{-1}$  se observa

una señal referente a los C-H aromáticos y en  $1492.50\text{ cm}^{-1}$  se encuentra el estiramiento del grupo metilo.

La elucidación por RMN  $^1\text{H}$  fue bastante minuciosa, ya que el espectro de nuestra molécula revelaba ser un sistema AA'XX' y consecuentemente no tratarse de un sistema de primer orden; teniendo la premisa anterior la interpretación fue la siguiente: se observa un total de 6 señales, en 8.13 ppm un doblete que corresponde al H-4, otra doblete en 7.85 ppm el cual integró para 2 hidrógenos que corresponden a H-2, en 7.7 ppm un doble de doble que pertenece al acoplamiento del H-3, un doblete en 7.54 ppm del H-5, en 7.4 ppm un doblete que integra para 2 hidrógenos que pertenecen al H-1 y por último un singulete en 2.5 ppm concierne al H-6 del grupo metilo.

Respecto al espectro de masas realizado por la modalidad de IE, se observó claramente la presencia del ion molecular, el cual corresponde exactamente al peso molecular del compuesto **8** en  $m/z$  de 285 y una abundancia del 9% porcentaje que nos dice que el ion es poco estable, también se observa el ion M+2 en  $m/z$  de 287 debido a la presencia del cloro (isotopía), iones de M-126 en  $m/z$  de 159 como pico base y M-154 en  $m/z$  de 131 correspondientes a los fragmentos generados por la ruptura del enlace carboxamida.

Finalmente el compuesto (**10**) también fue caracterizado por los mismos métodos espectroscópicos y espectrométricos, dando por IR las siguientes señales:  $>3000\text{ cm}^{-1}$  estiramientos de C-H de los anillos aromáticos, en  $3115.95\text{ cm}^{-1}$  estiramientos correspondientes al grupo N-H de la amida presente y una segunda banda en  $1642.80\text{ cm}^{-1}$  del estiramiento C=O igualmente de la amida y por último una señal en  $1492.50\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo metilo. En RMN  $^1\text{H}$  se obtuvo un espectro relativamente fácil de elucidar, ya que en el espectro predicho de la molécula era muy parecido al real, así pues las señales leídas y sus observaciones fueron las siguientes: una señal de singulete en 8.14 correspondiente al H-5, debido a que la frecuencia utilizada y probablemente a la concentración de la muestra entre otros factores, imposibilitaron el acoplamiento con hidrógenos localizados en meta y para dando así una señal como si el H-5 no tuviera a su alrededor más hidrógenos; en 8.01 ppm se observa de nuevo un singulete del H-1 debido al corto alcance para acoplarse a los hidrógenos de su alrededor localizados en meta, básicamente es la misma causa que se mencionó para el caso del H-5, en 7.76 ppm se observa una señal con perfil de triplete (ver figura 8.1.9, letra C) sin embargo no lo es, ya que en aquella señal está realmente incluido un doble de dobles del H-6 puesto que esta acoplado con el H-7 y H-5, estos hidrógenos al tener un ambiente químico muy parecido, el espectro junta cada señal generada por aquellos hidrógenos, proyectando así la señal en forma de triplete, la integración de dicha señal es de 2, y esto se puede explicar a la sobre posición de otro Hidrógeno localizado en la otra parte de la molécula; en 7.55 ppm se observa un doblete del H-4, una señal de triplete en 7.37 ppm perteneciente al H-3 que aunque éste debió ser un doble de doble por acoplarse al hidrogeno 2 y 4 realmente se ve como un triplete (ver figura 8.1.9, letra B) esto es debido a que como los hidrógenos 2 y 4 que se acoplan están en un ambiente químico muy similar así como en el caso anterior, el sistema concibe ambas señales en forma de triplete; en 7.14 ppm se localiza un doblete del H-2, un singulete del grupo metilo en 2.53 ppm y por primera vez se vio en 10.53 ppm una señal amplia y que integraba para 2 hidrógenos correspondientes al grupo amida y del amino del imidazol.



**Figura 8.1.9** Señales obtenidas en forma de triplete para H-3 (Letra B) y para H-6 (Letra C).

El espectro de masas del compuesto (**10**) también se realizó por medio de IE, exhibiendo casi el mismo perfil del compuesto (**9**), ya que solo varía la posición del cloro presente en la molécula, así pues la interpretación es la siguiente: el ion molecular  $M^+$  en  $m/z$  de 285 y una abundancia del 9%, el isotopo  $M+2$  con  $m/z$  de 287, el pico base en  $m/z$  de 159 y finalmente un ion en  $m/z$  de 131; estos últimos iones pertenecen a los fragmentos de la ruptura del enlace carboxamida.

## 8.2 Parte Biológica

Como se indicó en el apartado de resultados, las pruebas biológicas fueron hechas in vitro contra formas sanguíneas de la cepa *NINOA* de *Trypanosoma cruzi*, extraídos de ratones infectados; los resultados adquiridos fueron reportados en porcentaje de lisis, pero para un mejor manejo e interpretación de los datos, se convirtieron aquellos porcentajes de lisis a valores de  $CI_{50}$  por medio de cálculos empleando el análisis Probit, finalmente se obtuvo los inversos de los valores  $CI_{50}$  tal como se muestra en la Tabla 8.2.1.

**Tabla 8.2.1**  $1/CI_{50}$  de los compuestos finales 6, 8,9, 10 y fármacos referencia

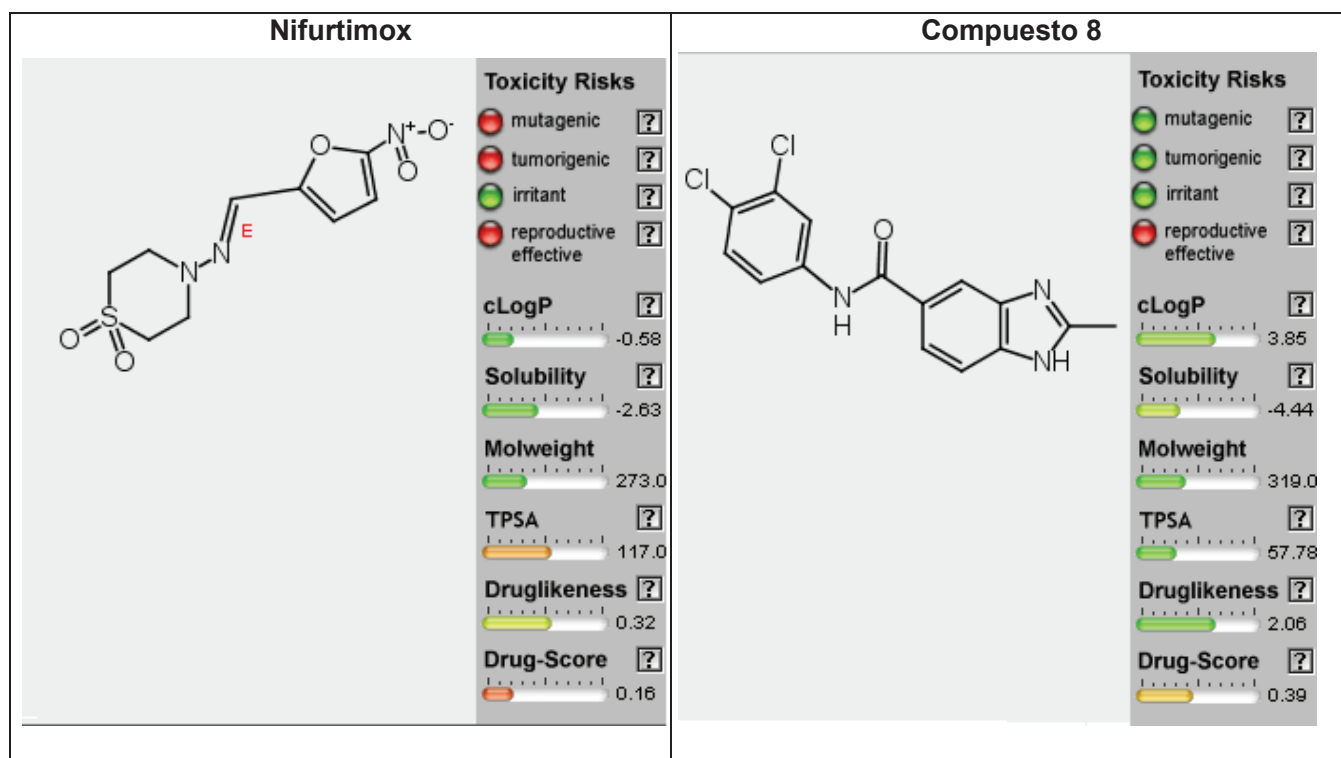
Compuesto	$1/CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Benznidazol	0.158
Nifurtimox	0.022
<b>6</b>	0.002
<b>8</b>	0.019



9	0.004
10	0.013

En la tabla anterior se pone de manifiesto que todos compuestos finales sintetizados no son tan eficaces como el fármaco Benznidazol puesto que se ve la gran diferencia en los valores de  $1/CI_{50}$  que van desde 75 veces mejor que el compuesto **6**, 8 veces con respecto al compuesto **8**, 40 veces mejor que el compuesto **9** y 12 veces más efectivo que el compuesto final **10**. Sin embargo se puede ver claramente que los compuestos **8** y **10** son biocomparables con el fármaco Nifurtimox, puesto que solo hay una diferencia de 1.2 y 1.7 veces respectivamente; lo que indica que el derivado bencimidazólico diclorado es fundamental para disminuir la viabilidad del parásito; en cuanto al parásito intracelular se predispone que el compuesto **8** (el más efectivo) sea mejor absorbido que el Nifurtimox, e incluso podría atravesar membranas celulares con el fin de llegar al interior de los macrófagos infectados, esto se ve respaldado a que se obtuvieron los valores de logP mediante la consulta de la página <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/> en donde los resultados pueden apreciarse en la **Figura 8.2.2**.

**Figura 8.2.2** Propiedades moleculares calculados por el programa indicado en la referencia 20.



El logP del compuesto **8** es de 3.85, valor que nos indica que la molécula tiene un carácter hidrofóbico, es decir es liposoluble y por consecuencia deberá facilitar su transporte (permeabilidad) al interior de la célula y efectuar su acción tripanosomicida, sin embargo esto podría comprobarse realizando las evaluaciones en el estadio amastigote del parásito. Por otra parte el Nifurtimox tiene un valor de  $\log P = -0.58$ , indicio de que la molécula es casi en su totalidad hidrofílica, y consecuentemente muy poco liposoluble para tener una permeabilidad adecuada e ingresar al interior de la célula, aunado a las conjeturas anteriores se puede ver también que el compuesto **8** tiene notorias ventajas sobre el Nifurtimox en cuanto a los riesgos tóxicos, por ejemplo en la categoría de Mutagenicidad se muestra que el fármaco de referencia tiene un alto riesgo de ser mutagénico (color rojo) en cambio el compuesto final tiene un bajo riesgo de serlo (color verde), así también en cuanto a tumorigenicidad presentan el mismo perfil, es decir el Nifurtimox tiene un alto riesgo y el compuesto un bajo riesgo.

Descritos los parámetros anteriores puede determinarse que el compuesto **8** perfila para ser una molécula prototipo ya que su efectividad se asemeja al Nifurtimox y sus efectos tóxicos son menores.

## 9. CONCLUSIONES

- ✓ Se logró la síntesis y caracterización de los 4 compuestos finales derivados del Ácido 2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxílico, mencionados en los objetivos específicos: *N*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**6**), *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**8**), *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**9**) y *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**10**).
  
- ✓ Los rendimientos de los compuestos finales en general fueron bajos, no obstante todos los rendimientos fueron superiores al 50%, pero puede sugerirse otro acoplante o activador de ácido para aumentar la producción. Sin embargo, se planteó un método de síntesis sencillo donde la reacción formara el enlace carboxamida a condiciones lo más suaves posible.
  
- ✓ A través de los resultados biológicos determinados se acepta la hipótesis planteada, puesto que los 4 compuestos sintetizados por hibridación molecular tienen la capacidad de tener actividad tripanosomicida y 2 de ellos igualan la efectividad del fármaco empelado en la clínica Nifurtimox.
  
- ✓ El compuesto **8** fue el que tuvo una mejor actividad biológica, ya que se asemeja al Nifurtimox, con una  $1/CI_{50}$  de 0.019, así como también podemos incluir que tiene mejores expectativas toxicológicas como menor mutagenicidad y tumorigenicidad así como también mejores propiedades farmacéuticas ya que su log P beneficia su liposolubilidad y facilita la permeabilidad hacia la célula para ejercer su efecto tripanosomicida al parásito intracelular.
  
- ✓ El compuesto **8** como líder del grupo de compuestos sintetizados, es buen candidato para realizar posteriores evaluaciones contra estadios de amastigote del parásito *Trypanosoma cruzi* así como determinar pruebas toxicológicas para cerciorar o desvirtuar los resultados predichos en el programa organic-chemistry.
  
- ✓ Los compuestos sintetizados en este trabajo servirán para establecer los requerimientos estructurales de los derivados benzimidazólicos y servirán para sentar las bases de futuras modificaciones para obtener mejores principios activos.
  
- ✓ Se adquirieron conocimientos y experiencia en química orgánica para obtener nuevos compuestos de interés farmacéutico, cuya relación estructura-actividad fue analizada poniendo en práctica conocimientos y herramientas adquiridas en química farmacéutica.

## 10. BIBLIOGRAFIA

1. - Pereira-Nunes María. Chagas Disease An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. *Journal of American College of Cardiology*. **2013**, 62 (9), 767–776.
2. - Carabarin-Lima Alejandro, González-Vázquez María Cristina. Chagas disease (American trypanosomiasis) in México: An update. *Acta Tropica* 127. **2013**, 126–135.
- 3.- <http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/388/1/TESIS%20DE%20GRADO.pdf>
- 4.- Barret-P. Michael, Burchmore -JS Richard. The trypanosomiasis. *The Lancet*. **2003**, 362, 1462–1480.
- 5.- García-Trejo Gisela. Preparación de Conjugados de Bencimidazoles antiparasitarios con aminoácidos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F.; **2010**.
6. - <http://www.hemobaires.org.ar/pdfs/1-Generalidades%20T%20cruzi.pdf>
7. - <http://emedicine.medscape.com/article/214581-clinical>
8. -. Rassi -Jr A, Rassi- A. Chagas Disease. *The Lancet*. **2010**, 375, 1388–1402
9. - <http://www.upch.edu.pe/famed/revista/index.php/RMH/article/viewFile/1473/1463>
- 10.- Urbina- A.Julio, Docampo-Roberto. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology*. **2003**, 19 (11), 495–501.
11. - Vouldoukis, I. Canine Visceral Leishmaniasis: Successful Chemotherapy. *Antimicrobial Agents Chemotherapeutics*. **1996**, 40, 253–256.
- 12.-Yogita Bansal, Om Silakari. The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2012**, 20, 6208–6236
13. - Salahuddin, Shaharyar Mohammad. Benzimidazoles: A biologically active compounds. *Arabian Journal of Chemistry*. In Press, Corrected Proof, Available online 3 August **2012**.
- 14.-Ramanpreet- Walia, Md. Hedaitullah. Benzimidazole derivatives-an overview. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*. **2011**, 1(3), 565–574.
- 15.- Sharma S. Design of new drugs for helminth diseases: lead optimization in benzimidazoles. *Advances in Drug Research*. **1994**, 25, 103–172.
- 16.- Soria- Arteché Olivia, Hernández- Campos Alicia. Synthesis and antiprotozoal activity of nitazoxanide–N-methylbenzimidazole hybrids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, 23, 6838–6841.
- 17.- González-Iglesias Laura G. Síntesis y actividad antiparasitaria del 5-cloro-2-(metiltio)-1*H*-bencimidazol-6-carboxamidas-*N*-sustituidas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México, D.F.; **2012**.
- 18.- Madeleine M.- Joullié, Kenneth M.- Lassen. Evolution of amide bond formation. *ARKIVOC* **2010**,(8), 189– 250

19.- Avendaño-Carmen. Introducción a la Química Farmacéutica. 2da Edición. Editorial Mc Graw Hill. **2001**. 63–71

20. - Meunier- Bernard. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality?. Accounts of Chemical research. **2008**, 41(1), 69–77\_

21. - <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>

# **APENDICE I.- PARTE EXPERIMENTAL**

## 11. APENDICE I

### Parte experimental Química

Este apartado proporciona los detalles de los procedimientos sintéticos de los compuestos indicados en los objetivos de este trabajo, así como también se describe la instrumentación, cromatografía, reactivos y disolventes empleados.

#### 11.1 Instrumentación

- ❖ Las materias primas (reactivos sólidos) previamente calculadas, se pesaron mediante el uso de una balanza analítica modelo SARTORIUS Inventario 1678840.
- ❖ Para efectuar las reacciones a temperatura constante se utilizó una parrilla automática modelo IKA RCT Basic, para efectuar las reacciones a una temperatura determinada y constante.
- ❖ La extracción de disolventes mediante evaporación se hizo mediante el empleo de un Evaporador rotatorio marca BÜCHI Modelo R-215 con vacío generado por bomba marca Vacuubrand modelo PC 610 con regulador CVC2, adaptado a un baño BÜCHI modelo B-491y enfriador marca VWR Wscientific modelo 1107.
- ❖ Los puntos de fusión se determinaron en un equipo marca BÜCHI Melting Point B-540, utilizando capilares de vidrio (los puntos de fusión no fueron corregidos).
- ❖ Los espectros de Infrarrojo (IR) fueron obtenidos mediante el empleo de un Espectrofotómetro de transformada de Fourier marca Perkin Elmer modelo Spectrum 400.
- ❖ Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Protón (RMN <sup>1</sup>H) se adquirieron del equipo espectrómetro Varian 400 S4 ASC (400MHz), espectrómetro Oxford NMR (300MHz) y un espectrómetro Oxford NMR (400MHz).
- ❖ Los espectro de masas se obtuvieron mediante el método de ionización: Bombardeo rápido de átomos (FAB) y por Ionización electrónica (IE), y el sistema de entrada empleada fue por Introducción directa en un espectrofotómetro de Masas marca LECO modelo Pegasus 4D, con analizador de másico TOF. La simbología empleada es M<sup>+</sup>=ion molecular, m/z= relación masa /carga y pb= pico base.

#### 11.2 Cromatografía

El progreso de las reacciones y pureza de los compuestos sintetizados se determinó por cromatografía en capa fina (CCF), empleando cromatoplasmas de la casa Analtech-Uniplate recubiertas con gel sílice GF 250. Los compuestos se visualizaron con luz ultravioleta (UV) y/o por exposición a vapores de yodo.

Los sistemas cromatográficos empleados son los siguientes:

<b>Sistema</b>	<b>Composición</b>	<b>Proporción</b>
I	Cloroformo/Metanol	90:10
II	Cloroformo/Metanol	80:20

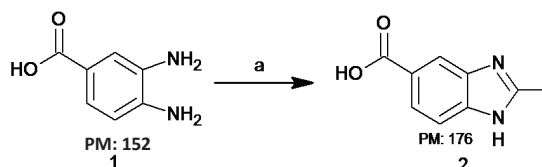
### 11.3 Reactivos y disolventes

<b>Reactivo/Disolvente</b>	<b>Marca comercial</b>
ácido 3-4-diaminobenzoico	Aldrich
ácido acético	J.T. Baker
Ácido Clorhídrico	
Bicarbonato de sodio (sólido)	J.T. Baker
carbonildiimidazol (CDI)	Aldrich
Acetonitrilo	J.T. Baker
Solución de hidracina	Sigma- Aldrich
Diclorometano	J.T. Baker
Carbazato de Terbutilo	Aldrich
ácido Trifluoroacético	Sigma- Aldrich
ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico	Sigma- Aldrich
ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico	Sigma- Aldrich
PyBOP	Aldrich
DIPEA	Sigma- Aldrich
3,4-dicloroanilina	Acros
4-cloroanilina	Merck/ Aldrich
3-cloroanilina	Aldrich
Carbonato de sodio (sólido)	Blaiska
Tetrahidrofurano	Sigma- Aldrich
Metanol HPLC	Sigma- Aldrich



## 11.4 Metodologías y técnicas para la síntesis de Intermediarios y Compuestos finales

### a) Síntesis del ácido 2-metil-1H-bencimidazol-5 carboxílico (2)



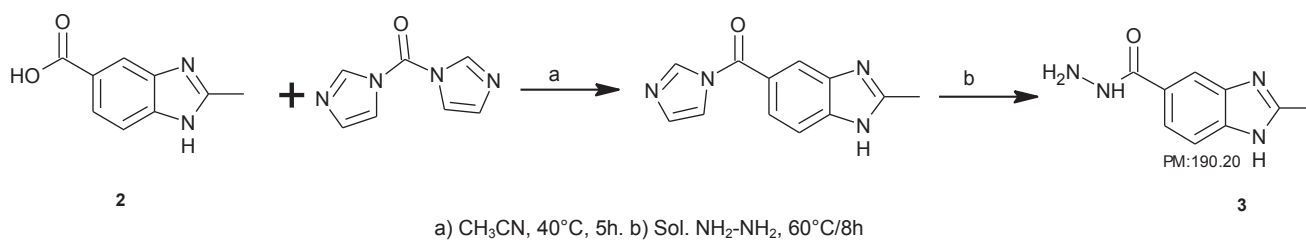
a)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ;  $\text{HCl}$ ;  $95^\circ\text{C}$ ; 8 hrs.

#### Esquema 1. Síntesis del compuesto 2

Se pesaron 10g de ácido 3-4-diaminobenzoico en un matraz de bola de 500mL y fue añadido 100mL de ácido acético (o el volumen suficiente para cubrir al sólido). Posteriormente, se adicionó 0.5 mL de HCl (catalizador); toda la mezcla de reacción se llevó a reflujo a  $95^\circ\text{C}$  durante 8 h mediante el empleo de una parrilla con agitación magnética. Cumplido el tiempo de reacción y después de haber alcanzado una temperatura ambiente, a la mezcla se le adicionó suficiente hielo-agua, seguido de la adición de  $\text{NaHCO}_3$  para ajustar el pH a 4-5. El precipitado obtenido se separó por filtración al vacío, obteniéndose un sólido color café que fue lavado repetidamente con agua y a continuación se secó mediante la exposición a vacío durante 3 días, produciendo 11.46g de compuesto final **2** crudo.

Finalizado el proceso de secado, al compuesto se le realizó una purificación a través de una decoloración con carbón activado, el cual consistió en disolver al compuesto **2** con NaOH 4M en un matraz de bola de 500mL, con la proseguida adición de 1.14g de Carbón activado (10% del peso de nuestro compuesto **2**). Por último el matraz se colocó en una parrilla con agitación magnética a reflujo ( $95^\circ\text{C}$ ) durante 6 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se dejó enfriar hasta llegar a temperatura ambiente, y se filtró a vacío sobre una cama de celita previamente colocada en el embudo Büchner; el deposito sobre la celita fue sometido a repetitivos lavados de agua, puesto que sobre la cama de celita se situó el carbón activado y el compuesto deseado en el filtrado, el cual se recolectó en un vaso de pp. de 500mL y fue colocado sobre un baño de hielo para ajustar el pH a 5 con solución de HCl 4N, induciendo la precipitación de nuestro compuesto **2** nuevamente. Luego de precipitar el compuesto, se filtró al vacío, quedando un sólido color crema característico del ácido 2-metil-1H-bencimidazol-5 carboxílico puro. Finalmente se generó un rendimiento del 89.04% del compuesto **2** puro (10.32g).

b) Síntesis de la 2-metil-1H-benzimidazol-5-carbohidrazida (3)



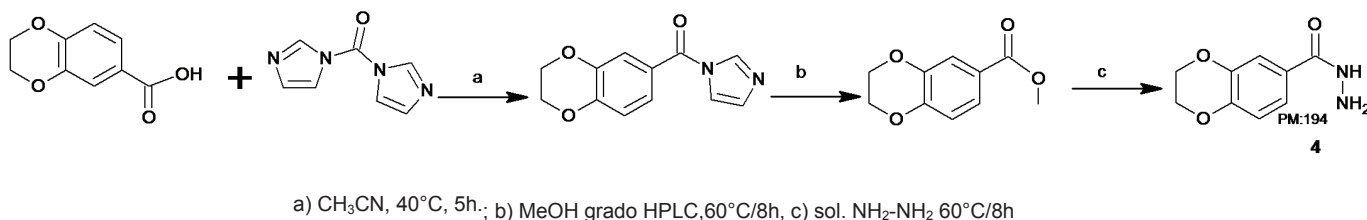
**Esquema 2. Síntesis del compuesto 3**

a) Una vez que se obtuvo el compuesto (2) se activó mediante el uso del acoplante carbonildiimidazol (CDI), dicha activación consistió primeramente en colocar 0.5148 g (1.1 mol) de 1,1-carbonildiimidazol y 0.5085g (0.00288moles) del compuesto 2, en un matraz de bola de 100mL junto con 30 mL de CH<sub>3</sub>CN; esta mezcla de reacción se mantuvo a 40°C y en agitación durante 5 h., bajo atmosfera de nitrógeno. Ocurrido el tiempo establecido, se hizo monitoreo de la mezcla de reacción a través de una cromatografía en capa fina (CCF), empleando un sistema de elución CH<sub>3</sub>Cl/MeOH (80:20) para visualizar la formación de un intermediario imidazólico, que finalmente se observó al revelar la placa cromatográfica con luz UV.

b) Formado el intermediario, se adicionó gota a gota con un embudo de adición, 0.40mL (1.5 moles) de solución de hidracina (NH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>-) previamente disuelta en 5mL CH<sub>3</sub>CN, a la mezcla de reacción y se dejó en agitación a 60°C durante 8 horas. Terminado el tiempo de reacción, se formó un sólido color café claro, que fue separado por filtración a vacío y secado durante 3 días; por último se produjo un rendimiento del 63.70% del compuesto 3 (0.3500g), a continuación el sólido fue enviado a RMN para elucidar su estructura, demostrando finalmente la exitosa obtención del compuesto 3.

Al intentar sintetizar más cantidad del compuesto 3 se observó que ya no reaccionaba el ácido 2-metil-1H-benzimidazol-5 carboxílico, esto debido a problemas de solubilidad, puesto que se decidió emplear la misma metodología descrita en el esquema 2 pero se usó como disolvente THF (10mL). Finalmente se calculó el rendimiento, dando un 71.30% (0.3914g) del compuesto 3.

c) Síntesis del 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carbohidrazida (4)



**Esquema 3. Síntesis del compuesto 4**

a) Se pesaron 0.1981g (1.1moles) de CDI y 0.2 (0.0011 moles) de ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico en un matraz de bola de 100mL y fueron disueltos en 5mL de CH<sub>3</sub>CN, la mezcla de reacción fue llevada a una temperatura de 40°C durante 5 horas con agitación constante. Transcurrido el tiempo de reacción, se buscó la presencia del intermediario imidazólico a través de un monitoreo de la mezcla de reacción realizando CCF, empleando un sistema de elución CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20), que al revelar la placa cromatográfica se comprobó la presencia del intermediario imidazólico esperado.

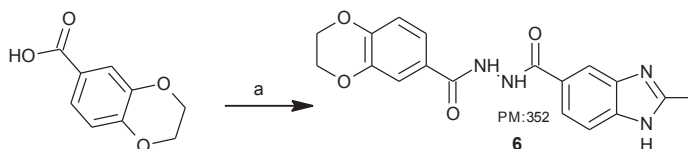
b) Se le agregó un exceso de Metanol (2 mL) grado HPLC, a toda la mezcla de reacción para generar un éster como intermediario principal tal como se describe en el esquema 6, éste intermediario se puso de manifiesto al realizar una CCF de la mezcla ,utilizando el mismo sistema de elución CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) y revelado con luz UV, en donde finalmente se demostró que todo el contenido de la mezcla era precisamente el éster del ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico. A continuación se evaporó a presión reducida el disolvente CH<sub>3</sub>CN, quedando un compuesto de apariencia aceitosa al cual se le agregó un poco de agua fría para precipitarlo. Una vez que precipitó el éster, fue filtrado a vacío y secado durante 1 día, obteniéndose un sólido de color café claro en una cantidad de 0.80 g

c) El sólido formado se depositó en un matraz de bola de 100mL junto con 0.83mL (10 moles) de solución de hidracina disuelta anteriormente en 5mL de CH<sub>3</sub>CN, a una temperatura de 60°C durante horas. Cumplido el tiempo, se filtró a vacío la mezcla de reacción, y quedó un sólido color crema el cual fue comparado con una referencia de Carbohidrazida del ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico, mediante una CCF con un sistema de elución CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20), revelando finalmente que el compuesto obtenido tenía un  $R_f$  (0.54). La estructura fue elucidada por RMN <sup>1</sup>H y se comprobó la exitosa obtención del compuesto 4, en una cantidad de 0.025 g, equivalente al 11.587%.

## Derivados de ácido 2-metil-1H-benzimidazol-5 carboxílico

### e) Síntesis del N'-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1H-benzimidazol-5-Carbohidrazida (6)

Ruta de Síntesis empleando PyBOP

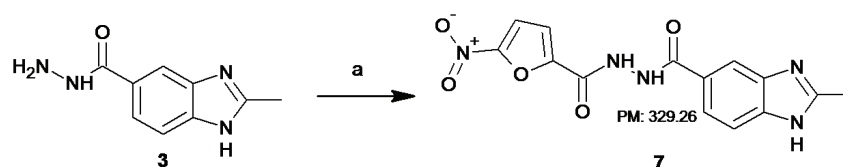


a: Compuesto 3, PyBOP, THF, DIPEA, ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico, T.a./12h

### **Esquema 4. Síntesis del compuesto 6**

a) Se pesaron por separado 0.1g (0.00055 moles) de ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico, 0.3177g (1.1 moles) de PyBOP, y 0.1055g (1 mol) del compuesto **3**. Inicialmente en un matraz de bola de 100mL se disolvió el compuesto **3** con 5mL de THF, y fue colocado en un baño de hielo. Posteriormente se le agregó el ácido 2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-carboxílico, el PyBOP, y 0.19mL (2 moles) de DIPEA, terminada la adición se retiró el baño de hielo y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 12h. Ocurrido el tiempo de reacción, la mezcla fue filtrada a vacío. Al filtrado se le evaporó el disolvente mediante un rotapavor a presión reducida, y a su término generó un compuesto aceitoso, el cual fue precipitado al añadirle un poco de agua, dicho precipitado se filtró a vacío y se secó por 2 días, quedando un sólido color crema. El sólido una vez totalmente seco se comparó con una referencia (compuesto **6**, sintetizado en la 1ra ruta de síntesis), empleando una CCF en un sistema de elución CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) que al ser revelado con luz UV ambos compuestos mostraron el mismo *R<sub>f</sub>* (0.35), evidenciando una exitosa producción del compuesto **4**, sin embargo se cercioró la obtención del compuesto al elucidar su estructura mediante RMN. Por último se calculó el rendimiento, logrando un 80% (0.0799g) del compuesto **4**.

f) Síntesis del 2-metil- *N*-[(5-nitrofurano-2-il)carbonil]-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (**7**)



a: Compuesto 3, PyBOP, THF, DIPEA, ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico, T. a./12h.

**Esquema 5. Síntesis del compuesto 7**

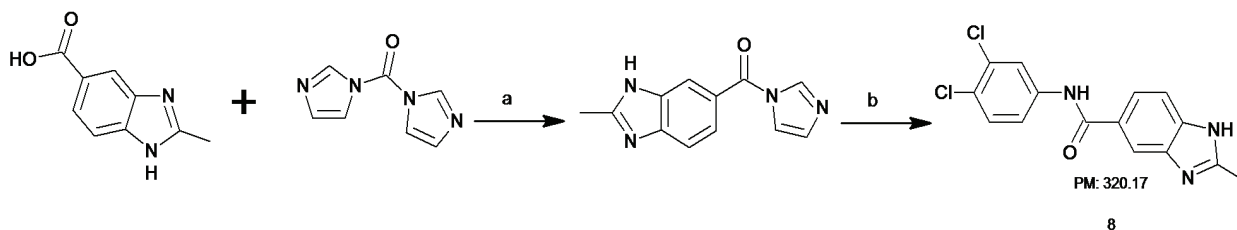
Fue pesado 0.1g (0.0006 moles) de ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico, 0.3641g (1.1 moles) de PyBOP, y 0.1209g (1 mol) del compuesto **3**. Inicialmente en un matraz de bola de 100ml se disolvió el compuesto **3** con 5mL de THF, y fue colocado en un baño de hielo. Posteriormente se le agregó el ácido 5-Nitrofurano-2 carboxílico, el PyBOP, y 0.19mL (2 moles) de DIPEA, terminada la adición se retiró el baño de hielo y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 12h. Concluido el tiempo de reacción, la mezcla fue filtrada a vacío. Se plaqueó tanto el sólido generado como el filtrado, en un sistema de elución CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20), mostrando tener la parte filtrada una significativa pureza ya que se vio la ausencia de impurezas, así pues se continuó a evaporar el disolvente mediante un rotapavor a presión reducida, y a su término generó un compuesto aceitoso el cual fue precipitado con una mezcla de CHCl<sub>3</sub>/MeOH (98:2). A continuación se filtró a vacío, y se dejó secar durante 2 días el sólido resultante.

El sólido una vez totalmente seco, se plaqueó de nuevo para asegurar ausencia de impurezas, en el sistema de elución antes mencionado, y al ser revelado con luz UV se comprobó su pureza así como también la obtención de su *R<sub>f</sub>* (0.29). La estructura de la molécula se elucidó mediante RMN de <sup>1</sup>H, concluyendo la exitosa producción del compuesto **7**. Finalmente se calculó el rendimiento, logrando un 28.25% (0.0321g) del compuesto **7**.

Posteriormente al aumentar la escala de producción del compuesto, éste no volvió a adquirirse,

puesto que se intentó sintetizar más de 4 meses.

g) Síntesis de la *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**8**)



a) CDI, CH<sub>3</sub>CN, 60°C/ 5h; b) 3,4-dicloroanilina, 60°C/8h.

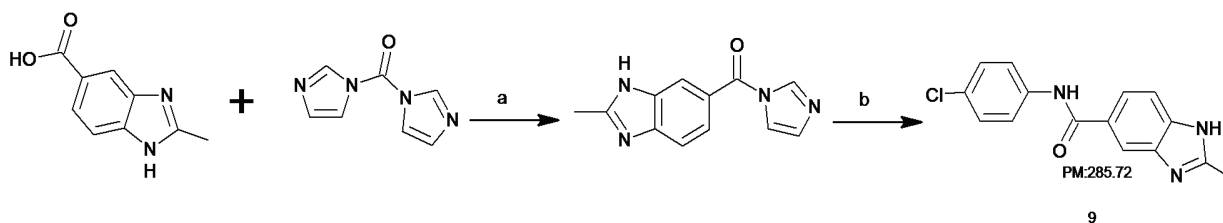
**Esquema 6. Síntesis del compuesto 8**

a) Se pesaron 0.2761g (1.5 moles) de carbonildiimidazol y 0.2g (0.0011 moles) de ácido 2-metil-1*H*-benzimidazol-5 en un matraz de bola de 100mL, al cual se le adicionó 10mL de CH<sub>3</sub>CN, y fue colocado a 60°C y se dejó reaccionando durante 5 horas con agitación constante. Terminado el tiempo de reacción, se buscó la presencia del intermediario imidazólico a través de un monitoreo con CCF de la mezcla de reacción, empleando una mezcla de CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil. Al revelar la placa cromatográfica se observó la formación del esperado intermediario.

b) Obtenido una vez el intermediario imidazólico en la mezcla de reacción, se continuó así con la adición de 0.1877g (1mol) de 3,4-dicloroanilina, subiendo la temperatura a 60°C en agitación constante durante 1 noche. Transcurrido el tiempo establecido, se plaqueó la reacción mediante la realización de una CCF, para cerciorarnos del consumo de la amina y la presencia de un nuevo compuesto en la placa; finalmente al eluirlo en un sistema CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil y revelarlo con luz UV, se visualizó que efectivamente aparecía un compuesto nuevo pero con la presencia de amina y posibles residuos de ácido, así pues se prosiguió a purificar el probable compuesto **8**.

Para purificar el compuesto, primeramente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción mediante el uso de un rotavapor a presión reducida; al término de la evaporación quedó el compuesto con apariencia aceitosa y fue lavado con una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5%, pH=9 para arrastrar los posibles residuos de ácido, y a su vez precipitar el compuesto. Una vez precipitado el compuesto, se filtró a vacío, quedando un sólido color crema el cual se paqueó nuevamente para ver la desaparición de los residuos de ácido. Una vez visto la ausencia de restos ácidos, el compuesto fue sometido a lavados con Tolueno para desechar la amina no reaccionada y posteriormente se realizó una CCF en las mismas condiciones anteriormente mencionadas para cerciorarse del arrastre total de la amina. Al ser revelada la placa con luz UV se visualizó que el compuesto estaba puro, es decir, sin presencia de otra marca en dicha placa. Consecutivamente se dejó secar 1 día y por último se calculó el rendimiento, el cual fue de 56% (0.2035g) del compuesto **8**.

#### h) Síntesis de la *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**9**)



a) CDI, CH<sub>3</sub>CN, 60°C/ 5h; b) 4-cloroanilina, 60°C/8h.

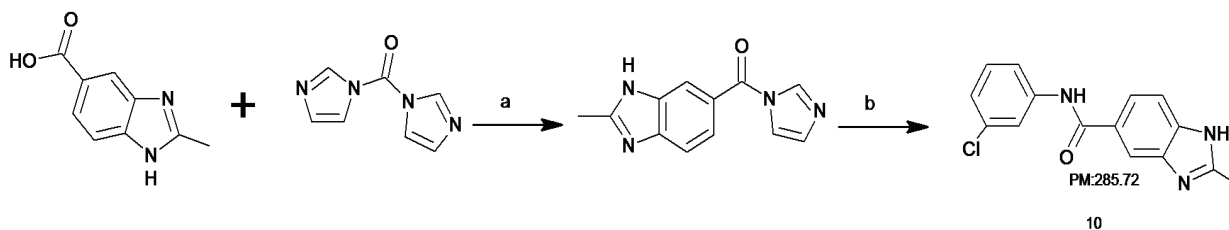
#### Esquema 7. Síntesis del compuesto **9**

a) Fue pesado 0.3682g (2 moles) de carbonildiimidazol y 0.2g (0.0011 moles) de ácido 2-metil-1*H*-benzimidazol-5 en un matraz de bola de 100mL, al cual se le adicionó 10mL de CH<sub>3</sub>CN, y fue colocado a 60°C y se dejó reaccionando durante 5horas con agitación constante. Cumplido el tiempo de reacción, se buscó la presencia del intermediario imidazólico a través de un monitoreo con CCF de la mezcla de reacción, empleando una mezcla de CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil. Al revelar la placa cromatográfica se observó la formación del esperado intermediario.

b) Logrado una vez el intermediario imidazólico en la mezcla de reacción, se continuó así con la adición de 0.0724g (1mol) de 4-dicloroanilina, subiendo la temperatura a 60°C en agitación constante durante 1 noche. Concluido el tiempo establecido, se plaqueó la reacción mediante la realización de una CCF, para asegurarnos del consumo de la amina y la presencia del nuevo compuesto en la placa; finalmente al eluirlo en un sistema CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil y revelarlo con luz UV, se visualizó que efectivamente aparecía un compuesto nuevo pero con restos de amina y posibles residuos de ácido, así pues se prosiguió a purificar el compuesto **9**.

Para purificar el compuesto, primeramente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción mediante el uso de un rotavapor a presión reducida; al término de la evaporación quedó el compuesto con apariencia aceitosa y fue lavado con una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5%, pH=9 para arrastrar los posibles residuos de ácido, y a su vez precipitar el compuesto. Una vez precipitado el compuesto, se filtró a vacío, quedando un sólido color crema el cual se paqueó nuevamente para ver la desaparición de los residuos de ácido. Una vez visto la ausencia de restos ácidos, el compuesto fue sometido a lavados con Tolueno para desechar la amina no reaccionada y posteriormente se realizó una CCF en las mismas condiciones anteriormente mencionadas para cerciorarse del arrastre total de la amina. Al ser revelada la placa con luz UV se observó que el compuesto estaba puro. Finalmente se dejó secar 1 día y por último se calculó el rendimiento, el cual fue de 68% (0.2205g) del compuesto **9**.

i) Síntesis de la *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (**10**)



a) CDI, CH<sub>3</sub>CN, 60°C/ 5h; b) 3-cloroanilina, 60°C/8h.

**Esquema 8. Síntesis del compuesto 10**

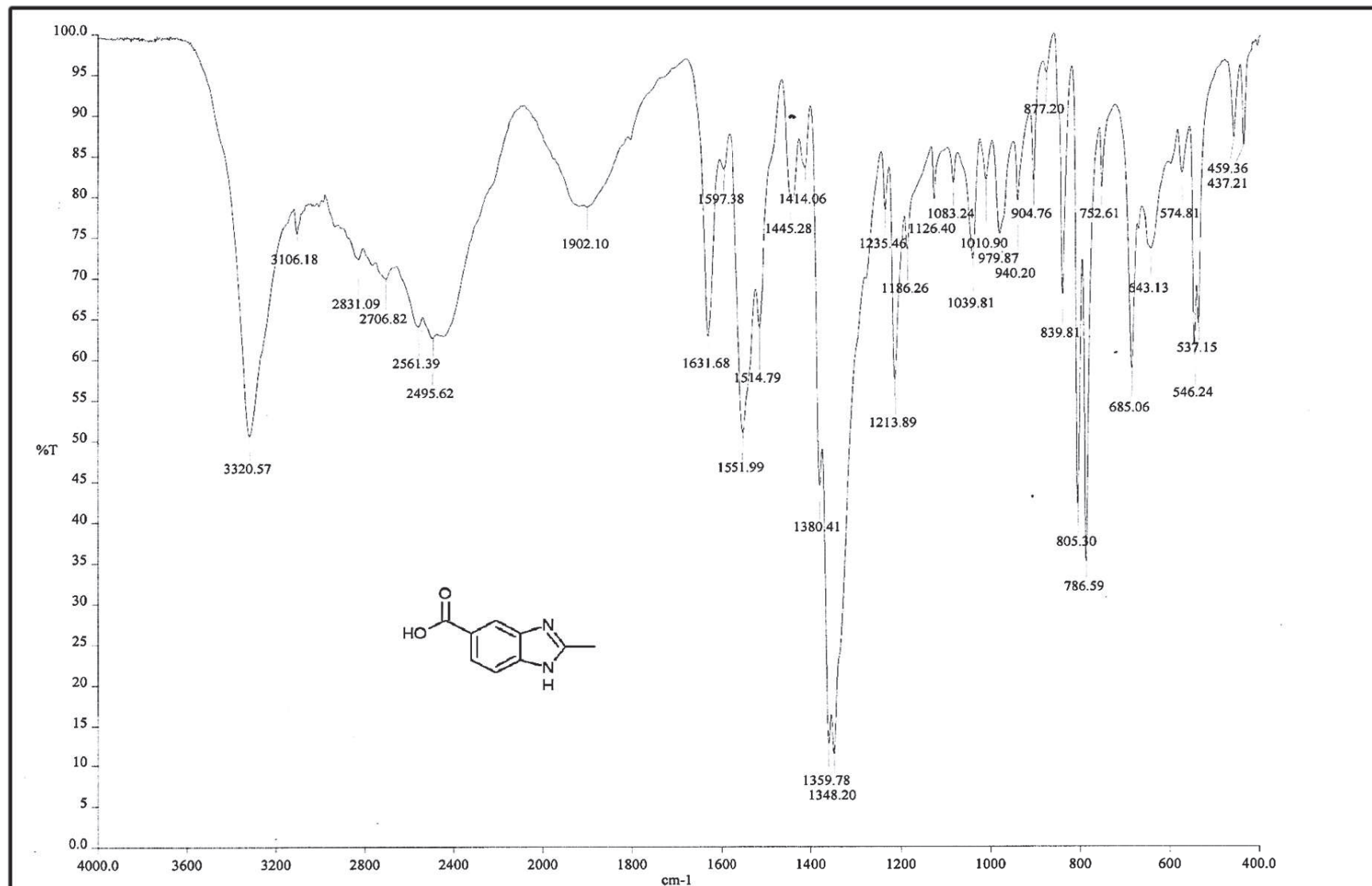
a) Se pesaron 0.3682g (2 moles) del (CDI) y 0.2g (0.0011 moles) de ácido 2-metil-1*H*-benzimidazol-5 en un matraz de bola de 100mL, al cual se le agregó 10mL de CH<sub>3</sub>CN, y fue colocado a 60°C y dejando reaccionar durante 5 horas en agitación constante. Cumplido el tiempo de reacción, se buscó la presencia del intermediario imidazólico a través de un monitoreo con CCF de la mezcla de reacción, empleando una mezcla de CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil. Al revelar la placa cromatográfica se observó la formación del esperado intermediario.

b) Generado una vez el intermediario imidazólico en la mezcla de reacción, se continuó así con la adición de 0.12mL (1mol) de 3-cloroanilina, mediante un embudo de adición con 5mL de CH<sub>3</sub>CN, subiendo la temperatura a 60°C en agitación constante durante 1 noche. Terminado el tiempo establecido, se plaqueó la reacción mediante la realización de una CCF, para asegurarnos del consumo de la amina y la presencia del nuevo compuesto en la placa; posteriormente al eluirlo en un sistema CHCl<sub>3</sub>/MeOH (80:20) como fase móvil y revelarlo con luz UV, se observó que efectivamente aparecía un compuesto nuevo pero con restos de amina y posibles residuos de ácido, así pues se prosiguió a purificar el compuesto **10**.

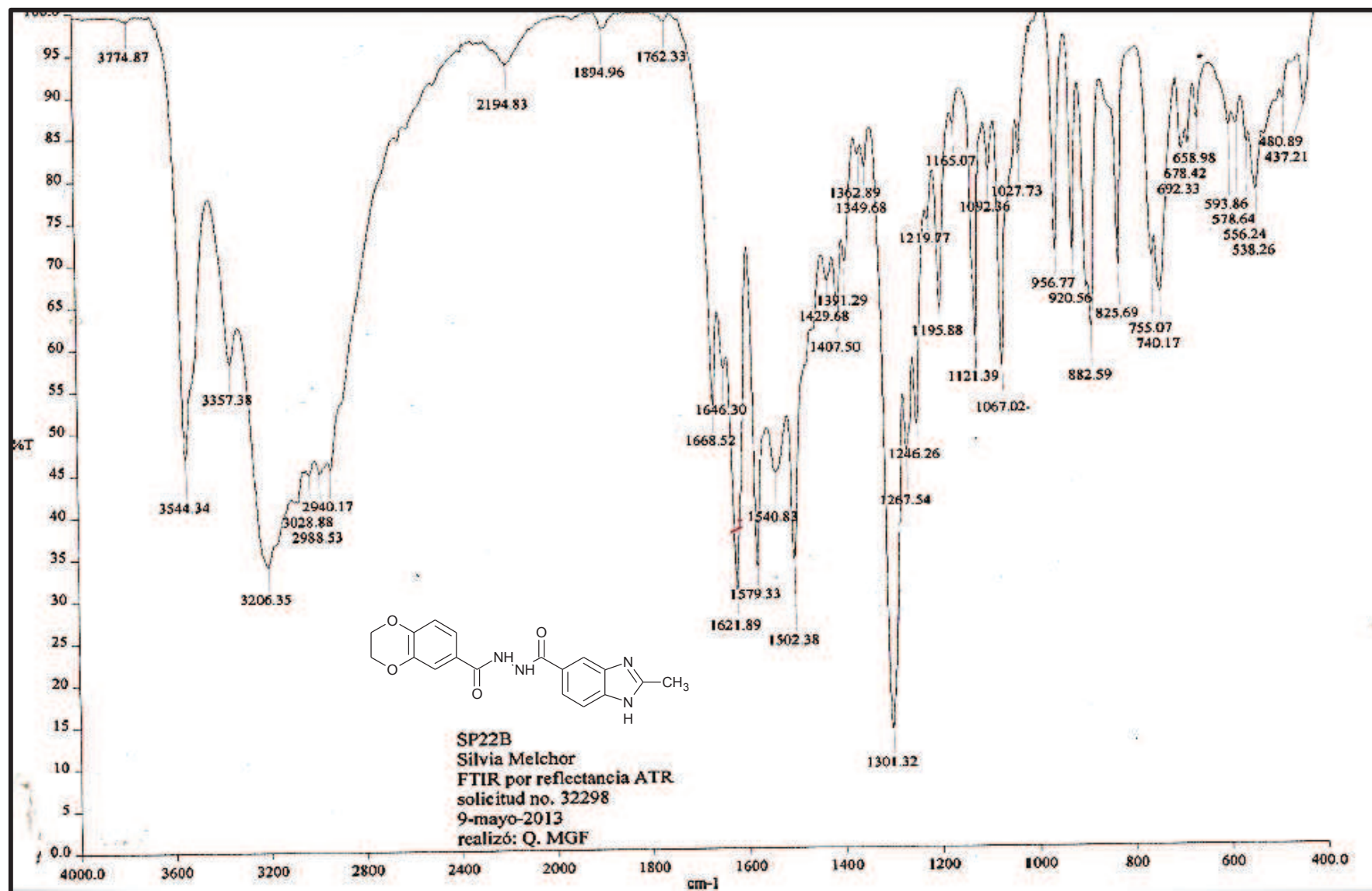
Para purificar el compuesto, primeramente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción mediante el uso de un rotavapor a presión reducida; al término de la evaporación quedó el compuesto con apariencia aceitosa y fue lavado con una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5%, pH=9 para arrastrar los posibles residuos de ácido, y a su vez precipitar el compuesto. Una vez precipitado el compuesto, se filtró a vacío, quedando un sólido color crema el cual se paqueó nuevamente para ver la desaparición de los residuos de ácido. Una vez visto la ausencia de restos ácidos, el compuesto fue sometido a lavados con Tolueno para desechar la amina no reaccionada y posteriormente se realizó una CCF en las mismas condiciones anteriormente mencionadas para cerciorarse del arrastre total de la amina. Al ser revelada la placa con luz UV se visualizó que el compuesto estaba sin contaminantes. Por último se dejó secar 1 día y finalmente se calculó el rendimiento, el cual fue de 64.3% (0.2086g) del compuesto **10**.

**APENDICE II.- COLECCIÓN DE ESPECTROS IR, RMN de  $^1\text{H}$**   
**y EM**

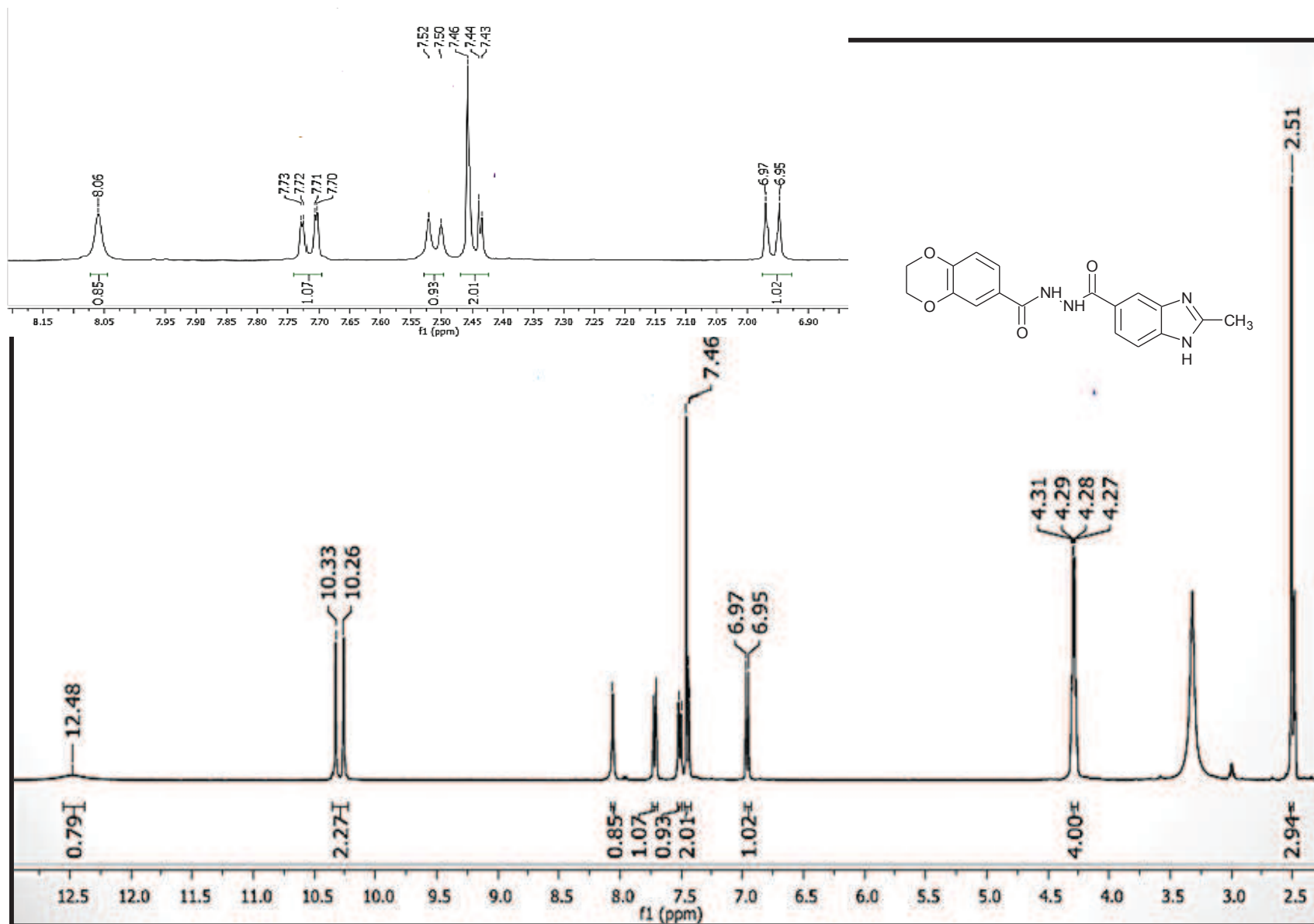




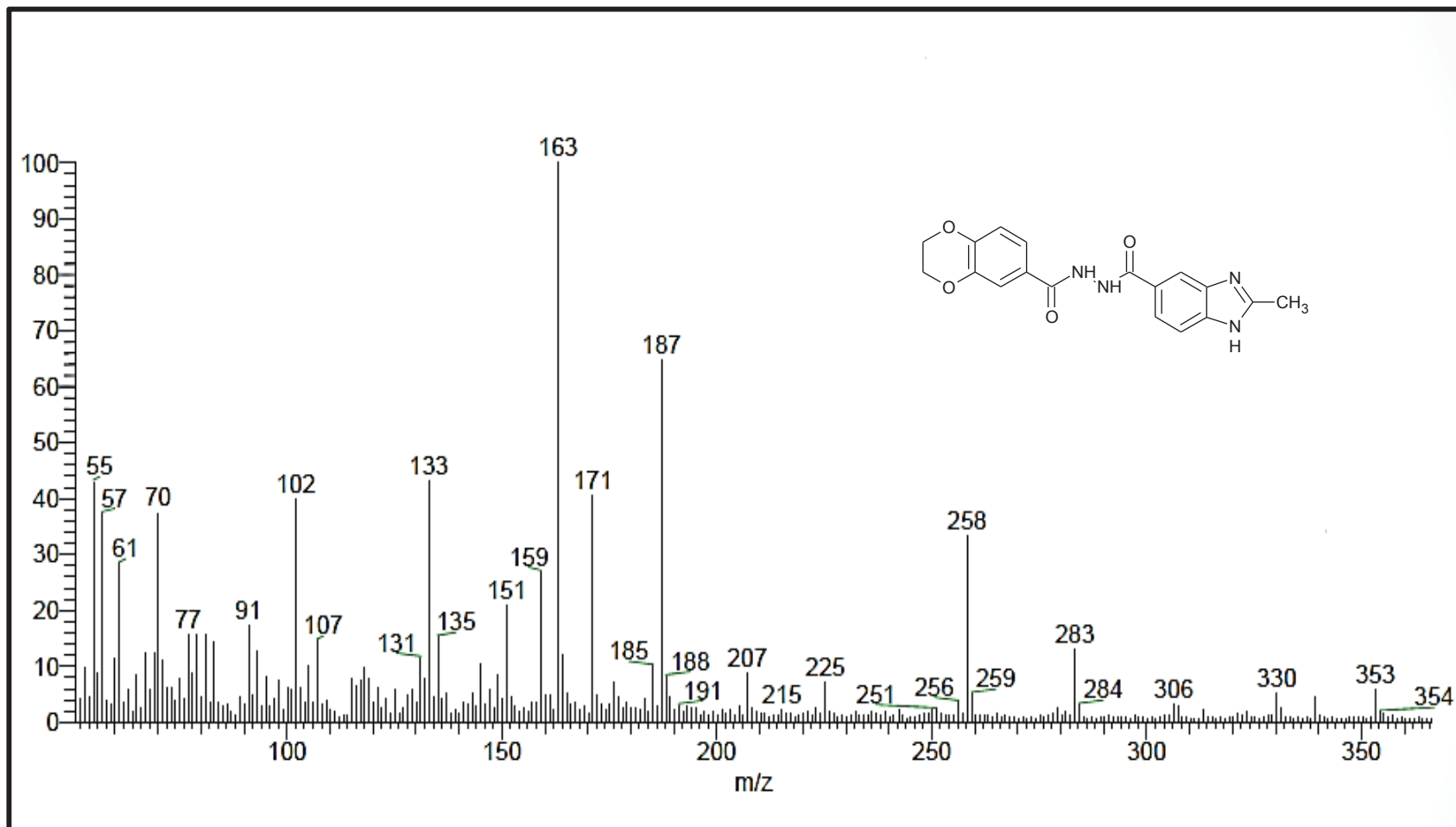
**Espectro 1, IR: Ácido 2-metil-1H-bencimidazol-5 carboxílico (2)**



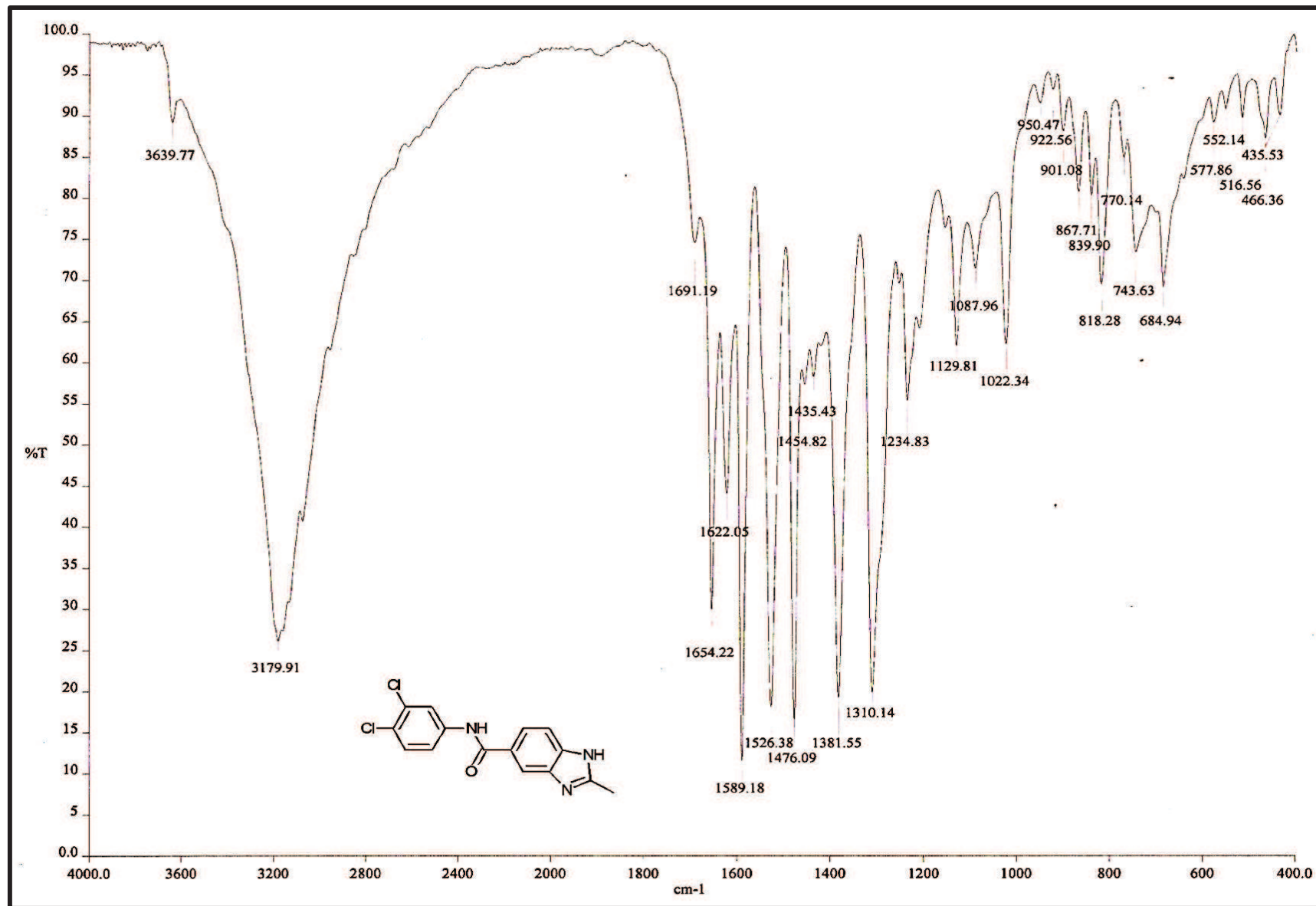
Espectro 2, IR: *N'*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonyl)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (6)



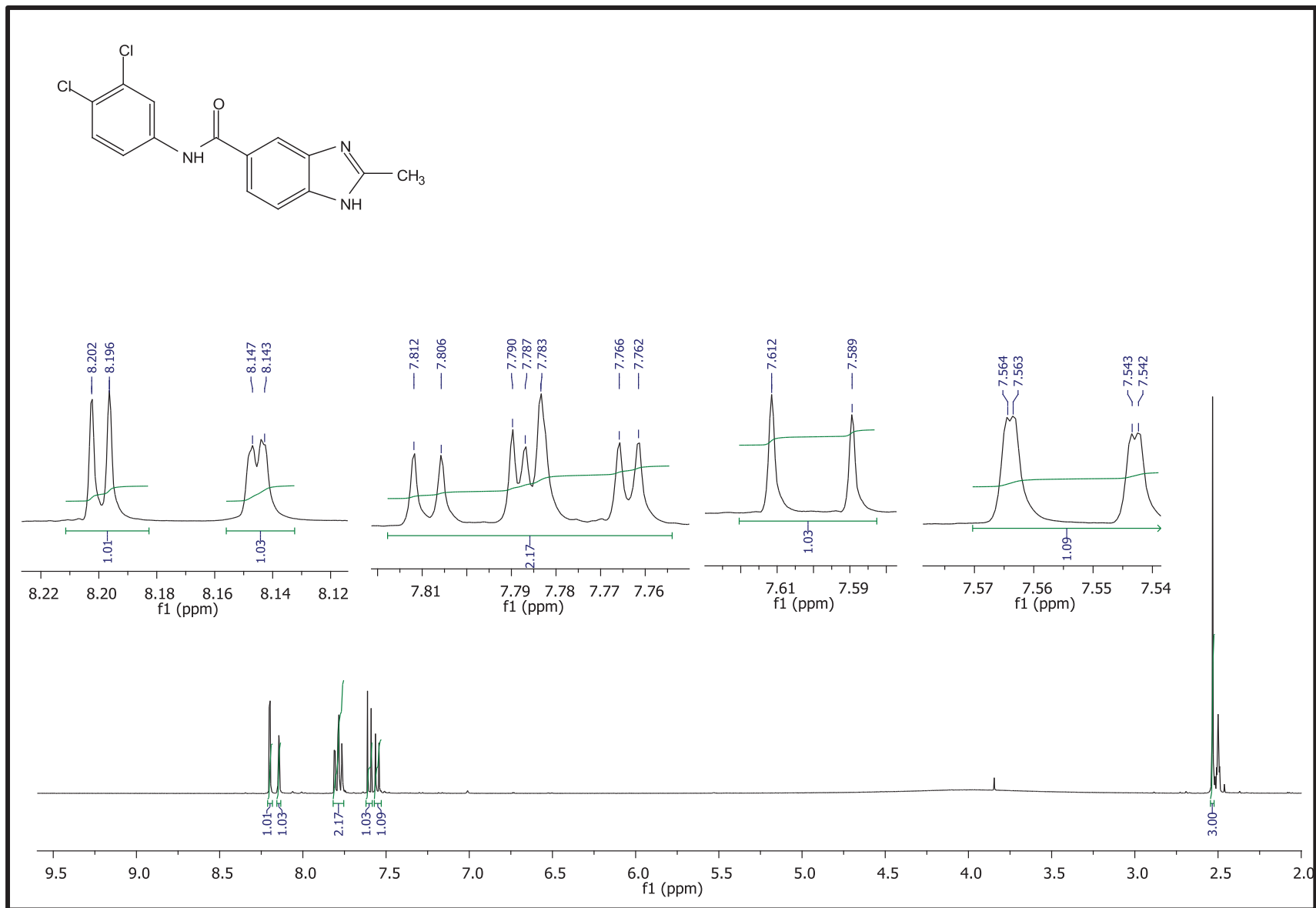
Esquema 3, RMN de <sup>1</sup>H: *N*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (6)



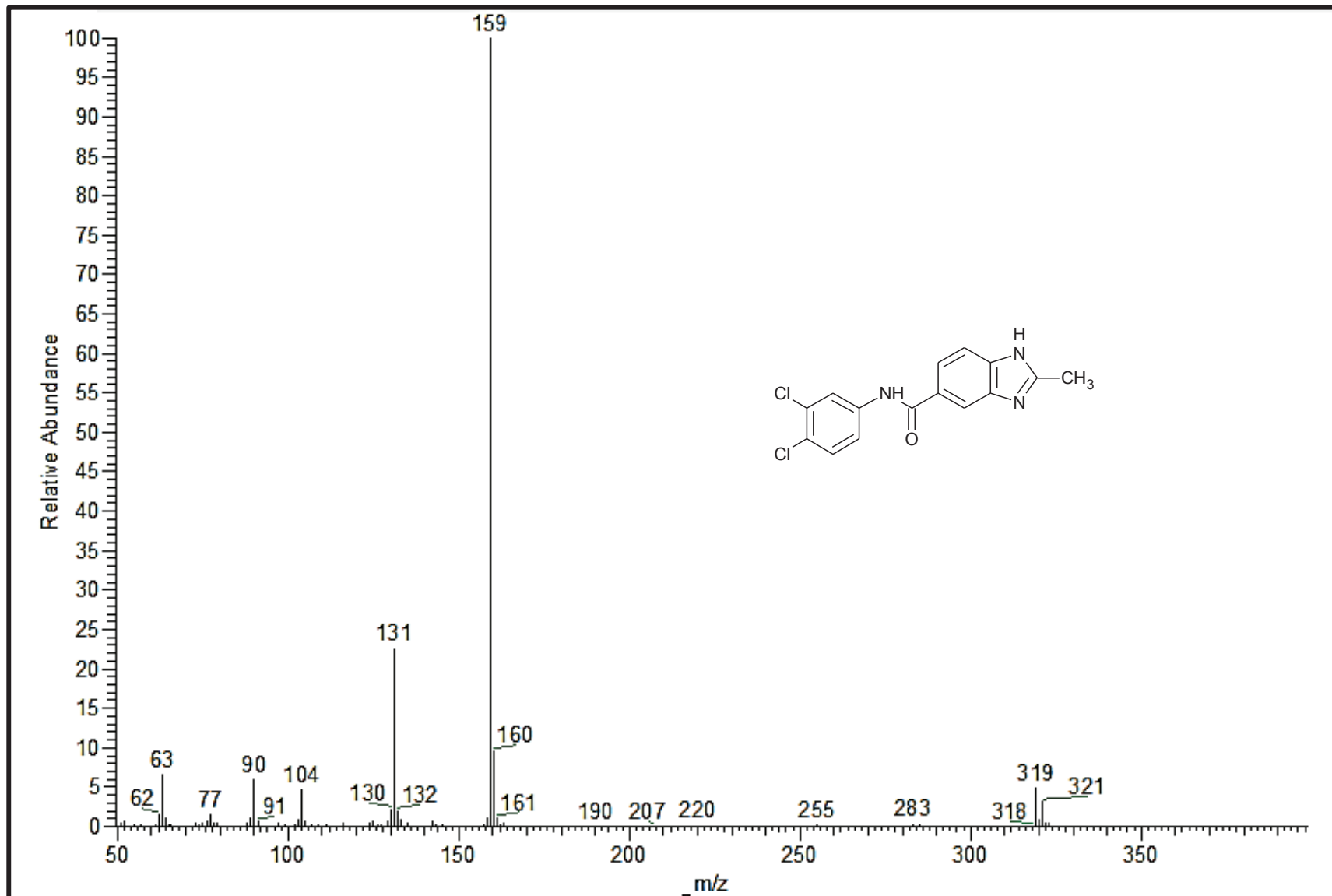
Espectro 4,EM (FAB+): *N'*-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-6-ilcarbonil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carbohidrazida (6)



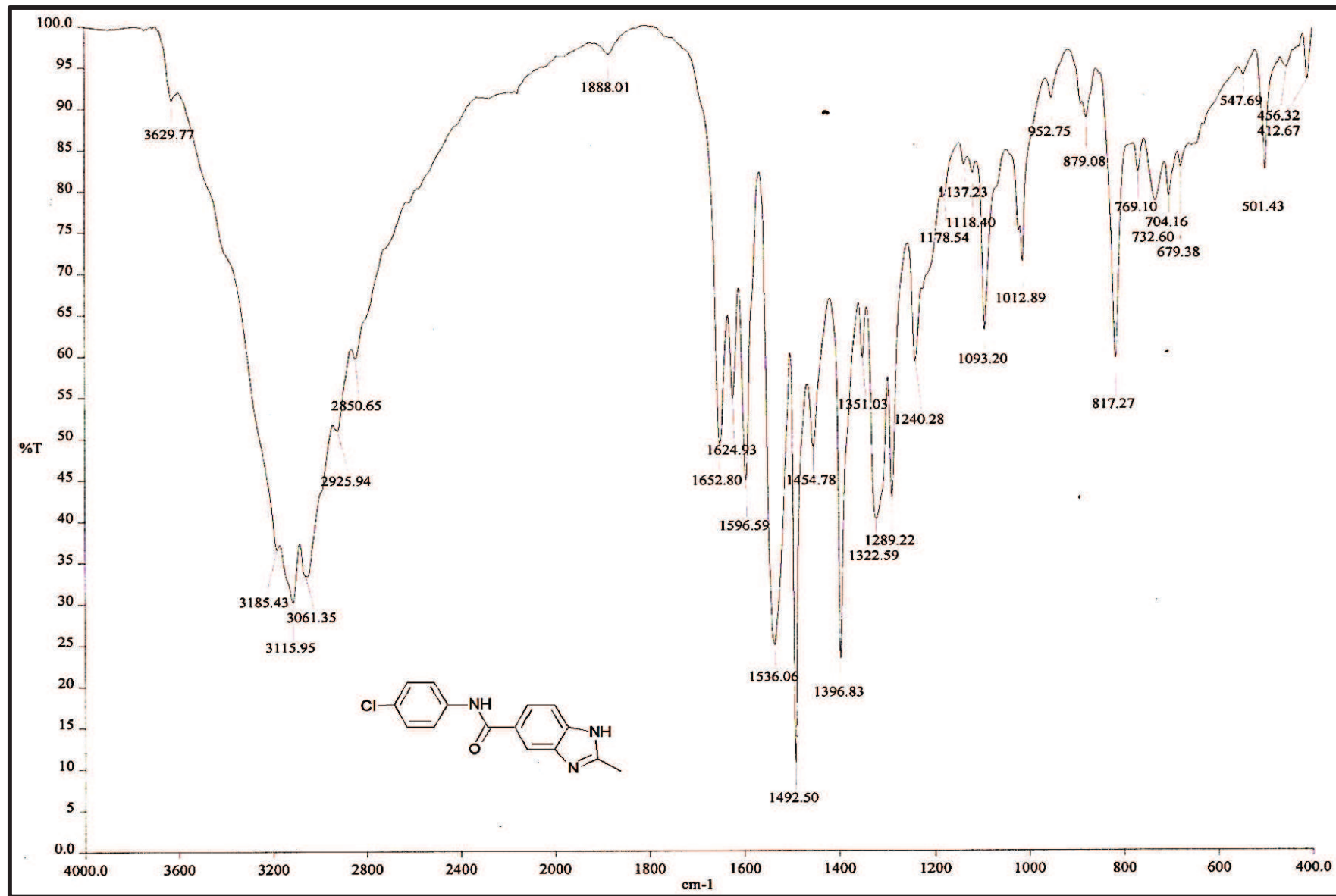
Esquema 5, IR: *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxamida (8).



Esquema 6, RMN de <sup>1</sup>H: *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (8).

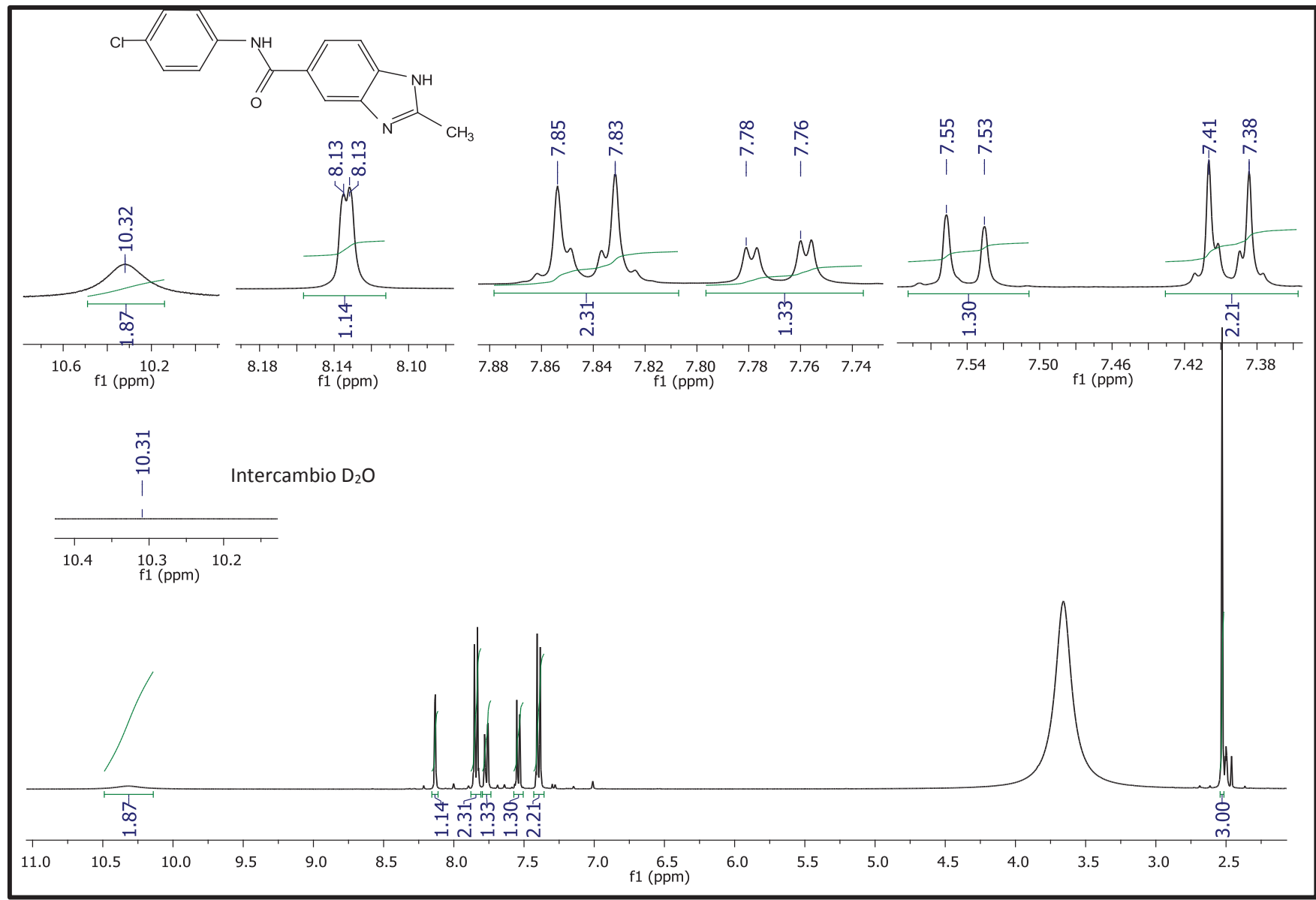


Esquema 7, EM (ID/IE): *N*-(3,4-diclorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (8).

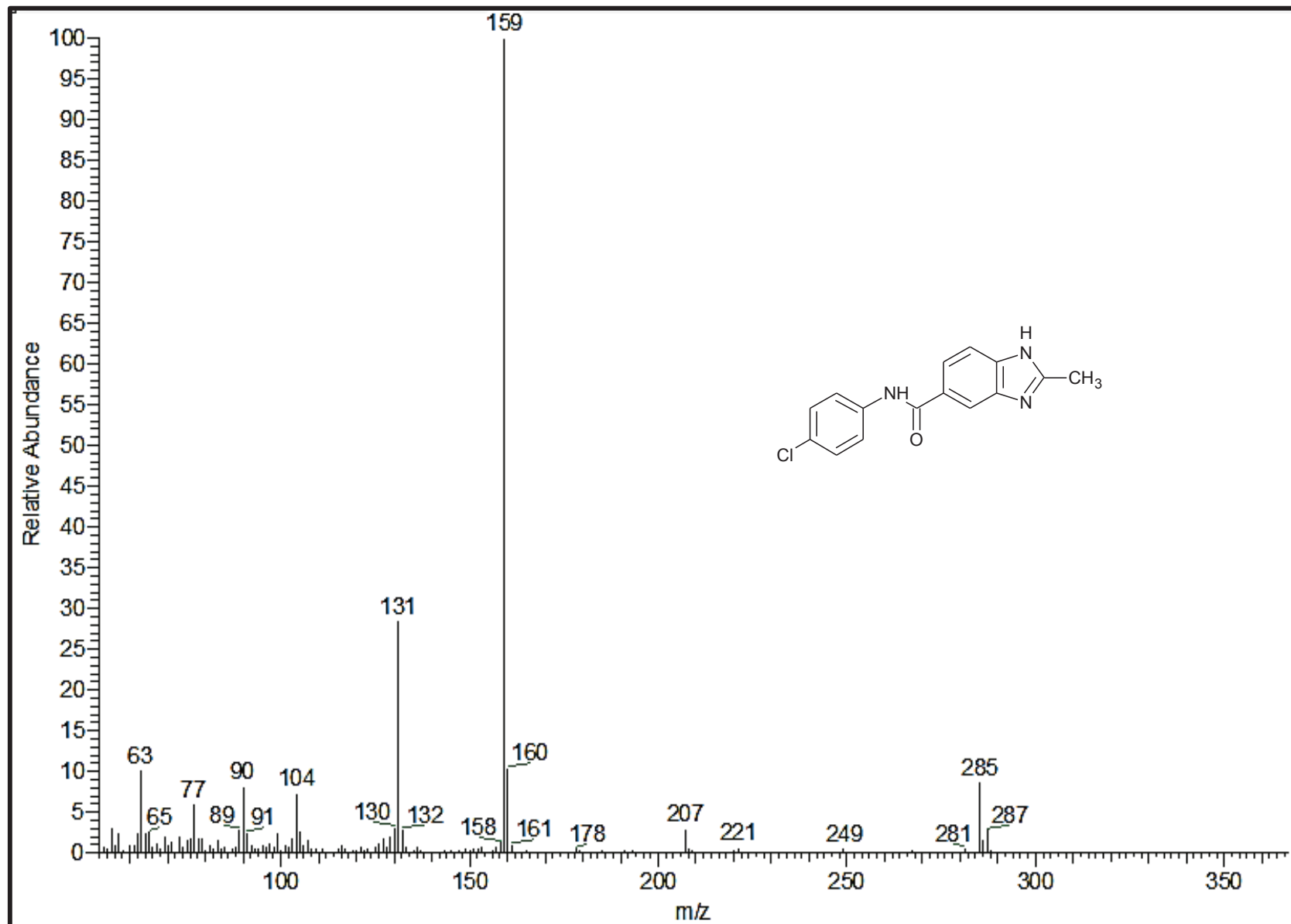


Esquema 8, IR: *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (9)

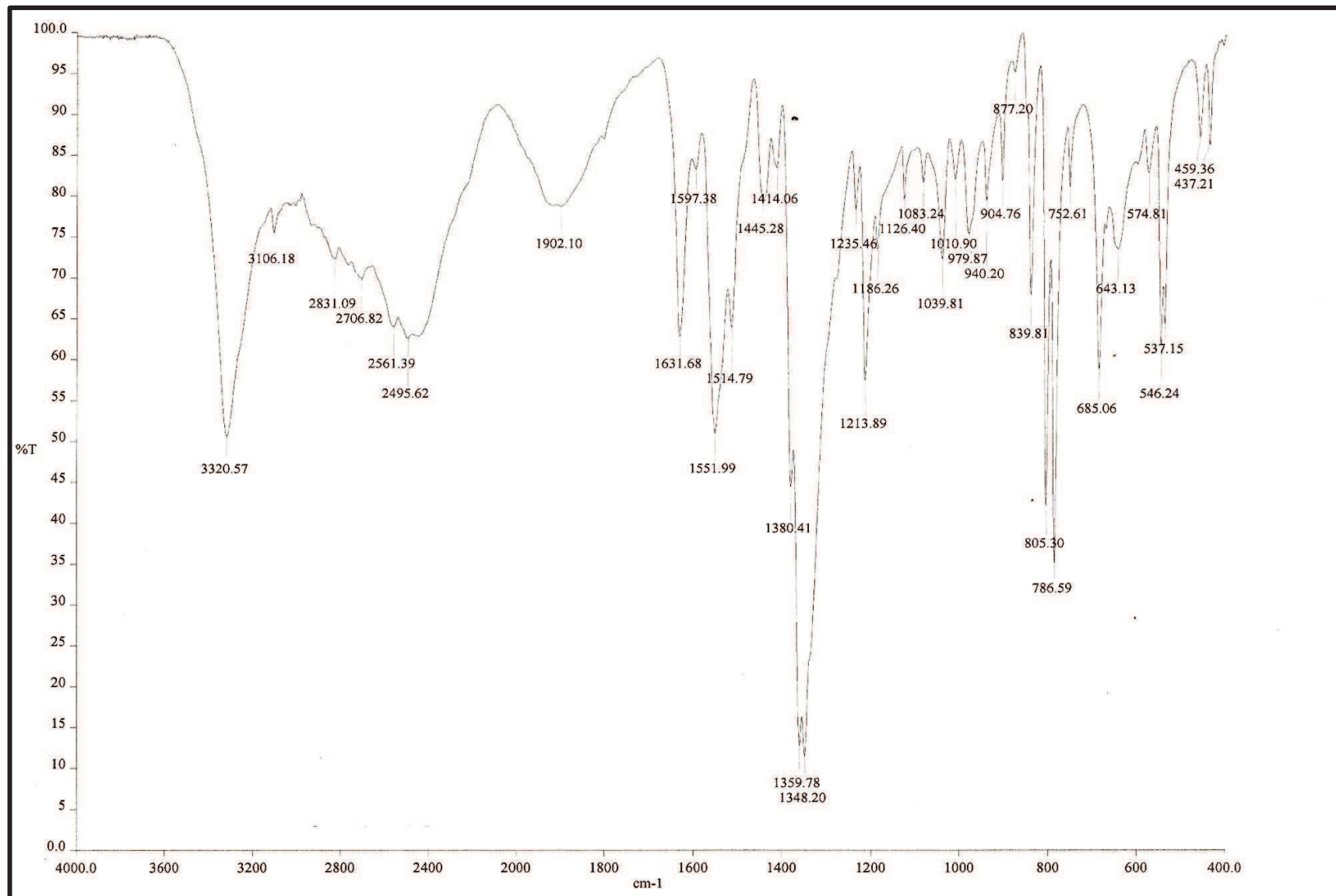




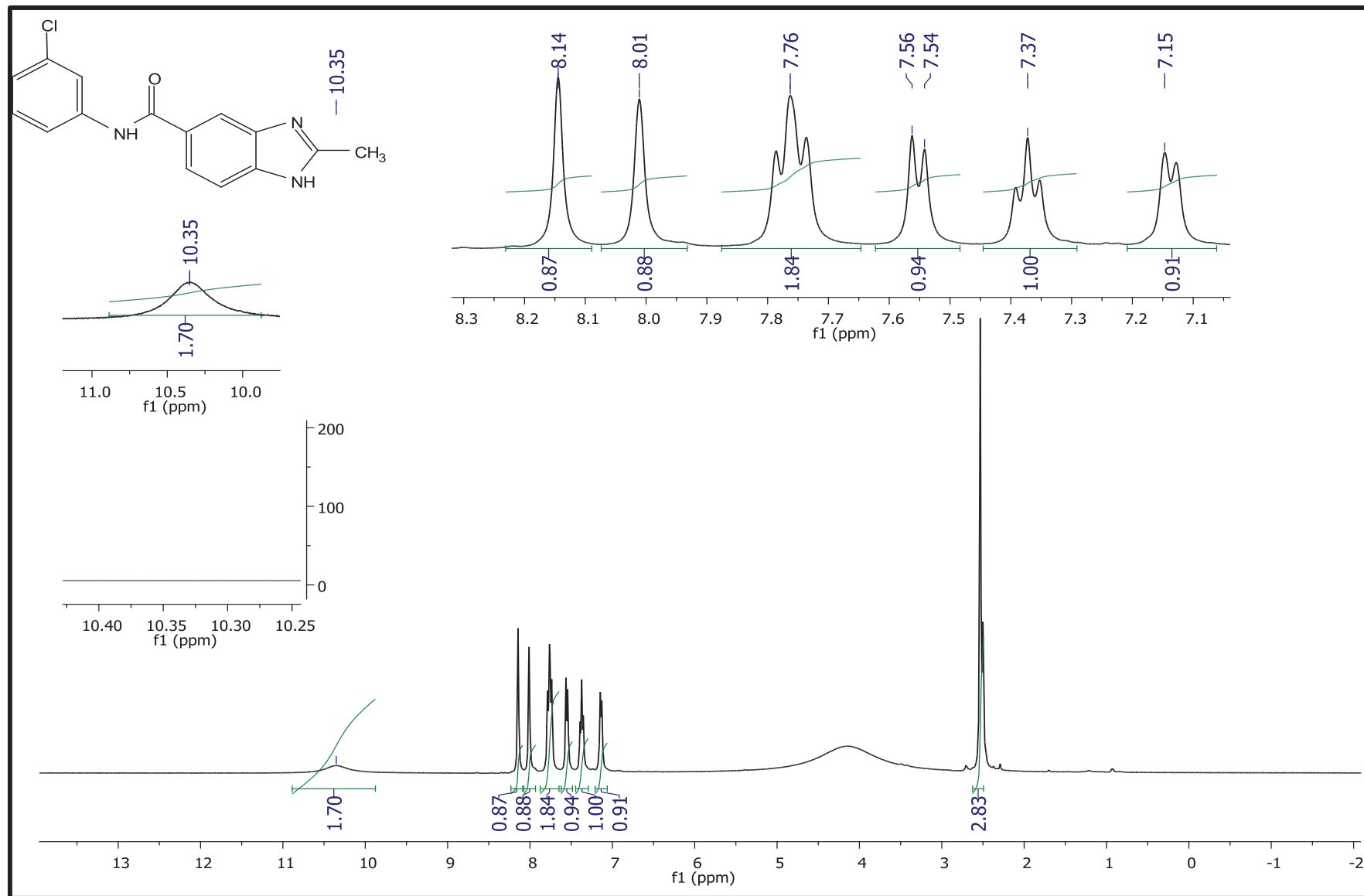
Esquema 9, RMN de <sup>1</sup>H: : *N*-(4-clorofenil)-2- benzimidazol-5-carboxamida metil-1*H*- (9)



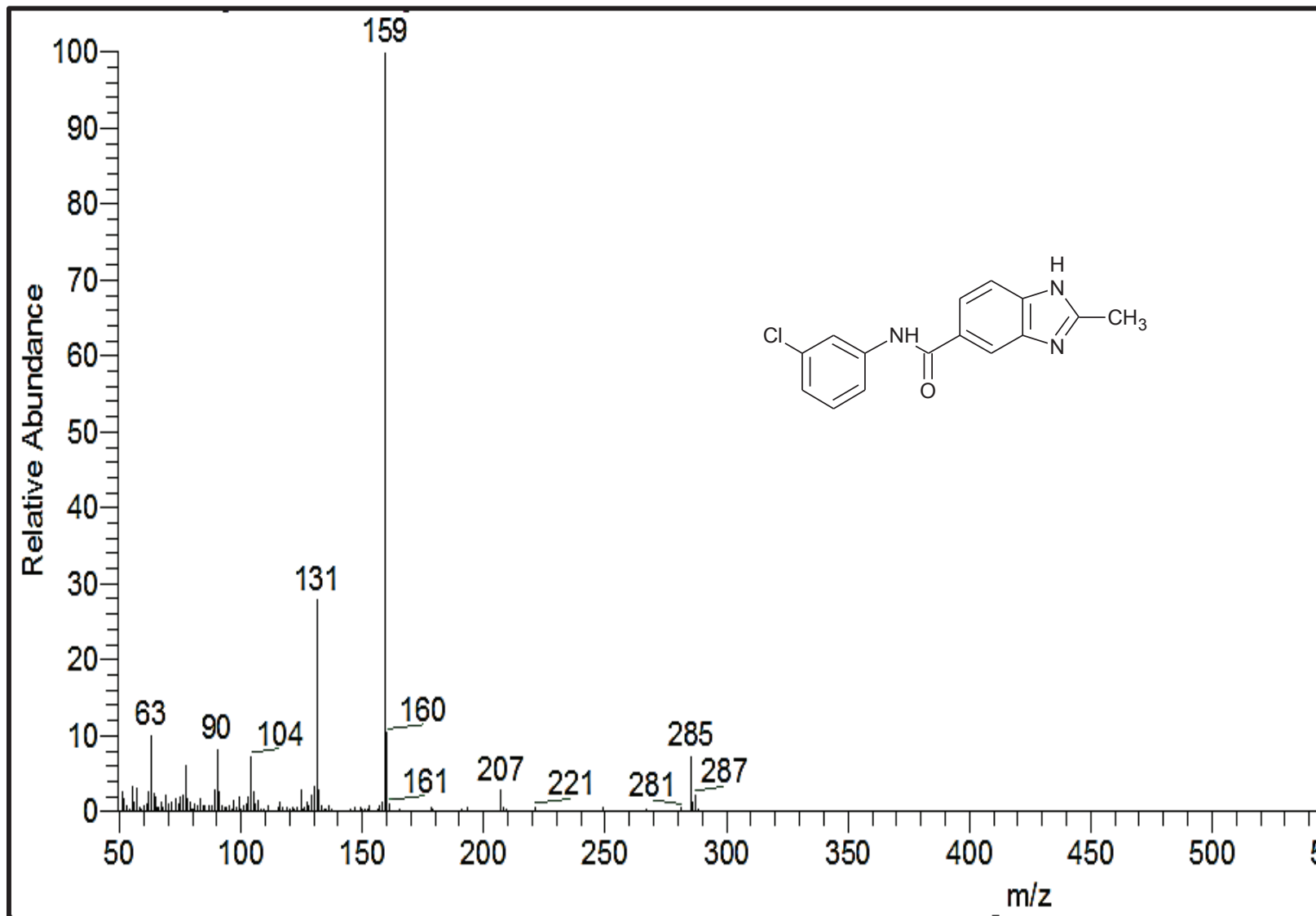
Esquema 10, EM (ID/IE): *N*-(4-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (9)



Esquema 11, IR: la *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (10)



Esquema 12, RMN de <sup>1</sup>H: : *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (10)



Esquema 13, EM (ID/IE) de <sup>1</sup>H: *N*-(3-clorofenil)-2-metil-1*H*-benzimidazol-5-carboxamida (10)