



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN
ANTIPROTOZOARIA DE COMPUESTOS
HÍBRIDOS DE 2-
MERCAPTOBENCIMIDAZOLES Y ACETIL
BENZOXAZINONA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

P R E S E N T A:

NAYELI ITZEL GONZÁLEZ BECERRA



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: ANA ADELA SÁNCHEZ MENDOZA

VOCAL: Profesor: MARÍA ALICIA HERNÁNDEZ CAMPOS

SECRETARIO: Profesor: BLAS FLORES PÉREZ

1° SUPLENTE: Profesor: NOÉ ZUÑIGA VILLARREAL

2° SUPLENTE: Profesor: JACINTO EDUARDO MENDOZA PÉREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 122, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA FACULTAD DE
QUÍMICA, UNAM**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. María Alicia Hernández Campos

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Rodrigo Aguayo Ortiz

SUSTENTANTE:

Nayeli Itzel González Becerra

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES.....	2
2.1	Enfermedades parasitarias	2
2.2	Giardiasis	2
2.2.1	<i>Giardia intestinalis</i>	3
2.3	Entamoebiasis o amebiasis	4
2.3.1	<i>Entamoeba histolytica</i>	4
2.4	Tricomoniasis	5
2.4.1	<i>Trichomonas vaginalis</i>	6
2.5	Tratamiento de las parasitosis.....	6
2.6	Bencimidazoles como agentes antiparasitarios.....	7
2.7	Otros agentes con actividad antiparasitaria.....	8
2.8	Diseño de fármacos.....	8
2.9	Actividad antiparasitaria de algunos derivados de 2-mercaptobencimidazol, acetilquinoxalinona y acetilbenzoxazinona.....	10
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
4.	HIPÓTESIS.....	12
5.	OBJETIVOS.....	12
5.1	Objetivo general	12
5.2	Objetivos particulares.....	12
6.	METODOLOGÍA	13
6.1	Parte Química.....	13
6.1.1	Síntesis de 2-mercaptobencimidazoles.....	15
6.1.2	Síntesis de 6-acetil-2 <i>H</i> -1,4-benzoxazin-3(4 <i>H</i>)-ona (NG-3).....	16
6.1.3	Síntesis de la serie NIGB	17
6.2	Parte Biológica	19
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
7.1	Resultados parte Química	20
7.1.1	Obtención de los derivados 2-mercaptobencimidazol (BzSH-1 a BzSH-6).....	32
7.1.2	Síntesis de 6-(bromoacetil)-2 <i>H</i> -1,4-benzoxazin-3(4 <i>H</i>)-ona (NG-4).....	36

7.1.3 Síntesis de 7-[(1 <i>H</i> -bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1 <i>H</i>)-ona (NIGB-1)	38
7.1.4 Obtención de los compuestos de la serie NIGB-2 a NIGB-7	39
7.2 Resultados parte Biológica	43
7.2.1 Prueba de susceptibilidad <i>in vitro</i> de protozoarios	43
8. CONCLUSIONES	47
9. PARTE EXPERIMENTAL	48
10. REFERENCIAS	59
ANEXO II. ESPECTROS	63

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente las enfermedades parasitarias causadas por protozoarios tales como *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis*, son uno de los problemas médico-sociales más importantes a escala global, ya que afectan países en vías de desarrollo. Estas enfermedades se ven afectadas por entornos empobrecidos, así como la falta de inversión, tanto pública como privada, para el desarrollo de tratamientos eficaces, sin mencionar el incremento en la cantidad de infecciones anuales. Esto ha ocasionado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ponga atención primordial al desarrollo e investigación para el diagnóstico y atención oportuna de los pacientes, brindando un tratamiento adecuado para estas enfermedades.

De las enfermedades causadas por los protozoarios arriba indicados, podemos mencionar giardiasis, amebiasis y tricomoniasis, las cuales son muy poco atendidas. Las enfermedades causadas por *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica* se presentan localizadas en países en desarrollo y zonas tropicales, específicamente en zonas acuíferas, como lagos y ríos cuyas aguas son usadas para riego, las cuales pueden estar contaminadas con heces que contengan formas quísticas de los parásitos. Existen varios tratamientos que hasta el momento han logrado controlar al parásito en el huésped una vez infectado, sin embargo se han encontrado cepas resistentes a los fármacos utilizados.

Las infecciones causadas por *Trichomonas vaginalis* son de carácter urogenital, y el modo de cómo una persona puede contraer el parásito es a través de persona a persona por medio del contacto sexual. Al igual que los parásitos anteriores presenta resistencia a los tratamientos médicos.

Por lo anterior es urgente continuar con la búsqueda de nuevas moléculas útiles como antiprotozoarios. En este trabajo se realizó la síntesis de seis nuevos compuestos híbridos nombrados como serie NIGB, los cuales se diseñaron por asociación de dos moléculas con características antiprotozoarias. Estas nuevas moléculas poseen dos tipos de heterociclos en su estructura, un bencimidazol y una benzoxazinona. Su síntesis se llevó a cabo por un método convergente para luego determinar su potencial antiprotozoario.

2. ANTECEDENTES

2.1 Enfermedades parasitarias

Las enfermedades parasitarias o parasitosis han representado a través del tiempo un serio problema de salud a nivel mundial. Según la organización Mundial de la Salud (OMS) cada año se reportan alrededor de 2,000 millones de casos de diarrea en todo el mundo, siendo una de las causas principales de morbilidad y mortalidad, encontrándose con más frecuencia en niños. ^[1] Factores como climas tropicales y pobres condiciones socioeconómicas son características de países en desarrollo donde es más común encontrar enfermedades parasitarias. Estas enfermedades son causadas por protozoarios y helmintos, destacando entre los protozoarios *Entamoeba histolytica* y *Giardia intestinalis*. Son agentes con mayor prevalencia helmintos como *áscaris lumbricoides*, *trichuris trichiura* y *taenia solium*. Frecuentemente son encontrados y transmitidos por agua y alimentos contaminados con materia fecal o bien de una persona a otra.

En México las parasitosis intestinales son una de las principales causas de morbilidad. La Información Epidemiológica de las Enfermedades Diarreicas es recabada por diversas fuentes tanto para los casos que se presentan como para las defunciones, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica es el encargado de dicho trabajo. La prevalencia de las parasitosis en la población que vive en pobreza e incluso pobreza extrema es de 64% al 70% con casos de individuos con parasitosis múltiples. ^[1]

2.2 Giardiasis

La giardiasis es una infección parasitaria causada por el protozoario flagelado *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*), siendo el parásito más frecuente encontrado en el humano, afectando principalmente a niños, en particular en los países en desarrollo y que viven en entornos desfavorecidos. Se estima que *G. intestinalis* tiene una distribución mundial de 2.8×10^8 casos por año. En Asia, África y América Latina, alrededor de 200 millones de personas presentan giardiasis. ^[1, 4, 5]

La giardiasis es una enfermedad transmitida por vía fecal-oral ya sea directa o indirecta, se produce después de la ingestión de quistes infecciosos a través del consumo de alimentos o

agua contaminada. También pueden ser transmitidos directamente de un individuo a otro, de animal a humano o viceversa. Los quistes de *G. intestinalis* pueden sobrevivir durante meses en aguas superficiales y en el suelo lo cual supone un factor riesgo para la población. [1, 2,3]

Los síntomas son variables entre los cuales destacan diarrea, distensión abdominal, dolor abdominal, náuseas, vómito y mala absorción generando pérdida de talla y peso. En adultos comúnmente es asintomático. [2,3]

2.2.1 *Giardia intestinalis*

Existen seis diferentes especies de *Giardia*, siendo *G. intestinalis* (*G. lamblia* y *G. duodenalis*) la única especie que se encuentra en los seres humanos. Este protozooario en su forma de trofozoíto tiene dos núcleos diploides similares, un disco de succión ventral y 8 flagelos como medio de locomoción. La forma quística tiene forma ovoide es más pequeña que el trofozoíto. [6] Figura 1. La *G. intestinalis* tiene un ciclo de vida simple, a partir de los quistes ingeridos, el parásito se reproduce en la superficie de las paredes del intestino delgado del huésped-parásito mediante un proceso de fisión binaria, donde se liberan los trofozoítos (forma móvil) que producen quistes resistentes y son vaciados en las heces constituyendo la etapa infectiva.

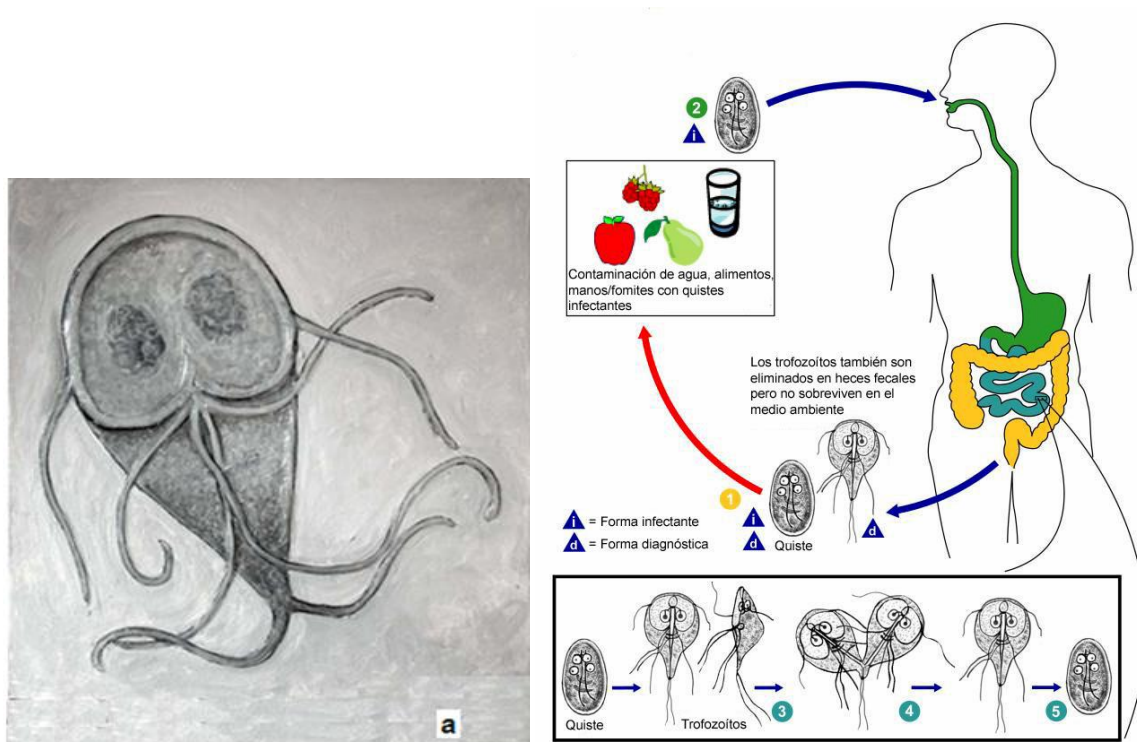


Figura 1. a) Trofozoíto de *G. intestinalis*; b) Ciclo de vida de *G. intestinalis*.

2.3 Entamoebiasis o amebiasis

La amebiasis es una enfermedad causada por el protozooario *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) que afecta a 10% de la población mundial. Es frecuente en países subdesarrollados con clima tropical, se estima que afecta a 50 millones de personas pero solo 5 millones desarrollan la enfermedad, causando entre 40,000 y 100,000 muertes cada año, siendo la tercera causa de muerte en el mundo después de la malaria y la esquistosomiosis. [7, 8,9]

La infección por *E. histolytica* se transmite a través de agua o alimentos contaminados con quistes. La relación sexual uro-anal también ha sido reconocida como un modo de transmisión; los perros y primates también podrían ser fuentes potenciales de infección humana. La *E. histolytica* se comporta más frecuentemente como un comensal; el 90% de las infecciones son asintomáticas. La amebiasis intestinal se caracteriza clásicamente por diarrea acuosa o moco en las heces, dolor abdominal, la colitis amebiana es uno de los síntomas más comunes aunque el parásito también puede invadir y destruir los tejidos del hígado, los pulmones, el cerebro y la piel. [7, 9, 10]

2.3.1 *Entamoeba histolytica*

El género *Entamoeba* contiene muchas especies, solo *E. histolytica* ha sido asociada con secuelas patológicas en el ser humano. [7] *E. histolytica* se presenta en dos formas: trofozoíto y quiste. El trofozoíto se desplaza por medio de un pseudópodo largo, el núcleo ocupa una quinta parte de la célula, lleva finos y uniformes gránulos de cromatina adosados sobre la porción interna de la membrana nuclear. Los trofozoítos tienen la capacidad de fagocitar eritrocitos, leucocitos y bacterias. El quiste, que es la forma responsable de la transmisión, tiene cuatro núcleos y una pared gruesa de quitina que les permite resistir al ambiente ácido del estómago.⁸ Su ciclo de vida es similar al que presenta *G. intestinalis*. Figura 2.

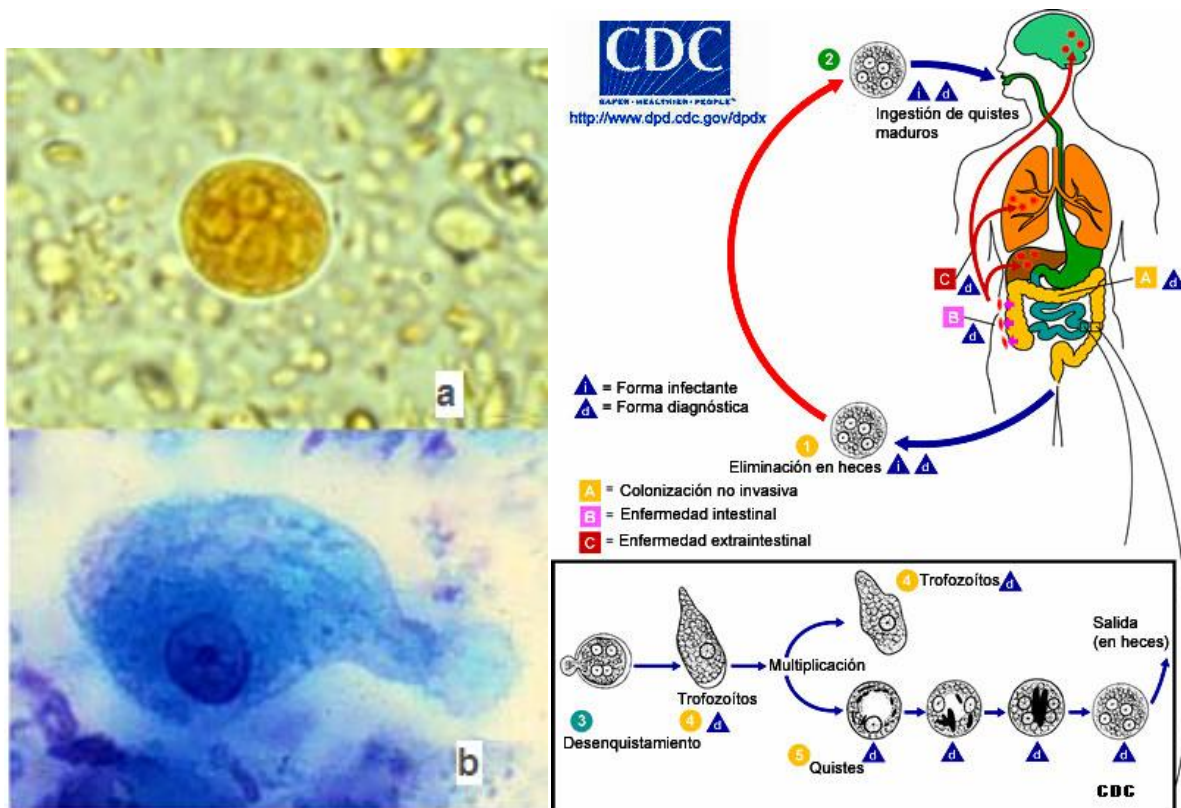


Figura 2. a) Quiste de *E. histolytica*; b) Trofozoíto de *E. histolytica*; c) Ciclo de vida de *E. histolytica*.

2.4 Tricomoniasis

La tricomoniasis es una infección de transmisión sexual (ITS) causada por el protozoo *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*), siendo la ITS más común por encima de la gonorrea y la clamidia. La prevalencia es alta en países en desarrollo, es responsable de 180 millones de infecciones por tricomoniasis anualmente y se presenta mayormente en mujeres (93%) en edad reproductiva aunque también se presenta en hombres (7%), en quienes regularmente es asintomática, sin embargo en mujeres es causa de vaginitis y vulvitis, el flujo vaginal es verde o gris, espumoso con picazón y mal olor. En hombres puede infectar la uretra y la próstata, pero en su mayoría permanecen asintomáticos, siendo solo portadores del parásito. La *T. vaginalis* es asociado con complicaciones durante el embarazo e infertilidad. La tricomoniasis es a menudo asociada con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) / SIDA y se sabe que se agravó por la infección del VIH. [11, 12,13]

2.4.1 *Trichomonas vaginalis*

La *T. vaginalis* es un protozoo flagelado en forma de pera u ovalada, con cuatro flagelos anteriores libres y un flagelo libre posterior, presenta un gran núcleo, retículo endoplásmico y aparato de Golgi. Cuenta con hidrogenosomas, organelos involucrados en la producción de H_2 , fagocita bacterias, células epiteliales de vagina y eritrocitos. Se presenta solo en forma de trofozoíto, ya que no se conocen formas quísticas; el trofozoíto se adhiere a las superficies mucosas del tracto urogenital y se divide por fisión binaria. La *T. vaginalis* puede sobrevivir varios días en piscinas y en el semen. [13,14,15]

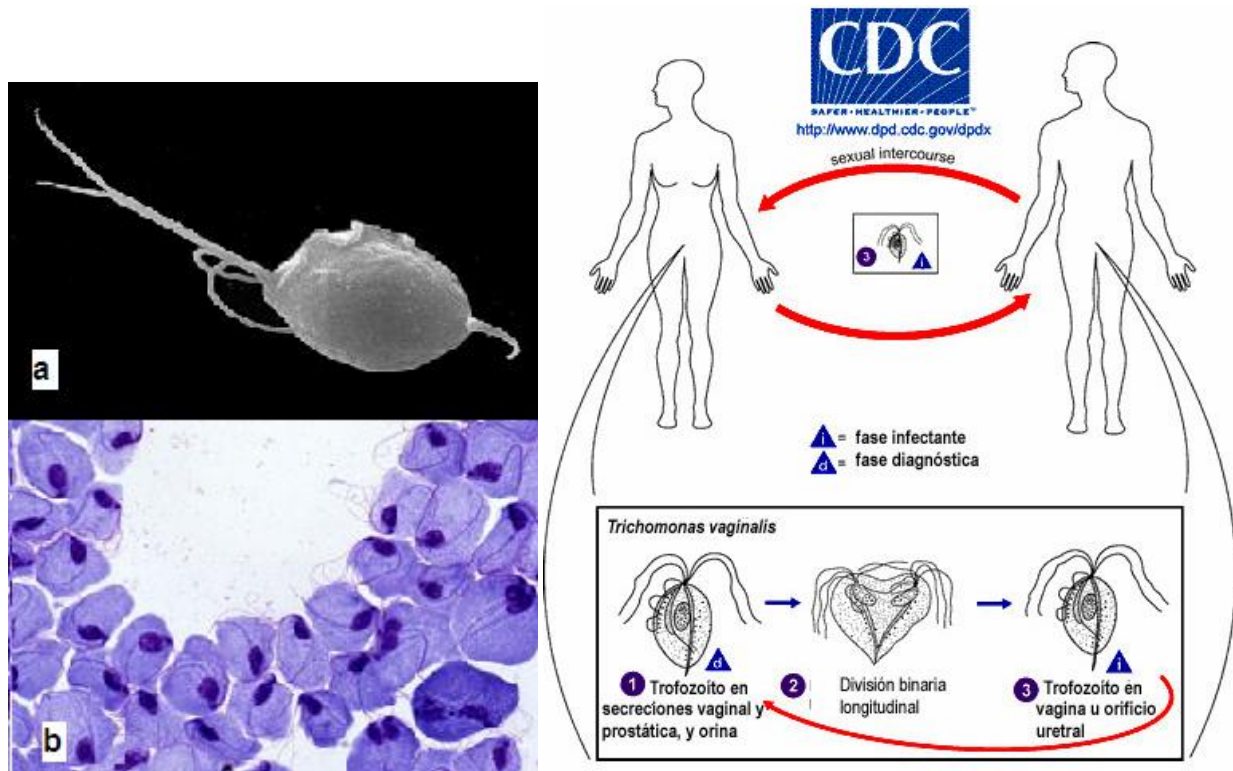


Figura 3. a y b) Trofozoíto de *T. vaginalis*; c) Ciclo de vida de *T. vaginalis*.

2.5 Tratamiento de las parasitosis

Algunos de los fármacos de elección para el tratamiento de las enfermedades parasitarias causadas por protozoarios son el albendazol, metronidazol y la nitazoxanida. Sin embargo, se han encontrado que varios parásitos responsables de dichas enfermedades han presentado resistencia a estos fármacos. Otros fármacos utilizados son los carbamatos bencimidazólicos (ej. mebendazol, fenbendazol, etc.) los cuales tienen un amplio espectro antiparasitario y baja toxicidad. [1,6]

2.6 Bencimidazoles como agentes antiparasitarios

El bencimidazol es un compuesto orgánico aromático heterocíclico. Se trata de un farmacóforo importante con una estructura privilegiada en la química medicinal. Es un compuesto bicíclico que consiste en la fusión de benceno e imidazol. El bencimidazol más prominente en la naturaleza es el *N*-ribosil-dimetilbencimidazol, que sirve como ligando axial del cobalto en la vitamina B12. Hasta ahora es un compuesto de elección para tratar las parasitosis ya que posee muchas propiedades farmacológicas, tales como antimicrobiano, antiviral, antidiabético y actividad anticancerígena.^[17]

El uso de derivados de bencimidazol data de varios años atrás, el albendazol así como también el mebendazol están entre los primeros compuestos que muestran actividad antiparasitaria.¹⁸ A partir de estos compuestos surgió el interés por desarrollar nuevos derivados bencimidazólicos con actividad contra protozoarios.

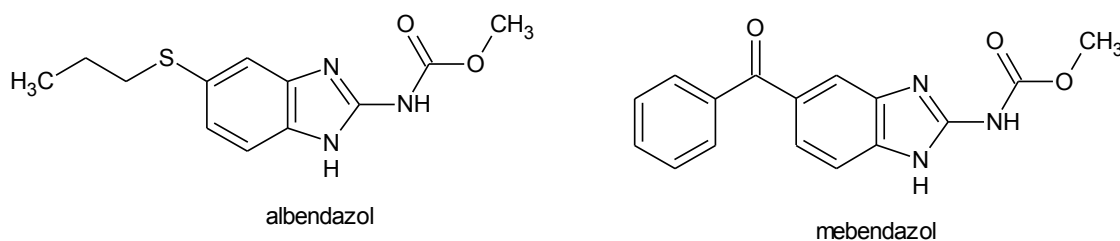


Figura 4. Estructura del albendazol y del mebendazol

En trabajos realizados por nuestro grupo de investigación, varios 1-*H*-bencimidazoles se han sintetizado y probado *in vitro* contra los protozoarios *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Estos derivados tienen sustituciones en la posición 2 del núcleo del bencimidazol con hidrógeno, metilo, amino, mercapto, metiltio y carbamato de metilo, así como también sustituciones en las posiciones 5 y 6 que incluyen hidrógeno y cloro. La mayoría de los compuestos ensayados han sido más activos como agentes antiprotozoarios que el metronidazol y albendazol.^[16] Para determinar la importancia que tiene el hidrógeno en la posición 1 se sintetizaron derivados 1-metilados que también presentan buena actividad giardicida siendo más efectivos que el metronidazol. Es importante mencionar que la presencia de cloro en las posiciones 5 y/o 6 le da más actividad a las moléculas.^[18]

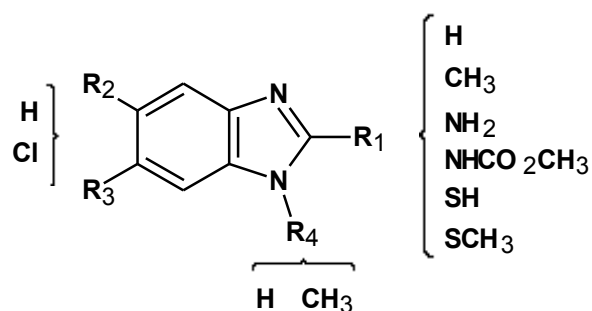


Figura 5. Algunos derivados del bencimidazol con actividad antiprotozoaria.

2.7 Otros agentes con actividad antiparasitaria

En estudios recientes se han encontrado otros compuestos que presentan actividad contra protozoarios, tales como la quinoxalina y la benzoxazinona. Por ejemplo el compuesto VAM2-2, que surgió de un estudio de virtual screening, posee un núcleo base de quinoxalinona en su estructura y buena actividad antiparasitaria.^[19] Solo pocos derivados de este tipo han sido preparados y evaluados contra protozoarios como *Leishmania donovani*, *Trypanosoma brucei* y *T. vaginalis*, en los que se incluyen modificaciones con sustituyentes tales como quinolina, cadenas de alquilo o anillos aromáticos.^[20]

Se sabe que los derivados de benzoxazinona presentan una amplia gama de actividades biológicas, como el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, antibacteriana, antifúngica, actividad contra el cáncer e inhibidor de las metiltransferasas.^[21, 22]

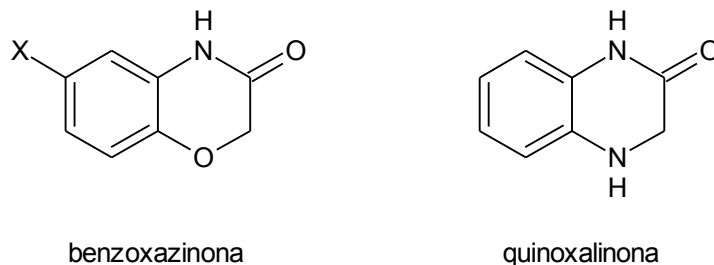


Figura 6. Núcleo de la benzoxazinona y la quinoxalinona.

2.8 Diseño de fármacos

El efecto fisiológico de una molécula está en función de su estructura. Esta relación es denominada SAR (Structure-Activity-Relationship) si es cualitativa y si es cuantitativa QSAR (Quantitative-Structure-activity-Relationship). Generalmente la actividad es consecuencia de

una interacción específica entre el fármaco y una macromolécula biológica. Se han considerado diferentes estrategias para buscar un prototipo de fármaco, tanto de origen natural como de síntesis.

Entre las estrategias para el diseño de fármacos está la modificación estructural de un prototipo, esta tiene por objeto optimizar su actividad farmacológica principal, con el fin de disponer de fármacos más selectivos y menos tóxicos, con mejor farmacocinética o sin problemas de formulación farmacéutica debido a una solubilidad o estabilidad inadecuadas, proceso indispensable en el desarrollo de cualquier fármaco. Incluso si no se consiguen análogos de gran actividad, las correlaciones cualitativas y cuantitativas que pueden establecerse entre las modificaciones estructurales realizadas y los datos de actividad son de gran utilidad para avanzar en el conocimiento del grupo farmacóforo.

Otro de los métodos usados para el diseño de fármacos es la asociación de dos moléculas, el cual consiste en la unión de dos estructuras con una determinada actividad, con la esperanza de potenciarla. Existe una diferencia entre adición molecular, replicación molecular e hibridación molecular. La primera surge por interacciones débiles entre moléculas diferentes (por ejemplo interacciones electrostáticas), en la segunda las interacciones son a través de enlaces covalentes en moléculas idénticas y la tercera consiste en que las moléculas que se asocian a través de enlaces covalentes para formar una nueva estructura que potencie la actividad de ambos (fármacos gemelos o híbridos). Por ejemplo, el analgésico benorilato procede de la unión covalente de la aspirina y el paracetamol (figura 7).

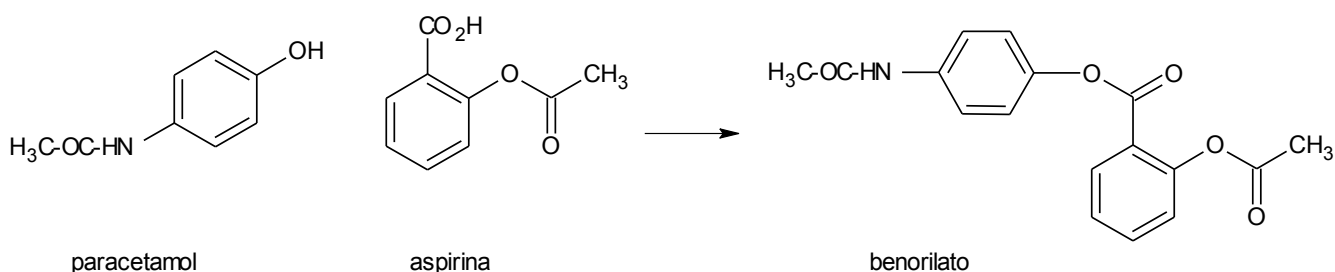
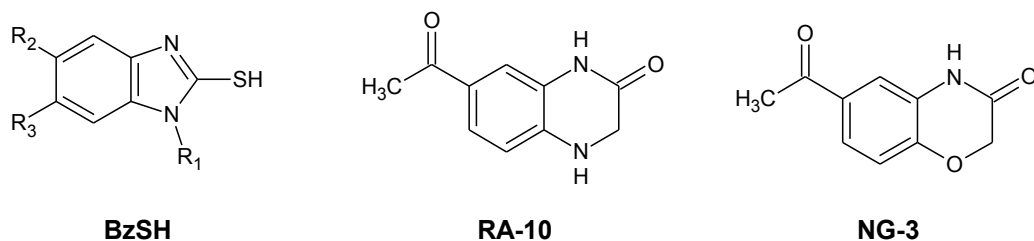


Figura 7. Benorilato a través de la asociación molecular del paracetamol y la aspirina.

2.9 Actividad antiparasitaria de algunos derivados de 2-mercaptobencimidazol, acetilquinoxalinona y acetilbenzoxazinona.

A continuación se presentan los datos que muestran la actividad biológica contra *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*, de algunos derivados de 2-mercaptobencimidazoles, obtenidos anteriormente por el grupo de investigación, así como los compuestos acetilquinoxalinona (**RA-10**) y acetilbenzoxazinona (**NG-3**).

Tabla 1. Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) de los fragmentos moleculares.



Clave	Nueva Clave	R ₁	R ₂	R ₃	<i>G. intestinalis</i> (μM)	<i>T. vaginalis</i> (μM)	<i>E. histolytica</i> (μM)	Ref.
JVG-4	BzSH-1	H	H	H	0.040	-	0.133	[16]
RSD-3	BzSH-2	CH ₃	H	H	0.033	0.898	0.196	[18]
JVG-9	BzSH-3	H	Cl	H	0.081	-	0.005	[16]
RSD-7	BzSH-4	CH ₃	Cl	H	0.045	35.540	0.010	[18]
JVG-16	BzSH-5	H	Cl	Cl	0.078	-	0.055	[16]
RSD-15	BzSH-6	CH ₃	Cl	Cl	0.008	26.310	0.128	[18]
	RA-10	-	-	-	0.035	0.158	0.074	-
	RA-10 [Oxidado]	-	-	-	0.129	0.123	0.084	-
	NG-3	-	-	-	0.092	0.172	0.109	-

Nota: Los estudios de actividad antiprotozoaria fueron realizados en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, IMSS, México; por el grupo de la Dra. Lilian Yépez Mulia.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades parasitarias, giardiasis, amebiasis y tricomoniasis, siguen afectando a una gran parte de la población. Los fármacos que se encuentran disponibles comercialmente han disminuido su eficacia, debido a la resistencia de los parásitos a estos fármacos, así como a sus propiedades farmacocinéticas no deseadas como baja solubilidad, toxicidad y tratamientos de larga duración. Por ello surge una necesidad de desarrollar nuevos compuestos para el tratamiento de estas enfermedades.

Para el diseño de compuestos como posibles fármacos existen diferentes técnicas para el desarrollo de nuevas moléculas. La asociación por dos moléculas sigue siendo una técnica utilizada en los últimos años. La unión de dos moléculas bioactivas, como lo son el bencimidazol, la quinoxalinona y la benzoxazinona, pueden proporcionar una mejor actividad contra los protozoarios *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*.

En el equipo de investigación se han sintetizado y evaluado varios derivados del bencimidazol, observando que sustituyentes como el hidrógeno y el metilo en la posición 1 y el cloro en la posición 5 y 6, proporcionan actividad a este núcleo; sin embargo hay poca información acerca de cómo sustituyentes heterocíclicos voluminosos en posición 2 del bencimidazol modifican la actividad. [24, 29]. Por otro lado, también se tiene el reporte de que algunos derivados de benzoxazinona tienen propiedades antiprotozoarias.

Establecido lo anterior surgen las siguientes interrogantes

¿Es posible que la combinación de las moléculas de derivados de 2-mercaptobencimidazol y 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona o 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona unidas a través del acetilo, genere una molécula híbrida que potencie el efecto antiparasitario de sus precursores?

¿La introducción de sustituyentes en el bencimidazol tendrá algún efecto en las nuevas moléculas híbridas?

4. HIPÓTESIS

La serie NIGB diseñada mediante la técnica de hibridación molecular de derivados del 2-mercaptobencimidazol y 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona o 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona con actividad antiprotozoaria comprobada, presentará mejor actividad contra *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis* que los núcleos aislados que la componen.

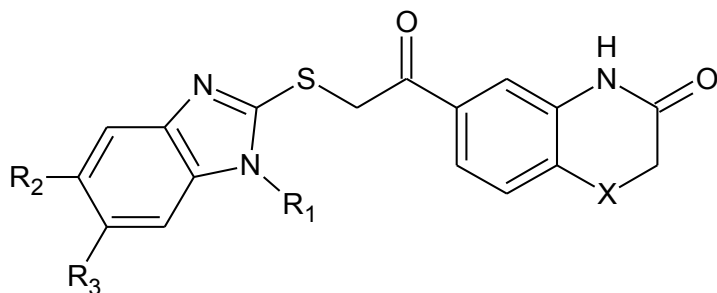
5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Sintetizar y evaluar siete compuestos híbridos designados como **NIGB-1**, **NIGB-2**, **NIGB-3**, **NIGB-4**, **NIGB-5**, **NIGB-6** y **NIGB-7**, diseñados por asociación de 2-mercaptobencimidazoles y 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona o 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona.

5.2 Objetivos particulares

- Sintetizar los compuestos **NIGB-1**, **NIGB-2**, **NIGB-3**, **NIGB-4**, **NIGB-5**, **NIGB-6**, **NIGB-7**, así como sus intermediarios de reacción.



NIGB-1: X=NH, R₁=R₂=R₃=H

NIGB-2: X=O, R₁=R₂=R₃=H

NIGB-3: X=O, R₁=CH₃, R₂=R₃=H

NIGB-4: X=O, R₁=H, R₂=Cl, R₃=H

NIGB-5: X=O, R₁=CH₃, R₂=Cl, R₃=H

NIGB-6: X=O, R₁=H, R₂=R₃=Cl

NIGB-7: X=O, R₁=CH₃, R₂=R₃=Cl

- Determinar las constantes físicas, y caracterizar los compuestos mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- Evaluar la actividad antiprotozoaria de los compuestos sintetizados contra *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* y *Trichomonas vaginalis* mediante ensayos *in vitro*.

6. METODOLOGÍA

El trabajo realizado se divide en dos partes, la parte química y la parte biológica:

La parte química comprende la secuencia sintética realizada para la obtención de los compuestos finales, llevada a cabo en el laboratorio 122 del departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM bajo la tutoría de la Dra. Alicia Hernández Campos y la supervisión técnica del M. en C. Rodrigo Aguayo Ortiz. Las metodologías involucradas para la preparación de cada uno de los intermediarios y los productos finales, así como los espectros con los que se comprobaron las estructuras se encuentran en el Anexo I.

La parte biológica de los compuestos finales se realizó en el Hospital de Pediatría, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Centro Médico Siglo XXI, bajo la supervisión de la Dra. Lilián Yépez Mulia.

6.1 Parte Química

La síntesis de la serie **NIGB-1** a **NIGB-7** se dividió en 3 partes:

6.1.1 Síntesis de los intermediarios 2-mercaptobencimidazoles **BzSH-1** a **BzSH-6**.

- 2-Mercaptobencimidazol (**BzSH-1**)
- 1-Metil-2-mercaptobencimidazol (**BzSH-2**)
- 5-Cloro-2-mercaptobencimidazol (**BzSH-3**)
- 5-Cloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol (**BzSH-4**)
- 5,6-Dicloro-2-mercaptobencimidazol (**BzSH-5**)
- 5,6-Dicloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol (**BzSH-6**)

6.1.2 Síntesis de 6-(bromoacetil)-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NG-4**).

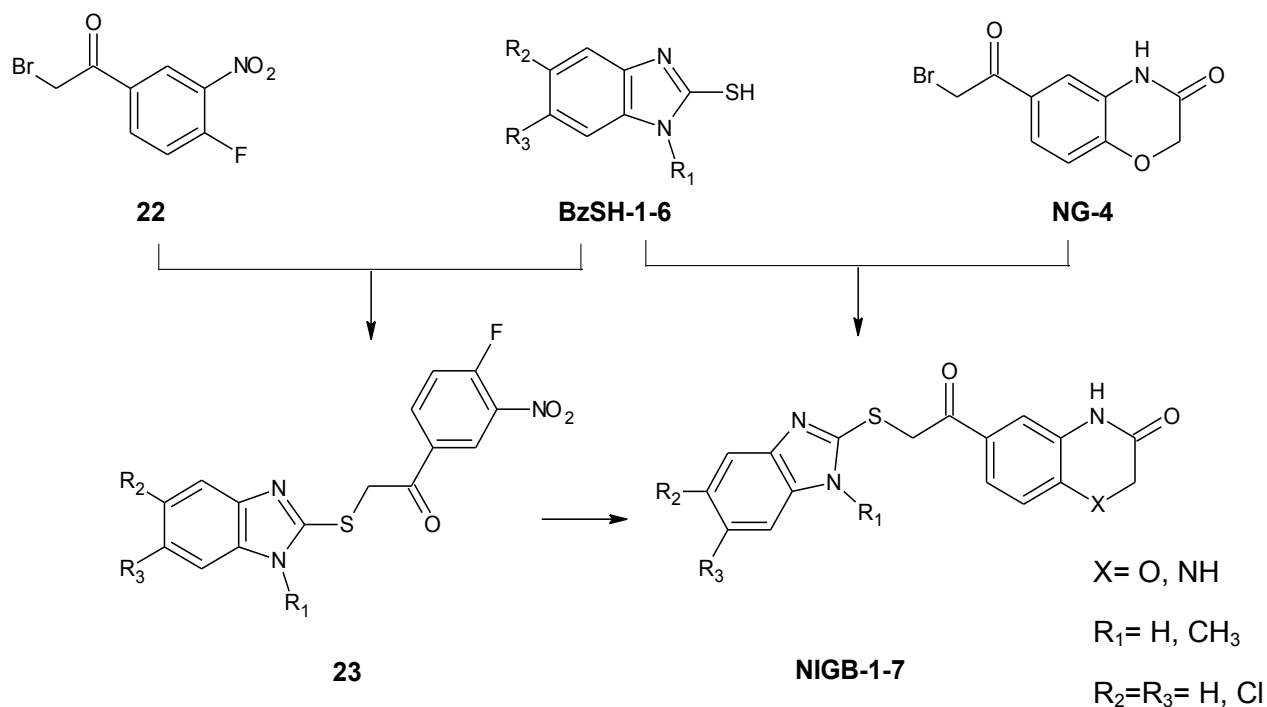
6.1.3 La síntesis de la serie NIGB

- 7-[(1H-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1H)-ona (**NIGB-1**)
- 6-[(1H-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (**NIGB-2**)
- 6-[(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona(**NIGB-3**)
- 6-[(5-cloro-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (**NIGB-4**)
- 6-[(5-cloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (**NIGB-5**)
- 6-[(5,6-dicloro-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (**NIGB-6**)
- 6{[(5,6-dicloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)ona (**NIGB-7**).

La serie NIGB se sintetizó por dos rutas mostradas en el Esquema 1.

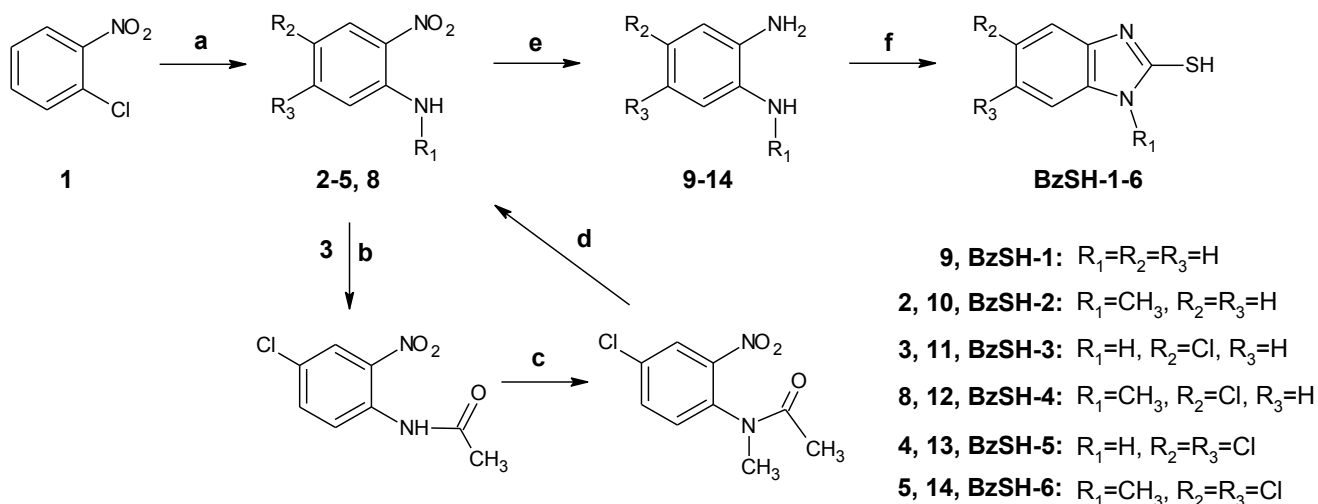
A: por un método secuencial partiendo de 2-bromo-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona y los bencimidazoles adecuadamente sustituidos, con posterior reducción y ciclación para obtener **NIGB-1**.

B: Usando un método convergente a partir de los bencimidazoles adecuadamente sustituidos y 6-(bromoacetil)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona y obtener los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7**.
Esquema 1.



6.1.1 Síntesis de 2-mercaptobencimidazoles

En el Esquema 2 se muestra la ruta general de síntesis de los derivados 2-mercaptobencimidazólicos.^[24]



Esquema 2. Ruta general de síntesis de los derivados 2-mercaptobencimidazólicos: (a) $NH_2CH_3 \cdot HCl$, K_2CO_3 , EtOH, calor; (b) Ac_2O , H_2SO_4 (cat.); (c) $(CH_3)_2SO_4$, NaOH, H_2O , monoglisma; (d) H_2SO_4 , H_2O , calor; (e) H_2 , Ni-Raney o Pd/C, MeOH/AcOEt; (f) CS_2 , KOH, EtOH/ H_2O .

Síntesis de los 1,2-diaminobencenos (**9 a 14**)

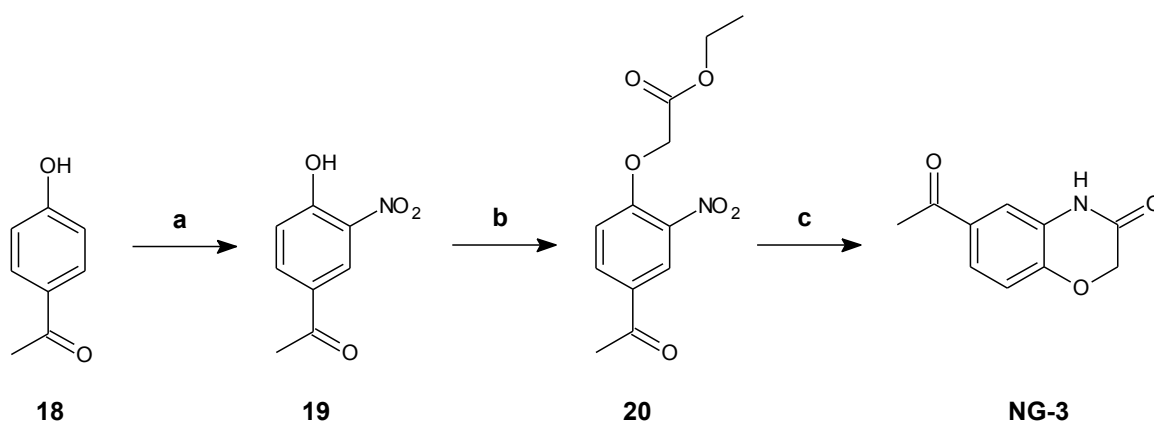
Para la formación de los 1,2-diaminobencenos se siguió la metodología previamente descrita por nuestro grupo. Los diaminobencenos obtenidos fueron utilizados inmediatamente en el siguiente paso de reacción, puesto que algunos tienden a oxidarse al contacto con el aire. ^[24]

Síntesis de 2-mercaptobencimidazoles (**BzSH-1 a BzSH-6**)

Los intermediarios del tipo 2-mercaptobencimidazol (**BzSH-1 a BzSH-6**) se prepararon empleando disulfuro de carbono, hidróxido de potasio; como disolvente etanol-agua y el 1,2-diaminobenceno apropiadamente sustituido (**9 a 14**), de acuerdo a lo ya descrito anteriormente. ^[24]

6.1.2 Síntesis de 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NG-3**)

La ruta sintética para la obtención de la benzoxazinona (**NG-3**) se presenta en el Esquema 3. Se partió de la 4-hidroxiacetofenona (**18**), la cual se nitró con ácido nítrico en ácido acético glacial, obteniéndose la 4-hidroxi-3-nitro acetofenona (**19**); ésta se sometió a una S_NAr con α-bromoacetato de etilo y carbonato de potasio en DMF anhidro para dar lugar a 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo (**20**). Finalmente se realizó una reducción usando Pd/C (5%) con calor para ciclar y obtener el compuesto **NG-3**.



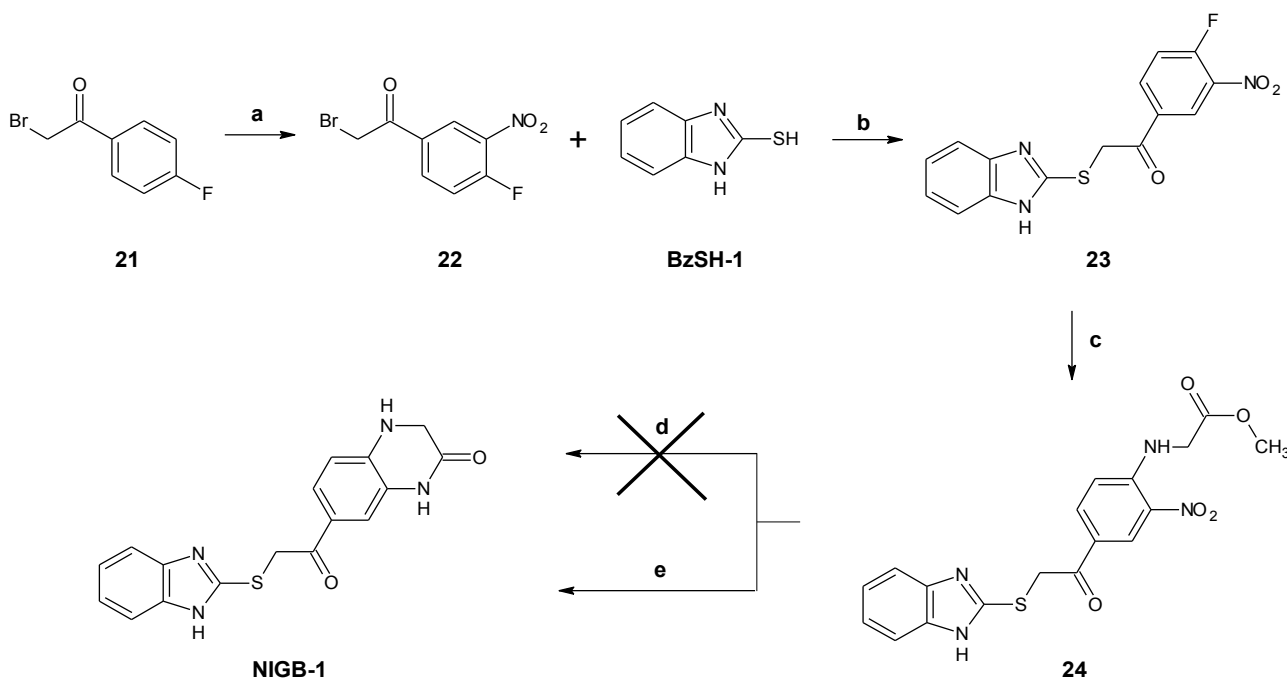
Esquema 3. Síntesis de 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona: (a) HNO₃, CH₃COOH_{glacial}; (b) C₄H₇O₂Br, Na₂CO₃, DMF_{anhidro}; (c) Pd/C 5%, H₂, MeOH, calor.

6.1.3 Síntesis de la serie NIGB

Para la síntesis de la serie NIGB se siguieron dos rutas de síntesis, la primera para obtener **NIGB-1** usando 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona y la segunda para obtener la serie **NIGB-2** a **NIGB-7** usando 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona **NG-3**.

Síntesis de 7-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona (**NIGB-1**)

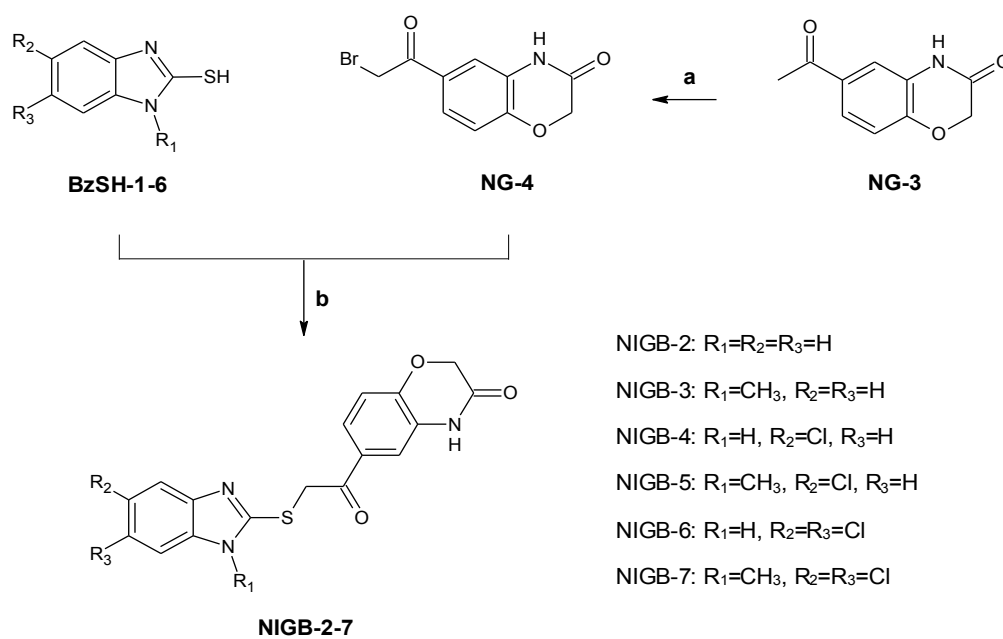
La síntesis del compuesto **NIGB-1** se realizó mediante una serie de cuatro reacciones (Esquema 4); se partió de la 2-bromo-1-(4-fluorofenil)etanona **21**, la cual se nitró a bajas temperaturas para dar el nitrocompuesto **22**. Para obtener **23** se realizó una reacción de sustitución nucleofílica entre **22** y el tiol **BzSH-1**, previamente sintetizado. Posteriormente, el flúor de **23** se sustituyó por el nitrógeno de la glicina. Para ello se utilizó el éster metílico de la glicina en condiciones básicas, con lo que se obtuvo el compuesto **24**. Finalmente se realizó una reducción del grupo nitro y ciclación para obtener **NIGB-1**.



Esquema 4. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto **NIGB-1**: (a) HNO₃ (fumante), H₂SO₄, 0 °C; (b) NaHCO₃, CH₃CN; (c) NH₂CH₂COOCH₃•HCl, NaHCO₃, MeOH, calor; (d) H₂, Pd/C 5%, calor; (e) Zn, CH₃COOH, calor.

Síntesis de los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7**

Para la síntesis de los derivados de 6-[(1*H*-bencimidazol-2-iltio)acetil]-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NIGB-2** a **NIGB-7**) sustituidos, se siguió la serie de reacciones mostrada en el Esquema 5. Se inició con la bromación de 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NG-3**), empleando perbromuro bromuro de piridinio y una disolución de ácido bromhídrico al 25% en ácido acético, obteniendo **NG-4**; posteriormente se realizó la sustitución del bromuro de **NG-4** con cada uno de los 2-mercaptobencimidazoles **BzSH-1** a **BzSH-6** en medio básico, dando la serie de compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7**.



Esquema 5. Síntesis de los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7**: (a) PyBr₂-HBr, HBr/AcOH 25%, AcOH glacial; (b) Na₂CO₃, CH₃CN.

6.2 Parte Biológica

Para la evaluación de la actividad antiprotozoaria se empleó el método de subcultivos, previamente estandarizado. De forma breve, el procedimiento es el siguiente. Se incubaron 4×10^6 trofozoítos de *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis* por 48 h a 37 °C, en tubos de concentraciones crecientes del compuesto híbrido NIGB correspondiente (0.005, 0.010, 0.050, 0.100, 0.500 µg/mL), utilizando como compuestos de referencia albendazol y metronidazol y nitazoxanida. Para el control negativo se emplearon trofozoítos en medio libre de compuesto de prueba agregando dimetil sulfóxido (DMSO) en la concentración usada como disolvente.

Se inocularon 50 µL de los trofozoítos tratados en medio fresco sin compuestos y se incubaron por 48 h más. Posteriormente, se determinó el número final de trofozoítos con un hemocitómetro. Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento en comparación con el control y posteriormente mediante análisis Probit se calculó la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀), que corresponde a la concentración que inhibió el crecimiento de 50% de los trofozoítos. Los experimentos se realizaron dos veces por triplicado.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

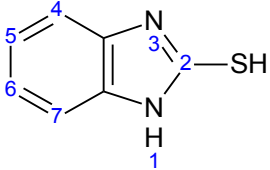
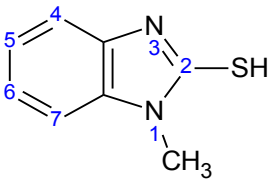
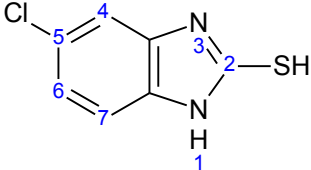
7.1 Resultados parte Química

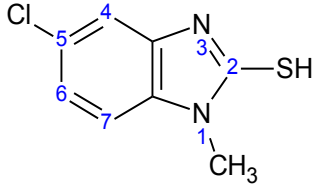
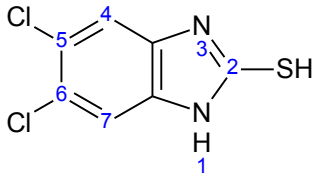
En la **Tabla 2** se muestran las características fisicoquímicas más importantes de los intermediarios y productos finales sintetizados. En la **Tabla 3** se presentan las constantes espectroscópicas de IR, RMN¹H, RMN¹³C y EM, para cada compuesto sintetizado.

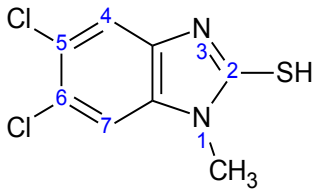
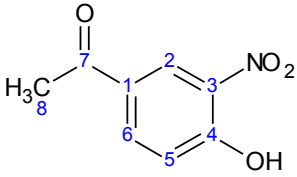
Tabla 2. Constantes físicas de los compuestos sintetizados

Comp.	Rendimiento (%)	Disolvente utilizado para recristalización	Pf (°C)	Rf (sistema)
BzSH-1	77	Etanol	302.2-304.9	0.61 (S.VI)
BzSH-2	60	Etanol-agua	195.8-196.3	0.33 (S.VII)
BzSH-3	75	Etanol-agua	296.3-298.0	0.41 (S.I)
BzSH-4	69	Etanol	231.5-233.2	0.66 (SI)
BzSH-5	99	Metanol	343.9-344.7	0.7 (S.VIII)
BzSH-6	62	Etanol-agua	232.9-233.3	0.5 (S.VII)
19	79	Acetona-agua	130.8-132.2	0.63 (S.II)
20	95	agua	82.9-84.0	0.7 (S.II)
NG-3	80	Metanol-agua	187.8-189.7	0.51 (S.VI)
22	68	éter de petróleo	55.5-59.1	0.65 (S.III)
23	86	acetoniitrilo	182.5-183.6	0.73 (S.IV)
24	76	agua	228.6-231.0	0.62 (S.III)
NIGB-1	60	Acetona-agua	>300	0.54 (S.IV)
NG-4	70	Etanol-agua	204.7-206.4	0.43 (S.I)
NIGB-2	85	Etanol-agua	228.0-231.2	0.18(S.I)
NIGB-3	80	Etanol-agua	235.2-235.9	0.45(S.I)
NIGB-4	82	Etanol-agua	250.6-252.7	0.25(S.I)
NIGB-5	92	Etanol-agua	229.1-232.3	0.56(S.I)
NIGB-6	94	Etanol-agua	252.7-254.1	0.17(S.I)
NIGB-7	75	Dimetil sulfóxido	257.4-258.8	0.55(S.I)

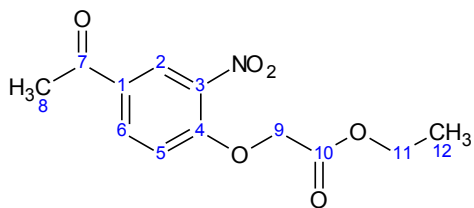
Tabla 3. Caracterización espectroscópica y espectrométrica de los compuestos sintetizados.

Compuesto	Caracterización
<p style="text-align: center;">BzSH-1</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 150.2</p>	<p>Espectro 1, IR (Pastilla KBr) cm^{-1}: 3148-2980 (C-H aromático), 2761-2569 (S-H), 1618 y 1510 (C-C aromático) 1258 (C-N).</p> <p>Espectro 2, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 7.21 (m, 2H, H-5 y H-6); 7.53 (m, 2H, H-4 y H-7).</p> <p>Espectro 3, EM (IE/ID; m/z): 150 (M^+, 100%), 118 ($M^+ - 32$, 18%).</p>
<p style="text-align: center;">BzSH-2</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 164.22</p>	<p>Espectro 4, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3129-3063 (C-H aromático), 2737-2577 (S-H), 1618 y 1493 (C-C aromático), 1245 (C-N) 1384 ($-\text{CH}_3$).</p> <p>Espectro 5, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 3.64 (s, 3H, $\text{N}-\text{CH}_3$); 7.17-7.19 (m, 4H, H-4, H-5, H-6, H-7); 12.72 (s, 1H, SH).</p> <p>Espectro 6, EM (IE/ID; m/z): 164 (M^+, 2%), 150 ($M^+ - 14$, 100%), 118 ($M^+ - 46$, 24%).</p>
<p style="text-align: center;">(BzSH-3)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 184.65</p>	<p>Espectro 7, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3084-3052 (C-H aromático), 2562 (S-H), 1613 y 1474 (C-C aromático), 1213 (C-N).</p> <p>Espectro 8, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 7.12-7.14 (m, 3H, H-4, H-6 y H-7); 12.63 (s, 1H, SH).</p> <p>Espectro 9, EM (IE/ID; m/z): 186 ($M^+ + 2$, 35%) isotopía Cl, 184 (M^+, 100%), 149 ($M^+ - 35$, 43%), 152 ($M^+ - 33$, 32%).</p>

<p style="text-align: center;">(BzSH-4)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 198.67</p>	<p>Espectro 10, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3133-3054 (C-H aromático); 2921-2959 (C-H alifático); 2584 (S-H); 1609-1476 (C-C aromático); 1379 (-CH₃).</p> <p>Espectro 11, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 3.62 (s, 3H, N-CH₃); 7.17 (dd, 1H, J=2.1 Hz, J=0.3 Hz, H-4); 7.21 (dd, 1H, J=8.4 Hz, J=2.1 Hz, H-6); 7.36 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-7); 12.87 (s, 1H, SH).</p> <p>Espectro 12, EM (IE/ID; m/z): 200 (M⁺ +2, 35%) isotopía Cl; 198 (M⁺, 100%); 165 (M⁺-33, 45%); 153 (M⁺-30, 17%).</p>
<p style="text-align: center;">(BzSH-5)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 219.09</p>	<p>Espectro 13, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3079-3037 (C-H aromático); 2525 (S-H); 1605-1459 (C-C aromático); 1227(C-N).</p> <p>Espectro 14, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 7.29 (s, 1H, H-4 o H-7) y 7.30 (s, 1H, H-7 o H-4); 12.79 (s, 2H, NH y SH).</p> <p>Espectro 15, EM (IE/ID; m/z): 220, 222 (M⁺+2, M⁺+4, 65% y 14%) isotopía Cl; 218 (M⁺, 100%); 183 (M⁺-35, 54%).</p>

<p style="text-align: center;">(BzSH-6)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 233.11</p>	<p>Espectro 16, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3021-2885 (C-H aromático, C-H alifático); 2543 (S-H); 1604-1461 (C-C aromático); 1137 (C-N).</p> <p>Espectro 17, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 3.61 (s, 3H, N-<u>CH₃</u>); 7.32 (s, 1H, H-4); 7.72 (s, 1H, H-7); 12.93 (s, 1H, SH).</p> <p>Espectro 18, EM (IE/ID; m/z): 234, 236 ($M^+ + 2$, $M^+ + 4$, 68% y 14%) isotopía Cl; 232 (M^+, 100%); 199 ($M^+ - 35$, 57%).</p>
<p style="text-align: center;">(19)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 181.15</p>	<p>Espectro 19, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3106 – 2930 (C-H aromático); 1677 (C=O, H₃C-<u>CO</u>-Ar); 1562 – 1259 (C=C aromático); 1527 y 1334 (Ar-<u>NO₂</u>); 1259 (C-O).</p> <p>Espectro 20, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 2.55 (s, 3H, <u>CH₃</u>-CO-Ar); 3.76 (s, 1H, OH); 7.21 (d, 1H, J=8.7Hz, H-5); 8.08 (dd, 1H, J=8.7 Hz, J=2.4 Hz H-6); 8.38 (d, 1H, J=2.1 Hz, H-2).</p> <p>Espectro 21, EM (IE/ID; m/z): 181 (M^+, 43%); 166 ($M^+ - 15$, 91%); 149 ($M^+ - 32$, 4%); 120 ($M^+ - 61$, 100%).</p>

(20)



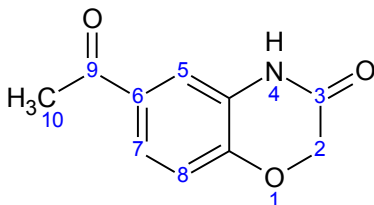
M 267.24

Espectro 22, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3087 – 2909 (C-H aromático); 1748 y 1675 (C=O, $\text{H}_2\text{C-CO-O}$ y $\text{H}_3\text{C-CO-Ar}$); 1532–1348 (Ar- NO_2); 1610–1451 (C=C aromático).

Espectro 23, RMN ^1H (TMS, DMSO- d_6) ppm: 1.21 (t, 3H, O- CH_2-CH_3); 2.59 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO-Ar}$); 4.17 (m, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$); 5.14 (s, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CO}$); 7.42 (d, 1H, $J=9.0$ Hz, H-5); 8.17 (dd, 1H, $J=9.0$ Hz, $J=2.1$ Hz H-6); 8.41 (d, 1H, $J=2.1$, H-2).

Espectro 24, EM (IE/ID; m/z): 267 (M^+ , 8%); 252 (M^+-15 , 39%); 221 (M^+-46 , 45%); 193 (M^+-74 , 100%); 164 (M^+-103 , 25%); 150 (M^+-117 , 35%); 120 (M^+-147 , 35%).

(NG-3)

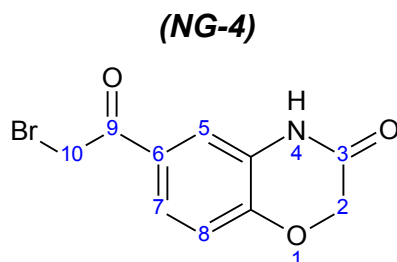


M 191.18

Espectro 25, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3335 (N-H), 3062–2887 (C-H aromático, C-H alifático); 1675 (C=O, HN-CO-CH_2 y $\text{H}_3\text{C-CO-Ar}$); 1601 – 1497 (C=C aromático).

Espectro 26, RMN ^1H (TMS, DMSO- d_6) ppm: 2.50 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO-Ar}$); 4.68 (s, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CO}$); 7.04 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, H-8); 7.46 (d, 1H, $J=2.1$ Hz, H-5); 7.59 (dd, 1H, $J=8.4$ Hz, $J=2.1$ Hz H-7); 10.88 (s, 1H, NH).

Espectro 27, EM (IE/ID; m/z): 191 (M^+ , 48%); 176 (M^+-15 , 100%); 148 (M^+-43 , 43%); 120 (M^+-71 , 30%).



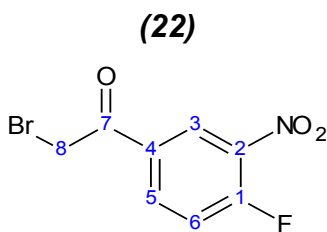
M 270.07

Espectro 28, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3279 (N-H), 3121–2880 (C-H aromático, CH alifático); 1671 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1609-1438 (C=C aromático).

Espectro 29, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 3.40 (s, 2H, Br-CH₂-CO-Ar); 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 7.06 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-8); 7.49 (d, 1H, J=2.1 Hz, H-5); 7.61 (dd, 1H, J=8.4 Hz, J=2.1 Hz, H-7); 10.90 (s, 1H, NH,)

Espectro 30, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 26.39, 66.72, 115.19, 115.96, 121.01, 124.56, 127.18, 131.33, 147.20, 164.18.

Espectro 31, EM (IE/ID; m/z): 271 (M⁺+2, 6%) isotopía Br; 269 (M⁺, 7%); 191 (M⁺-79, 16%); 176 (M⁺-94, 100%); 148 (M⁺-94, 18%).

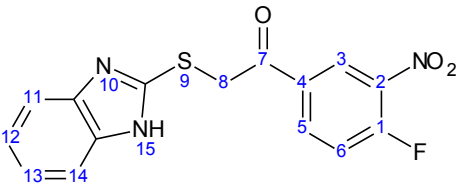
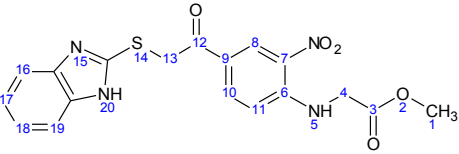


M 262.03

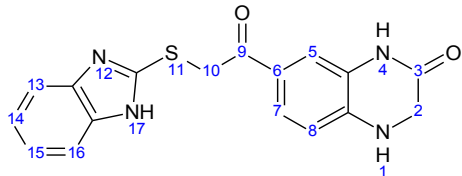
Espectro 32, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3062 – 3027 (C-H aromático); 2948 (C-H alifático); 1701 (C=O, CH₂-CO-Ar); 1533 y 1348 (Ar-NO₂); 1609 – 1493 (C=C aromático).

Espectro 33, RMN ¹H (TMS, CHCl₃-d) ppm: 4.40 (s, 2H, Br-CH₂-C=O); 7.43 (dd, 1H, J=8.8 Hz, J=10.0 Hz, H-6); 8.25-8.30 (m 1H, H-5); 8.67 (dd, 1H, J=7.0 Hz, J=2.1 Hz, H-3).

Espectro 34, EM (IE/ID; m/z): 263 (M⁺, 19%) isotopía Br; 261 (M⁺, 20%); 168 (M⁺-93, 100%); 122 (M⁺-139, 91%); 108 (M⁺-153, 35%).

<p style="text-align: center;">(23)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 331.32</p>	<p>Espectro 35, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3354 (NH-Ar); 3075 y 3027 (C-H aromático); 2955 (C-H alifáticos); 1685 (C=O); 1531 y 1352 (Ar-NO_2).</p> <p>Espectro 36, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 5.22 (s, 2H, S-CH_2-C=O, H-8); 7.23-7.27 (m, 2H, H-12, H-13); 7.50-7.53 (m, 2H, H-11, H-14); 7.83 (dd, 1H, $J=8.7\text{Hz}$ $J=10.0\text{ Hz}$, H-6); 8.45-8.50 (m, 1H, H-5), 8.76 (dd, 1H, $J=7.35\text{ Hz}$, $J=2.1\text{ Hz}$, H-3).</p> <p>Espectro 37, EM (IE/ID; m/z): 331 (M^+, 23%); 168 (M^+-163, 50%); 163 (M^+-168, 100%); 150 (M^+-181, 26%).</p>
<p style="text-align: center;">(24)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 400.40</p>	<p>Espectro 38, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3360 (NH-Ar); 3336 (Ar-NH-CH_2); 3099 – 3028 (C-H aromático); 2958-2921 (C-H alifático); 1727 y 1673 (C=O, CH_2-CO-O y CH_2-CO-Ar); 1560 y 1316 (Ar-NO_2); 1244 (S-CH_2).</p> <p>Espectro 39, RMN ^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm: 3.71 (s, 3H, O-CH_3); 4.40 (d, 2H, Ar-NH-CH_2); 4.99 (s, 2H, S-CH_2-C=O); 7.06-7.13 (m, 4H, H-16, H-17, H-18, H-19); 8.11 (dd, 1H, $J=9.0\text{ Hz}$, $J=2.1\text{ Hz}$ H-10); 8.82 (d, 1H, $J=2.1$, H-8); 8.85 (d, 1H, $J=6.0$, H-11); 12.63 (s, 1H, NH).</p> <p>Espectro 40, EM (IE/ID; m/z): 400 (M^+, 4%); 237 (M^+-163, 66%), 193 (M^+-207, 22%); 163 (M^+-237, 32%); 150 (M^+-250, 100%).</p>

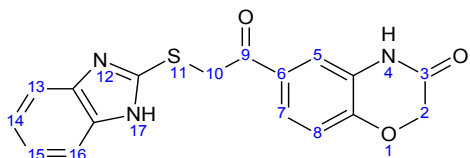
(NIGB-1)



M 338.38

Espectro 41, EM (IE/ID; *m/z*): 190 (M^+ -148, 5%); 175 (M^+ -163, 7%); 150 (M^+ -189, 100%).

(NIGB-2)



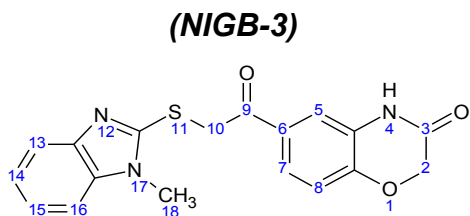
M 339.36

Espectro 42, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3514 (NH, Ar-NH-CO); 3145-3058 (C-H aromático); 2967-2920 (C-H alifáticos); 1689 y 1658 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1600-1491 (C=C aromático).

Espectro 43, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 4.71(s, 2H, O-CH₂-CO); 4.99 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.09 (d, 1H, J=9.0 Hz H-8); 7.11-7.14 (m, 2H, H-14 y H-15); 7.41-7.44 (m, 2H, H-13 y H-16); 7.54 (d, 1H, J=1.8 Hz, H-5); 7.74 (dd, 1H, J=8.4Hz, J=1.8Hz, H-7); 10.92 (s, 1H, NH).

Espectro 44, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 39.41, 66.77, 115.51, 116.14, 121.66, 124.81, 127.41, 129.74, 147.70, 164.11, 191.59.

Espectro 45, EM (IE/ID; *m/z*): 339 (M^+ , 5%); 191 (M^+ -148, 14%); 176 (M^+ -163, 56%); 150 (M^+ -189, 100%); 118 (M^+ -221, 34%).



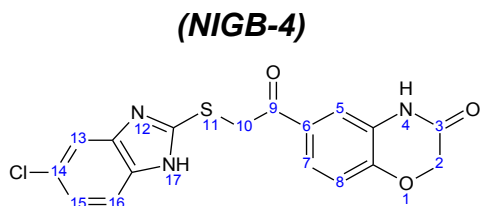
M 353.39

Espectro 46, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3309 (NH, Ar-NH-CO); 3080 (C-H aromático); 2913 (C-H alifáticos); 1691 y 1657 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1607-1461 (C=C aromático).

Espectro 47, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 3.73 (s, 3H, NH-CH₃); 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 5.01 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.08 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-8); 7.13-7.20 (m, 2H, H-14 y H-15); 7.46-7.48 (m, 2H, H-13 y H-16); 7.55 (d, 1H, J=2.1 Hz, H-5); 7.73 (dd, 1H, J=8.4 Hz, J=1.5 Hz, H-7); 10.91 (s, 1H, NH).

Espectro 48, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 29.92, 39.99, 66.76, 109.40, 115.53, 116.13, 117.47, 121.43, 121.53, 124.73, 127.37, 129.77, 136.78, 142.66, 150.95, 164.08, 191.46.

Espectro 49, EM (IE/ID; m/z): 353 (M⁺, 14%); 191 (M⁺-162, 18%); 176 (M⁺-177, 70%); 164 (M⁺-189, 100%); 131 (M⁺-222, 34%).



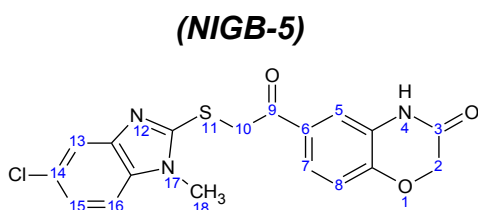
M 373.81

Espectro 50, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : ~3300 (NH, Ar-NH-CS, Ar-NH-CO); 3126-3052 (C-H aromático); 2969-2921 (C-H alifáticos); 1722 y 1693 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1611-1488 (C=C aromático).

Espectro 51, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 4.99 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.08-7.18 (m, 2H, H-15 y H-8); 7.41 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-16); 7.47 (s, 1H, H-13); 7.53 (s, 1H, H-5); 7.73 (d, 1H, J=8.4Hz, H-7); 10.92 (s, 1H, NH).

Espectro 52, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 39.38, 66.77, 115.49, 116.14, 121.59, 124.80, 125.88, 127.41, 129.74, 147.70, 151.52, 164.11, 191.50.

Espectro 53, EM (IE/ID; m/z): 375 (M⁺+2, 4%) isotopía de Cl; 373 (M⁺, 8%); 355 (M⁺-18, 30%); 191 (M⁺-182, 24%); 184 (M⁺-189, 84%); 176 (M⁺-197, 100%); 149 (M⁺-224, 30%).

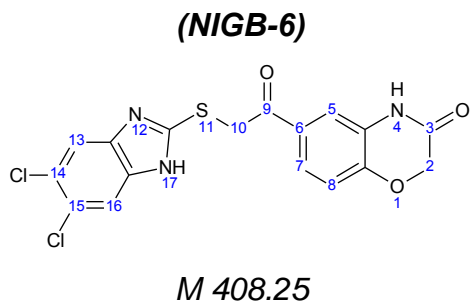


Espectro 54, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3376 (NH, Ar-NH-CO); 3079-3066 (C-H aromático); 2960-2923 (C-H alifáticos); 1693 y 1655 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1608 – 1484 (C=C aromático).

Espectro 55, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 3.73 (s, 3H, NH-CH₃); 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 5.01 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.09 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-8); 7.20 (dd, 1H, J=8.5Hz J=2.1Hz, H-15); 7.50 (s, 1H, H-13); 7.51-7.53 (m, 2H, H-5 y H-16); 7.73 (dd, 1H, J=8.5 Hz, J=1.8 Hz H-7); 10.92 (s, 1H, NH).

Espectro 56, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 30.22, 40.0, 66.79, 110.78, 115.53, 116.20, 116.95, 121.56, 124.80, 126.06, 127.41, 129.77, 135.68, 143.45, 147.74, 153.08, 164.14, 191.35.

Espectro 57, EM (IE/ID; m/z): 389 (M⁺+2, 6%) isotopía de Cl; 387 (M⁺, 18%); 211 (M⁺-176, 30%); 198 (M⁺-189, 66%); 191 (M⁺-196, 22%); 176 (M⁺-211, 100%), 165 (M⁺-, 30%);

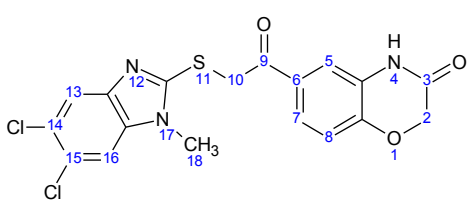


Espectro 58, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1} : 3544-3432 (NH, Ar-NH-CS, Ar-NH-CO); 3181-3068 (C-H aromático); 2960-2902 (C-H alifáticos); 1694 y 1655 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1609-1487 (C=C aromático).

Espectro 59, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 4.99 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.09 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-8); 7.53 (d, 1H, J=1.8 Hz, H-5); 7.67 (s, 2H, H-13 Y H-16); 7.73 (dd, 1H, J=8.4 Hz J=1.2Hz, H-7); 10.91 (s, 1H, NH).

Espectro 60, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 39.38, 66.76, 115.46, 116.14, 123.81, 124.78, 127.39, 129.72, 147.70, 153.26, 164.09, 191.37.

Espectro 61, EM (IE/ID; m/z): 409 y 411 (M⁺+2 y M⁺+4, 5%,1%) isotopía de Cl; 407 (M⁺, 8%); 281 (M⁺-126, 18%); 218 (M⁺-189, 50%); 207 (M⁺-200, 46%); 191 (M⁺-216, 26%); 176 (M⁺-231, 100%).

<p style="text-align: center;">(NIGB-7)</p>  <p style="text-align: center;"><i>M</i> 422.28</p>	<p>Espectro 62, IR (Pastilla: KBr) cm^{-1}: 3383 (NH, Ar-NH-CO); 3080 (C-H aromático); 2965-2928 (C-H alifáticos); 1698 y 1660 (C=O, HN-CO-CH₂ y H₃C-CO-Ar); 1608 – 1465 (C=C aromático).</p> <p>Espectro 63, RMN ¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm: 3.73 (s, 3H, N-CH₃); 4.71 (s, 2H, O-CH₂-CO); 5.03 (s, 2H, S-CH₂-CO); 7.09 (d, 1H, J=8.4 Hz, H-8); 7.53 (d, 1H, J=1.8Hz, H-5); 7.71 (s, 1H, H-13); 7.73 (dd, 1H, J=8.1 Hz, J=1.5 Hz, H-7); 7.89 (s, 1H, H-16), 10.92 (s, 1H, NH).</p> <p>Espectro 64, RMN ¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm: 30.38, 40.06, 66.76, 111.29, 115.47, 116.17, 118.44, 123.97, 124.01, 124.77, 127.39, 129.69, 136.37, 142.09, 147.72, 164.09, 191.15.</p> <p>Espectro 65, EM (IE/ID; m/z): 421 (M⁺, 10%); 245 (M⁺-176, 18%); 232 (M⁺-189, 44%); 207 (M⁺-214, 10%); 191 (M⁺-230,18%); 176 (M⁺-245, 100%); 423 y 425 (M⁺+2 y M⁺+4, 7% y 1%) isotopía de Cl.</p>
---	---

Nota: La numeración de los compuestos en la Tabla 3 fue asignada de manera arbitraria y no corresponde con la de la nomenclatura.

7.1.1 Obtención de los derivados 2-mercaptobenzimidazol (BzSH-1 a BzSH-6)

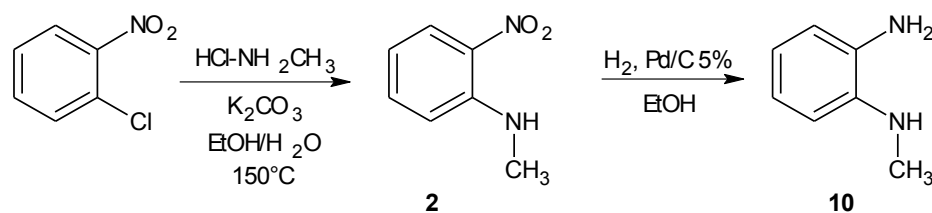
De acuerdo al esquema de reacción 5, para la preparación de los compuestos **NIGB1** a **NIGB-7**, fue necesario contar con los precursores heterocíclicos 2-mercaptobenzimidazoles **BzSH-1** a **BzSH-6**, así como con el compuesto 6-(bromoacetil)-2*H*-1,4-benzoxazin 3(4*H*) ona (**NG-4**). A continuación se discute la síntesis de los precursores **BzSH-1** a **BzSH-6**.

La obtención de **BzSH-1** se inició a partir del 1,2-diaminobenceno **9** comercial mediante una ciclocondensación con disulfuro de carbono y potasa en disolución alcohólica, teniendo un rendimiento del 77%.

La identificación estructural se realizó por espectroscopia; en IR se observó una banda débil entre 2761-2569 cm^{-1} correspondiente a la vibración S-H del bencimidazol. En RMN¹H mostró dos señales múltiples en 7.21 y 7.53 ppm que integran para dos hidrógenos cada uno correspondientes a los hidrógenos del anillo aromático. En espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 150, así como el fragmento a m/z 118 el cual corresponde a la pérdida del grupo tiol.

En el caso de **BzSH-2** se obtuvo mediante una serie de pasos, primero se sintetizó la *N*-metil-2-nitroanilina **2**, a partir de 1-cloronitrobenzoceno (comercial) mediante una sustitución nucleofílica aromática (S_NA) con clorhidrato de metilamina, y carbonato de potasio en etanol y agua; para dicha reacción se utilizó el reactor Parr de 1L de capacidad que tiene una bomba de enfriamiento y un controlador donde se utilizó a 150 °C durante 5 días para asegurar que la mayor parte de materia prima reaccionara. Se obtuvo el compuesto **2** con 93% de rendimiento. Previo a la siguiente reacción el compuesto **2** se purificó por medio de una columna con alúmina y cloroformo.

El punto de fusión del compuesto **2** es de 36 °C por lo que es necesario mantenerlo en refrigeración. Posteriormente, para obtener el *N*-metil-1,2-diaminobenceno **10** se realizó la reducción catalítica de **2** usando Pd/C como catalizador. Ver Esquema 6. Finalmente, la ciclocondensación con disulfuro de carbono y potasa en disolución alcohólica dio el BzSH-2. En este caso se preparó por separado el xantato de etilo. Se obtuvo un rendimiento de síntesis del 60%. La identificación estructural se realizó mediante espectroscopia; en el espectro de IR se observó el grupo SH entre 2737-2577 cm^{-1} . En RMN¹H se identificaron los hidrógenos correspondientes al metilo en 3.64 ppm y los correspondientes al anillo de benceno entre 7.17-7.19 ppm que integraron para 4 hidrógenos. En el espectrómetro de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 164, el fragmento a m/z 150 indicó la pérdida del grupo metilo de bencimidazol; así como el fragmento a m/z 118 correspondió a la pérdida del grupo tiol.

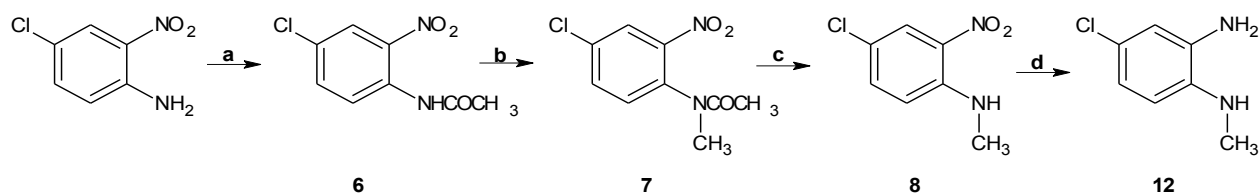


Esquema 6. Síntesis de *N*-metil-1,2-diaminobenceno

Para la síntesis de **BzSH-3** se partió de la 4-cloro-2-nitroanilina comercial **3**, mediante una reacción de hidrogenación catalítica, usando Ni-Raney como catalizador, para obtener 4-cloro-1,2-diaminobenceno **11**. En un paso consecutivo se hizo reaccionar **11** con disulfuro de carbono y potasa en disolución alcohólica, preparando por separado el xantato de etilo. Se tuvo un rendimiento de síntesis del 75%. La identificación estructural se realizó mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observó que en 2562 cm^{-1} se encuentra presente el grupo tiol como una banda débil. En RMN^1H se identificaron los hidrógenos correspondientes al anillo de benceno entre 7.12-7.14 ppm que integraron para tres hidrógenos y la señal para el hidrógeno del amino en 12.63 ppm. Por medio de espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 184, así como el fragmento a m/z 149 el cual correspondió a la pérdida del cloro. El fragmento $M+2$ con m/z 186 correspondió a la isotopía del cloro.

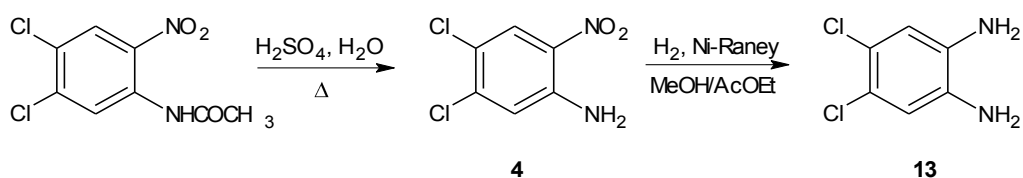
Para la síntesis de **BzSH-4**, primeramente se acetiló a la 4-cloro-2-nitroanilina con anhídrido acético y ácido sulfúrico como catalizador a $70\text{ }^\circ\text{C}$ dando la acetamida **6**, en rendimiento cuantitativo de 99%. Posteriormente se realizó la *N*-metilación de **6** con sulfato de dimetilo y potasa obteniendo el compuesto **7** en 63% de rendimiento, a este último se le realizó una hidrólisis ácida para tener el compuesto nitroamino **8**, el cual se sometió a hidrogenación catalítica utilizando Ni-Raney como catalizador para obtener la diamina 4-cloro-*N*-metil-1,2-diaminobenceno **12**, Esquema 7. La ciclocondensación de la diamina con xantato de etilo produjo el tiol deseado. La identificación estructural de **BzSH-4** se realizó mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observó en 2584 cm^{-1} la presencia del grupo tiol como una banda débil. En RMN^1H se identificó una señal simple en 3.62 ppm que corresponde a los hidrógenos pertenecientes al metilo. También se identificaron los hidrógenos correspondientes al anillo de benceno en 7.17 ppm (H-4), 7.21 ppm (H-6) y 7.36 ppm (H-7) y el hidrógeno del amino en 12.87 ppm. Por medio de espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 198; Los iones a m/z 200 ($M+2$) y a m/z

165 correspondieron a la isotopía del cloro y a la pérdida de SH respectivamente.



Esquema 7. Síntesis de 4-cloro-*N*-metil-1,2-diaminobenceno: (a) Ac_2O , H_2SO_4 (cat); (b) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, NaOH , H_2O , monoglima; (c) H_2SO_4 , H_2O , calor; (d) Ni-Raney, H_2 , EtOH/AcOEt .

La síntesis de **BzSH-5** se inició a partir de *N*-(4,5-dicloro-2-nitrofenil)acetamida, obtenida previamente por compañeros de trabajo en el laboratorio, que mediante una reacción de hidrólisis ácida se produjo la 4,5-dicloro-2-nitroanilina **4** con rendimiento de 96%. La hidrogenación catalítica de **4** con H_2 y Ni-Raney, para obtener 4,5-dicloro-1,2-diaminobenceno **13**, y posterior ciclocondensación, con el xantato de etilo de la diamina, produjo el tiol **BZSH-5**, con rendimiento global de 99%, Esquema 8. La caracterización estructural de **BzSH-5** se hizo mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observó en 2525 cm^{-1} el grupo tiol como una banda débil. En el espectro de RMN^1H se observan los hidrógenos característicos de este bencimidazol como una señal doble en 7.29 y 7.30 ppm asignados para H-4 o H-7, en 12.79 ppm una señal simple que integró para los hidrógenos de NH y SH . Así también por espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 218. Los iones a m/z 222 ($\text{M}+4$), 220 ($\text{M}+2$) y a m/z 183 correspondieron a la contribución disotópica de dos átomos de cloro y a la pérdida de un cloro.



Esquema 8. Síntesis de 4,5-dicloro-1,2-diaminobenceno.

En la obtención de **BzSH-6** se empleó 5-dicloro-*N*-metil-2-nitroanilina como materia prima, la cual se redujo catalíticamente usando Ni-Raney para la obtención de 4,5-dicloro-*N*-metil-1,2-diaminobenceno **14**. La diamina recién preparada y sin aislar, para evitar su oxidación se sometió a la reacción de ciclocondensación con xantato de etilo para dar el tiol **BzSH-6** con

un rendimiento global de 62%. La caracterización estructural de **BzSH-6** se hizo mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observó en 2543 cm^{-1} la presencia del grupo tiol como una banda débil. En el espectro de RMN^1H se observaron los tres tipos de hidrógeno característicos de este bencimidazol: una señal simple en 3.61 ppm que integró para los tres hidrógenos del metilo, los hidrógenos aromáticos se encuentran en 7.32 ppm (H-4) y 7.72 ppm (H-7), y en 12.93 ppm una señal simple que integró para un hidrógeno correspondiente al SH. Así también por espectrometría de masas se comprobó la masa molecular del compuesto con m/z 232; los iones a m/z 234 (M+2), a m/z 236 (M+4) y a m/z 199 correspondieron a la contribución isotópica de dos átomos de cloro y a la pérdida de cloro.

7.1.2 Síntesis de 6-(bromoacetil)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (NG-4)

Como se mencionó anteriormente, de acuerdo al esquema de reacción 5, para la preparación de los compuestos **NIGB2** a **NIGB-7**, fue necesario tener como materias primas a los 2-mercaptobencimidazoles **BzSH-1** a **BzSH-6**, así como con el compuesto 6-(bromoacetil)-2H-1,4-benzoxazin 3(4H) ona (**NG-4**). A continuación se discute la síntesis de **NG-4**.

Para la obtención del compuesto **NG-4**, se comenzó con la nitración de 4-hidroxiacetofenona comercial, según el Esquema 3, la cual se nitró en posición orto al fenol, con ácido nítrico en ácido acético glacial. Se tuvo especial cuidado al disminuir la temperatura del ácido acético para evitar que se congelara, ésto sucede alrededor de los $-10\text{ }^\circ\text{C}$. De la misma manera el ácido nítrico se agregó mediante un embudo de adición para que el flujo fuera constante y evitara la formación de subproductos.^[25] La 4-hidroxi-3-nitro acetofenona **19**, se caracterizó mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observaron en 1677 cm^{-1} la banda característica del grupo carbonilo y en 1527 cm^{-1} y 1334 cm^{-1} la presencia del grupo nitro. En RMN^1H se observaron los hidrógenos del metilo en 2.55 ppm como una señal simple en 3.76 ppm una señal simple para el OH del fenol, los hidrógenos aromáticos como un doble, un doble de dobles y un doble respectivamente en 7.21 ppm (H-5), 8.08 ppm (H-6) y 8.38 ppm (H-2). En espectrometría de masas se comprobó la masa del ión molecular a m/z 181, el fragmento a m/z 166 mostró la pérdida del metilo, el ión a m/z 120 correspondió la pérdida de 61 unidades debido a la pérdida del metilo y la del grupo nitro.

La 4-hidroxi-3-nitroacetofenona **19**, fué sometida a una sustitución con α -bromoacetato de etilo en *N,N*-dimetilformamida anhidra (DMF) en medio básico. La reacción se llevó a $80\text{ }^\circ\text{C}$

bajo atmosfera de nitrógeno. Se obtuvo 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo **20** con un 95% de rendimiento. La transformación se comprobó mediante espectroscopia. En el espectro de IR se observaron señales para los dos carbonilos en 1748 cm^{-1} y 1675 cm^{-1} y en 1532 cm^{-1} y 1348 cm^{-1} para el grupo nitro. En RMN¹H se observaron las señales triple y múltiple en 1.21 ppm y 4.17 ppm que integraron para 3 y 2 hidrógenos correspondientes al etilo de la parte del éster y una señal simple en 5.14 ppm que integra para 2 hidrógenos correspondiente al metileno del acetato. En espectrometría de masas se observó la masa del ión molecular a m/z 267 y los fragmentos a m/z 252 correspondientes a la pérdida del grupo metilo, a m/z 221 pérdida del grupo nitro y a m/z 193 pérdida del grupo acetato de etilo.

El siguiente paso fue la reducción catalítica de **20** usando Pd/C como catalizador y metanol como disolvente durante 3 h. La amina recién generada, sin aislar, se calentó durante 5 h a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ para promover la ciclación intramolecular dando la 1,4-benzoxazinona **NG-3**, con un rendimiento del 80%. La estructura de **NG-3** se caracterizó por espectroscopia. En el espectro de IR se observó en 3335 cm^{-1} una señal para al NH de la amida y en 1675 cm^{-1} la banda característica para ambos carbonilos. El espectro de RMN¹H mostró las señales y multiplicidad esperadas, siendo de relevancia la señal simple en 2.50 ppm que integra para tres hidrógenos asignada al metilo del acetilo. La señal simple en 4.68 ppm integra para dos hidrógenos y que corresponde al metileno del anillo de 1,4-benzoxazinona y como una señal simple se presenta el hidrógeno del grupo amino en 10.88 ppm. En el espectro de masas se observó el ión molecular a m/z 191, a m/z 176 la pérdida del metilo y el fragmento a m/z 148 correspondió a la pérdida del grupo acetilo.

Finalmente, **NG-4** se obtuvo por una reacción de halogenación del acetilo de la 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin 3(4H)-2-ona **NG-3** con perbromuro bromuro de piridinio en ácido acético y una disolución de HBr al 25% en ácido acético, a temperatura ambiente en agitación durante 2 h. Se empleó sólo un equivalente del reactivo perbromuro para evitar productos secundarios. [26, 27] La caracterización estructural de **NG-4** se realizó mediante espectroscopia. En IR se observaron las vibraciones en 3279 cm^{-1} la banda correspondiente al grupo amino y en 1671 cm^{-1} una banda fuerte para ambos carbonilos. El espectro RMN¹H, mostró en 3.40 ppm una señal simple que integra para dos hidrógenos del metileno del acetilo y en 4.71 ppm se observó una señal simple para dos hidrógenos del metileno del anillo de 1,4-benzoxazinona. En el espectro de masas se observa el ión molecular a m/z

269, y la contribución isotópica del bromo a m/z 271 (M+2), el ión a m/z 191 correspondió con la pérdida del bromo y el fragmento a m/z 176 a la pérdida del grupo acetilo.

7.1.3 Síntesis de 7-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona (NIGB-1)

Debido a que este caso no se sintetizó al precursor 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona por su inestabilidad, la síntesis de **NIGB-1** se realizó por un método secuencial en donde el último paso fué la formación del anillo 3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona. A continuación se describe la preparación del compuesto **NIGB-1**.

La síntesis comenzó a partir de la 2-bromo-1-(4-fluoro)etanona comercial, a la cual se le realizó una nitración con ácido nítrico fumante y ácido sulfúrico, a 0 °C. El producto nitrado **22** se obtuvo en rendimiento moderado (68%), como un compuesto de bajo punto fusión, el cual se purificó con lavados de éter de petróleo.^[28] En espectroscopia de IR se observa la señal característica del carbonilo en 1701 cm^{-1} , y las correspondientes al nitro en 1533 cm^{-1} y 1348 cm^{-1} . El espectro de RMN¹H mostró una señal en 4.40 ppm para los hidrógenos del metileno del acetilo y para los hidrógenos aromáticos en 7.43 ppm (H-6); 8.25-8.30 ppm (H-3) y 8.67 ppm (H-5), con la multiplicidad esperada. En el espectro de masas se observaron los iones a m/z 263 y a m/z 261 correspondientes a la contribución isotópica del bromo (M+2) y la masa del ión molecular y a m/z 168 la pérdida del (BrCH₂).

Posteriormente, mediante una reacción de sustitución nucleofílica se preparó la 2-(1*H*-benzimidazol-2-ilsulfanil)-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona **23**, usando bicarbonato de sodio en acetonitrilo para generar el anión del bencimidazol, para posteriormente llevar a cabo la sustitución del bromo en **22**, la reacción se dejó por 2h. El producto se obtuvo en 86% de rendimiento, se caracterizó por espectroscopia de IR mostrando una banda débil el grupo amino en 3354 cm^{-1} , la banda del carbonilo en 1685 cm^{-1} y las bandas del nitro en 1531 cm^{-1} y 1352 cm^{-1} . En RMN¹H mostró en 5.22 ppm una señal simple que integra para los dos hidrógenos del metileno, en 7.23-7.27 ppm se observa una señal múltiple (H-12 y H-13) y otra en 7.50-7.53 ppm (H-12 y H-13), mientras que los hidrógenos aromáticos se encuentran en 7.83 (H-6), 8.45-8.50 (H-5) y en 8.76 (H-3). También se analizó mediante espectrometría de masas mostrando a m/z 331 el ión molecular, se observa el fragmento a m/z 163 como la pérdida de la etanona.

Finalmente, la reducción química del grupo nitro de **24**, con Zn en ácido acético, condujo a la formación de **NIGB-1**. La reducción se intentó hacer catalíticamente con Pd/C al 5%, sin embargo después de 5 h no se observó avance significativo en la reacción, ya que la molécula contiene azufre y se produce un envenenamiento al catalizador. El compuesto **NIGB-1** se obtuvo como cristales color café que en ccf se mostró como una sola mancha, pero que con el tiempo y trabajo de la reacción tiende a descomponerse. Una muestra de pureza aceptable se analizó por espectrometría de masas pero no se logró determinar el ión molecular. En cambio se mostraron los fragmentos de bencimidazol-2-tiol a m/z 175 y quinoxalinona a m/z 150.

Realizada esta metodología y al observar que la 7-acetil-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona es poco estable, se modificó ligeramente la estructura de los compuestos planeados; se cambió el núcleo de 3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona por el 1,4-benzoxazin(4*H*)-ona. Debido a la dificultad en el paso final de esta metodología inicial se propuso una nueva metodología de síntesis para los demás compuestos de la serie NIGB, formando los núcleos por separado y luego uniéndolos para obtener los compuestos deseados. La nueva metodología se usó para los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7**.

7.1.4 Obtención de los compuestos de la serie **NIGB-2** a **NIGB-7**

Los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7** se sintetizaron mediante un procedimiento general, por un método convergente uniendo a los 2-mercaptobencimidazoles (**BzSH-1** a **BzSH-6**) con la 6-(bromoacetil)-2*H*-1,4-benzoxazin(4*H*)ona, **NG-4**, mediante una reacción de sustitución nucleofílica tipo S_N2 con carbonato de sodio en acetonitrilo. Los compuestos **NIGB** son poco solubles en acetonitrilo por lo que durante la reacción se precipita. La reacción se terminó en agua. Los productos se purificaron con lavados de metanol y posterior recrystalización. Los rendimientos fueron de moderados a buenos siendo el más bajo para **NIGB-7**, 75%, y el más alto para **NIGB-6**, 94%. El compuesto **NIGB-7** fue difícil de recrystalizar ya que su solubilidad sólo es posible en dimetil sulfóxido caliente. Una vez obtenidos los compuestos puros se caracterizaron mediante espectroscopia de IR, RMN¹H, RMN¹³C y espectrometría de masas.

La espectroscopia de infrarrojo muestra las señales esperadas de los diferentes grupos presentes. Se observó una banda débil en el rango de 3514-3300 cm^{-1} , correspondiente a

NH de la amida. En el caso de **NIGB-4** la señal no es clara, se observa una pequeña curva que se encuentra aproximadamente en 3300 cm^{-1} . Las bandas características al estiramiento del carbonilo aparecen en todos los compuestos en un rango de 1722 a 1655cm^{-1} .

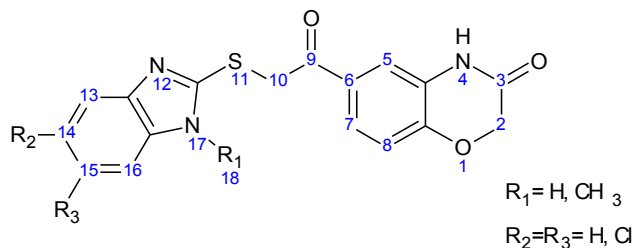
En RMN^1H todos los compuestos presentaron señales similares para los hidrógenos H-2 y H-10 en 4.71 ppm y $4.99\text{-}5.03\text{ ppm}$ respectivamente, correspondiente a los dos metilenos presentes en la molécula. Para el hidrógeno H-4, hidrógeno del amino, una señal simple a 10.92 ppm . Todos los compuestos metilados en R_1 mostraron una señal en 3.73 ppm (H-18). Las señales del sistema aromático de la benzoxazinona muestran señales muy parecidas en todos los casos entre $7.51\text{-}7.55\text{ ppm}$ (H-5), $7.73\text{-}7.74\text{ ppm}$ (H-7) y $7.08\text{-}7.09\text{ ppm}$ (H-8); sin embargo las constantes de acoplamiento (J) variaron un poco, asociándolo a que los hidrógenos en R_1 que pueden tener una pequeña influencia magnética sobre los protones H-7 y H-8.

En **NIGB-2** y **NIGB-3** los hidrógenos aromáticos del núcleo de bencimidazol H-13 y H-16 se muestran en el rango de $7.41\text{-}7.48\text{ ppm}$, mientras que para H-14, H-15 se encuentran entre $7.11\text{-}7.20\text{ ppm}$, mostrándose como señales múltiples por la influencia de los demás hidrógenos presentes. Comparando **NIGB-4** y **NIGB-5**, éstos presentan el mismo sistema para los hidrógenos aromáticos mostrando en su mayoría señales múltiples debido a que se traslapan con la señal de los hidrógenos de la benzoxazinona, ya que se desplazan en el mismo campo. Para H-13 se encuentra entre 7.47 a 7.50 ppm , H-15 se encuentra en un intervalo de 7.08 a 7.20 ppm , mientras que para H-16 está entre 7.41 a 7.53 ppm . Para **NIGB-6** y **NIGB-7** los desplazamientos para H-13 y H-16 oscilan entre 7.67 a 7.89 ppm . El espectro de **NIGB-7** fue difícil de interpretar ya que existen señales de más pero que se muestran repetitivas y que puede suponer otra conformación en el compuesto. En la **Tabla 4** se presentan los valores de las diferentes señales correspondientes a los hidrógenos de los compuestos.

En los espectros de RMN^{13}C , se observaron las señales esperadas para los carbonos presentes en las moléculas, en la mayoría de los casos se logró visualizar al menos 12 de los 17 ó 18 carbonos presentes en la molécula. Esta falta de señales puede ser explicada por la lenta relajación que presentan ciertos núcleos de ^{13}C , en particular los carbonos cuaternarios, es mayor el tiempo en que generan un pulso lo que hace que la intensidad sea menor que la de los demás carbonos.

Tabla 4. Desplazamientos y multiplicidad de los hidrógenos presentes en los compuestos **NIGB-2 a NIGB-7**

Compuesto	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-10	H-13	H-14	H-15	H-16	H-18
NIGB-2	4.71 s	10.92 s	7.54 d J=1.8Hz	7.74 dd J=8.4Hz J=1.8Hz	7.09 d J=9.0Hz	4.99, s	7.41- 7.44 m	7.11- 7.14 m	7.11- 7.14 m	7.41- 7.44 m	-
NIGB-3	4.71 s	10.91 s	7.55 d J=2.1Hz	7.73 dd J=8.4Hz J=1.5Hz	7.08 d J=8.4Hz	5.01 s	7.46- 7.48 m	7.13- 7.20 m	7.13- 7.20 m	7.46- 7.48 m	3.73 s
NIGB-4	4.71 s	10.92 s	7.53 s	7.73 d J=8.4Hz	7.08- 7.18 m	4.99 s	7.47 s	-	7.08- 7.18, m	7.41 d J=8.4Hz	-
NIGB-5	4.71 s	10.92 s	7.51- 7.53 m	7.73 dd J=8.5Hz J=1.8Hz	7.09 d J=8.4Hz	5.01 s	7.50 s	-	7.20 dd J=8.5Hz J=2.1Hz	7.51- 7.53 m	3.73 s
NIGB-6	4.71 s	10.91 s	7.53 d J=1.8Hz	7.73 dd J=8.4Hz J=1.2Hz	7.09, d J=8.4Hz	4.99 s	7.67 s	-	-	7.67 s	-
NIGB-7	4.71 s	10.92 s	7.53 d J=1.8Hz	7.73 dd J=8.1Hz J=1.5Hz	7.09 d J=8.4Hz	5.03 s	7.71 s	-	-	7.89 s	3.73 s



Los compuestos también fueron analizados por espectrometría de masas. En todos los casos se observó la presencia del ión molecular en proporción inferior al 20%, debido a que los compuestos son sensibles a la técnica de análisis, sin embargo se observaron las principales fragmentaciones que sufren. En la **Tabla 5** se muestran los principales fragmentos de los compuestos finales. Las fragmentaciones principales que muestran los compuestos finales tienen en común el rompimiento justo en medio de la molécula, donde se cree es más susceptible, obteniendo la fragmentación A o C, según sea el caso, con un 100% de abundancia. Sin embargo cabe destacar que la fragmentación B se da en menor proporción que las otras dos.

Tabla 5. Principales fragmentos en espectrometría de masas de la serie NIGB.

Compuesto	PM	M ⁺	Fragmento A m/z (abundancia)	Fragmento B m/z (abundancia)	Fragmento C m/z (abundancia)
NIGB-2	339.36	339 (5%)	150 (100%)	191 (14%)	176 (56%)
NIGB-3	353.39	353 (14%)	164 (100%)	191 (18%)	176 (70%)
NIGB-4	373.81	373 (8%)	184 (84%)	191 (24%)	176 (100%)
NIGB-5	387.84	387 (18%)	198 (66%)	191 (22%)	176 (100%)
NIGB-6	408.25	407 (8%)	218 (50%)	191 (26%)	176 (100%)
NIGB-7	422.28	421(10%)	232 (44%)	191 (18%)	176 (100%)

7.2 Resultados parte Biológica

7.2.1 Prueba de susceptibilidad *in vitro* de protozoarios

Los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7** se sometieron a ensayos de actividad *in vitro* contra *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Para la evaluación de la actividad antiprotozoaria se empleó el método de subcultivos^[30]. En la **Tabla 6** y el **Gráfico 1** se muestran los resultados de la evaluación *in vitro*.

Tabla 6. CI_{50} de la actividad antiprotozoaria *in vitro* y $1/CI_{50}$ de los compuestos **NIGB-2** a **NIGB-7** y de fármacos de referencia.

Compuesto	<i>G. intestinalis</i>		<i>E. histolytica</i>		<i>T. vaginalis</i>	
	CI_{50} (μM)	$1/CI_{50}$	CI_{50} (μM)	$1/CI_{50}$	CI_{50} (μM)	$1/CI_{50}$
NIGB-2	0.3329	3.00	0.2357	4.24	0.3919	2.55
NIGB-3	0.249	4.02	0.1386	7.22	0.3169	3.16
NIGB-4	0.5082	1.97	0.1792	5.58	0.6286	1.59
NIGB-5	0.192	5.21	0.0747	13.39	0.4228	2.37
NIGB-6	0.0489	20.45	0.0232	43.10	0.1224	8.17
NIGB-7	0.0272	36.76	0.0118	84.75	0.0189	52.91
Albendazol (ABZ)	0.037	27.03	56.6	0.02	1.592	0.63
Metronidazol (MTZ)	1.228	0.81	0.350	2.86	0.216	4.63
Nitazoxanida (NTZ)	0.013	76.92	0.055	18.18	0.110	9.09

En los ensayos contra *G. intestinalis* el compuesto **NIGB-7** fue quien presentó la mayor actividad antiprotozoaria. En general todos compuestos fueron superiores en actividad al MTZ, sólo **NIGB-6** y **NIGB-7** tienen actividades iguales o superiores al ABZ y ninguno de los compuestos superó la potencia de NTZ.

Por otro lado, todos los compuestos presentaron una actividad superior contra *E. histolytica* respecto a los fármacos de referencia ABZ y MTZ, sin embargo sólo **NIGB-5** tuvo una actividad similar a NTZ, mientras que **NIGB-6** y **NIGB-7** fueron marcadamente superiores a NTZ, siendo 2 y 4 veces más potentes que NTZ, respectivamente.

En el caso de *T. vaginalis* todos los compuestos sintetizados fueron más activos que el ABZ, sólo **NIGB-6** y **NIGB-7** superan en actividad al MTZ. El compuesto que presentó la menor actividad fue **NIGB-4**. **NIGB-6** tuvo una actividad muy parecida a NTZ y sólo **NIGB-7** superó marcadamente a NTZ siendo alrededor de 5 veces más potente.

En los resultados, se observa que los compuestos **NIGB-6** y **NIGB-7** fueron los más potentes, lo que indica que la contribución de cloro en las posiciones 5 y 6 del bencimidazol favorece un incremento en la potencia contra los parásitos mencionados anteriormente. La potencia disminuye cuando se tiene sólo un cloro y aún más cuando no hay átomos de cloro.

Respecto a los compuestos 1-metilados en los derivados de bencimidazol, se observa que la actividad es mayor cuando tienen un grupo metilo que cuando existe un H en la misma posición; sin embargo en los compuestos híbridos **NIGB-2** y **NIGB-3** no existe una diferencia muy significativa ya que las actividades están en valores muy cercanos, lo que sugiere que la mayor actividad es proporcionada por el efecto que tiene el cloro en estos compuestos y no por el grupo metilo.

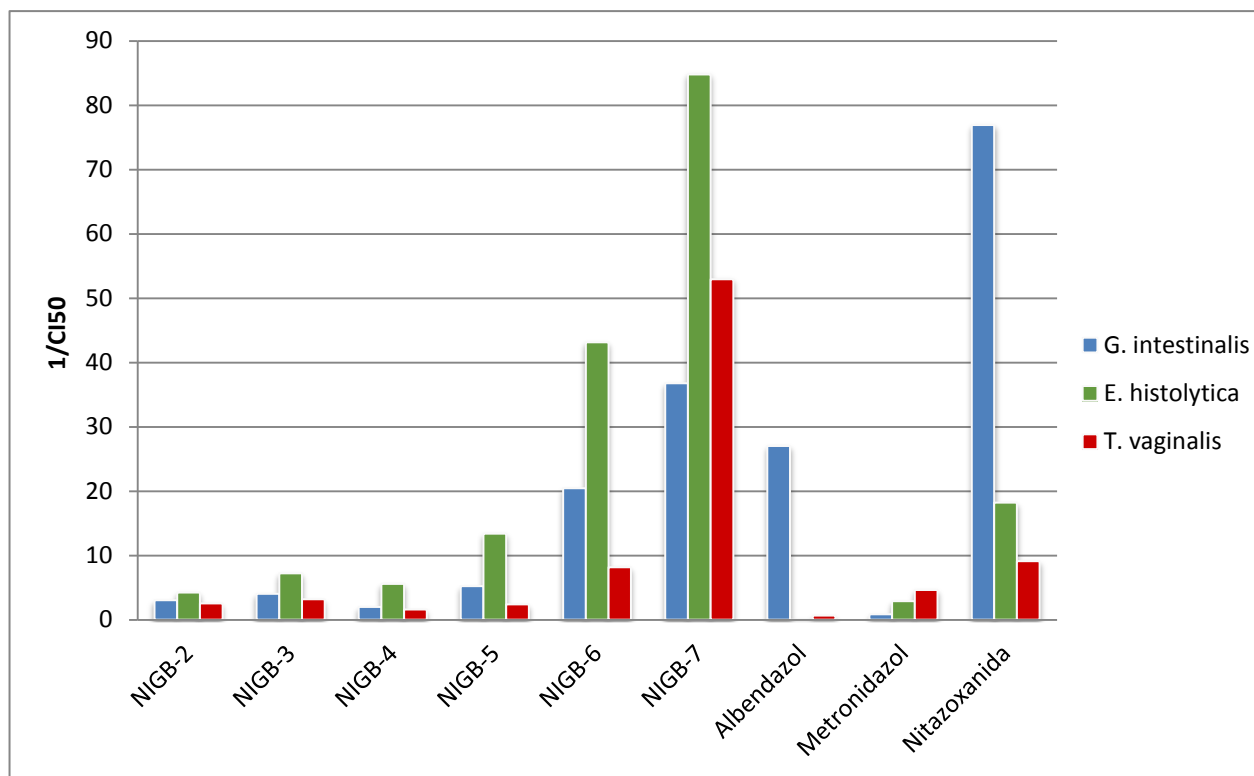


Gráfico 1. Comparación de las potencias observadas de los compuestos de la serie NIGB y los fármacos de referencia en *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*.

Tabla 7. Cl_{50} de la actividad antiprotozoaria *in vitro* de los compuestos **BzSH-1** a **BzSH-6** y **NG-3**.

Clave	Nueva Clave	<i>G. intestinalis</i> (μM)	<i>E. histolytica</i> (μM)	<i>T. vaginalis</i> (μM)
JVG-4	BzSH-1	0.040	0.133	-
RSD-3	BzSH-2	0.033	0.196	0.898
JVG-9	BzSH-3	0.081	0.005	-
RSD-7	BzSH-4	0.045	0.010	35.540
JVG-16	BzSH-5	0.078	0.055	-
RSD-15	BzSH-6	0.008	0.128	26.310
	NG-3	0.092	0.109	0.172

En estudios anteriores se evaluaron las moléculas de los derivados de 2-mercaptobencimidazol, **BzSH-1** a **BzSH-7** y en este trabajo se evaluó la actividad de 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (**NG-3**) contra los tres protozoarios, con el fin de conocer el efecto antiprotozoario que se tiene de las moléculas separadas y los compuestos híbridos de la serie **NIGB**.

Al comparar cada uno de los compuestos con sus precursores se observa lo siguiente: para **NIGB-2** y **NIGB-4** la actividad antiparasitaria para todos los parásitos es menor que la de sus bencimidazoles precursores **BzSH-1** y **BzSH-3** respectivamente y **NG-3**; ambos teniendo en común un H en la posición 1. En el caso de **NIGB-3**, la actividad disminuye para *G. intestinalis* comparada con **BzSH-2** y **NG-3**, pero para *E. histolytica* y *T. vaginalis* las actividades son similares a éstos. Para el compuesto **NIGB-5** la actividad para *G. intestinalis* decrece respecto a **BzSH-4** y **NG-3**, para *E. histolytica* la actividad es similar a la de **BzSH-4** y mucho menor que **NG-3**, mientras que para *T. vaginalis* la actividad es menor para **NG-3** y mayor que para **BzSH-4**, ésto por el efecto que el metilo en la posición 1 le otorga al compuesto híbrido. La actividad en **NIGB-6** es mejor para todos los parásitos frente a las moléculas que lo componen **BzSH-5** y **NG-3**. Finalmente **NIGB-7** la actividad contra *G. intestinalis* es menor frente a **BzSH-6** y mejor frente a **NG-3**. Para los protozoarios *E. histolytica* y *T. vaginalis* la actividad se incrementa considerablemente frente a **BzSH-6** y **NG-3**.

De forma general se observa que los compuestos híbridos disminuyen la actividad contra *G. intestinalis*, mantienen su actividad contra *E. histolytica* y aumenta la potencia para *T. vaginalis*. Es difícil encontrar un compuesto con una actividad superior a 0.1 μ M para *T. vaginalis* por lo que la actividad del híbrido **NIGB-7** lo convierte en un avance importante para las correlaciones estructura-actividad biológica.

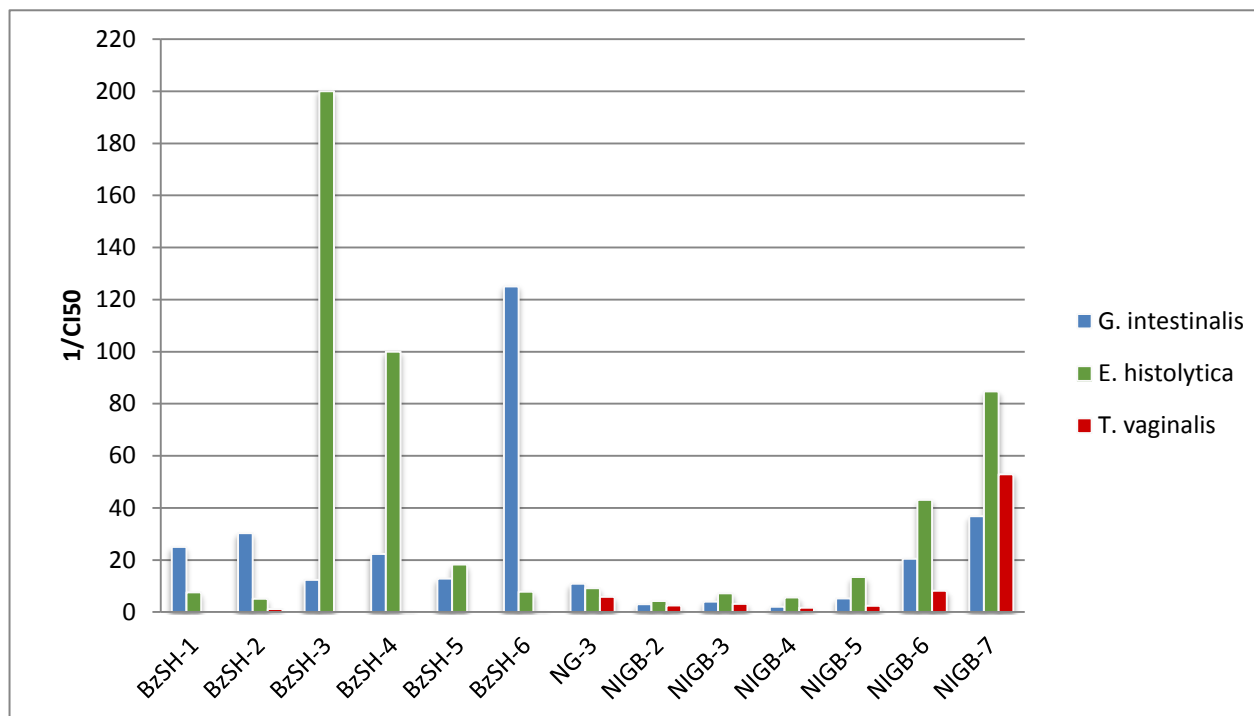


Gráfico 2. Comparación de las potencias observadas de 2-mercaptobencimidazoles, la acetilbenzoxazinona (**NG-3**) y los compuestos de la serie **NIGB** en *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*.

8. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron e identificaron seis nuevos compuestos híbridos entre derivados de 2-mercaptobencimidazol y 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona, nombrados como **NIGB-2**, **NIGB-3**, **NIGB-4**, **NIGB-5**, **NIGB-6** y **NIGB-7**; por un método convergente, con buenos rendimientos, donde se prepararon los dos núcleos heterocíclicos de la molécula por separado y después se unieron formando los compuestos híbridos correspondientes..
- El compuesto **NIGB-1** resultó ser inestable a condiciones ambientales por lo que no se continuó con su trabajo de síntesis. Adicionalmente los análisis espectroscópicos no pudieron ser realizados, sin embargo en espectrometría de masas se observa que la molécula se rompe en sus dos componentes: la quinoxalinona y el bencimidazol-2-tiol.
- Se evaluó la actividad biológica de los compuestos finales **NIGB-2** a **NIGB-7**, contra los protozoarios *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*. Siendo ser el más potente de la serie el compuesto **NIGB-7**, con dos cloros y metilo en el núcleo bencimidazólico, éste resultó ser mucho mejor contra *E. histolytica* y *T. vaginalis* que los fármacos de referencia albendazol, metronidazol y nitaxozanida.
- En general los compuestos híbridos de la serie NIGB tienden a disminuir su actividad giardicida e incrementar su potencia amebicida y tricomonicida. La presencia del metilo en posición 1 y cloro en las posiciones 5 y 6 influye en la potenciación de la actividad antiprotozoaria.
- En general los híbridos fueron menos activos que sus precursores, sin embargo la actividad del compuesto **NIGB-7** hacia *T. vaginalis*, es un avance importante para correlaciones estructura-actividad.

9. PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentación

Todas las materias primas se pesaron en una balanza analítica marca Sartorius y en una balanza granataria Scientech SL600.

La agitación y calentamiento de reacciones se realizó en parrillas de agitación magnética con calentamiento marca IKA-RET.

Las reacciones de hidrogenación catalítica se realizaron empleando un hidrogenador Parr modelo 3916EG en un vaso reactor de 500 mL de capacidad, adaptado a un tanque de hidrógeno INFRA y como catalizadores Ni-Raney o Pd/C.

Las reacciones a temperaturas y presiones elevadas se realizaron en un reactor a presión marca Parr modelo 4840 de capacidad de 1L adaptado a un regulador digital de temperatura Parr modelo 4842.

La evaporación de disolventes se realizó a presión reducida empleando un rotaevaporador Büchi R-205 con un baño de calentamiento Büchi B-490, acoplado a una bomba de vacío Büchi V-800 y un condensador conectado a un enfriador Brinkmann IC-30; o bien en un rotaevaporador R-215 con un baño de calentamiento Büchi B-491, adaptado a un condensador de dedo frío enfriado por un refrigerante en espiral Brinkmann IC-30 conectado a una bomba de vacío Vacuubrand CVC-2.

Los puntos de fusión se determinaron mediante capilar en un aparato Büchi modelo B-540.

Los equipos utilizados en técnicas espectroscópicas y espectrométricas pertenecen a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, UNAM. La determinación de espectros de RMN¹H y RMN¹³C se realizó en un aparato de resonancia magnética Varian MRS 300 MHz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna,

se emplearon disolventes deuterados como dimetilsulfóxido (DMSO-d₆), cloroformo (CDCl₃) y agua deuterada (D₂O) para el intercambio de hidrógenos ácidos; los desplazamientos (δ) se expresan en ppm. Los espectros de masas (EM) se determinaron en un equipo JOEL modelo JMS-SX102 utilizando la técnica de introducción directa (ID) e impacto electrónico (IE). Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier, Perkin Elmer modelo 1605, mediante la técnica pastillas y reflectancia.

El monitoreo de las reacciones y la pureza de los compuestos se realizó por cromatografía en capa fina (ccf), utilizando placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60, GF-254, MERCK. Los compuestos se visualizaron con luz ultravioleta (UV) de onda corta y larga. Se utilizaron los siguientes sistemas de elución.

Tabla 8. Sistemas de elución empleados para las cromatografías en capa fina (ccf).

Sistema	Clave	Composición	Proporción
Sistema I	S.I	Cloroformo – Metanol	95:5
Sistema II	S.II	Cloroformo – Metanol	98:2
Sistema III	S.III	Cloroformo-Acetona	65:35
Sistema IV	S.IV	Cloroformo-Metanol	65:35
Sistema V	S.V	Cloroformo-Acetona	90:10
Sistema VI	S.VI	Cloroformo-Metanol	90:10
Sistema VII	S.VII	Hexano-Cloroformo-Acetato de etilo	50:35:15
Sistema VIII	S.VIII	Hexano-Acetato de etilo	50:50
Sistema IX	S.IX	Cloroformo – Metanol	80:20

Obtención de 2-mercaptobencimidazoles

Procedimiento General

En un matraz de 250 mL, en baño de agua-hielo, se mezcló 1.2 eq de KOH 5 mL agua y 50 mL de etanol; a la mezcla se le agregó 1.2 eq de CS₂ y se agitó durante 15 minutos. Posteriormente se agregó el 1,2-diaminobenceno (*o*-fenilendiamina) adecuadamente sustituido (1eq) y se calentó a 50 °C, acondicionado con baño de aceite, condensador en

reflujo, agitación magnética, atmósfera de nitrógeno durante 24 h. Una vez agotada la materia prima, la mezcla de reacción se dejó enfriar y se vertió sobre 250 mL de agua helada, neutralizando con ácido acético hasta pH=4. El precipitado se separó por filtración al vacío y se recristalizó usando carbón activado.

a) *2-Mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-1)*

El producto se recristalizó de etanol dando 77% de rendimiento de cristales beige brillantes que mostraron ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.61 (S.VI) y pf de 302.2–304.9 °C (lit: 303-304).

b) *1-Metil-2-mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-2)*

El producto se recristalizó de etanol dando 60% de rendimiento de un sólido blanco brillante que mostraron ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.33 (S.VII) y pf de 195.8-196.3 °C (lit: 193-197).

c) *5-Cloro-2-mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-3)*

El producto se recristalizó de etanol-agua dando 75% de rendimiento de cristales color naranja claro que mostraron ser un sólo compuesto en ccf con Rf 0.41 (S.I) y pf de 296.3-298.0 °C (lit: 298-302).

d) *5-Cloro-1-metil-2-mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-4)*

El producto se recristalizó de etanol dando 69% de rendimiento de cristales blanco-amarillentos que mostraron ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.66 (S.I) y pf de 231.5-233.2 °C (lit: 233.0–234.3).

e) *5,6-Dicloro-2-mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-5)*

El producto se recristalizó de metanol dando 99% de rendimiento de un sólido blanco que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.7 (S.VIII) y pf de 343.9–344.7 °C (lit: 344-346.1).

f) *5,6-Dicloro-1-metil-2-mercapto-1H-bencimidazol (BzSH-6)*

El producto se recristalizó de etanol-agua dando 62% de rendimiento de sólido blanco que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.5 (S.VII) y pf de 232.9-233.3 °C (lit: 229-232).

Obtención de 1,2-diaminobencenos

Procedimiento general para la reducción catalítica

Se colocaron en un frasco de hidrogenación de 500 mL el derivado de nitroanilina adecuadamente sustituido (**2-5 y 8**), el catalizador 10% en peso de Pd/C 5% para compuestos no clorados y 30% en peso de Ni-Raney para compuestos clorados, 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo como disolvente, bajo atmósfera de nitrógeno. El frasco se acopló a un hidrogenador que se purgó mediante la introducción y expulsión de hidrógeno (30lb/in²) se agitó con cargas constantes de 60lb/in² de hidrógeno hasta consumo de la materia prima. El catalizador se eliminó mediante filtración al vacío en una cama de celita y el filtrado se concentró en el rotaevaporador obteniendo la diamina correspondiente (**10-14**). Los diaminobencenos obtenidos fueron utilizados inmediatamente en el siguiente paso de reacción, puesto que algunas de éstas tienden a oxidarse al contacto con el aire. El compuesto **9** fue el único diaminobenceno obtenido de forma comercial.

La obtención de 10 se obtuvo en 2 pasos.

Paso1. N-metil-2-nitroanilina (2)

En esta reacción se usó el reactor Parr de 1L de capacidad, con una bomba de enfriamiento y un controlador integrado para modificar las condiciones de reacción. En el vaso se colocaron 40 g (0.2539 mol, 1eq) de 1-cloro-2-nitrobenceno comercial **1**, 51.42 g (0.761 mol, 3 eq) de clorhidrato de metilamina y 105.24 g (0.7615 mol, 3 eq) de carbonato de potasio, disueltos en 400 mL de etanol y 50 mL de agua. El reactor se programó a 150 °C. La reacción se muestreó por el reactor y se realizaron ccf para verificar la transformación de toda la materia prima, se dejó por 5 días, después de este tiempo se dejó enfriar la reacción y el vaso con la mezcla de reacción se dejó reposar en la campana para quitar vapores. El contenido se transvasó a un vaso de precipitados de 1 L. Se filtraron las sales obtenidas y se lavaron con etanol para recuperar la mayor parte de producto; posteriormente, el etanol se concentró en el rotaevaporador, hasta que quedó un aceite color vino, este último se dejó en

el refrigerador para obtener un compuesto sólido. El compuesto impuro se mezcló con alúmina en un mortero hasta tener una pasta homogénea usando un poco de acetona. La mezcla sólida y seca, se pasó por una columna empacada con alúmina y se eluyó con cloroformo. Se obtuvo un líquido color naranja transparente, que se concentró en el rotaevaporador hasta eliminar el disolvente, quedando un aceite naranja, dicho aceite se dejó en el refrigerador, para obtener cristales naranjas en forma de agujas, con un rendimiento del 93%, una sola mancha en ccf. Rf de 0.71 (S.VII) y pf de 36.0-36.8 °C (lit: 35 - 38 °C).

Paso2. N-metil-1,2-diaminobenceno (10)

La hidrogenación catalítica se realizó con 20 g (0.121 mol) de N-metil-2-nitroanilina **2**, Pd/C 5% (2 g) como catalizador en 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo. Rf de 0.41 (S.I).

4-Cloro-1,2-diaminobenceno (11)

La hidrogenación catalítica se realizó con 10 g (0.058 mol) de 4-cloro-2-nitroanilina comercial **3**, Ni-Raney como catalizador (3 g) en 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo. Rf de 0.25 (S.I)

La síntesis de **12** se realizó en cuatro pasos, mostrados en el Esquema 7.

Paso 1. N-(4-cloro-2-nitrofenil)acetamida (6)

4-Cloro-2-nitroanilina (10 g, 0.058 mol) se agregó lentamente sobre 22 mL de anhídrido acético (4 eq) y 3-5 gotas de ácido sulfúrico como catalizador, manteniendo la temperatura por debajo de los 70 °C; posteriormente se mantuvo a 70 °C durante 30 minutos, en agitación magnética y en baño de aceite; terminada la reacción la mezcla se dejó enfriar y luego se vertió sobre 200 mL de una mezcla de agua-hielo, obteniéndose un precipitado amarillo que se aisló por filtración al vacío; el sólido se lavó con agua fría hasta pH neutro y se dejó secar. El producto se recrystalizó de EtOH con 99% de rendimiento observándose una sola mancha en ccf, Rf de 0.78 (S.I) pf de 83.2-85.1 °C.

Paso 2. *N*-(4-cloro-2-nitrofenil)-*N*-metilacetamida (7)

A una solución de 12 g (0.056 mol) de la acetamida **6**, en monoglisma (10 mL) y 6.36 mL sulfato de dimetilo (1.2 eq) se añadió lentamente una disolución de NaOH al 50% m/V (6.91 mL, 1.5 eq), manteniendo la temperatura entre 30-35 °C y con agitación vigorosa. Terminada la adición de NaOH la reacción se dejó en agitación una hora más. La mezcla se vertió en un vaso con 200 mL de hielo-agua formando un precipitado que se separó por filtración al vacío y se lavó varias veces con agua fría. El sólido de color amarillo pesó 8.1133 g, el producto se recrystalizó de etanol-agua, se obtuvo 63% rendimiento, El producto tiene un Rf de 0.51 (S.I) y pf de 99.6-101.1 °C (lit:99-102.1 °C).

Paso 3. 4-Cloro-*N*-metil-2-nitroanilina (8)

El compuesto **7** (8 g, 0.034 mol), se disolvió en la mínima cantidad de H₂SO₄ concentrado (4 mL) y 2 mL de agua (1 eq). La mezcla se puso a reflujo a 80 °C durante 30 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se vertió sobre hielo, obteniendo un precipitado que se separó por filtración al vacío y se lavó con agua fría hasta pH neutro. El sólido color naranja pesó 6.29 g, 96% de rendimiento, una sola mancha en ccf. Rf de 0.72 (S.VII) y pf de 107.2-108.2 °C (lit: 108-110 °C).

Paso 4. 4-Cloro-*N*-metil-1,2-diaminobenceno (12)

La hidrogenación catalítica se realizó con 10 g (0.054 mol) de 4-cloro-*N*-metil-2-nitroanilina **8**, Ni-Raney como catalizador (3 g) en 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo. Rf de 0.50 (S.VII)

El compuesto **13** se obtuvo en dos pasos

Paso 1. 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4)

Para la obtención de **4**, se disolvió *N*-(4,5-Dicloro-2-nitrofenil) acetamida (7 g) en la mínima cantidad de H₂SO₄ concentrado (4 mL) y se añadió (2 mL) de agua. La mezcla se puso a reflujo a 80 °C durante 30 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se vertió sobre 100 mL de hielo, obteniendo un precipitado que se separó por filtración al vacío y se lavó con agua fría hasta pH neutro. Se obtuvo un sólido color amarillo con un rendimiento del 96% se tomo una ccf. Rf de 0.66 (S.I) y pf de 175.6-177.4 °C (lit: 178-179 °C).

Paso 2. 4,5-Dicloro-1,2-diaminobenceno (13)

La hidrogenación catalítica se realizó con 5 g (0.024 mol) de 4,5-dicloro-2-nitroanilina **4**, Ni-Raney como catalizador (1.5 g) en 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo, Rf de 0.66 (S.I).

4,5-Dicloro-N-metil-1,2-diaminobenceno (14)

La hidrogenación catalítica se realizó con 10 g (0.045 mol) de 4,5-dicloro-N-metil-2-nitroanilina **5**, Ni-Raney como catalizador (3 g) en 100 mL de metanol y 100 mL de acetato de etilo, Rf de 0.5 (S.I).

Obtención de 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (NG-3)

Obtención de 3-nitro-4-hidroxiacetofenona (19)

En un matraz de 100 mL se colocaron 10 mL de ácido acético glacial, en un baño de agua-hielo, cuidando que no se congele el ácido, cuando se llegó a 10 °C se añadieron 2.7 g (0.02 mol) de 4-hidroxiacetofenona agitando magnéticamente hasta disolución total. Luego usando un embudo de adición, se añadió poco a poco 3 mL de ácido nítrico. Se dejó en agitación 1h y después en el refrigerador a 7 °C por 5 días, encontrando un precipitado color amarillo que se vertió en un vaso con 200 g de hielo; la pasta se agitó mecánicamente hasta tener un sólido homogéneo, se filtró al vacío lavando repetidamente con agua fría; el sólido amarillo que se aisló pesó 5.68 g, 79% rendimiento, y mostró una sola mancha en ccf Rf de 0.63 (S.II) con pf de 130.8-132.2 °C(lit 130-135 °C)

Obtención de 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo (20)

En un matraz de 100 mL se disolvió 5 g (0.028 mol) de **19** en 30 mL de DMF anhidra y se agregó 2.93 g (0.028 mol, 1 eq) de carbonato de sodio, finalmente se añadió 4.6 mL de α -bromoacetato de etilo (0.041 mol, 1.5 eq) gota a gota; la mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos, posteriormente se acondicionó con baño de aceite, columna vigreux en atmósfera de nitrógeno y se calentó a 80 °C por 2 h. Luego, la mezcla de reacción se dejó enfriar y se mantuvo en a temperatura ambiente por 24 h. Una ccf mostró el consumo de la materia prima, la mezcla se vertió sobre hielo y se agitó mecánicamente formando un precipitado color crema que se aisló por filtración al vacío en la

campana y se lavó con agua fría, se dejó secar completamente. El sólido color café claro obtenido pesó 7.057 g, rendimiento de 95%, Rf de 0.7 (S.II) y un pf de 82.9-84.0 °C.

Obtención de 6-acetil-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NG-3**)

En una botella de hidrogenación de 500 mL se suspendieron, bajo atmósfera de nitrógeno, 5 g (0.0187 mol) de 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo **20** y 0.5 g de Pd/C al 5% en 50 mL de metanol. La botella se acopló al hidrogenador, se eliminó el aire dentro de la botella mediante tres purgas por admisión de hidrógeno (30 lb/in) seguido de la expulsión con vacío. Se cargó con hidrógeno hasta 60 lb/in y se agitó; se registró el gasto de hidrógeno hasta que ya no consumiera más; La mezcla se mantuvo en agitación a 25 °C aproximadamente 1 h.

El catalizador de Pd/C se eliminó por filtración al vacío empleando una cama de celita. El filtrado se concentró a un tercio del volumen y se calentó a 60 °C por 5 h, dejando en agitación 62 h más. La mezcla se concentró en el rotaevaporador y se trató con agua formando un precipitado. El sólido se separó por filtración al vacío realizando varios lavados con agua fría, obteniendo un sólido color café claro que se recristalizó de metanol-agua, dando cristales color café con Rf de 0.51 (S.VI) pf de 187.8-189.7 °C.

Síntesis de 6-(bromoacetil)-2*H*-1,4-benzoxazin 3(4*H*) ona **NG-4**

En un matraz de 25 mL se preparó una mezcla de **NG-3** (200 mg, 1.05 eq) en ácido acético (7 mL) y 0.8 mL de disolución de ácido bromhídrico al 25% en ácido acético; posteriormente se adicionó lentamente perbromuro bromuro de piridinio (354 mg, 1 eq) a temperatura ambiente. La mezcla se dejó en agitación por 2 h a temperatura ambiente. La reacción se terminó vertiendo la mezcla en un vaso con 100 mL de agua fría y con agitación magnética. Se obtuvo un precipitado color blanco que se aisló por filtración al vacío y se lavó repetidas veces con agua fría hasta pH neutro; rendimiento 70%, se tomó una ccf, Rf de 0.43 (S.I) pf de 204.7-206.4 °C.

Síntesis para obtener **NIGB-1**

Obtención de la 2-bromo-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona (**22**)

En un matraz de bola de dos bocas de 25 mL, acondicionado con baño de hielo-sal, agitación magnética y termómetro, se adicionó 10.0 mL (5 eq. p/v) de HNO₃ fumante, el cual se

mantuvo en agitación hasta alcanzar una temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$; posteriormente se le añadió lentamente 2 g de la 2-bromo-1-(4-fluoro) etanona (7.7 mmol), esperando el cambio de color de amarillo a anaranjado entre cada adición. A los 20 minutos de reacción se adicionó, gota a gota, 1.0 mL (0.5 eq. p/v) de H_2SO_4 , cuidando que la temperatura no superara los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. A la hora y media de reacción, una placa de ccf indicó el término de la materia prima, por lo que la mezcla se vertió lentamente en hielo, se neutralizó con NaHCO_3 y agitó manualmente hasta formar un precipitado blanco, el cual se separó por filtración al vacío lavando con agua, y posteriores lavados sucesivos con éter etílico. Se obtuvieron 1.64 g de un sólido amarillo con rendimiento de 68%, con Rf de 0.65 (S.III) y pf de $55.5\text{-}59.1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Obtención de la 2-(1*H*-bencimidazol-2-ilsufanil)-4-fluoro-3-nitrofeniletanona (**23**)

En un matraz de bola de 50 mL, con agitación magnética, se suspendieron 1.52 g (5.82 mmol) del compuesto **22** y 551.6 mg (6.57 mmol, 1.1 eq.) de NaHCO_3 en 30 mL de acetonitrilo. Posteriormente se adicionaron lentamente 287.7 mg (5.75 mmol, 1 eq.) del compuesto **BzSH-1**. A los 30 minutos de reacción la placa de ccf indicó el término de la reacción, por lo que se filtró al vacío el precipitado blanco, y se lavó repetidamente con acetonitrilo, dando un rendimiento de 86%, Rf de 0.73 (S.IV) y pf de $182.5\text{-}183.6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Obtención del 4-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2-nitrofenilaminoacetato de metilo (**24**)

En un matraz de bola de 50 mL, acondicionado con baño de aceite, columna vigreux y agitación magnética, se disolvió 1.2504 g (3.77 mmol) del compuesto **23** en 30 mL de metanol a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, a la disolución caliente, se adicionó 933.8 g (7.47 mmol, 1.5 eq.) de glicinato de metilo hasta disolver; finalmente se adicionó 627.5 mg (7.47 mmol, 1.5 eq.) de NaHCO_3 . La mezcla de reacción se dejó en agitación hasta el consumo total de la materia prima (14 h) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se terminó al disolver en agua y neutralizar con unas gotas de ácido clorhídrico 4N, obteniendo un precipitado amarillo que se filtró al vacío y lavó repetidamente con agua. Con rendimiento de 76%, Rf de 0.62 (S.III) y pf de $228.6\text{-}231.0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Obtención de la 7-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1*H*)-ona (**NIGB-1**)

En un matraz de bola de 25 mL, acondicionado con baño de aceite y columna vigreux, se disolvió 1.4906 g (2.98 mmol) del compuesto **24** en 10 mL de CH₃COOH. Posteriormente se adicionó, poco a poco, 4.8645 g (74.37 mmol, 20 eq.) de zinc en polvo a temperatura ambiente. Una vez terminada la adición se calentó la mezcla de reacción a 80 °C y se dejó reaccionar por una hora. Al término de la hora una placa de ccf mostró el consumo de la materia prima, por lo que se dejó enfriar a temperatura ambiente. El zn y sus sales se separaron de la mezcla por filtración al vacío utilizando una cama de celita. El filtrado se llevó a sequedad en el rotaevaporador y el residuo sólido se lavó con agua. La suspensión se filtró al vacío para recuperar los cristales de color café que se formaron, el sólido cristalino presentó una sola mancha en la ccf con Rf de 0.25 (S.III). (Ver Tabla 2).

Síntesis para obtener los compuestos de la serie **NIGB-2- NIGB-7**

Procedimiento general

En un matraz de 25 mL se disolvió 200 mg del bencimidazol correspondiente (**BzSH-1a BzS-6**) en 10-15 mL de acetonitrilo; posteriormente se añadió Na₂CO₃ (1 eq), se dejó reaccionar durante 10 minutos y luego se añadió, poco a poco, **NG-4** (1eq), La mezcla se dejó en agitación aproximadamente 2 h. El precipitado obtenido se vertió sobre agua con hielo y se filtró al vacío y se lavó con agua repetidas veces hasta tener un pH neutro.

*a) 6-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona (**NIGB-2**)*

El producto se recrystalizó de etanol-agua dando 85% de rendimiento de un sólido blanco amarillento, que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.18 (S.I) y pf de 228.0-232.2 °C.

*b) 6-[(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona(**NIGB-3**)*

El producto se recrystalizó de etanol-agua dando 80% de rendimiento de un sólido blanco, que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.45 (S.I) y pf de 235.2-235.9 °C.

c) 6-*[[*(5-cloro-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil*]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (NIGB-4)*

El producto se recristalizó de etanol-agua dando 82% de rendimiento, cristales color naranja claro, que mostraron ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.25 (S.I) y pf de 250.6-252.7 °C.

d) 6-*[[*(5-cloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil*]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (NIGB-5)*

El producto se recristalizó de etanol-agua dando 92% de rendimiento de un sólido blanco, que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.56 (Sistema I) y pf de 229.1-232.3 °C.

e) 6-*[[*(5,6-dicloro-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil*]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona (NIGB-6)*

El producto se recristalizó de etanol-agua dando 94% de rendimiento de un sólido blanco, que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.17 (S.I) y pf de 252.7-254.1 °C.

f) 6-*[[*(5,6-dicloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil*]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)ona (NIGB-7).*

El producto se recristalizó de dimetil sulfóxido dando 75% de rendimiento de un sólido blanco, que mostró ser un sólo compuesto en ccf con Rf de 0.55 (S.I) y pf de 257.4-258.8 °C.

10. REFERENCIAS

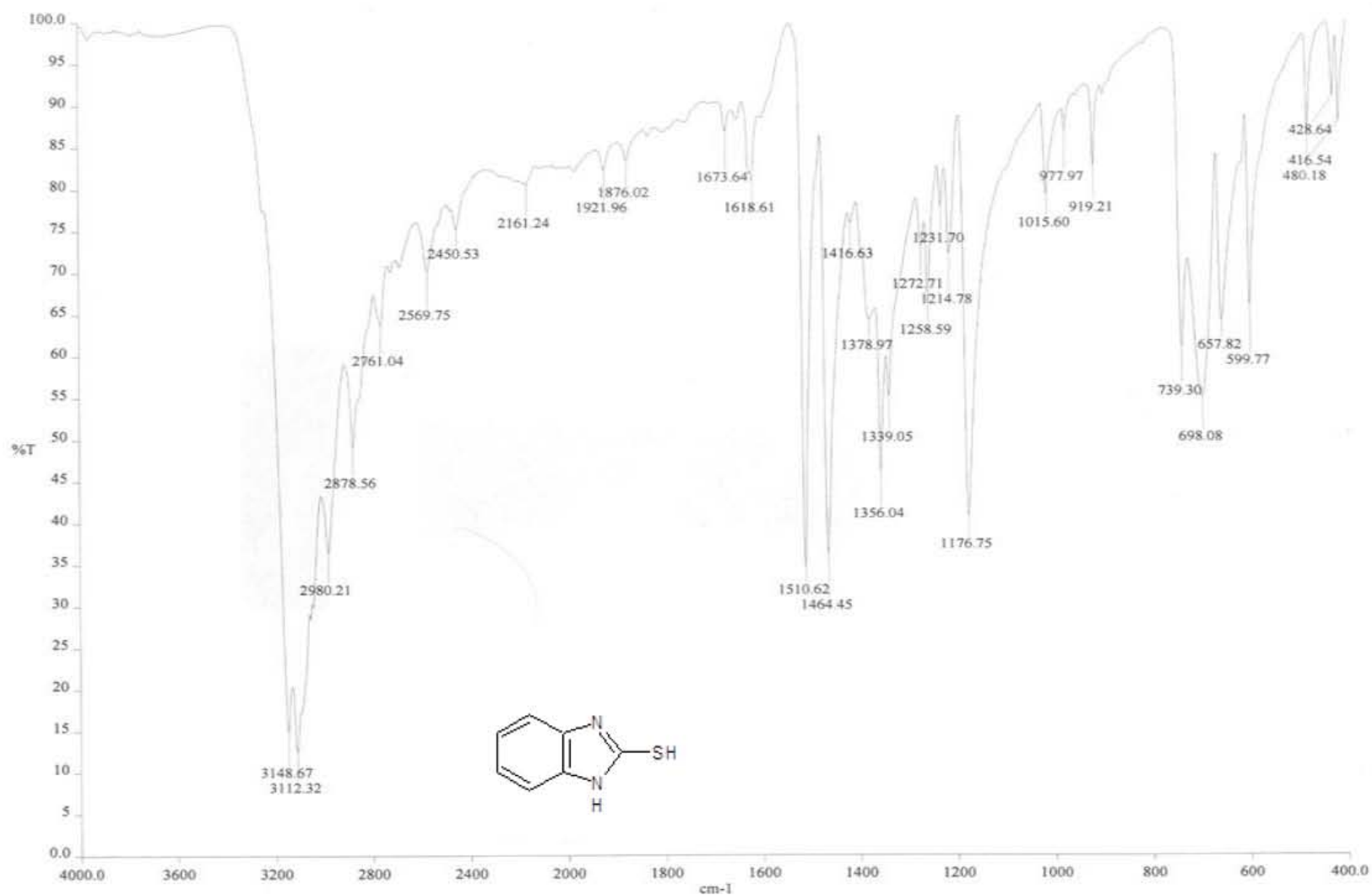
1. Perfil Epidemiológico de las Enfermedades Infecciosas Intestinales. Junio 2012. http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2012/MMonografia4_Enf_Infecciosas_Intestinales_%20junio12.pdf
2. Andrew Thompson, R.C. (2008). Giardiasis conceptos modernos sobre su control y tratamiento. *Ann Nestlé*, 66, 23–29.
3. James A. Cotton, Jennifer K. Beatty y Andre G. Buret. (2011). Host parasite interactions and pathophysiology in Giardia infection. *International Journal for Parasitology*, 41, 925-933.
4. Plutzer J., Ongerth J. y Karanis P. (2010). Giardia taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213, 321–333.
5. Paul T. Monis, Simone M. Caccio y Andrew Thompson R.C. (2008). Variation in Giardia: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*, 25 (2), 93-100.
6. Andrew Thompson R.C. y Monis P. (2012). Giardia—From Genome to Proteome. *Advances in Parasitology*, 78, 57-95.
7. Chacín-Bonilla L. (2013). Amebiasis: aspectos clínicos, terapéuticos y de diagnóstico de la infección. *Rev Med Chile*, 141, 609-615.
8. Ríos-Yuil J. M., Mercadillo-Pérez P., Yuil-de Ríos E. y Ríos-Castro M. (2012). Amebiasis cutánea: Conceptos actuales. *Revista Médica del Hospital General de México*, 75(2), 114-122.

-
9. Olivos-García A., Saavedra E., Nequiz Avendaño M. y Pérez-Tamayo R. (2011). Amibiasis: mecanismos moleculares de la patogenicidad de *Entamoeba histolytica*. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 54 (2), 10-20.
 10. Fletcher M. S., Stark D., Harkness J. y Ellis J. (2012). Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(3), 420–449.
 11. Trejos Valverde R. Tricomoniasis. *Revista Médica De Costa Rica y Centroamérica Lxix* 601, 113-117.
 12. David A Lewis. (2014). Trichomoniasis. *Medicine*, 42 (7), 369-371.
 13. Vahab Ali y Tomoyoshi Nozaki. (2007). Current Therapeutics, Their Problems, and Sulfur-Containing-Amino-Acid Metabolism as a Novel Target against Infections by “Amitochondriate” Protozoan Parasites. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 164–187.
 14. Djana F. Harp y Indrajit Chowdhury. (2011). Trichomoniasis: evaluation to execution, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 157, 3–9.
 15. Pereira-Neves A. y Benchimol M. (2008). *Trichomonas vaginalis*: In vitro survival in swimming pool water samples, *Experimental Parasitology* 118, 438–441.
 16. Valdez J., Cedillo R., Hernández-Campos A., Yépez L., et al. (2002). Synthesis and Antiparasitic Activity of 1*H*-Benzimidazole Derivates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12, 2221–2224.
 17. Ramanpreet Walia, Md. Hedaitullah, Syeda Farha Naaz, Khalid Iqbal y HS. Lamba. (2011). Benzimidazole Derivatives – An Overview. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 1(3), 2231-2781.

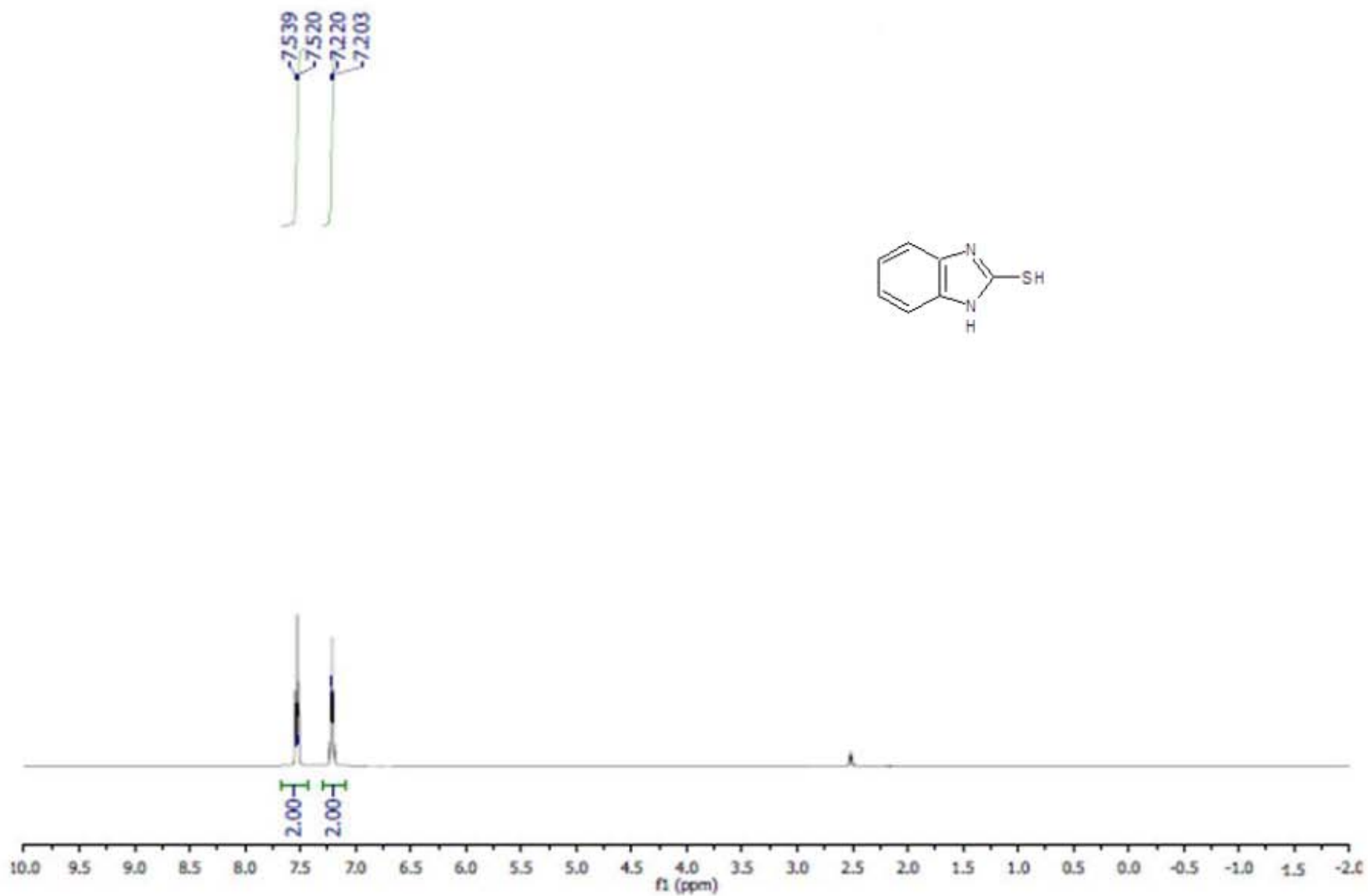
-
18. Sánchez Díaz, María de los Remedios. (1999). *Síntesis de derivados del 1-metilbencimidazol con actividad antihelmintica potencial*. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
19. Martins Alho, M. A., Marrero-Ponce, Y., Meneses-Marcel, A., et al. (2008). Antiprotozoan Lead Discovery by Aligning Dry and Wet Screening: Prediction, Synthesis, and Biological Assay of Novel Quinoxalinones. *12th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-12)*, 1-30.
20. Xu Hui, Desrivot J., Bories C., Loiseau P. M., Franck X., Hocquemiller R. y Figadere B. (2006). Synthesis and antiprotozoal activity of some new synthetic substituted quinoxalines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16, 815–820.
21. Xue-Wen Zhou, Han-Lin Ma, Xuan Zhang, Shi-Yao Jing, Jun-Ying Miao y Bao-Xiang Zhao. (2014). Synthesis of 6-cinnamoyl-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-3(4*H*)-ones and their effects on A549 lung cancer cell growth. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 79, 95-101.
22. Bolin Geng, Comita-Prevoir J., Charles J. Eyermann, Folkert Reck, Stewart Fisher. (2011). Exploring Left-Hand-Side substitutions in the benzoxazinone series of 4-amino-piperidine bacterial type IIa topoisomerase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 5432–5435.
23. Avendaño López, María del Carmen. (1993). *Introducción a la química farmacéutica*. España. Mcgraw hill-interamericana.
24. Pérez Villanueva, Jaime. (2013). *Relaciones estructura-actividad, diseño, síntesis y actividad antiprotozoaria de derivados de bencimidazol*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
25. Thomas Szél, Andrea Brand y Sirlwan Ratanathanawongs. (1981). Two New Thia Chalcones. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 26, 230.

-
26. Tomoaki Hasui, Taiichi Ohra, Norio Ohyabu, et al. (2013). Design, synthesis, and structure–activity relationships of dihydrofuran-2-one and dihydropyrrol-2-one derivatives as novel benzoxazin-3-one-based mineralocorticoid receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21, 5983-5994.
27. Tomoaki Hasui, Nobuyuki Matsunaga, Taiichi Ora, et al. (2011). Identification of Benzoxazin-3-one Derivatives as Novel, Potent, and Selective Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry* 54, 8616-8631.
28. Aldo Andreani, Massimiliano Granadiola, Alberto Leoni, et al. (2011). Imidazol[2,1-b]thiazole guanylhidrazones as RSK2 Inhibitors [1]. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46, 4311-4323.
29. Aguilar González Sonia. (2007). *Síntesis de derivados bencimidazolicos con posible actividad antiparasitaria*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
30. Cedillo, R., González A., Tapia A., Yépez, L. (2002). In vitro effect of Nitazoxanide against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal Eukaryot Microbiology* 49(3), 201-208.

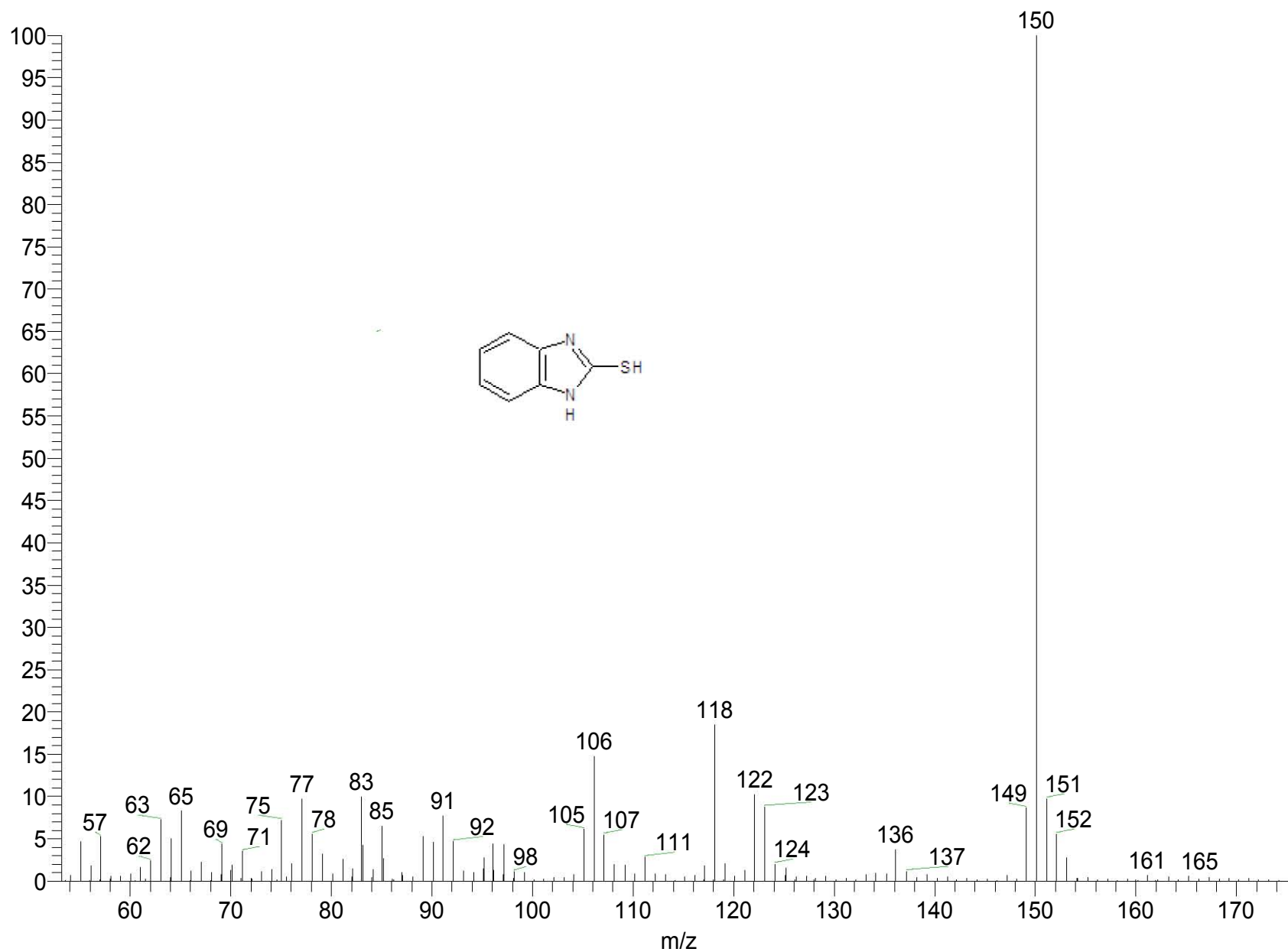
ANEXO II. ESPECTROS



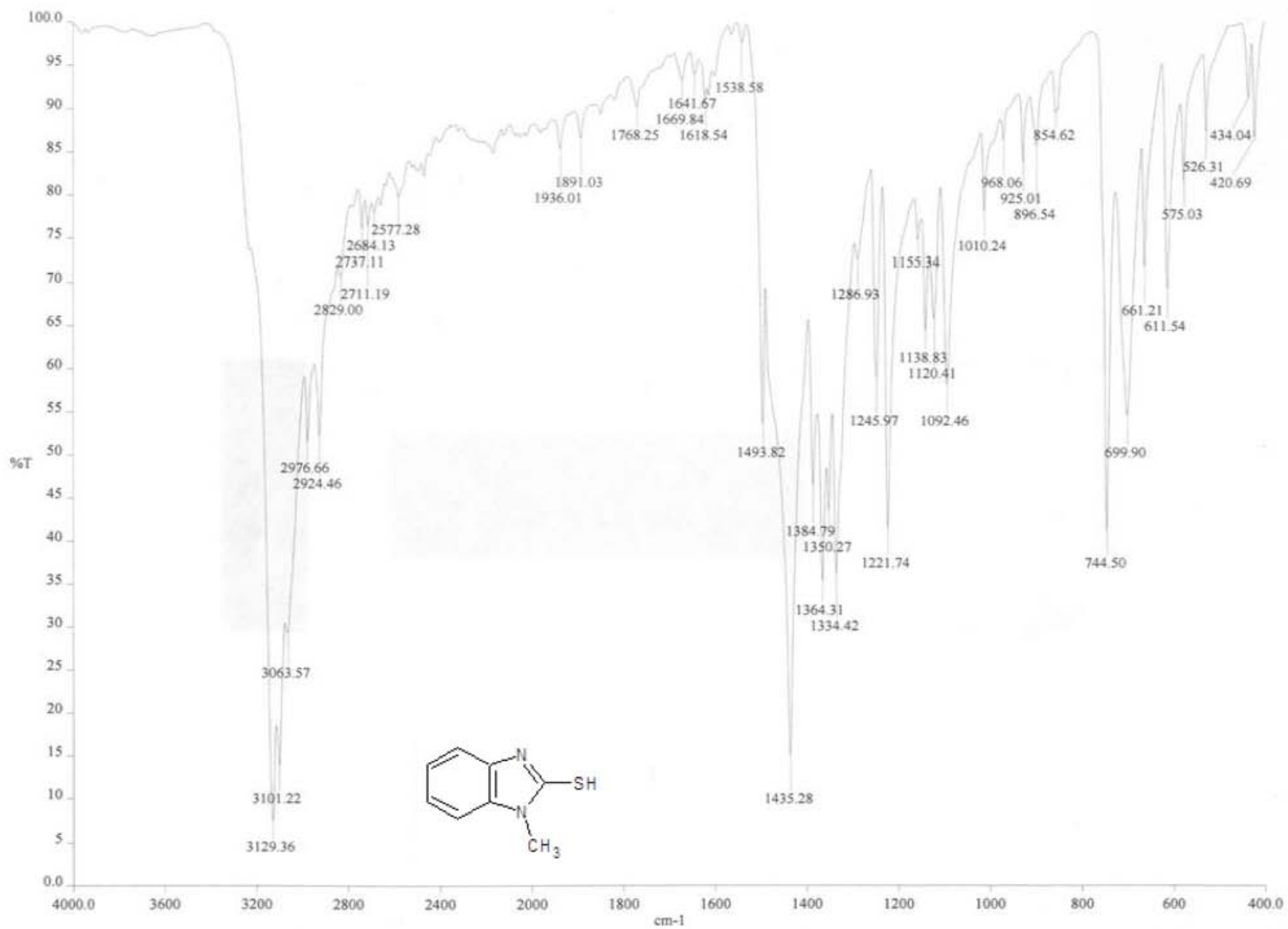
Espectro 1. IR (Pastilla (KBr) cm⁻¹, 2-mercaptobenzimidazol, BzSH-1.



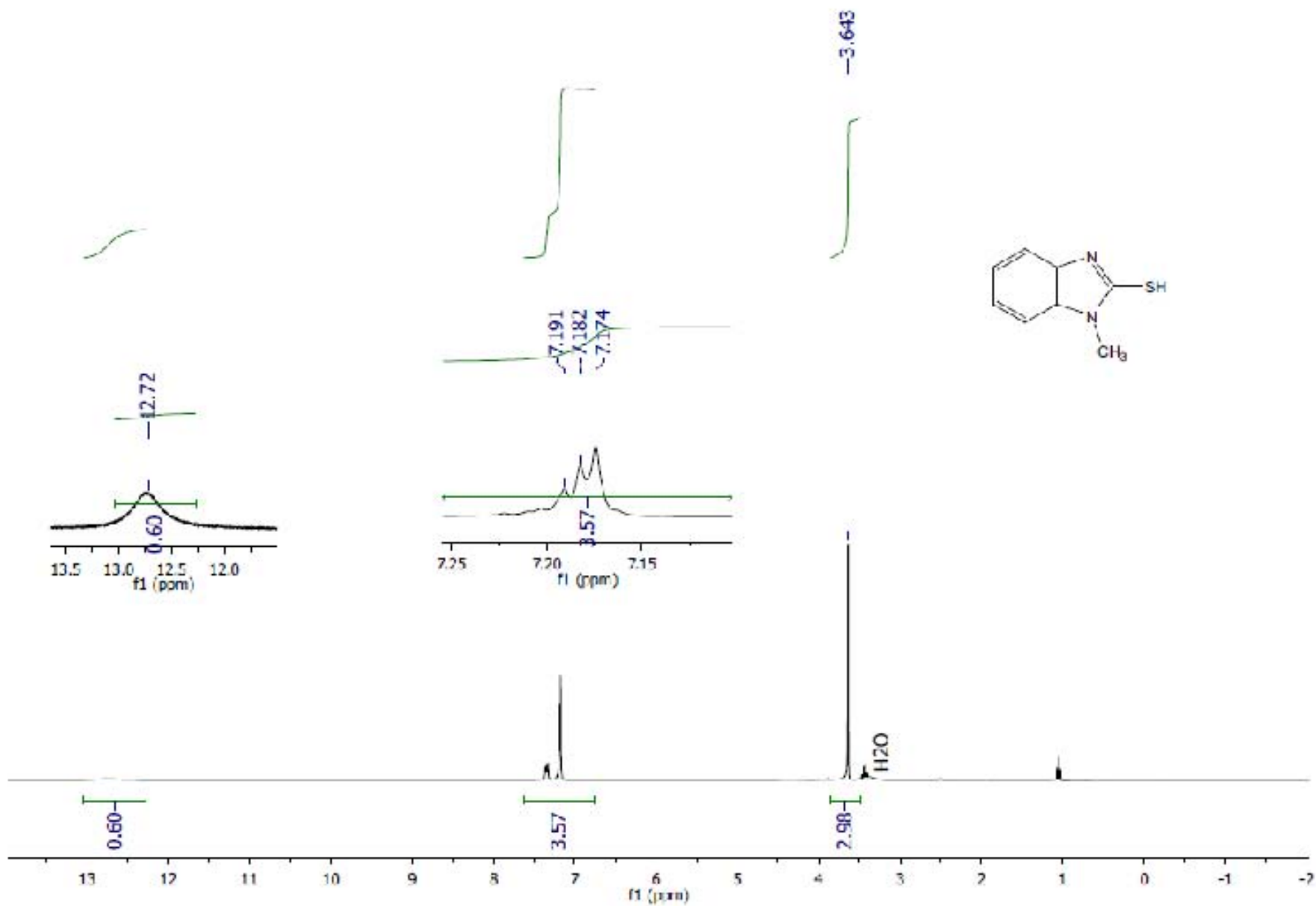
Espectro 2. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm, 2-mercaptobenzimidazol, BzSH-1.



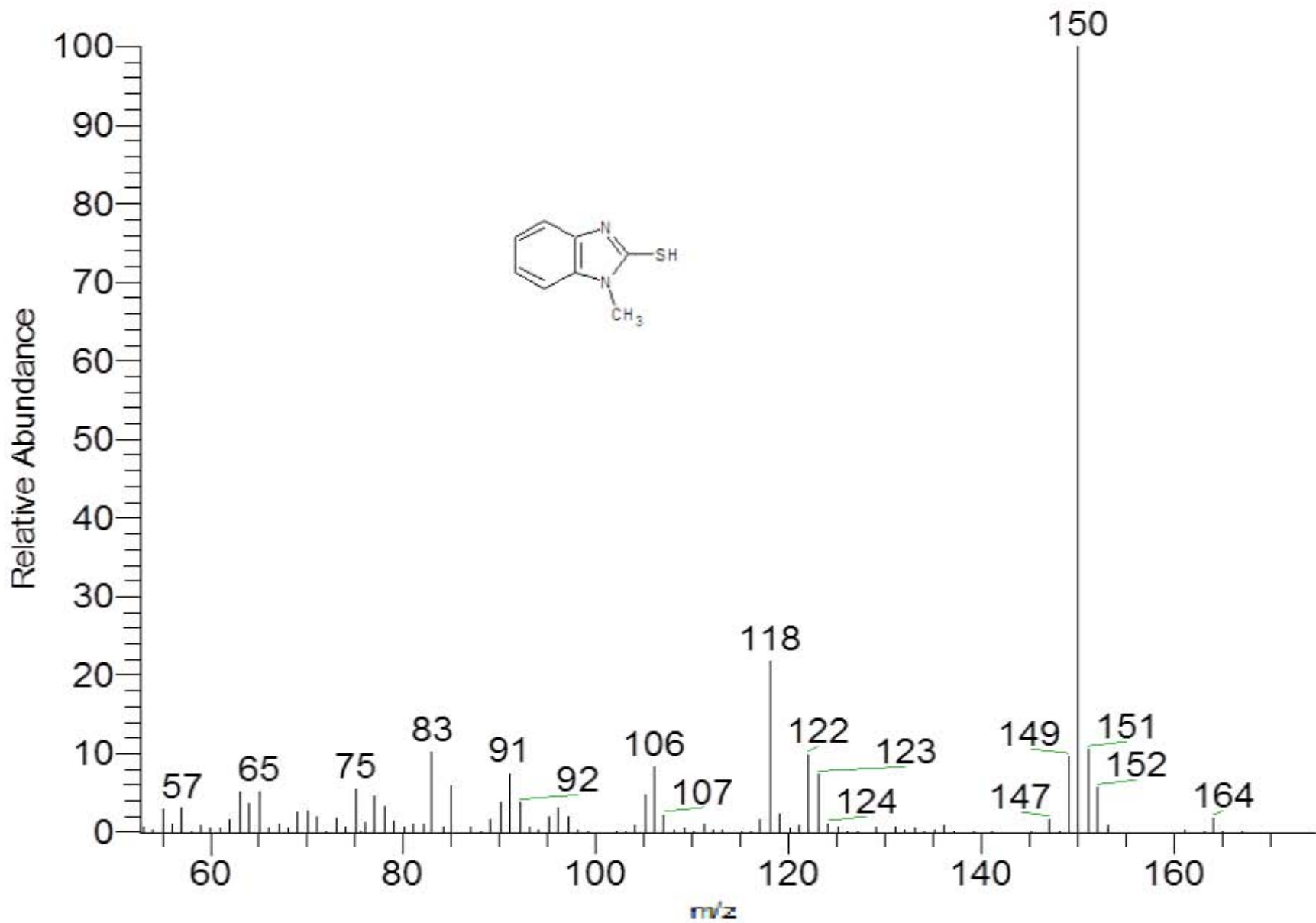
Espectro 3. EM: (IE/ID, m/z) 2-mercaptobencimidazol, BzSH-1.



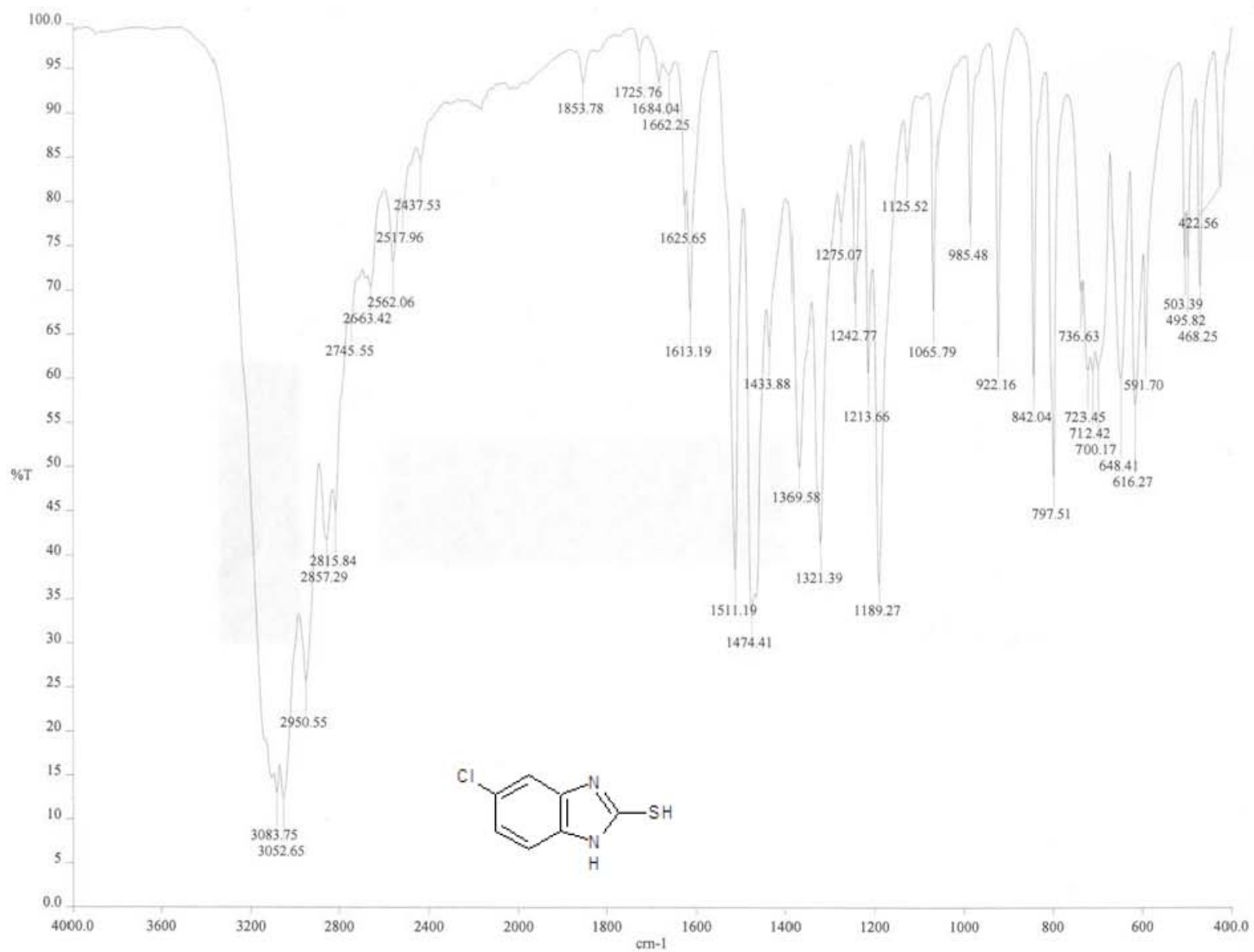
Espectro 4. IR, Pastilla (KBr) cm⁻¹, 1-metil-2-mercaptobenzimidazol, BzSH-2.



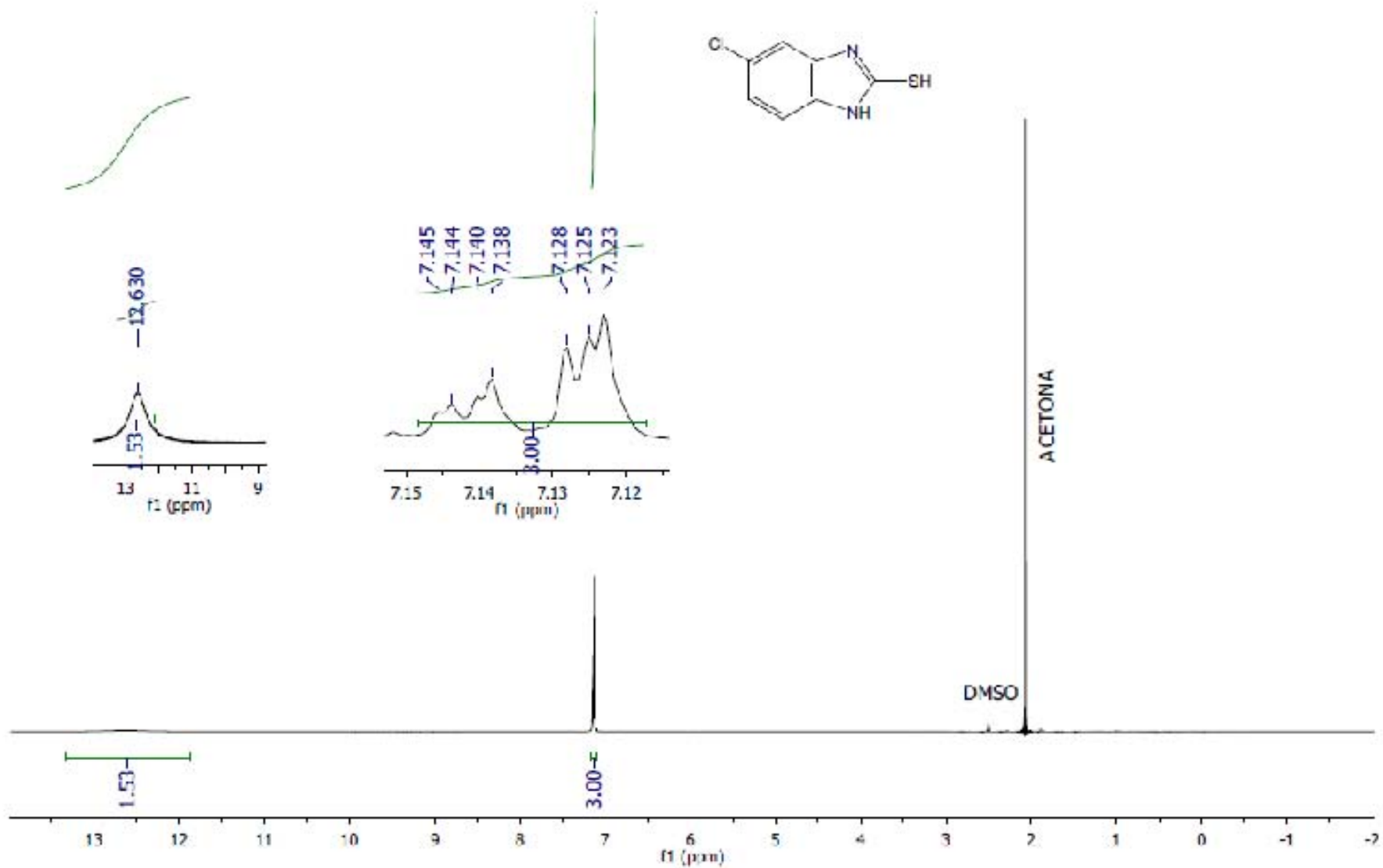
Espectro 5. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm, 1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-2.



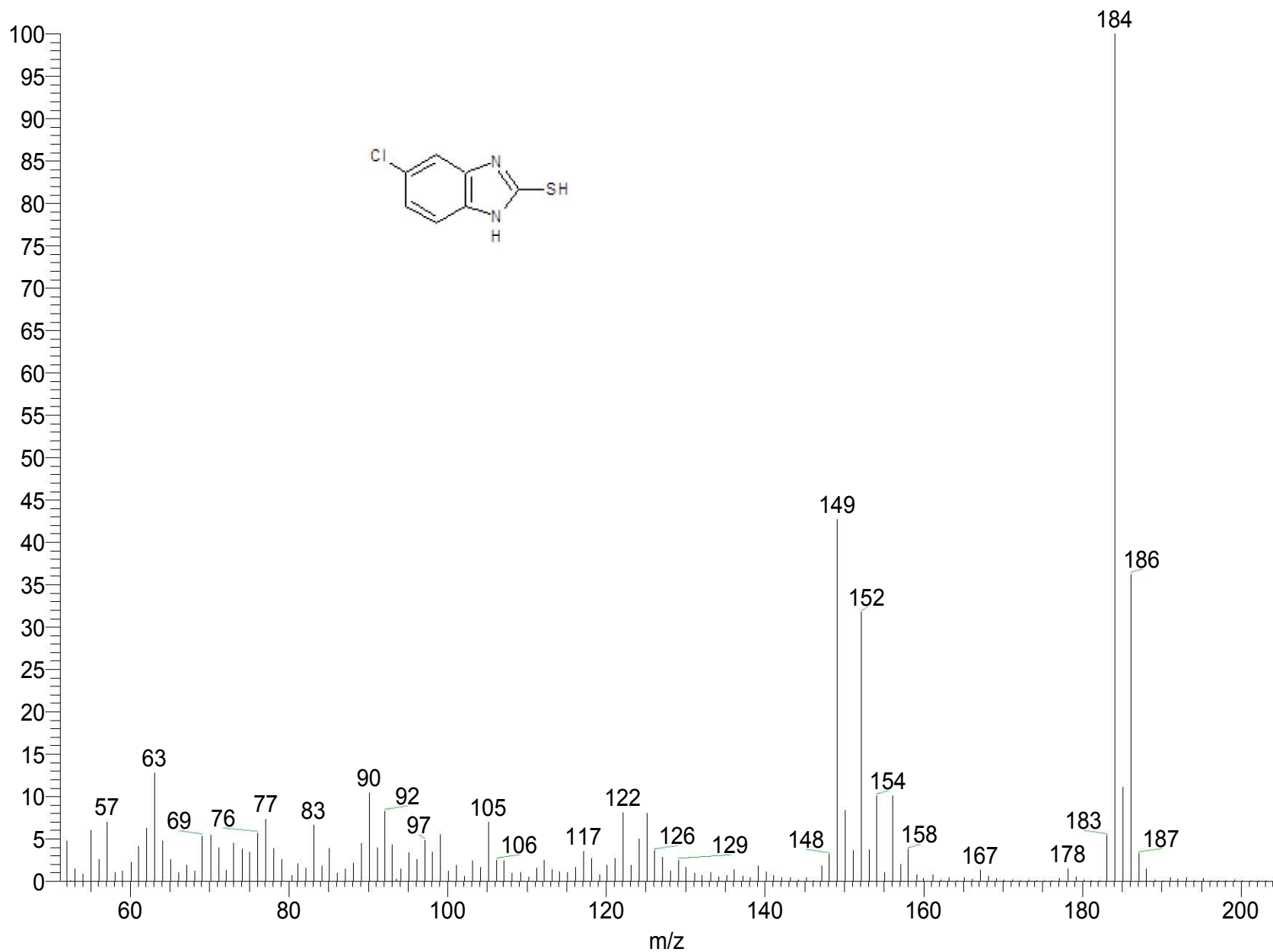
Espectro 6. EM (IE/ID; m/z) 1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-2.



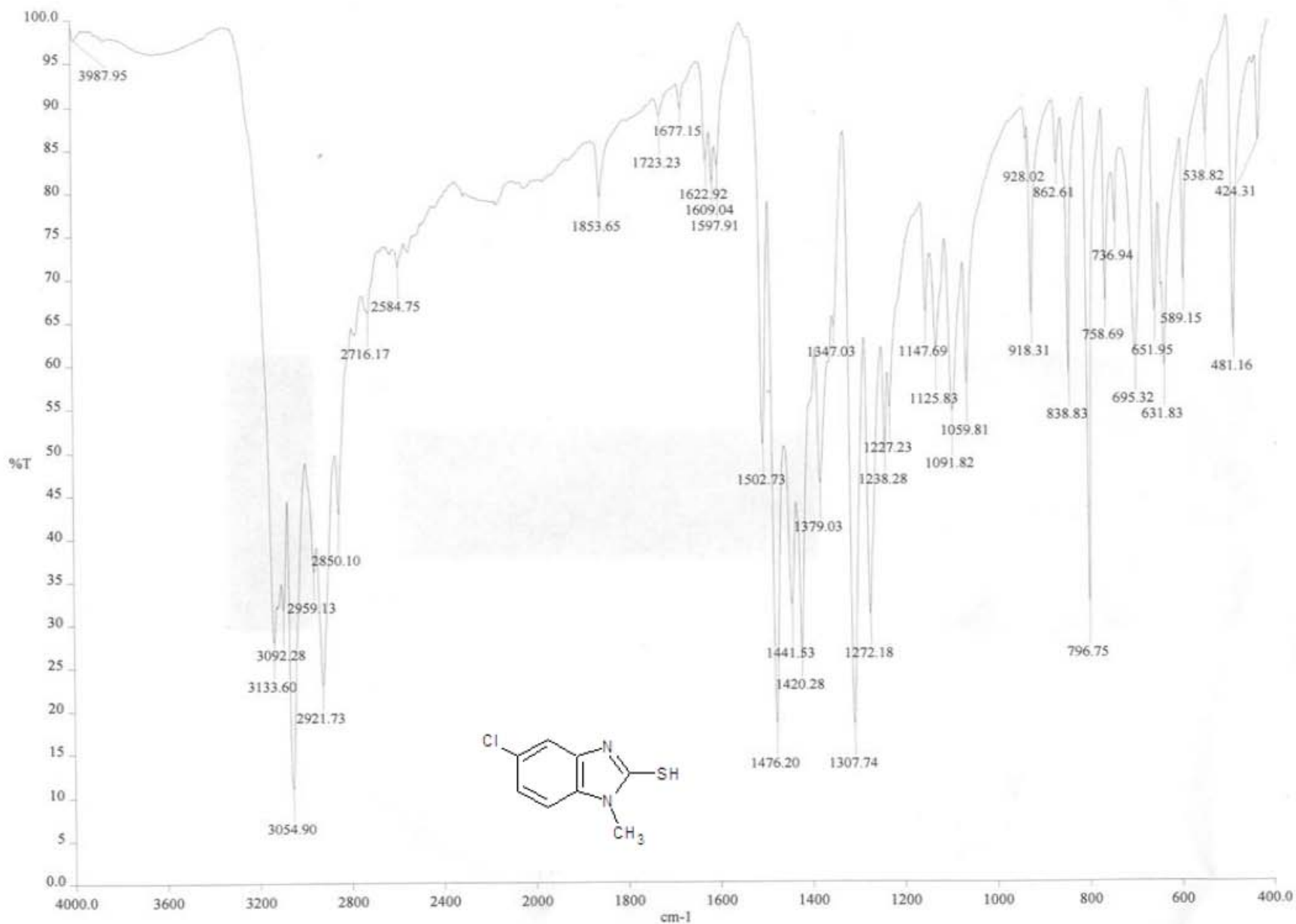
Espectro 7. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 5-cloro-2-mercaptobencimidazol, BzSH-3.



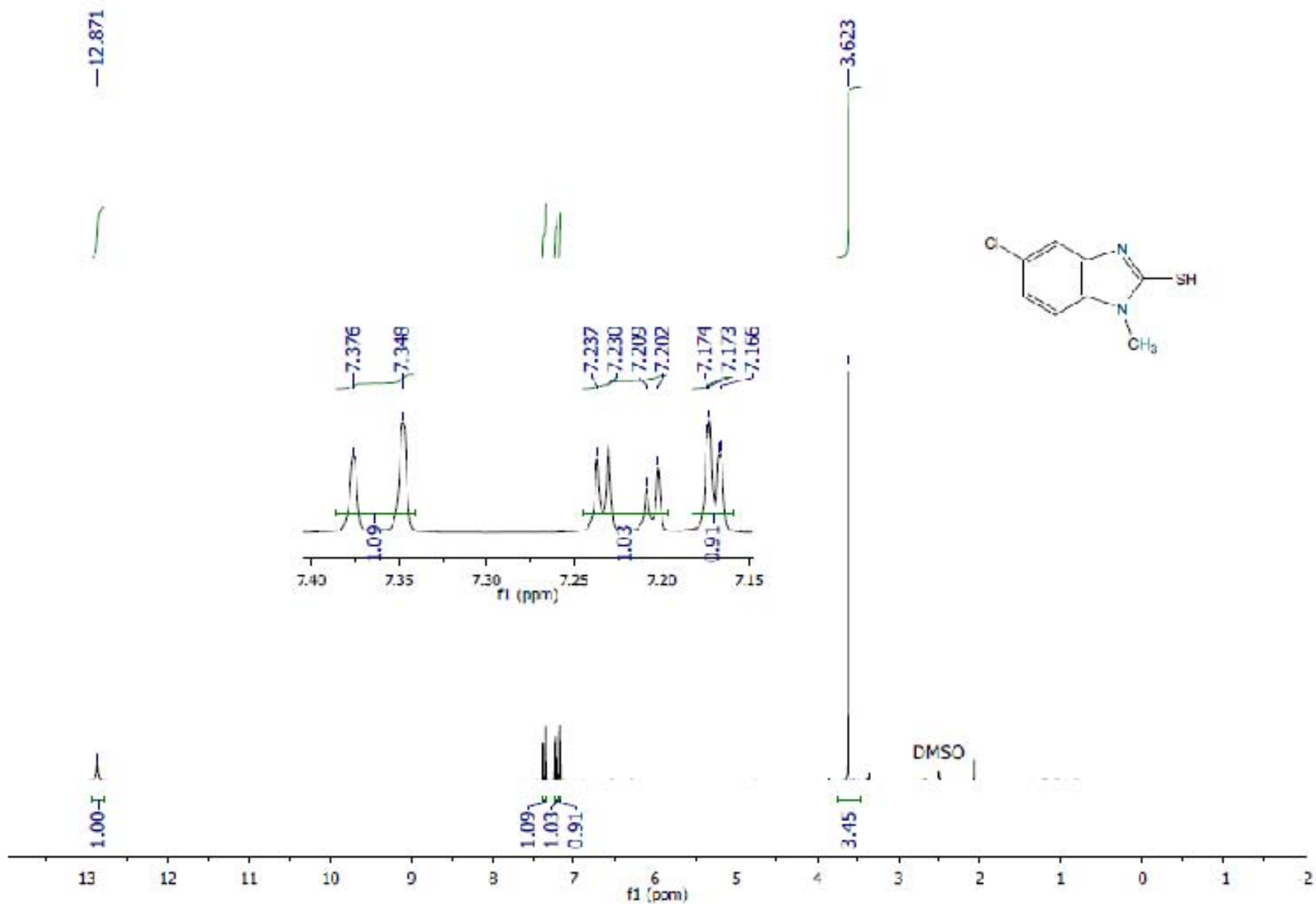
Espectro 8. RMN ^1H (TMS, DMSO-d $_6$) ppm 5-cloro-2-mercaptobencimidazol, BzSH-3.



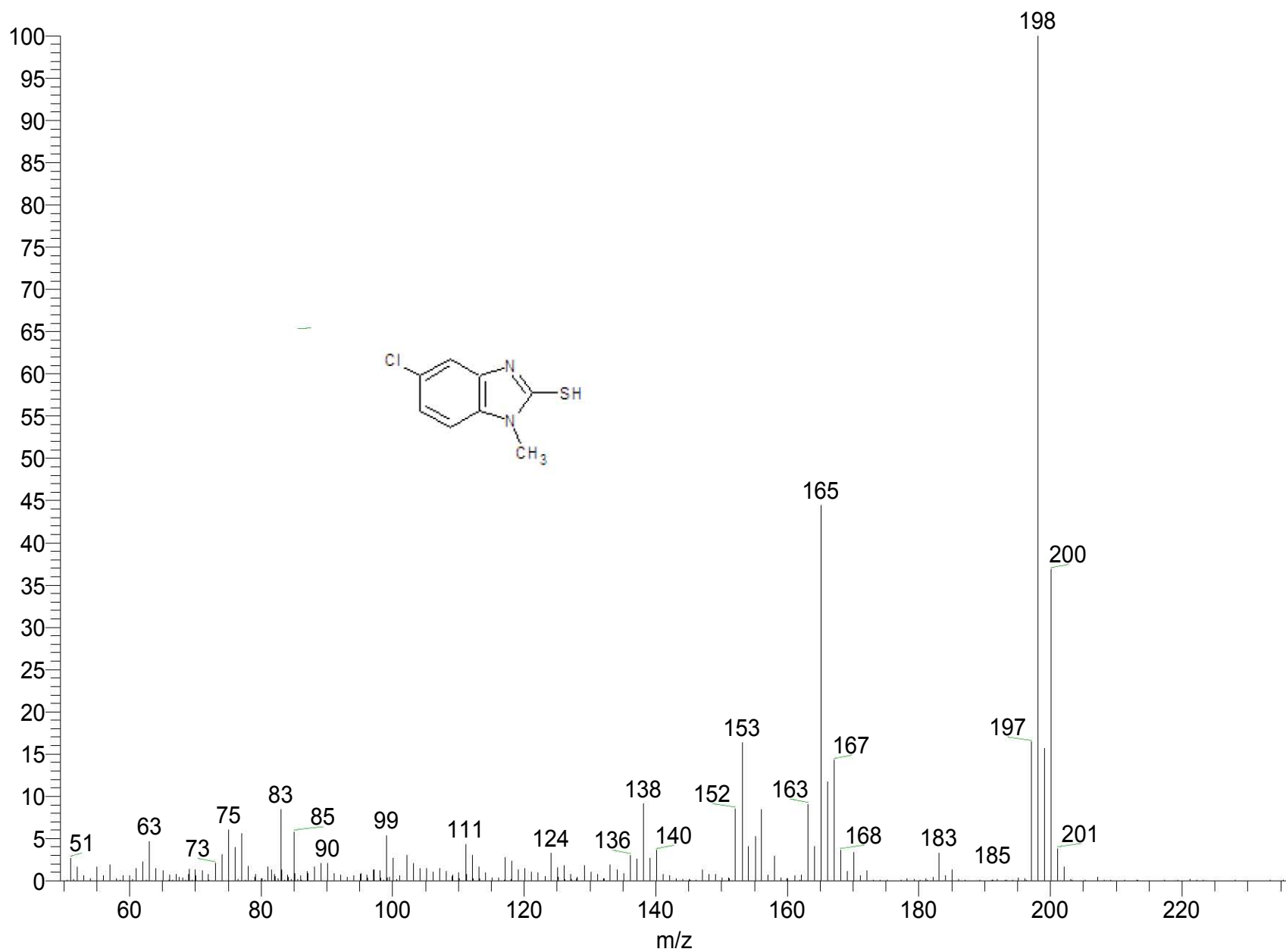
Espectro 9. EM: (IE/ID; m/z) 5-cloro-2-mercaptobencimidazol, BzSH-3.



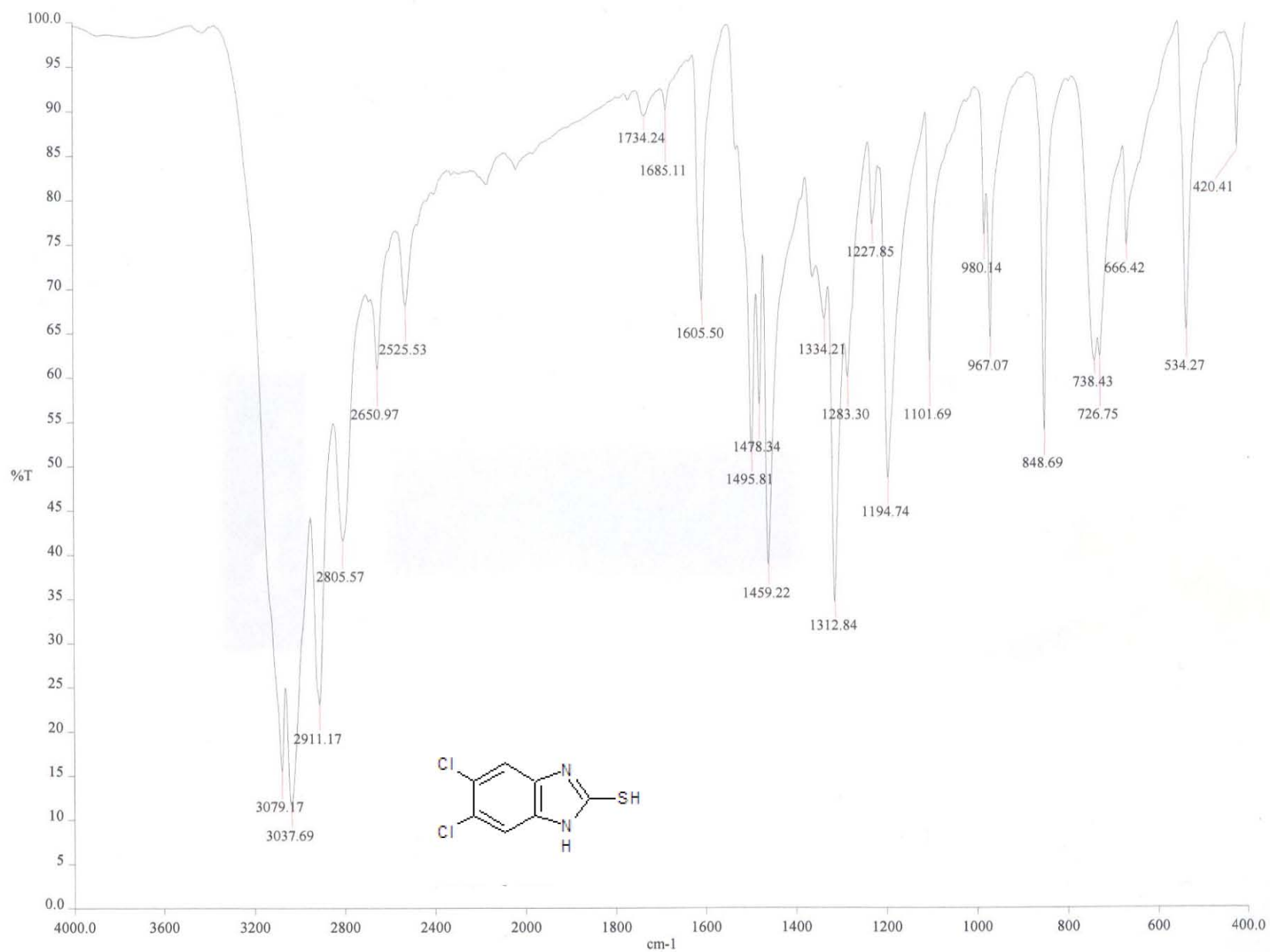
Espectro 10. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 5-cloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol. BzSH-4.



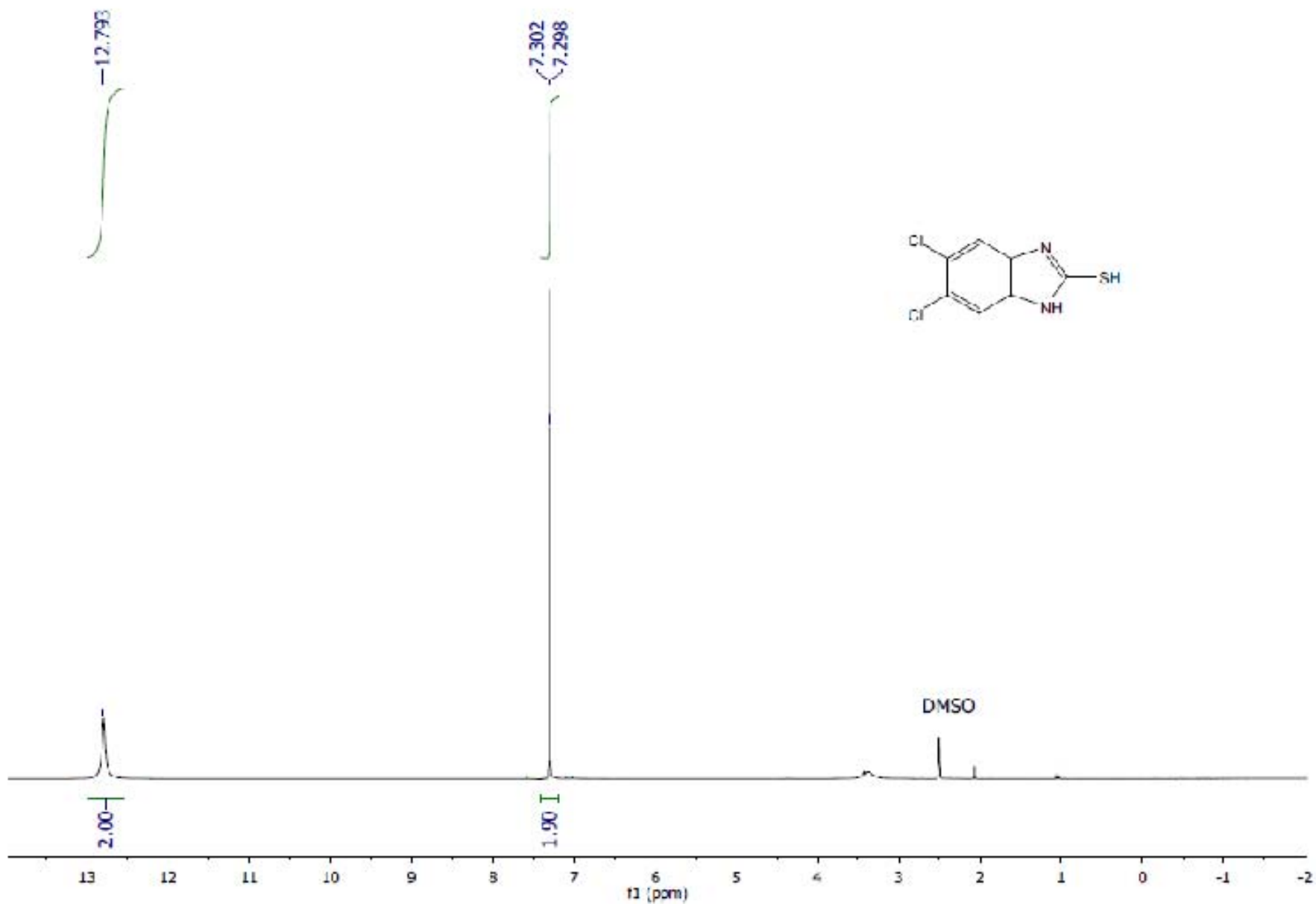
Espectro 11. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 5-cloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-4.



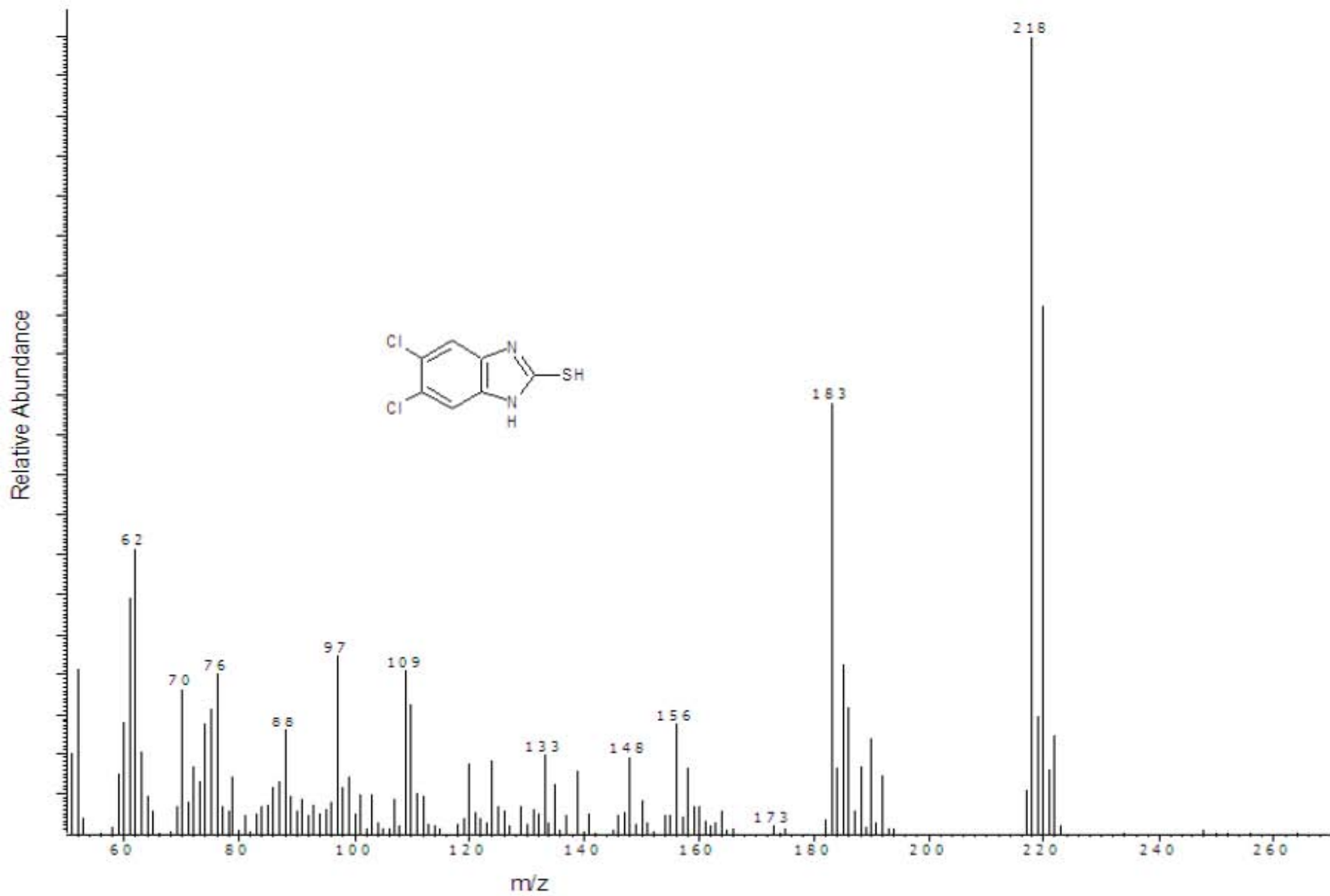
Espectro 12. EM: (IE/ID; m/z) 5-cloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-4.



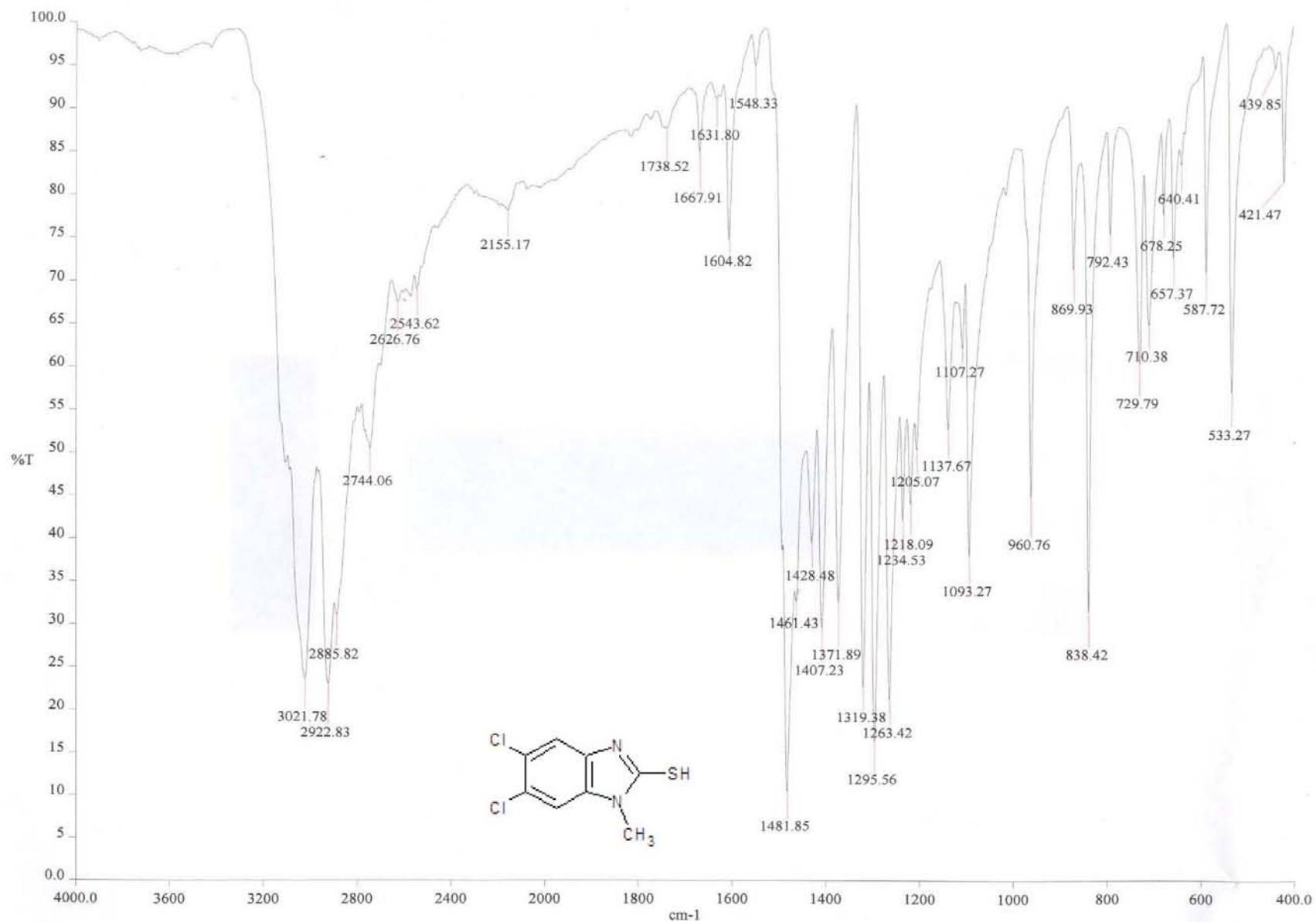
Espectro 13. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 5,6-dicloro-2-mercaptobenzimidazol, BzSH-5.



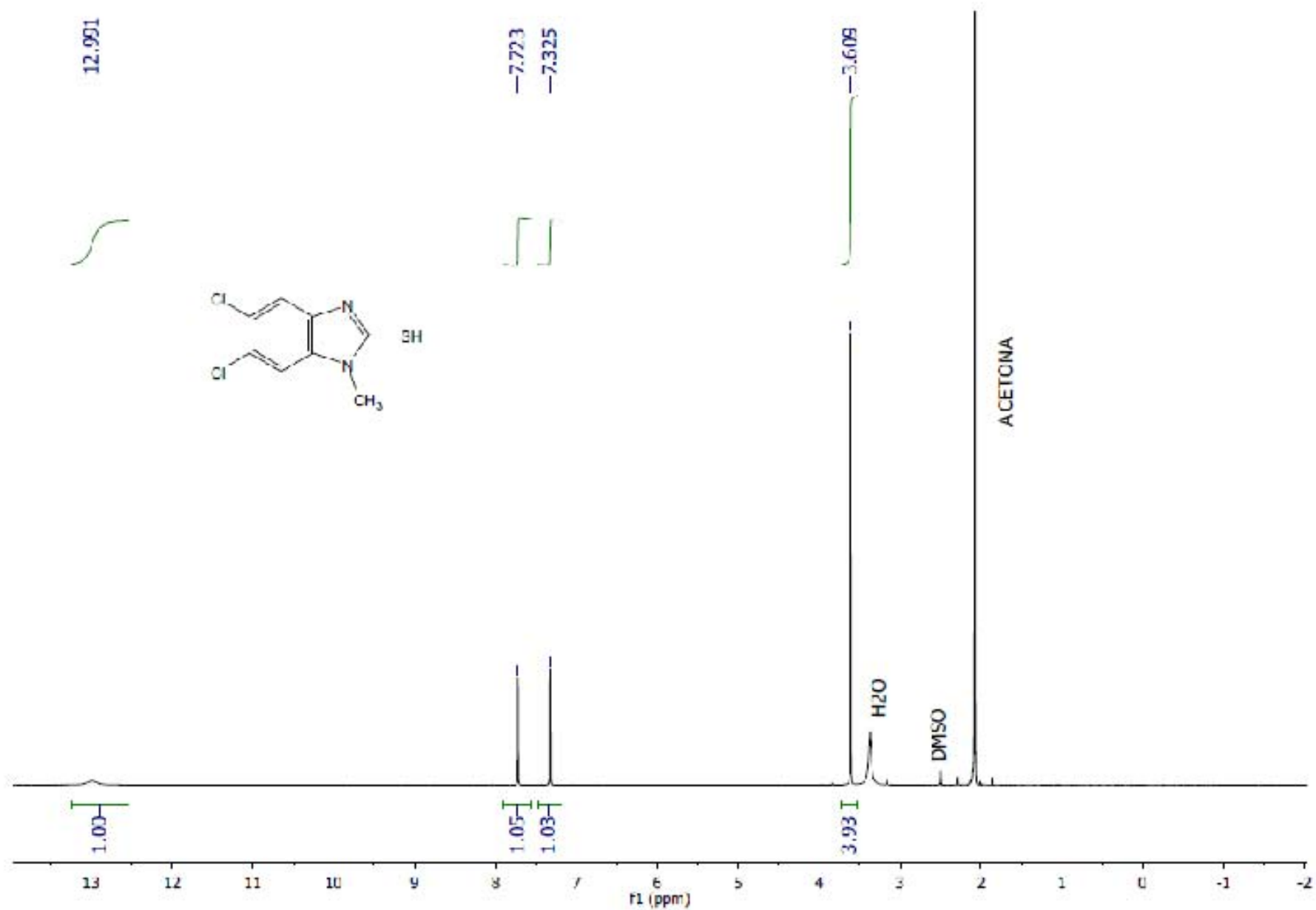
Espectro 14. RMN^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm 5,6-dicloro-2-mercaptobencimidazol, BzSH-5



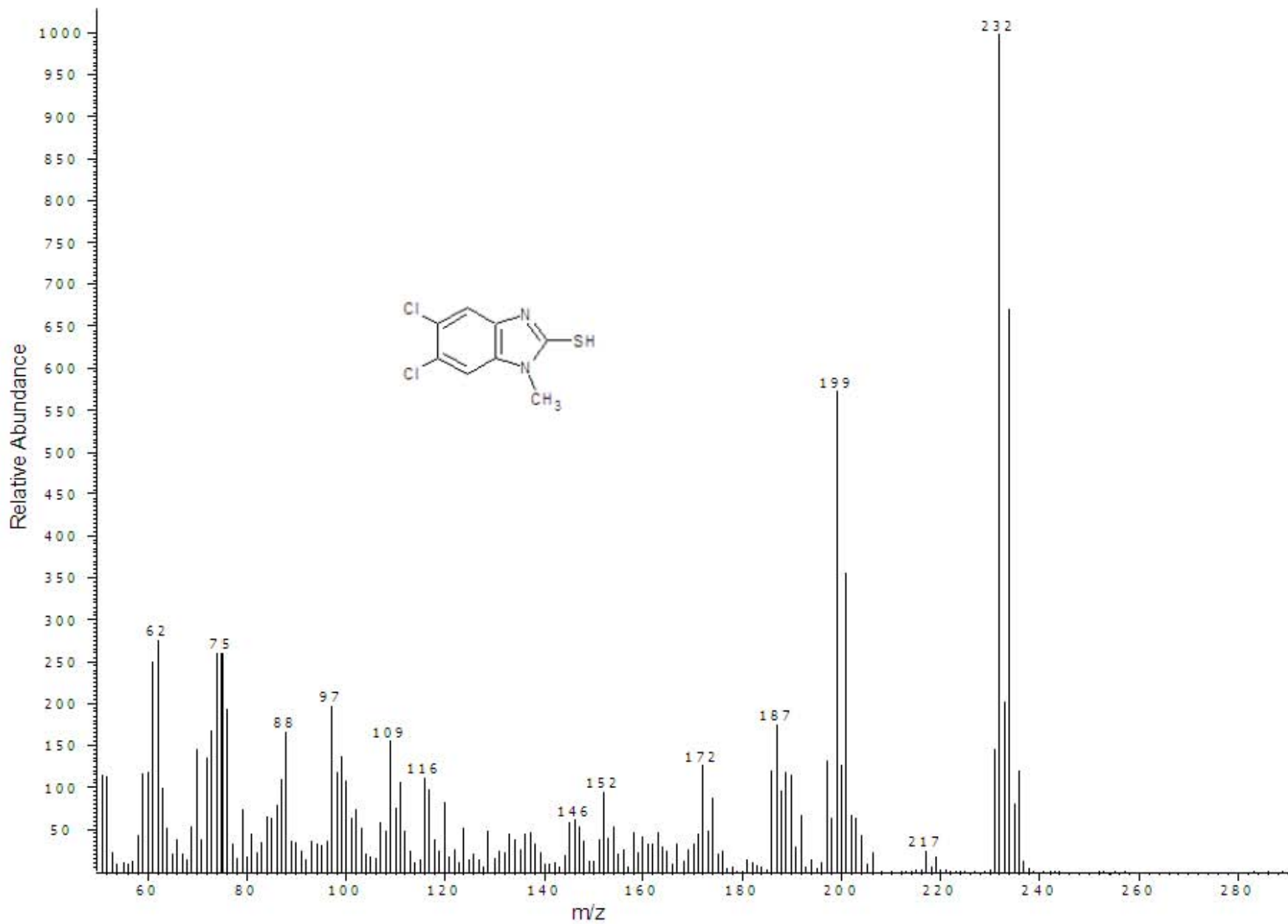
Espectro 15. EM: (IE/ID; m/z) 5,6-dicloro-2-mercaptobencimidazol, BzSH-5.



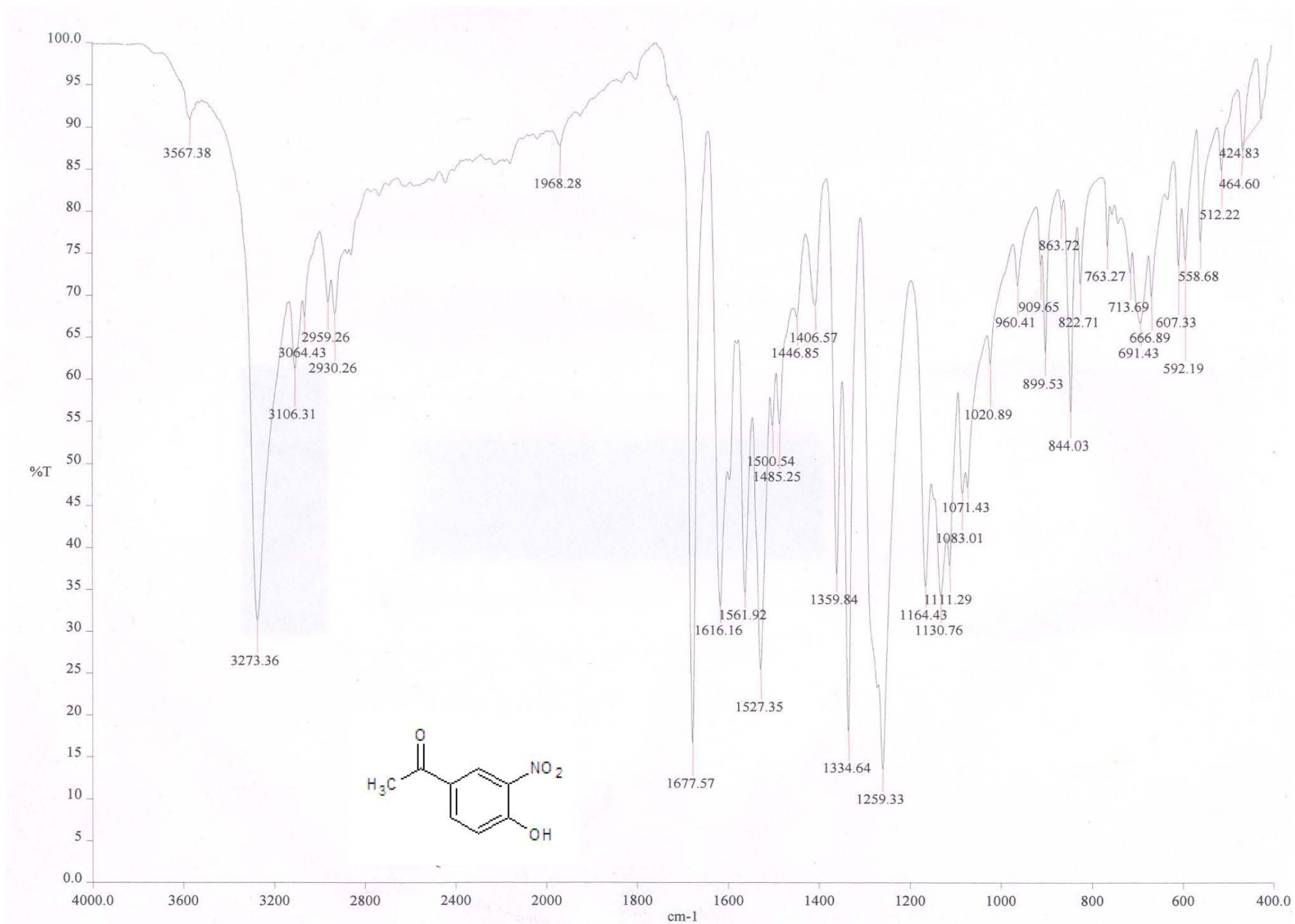
Espectro 16. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 5,6-dicloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol. BzSH-6.



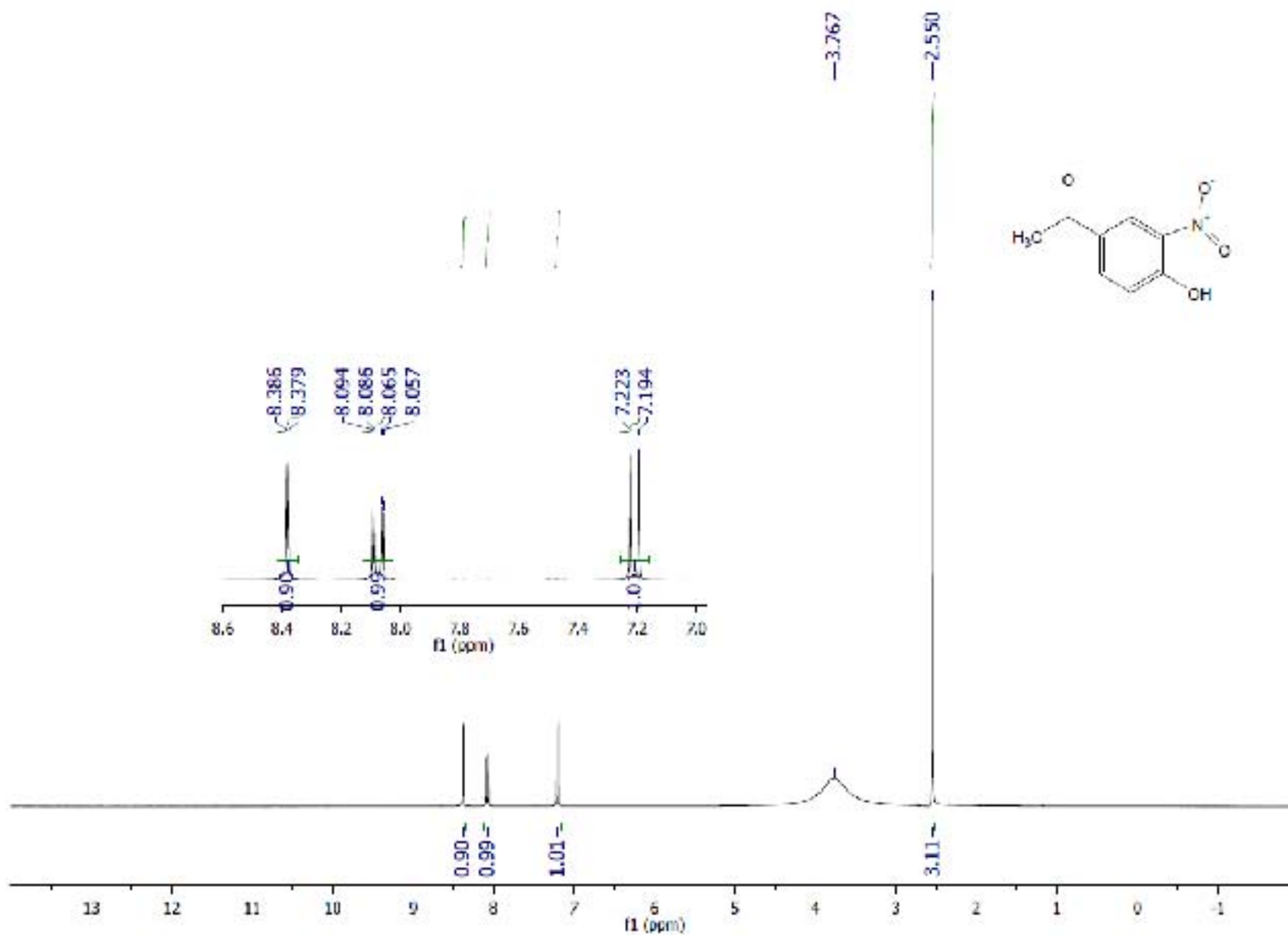
Espectro 17. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 5,6-dicloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-6.



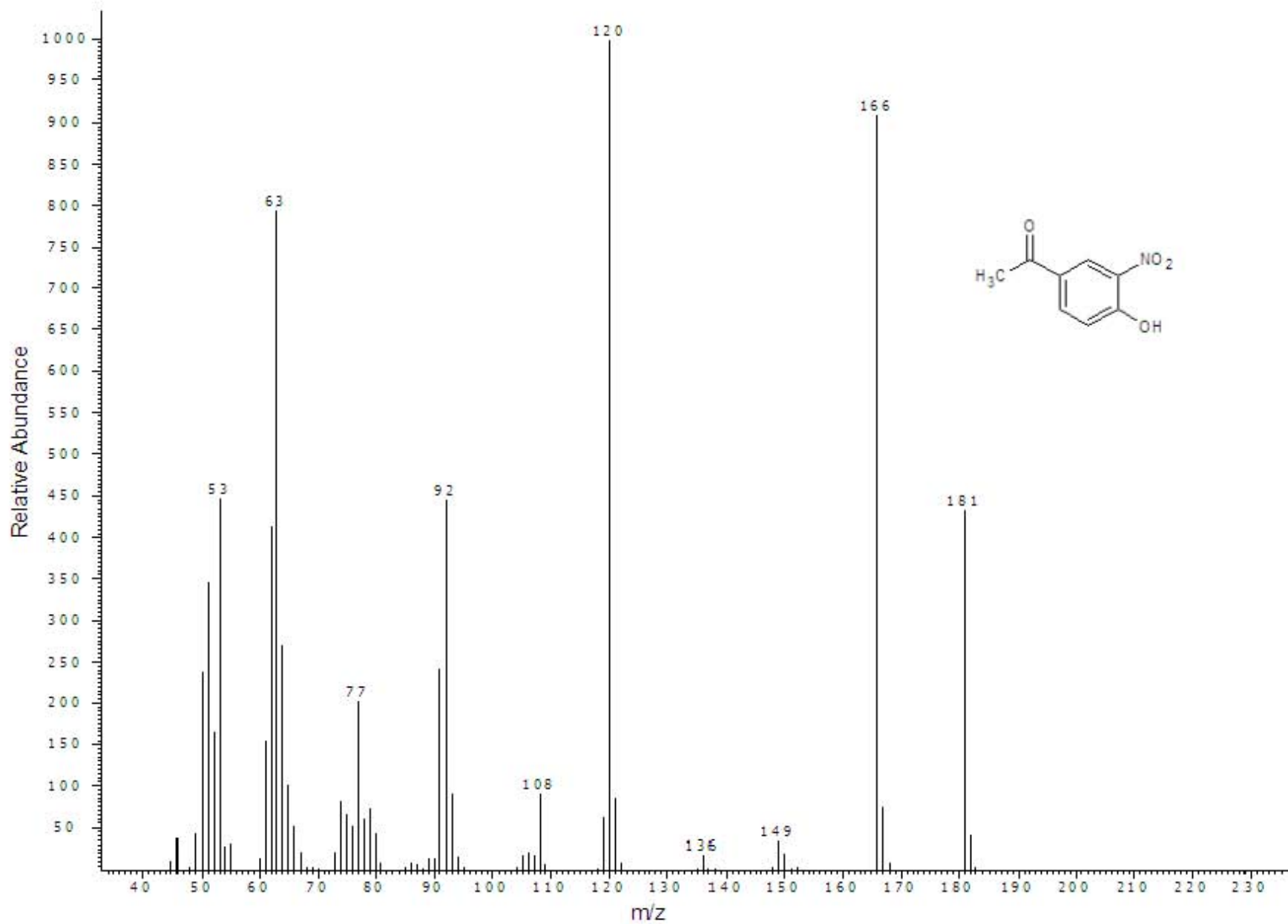
Espectro 18. EM: (IE/ID; m/z) 5,6-dicloro-1-metil-2-mercaptobencimidazol, BzSH-6.



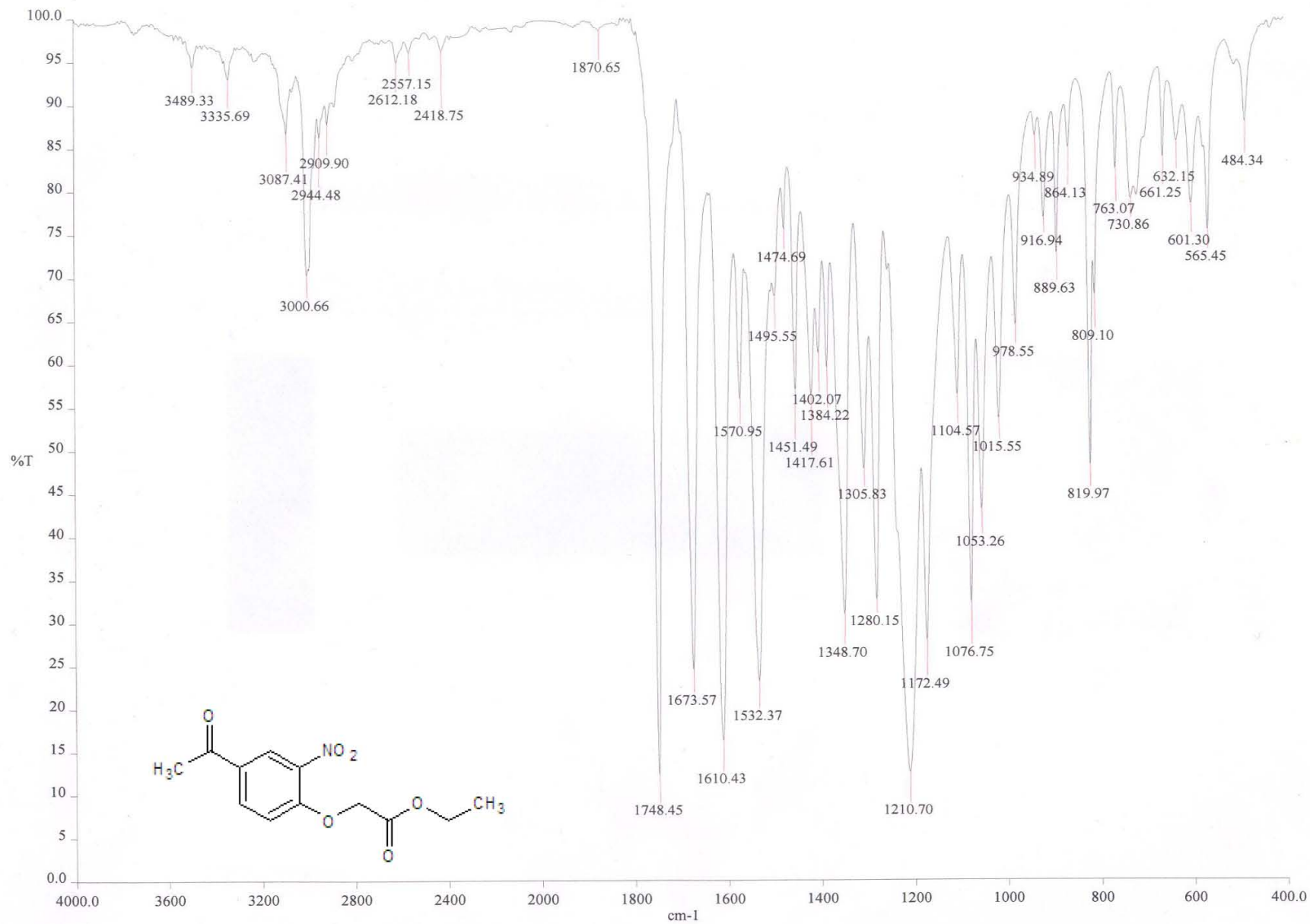
Espectro 19. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ 4-hidroxi-3-nitroacetofenona, 19.



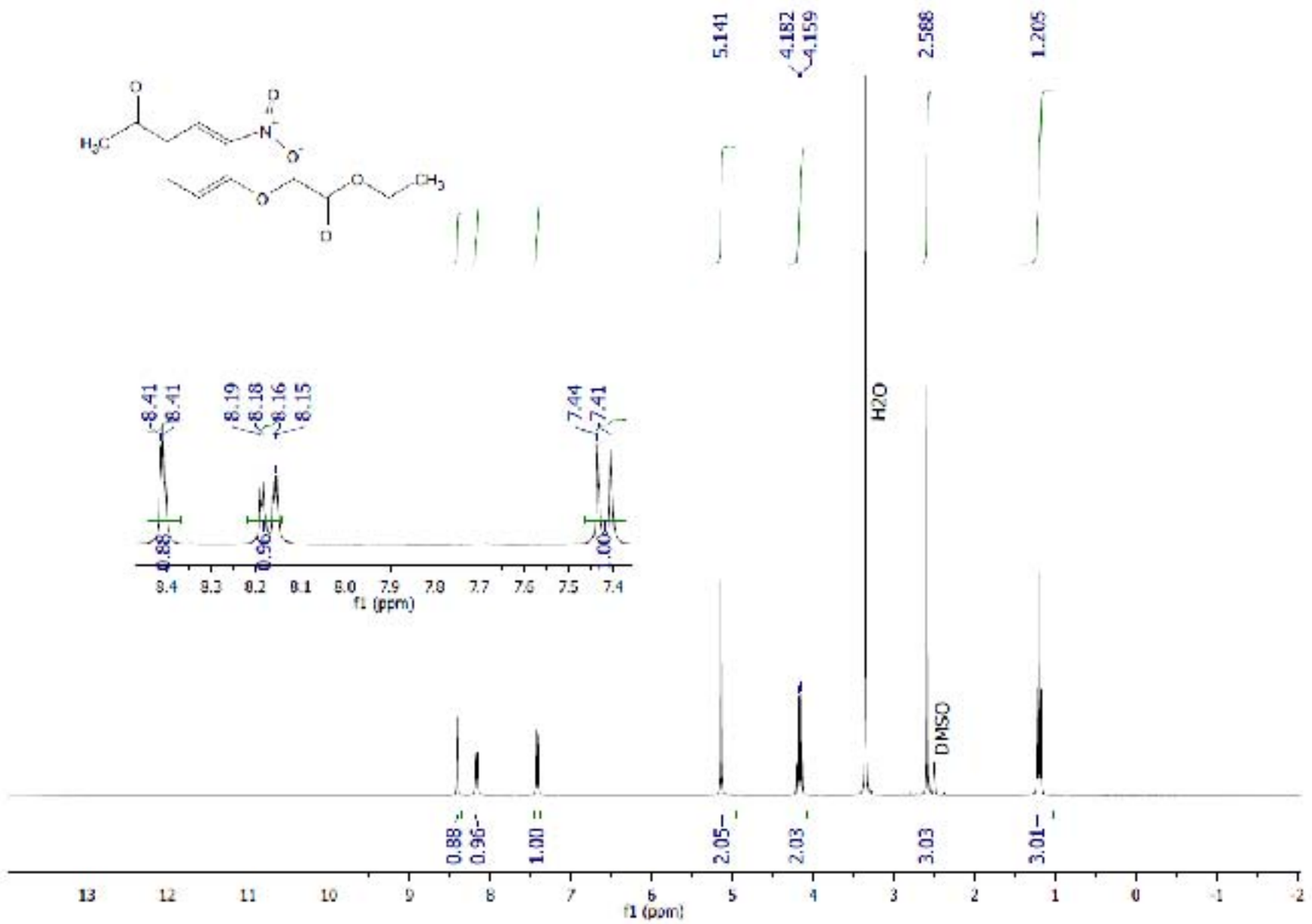
Espectro 20. RMN^1H (TMS, DMSO-d_6) ppm 4-hidroxi-3-nitroacetofenona 19..



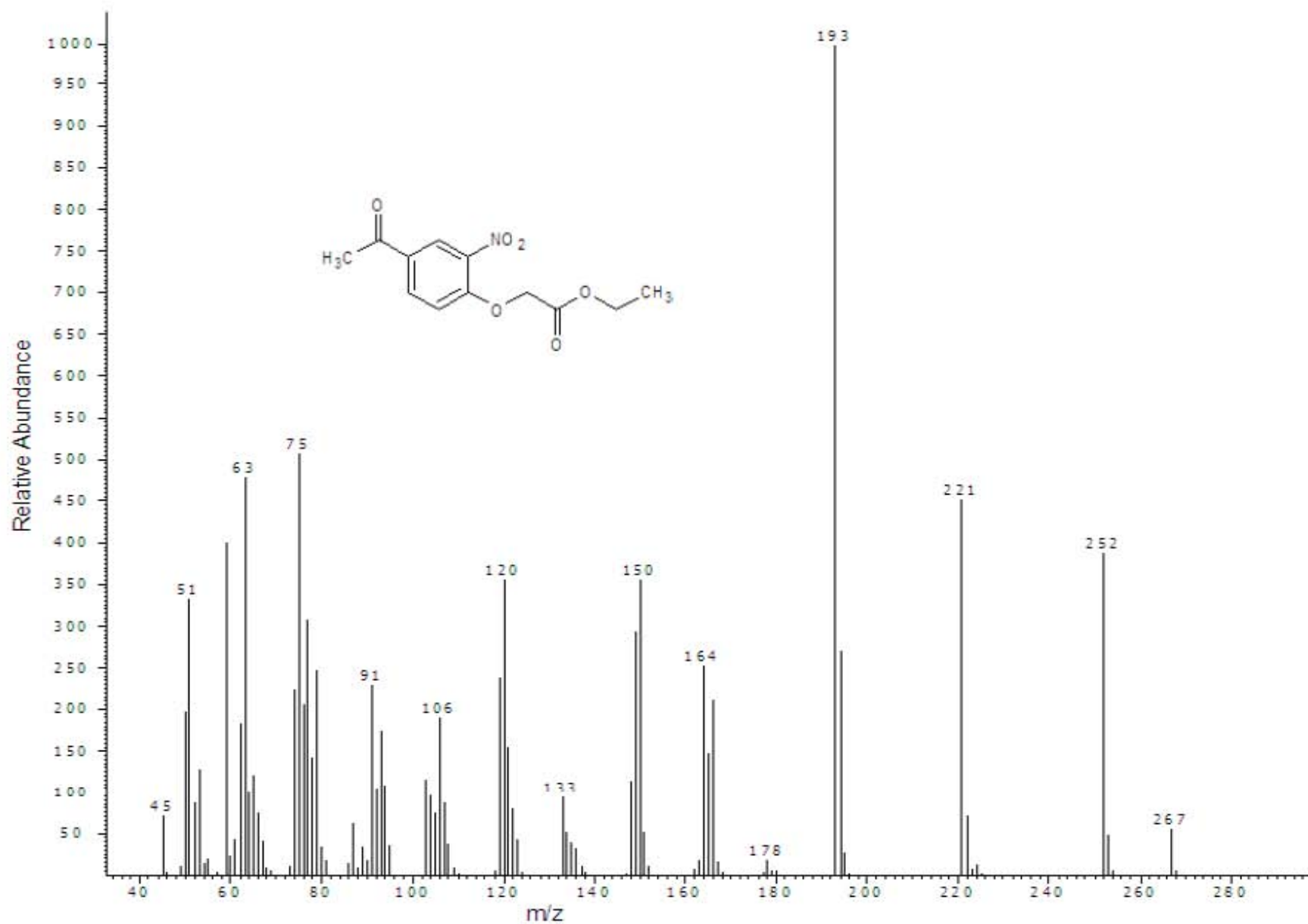
Espectro 21. EM: (IE/ID: m/z) 4-hidroxi-3-nitroacetofenona 19..



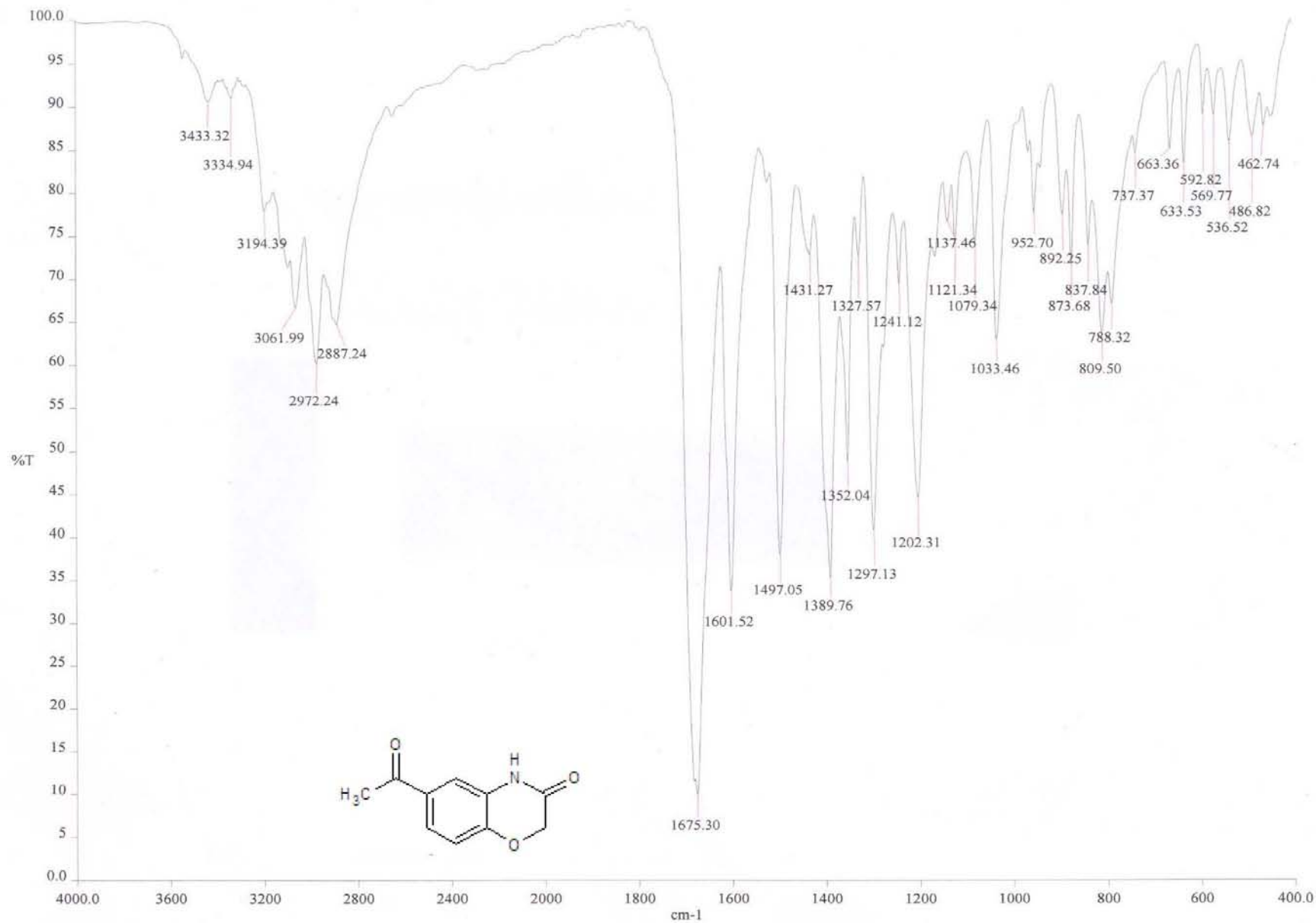
Espectro 22. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo, 20.



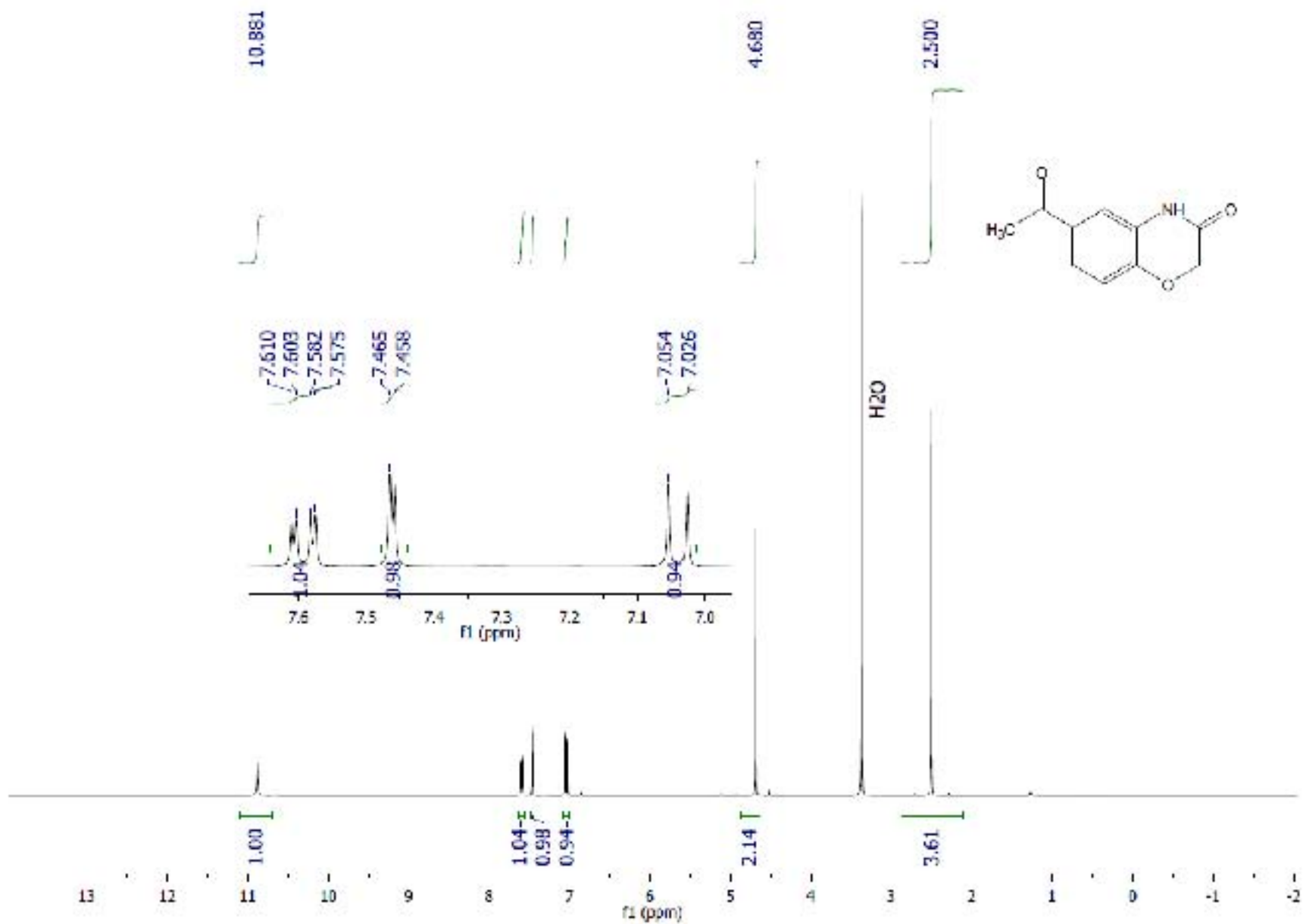
Espectro 23. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo 20.



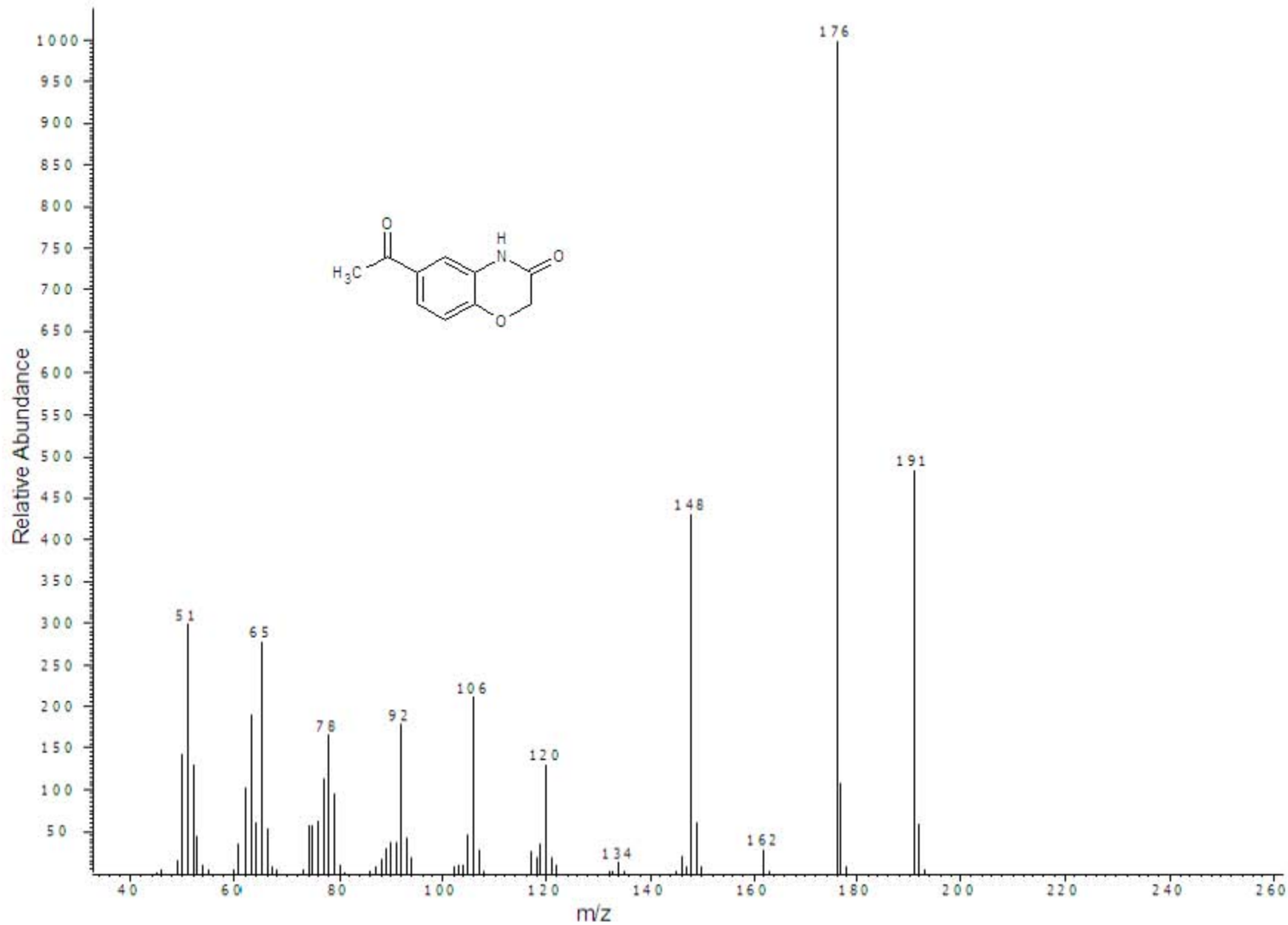
Espectro 24. EM: (IE/ID; m/z) 4-acetil-2-nitrofenoxiacetato de etilo 20.



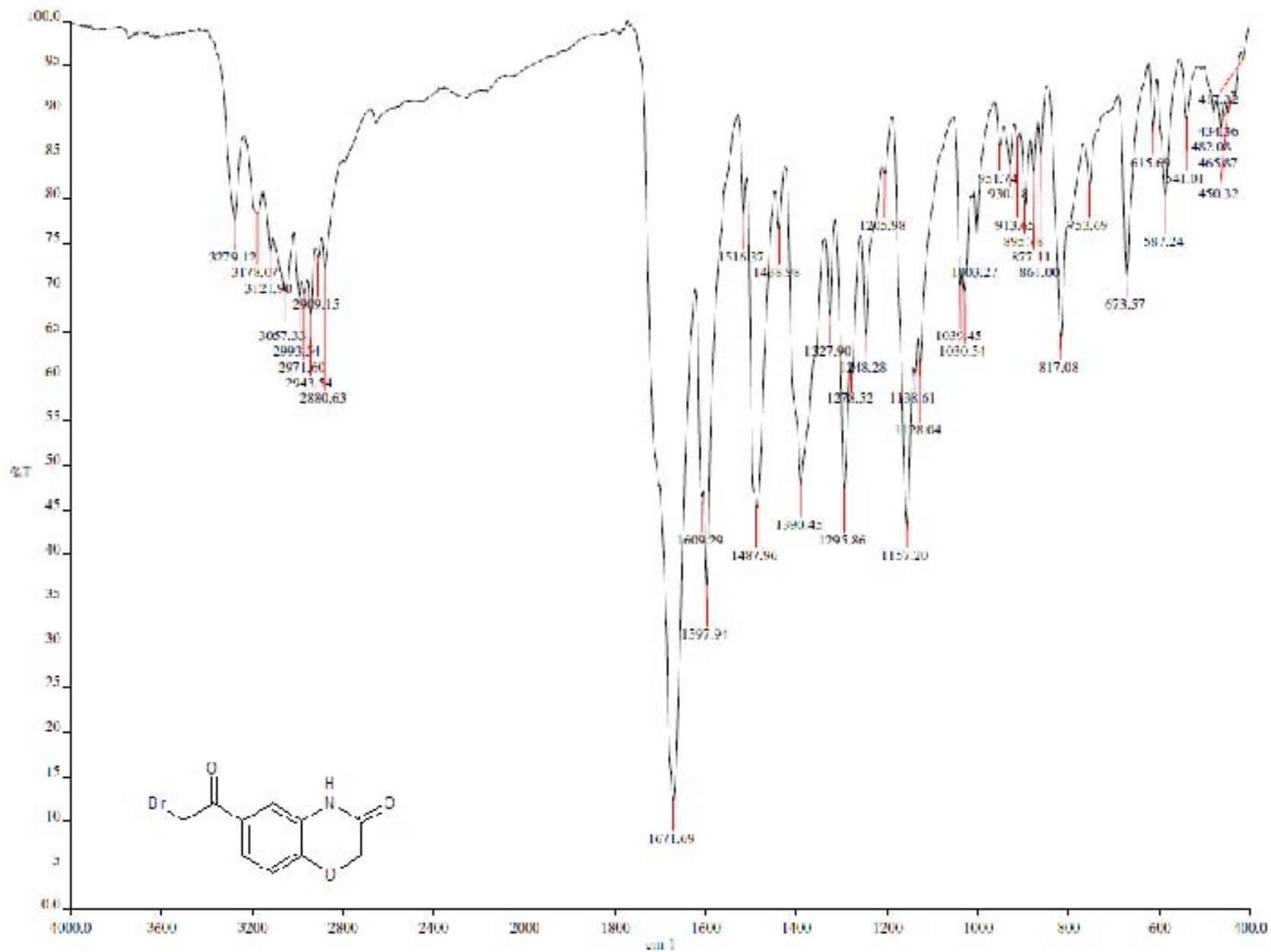
Espectro 25. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-3.



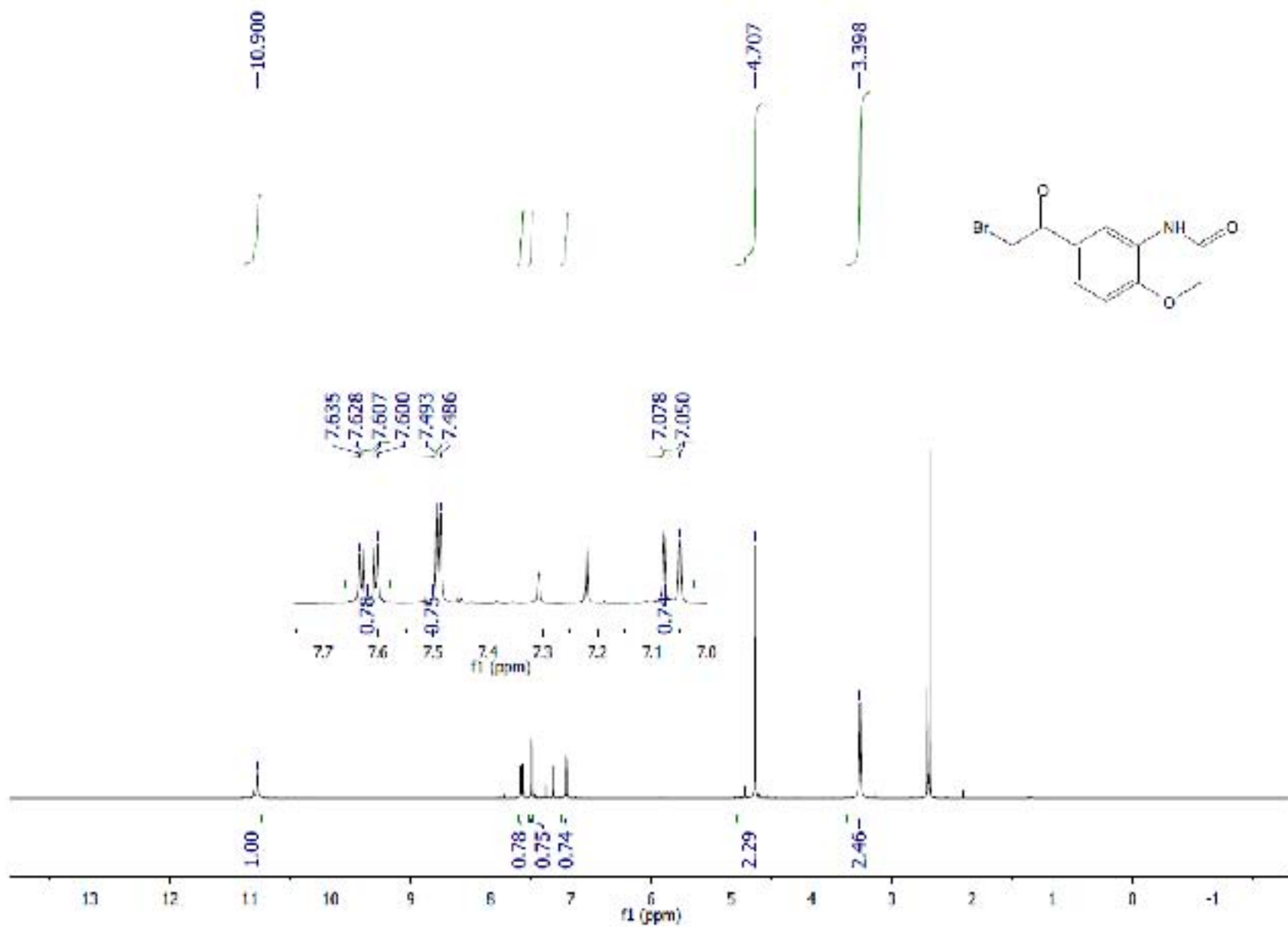
Espectro 26. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-3.



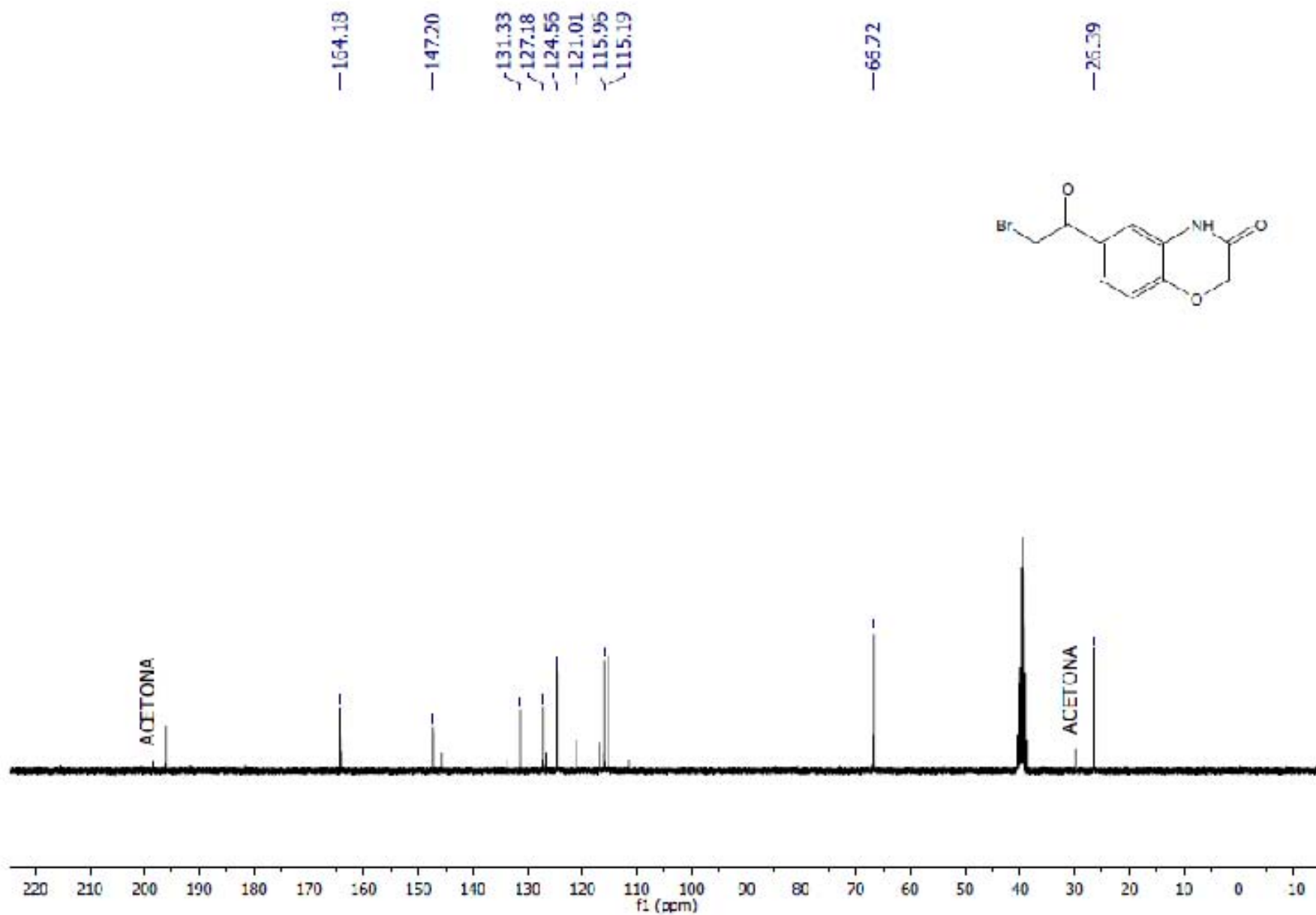
Espectro 27. EM (IE/ID; m/z) 6-acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-3.



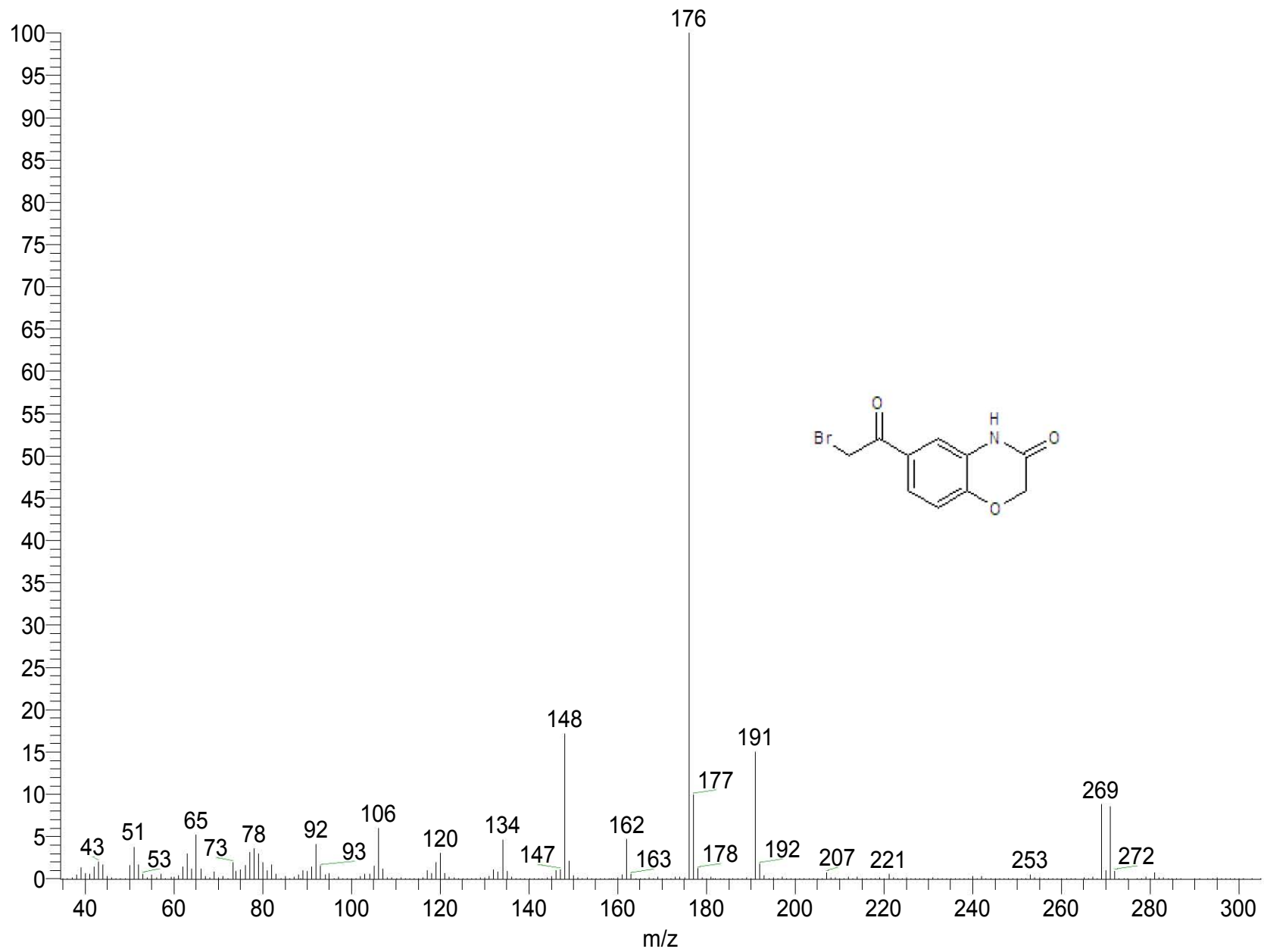
Espectro 28. IR: Pastilla (KBr) cm⁻¹ 6-(bromoacetyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-4.



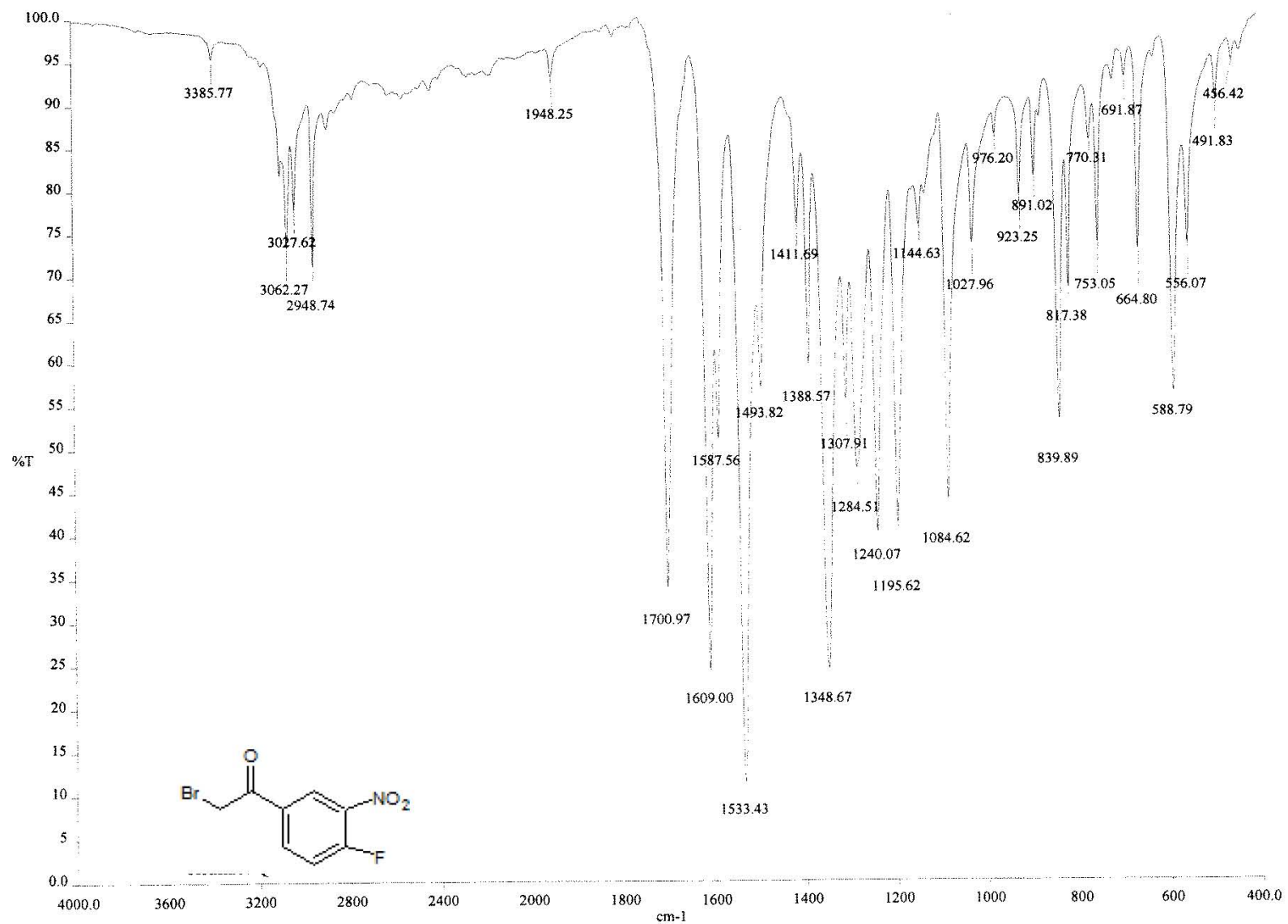
Espectro 29. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-(bromoacetyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-4.



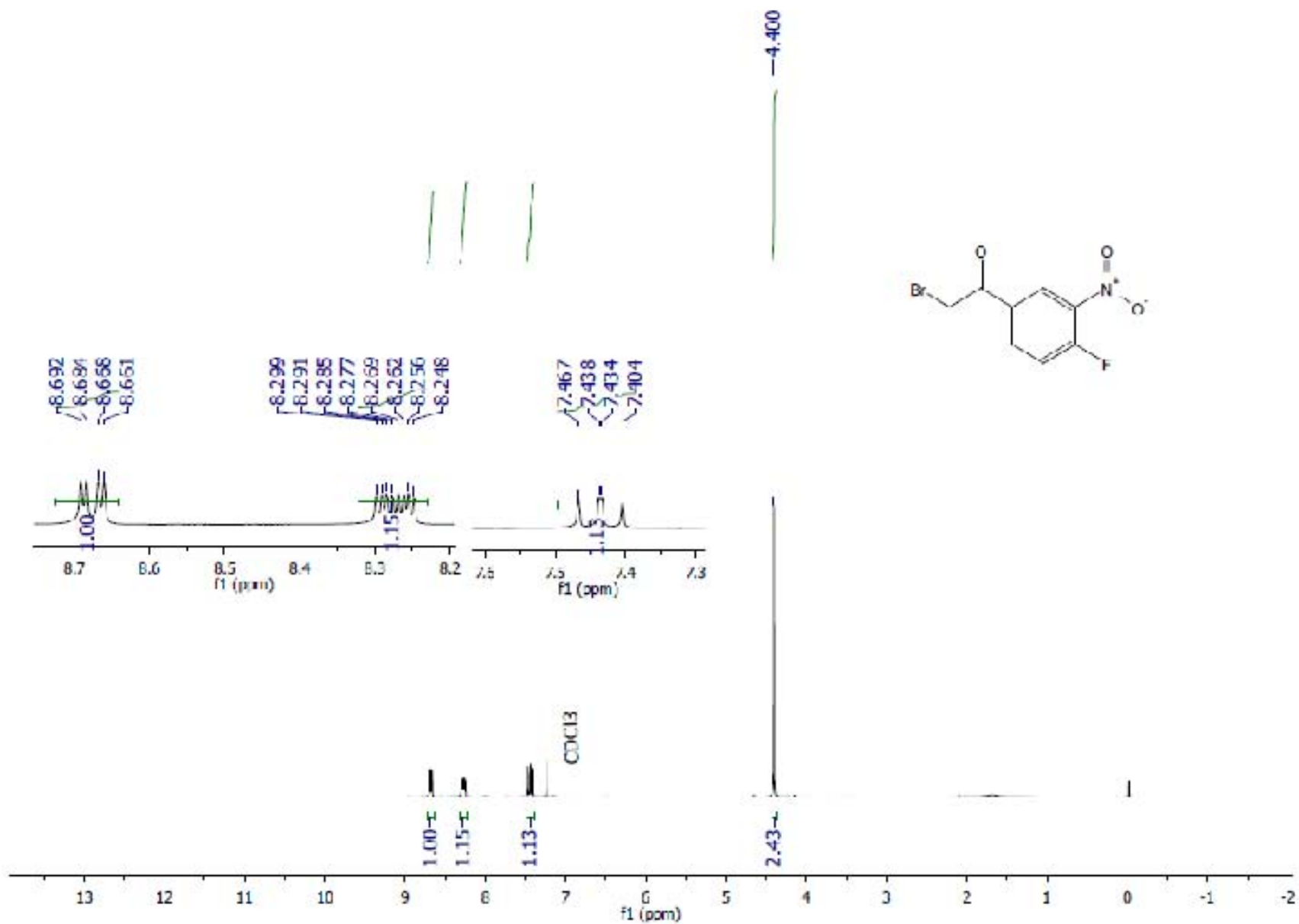
Espectro 30. RMN¹³C (TMS, DMSO-d6) ppm 6-(bromoacetyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-4.



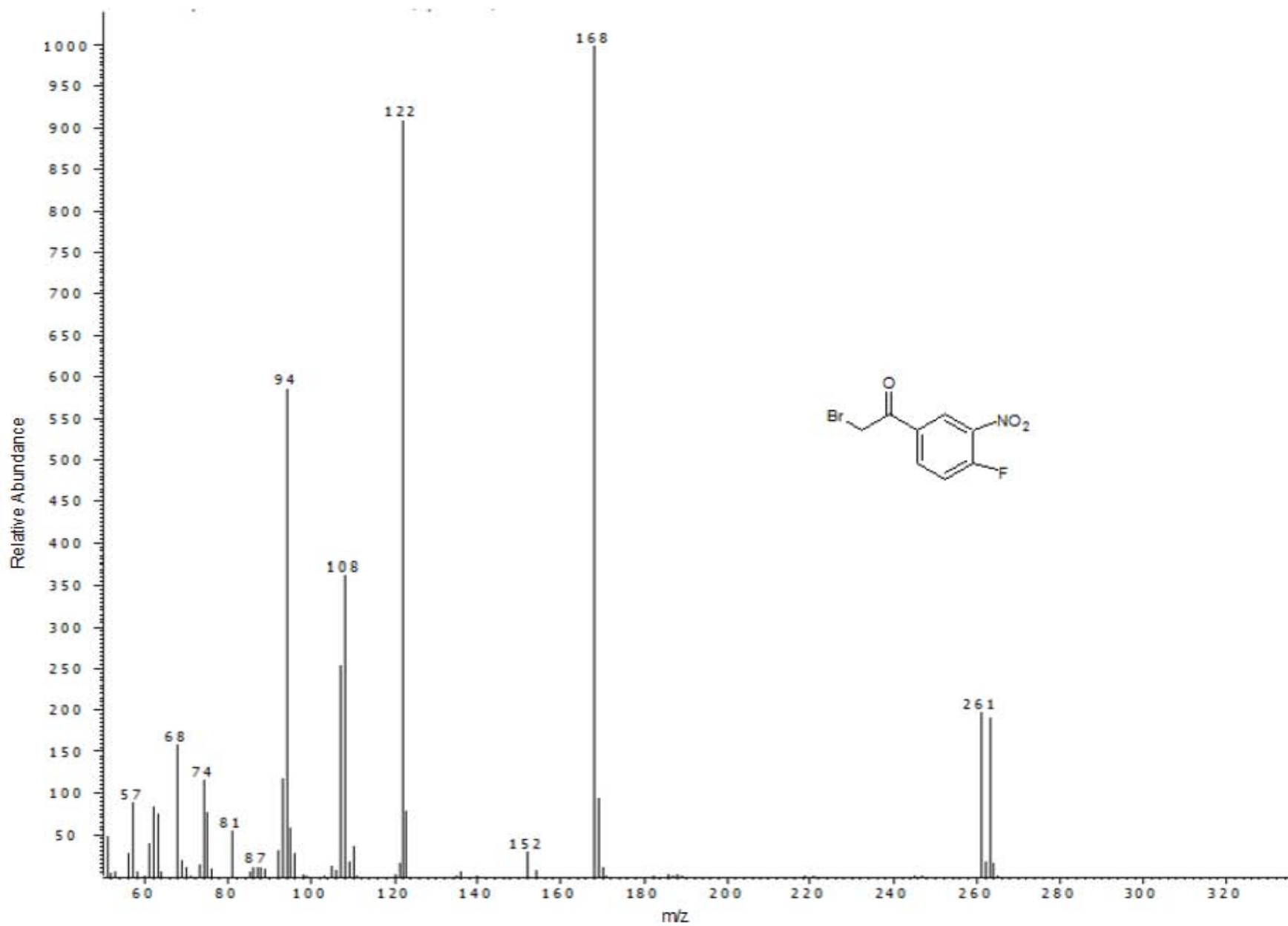
Espectro 31. EM (IE/ID: m/z) 6-(bromoacetyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NG-4.



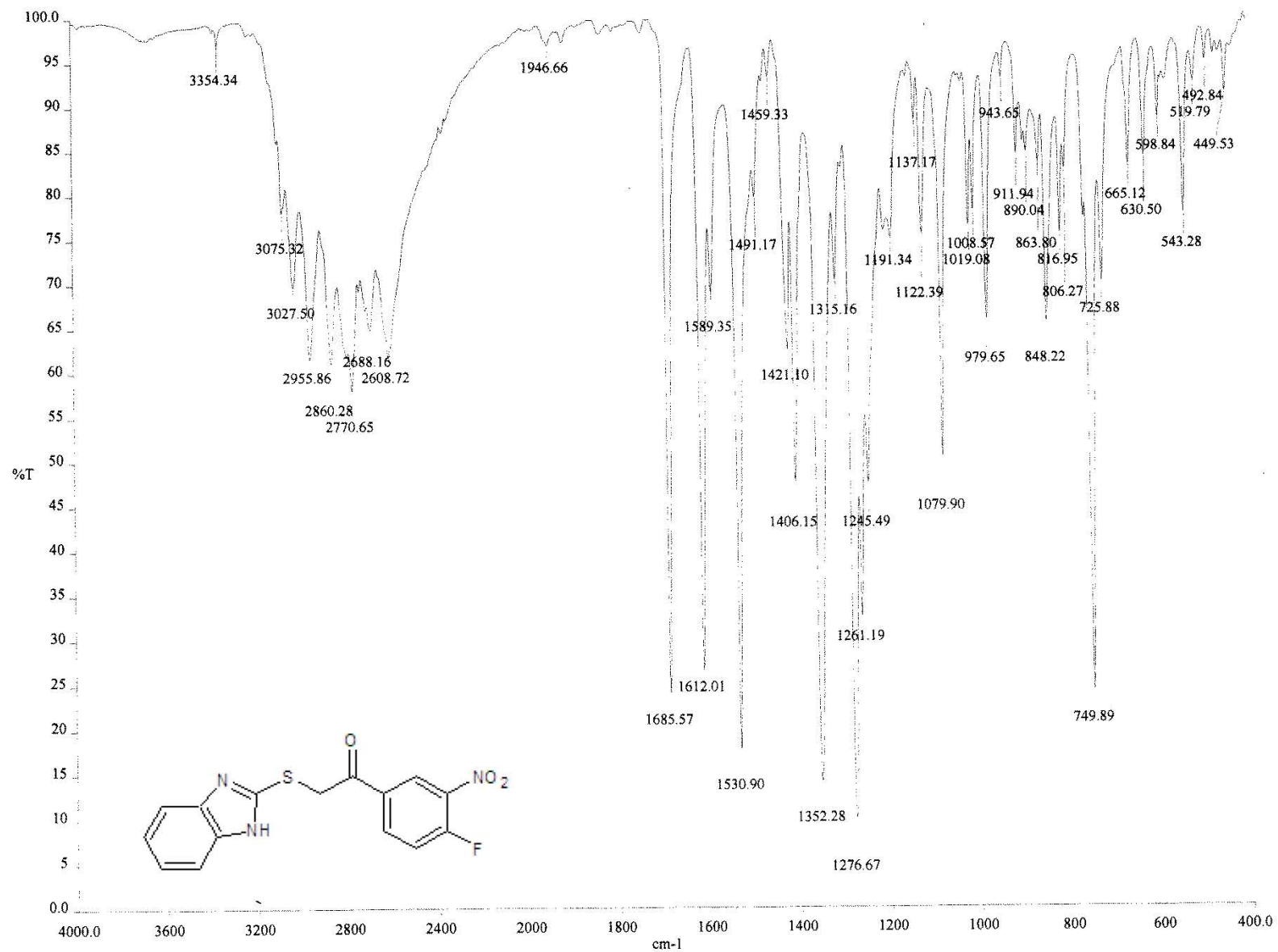
Espectro 32. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ 2-bromo-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 22.



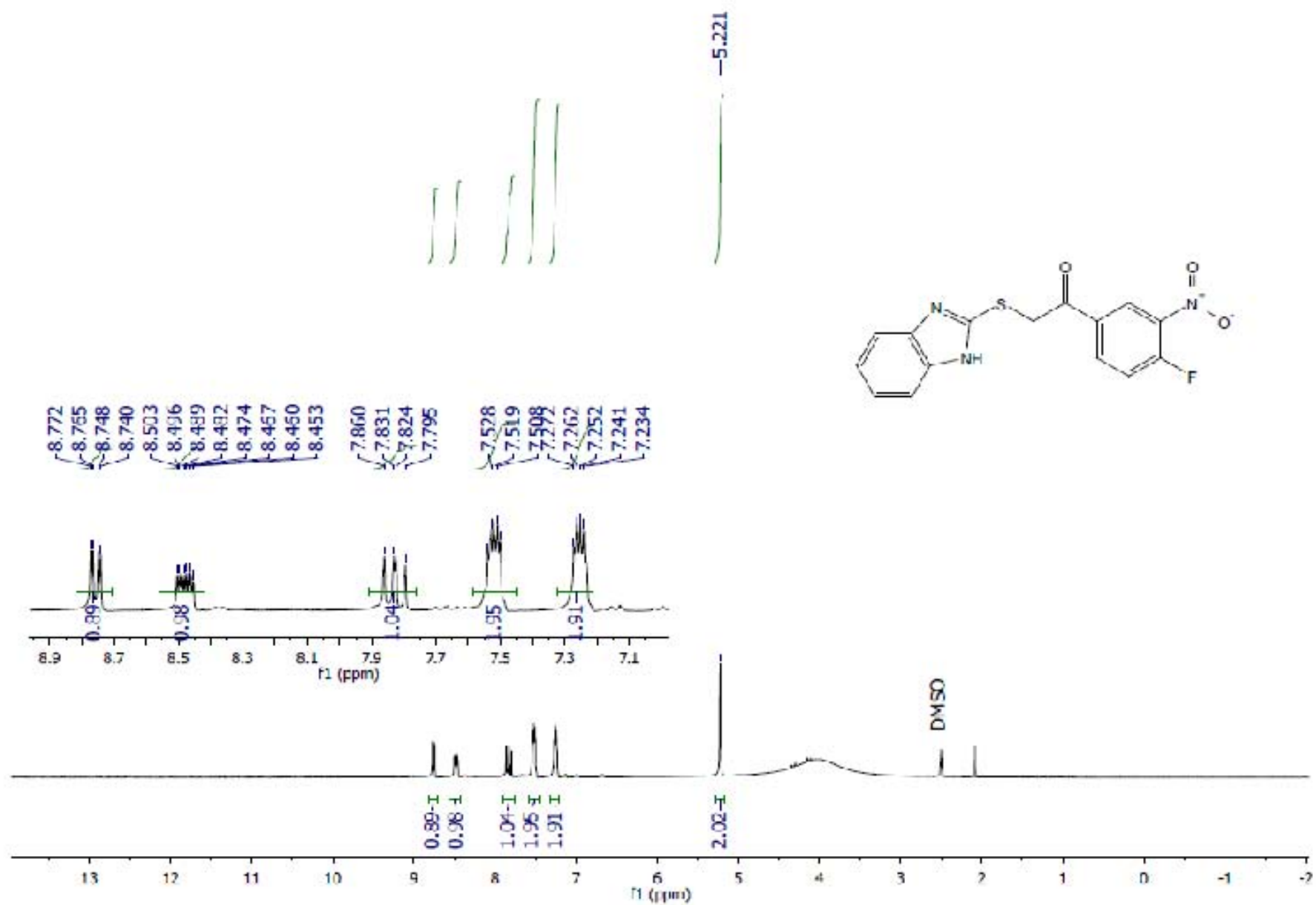
Espectro 33. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 2-bromo-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 22.



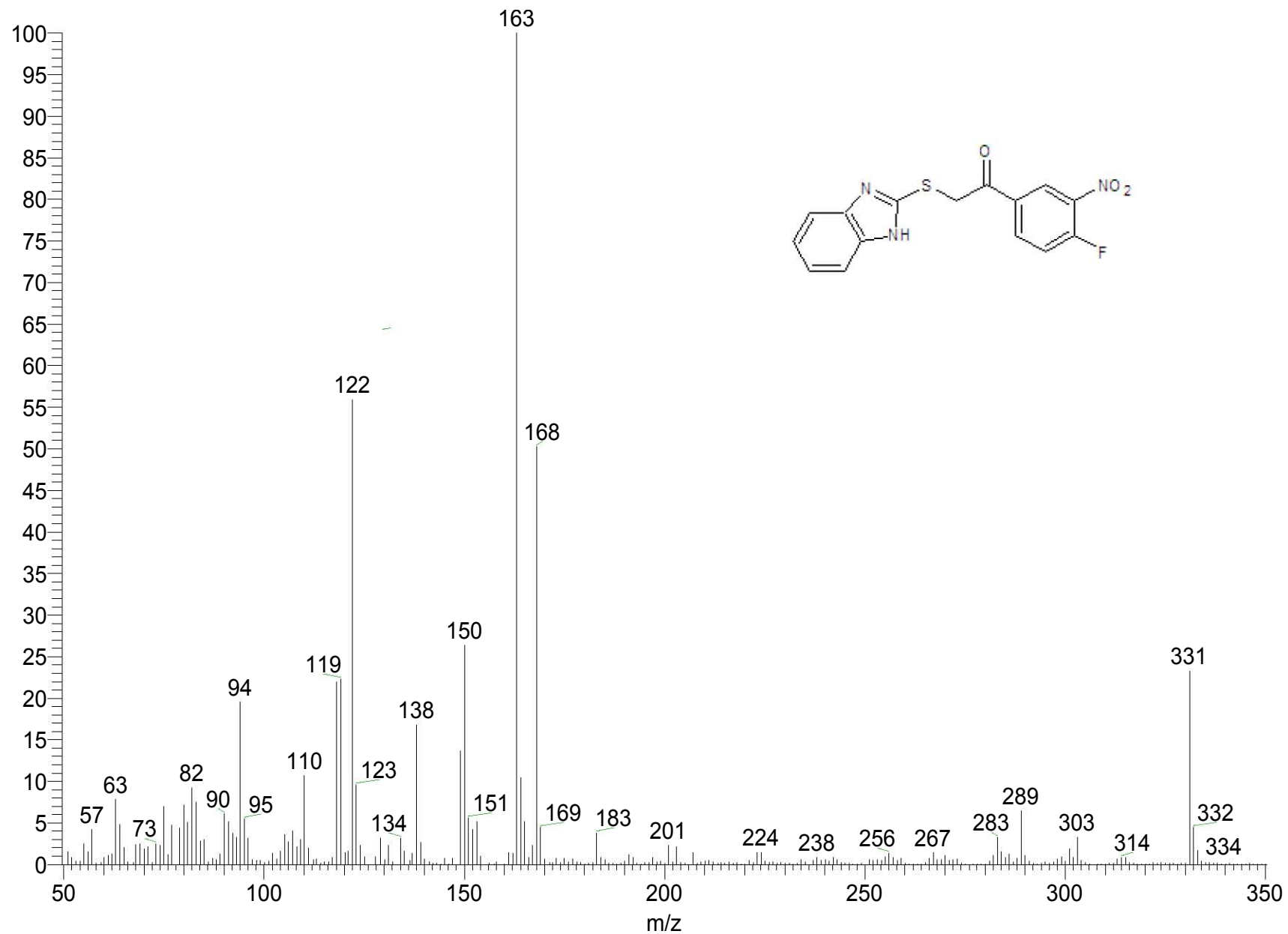
Espectro 34. EM (IE/ID; m/z) 2-bromo-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 22.



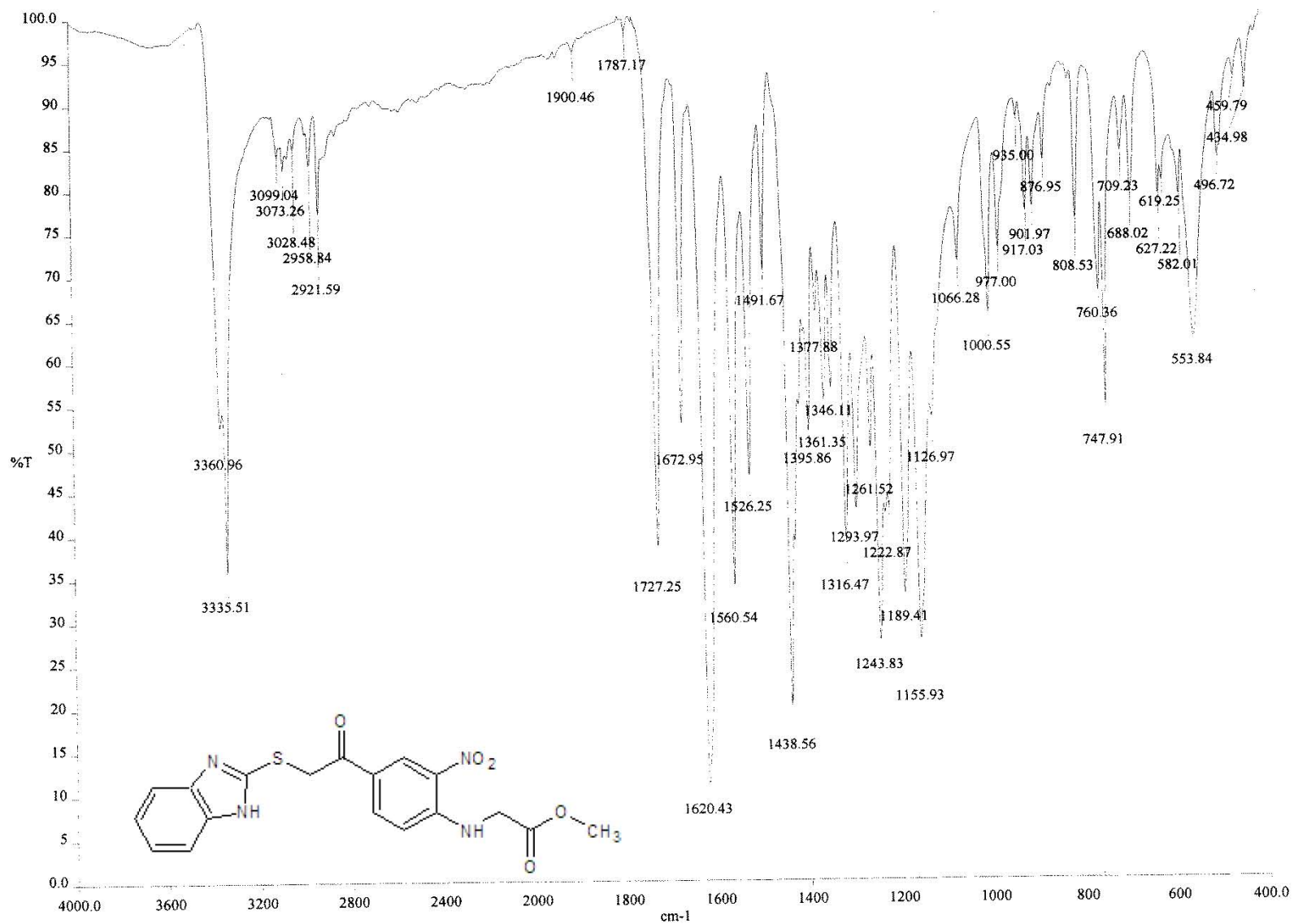
Espectro 35. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ 2-(1H-benzimidazol-2-ilsulfani)-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 23.



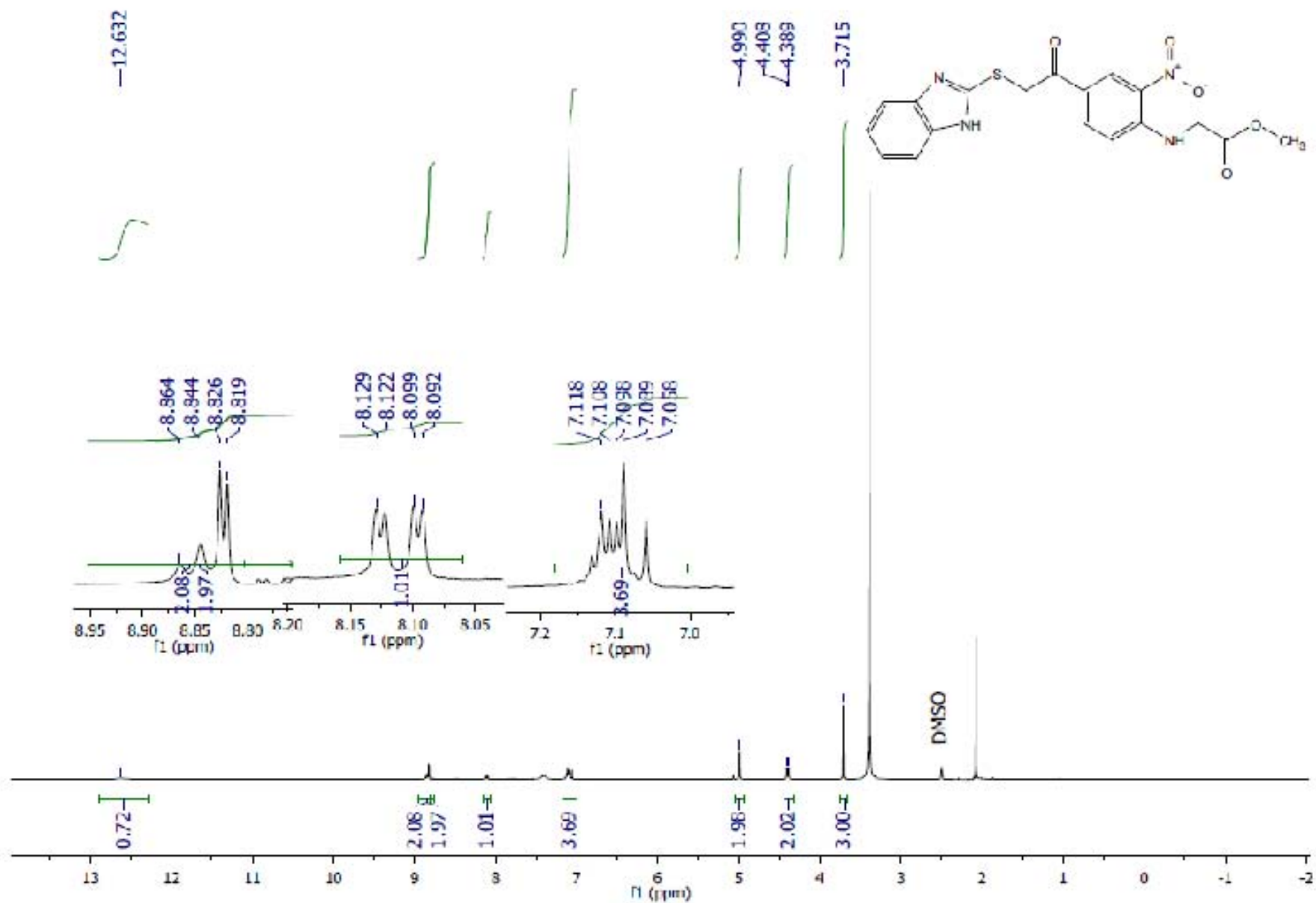
Espectro 36. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 2-(1*H*-benzimidazol-2-ilsulfanil)-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 23.



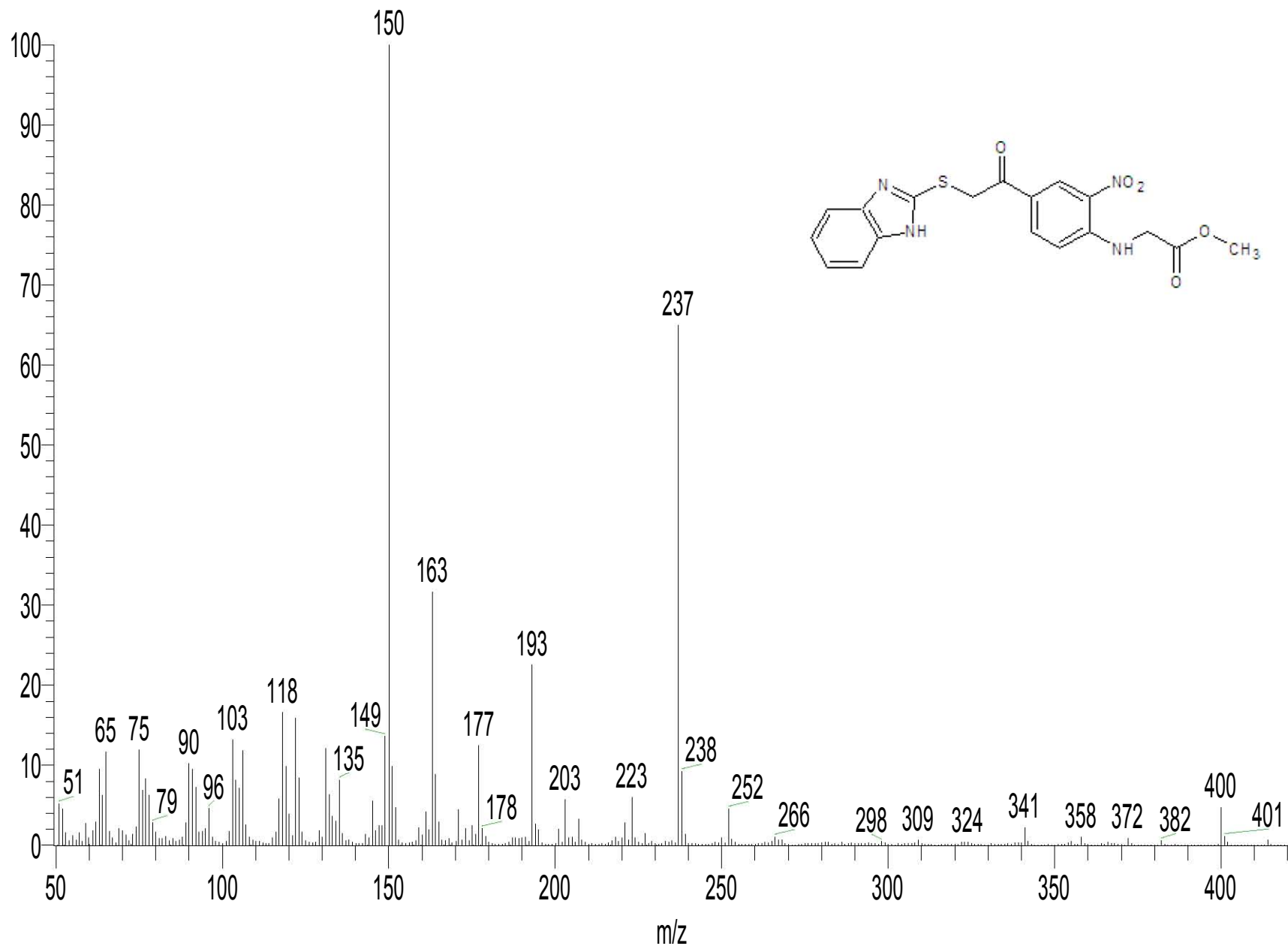
Espectro 37. EM: (IE/ID; m/z) 2-(1H-benzimidazol-2-ilsulfanil)-1-(4-fluoro-3-nitrofenil)etanona 23.



Espectro 38. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ metil(4-(1H-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil-2-nitrofenil)amino)acetato 24.

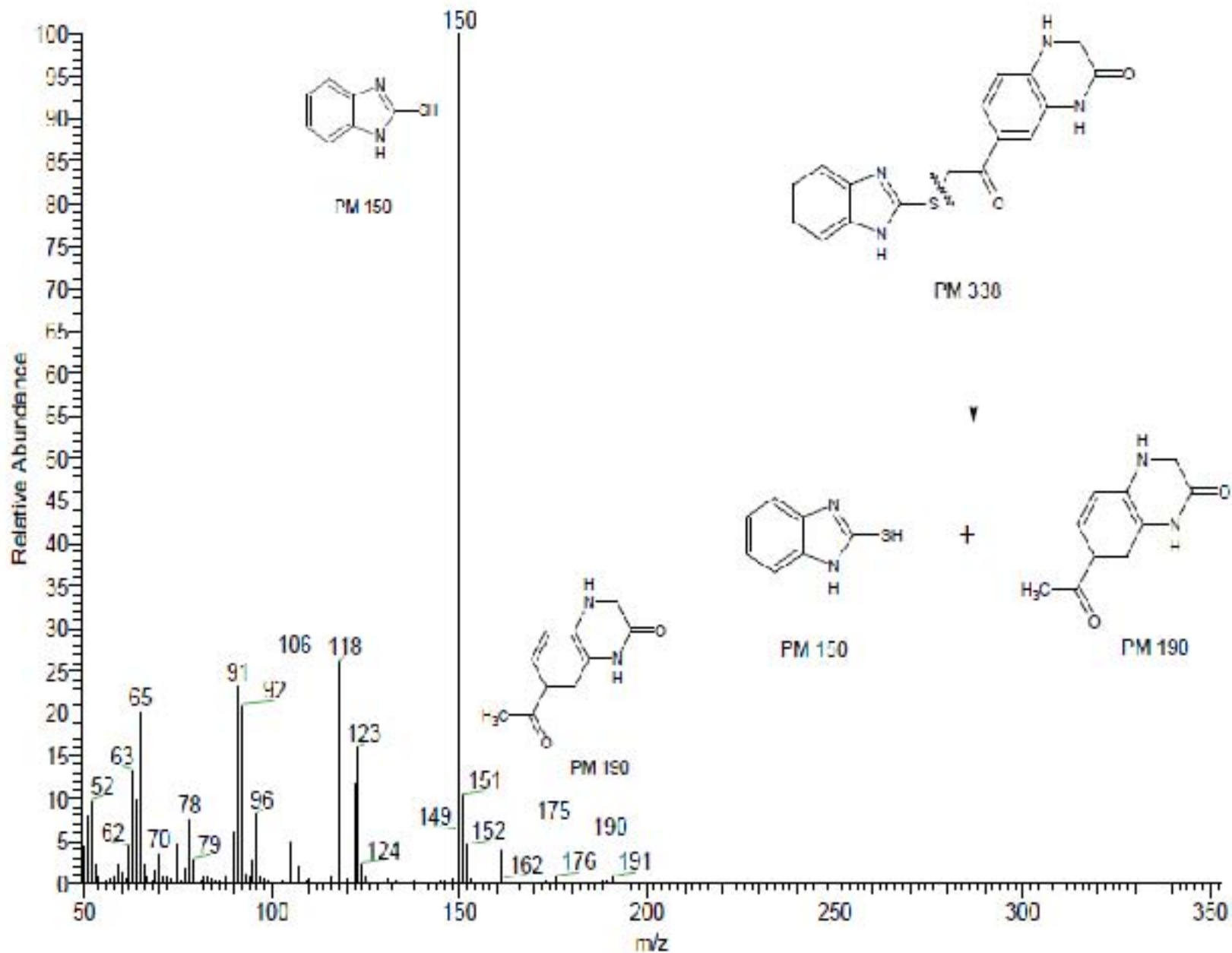


Espectro 39. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm metil({4-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2-nitrofenil}amino)acetato 24.

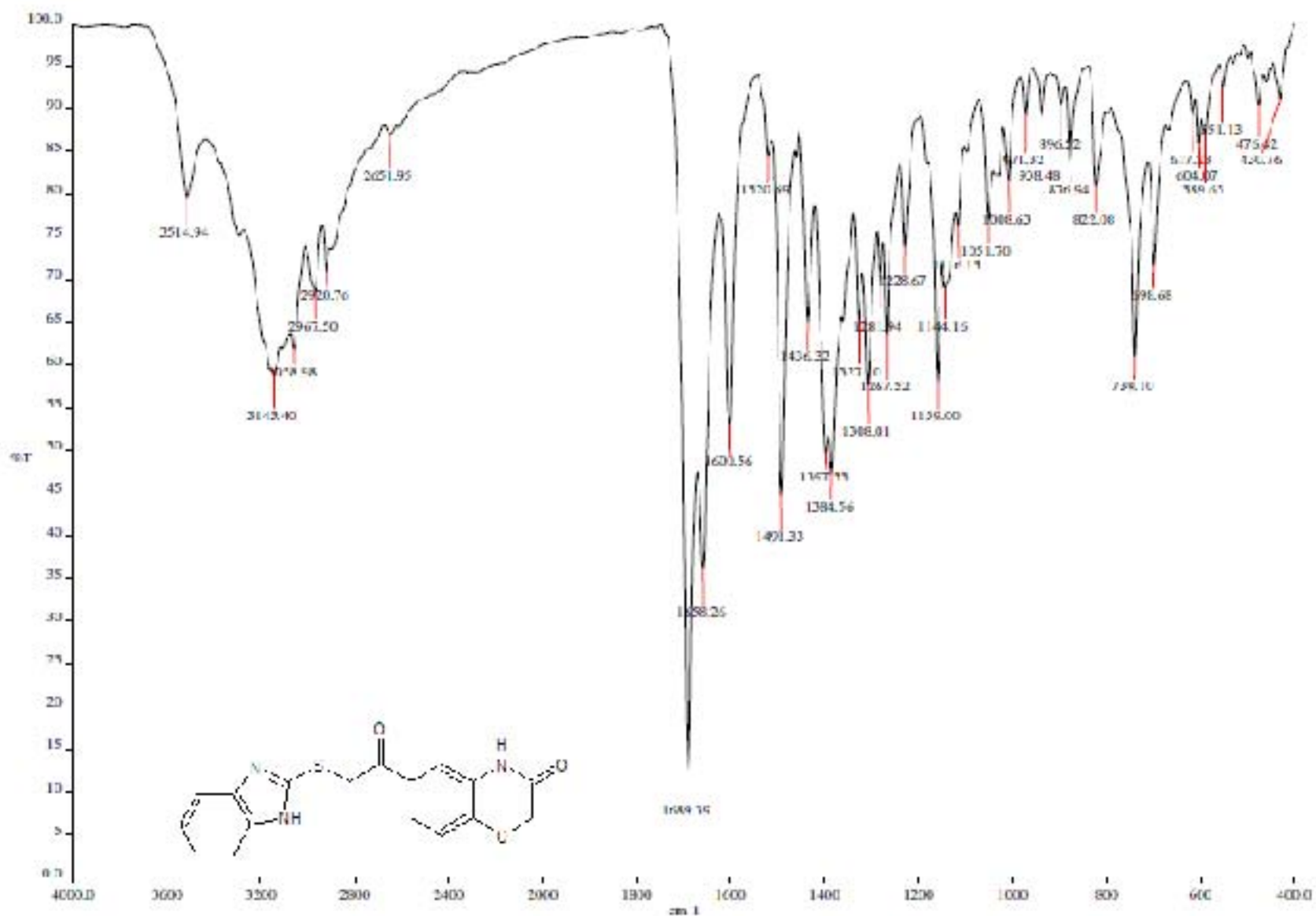


OT707 1/17 DT 0.00 MV 4 NL 0.1157

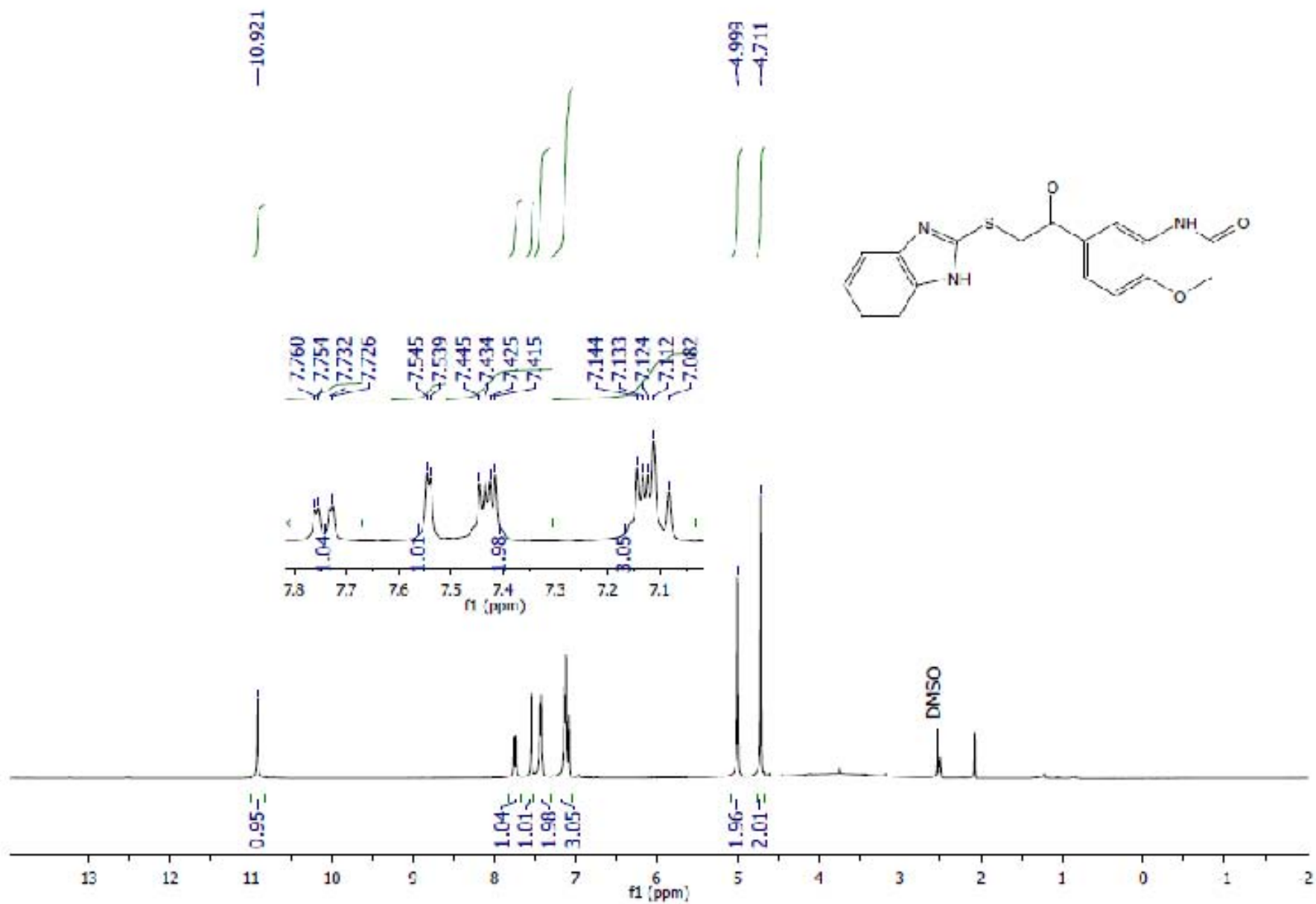
Espectro 40. EM (IE/ID; m/z) metil({4-[(1*H*-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2-nitrofenil}amino)acetato **24.**



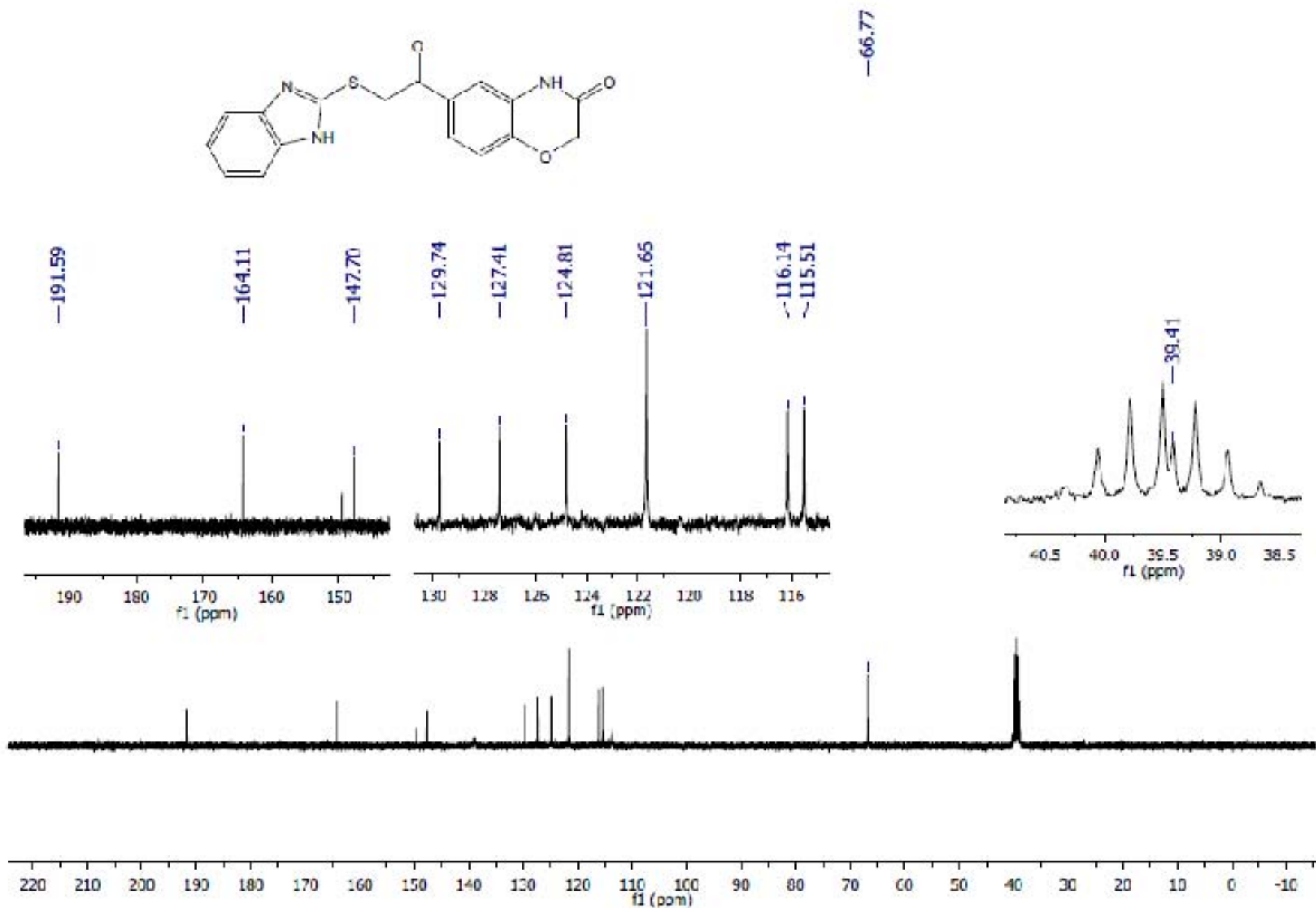
Espectro 41. EM (IE/ID; m/z) 7-[(1H-bencimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-3,4-dihidroquinoxalin-2(1H)-ona NIGB-1.



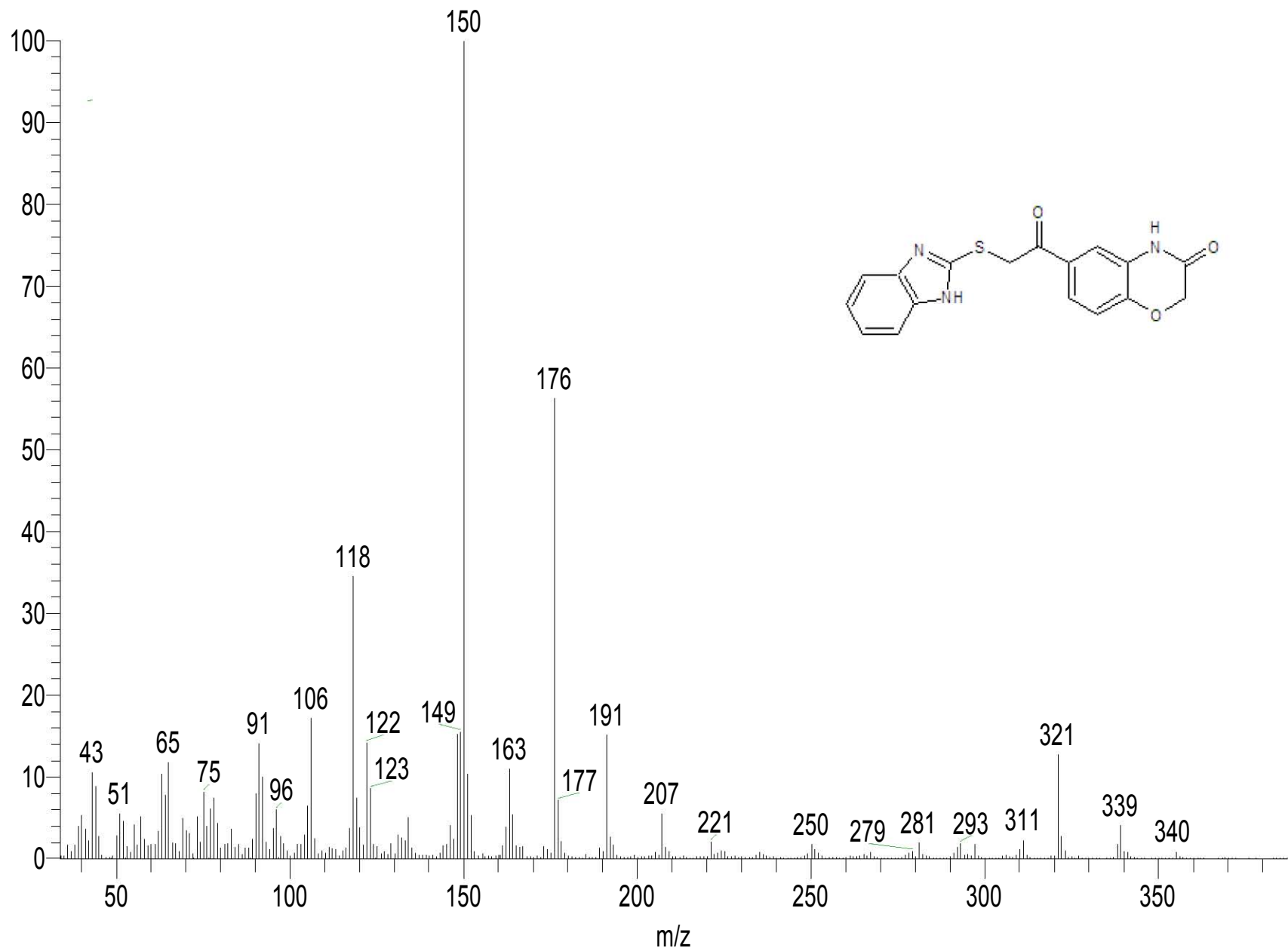
Espectro 42. IR Pastilla (KBr) cm^{-1} 6-[(1H-benzimidazol-2-ilsulfani)acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-2.



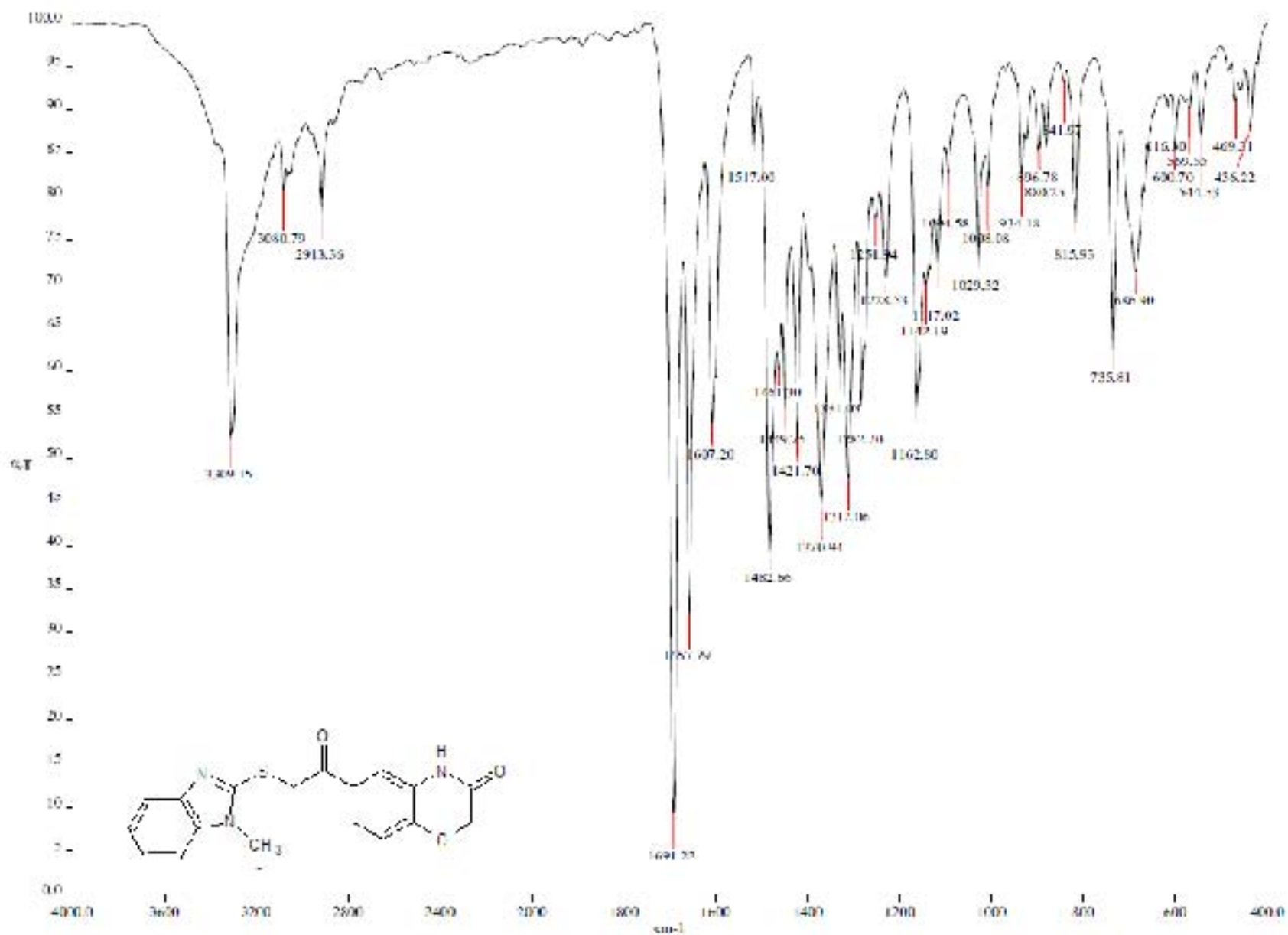
Espectro 43. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[(1H-benzimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-2.



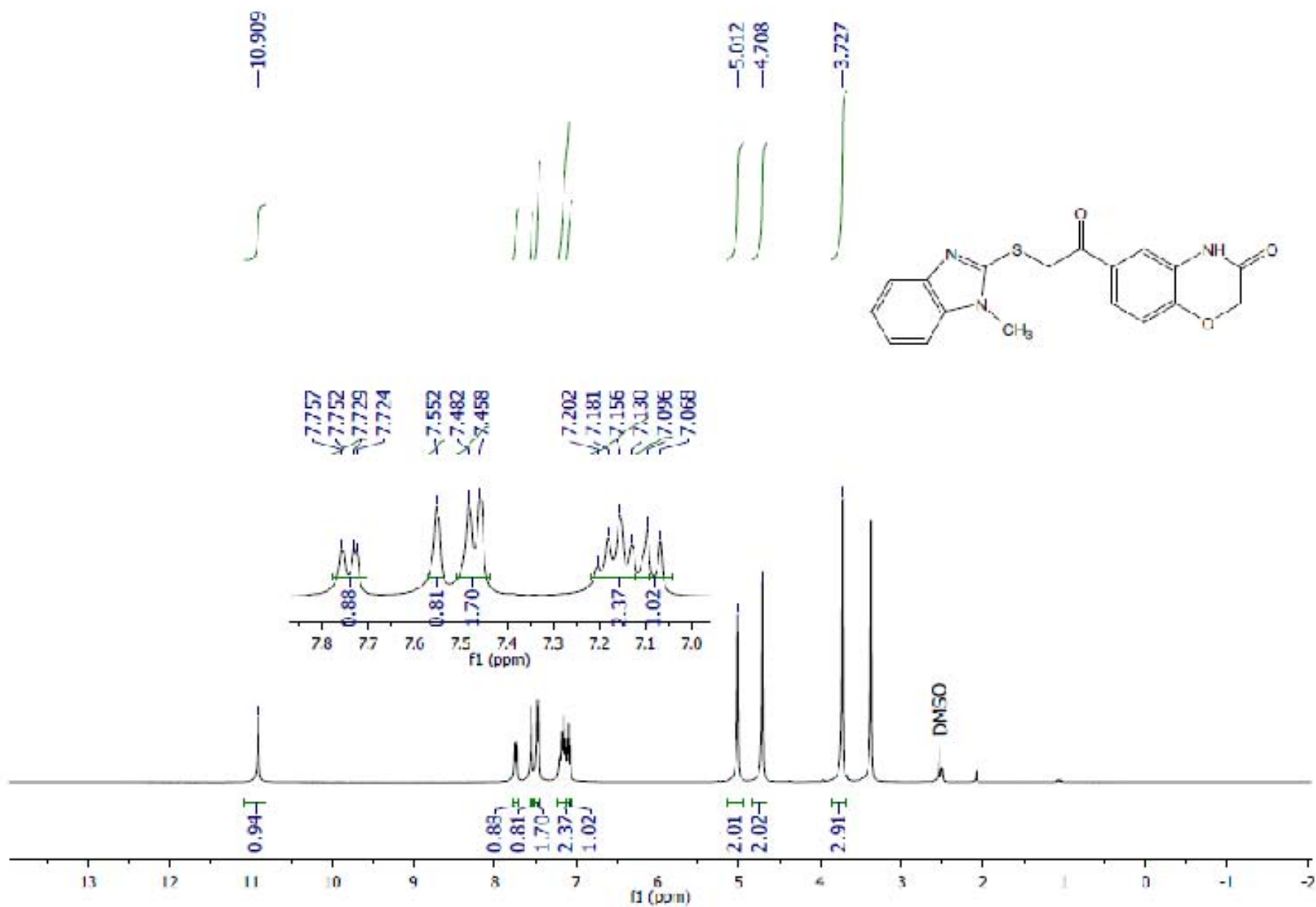
Espectro 43. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[(1H-benzimidazol-2-ilsulfanil)acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-2.



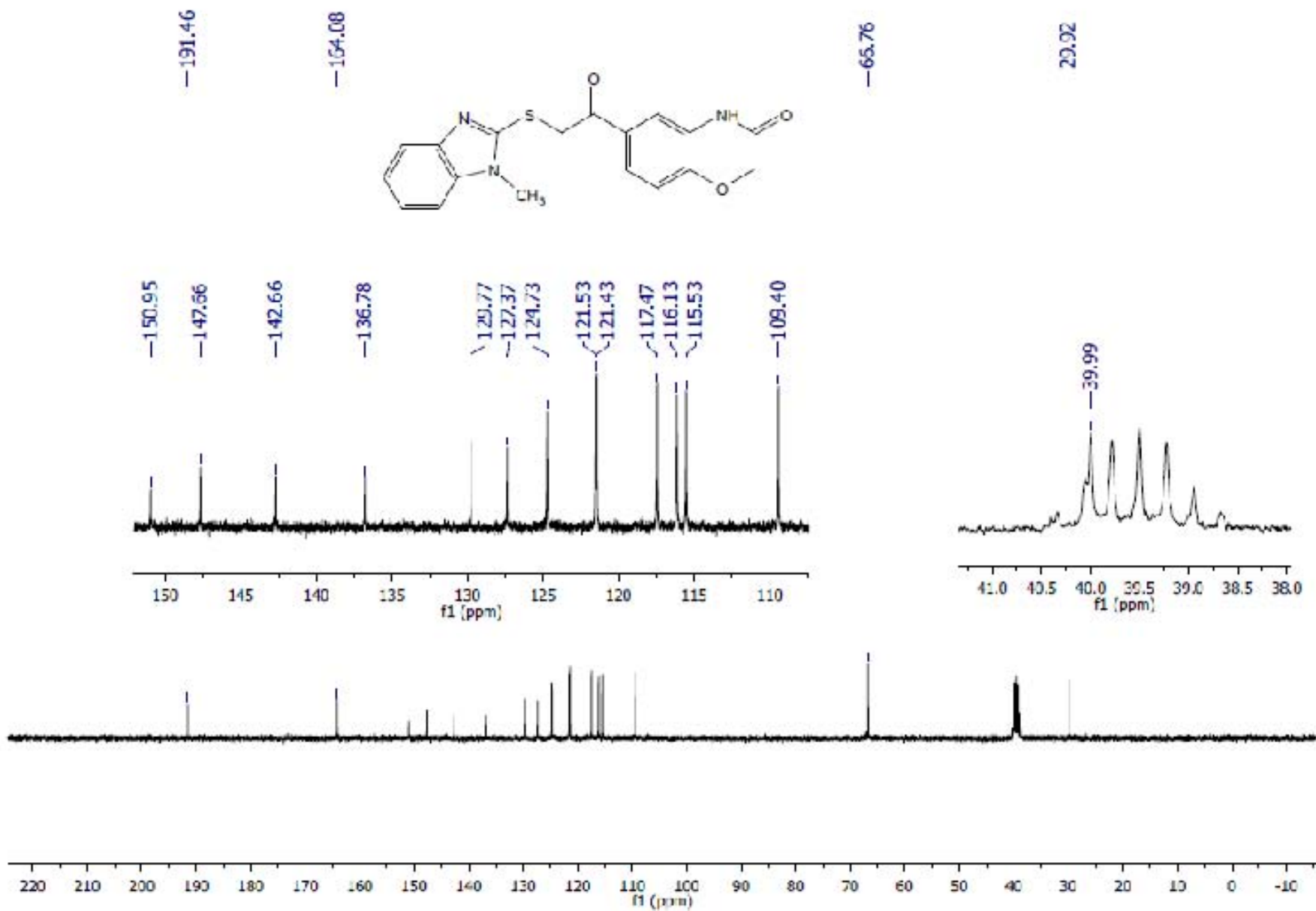
Espectro 45. EM (IE/ID; m/z) 6-[(1H-benzimidazol-2-ilsulfanil) acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-2.



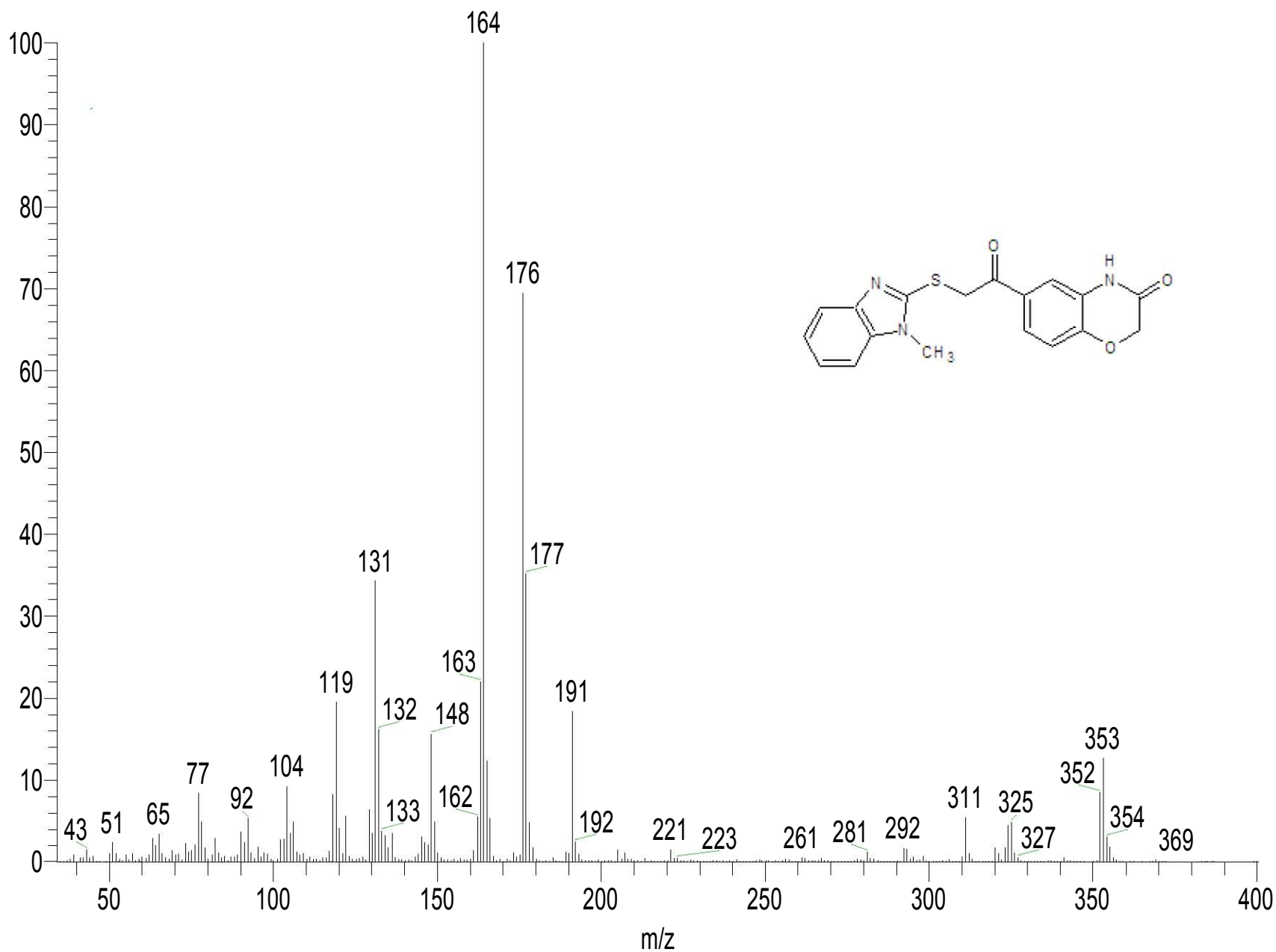
Espectro 46. IR Pastilla (KBr) cm^{-1} 6-[[1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-3.



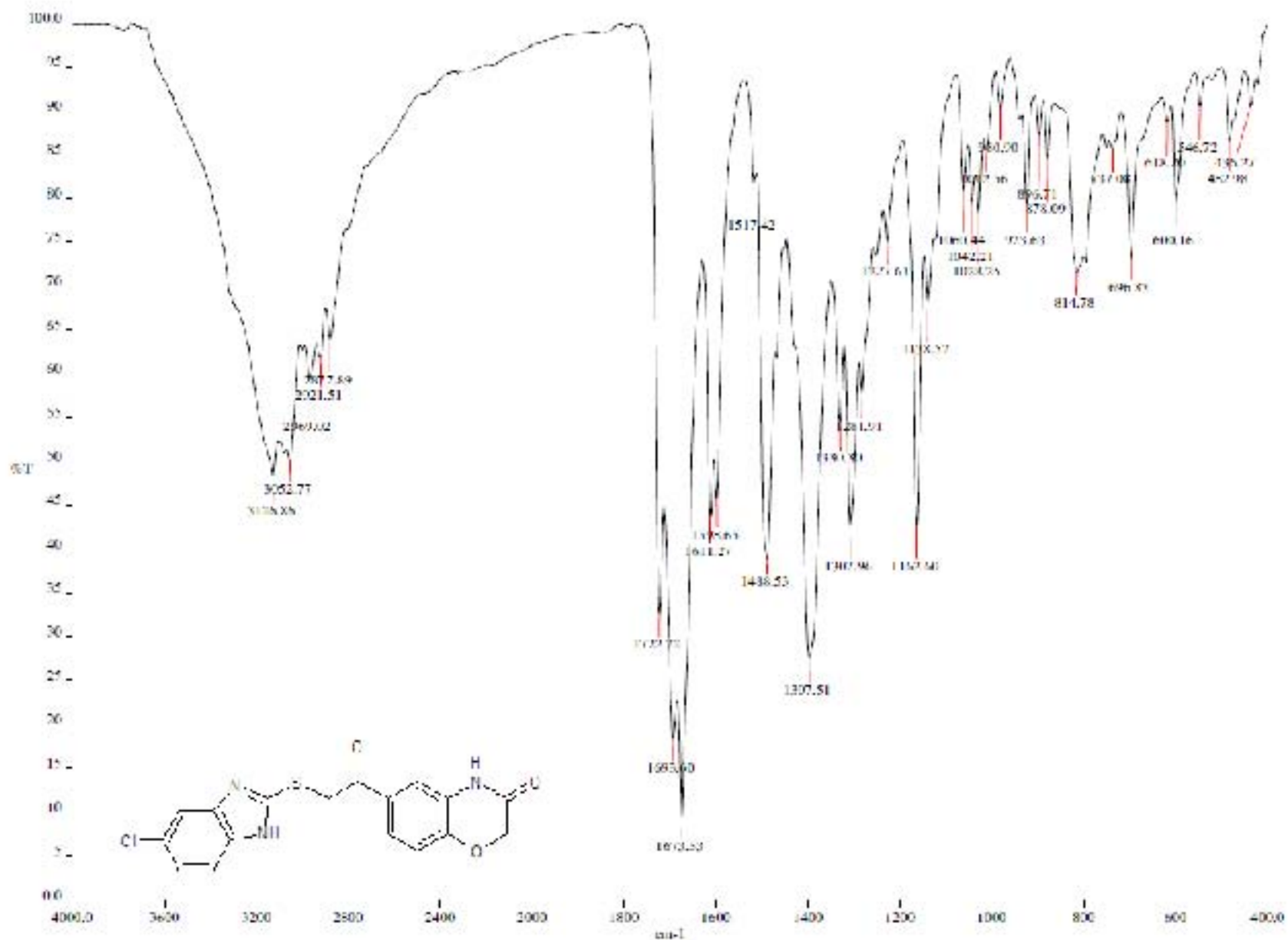
Espectro 47. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[1-(1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-3.



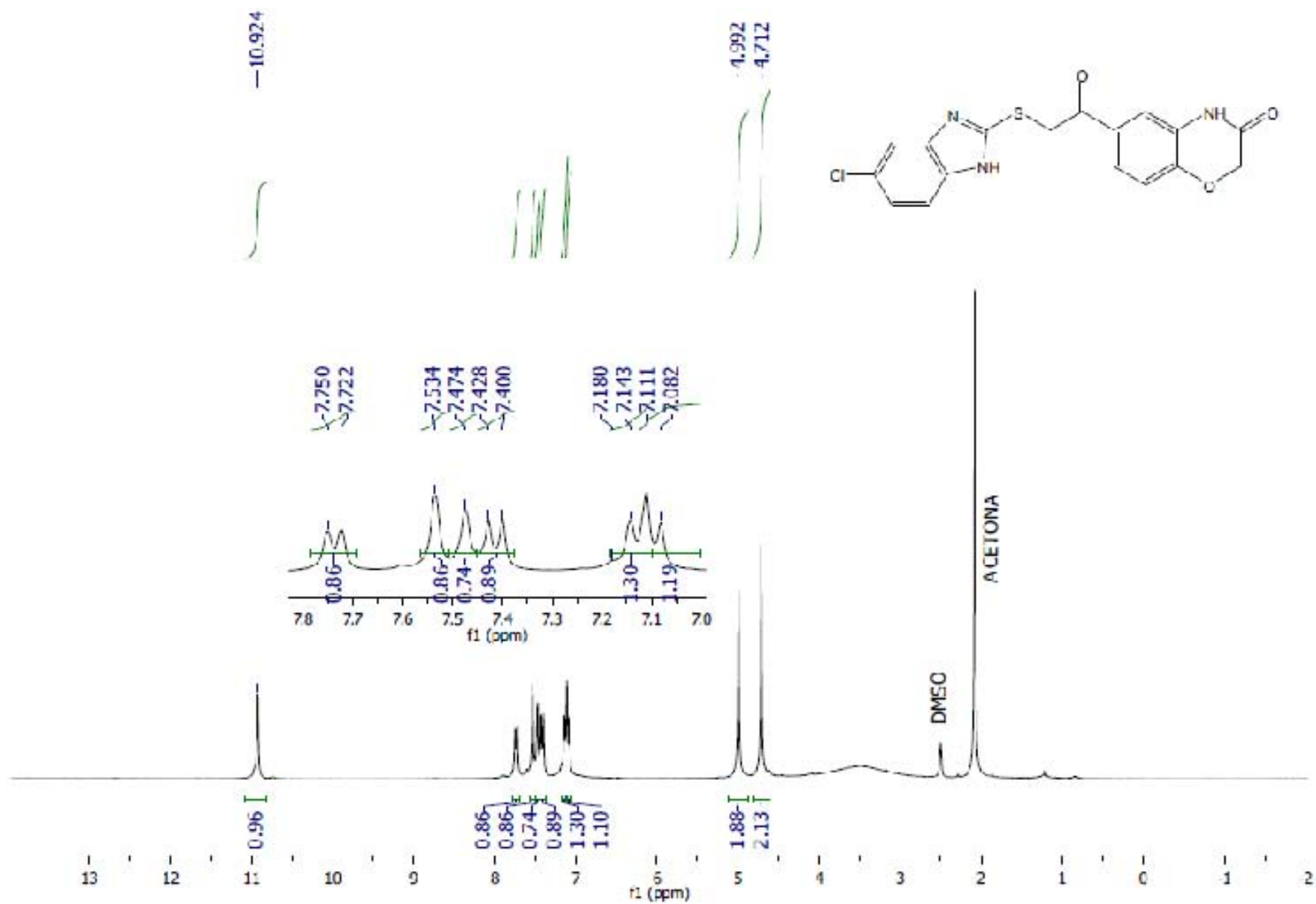
Espectro 48, RMN¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-3.



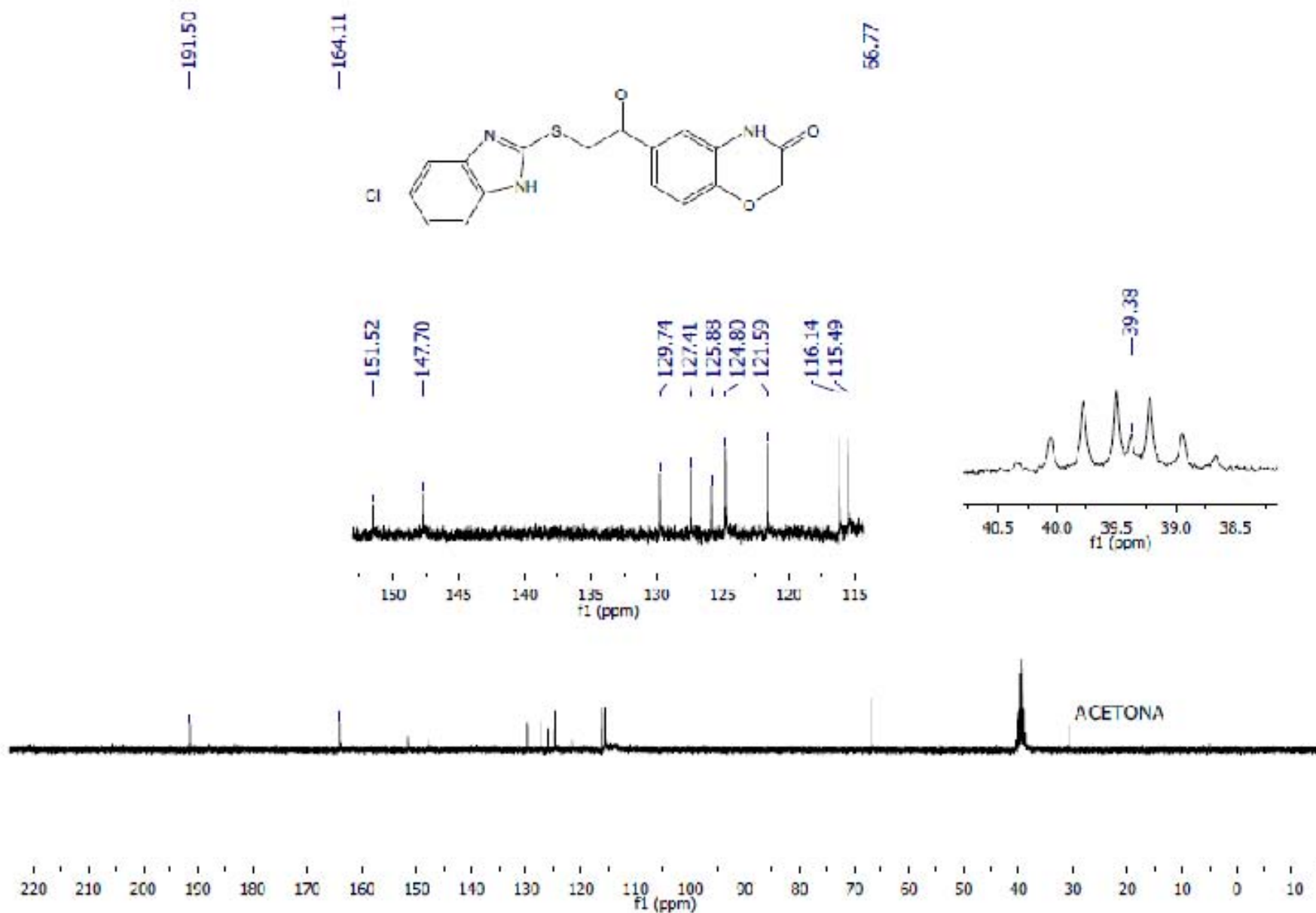
Espectro 49. EM (IE/ID; m/z) 6-[[1-(1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-3.



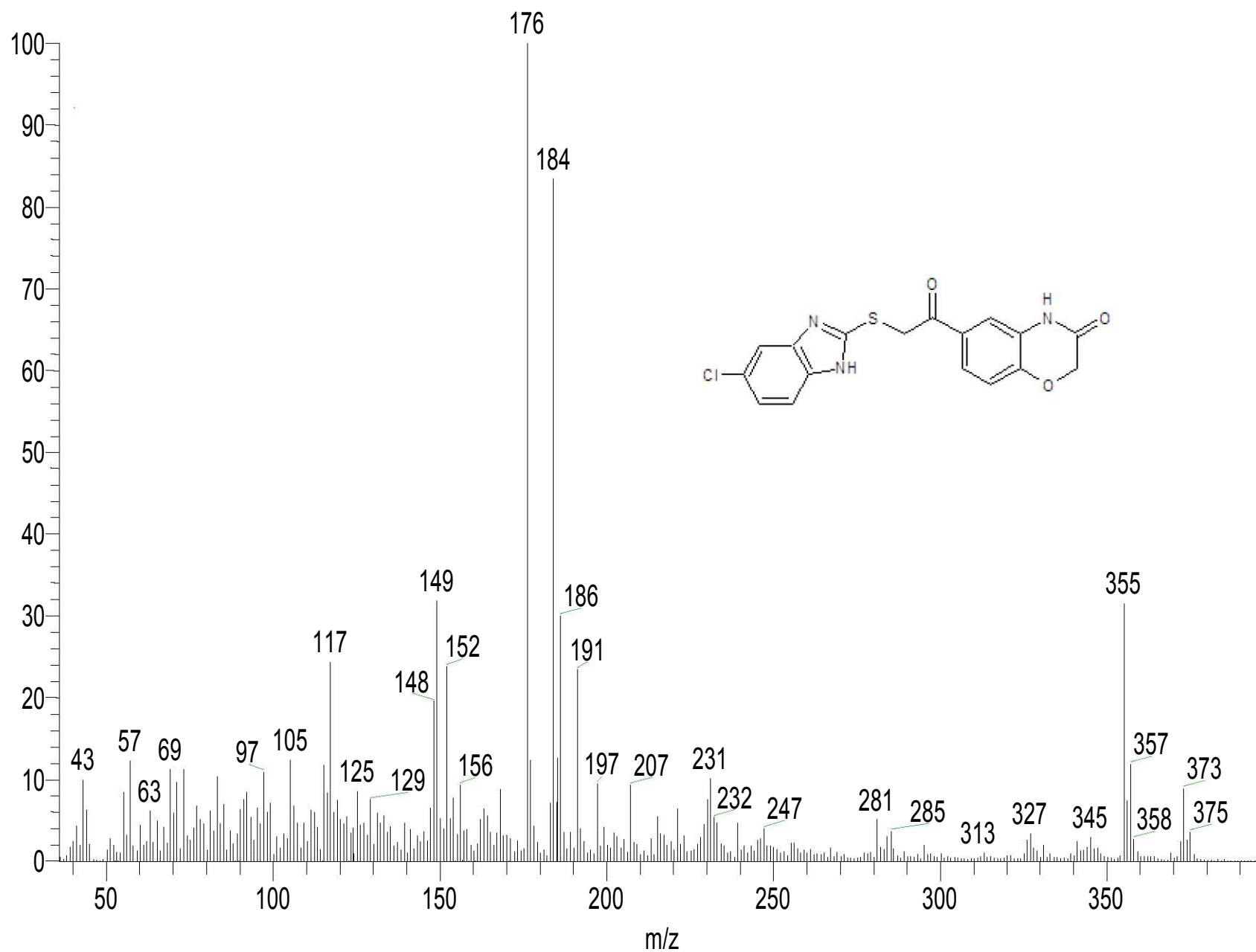
Espectro 50. IR Pastilla (KBr) cm^{-1} 6-[[[5-cloro-1H-bencimidazol-2-il]sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-4.



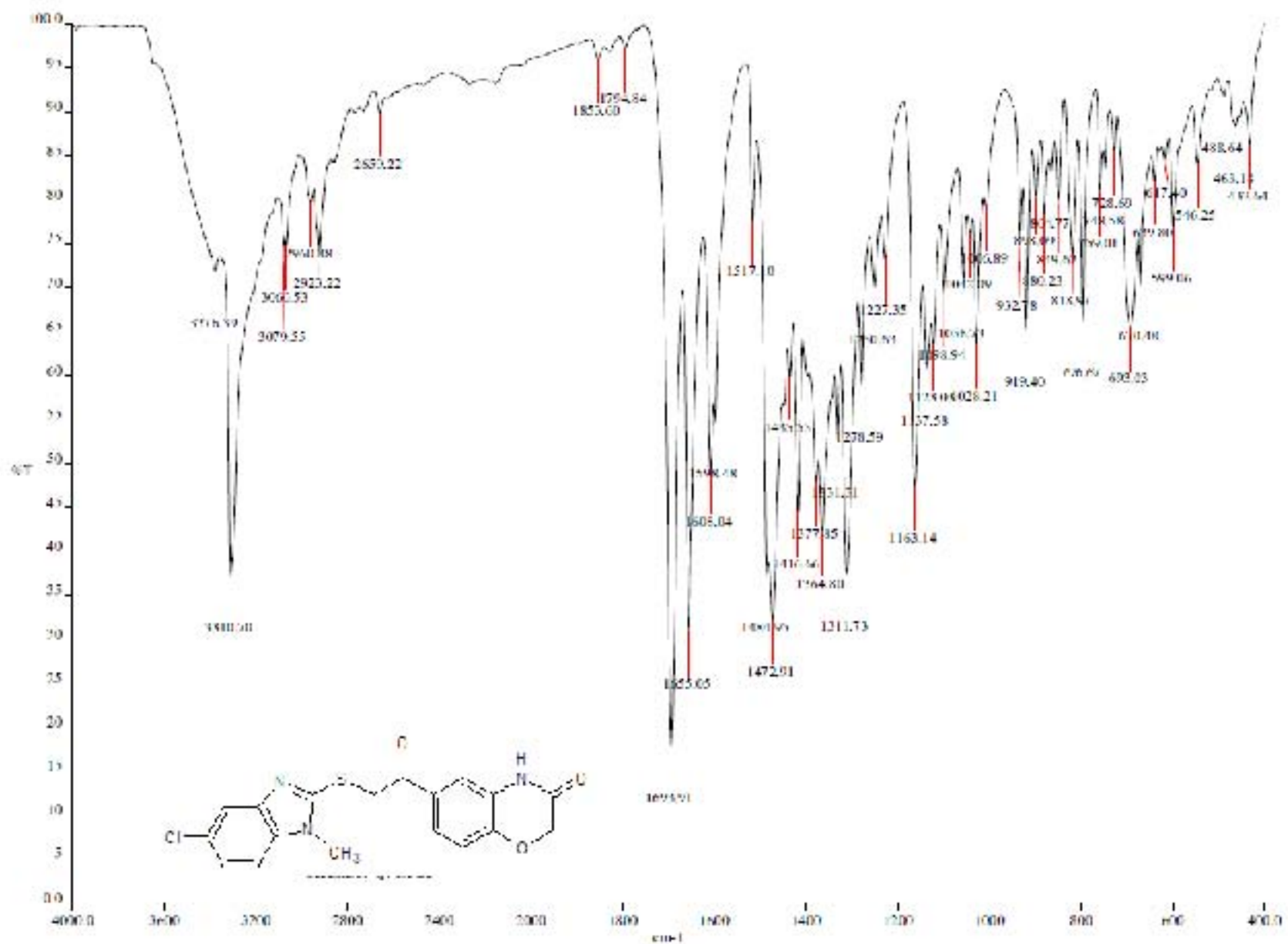
Espectro 51. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[5-cloro-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-4.



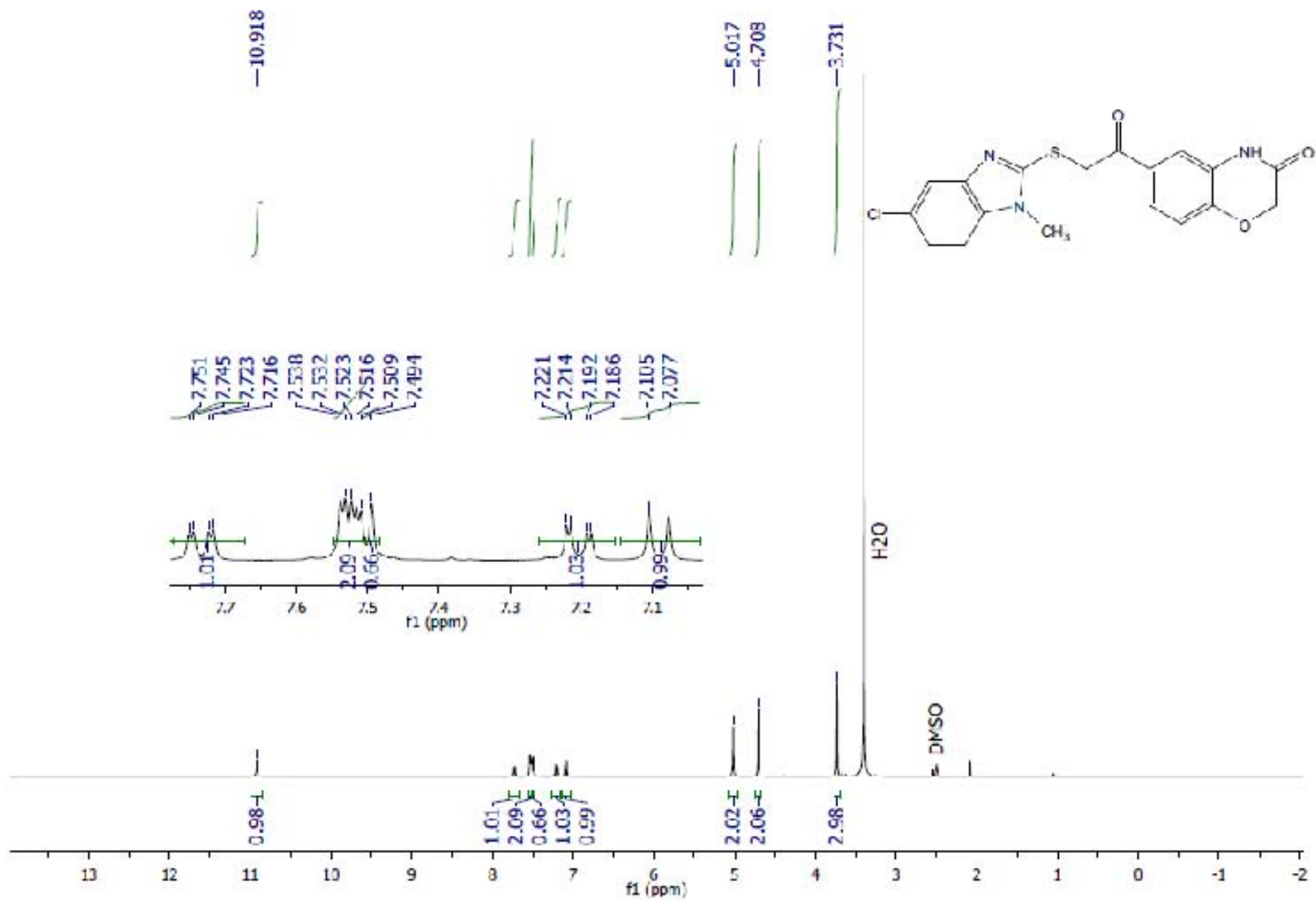
Espectro 52. RMN¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[(5-cloro-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-4.



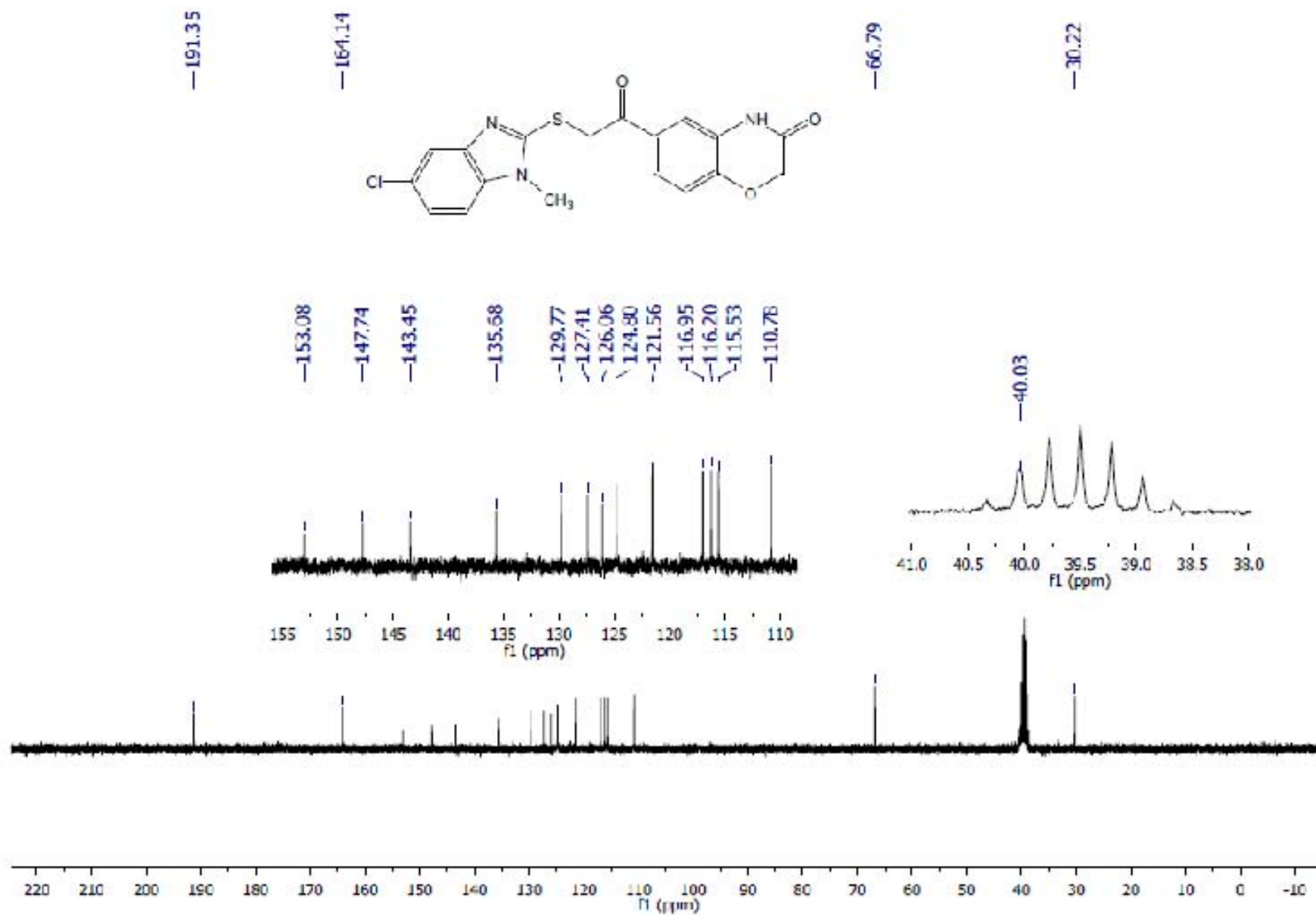
Espectro 53. EM (IE/ID; m/z) 6-[[5-cloro-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-4.



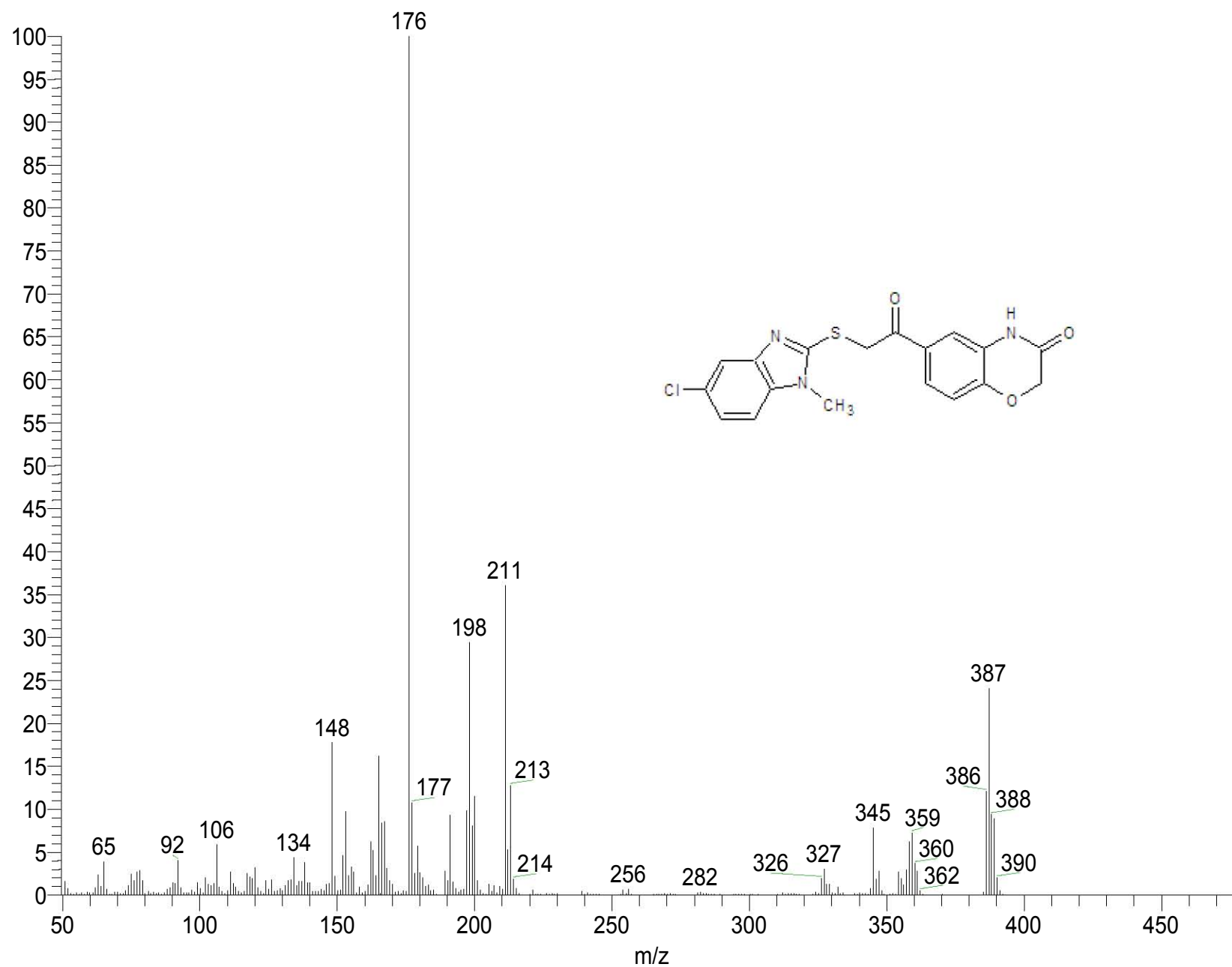
Espectro 54. IR Pastilla (KBr) cm⁻¹ 6-[[5-(5-cloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanii]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-5.



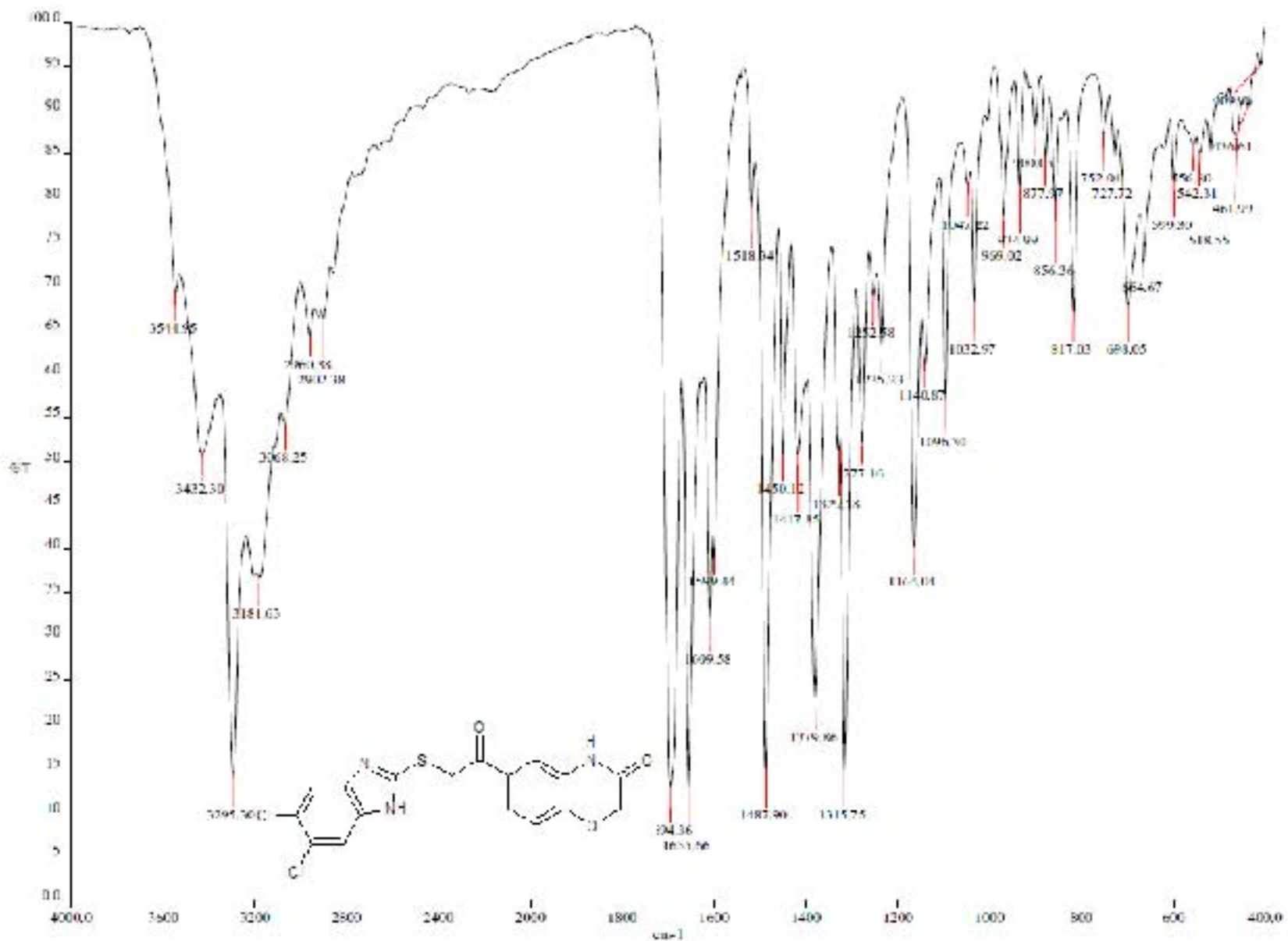
Espectro 55. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[5-cloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-5.



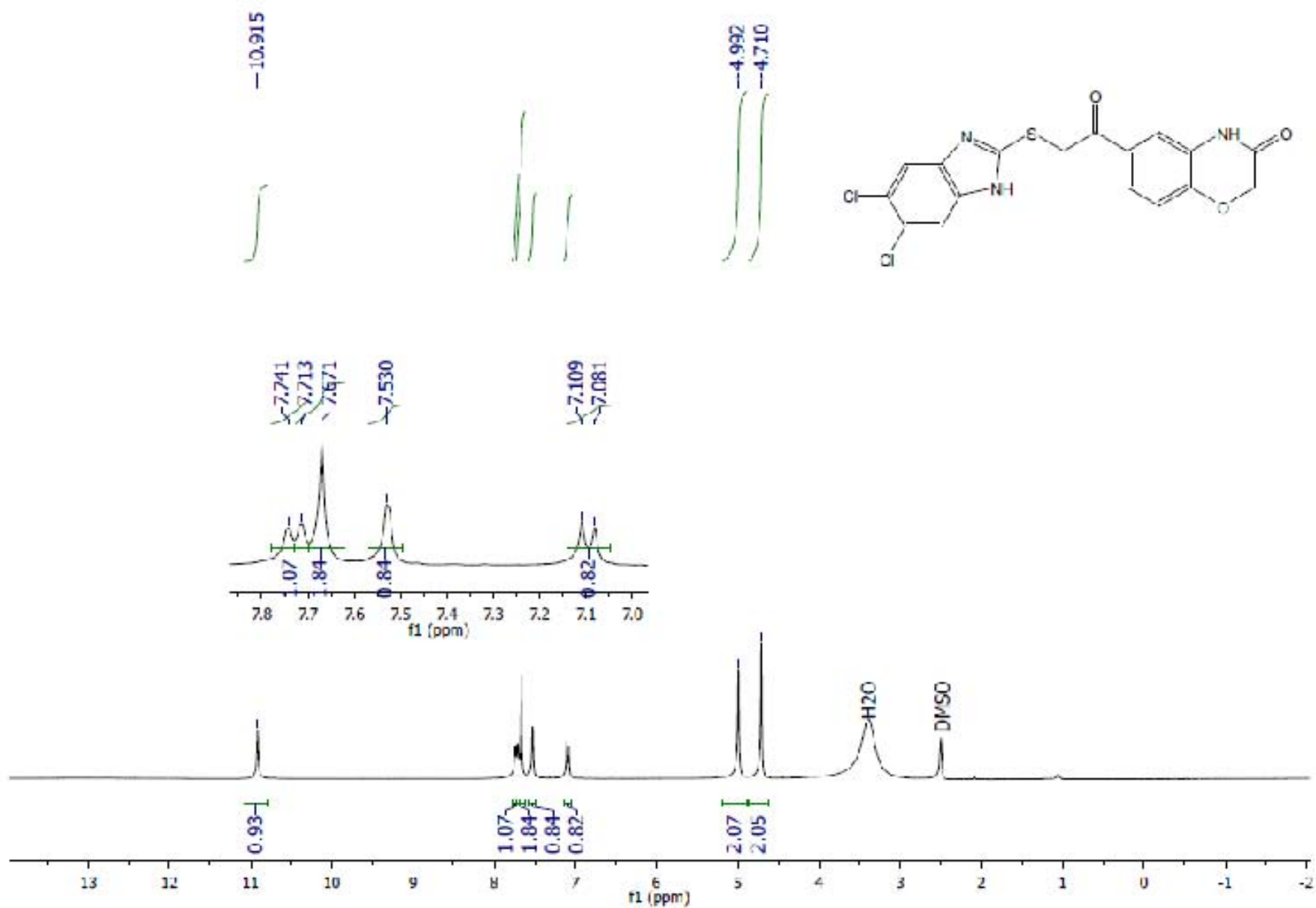
Espectro 56. RMN¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[5-cloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-5.



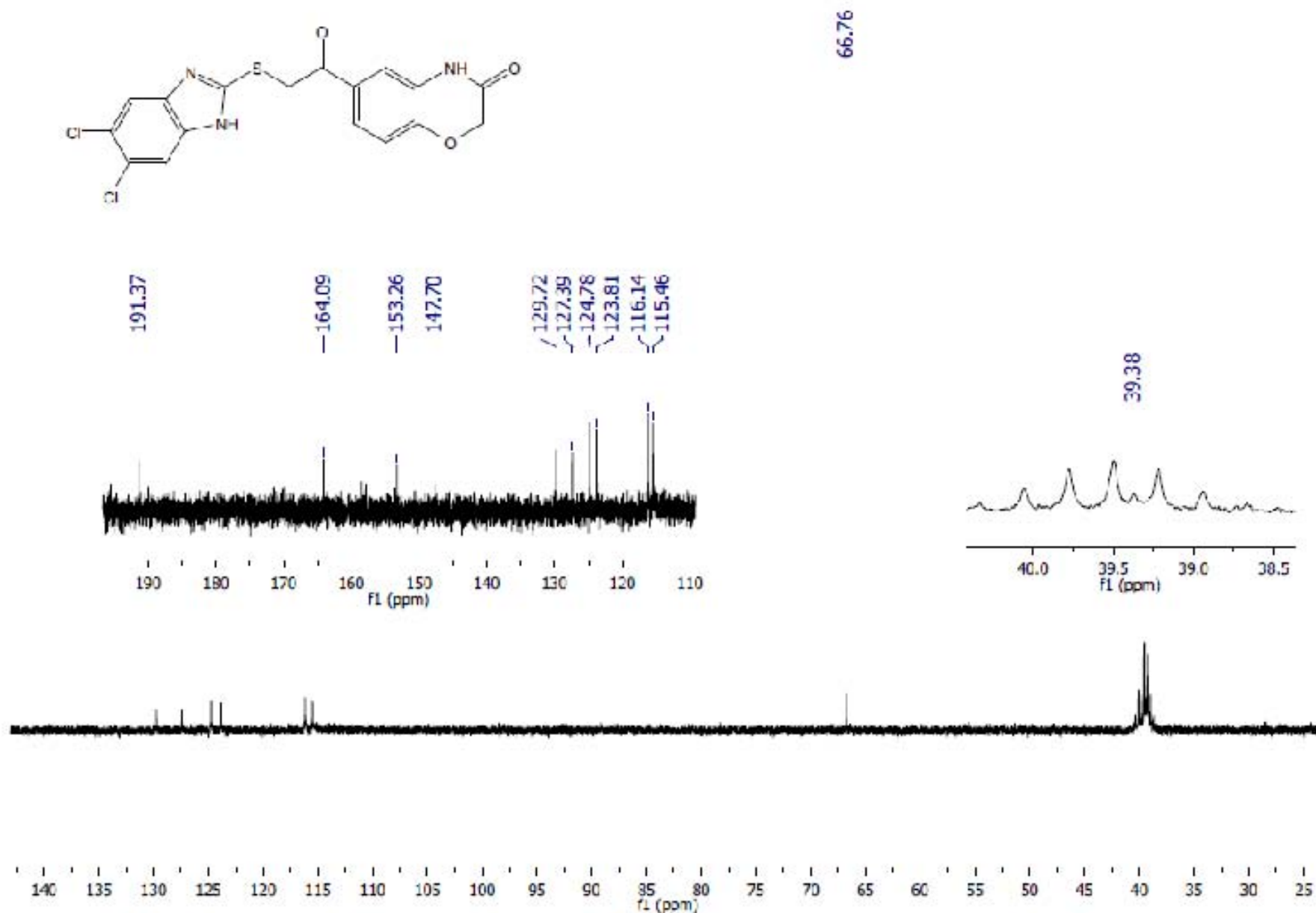
Espectro 57. EM (IE/ID; m/z) 6-[[[5-cloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il]sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-5.



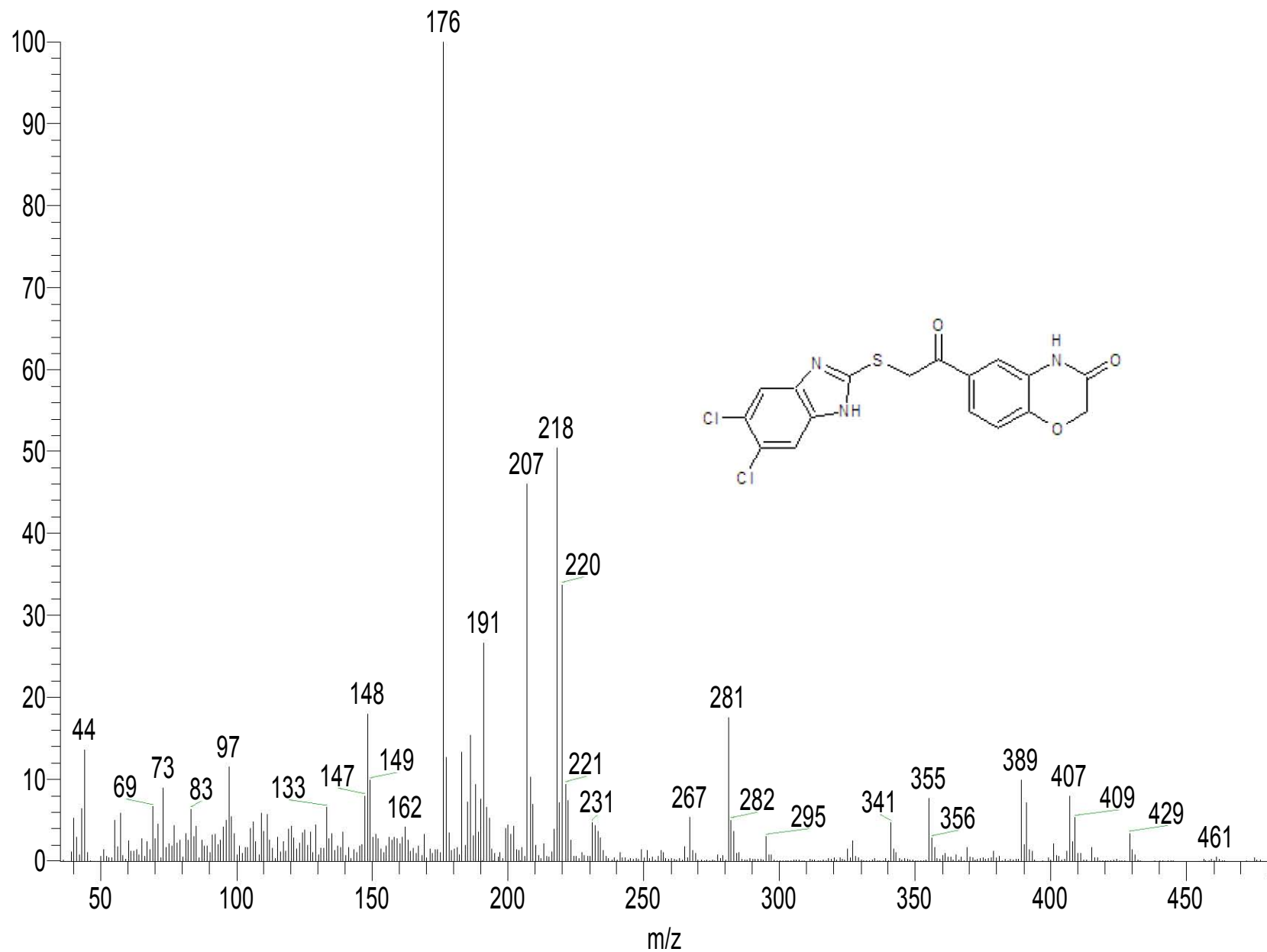
Espectro 58. IR Pastilla (KBr) cm^{-1} 6-[[5,6-dicloro-1H-benzimidazol-2-il]sulfani]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-6.



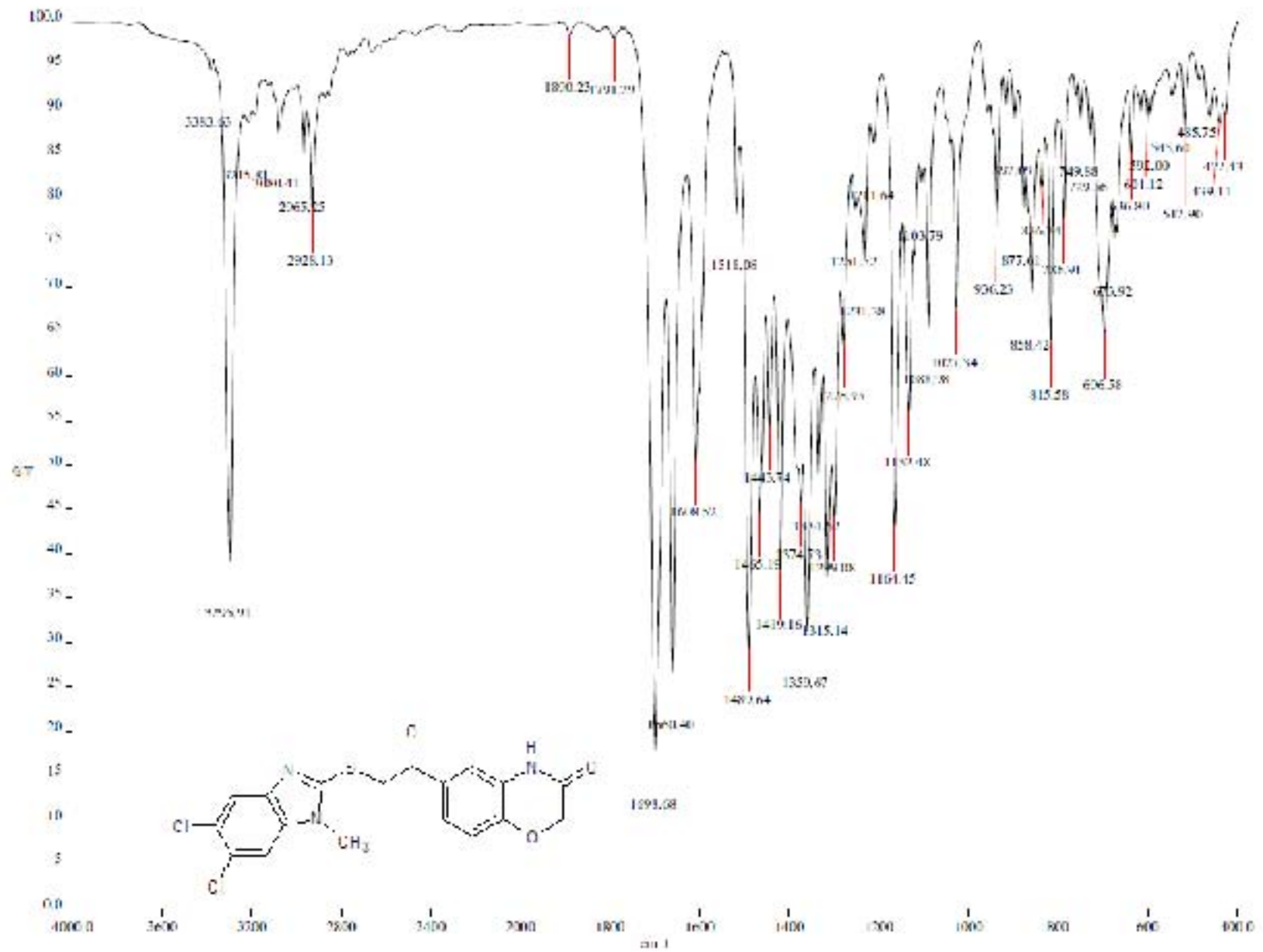
Espectro 59. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[5,6-dicloro-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-6.



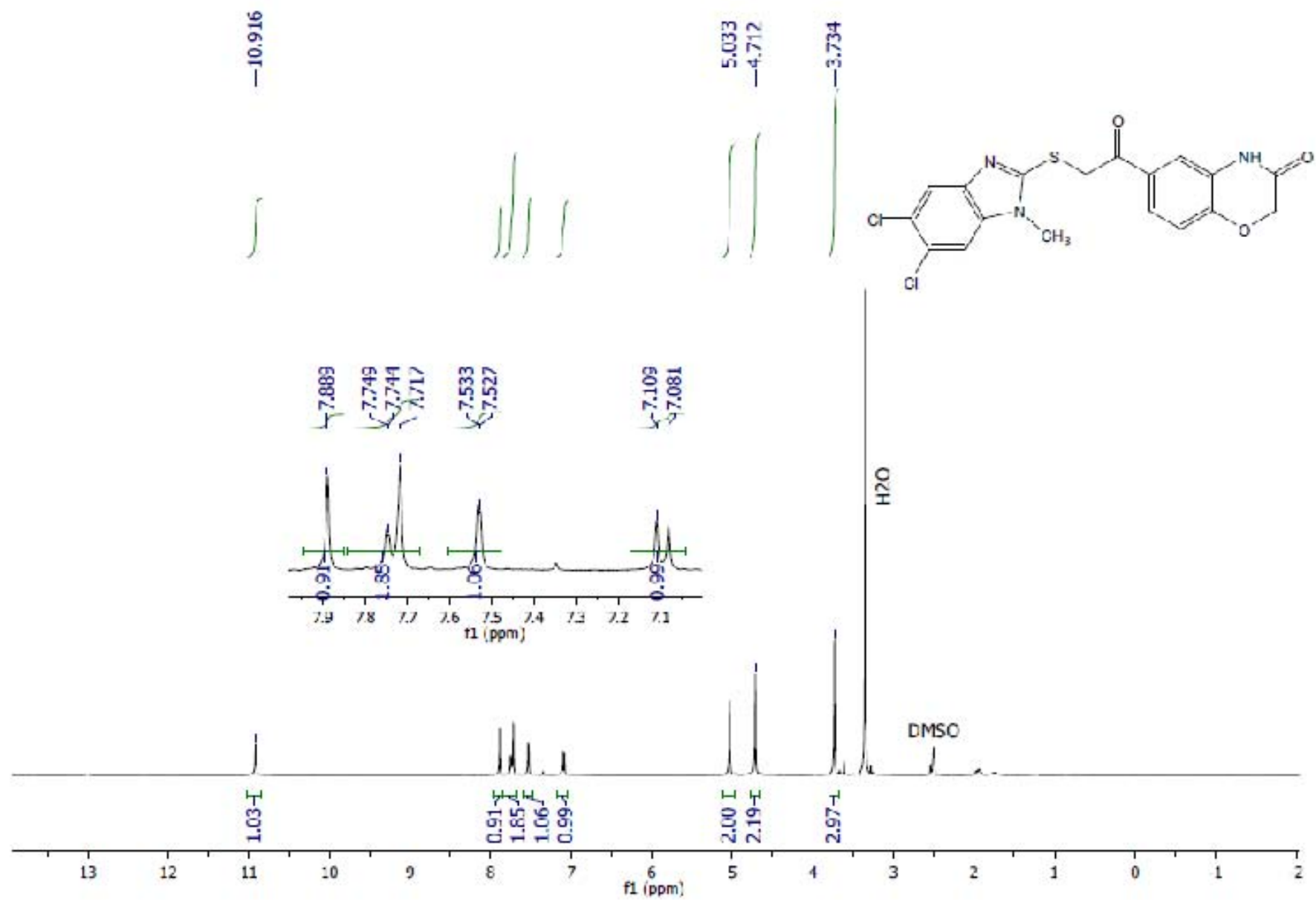
Espectro 60. RMN¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm 6-[[5,6-dicloro-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-ona NIGB-6.



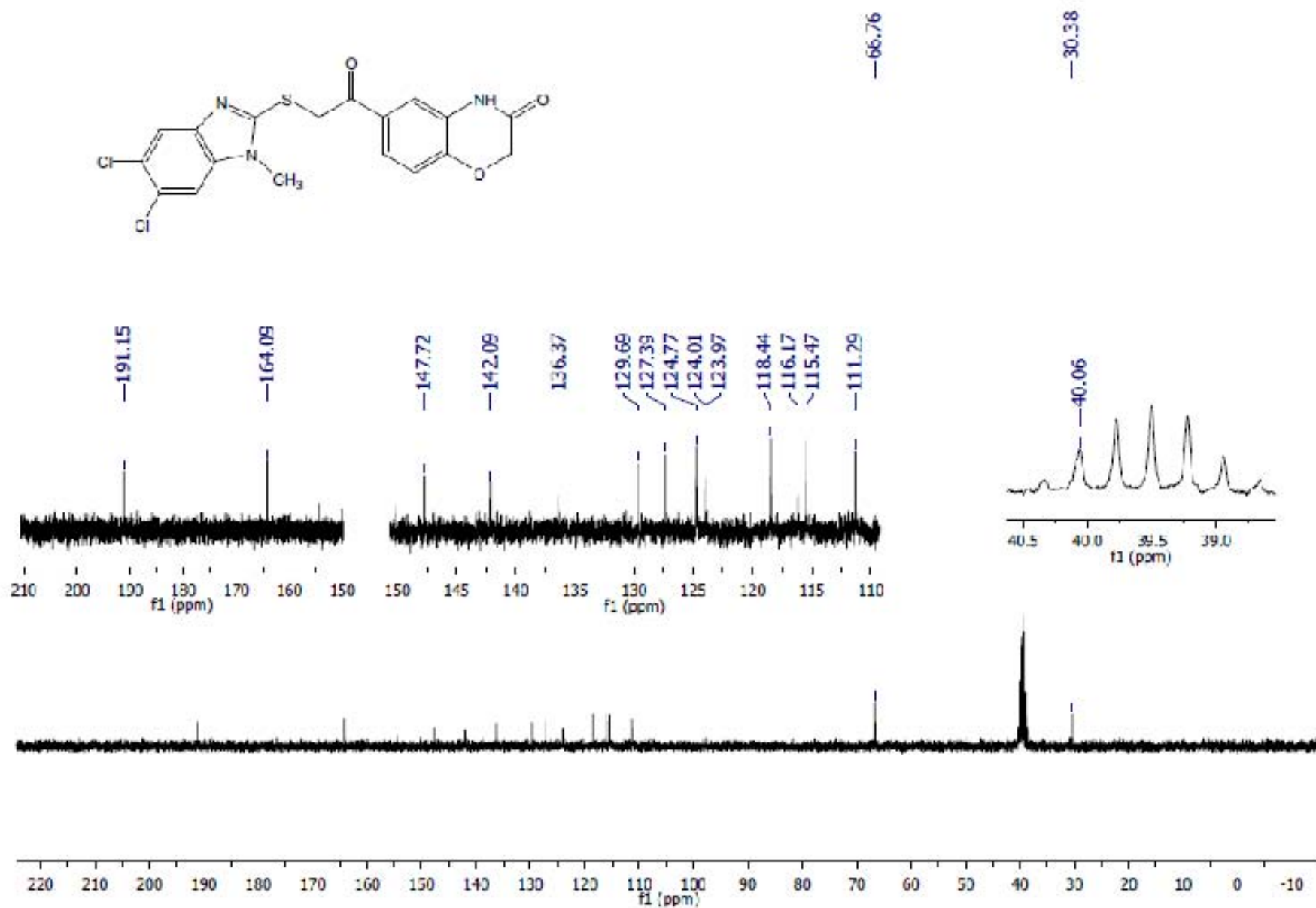
Espectro 61. EM (IE/ID; m/z) 6-[[5,6-dicloro-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona NIGB-6.



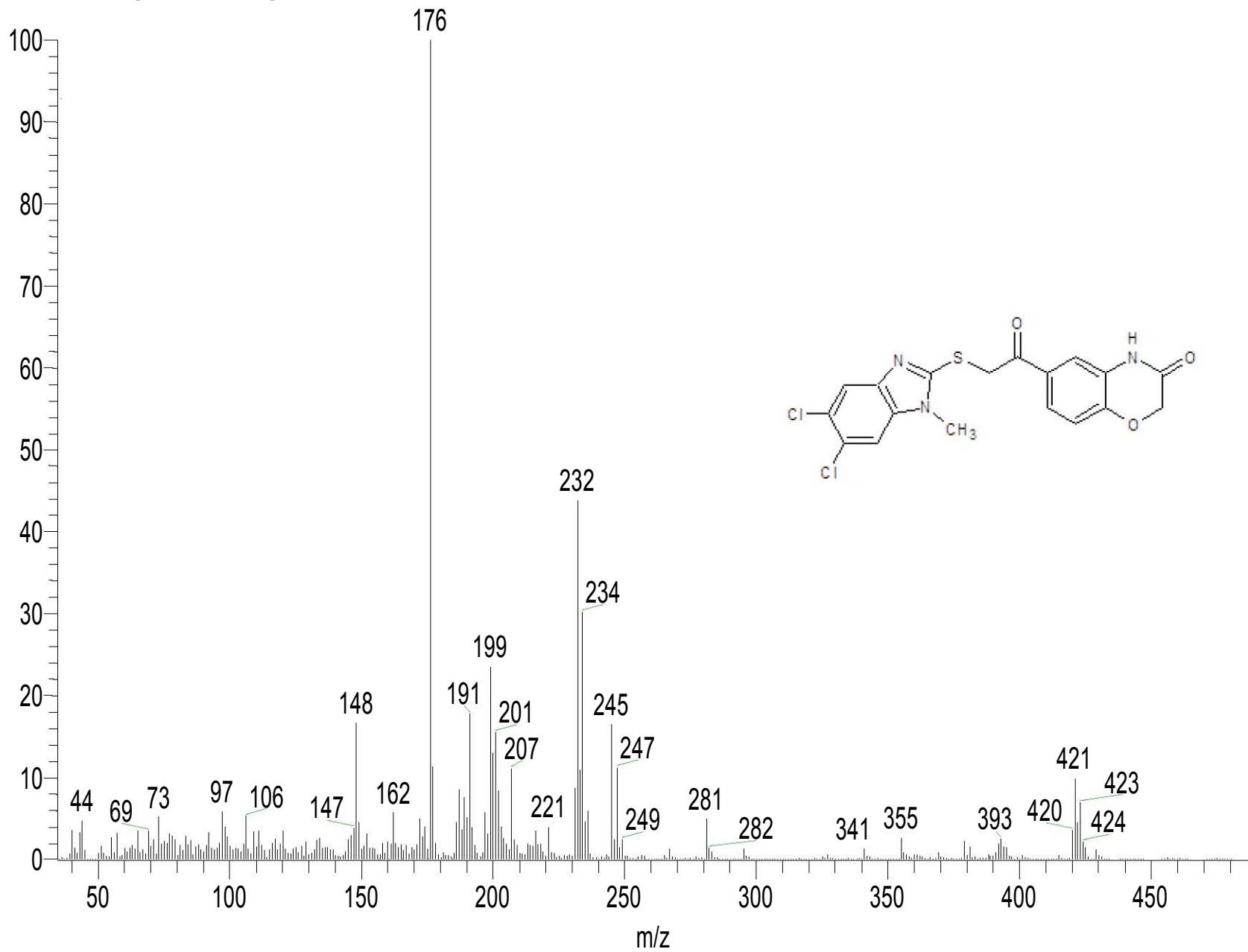
Espectro 62. IR Pastilla (KBr) cm^{-1} 6[[5,6-dicloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)ona NIGB-7.



Espectro 63. RMN¹H (TMS, DMSO-d₆) ppm 6[(5,6-dicloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil}-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)ona **NIGB-7**.



Espectro 64. RMN¹³C (TMS, DMSO-d₆) ppm 6[[5,6-dicloro-1-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)sulfanil]acetil]-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)ona NIGB-7.



Espectro 65. EM (IE/ID; m/z) 6[[5,6-dicloro-1-metil-1H-bencimidazol-2-il]sulfanil]acetil}-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)ona NIGB-7.