



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

T E S I S :

**PREPARACIÓN DE MOLÉCULAS HÍBRIDAS DE
DERIVADOS DEL BENCIMIDAZOL CON EL
2-AMINO-5-NITROTHIAZOL COMO AGENTES
ANTIHELMÍNTICOS**

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

P R E S E N T A :
CECILIA PADIERNA MOTA



MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Jaime Medina Oropeza
Vocal	Prof. Alfonso Sebastián Lira Rocha
Secretario	Prof. Francisco Hernández Luis
1er. Suplente	Prof. José Guadalupe López Cortes
2º. Suplente	Prof. Martha Ivonne Berros Espino

Sitio en donde se desarrolló el tema: Laboratorio 122,
Conjunto E. Departamento de Farmacia, Facultad de Química,
UNAM

Nombre completo y firma del asesor del tema:

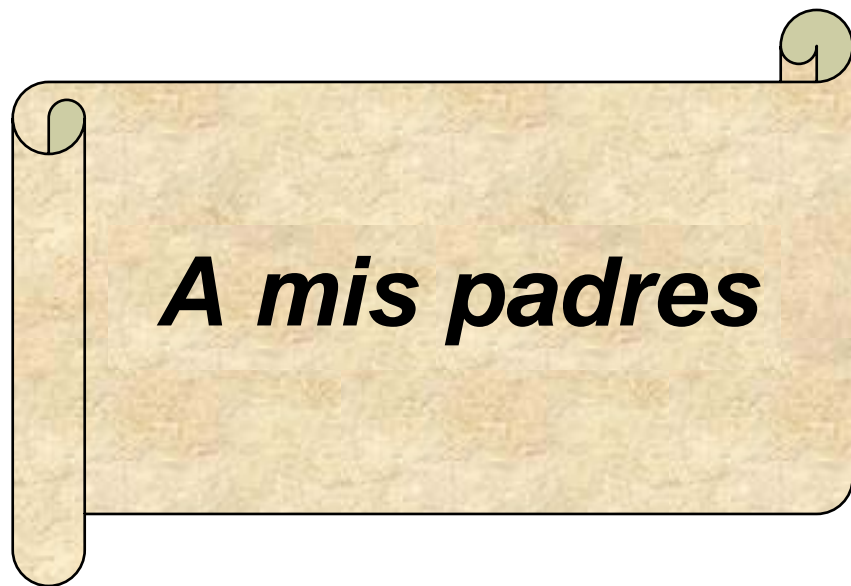
Dr. Francisco Hernández Luis

Nombre completo y firma del supervisor técnico:

M. en C. Israel Velázquez Martínez

Nombre completo y firma de la sustentante:

Cecilia Padierna Mota



A mis padres

AGRADECIMIENTOS

A Dios y sus ángeles: Por haberme bendecido al darme el lugar en donde estoy, por cuidar mi camino y sobre todo por cuidar el camino de quienes amo.

A mis padres: Por forjar a base de amor todo lo que soy y sobre todo *lo que llegaré a ser.*

A mis abuelos: Por sus dulces y a veces fuertes palabras, las enseñanzas y los valores inculcados.

A Armando: Por abrir mis ojos con amor y mostrarme que no hay límites para la felicidad. *You and I are gonna live forever!*

A mis hermanos Alberto, Laura y Gustavo: Por hacer más grande la familia y así colmarnos de felicidad.

A mis eternos bebés Gaby, Jesús, Juanito, David y Mónica: Por hacer sonreír mi corazón con tan solo escuchar sus voces.

A mis amigos de la vida Lilibeth, David, Diana y Julio: Por toda la diversión, consuelos y filosofía de viernes por la tarde.

A Lucía: Por procurar de mí durante tanto tiempo, cuidarme y atenderme con cariño.

A mis amigos de la FQ: Ixzel, Kadija, Rox, Yuri, Arturo y Jorge

Al Dr. Francisco Hernández Luís:

Por sus enseñanzas, su paciencia y en reconocimiento a su gran calidad humana y científica.

Al M. en C. Israel Velázquez

Martínez: Por la Supervisión Técnica de este trabajo, su tiempo, sus incontables consejos y principalmente por su amistad.

Al Dr. Castillo y a la M. Alicia

Hernández: Por sus atenciones y por permitirme ser parte de su grupo de investigación.

A los amigos del 122:

Gisela, Eliana, M. Olivia, Jaime, Toños, Alex y Sergio.

Al Dr. Benjamín Noguera Torres:

Por la realización de las pruebas biológicas.

Al personal de la USAI: Por el registro de los espectros,

Maricela Gutiérrez, Georgina Duarte, Margarita Guzmán, Víctor Arroyo y Rosa J. del Villar

Al proyecto CONACYT

V43629-M: Por el apoyo económico para la realización de este trabajo

Al subprograma 127 "Formación

Básica en la Investigación": Por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

A los Laboratorios de

Especialidades Inmunológicas

S.A. de C.V: Por la impresión de este trabajo.

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

1. Introducción1
2. Marco de Referencia5
3. Diseño Experimental13
4. Resultados y Discusión19
5. Conclusiones38
6. Bibliografía40
7. Apéndice43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Consideraciones para el diseño de los híbridos.3
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Hymenolepis nana</i>7
Figura 3. Sustancias para el tratamiento actual contra la himenolepiasis8
Figura 4. Mecanismo de acción antiparasitaria de la nitazoxanida.9
Figura 5. Estructura de dos bencimidazol-2-carbamato de metilo9
Figura 6. Mecanismo de acción del albendazol y mebendazol10
Figura 7. Relación estructura-actividad antiparasitaria del bencimidazol11
Figura 8. Estrategias de hibridación molecular.12
Figura 9. Aparato para la neutralización de vapores14
Figura 10. Evaluación biológica antiparasitaria de los compuestos 1-518

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos híbridos propuestos4
Tabla 2. Rendimientos y constantes físicas de los compuestos finales 1-520
Tabla 3. Rendimientos y constantes físicas de los compuestos intermediarios 6-2021
Tabla 4. Constantes espectroscópicas de los compuestos 1-2022
Tabla 5. Resultados de actividad antihyemenoléptica de los compuestos finales 1-537

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis de los compuestos 1 y 2	14
Esquema 2. Síntesis del compuesto 3	15
Esquema 3. Síntesis del compuesto 4	16
Esquema 4. Síntesis del compuesto 5	17
Esquema 5. Síntesis de los compuestos 1 y 2	28
a partir de 7 y 8	
Esquema 6. Síntesis del compuesto 4 a partir	28
de 15	
Esquema 7. Alternativas para la obtención	30
del compuesto 3	
Esquema 8. Síntesis de los compuestos 7 y 8	31
Esquema 9. Síntesis del compuesto 14	31
Esquema 10. Síntesis del compuesto 19	33
Esquema 11. Síntesis de los compuesto 9	33
Esquema 12. Síntesis del compuesto 20	34
Esquema 13. Síntesis de los compuestos 11 y	35
15	
Esquema 14. Síntesis del compuesto 12	36
Esquema 15. Síntesis del compuesto 17	36

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

A pesar de los avances en el área científica y tecnológica, las enfermedades parasitarias siguen siendo uno de los problemas más importantes de salud pública a nivel mundial, sobre todo en países en vías de desarrollo como el nuestro. Esto es evidente si se toma en cuenta que más de doscientos millones de personas viven con infecciones intestinales parasitarias alrededor del mundo, siendo los niños los más afectados. La alternativa, a corto y mediano plazo, para el tratamiento de estas enfermedades es la quimioterapia, debido a que el desarrollo de vacunas y las estrategias de educación sanitarias serán factibles a largo plazo. El problema que actualmente se presenta en la quimioterapia de las enfermedades parasitarias es la disposición de sólo unas cuantas sustancias para su tratamiento. Situación que conlleva a que, en un momento dado, se puedan presentar cepas de parásitos resistentes a los fármacos actuales. De 1223 fármacos disponibles en el mercado entre 1975 y 1997, solo el 1% fue destinado para el tratamiento de enfermedades parasitarias. Lo que resalta la importancia del desarrollo de nuevos fármacos antiparasitarios más potentes y de fácil acceso a la población.

En el campo de la Química Farmacéutica, una de las estrategias para la búsqueda de principios activos es la hibridación molecular, la cual consiste en la asociación de dos moléculas activas, o porciones estructurales de las mismas, para formar un nuevo compuesto activo. En la búsqueda de nuevos antiparasitarios esta estrategia resulta de particular interés, ya que al combinar dos porciones estructurales bioactivas, se producirían compuestos con menor probabilidad de generar cepas resistentes. Con la intención de aplicar esta estrategia, nuestro grupo de investigación diseñó una serie de moléculas híbridas al combinar cinco derivados bencimidazólicos con el 2-amino-5-nitrotiazol (NTZ) (Figura 1). Por un lado, los derivados bencimidazólicos, particularmente los bencimidazol-2-carbamatos de metilo, son estructuras que presentan actividad antihelmíntica de amplio espectro; por otro lado, el NTZ es el grupo farmacofórico del antiparasitario nitazoxanida. El mecanismo de acción antiparasitaria de los derivados bencimidazólicos y el de la nitazoxanida, hasta donde hoy se conocen son totalmente diferentes.

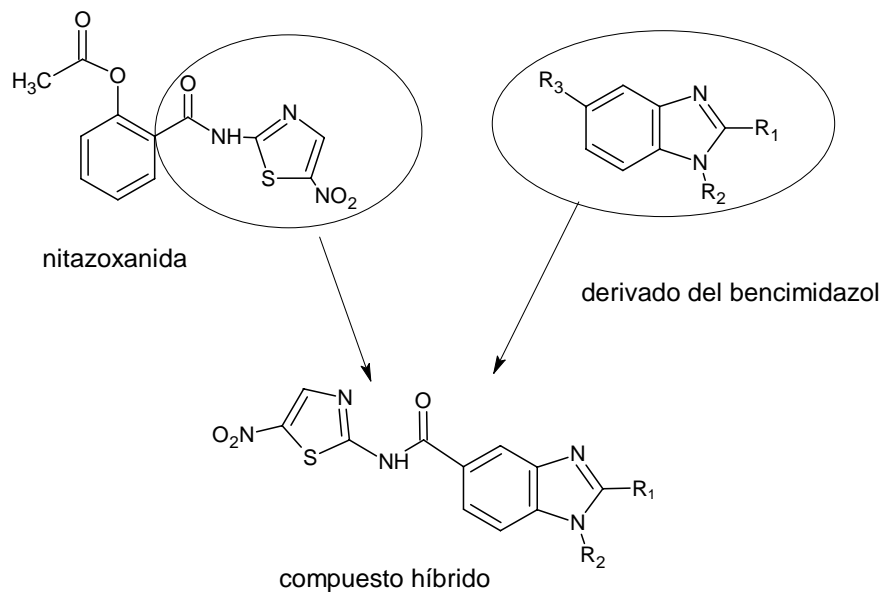
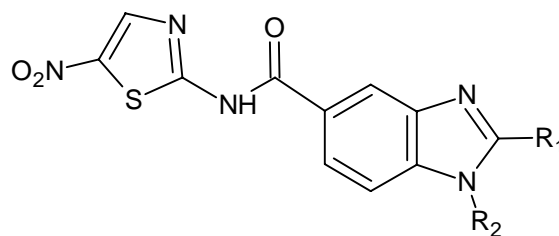


Figura 1. Consideraciones para el diseño de los híbridos.

La hipótesis del diseño de estas moléculas híbridas, se sustenta en que al unir estas porciones estructurales se obtendrán moléculas con actividad antiparasitaria.

Para demostrar la validez de esta hipótesis, el objetivo general de este trabajo fue la preparación de los cinco compuestos híbridos diseñados (Tabla 1). Una vez obtenidas las sustancias se enviaron a determinar su actividad antiparasitaria contra el cestodo *Hymenolepis nana*, agente causal de la himenolepiasis.

Tabla 1. Compuestos híbridos propuestos



Comp	R ₁	R ₂	Nombre IUPAC
1	H	H	<i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida
2	CH ₃	H	2-metil- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida
3	NHCOOCH ₃	H	5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil}-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il carbamato de metilo
4	H	CH ₃	1-metil- <i>N</i> -(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1 <i>H</i> -bencimidazol-5-carboxamida
5	NHCOOCH ₃	CH ₃	1-metil-5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil}-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo

Comp= compuesto

MARCO DE REFERENCIA

2. Marco de Referencia

En este apartado se encuentra la información referencial del presente trabajo de tesis. La información está dividida en cuatro secciones principales: la primera contiene los aspectos relevantes de *Hymenolepis nana* como agente causal de la hymenolepiasis; en la segunda se encuentran generalidades sobre la nitazoxanida; en la tercera parte, aspectos relacionados con los derivados del bencimidazol; y en una cuarta parte, los aspectos relacionados con la estrategias del diseño de moléculas híbridas.

2.1. *Hymenolepis nana* y la hymenolepiasis

Hymenolepis nana es el cestodo que provoca la enfermedad, en seres humanos, denominada hymenolepiasis. En el ciclo de vida de *H. nana*, no es necesario un huésped intermediario, la transmisión de los huevos desde un humano a otro puede ser por vía fecal-oral; el ser humano sirve tanto como huésped intermediario como definitivo. El desarrollo larval ocurre en las vellosidades de la parte superior del intestino delgado luego de ingerir un huevo. Después de la incubación, las larvas penetran las vellosidades y se desarrollan a un estadio cisticercoide en la pared proximal, antes de migrar nuevamente hacia la luz intestinal, donde como gusanos adultos, se adhieren al revestimiento mucoso (Figura 2).¹

Los gusanos adultos de *H. nana* son pequeños —no más de 4.6 cm— y a menudo simulan filamentos mucosos; por lo que no se observan comúnmente en las muestras de materia fecal. Poseen un diminuto escólex armado con 20 a 30 ganchos. Los huevos son morfológicamente típicos, con una cubierta lisa externa y una membrana interna; contienen un embrión hexacanto (con seis ganchos).¹

El diagnóstico de laboratorio se lleva a cabo por la detección microscópica de los huevos característicos en montajes o frotis teñidos de muestras de materia fecal.¹

En la actualidad el tratamiento de la hymenolepiasis se basa en el prazicuantel, la niclosamida y paromomicina (Figura 3).^{1,2} Dentro de los efectos secundarios de los fármacos utilizados para el tratamiento de la hymenolepiasis se encuentran las alteraciones gastrointestinales, que incluyen ulceración, ocasionadas por la paromomicina así como su utilización limitada a formas no parenterales debido a la toxicidad renal que ocasionan, además de problemas de biodisponibilidad.³

2.2 La nitazoxanida como antiparasitario

La nitazoxanida es un antiparasitario de amplio espectro contra protozoarios y helmintos que ha mostrado ser bien tolerado, con un mínimo de efectos secundarios y muy pocas cepas de parásitos distintos han presentado resistencia ante este fármaco.⁴ En la hymenolepiasis se ha encontrado una tasa de cura hasta del 92% y una disminución en el número de huevos del 99.9% con el tratamiento con este fármaco.⁵

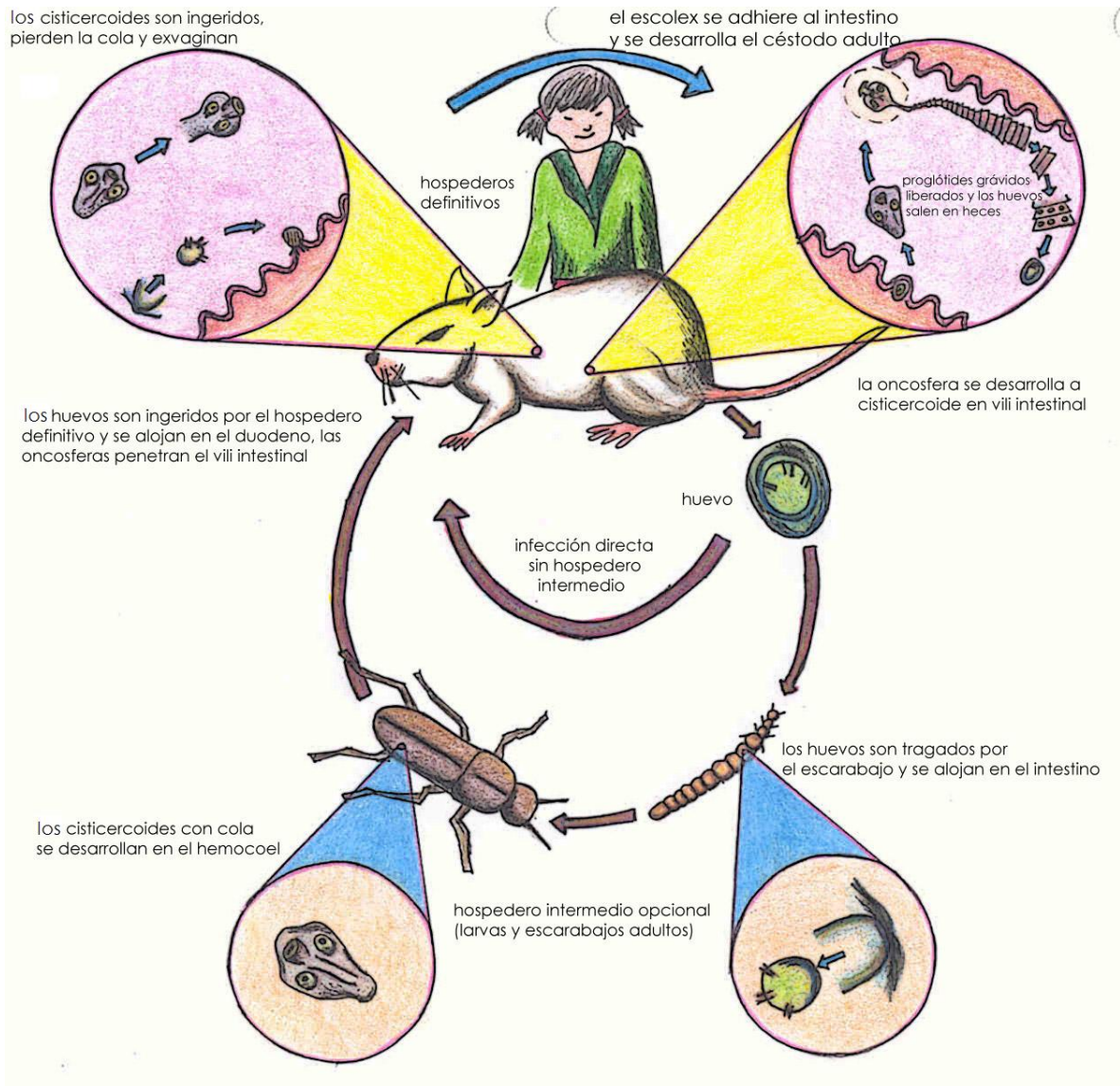
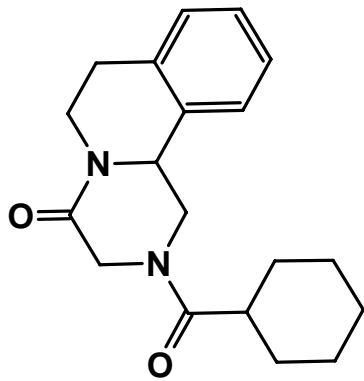
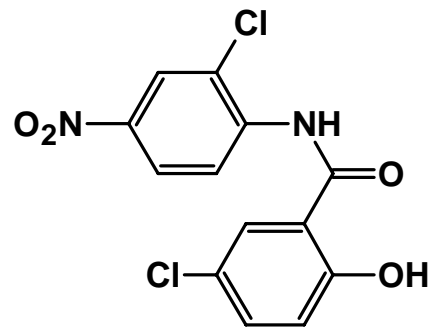


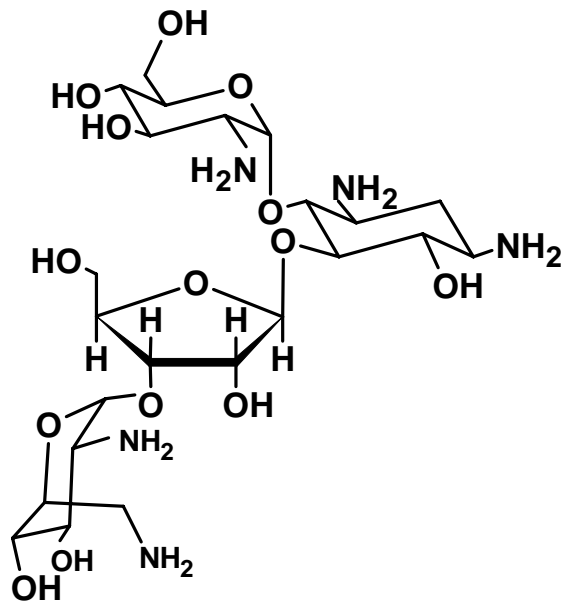
Figura 2. Ciclo de vida de *Hymenolepis nana*.



praziquantel



niclosamida



paromomicina

Figura 3. Sustancias para el tratamiento actual contra la himenolepiasis.

2.2.1 Mecanismo de acción de los nitroheterociclos

En *Giardia sp.* la nitazoxanida inhibe la piruvato ferredoxin oxidoreductasa (PFOR), una enzima vital en el metabolismo intermedio central de organismos anaeróbicos. Al contrario de los nitroimidazoles, la nitazoxanida interactúa directamente con la PFOR, no es dependiente de la ferredoxina reducida, además de que los productos de la NTZ activada no inducen mutaciones en el ADN. Estas diferencias en los mecanismos de acción explican el

éxito de la NTZ como agente antiparasitario incluso en cepas que han mostrado alta resistencia al metronidazol (Figura 4).⁶

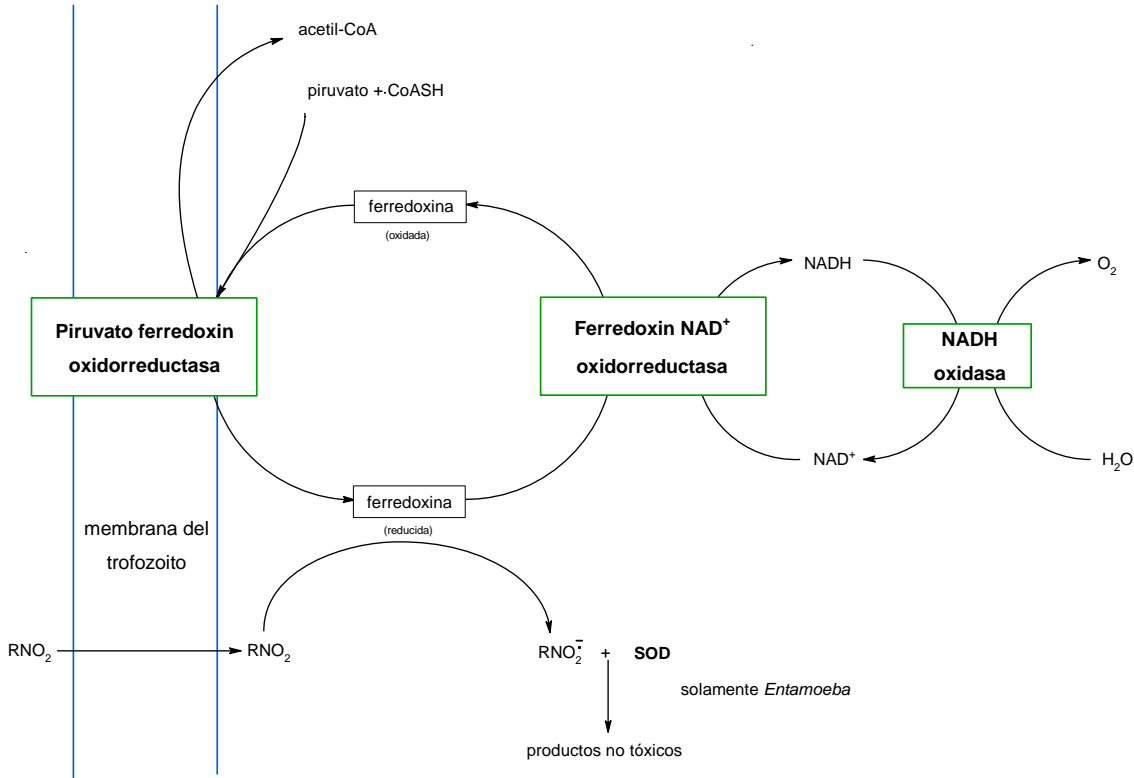


Figura 4. Mecanismo de acción antiparasitaria de la nitazoxanida.

2.3. Los derivados del bencimidazol como agentes antiparasitarios

Los derivados bencimidazólicos como el albendazol y el mebendazol representan la única clase de antihelmínticos de amplio espectro (Figura 5).⁷ El mecanismo de acción de estos compuestos es la interacción directa con la tubulina. La tubulina es la subunidad dimérica (subunidades α y β) que forma los microtúbulos, los cuales existen en un equilibrio dinámico con la tubulina. Este equilibrio es controlado por proteínas reguladoras endógenas y cofactores. Sin embargo, puede ser alterado por sustancias endógenas conocidas como inhibidores de microtúbulos. Estos compuestos inhiben la asociación de las subunidades de tubulina a los microtúbulos (Figura 6).^{7,8}

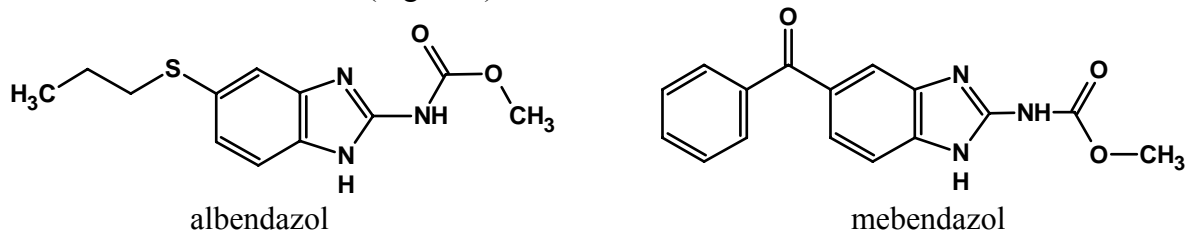


Figura 5. Estructura de dos bencimidazol-2-carbamato de metilo

Los microtúbulos son estructuras proteicas del citoesqueleto fundamentales para la homeostasis celular ya que intervienen en el proceso de reproducción celular y de transporte de moléculas. Por lo tanto la inhibición de su polimerización conduce a la pérdida de funciones celulares como la inhibición de la enzima fumarato reductasa y del metabolismo de lípidos, disminución en los niveles energéticos por la inhibición de recaptura de glucosa, inmovilización y finalmente a la muerte del parásito (Figura 6).⁹

En un protocolo experimental, se informó que el tiabendazol es un bencimidazol que ha mostrado curar al 52% de los pacientes con himenolepiasis.⁹

2.3.1 Relación estructura-actividad antiparasitaria de los derivados del bencimidazol

La relación estructura-actividad antiparasitaria de los derivados del bencimidazol que ha sido estudiada por distintos grupos de investigación ha establecido las zonas de importancia biológica indicadas en la Figura 7.

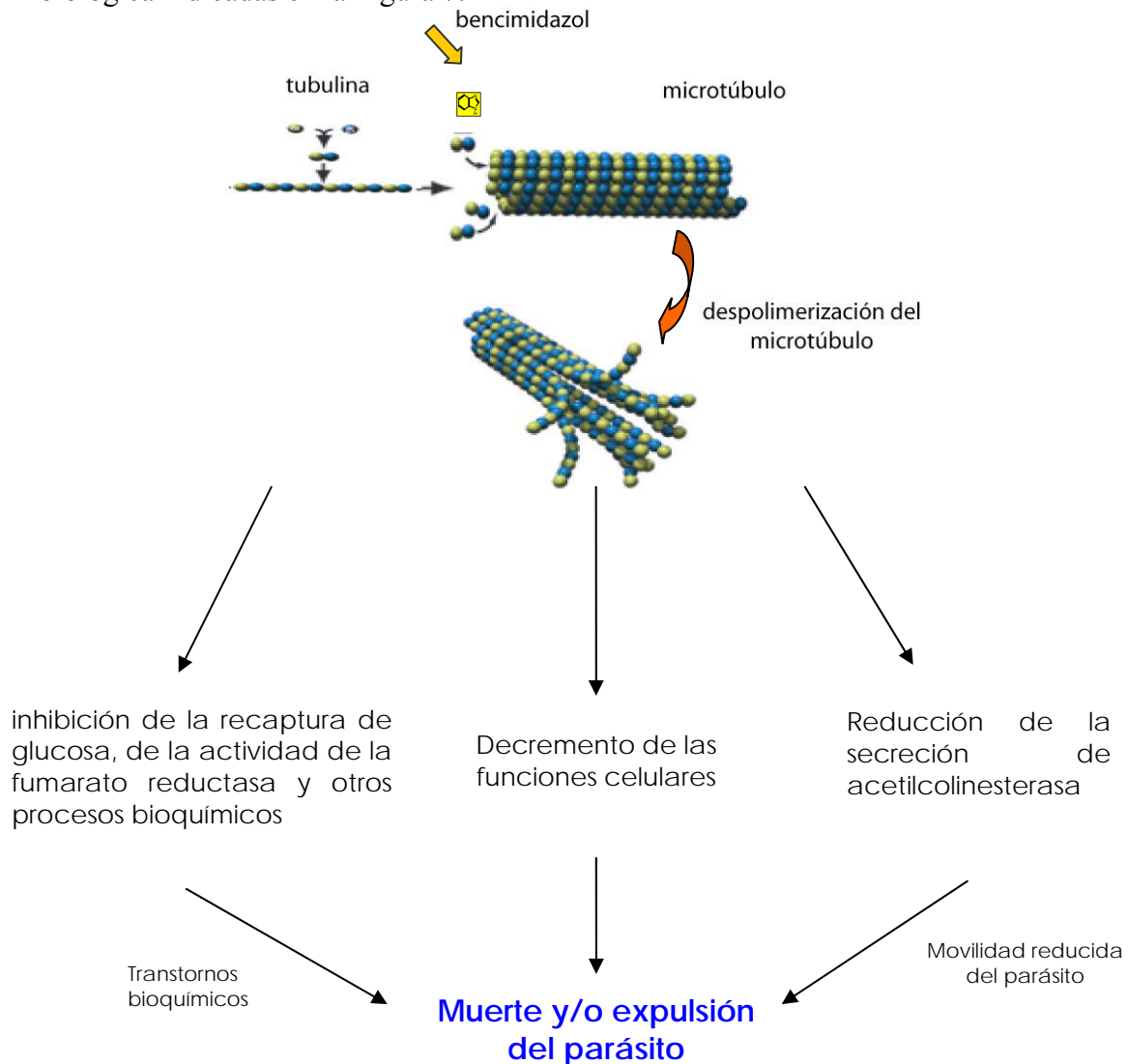


Figura 6. Mecanismo de acción del albendazol y mebendazol

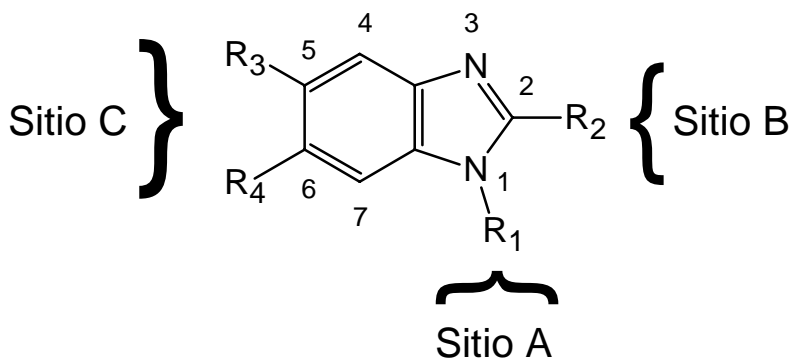


Figura 7. Relación estructura-actividad antiparasitaria del bencimidazol

Sitio A: Este sitio ha sido modificado, para conocer la importancia del efecto tautomérico y del hidrógeno en la posición 1, mediante 1-alkilaciones, 1-acilaciones y 1-arilalquilaciones. Los resultados han denotado la importancia del hidrógeno en posición 1 para conservar la actividad anthelmíntica mediante la inhibición de la polimerización de la tubulina (Figura 6).¹⁰⁻¹²

Sitio B: Los sustituyentes de la posición dos desempeñan un papel sumamente notable en el perfil antiparasitario de la molécula. Posiblemente debido a las diferencias en solubilidad que presentan los distintos grupos funcionales (Figura 7).¹⁰⁻¹²

Sitio C: Se ha demostrado que la presencia de sustituyentes, en las posiciones 5 y 6 de bencimidazoles 2-sustituídos, define el perfil antihelmíntico de estos compuestos. La importancia del patrón de sustitución reside en la prevención del metabolismo que llevaría a la disminución de la actividad farmacológica (Figura 7).¹⁰⁻¹²

2.4 Hibridación molecular

En el campo de la Química Farmacéutica se utiliza la herramienta de la asociación molecular en el descubrimiento y optimización de prototipos.¹³ Si las moléculas que se unen son idénticas se trata de gemelos, mientras que si las moléculas que se unen son diferentes, se trata de compuestos híbridos (Figura 8).¹³⁻¹⁴

Los compuestos híbridos se diseñan con la intención de incrementar la potencia en la actividad biológica u optimizar el comportamiento farmacocinético de los principios activos que les dieron origen.¹³⁻¹⁴

Los gemelos tienen el mismo modo de acción, mientras que los híbridos pueden tener el mismo mecanismo de acción o poseer mecanismos de acción diferentes y complementarios.¹³⁻¹⁴

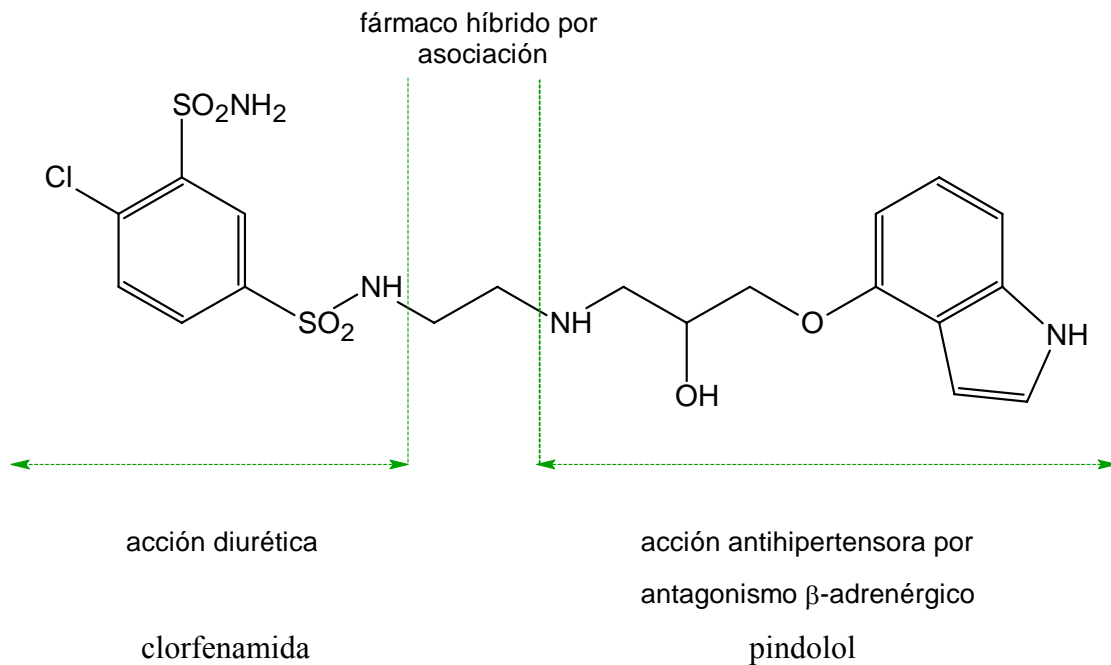
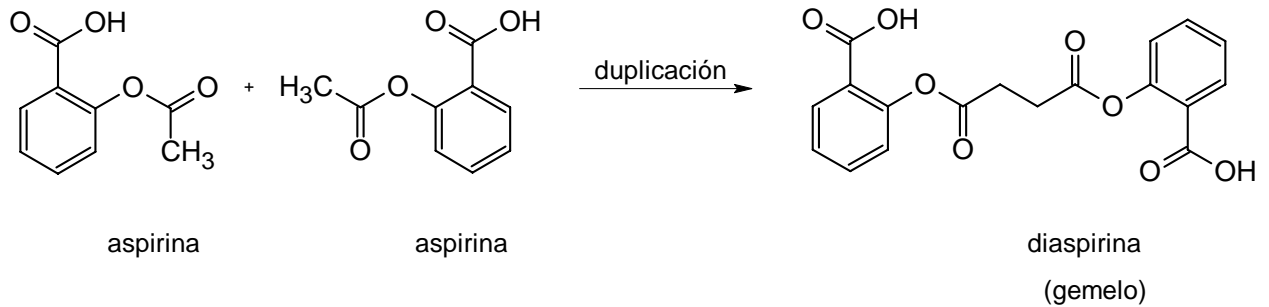


Figura 8. Estrategias de hibridación molecular.

Esta estrategia resulta interesante para su aplicación en el área de los antiparasitarios, dado que se obtendrían moléculas con potencias aceptables ($CI_{50} < 10 \mu M$) y con menores posibilidades de generar cepas resistentes dado que están conformadas por porciones estructurales que actúan de diferentes maneras sobre el parásito.

DISEÑO EXPERIMENTAL

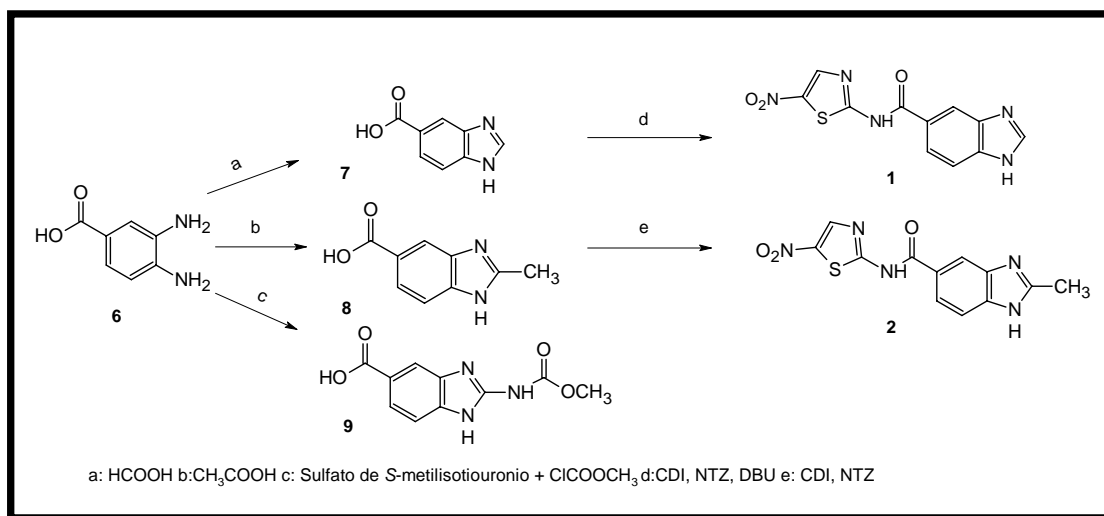
3. Diseño experimental

Este capítulo se encuentra dividido en dos partes con el objetivo de facilitar la presentación de la información contenida en el mismo. La primera parte hace referencia a la síntesis química y la segunda se ocupa de la parte biológica.

3.1 Parte química

3.1.1 Síntesis de los híbridos 1 y 2

La preparación de los híbridos 1 y 2 siguió la serie de reacciones presentadas en el Esquema 1.



Esquema 1. Síntesis de los compuestos 1 y 2

La preparación de los intermediarios 7 y 8, se llevó a cabo al ciclar el ácido 3,4-diaminobenzóico (6) con ácido fórmico y acético, respectivamente.

Para la síntesis del intermediario 9, se preparó un intermediario formado con sulfato de S-metilisotiuronio con cloroformato de metilo. Se adicionó una solución acuosa de NaOH al 25% de tal manera que el pH oscilara entre 7.0 y 7.5 y la temperatura entre 5 y 15° C. Posteriormente se adaptó el matraz del intermediario a un sistema de tres frascos lavadores con solución de hipoclorito de sodio (Figura 9) y se adicionó ácido 3,4-diaminobenzóico (6) suspendido en amortiguador de acetatos.

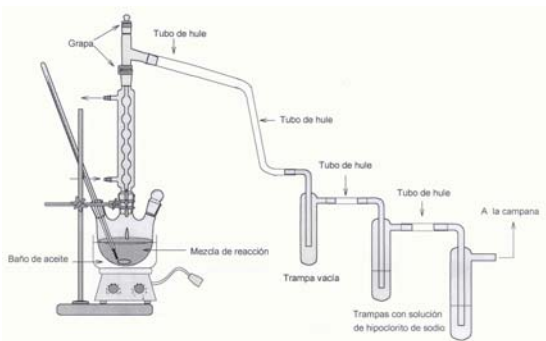


Figura 9. Aparato para la neutralización de vapores

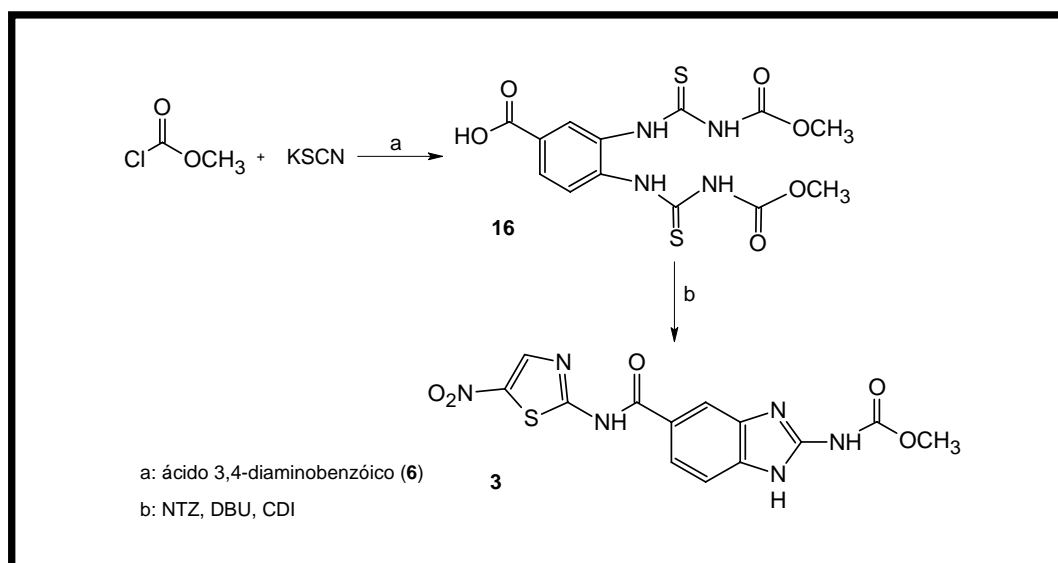
La formación de **1** se llevó a cabo haciendo reaccionar *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) y el compuesto **7** en acetonitrilo. Posteriormente se agregó el 2-amino-5-nitrotiazol (NTZ) y 1,8-diazabicyclo[5.4.0.]undec-7-eno (DBU).

El híbrido **2** se obtuvo mediante la activación de un equivalente de **8** con CDI en acetonitrilo. Se agregó NTZ y se calentó a 50° C durante dos días.

3.1.2. Síntesis del híbrido **3**

Para la formación del compuesto **16** primero se formó un intermediario con tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo. Posteriormente se adicionó el ácido 3,4-diaminobenzóico (**6**). A la mezcla de reacción se adaptó un sistema de tres frascos lavadores con hipoclorito de sodio (Figura 9). Se calentó a reflujo durante 1 hora.

La preparación del híbrido **3** se realizó activando el compuesto **16** con CDI. Posteriormente se agregó NTZ (Esquema 2).

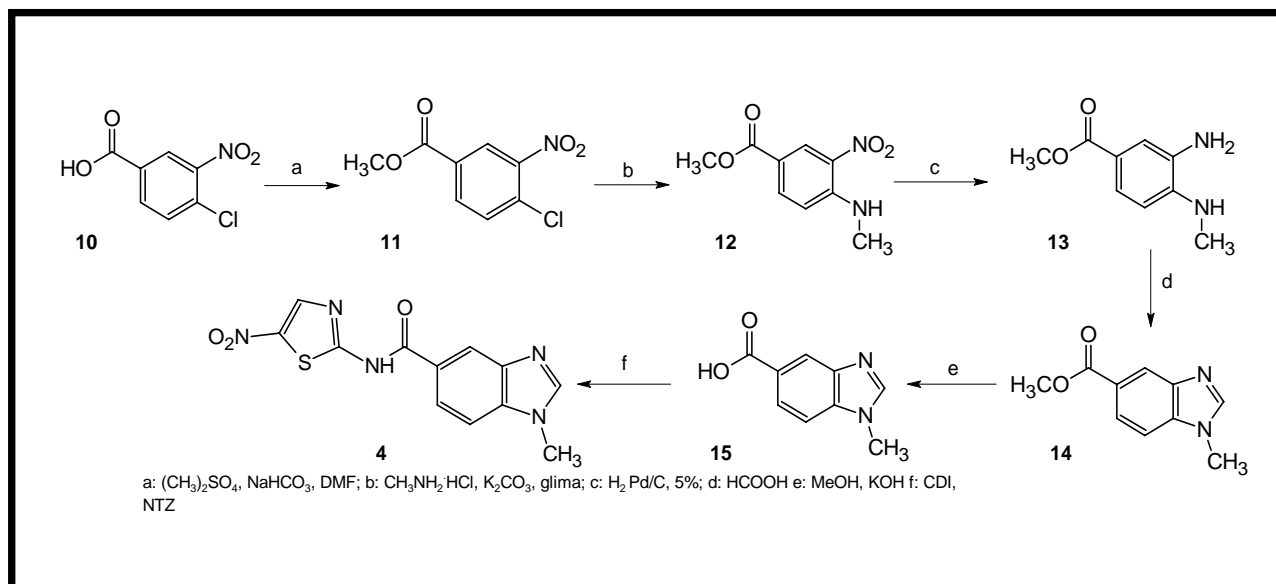


Esquema 2. Síntesis del compuesto **3**

3.1.3 Síntesis del híbrido **4**

Para la síntesis del híbrido **4** se siguieron las reacciones mostradas en el Esquema 3. El ácido 4-cloro-3-nitrobenzóico **10** se esterificó con NaHCO₃ y sulfato de dimetilo. Posteriormente se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica aromática con K₂CO₃ y clorhidrato de metilamina. Después se realizó la reducción del grupo nitro mediante hidrogenación catalítica con Pd/C 5% para obtener al compuesto **13**. El compuesto anterior fue ciclado con ácido fórmico obteniéndose así el 1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (**14**) que posteriormente se sometió a una

hidrólisis básica con KOH, para obtener el ácido 1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (**15**). Finalmente, **4** se obtuvo acoplando **15** con el NTZ mediante CDI.



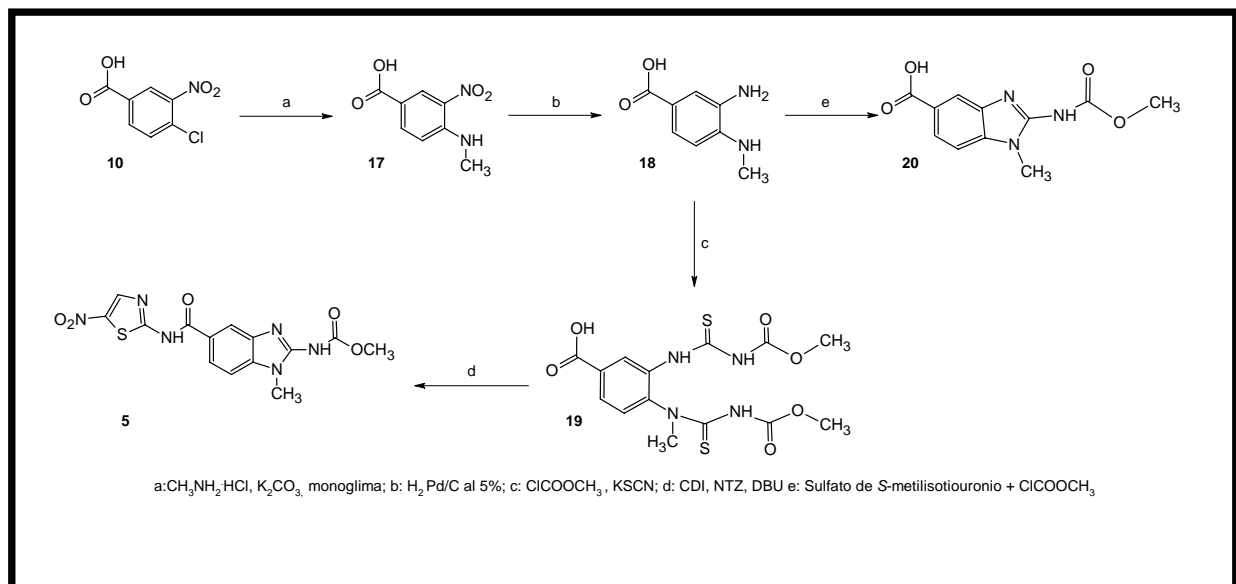
Esquema 3. Síntesis del compuesto 4

3.1.4. Síntesis del híbrido 5

La preparación del híbrido **5** se realizó mediante la serie de reacciones mostrada en el Esquema 4. Para la obtención del intermediario **17**, en un reactor PARR se mezclaron **10**, monoglicina y clorhidrato de metilamina. La mezcla se calentó a 130°C durante 24 horas a 30 bar y con agitación constante. Después de un tratamiento de separación se acidificó con HCl 20%. Posteriormente se llevó a cabo una reducción por hidrogenación donde el catalizador fue Pd/C al 5% en metanol a 30°C . Después de un proceso de aislamiento el sólido obtenido **18** se procesó inmediatamente para hacerlo reaccionar con un intermediario formado por tiocianato de potasio y cloroformiato de metilo.

El compuesto **20** se obtuvo mediante la reacción de un intermediario reactivo con la diamina **18**. El intermediario se preparó con sulfato de *S*-metilisotiouonio y cloroformiato de metilo a pH neutro. Posteriormente se agregó la diamina **18** y solución amortiguadora de acetatos. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo y con agitación constante.

Finalmente la obtención del compuesto **5** se realizó mediante la activación del ácido **19** con CDI. Posteriormente se formó el enlace amida agregando NTZ y DBU (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis del compuesto 5

3.2 Parte biológica

A continuación se describe el método utilizado para llevar a cabo la evaluación de la actividad antihymenoléptica de los híbridos **1-5**.

Se colectó el excremento de un lote de cinco ratones infectados por el cestodo *H. nana* cada tercer día durante una semana. Un gránulo de excremento de cada ratón, fue colocado en un tubo eppendorf con 500 microlitros de formol. Después de suspender con agitación, 30 microlitros de esta suspensión se colocó en un portaobjetos; se agregó una gota de lugol y se colocó un cubreobjetos de 18 X 18 mm. Se observó al microscopio con el objetivo 10X y se contaron los huevos de *H. nana* en el área total del cubreobjetos. Se multiplicó por 17.3 para obtener el total de huevos por gramo de heces.

En este punto del ensayo, por medio de una cánula, se administraron oralmente a cada ratón 4 mg del híbrido correspondiente (inmersos en goma arábiga) a probar durante tres días. Se dejó pasar un día y al siguiente se retomó la cuantificación de los huevos en el excremento. Esta operación se repitió cada tercer día durante una semana con el objetivo de apreciar el efecto de cada compuesto en el parásito.

Finalmente se realizaron las necropsias de los ratones e igualmente se cuantificaron los huevos por gramo de heces.

Se utilizó albendazol como testigo positivo.

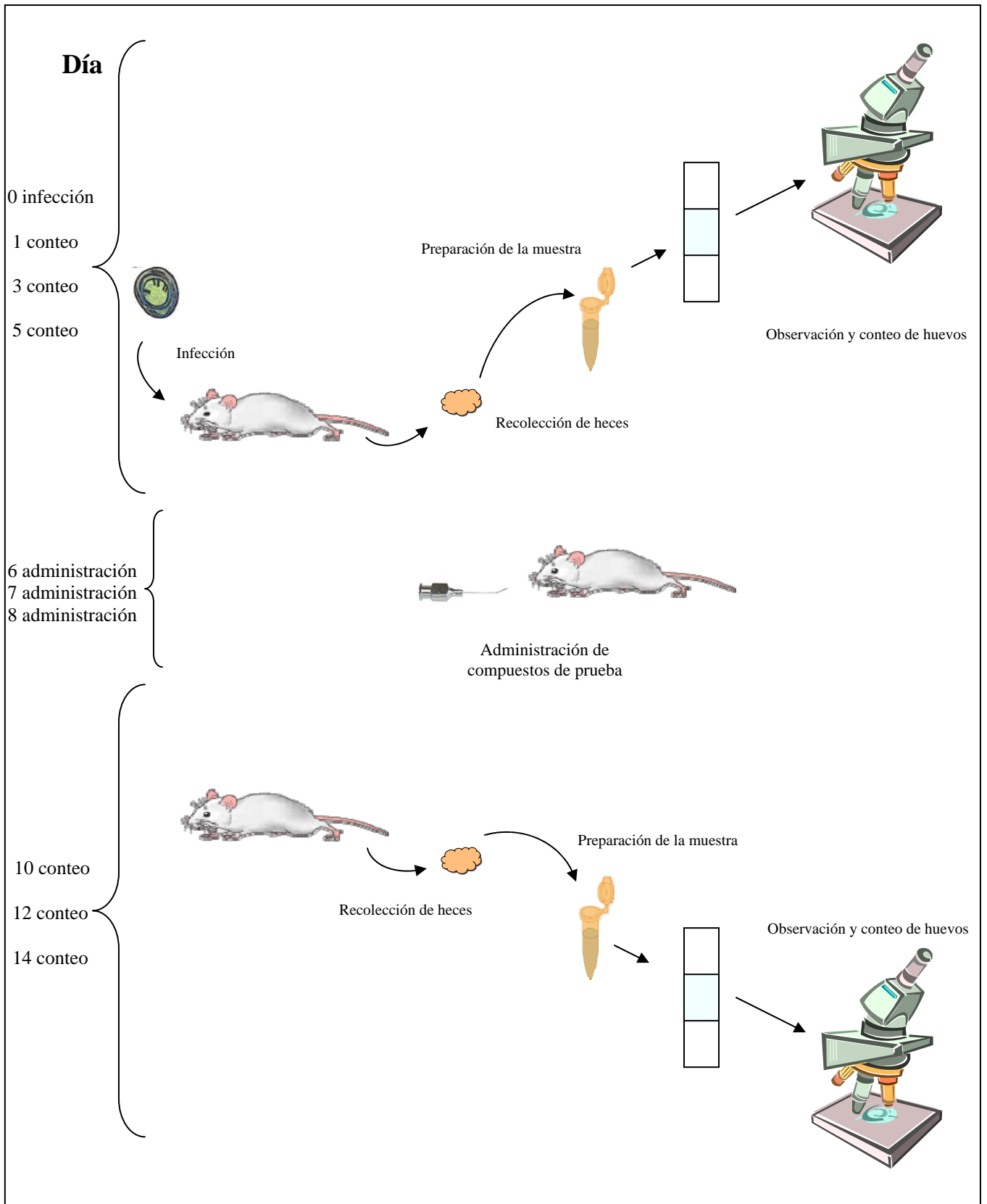


Figura 10. Evaluación biológica antiparasitaria de los compuestos 1-5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados de la parte química

Las constantes físicas y los rendimientos obtenidos para los compuestos finales **1-5**, así como para los intermediarios y materias primas **6-20**, se muestran en las Tablas 2 y 3. Los datos espectroscópicos y espectrométricos de estos compuestos se muestran en la Tabla 4.

4.1.1 Constantes físicas y rendimientos

Tabla 2. Rendimientos y constantes físicas de los compuestos finales **1-5**

Compuesto	p.f. (°C)	R_f^a	Rendimiento (%)
1	309.3-311.6	0.25	51.0
2	297.7-298.7	0.32	51.4
3	352.5-353.7	0.34	61.6
4	359.0-361.8	0.37	40.5
5	363.1-368.1	0.32	10.2

^a: R_f determinado en Sistema: cloroformo/metanol 90:10

Tabla 3. Rendimientos y constantes físicas de los compuestos intermediarios **6-20**

Compuesto	p.f. (°C)	R_f^a	Rendimiento (%)
6	213.2-214.3	0.38	NA
7	>300	0.38	95.1
8	>300	0.31	97.3
9	>300	0.53	92.7
10	181.0-181.9	0.54	NA
11	81.3-82.5	0.62	92.2
12	144.8-145.9	0.68	98.8
13	ND	0.34	99
14	123.8-124.4	0.59	93.4
15	>300	0.50	77.3
16	146.8 ^b	0.34	78.8
17	316.7-318.3	0.54	99.0
18	ND	ND	97.7
19	150.2 ^b	0.32	70
20	>300	0.52	60

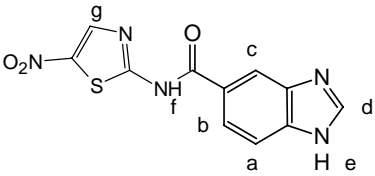
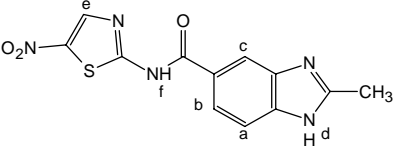
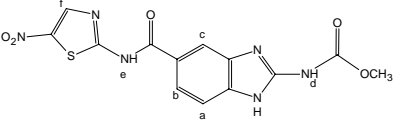
Desc: descompone, NA: No aplica, ND: No determinado

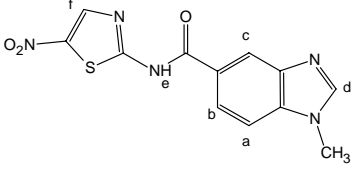
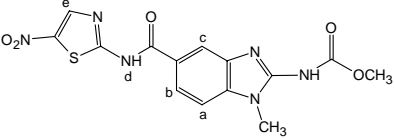
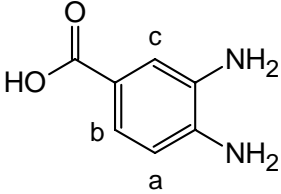
^a: R_f determinado en Sistema: cloroformo/metanol 90:10

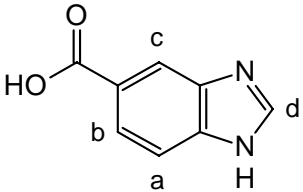
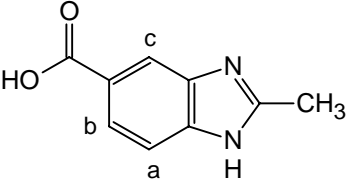
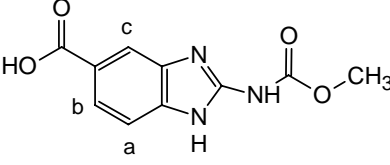
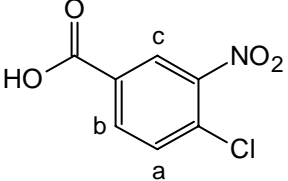
^b: Funde con descomposición

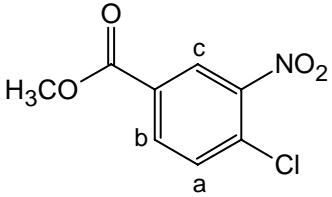
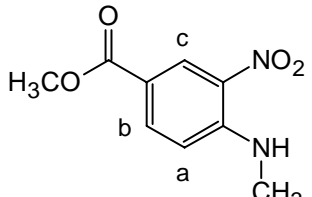
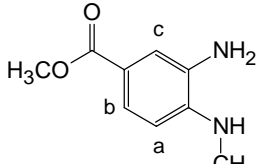
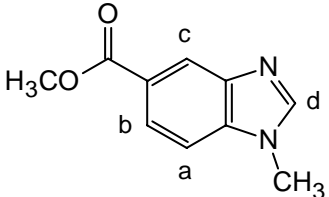
4.1.2 Constantes espectroscópicas

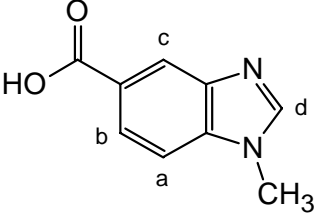
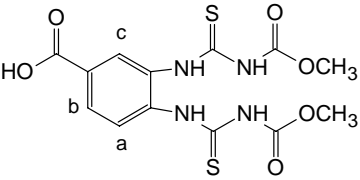
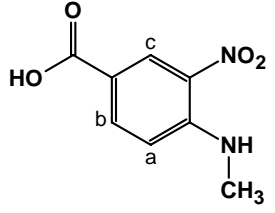
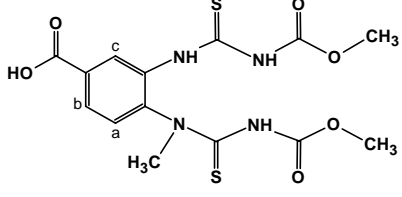
Tabla 4. Constantes espectroscópicas de los compuestos 1-20

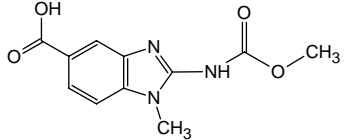
Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>1. PM 289.271</p>	<p>Espectro 1, IR (KBr) cm^{-1}: 3097.22 (CONH-), 1627.12 (C=O), 1592.12 y 1361.24 (NO_2), 1547.35 (C=N).</p> <p>Espectro 2, EM (ID/FAB+) m/z: $[M+1]$ 290 (9%)</p> <p>Espectro 3, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) δ: 7.71 (d, 1H, $J=8.8$, H-a), 7.99 (dd, 1H, $J=1.2$, $J=8.4$, H-b), 8.43 (s, 1H, H-c), 8.49 (s, 1H, H-d), 8.69 (s, 1H, H-g), 13.21 (sa, 2H, int. con D_2O, H-e y H-f)</p>
 <p>2. PM 303.298</p>	<p>Espectro 4, IR (KBr) cm^{-1}: 3127.21 (CONH-), 1626.32 (C=O), 1543.60 y 1368.03 (NO_2).</p> <p>Espectro 5, EM (IE/ID) m/z: M^+ 303 (10%), 159 (100%), 131 (85%), 104 (9%), 90 (22%), 63 (14%)</p> <p>Espectro 6, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) δ: 2.52 (s, 3H, CH_3), 7.32 (sa, 1H, NH) 7.54 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 7.94 (dd, 1H, $J=1.2$, $J=8.4$, H-b), 8.24 (sa, 1H, NH), 8.32 (s, 1H, H-c), 8.64 (s, 1H, H-e)</p>
 <p>3. PM 362.322</p>	<p>Espectro 7, IR (KBr) cm^{-1}: 3360.30 (CONH-), 2949.45 (CH_3), 1536.66 y 1357.28 (NO_2)</p> <p>Espectro 8, EM (ID/FAB+) m/z: $[M+1]$ 363 (8%)</p> <p>Espectro 9, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO}-d_6$) δ: 3.77 (s, 3H, NHCO_2CH_3), 7.49 (d, 1H, $J=8.7$, H-a), 7.93 (dd, 1H, $J=1.8$, $J=8.4$, H-b), 8.23 (d, 1H, $J=1.2$, H-c), 8.65 (s, 1H, H-f), 12.19 (sa, 2H, int. con D_2O, H-d y H-e)</p>

Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>4. PM 303.298</p>	<p>Espectro 10, IR (KBr) cm^{-1}: 3111.50 (CONH-), 2799.61 (CH₃), 1660.88 (C=O), 1551.48 y 1350.90 (NO₂)</p> <p>Espectro 11, EM (ID/FAB+) m/z: [M+1] 304 (4%)</p> <p>Espectro 12, RMN¹H (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ: 3.88 (s, 3H, CH₃), 7.66 (d, 1H, <i>J</i>=8.7, H-a), 8.10 (d, 1H, <i>J</i>=7.5, H-b), 8.29 (s, 1H, H-c), 8.49 (s, 1H, H-d), 8.59 (s, 1H, H-f) 13.60 (sa, 2H, int. con D₂O, H-e)</p>
 <p>5. PM 376.349</p>	<p>Espectro 13, IR (KBr) cm^{-1}: 3398.25 (CONH-), 1535.01 y 1352.14 (NO₂).</p> <p>Espectro 14, EM (ID/FAB+) m/z: [M+1] 377 (4%).</p> <p>Espectro 15, RMN¹H (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ: 3.61 (s, 3H, N-CH₃), 3.74 (s, 3H, NHCO₂CH₃), 7.25 (d, 1H, <i>J</i>=8.4 H-a), 7.77 (d, 1H, <i>J</i>=1.6, H-c), 7.91 (dd, 1H, <i>J</i>=2, H-b, <i>J</i>=8.4), 8.68 (s, 1H, H-e), 11.30 (s, 1H, H-d).</p>
 <p>6 PM 152.15</p>	<p>Espectro 16, IR (KBr)cm^{-1}: 3330.36 y 3208.16 (NH₂), 2838.84 (COOH), 1625.46 (C=O)</p> <p>Espectro 17, EM (IE/CG) m/z: M⁺ 152 (50%), 135 (25%), 107 (17%), 80 (18%)</p> <p>Espectro 18, RMN¹H (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ: 5.11 (sa, 4H, int. con D₂O, NH₂), 6.49 (d, 1H, <i>J</i>=7.81, H-a), 7.06 (dd, 1H, <i>J</i>=2.1, <i>J</i>=8.1, H-b), 7.11(d, 1H, <i>J</i>=1.8, H-c)</p>

Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>7 PM 162.146</p>	<p>Espectro 19, IR (KBr) cm^{-1}: 3205.51 (OH), 1666.10 (C=O), 1623.24 (C=N) Espectro 20, EM (ID/FAB+) m/z: [M+1] 163 (25%) Espectro 21, RMN¹H (TMS, DMSO-d_6) δ: 7.64 (dd, 1H, $J=0.6$, $J=8.4$, H-a), 7.82 (dd, 1H, $J=1.5$, $J=8.4$, H-b), 8.19 (dd, 1H, $J=0.6$, $J=1.5$, H-c), 8.38 (s, 1H, H-d) 12.73 (sa, 2H, int. con D₂O, OH y NH)</p>
 <p>8 PM 176.172</p>	<p>Espectro 22, IR (KBr) cm^{-1}: 3330.76 (OH), 1632.41 (C=O), 1445.16 (CH₃) Espectro 23, EM (ID/FAB+) m/z: [M+1] 177(12%) Espectro 24, RMN¹H (TMS, DMSO-d_6) δ: 2.51 (s, 3H, CH₃), 7.49 (d, 1H, $J=8.1$, H-a), 7.75 (dd, 1H, $J=1.5$, $J=8.4$, H-b), 8.05 (d, 1H, $J=0.9$, H-c), 12.52 (sa, 2H, int. con D₂O, OH y NH)</p>
 <p>9 PM 235.196</p>	<p>Espectro 25, IR (KBr)cm^{-1}: 3350.72 (-OH), 2956.54 (-COOH), 1648.39 (-NHCOOR-) Espectro 26, EM (ID/IE) m/z: M⁺ 235 (50%), 203 (100%), 186 (48%), 177 (7%), 158 (18%). Espectro 27, RMN¹H (TMS, DMSO-d_6) δ: 3.77 (s, 3H, H de CH₃), 7.42 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 7.75 (dd, 1H, $J=1.8$, $J=8.4$, H-b), 8.03 (d, 1H, $J=1.5$, H-c), 11.31 (sa, 2H, int. con D₂O, OH y NH)</p>
 <p>10 PM 201.564</p>	<p>Espectro 28, IR (KBr) cm^{-1}: 3084.48 (OH), 1693.75 (C=O), 1546.90 y 1318.82 (NO₂) Espectro 29, EM (IE/CG) m/z: M⁺ 201(83%), 184 (7%), 171 (27%), 99 (100%), 75 (62%) Espectro 30, RMN¹H (TMS, DMSO-d_6) δ: 7.88 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 8.15 (dd, 1H, $J=2.1$, $J=8.4$, H-b), 8.46 (d, 1H, $J=2.1$, H-c), 13.714 (sa, 1H, int. con D₂O, OH)</p>

Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>11 PM 215.590</p>	<p>Espectro 31, IR (KBr) cm^{-1}: 3100.77 y 2960.94 (CH_3), 1716.28 ($\text{C}=\text{O}$), 1538.36 y 1356.94 (NO_2)</p> <p>Espectro 32, EM (IE/CG) m/z: M^{+} 215 (64%), 184 (100%), 138 (43%), 110 (41%), 75 (50%).</p> <p>Espectro 33, RMN¹H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 3.89 (s, 3H, CH_3), 7.88 (dd, 1H, $J=0.3, J=8.1$, H-a), 8.13 (dd, 1H, $J=2.1, J=8.4$, H-b), 8.45 (d, 1H, $J=2.1$, H-c)</p>
 <p>12 PM 210.187</p>	<p>Espectro 34, IR (KBr) cm^{-1}: 3364.99 (NH), 2956.94 (CH_3), 1708.63 ($\text{C}=\text{O}$), 1564.38 y 1322.46 (NO_2)</p> <p>Espectro 35, EM (IE/CG) m/z: M^{+} 210 (100%), 193 (48%), 179 (49%), 161 (26%), 105 (73%)</p> <p>Espectro 36, RMN¹H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 2.98 (s, 3H, NHCH_3), 3.33 (s, 1H, int. con D_2O, NH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 7.03 (d, 1H, $J=9.01$, H-b), 7.95 (dd, 1H, $J=2.10, J=9.01$, H-a), 8.57 (d, 1H, $J=1.8$, H-c)</p>
 <p>13 PM 180.204</p>	<p>Espectro 37, IR (KBr) cm^{-1}: 3403.75 y 3325.82 (NH_2), 2942.89 (CH_3), 1679.46 ($\text{C}=\text{O}$)</p> <p>Espectro 38, EM (IE/CG) m/z: M^{+} 180 (100%), 165 (32%), 149 (73%), 94 (12%), 78 (7%)</p> <p>Espectro 39, RMN¹H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 2.76 (d, 3H, $J=4.8$, NHCH_3), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 4.68 (s, 2H, intercambia con D_2O, NH_2), 5.41 (c, 1H, $J=4.8$, int. con D_2O, NHCH_3), 6.37 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 7.16 (d, 1H, $J=2.10$, H-c), 7.23 (dd, 1H, $J=8.1, J=1.8$, H-b)</p>
 <p>14 PM 190.199</p>	<p>Espectro 40, IR (KBr) cm^{-1}: 2993.50 y 2947.38 (CH_3), 1706.53 ($\text{C}=\text{O}$)</p> <p>Espectro 41, EM (IE/CG) m/z: M^{+} 190 (63%), 159 (100%), 131 (62%), 104 (12%), 63 (12%)</p> <p>Espectro 42, RMN¹H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 3.85 (s, 3H, NCH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 7.67 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 7.89 (dd, 1H, $J=1.5, J=8.7$, H-b), 8.24 (d, 1H, $J=1.2$, H-c), 8.34 (s, 1H, H-d)</p>

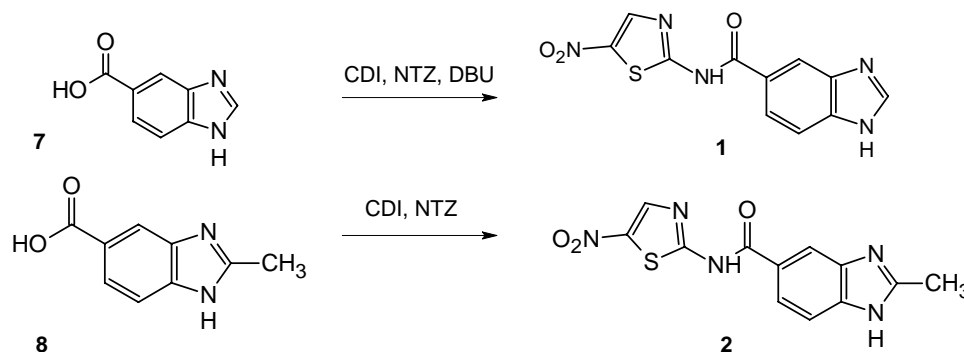
Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p>15 PM 176.172</p>	<p>Espectro 43, IR (KBr) cm^{-1}: 3449 (OH), 2951 (CH_3), 1681 ($\text{C}=\text{O}$) Espectro 44, EM (ID/FAB+) m/z: $[\text{M}+1]$ 177 (43%) Espectro 45, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 3.85 (s, 3H, CH_3), 7.63 (d, $J= 8.4$, 1H, H-a), 7.88 (dd, $J= 1.5$ y $J= 8.4$, 1H, H-b), 8.23 (d, $J= 0.9$, 1H, H-c), 8.32 (s, 1H, H-d), 12.79 (sa, 1H, int. con D_2O, OH)</p>
 <p>16 PM 386.406</p>	<p>Espectro 46, IR (KBr) cm^{-1}: 3180 (OH), 1603 ($\text{C}=\text{O}$), 1527 ($\text{C}=\text{S}$), 1040 ($\text{C}=\text{S}$) Espectro 47, EM (ID/FAB+) m/z: No se observo la señal del ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$. Espectro 48, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 7.87 (dd, 1H, $J=1.8$, $J=8.4$, H-b), 8.07 (d, 1H, $J=8.4$, H-a), 8.21 (d, 1H, $J=1.8$, H-c), 11.31 (s, 1H, int. con D_2O, NH), 11.51 (s, 1H, int. con D_2O, NH), 11.52 (s, 1H, int. con D_2O, NH), 11.55 (s, 1H, int. con D_2O, NH), 13.3 (sa, 1H, int. con D_2O, OH)</p>
 <p>17 PM 196.160</p>	<p>Espectro 49, IR (KBr) cm^{-1}: 3377 (NH), 2805.03(OH), 1679.46 ($\text{C}=\text{O}$), 1615.30 y 1363.73 (NO_2), 1470.48 (CH_3) Espectro 50, EM (ID/FAB+) m/z: $[\text{M}+1]$ 197 (5%) Espectro 51, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 2.99 (d, 3H, $J= 4.8$, NHCH_3), 7.02 (d, 1H, $J= 9.0$, H-a), 7.95 (dd, 1H, $J=2.1$, $J=6.0$, H-b), 8.54 (c, 1H, $J=5.2$, int. con D_2O, NH), 8.58 (d, 1H, $J=2.1$, H-c), 12.86 (sa, 1H, int. con D_2O, OH)</p>
 <p>19 PM 400.432</p>	<p>Espectro 52, IR (KBr) cm^{-1}: 3202 (OH), 1609 ($\text{C}=\text{O}$), 1528 ($\text{C}=\text{S}$), 1044 ($\text{C}=\text{S}$) Espectro 53, EM (ID/FAB+): No se obtuvo señal correspondiente al ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$. Sin embargo se obtuvo un 8% de abundancia de un $[\text{M}+1]$ 283 que podría corresponder al compuesto mono [(metoxycarbonyl)carbamotioil]amino Espectro 54, RMN ^1H (TMS, $\text{DMSO-}d_6$) δ: 2.74 (d, 3H, OCH_3), 3.74 (s, 3H, NCH_3), 6.62 (d, 1H, $J=8.7$, H-a), 7.62 (s, 1H, H-c), 7.72 (d, 1H, $J=8.7$, H-b), 10.78 (s, 1H, NH), 11.36 (s, 1H, OH).</p>

Compuesto	Datos espectroscópicos
 <p data-bbox="315 576 525 609">20 PM 249.223</p>	<p data-bbox="640 357 1879 430">Espectro 55, IR (KBr) cm^{-1}: 3315.64 (OH), 1699.90 (<u>COOH</u>), 1656.48 (NH<u>COCH</u>₃), 1436 (CH₃).</p> <p data-bbox="640 435 1302 467">Espectro 56, EM (ID/FAB+) m/z: [M+1] 250 (5%)</p> <p data-bbox="640 472 1879 576">Espectro 57, RMN¹H(TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ: 3.51 (s, 4H, N<u>CH</u>₃)*, 3.16 (s, 4H, NH<u>COOCH</u>₃)*, 7.44 (d, 1H, <i>J</i>= 8.4, H-a), 7.80 (dd, 1, <i>J</i>=1.2, <i>J</i>=8.4, H-b), 7.98 (s, 1H, H-c), 12.20 (sa, 2H, H del NH y OH).</p> <p data-bbox="640 581 1879 654">*Las señales integran para 4 Hidrógenos dada la gran cantidad de agua presente en el DMSO durante la adquisición del espectro.</p>

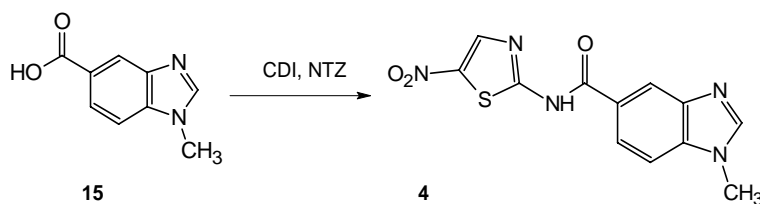
s: singulete, d: doblete, dd: doble de doble, c: señal cuádruple, sa: singulete amplio

4.1.3 Carboxamidas 1, 2 y 4

La síntesis de las carboxamidas **1**, **2** y **4** se logró siguiendo la secuencia de los Esquemas 1 y 3. Para las carboxamidas **1**, **2** y **4** se lograron obtener puntos de fusión bien definidos así como rendimientos mayores al 40%.



Esquema 5. Síntesis de los compuestos **1** y **2** a partir de **7** y **8**



Esquema 6. Síntesis del compuesto **4** a partir de **15**

La técnica consistió en la activación del ácido benzimidazólico correspondiente (**7**, **8** y **15**) con CDI, que formó rápida y de manera evidente (debido al desprendimiento de CO₂), un buen grupo saliente imidazolio que fue sustituido por el grupo amino del NTZ, a pesar de tener poco disponibles su par libre de electrones debido a la aromaticidad del tiazol y a tener en posición relativa *meta* al grupo nitro.

En el caso de la carboxamida **1** se utilizó también DBU que aumentó el poder nucleofílico del grupo amino del tiazol permitiendo que se incrementara el rendimiento de un 15% hasta un 51%.

Para la síntesis de la carboxamida **4**, el rendimiento (40.5%) fue significativamente menor a los obtenidos para las carboxamidas **1** y **2** (51% y 51.4%, respectivamente). Esto se debe a que la síntesis de las carboxamidas **1** y **2** consiste solamente de dos pasos y la de la carboxamida **4** es de 6 pasos, siendo los pasos limitantes la hidrólisis del éster y la formación de la amida.

La purificación de estos compuestos fue sencilla. Se utilizó una solución de ácido cítrico al 5% para eliminar los restos de NTZ y DBU; y una solución saturada de NaHCO₃ para

eliminar el posible ácido carboxílico y materia prima que permanecieron sin reaccionar. El producto secundario imidazol se eliminó con las soluciones acuosas anteriormente mencionadas.

Las carboxamidas **1**, **2** y **4** presentan una banda ancha en 3097.22, 3127.21 y 3111.50 cm^{-1} , respectivamente, que corresponde al enlace amida (CONH-). De la misma manera, en 1627.12, 1626.32 y 1660.88 cm^{-1} se presentó la banda característica del enlace C=O del enlace carboxamida. El grupo nitro se evidenció en distintas bandas: para la carboxamida **1** en 1592.12 y 1361.24 cm^{-1} , para la **2** en 1543.6 y 1368.03; y para la carboxamida **4** en 1543.60 y 1368.03 cm^{-1} . La espectrometría mostró la presencia de $\text{M}+1$ 290 para la carboxamida **1** y de M^{++} 303 (10%) ión molecular. En el caso de la espectroscopia de RMN^1H , se confirmó la formación de la carboxamida debido a la señal del protón del tiazol aproximadamente en 8.64 ppm y a la presencia del sistema aromático del bencimidazol. Se presentaron los protones del enlace amida en los espectros de las carboxamidas **1** y **4** y no el de la **2**, sin embargo, la espectroscopia de masas mostró el ión molecular de $m/z=303$ correspondiente al peso molecular del compuesto **2**.

4.1.4 Carbamatos **3** y **5**

La obtención del carbamato **3** se llevó a cabo con un rendimiento elevado y este compuesto presentó constantes físicas bien definidas.

Para la obtención del carbamato **3** se exploraron varias rutas de síntesis. Inicialmente (Ruta I) se utilizó la misma con la que llevó a cabo la obtención de las carboxamidas **1**, **2** y **4**. Sin embargo al intentar esa ruta, se observó que la materia prima era muy insoluble en acetonitrilo, dimetilformamida e incluso en dimetilsulfóxido a 70°C, por lo que el intermediario de reacción no se formó. Por lo tanto se procedió a buscar una ruta alterna de síntesis.

Una ruta alterna (Ruta II) consistió en la protección, con el grupo t-Boc, de los dos grupos aminos de la materia prima **6** para la posterior activación del ácido carboxílico utilizando CDI, con el grupo amino del NTZ. Después se planeó desproteger los grupos amino en medio ácido y finalmente ciclar con cloroformiato de metilo y sulfato de S-metilisotiurea, obteniéndose el grupo carbamato en la posición dos del bencimidazol. La reacción de protección se obtuvo con buen rendimiento y pureza, sin embargo en el acoplamiento al NTZ el rendimiento y la pureza no fueron los deseados, de cualquier forma se decidió proseguir con el siguiente paso, pero la desprotección con HCl concentrado resultó infructuosa.

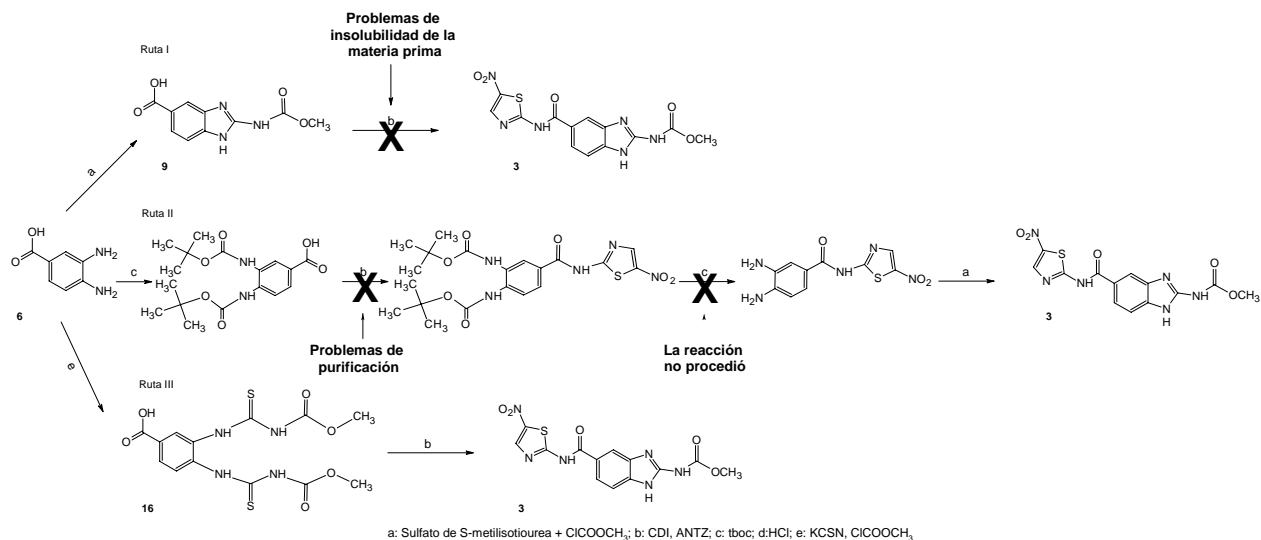
Otra ruta alterna (Ruta III) que se intentó fue la de sintetizar un derivado tipo tiofanato (bistioureido) a partir del ácido 3,4-diaminobenzóico **6** para posteriormente activar el ácido carboxílico con CDI para acoplarlo al NTZ y después ciclar para obtener el bencimidazol con el grupo carbamato de metilo en la posición dos utilizando dicitclohexilcarbodiimida (DCC). La reacción de formación del derivado del tiofanato resultó con alto rendimiento y pureza por lo que se procedió a activarlo con 1.5 equivalentes de CDI. La formación del intermediario también fue la proyectada, aunque el análisis por ccf permitió observar la presencia de un producto adicional. Por lo tanto se procedió a la adición del nucleófilo. La

obtención del crudo de reacción fue sencilla, como se ha descrito para las carboxamidas **1** y **2**. Sin embargo, fue necesario ponerlo a reflujo con acetona para eliminar algunas impurezas de alta polaridad. Al analizar la espectroscopia del compuesto, se observó la ausencia de las señales correspondientes a los cuatro hidrógenos –NH– que debía tener la molécula (presentes en el espectro de RMN¹H en 11-12 ppm en el derivado del tiofanato) y solamente se encontró un singulete que integró para tres hidrógenos asignados al grupo metilo y no seis, como se esperaba. En el espectro de masas modalidad FAB⁺ se observó un ión cuasimolecular [M+1] de m/z 363 correspondiente al compuesto **3** y en el espectro de infrarrojo no se presentaron las bandas típicas de C=S, que estuvieron presentes en la molécula precursora **16** en 1527.59 y 1040.12 cm⁻¹. De lo que se infirió que se había formado el bencimidazol **3**.

Por lo tanto es probable que el CDI, además de ser un agente activador del ácido carboxílico, funcionara como agente deshidratante que favoreció la ciclación de la molécula en las condiciones en las que se llevó a cabo la reacción.

Además de las señales en la RMN¹H mencionadas anteriormente, se presentaron las del sistema aromático del bencimidazol, la del protón del tiazol en 8.65 ppm y una singulete ancha que integró para dos hidrógenos y que se intercambiaron con D₂O correspondiente a los protones unidos al nitrógeno del bencimidazol en posición 1 y enlace amida.

Las ventajas de esta ruta fueron que se obtiene como producto mayoritario el carbamato que deseamos. Además de que el producto final se obtiene en menos pasos sintéticos.



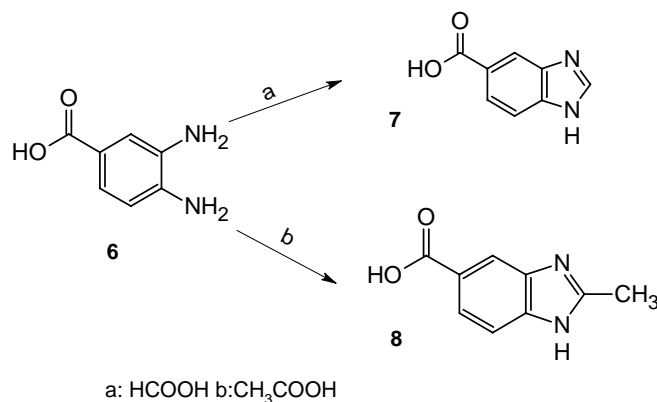
Esquema 7. Alternativas para la obtención del compuesto **3**

Debido a la experiencia anteriormente descrita, el carbamato **5**, se intentó obtener bajo las mismas condiciones, sin embargo la formación del derivado tipo tiofanato *N*-metilado no procedió de manera cuantitativa, obteniéndose principalmente el monotiouréido y no el bis-tiouréido. El grupo metilo unido al nitrógeno en posición *para* al ácido carboxílico dificultó, probablemente mediante impedimento estérico, el ataque nucleofílico del nitrógeno al intermediario de la reacción formado por el cloroformiato de metilo y el

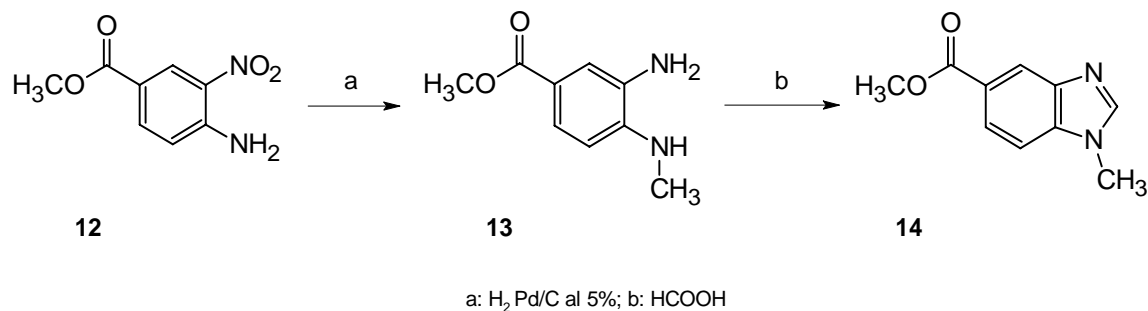
tiocianato de potasio. Por lo tanto se obtuvo mayoritariamente el derivado monotiouréido. En el espectro del infrarrojo de este compuesto se apreciaron las bandas características del enlace C=S en 1044.55 y 1528.06 cm^{-1} . En la RMN^1H se observaron tres señales en la zona aromática, dos singuletes que integraron para tres protones asignados al grupo metilos y tres hidrógenos que enlazan con heteroátomos. Se comprobó la obtención del monotiouréido con la espectrometría de masas, donde en la modalidad FAB^+ se observó un ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$ de m/z 284 que corresponde al monotiouréido.

4.1.5 Ácidos 7 y 8 y éster 14.

La síntesis de los intermediarios **7**, **8** y **14** resultó con buenos rendimientos y los productos obtenidos mostraron constantes físicas bien definidas.



Esquema 8. Síntesis de los compuestos **7** y **8**



Esquema 9. Síntesis del compuesto **14**

La obtención de los benzimidazoles **7**, **8** y **14** se llevó a cabo sin ninguna dificultad bajo el principio de la reacción de Phillips. El punto central para obtener un buen rendimiento es no excederse en la cantidad de base que se utiliza para que precipite el compuesto, de tal manera que el ácido carboxílico permanezca protonado y que el nitrógeno del benzimidazol permanezca. Por lo tanto se eligió al NaHCO_3 , que no posee propiedades básicas muy fuertes, para evitar la disolución del producto y por lo tanto rendimientos bajos.

En el caso del éster bencimidazólico **14**, también fue muy importante asegurarse que la formación, mediante hidrogenación catalítica, de la diamina **13** se hubiera llevado a cabo completamente. La formación de la diamina se aseguró mediante la realización de ccf que mostraron el consumo total de la materia prima **12**. De esta forma el rendimiento de la reacción se incrementó.

Los intermediarios **7** y **8** presentaron en el espectro de infrarrojo, la banda ancha típica del grupo carbonilo en 1640 cm^{-1} aproximadamente. Los compuestos **8** y **14** mostraron las bandas típicas del grupo metilo en 1445.16 y 2947.38 cm^{-1} , respectivamente. En la espectroscopia de RMN^1H los compuestos **7**, **8** y **14** mostraron las señales características del sistema aromático del bencimidazol. Los ácidos **7** y **8** presentaron singuletes amplios característicos de grupo hidroxilo en 12.6 ppm que intercambiaron con agua deuterada y los compuestos **8** y **14** presentaron las señales correspondiente al grupo metilo que poseen en su estructura. En las espectrometrías de masas los compuestos **7** y **8** mostraron un ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$ de m/z 163 y 177 respectivamente, el compuesto **14** mostró un ión molecular de m/z 190 correspondiente a su peso molecular.

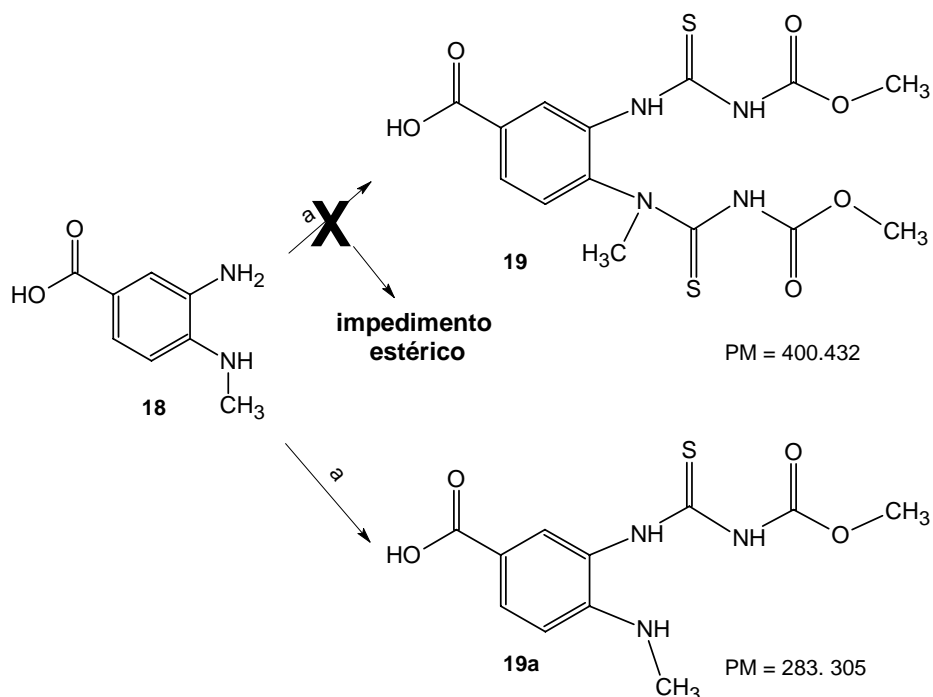
4.1.6 Derivados del tiofanato **16** y **19**

El compuesto **16** se obtuvo con una pureza adecuada y constantes físicas bien definidas. Sin embargo, el rendimiento fue bajo, es posible que haya ocurrido de esta manera debido a que en la purificación de los compuestos, probablemente, el producto deseado se disolvió en agua como consecuencia de la formación de puentes de Hidrógeno

La síntesis y purificación del compuesto **16** se llevó a cabo de una manera muy sencilla. Uno de los aspectos importantes de este tipo de reacción es el manejo correcto de los equivalentes de tiocianato de potasio y de cloroformiato de metilo que se utilizan. Es importante que estén en exceso debido a que existe la posibilidad de que, como lo deseamos, el nitrógeno del tiocianato ataque al carbono del carbonilo del cloroformiato de metilo sin embargo también existe la posibilidad de que el azufre del tiocianato ataque al carbono del carbonilo del cloroformiato de metilo. Lo que nos llevaría a la formación de un intermediario no deseado que no ciclaría a un bencimidazol con el grupo carbamato en posición dos.

La espectroscopia del infrarrojo mostró dos bandas características del enlace $\text{C}=\text{S}$ en 1040.12 y 1527.59 cm^{-1} , la RMN^1H mostró cuatro singuletes asignados a los hidrógenos enlazados a los nitrógenos del bistiouréido, así como dos singuletes correspondientes a los dos grupos metilos y un singulete amplio en 13 ppm asignado al ácido carboxílico.

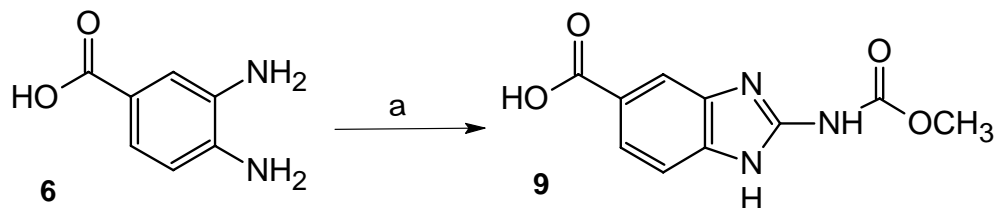
No se logró obtener cuantitativamente el intermediario **19** probablemente debido a que el metilo unido al grupo amino en posición 4 del ácido **18**, impidió que el nitrógeno atacara al carbono del $\text{S}=\text{C}=\text{N}-\text{R}$ en el intermediario de la reacción. Por lo tanto se obtuvo principalmente el derivado monotiouréido **19a**.



En el espectro de infrarrojo se apreciaron las bandas características del enlace C=S en 1044.55 y 1528.06 cm^{-1} . La RMN¹H evidenció la presencia de tres protones aromáticos, seis protones correspondientes a los dos grupos metilos y tres que enlazados a heteroátomos. Se comprobó la obtención del monotiuréido con la espectrometría de masas, donde se obtuvo un ión cuasimolecular [M+1] de m/z 284 (9%, M+1), correspondiente al monotiuréido **19a**. La teoría indica que es posible la formación del monotiuréido del nitrógeno *N*-metilado debido al efecto inductivo del metilo, sin embargo también es preciso considerar que los electrones de este nitrógeno entran en resonancia del anillo aromático por tener en posición *para* un grupo carbonilo.

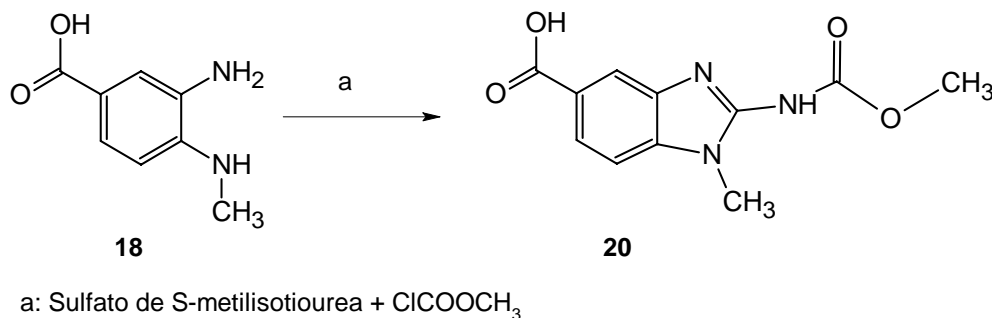
4.1.7 Carbamatos bencimidazólicos **9** y **20**

El carbamato **9** se obtuvo con buen rendimiento (92.7%) y en el caso del carbamato **20** el rendimiento no fue el esperado (60%) sin embargo ambos carbamatos se obtuvieron con un alto grado de pureza y, como se esperaba, con punto de fusión muy elevado.



a: Sulfato de *S*-metilisotiuronio + ClCOOCH_3

Esquema 11. Síntesis de los compuesto 9

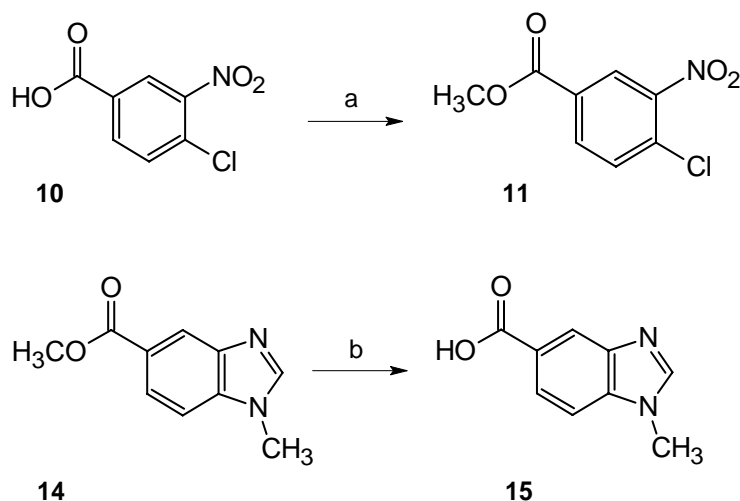


Esquema 12. Síntesis del compuesto 20

Durante la obtención del intermediario de la reacción, el paso fundamental fue controlar el rango de pH en el que se formó el intermediario. Si el pH está por arriba de 7.5 el intermediario se hidroliza y si está por debajo de 7.0 la reacción procede lentamente. El espectro de RMN¹H del compuesto **9** mostró tres señales en la zona aromática, un singulete que integró para tres protones asignados al grupo metilo y un singulete amplio en 12.52 ppm correspondiente a los hidrógenos unidos a heteroátomos. De la misma manera en los espectros en el infrarrojo se presentaron señales de C=O de carbamato en 1648.39 para **9** y 1656.48 para **20**. Además de esas señales, para el compuesto **20** apareció un singulete en 3.51 ppm correspondiente al grupo metilo de la posición uno del benzimidazol.

4.1.8 Éster **11** y ácido **15**

El éster **11** se obtuvo con muy buen rendimiento y un punto de fusión bien definido. Para esta reacción la esterificación no se llevó a cabo por el método de Fischer debido a que tiene la desventaja de que es necesario destilar el agua y agregar en exceso el alcohol, en cambio en el método de esterificación en medio ligeramente básico las condiciones de reacción son más simples. El espectro de RMN¹H mostró, en relación a la materia prima, la desaparición del protón en 13-14 ppm que correspondiente al OH así como la aparición de una señal en 3.89 ppm que integró para tres protones correspondientes al grupo metilo del éster, en el espectro de infrarrojo fue posible observar en 1716.28 cm⁻¹ una banda muy intensa que corresponde al grupo carbonilo del éster y en la espectroscopia de masas se encontró el ión molecular de m/z 215 correspondiente al peso molecular del compuesto.



a: $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, NaHCO_3 , DMF; b: MeOH, KOH

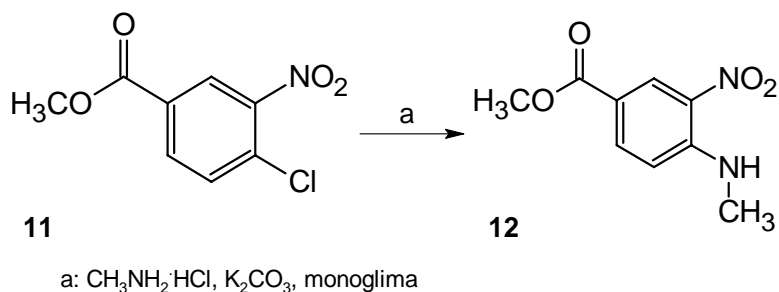
Esquema 13. Síntesis de los compuestos **11** y **15**

El ácido **15** se obtuvo con rendimiento aceptable y punto de fusión elevado. Se sintetizó utilizando la técnica de “hidrólisis de ésteres promovida por ión hidróxilo” en lugar de “hidrólisis de ésteres catalizada por ácidos”. Las ventajas del método que se utilizó sobre el de catálisis ácida de hidrólisis de ésteres son que el ión hidróxilo es mejor nucleófilo que el agua, que no se forman productos de transesterificación y, sobre todo, que no es necesario destilar el alcohol que se formaría como producto secundario. El espectro de RMN^1H mostró la aparición de un singulete amplio en la zona de 12-13 ppm, en relación a la materia prima, que corresponde al ácido carboxílico e intercambia con agua deuterada, en el espectro de infrarrojo se observó una banda ancha correspondiente al grupo OH aproximadamente en 3400 cm^{-1} y la espectrometría de masas mostró un ión cuasimolecular $[\text{M}+1]$ de m/z 177 que corresponde al peso molecular del ácido **15**.

4.1.9 Obtención de los compuestos **12** y **17**

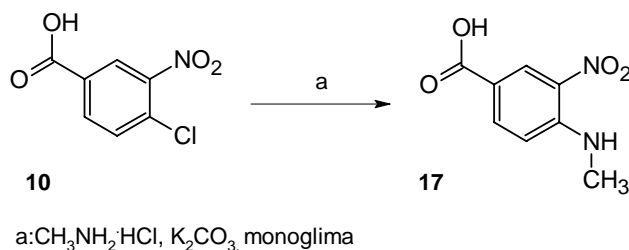
La síntesis de los compuestos **12** y **17** se llevó a cabo mediante una reacción de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ de **11** y **16**, respectivamente, se utilizó clorhidrato de metilamina como reactivo en esta reacción. Ambos productos se obtuvieron con rendimientos altos y constantes físicas bien definidas. La reacción de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ se vio favorecida para los compuestos **11** y **16** debido a la presencia del grupo nitro en posición *orto* al cloro y por el grupo éster y ácido en *para*, respectivamente. En el caso de la $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ del compuesto **12**, el tiempo fue muy importante porque si se excedía de una hora 45 minutos se empezaban a formar dos productos secundarios. Para la síntesis de **17**, solo se formó un producto secundario. Para ambas reacciones los lavados con agua fueron suficientes para eliminar a los productos secundarios. El compuesto **17** se obtuvo como sal, por lo que fue necesario acidificar el medio con HCl al 20% hasta que precipitó un sólido amarillo (pH= 3).

En el caso de **12**, el espectro de infrarrojo, mostró una banda fina de mediana intensidad atribuida a aminas secundarias en 3364.99 cm^{-1} a diferencia de su materia prima que no la muestra. En la RMN^1H se observó la aparición de un doblete en 2.98 ppm que integró para tres protones, que corresponden al grupo metilo de la metilamina. También se observó la aparición de un singulete en 3.33 ppm que integró para un protón e intercambió con D_2O que corresponde al protón de la amina secundaria. Se confirmó la obtención del **12** mediante la aparición de su ión molecular de m/z 210 en la espectroscopia de masas por IE.



Esquema 14. Síntesis del compuesto **12**

Para el compuesto **17** en el espectro de infrarrojo, se observó una banda fina de mediana intensidad en 3377.02 cm^{-1} que corresponde a una amina secundaria a diferencia de su materia prima **16** que no la muestra. En la RMN^1H se apreció en 3 ppm un doblete que integró para tres protones atribuidos al grupo metilo de la metilamina y en 8.55 ppm se observó un cuarteto que integró para un protón y que desaparece con D_2O que evidenció la presencia del $-\text{NH}-\text{CH}_3$.



Esquema 15. Síntesis del compuesto **17**

4.2 RESULTADOS BIOLÓGICOS

A continuación se presentan los resultados biológicos obtenidos al evaluar *in vivo* la eficacia como antiparasitarios de los compuestos **1-5** en el parásito *Hymenolepis nana* con el modelo anteriormente descrito.

Tabla 5. Resultados de actividad biológica antihimenoléptica de los compuestos finales **1-5**

Compuesto	Eficacia (%)	Toxicidad
1	20	Muy tóxico
2	100	No tóxico
3	70*	No tóxico
4	No presentó actividad	No tóxico
5	No presentó actividad	No tóxico

* Este compuesto presentó problemas de solubilidad acuosa

Es posible agrupar los compuestos **1-5** evaluados en dos grupos: los que fueron eficaces contra *Hymenolepis nana* en el modelo experimental utilizado, y los que no presentaron actividad en el mismo modelo.

Los compuestos que presentaron actividad farmacológica tienen en común el esqueleto 1-*H* bencimidazólico. Lo que nos indica que la actividad farmacológica se ve favorecida cuando el efecto tautomérico está presente. Debido a que el blanco farmacológico de los compuestos **1-5** es desconocido, solo es posible suponer que esta última observación es ocasionada a la formación de un puente de hidrógeno que favorece el anclaje de la molécula en alguna enzima, interrumpiendo alguna actividad esencial para el parásito.

Así mismo la sustitución en la posición 2 es sumamente importante tanto para la actividad farmacológica como para la toxicidad. Se evidenció que, en la posición 2, la presencia del grupo metilo es la que más propicia la actividad farmacológica, seguida de la del grupo carbamato de metilo y finalmente el compuesto no sustituido en la posición dos. Posiblemente estas anotaciones fueron obtenidas debido a la pobre solubilidad del compuesto **3** en comparación con la solubilidad aceptable del compuesto **2**.

También se puede extraer que los compuestos cuya sustitución en la posición 2 es diferente al hidrógeno no son tóxicos. Esta observación es muy importante ya que, junto con los datos anteriormente discutidos, es posible detectar las características estructurales que son requeridas para que la molécula presente actividad antihimenoléptica, sea soluble y al mismo tiempo no sea tóxica.

CONCLUSIONES

5.- CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo experimental mostraron que los compuestos **1**, **2** y **3** sintetizados poseen actividad antihymenoléptica.

Se evidenció la relevancia de efecto tautomérico del bencimidazol en la actividad antihymenoléptica. Para que el compuesto sea activo contra *H. nana* no debe ser sustituido el hidrógeno en la posición 1 del bencimidazol.

La sustitución en la posición 2 del bencimidazol tuvo consecuencias importantes en la actividad farmacológica, la molécula fue más activa cuando en la posición 2 tuvo como sustituyente al grupo metilo, después al carbamato de metilo y finalmente al hidrógeno. La sustitución en la posición 2 por el hidrógeno presentó problemas de toxicidad en el modelo experimental utilizado.

Los rendimientos de las síntesis de los compuestos finales (**1-4**) fueron aceptables considerando que se obtuvieron rendimientos del 41 al 62%, con excepción del rendimiento del compuesto **5** (10%). Para los compuestos intermediarios se obtuvo en la mayoría de los casos un rendimiento mayor al 75%.

Se caracterizaron las moléculas sintetizadas utilizando técnicas espectroscópicas de RMN ¹H, espectrometría de masas y espectroscopia en el infrarrojo.

Se logró la síntesis de bencimidazoles 2-carbamato de metilo a partir del derivado tipo tiofanato (bistiouréido) correspondiente utilizando la ruta de síntesis en la que el *N,N'*-carbonildiimidazol actúa como agente acoplante facilitando la formación del enlace amida y como agente que promueve la ciclación del intermediario al bencimidazol 2-carbamato de metilo.

BIBLIOGRAFÍA

6.- Bibliografía

1. Koneman, E. et al. **Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas Color. 5ª Ed.** Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1999. 1080-1082.
2. Budavari, S. et al. **The Merck index. An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 11th Ed.** Merck & Co., Inc. New Jersey. 1989. 6430 y 7712.
3. Reynoldson, J. et al. Chapter 22. **New approaches in chemotherapy. *Giardia*: From molecules to disease.** Lacey, E. Mode of action of Benzimidazoles. Parasitology Today, Vol. 6. No 4. 1990. 112-115.
4. Herbert, M. **Treatment of intestinal parasitic infections: a review of nitazoxanide.** Trends in Parasitology Vol.18 No.3 March 2002
5. Raether, W. **Nitroheterocyclic drugs with broad spectrum activity.** Parasitol. Res. 2003. 90: S19–S39
6. Avendaño, C. **Introducción a la Química Farmacéutica 2ª edición.** 2001. McGraw-Hill Interamericana. 67
7. Reynoldson, J. A., R. C. A. Thompson, and B. P. Meloni. 1991. **The mode of action of benzimidazoles against *Giardia* and their chemotherapeutic potential against *Giardia* and other parasitic protozoa.** 587-593. In G. H. Coombs, and M. J. North (ed.), Biochemical Protozoology. Taylor & Francis Ltd., London, United Kingdom.
8. Sharma, S. et al. **The benzimidazole anthelmintics chemistry and biological activity.** Prog. Drug. Res. 1983; 27:85-161.
9. Sharma, S. **Design new drugs for helminth diseases: Lead optimization in benzimidazoles.** Adv. Drug. Res. 1994. 25. 105-163.
10. Sharma, S. **Approaches to design and synthesis of antiparasitic drugs.** Pharmacochimistry library. Vol. 25, Elsevier Science, Holanda.1997.
11. Navarrete, G. Tesis doctoral. **Diseño, síntesis y actividad antiparasitaria de derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol.** Facultad de Química, UNAM. México, D.F., 2004.
12. Díaz, E. **Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in children on Mexico.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 68(4), 2003. 384–385

13. Wermuth, C. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 1996. Academic Press Limited. 262-264, 280-286
14. Ávila, García, Gavilán, León, Méndez, Pérez, Rodríguez, Salazar, Santos y Soto. **Química Orgánica. Experimentos con un enfoque ecológico 1ª Ed.** UNAM. México, DF. 2001. 554-560 y 562-564.

APÉNDICE

Apéndice A. Métodos de preparación

Ácido 1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (7)

En un matraz de bola de 200 mL, provisto de columna Vigreux y con atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 10 g del ácido 3,4-diaminobenzóico **6** en 30 mL de ácido fórmico al 98% más dos gotas de HCl concentrado. La mezcla de reacción se agitó continuamente y calentó a 100 ° C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se tomó una muestra de la reacción para observar el avance de la reacción por análisis de ccf; el resultado reveló el consumo total de la materia prima. La reacción se dejó enfriar, y posteriormente se le agregaron 100 mL de hielo y neutralizó con NaHCO₃. Finalmente la suspensión se separó por filtración y el sólido residual se lavó con agua hasta pH neutro. Esquema 1.

Ácido 2-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (8)

El compuesto **8** se obtuvo al tratar de 10 g del ácido **6** con 30 mL de ácido acético glacial más dos gotas de HCl concentrado en un matraz de bola de 200 mL, provisto de una columna Vigreux bajo atmósfera de nitrógeno, con agitación continua y calentamiento a 110 °C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo una ccf reveló el consumo total de la materia prima. La reacción se dejó enfriar, se le adicionaron 100 g de hielo y neutralizó con NaHCO₃. Por último, se filtró y lavó con agua hasta pH neutro. Esquema 1.

Ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico (9)

Para la síntesis del compuesto **9** se preparó primero el siguiente intermediario: En un matraz de bola de 100 mL y provisto de agitación magnética, se suspendieron 1.68 g (1 equivalente) de sulfato de *S*-metilisotiurea en 5 mL de agua. El sistema se enfrió a 5 °C en baño de hielo, para posteriormente adicionar 2 equivalentes de cloroformiato de metilo. Se adicionó, gota a gota, una solución acuosa de NaOH al 25% de tal manera que el pH oscilara entre 7.0 y 7.5 y la temperatura entre 5 y 15 °C. Durante la adición se observó la aparición de un sólido blanco esponjoso. La adición de NaOH se detuvo cuando el pH de la mezcla se estabilizó.

Posteriormente se adaptó al matraz que contenía el intermediario un sistema de 3 frascos lavadores con solución de hipoclorito de sodio (Figura 9) conectados a través de una columna Vigreux y se adicionó 0.9281 g de ácido 3,4-diaminobenzóico (**6**), que previamente se suspendió en 10 mL de solución amortiguadora recién preparada de acetatos (12.4 mL de AcOH, 4.4 g de acetato de sodio y 44 mL de agua). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 5 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió sobre hielo-agua, filtró al vacío y lavó en repetidas ocasiones con agua. El sólido obtenido mostró ser un solo producto en la ccf. Esquema 1.

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

En un matraz de bola de 500 mL provisto de una columna Vigreux, se pesaron bajo atmósfera de nitrógeno, 1.43 g (1.3 equivalentes) de *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) y 1.1 g (1 equivalente) de **7**. Se agregaron 200 mL de acetonitrilo anhidro y se calentó a 50 °C durante 3 horas. Una ccf reveló el consumo total de la materia prima y la aparición de un producto intermediario con un $R_f = 0.52$ en el sistema cloroformo/metanol 90:10. Posteriormente se agregaron 0.9850 g (1 equivalente) de 2-amino-5-nitrotiazol y 1 mL (1 equivalente) de 1,8-diazabicyclo[5.4.0.]undec-7-eno (DBU). La reacción se calentó a 60 °C durante 24 horas. Una ccf reveló el consumo total de la materia prima por lo que se procedió a filtrar la reacción. El sólido obtenido se agitó con 50 mL de una solución de ácido cítrico al 5% durante 24 horas. Nuevamente se filtró y se agitó con 50 mL de una solución saturada de NaHCO₃ durante 24 horas. Finalmente la mezcla de reacción se volvió a filtrar y una ccf reveló la presencia de un solo compuesto. Esquema 1.

2-metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (2)

El compuesto **2** se obtuvo, en un matraz de bola de 500 mL adaptado a una columna Vigraux y bajo atmósfera de nitrógeno, mediante la activación de 1.0 g del ácido **8** con 1.19 g (1.3 equivalentes) de CDI en 50 mL de acetonitrilo a 60 °C por 6 horas. Una vez transcurrido este tiempo, una ccf reveló el consumo total de la materia prima y la aparición de un compuesto de $R_f = 0.65$ en el sistema cloroformo/metanol 90:10. Se agregaron 0.907 g (1.1 equivalentes) de NTZ y se calentó a 50 °C durante dos días. Una ccf reveló la desaparición del intermediario y se procedió a eliminar el disolvente a presión reducida. El sólido obtenido fue lavado con 50 mL de una solución de ácido cítrico al 5% y filtrado. Por último, el sólido fue resuspendido en 50 mL de una solución saturada de NaHCO₃, filtrado y lavado tres veces con 20 mL de agua. Una ccf reveló la presencia de un solo compuesto. Esquema 1.

Ácido 3,4bis{[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino}benzóico benzóico (16)

Se pesaron 5.0 g (0.56 equivalentes) de tiocianato de potasio en un matraz redondo de 250 mL y se agregaron 150 mL de acetonitrilo con agitación constante. Posteriormente se adicionaron, gota a gota, 3.8 mL (0.54 equivalentes) de cloroformiato de metilo con un embudo de adición con igualador de presiones. Una vez terminada la adición, la reacción permaneció en estas condiciones durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 2.0 g (0.143 equivalentes) del ácido 3,4-diaminobenzóico (**6**). La mezcla de reacción fue rápidamente adaptada a un sistema de tres frascos lavadores con hipoclorito de sodio. Y se calentó a reflujo durante 1 hora. Finalmente se dejó enfriar la reacción, se le agregaron 100 mL de hielo, se filtró y lavó con agua en repetidas ocasiones. Una ccf reveló el consumo total de la materia prima. Esquema 2.

5-[[[(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-il] carbamato de metilo (3)

La preparación del compuesto **3** se realizó pesando, en un matraz de bola de 250 mL provisto de una columna Vigreux y con atmósfera de nitrógeno, 1.0 g del compuesto **16** y activándolo con 0.6325 g (1.5 equivalentes) de CDI en 150 mL de acetonitrilo a 60 °C y con agitación constante. La mezcla de reacción se dejó en estas condiciones durante 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo una ccf reveló el consumo total de la materia prima y la formación de un compuesto con un $R_f = 0.71$, cuya mancha no estaba bien definida en la cromatoplaca. Por lo tanto se agregaron a la mezcla de reacción 0.376 g de NTZ y se calentó a 70 °C durante dos días. Cuando finalizó este tiempo, el acetonitrilo se eliminó mediante una destilación a presión reducida. El sólido obtenido se resuspendió y agitó en 50 mL de una solución saturada de NaHCO_3 durante un día. Posteriormente se filtró y lavó con 20 mL de agua y se resuspendió y agitó en 50 mL de acetona a reflujo durante 2 horas. Finalmente se filtró y secó al vacío. Una ccf reveló la presencia de un solo producto de $R_f = 0.34$ en el sistema cloroformo/metanol 90:10. Esquema 2.

4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (11)

En un matraz de dos bocas de 250 mL, provisto con embudo de adición y termómetro, se disolvieron 30.0 g (0.1488 mol) del ácido 4-cloro-3-nitrobenzónico (**10**) en 90 mL de dimetilformamida a 40 °C. Posteriormente se adicionaron 25.0 g (2 equivalentes) de NaHCO_3 en suspensión acuosa (25 mL). Se verificó que el pH estuviera en 7 y se procedió a agregar gota a gota 21.3 mL (1.5 equivalentes) de sulfato de dimetilo a 60° C. Al cabo de la adición, la mezcla de reacción se dejó bajo estas condiciones durante 1 hora. Una ccf evidenció el consumo total de la materia prima. Por lo que la mezcla de reacción se vertió en 200 g de hielo, filtró al vacío y lavó en 3 ocasiones con 200 mL de agua. Esquema 3.

4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo (12)

La obtención del éster **12** se llevó a cabo en un reactor PARR de 300 mL, donde se mezclaron 7.2 g (0.0335 mol) de 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo (**11**), 13.54 g (3 equivalentes de K_2CO_3 , 200 mL de glima y 8.92 g (4 equivalentes) de clorhidrato de metilamina. El vaso se cerró herméticamente y se adaptó al reactor. Se calentó a 130° C durante 1 hora y 45 minutos a 30 bar y con agitación constante. Una vez transcurrido este tiempo, una ccf reveló el consumo total de la materia prima, por lo que la mezcla de reacción se dejó enfriar. Posteriormente se vertió en 400 g de hielo, se filtró al vacío y se lavó con agua en repetidas ocasiones. La ccf reveló el consumo total de la materia prima. Esquema 3.

3-amino-4-(metilamino) benzoato de metilo (13)

Para la obtención del compuesto **13** a partir del compuesto **12**, en una botella de hidrogenación de 500 mL, se mezclaron 9.82 g de **12** y 0.982 g del catalizador Pd/C al 5%. Se adicionaron 200 mL de metanol bajo atmósfera de nitrógeno y la botella fue colocada en el sistema de hidrogenación. La línea de hidrógeno fue purgada con 3 cargas de 30 lb/in² de H₂, después, se inició la reacción con 60 lb/in². La reacción duró 45 minutos consumiendo 180 lb/in². Una ccf reveló el consumo total de la materia prima. Se eliminó el catalizador filtrando al vacío sobre una cama de celita y posteriormente se eliminó el disolvente, concentrándolo en el rotaevaporador a presión reducida. El sólido obtenido inmediatamente se utilizó para la siguiente reacción. Esquema 3.

1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo (14)

El compuesto **13** se resuspendió en un matraz de bola de 200 mL, adaptado a una columna Vigreux y bajo atmósfera de nitrógeno, en 30 mL de ácido fórmico, más dos gotas de HCl, que se calentó a 100.5 °C durante una noche y con agitación constante. Una vez transcurrido este tiempo, una ccf reveló el consumo total de la materia prima. Por lo que se dejó enfriar la mezcla de reacción y se vertió en 80 g de hielo. El exceso de ácido fórmico fue neutralizado con NaHCO₃ y el sólido obtenido se filtró y lavo en repetidas ocasiones con agua hasta pH neutro. Se obtuvo un solo producto según la ccf. Esquema 3.

Ácido 1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico (15)

Para la obtención del ácido **15**, en un matraz de bola de 150 mL de 2 bocas, adaptado a una columna Vigreux y a un embudo de adición, se disolvieron 8.3 g del éster **14** y 4.8 g (2 equivalentes) de KOH en solución acuosa en 50 mL de metanol. La mezcla se calentó a 60 °C durante 3 horas. Una ccf reveló el consumo total de la materia prima. Por lo que la mezcla de reacción se vertió en agua y se llevó a pH 4 con H₂SO₄ al 20%. EL sólido obtenido se filtró al vacío y se lavó con agua hasta pH neutro. El producto obtenido presentó una sola zona de absorción en la ccf bajo luz UV. Esquema 3.

1-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (4)

En un matraz de bola de 200 mL adaptado a columna Vigreux y bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 1.8 g (1.3 equivalentes) de CDI y 1.5 g del ácido **14**. Se agregaron 80 mL de acetonitrilo y se agitó y calentó a 50 °C durante 3 horas y media. Una ccf reveló la formación del intermediario reactivo y el consumo de la materia prima. Una vez transcurrido este tiempo, se adicionaron 1.36 g (1 equivalente) de NTZ y el sistema se calentó a 60 °C con agitación constante durante 48 horas. Se procedió a eliminar el disolvente a presión reducida y el sólido obtenido se resuspendió en 50 mL de una solución de ácido cítrico al 5%, se filtró al vacío y el sólido obtenido fue resuspendido nuevamente en 50 mL de una solución saturada de NaHCO₃. Finalmente se lavó con agua, se filtró al vacío y se dejó secar el producto. Esquema 3.

Ácido 4-metilamino-3-nitro benzóico (17)

En un reactor PARR de 700 mL, se mezclaron 30 g (1 equivalente) del ácido **10**, 61.69 g (3 equivalentes) de K_2CO_3 , 550 mL de glima y 40.19 g (4 equivalentes) de clorhidrato de metilamina. El vaso se cerró herméticamente y se armó el sistema. Se calentó a 130 °C durante 24 horas a 30 bar y con agitación constante. Una vez transcurrido este tiempo, una ccf reveló el consumo total de la materia prima, por lo que la mezcla de reacción se dejó enfriar. Posteriormente se filtró al vacío y lavó con 100 mL de glima. El sólido obtenido se disolvió en agua y se precipitó acidificando la solución con HCl 20% hasta hasta pH 3. Finalmente se filtró y lavó con agua en repetidas ocasiones hasta pH neutro. Esquema 4.

Ácido 3-amino-4-(metilamino)benzóico (18)

El compuesto **18** se obtuvo mediante reducción por hidrogenación catalítica. En una botella de hidrogenación de 500 mL, se mezclaron 3.0 g de **17** y 0.3 g del catalizador Pd/C al 5% bajo atmósfera de nitrógeno. Se adicionaron 150 mL de metanol y la botella fue colocada en el sistema de hidrogenación. La línea de hidrógeno fue purgada con 3 cargas de 30 lb/in² de H₂, después, se inició la reacción con 60 lb/in² y se calentó a 30 °C. La reacción duró 4 horas y media y se consumieron 50 lb /in². Una ccf reveló el consumo total de la materia prima. Se eliminó el catalizador filtrando al vacío sobre una cama de celita y posteriormente se eliminó el disolvente concentrando en el rotaevaporador a presión reducida. El sólido obtenido se procesó inmediatamente para la obtención de los productos **19** y **20**. Esquema 4.

Ácido 3-[[(metoxicarbonil) carbamotioil] amino]-4-[[(metoxicarbonil) carbamotioil] (metil) amino] benzóico (19)

La síntesis del compuesto **19** se llevó a cabo mediante la preparación del intermediario según se indica a continuación: en un matraz de bola de 200 mL se pesaron 5.82 g (0.05987 mol) de tiocianato de potasio y se adicionaron 150 mL de acetonitrilo. Se agregó, gota a gota, 4.4 mL (0.05773 mol) de cloroformiato de metilo. Posteriormente la mezcla de reacción se mantuvo en agitación y calentamiento a 40 °C durante una hora.

Después se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta 30 °C y se agregaron 2.54 g (0.01529 mol) del ácido **18** y rápidamente se adaptó el matraz de bola a una columna Vigreux y a un sistema de 3 frascos lavadores con hipoclorito de sodio. La reacción se calentó a reflujo por 4 horas. Una vez transcurrido este tiempo una ccf reveló el consumo total de la materia prima, por lo que se procedió a dejar enfriar la reacción y verterla en 100 g de hielo. Después se filtró al vacío, el sólido obtenido se lavó con agua en repetidas ocasiones. Esquema 4.

Ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico (20)

El compuesto **20** se obtuvo mediante la reacción del intermediario reactivo con la diamina. El intermediario se preparó en un matraz de bola de 250 mL donde se suspendieron 2.318 g (1 equivalente) de sulfato de *S*-metilisotiourea en 4 mL de agua. El sistema se enfrió a 5° C y posteriormente se adicionaron 2.57 mL (2 equivalentes) de cloroformiato de metilo. Después, mediante un embudo de adición se agregó gota a gota 4 equivalentes de solución acuosa de NaOH al 25% con el objetivo de que el pH permaneciera entre 7-7.5 y a una temperatura entre 5-15 °C. Durante la adición de la base fuerte, se observó la aparición de un sólido blanco esponjoso. La adición terminó hasta que el valor de pH se estabilizó.

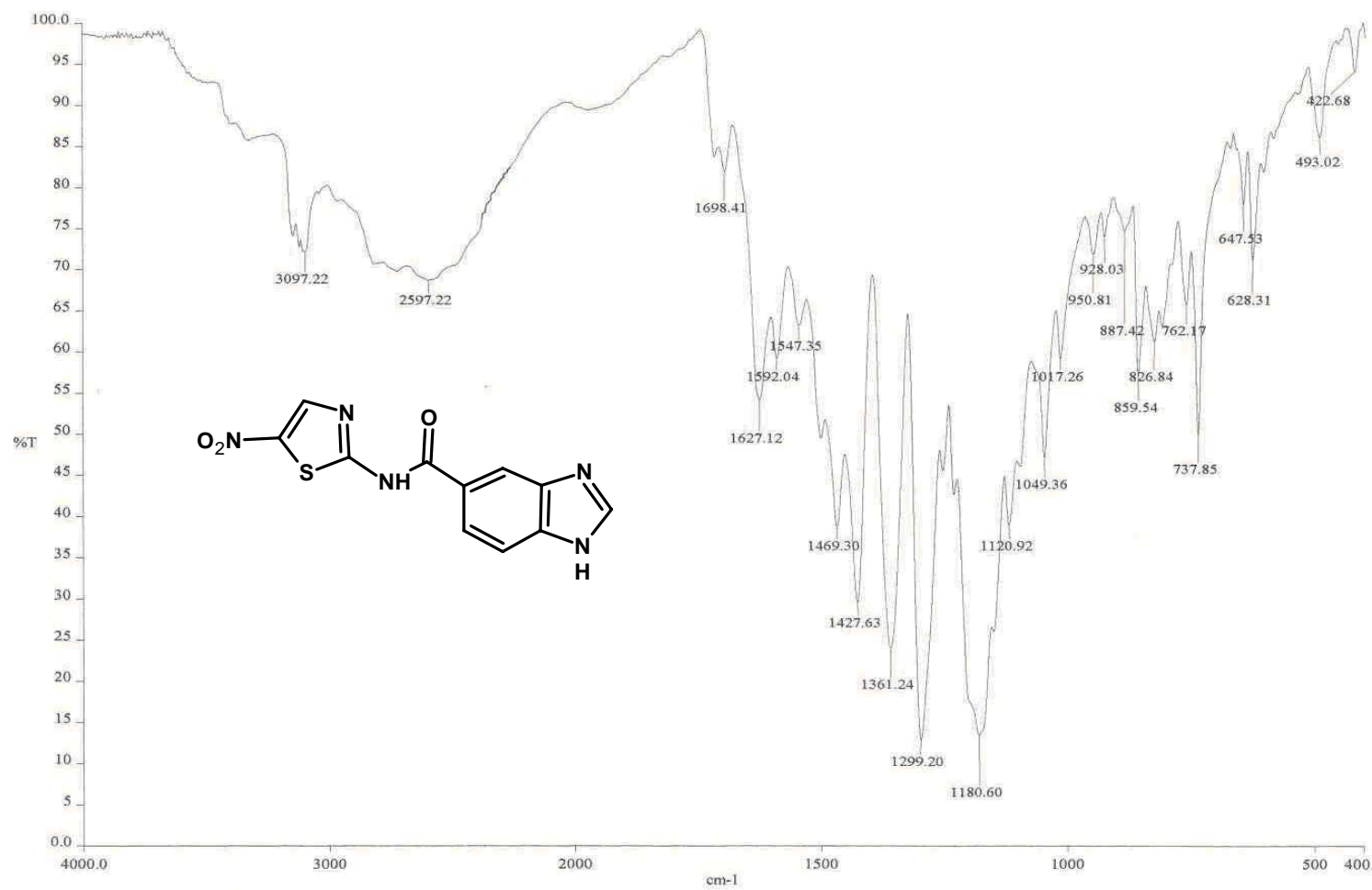
Posteriormente se agregaron 2.519 g (1 equivalente) de la diamina **18** disuelta en 25 mL de solución, recién preparada, amortiguadora de acetatos (12.4 mL de AcOH + 4.4 g acetato de sodio + 44 mL de agua) y rápidamente se adaptó el sistema a una columna Vigreux y a un sistema de 3 frascos lavadores con hipoclorito de sodio. La mezcla de reacción se calentó a reflujo con agitación constante durante 5 horas. Una vez transcurrido este tiempo una ccf reveló el consumo de la materia prima. Por lo tanto la mezcla de reacción se dejó enfriar y vertió en 100 g de hielo. El sólido obtenido se filtró al vacío y se lavó con agua en repetidas ocasiones. Esquema 4.

1-metil-5-[[[(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-il]carbamato de metilo (5)

La obtención del compuesto final **5** se realizó en un matraz de bola de 200 mL donde se agregó 1.0 g (1 equivalente) del ácido **19** y, bajo atmósfera de nitrógeno, 1.01 g (2.5 equivalentes) de CDI. Se agregaron 150 mL de acetonitrilo y al matraz se le adaptó una columna Vigreux, se agitó y calentó a 60 ° C bajo atmósfera de nitrógeno durante 5 horas. Una vez transcurrido este tiempo una ccf reveló la aparición de un intermediario reactivo y el consumo total de la materia prima. Por lo tanto se procedió a agregar 0.36 g (1 equivalente) de NTZ y a calentar a 70 ° C. Una vez transcurridas 24 horas, todavía había NTZ, por lo que se procedió a la adición de 0.4 mL de DBU (1 equivalente aproximadamente) y se dejó reaccionar por otras 24 horas. Finalmente se eliminó el disolvente a presión reducida. El sólido se resuspendió en 50 mL de una solución de ácido cítrico al 5% durante 24 horas, se filtró al vacío y lavó. Nuevamente se resuspendió en 50 mL de una solución saturada de NaHCO₃ durante 24 horas, se filtró al vacío y lavó. Finalmente la mezcla de reacción se resuspendió en 30 mL de acetona a temperatura de reflujo durante dos horas. Se filtró al vacío y dejó secar. Esquema 4.

Apéndice B. Colección de Espectros

En las siguientes páginas se presentan los espectros de infrarrojo (IR), Espectrometría de Masas (EM) y Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMNH¹) de las materias primas y los compuestos sintetizados.



Espectro 1, IR *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida

[Mass Spectrum]

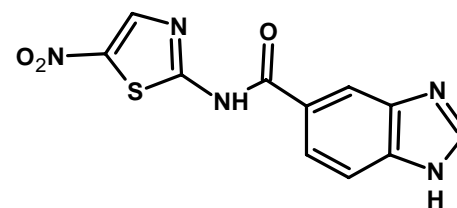
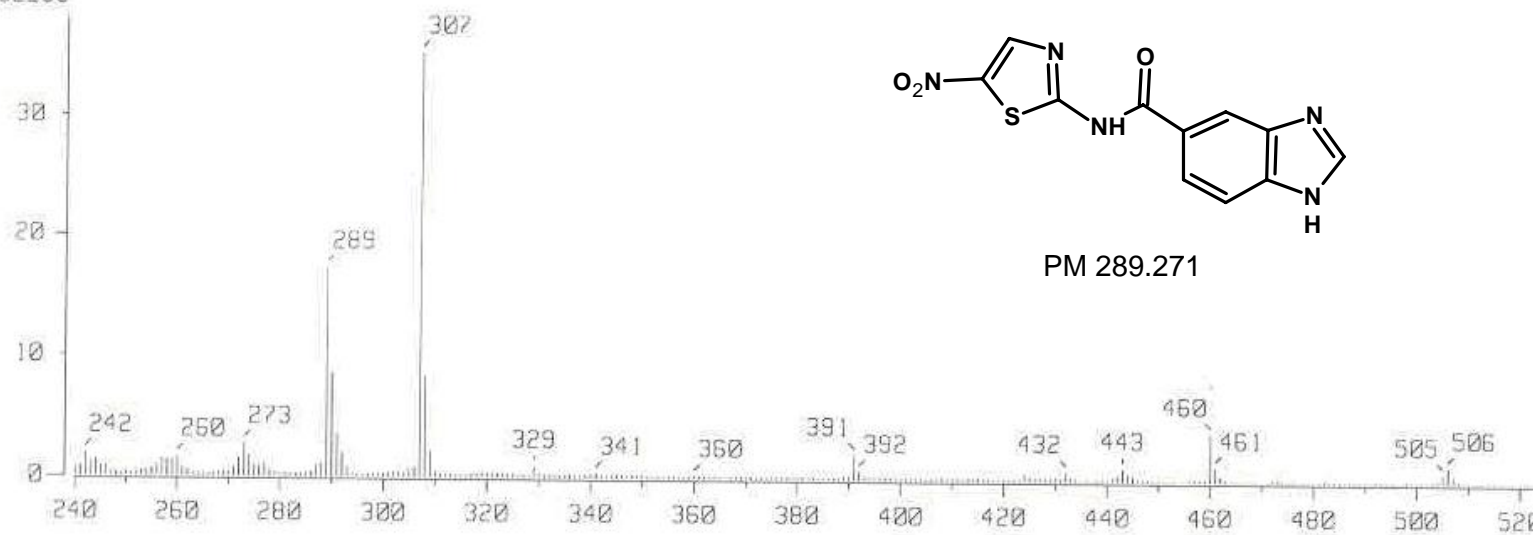
RT : 2.56 min

Scan# : (28,48)

Ion Mode : FAB+

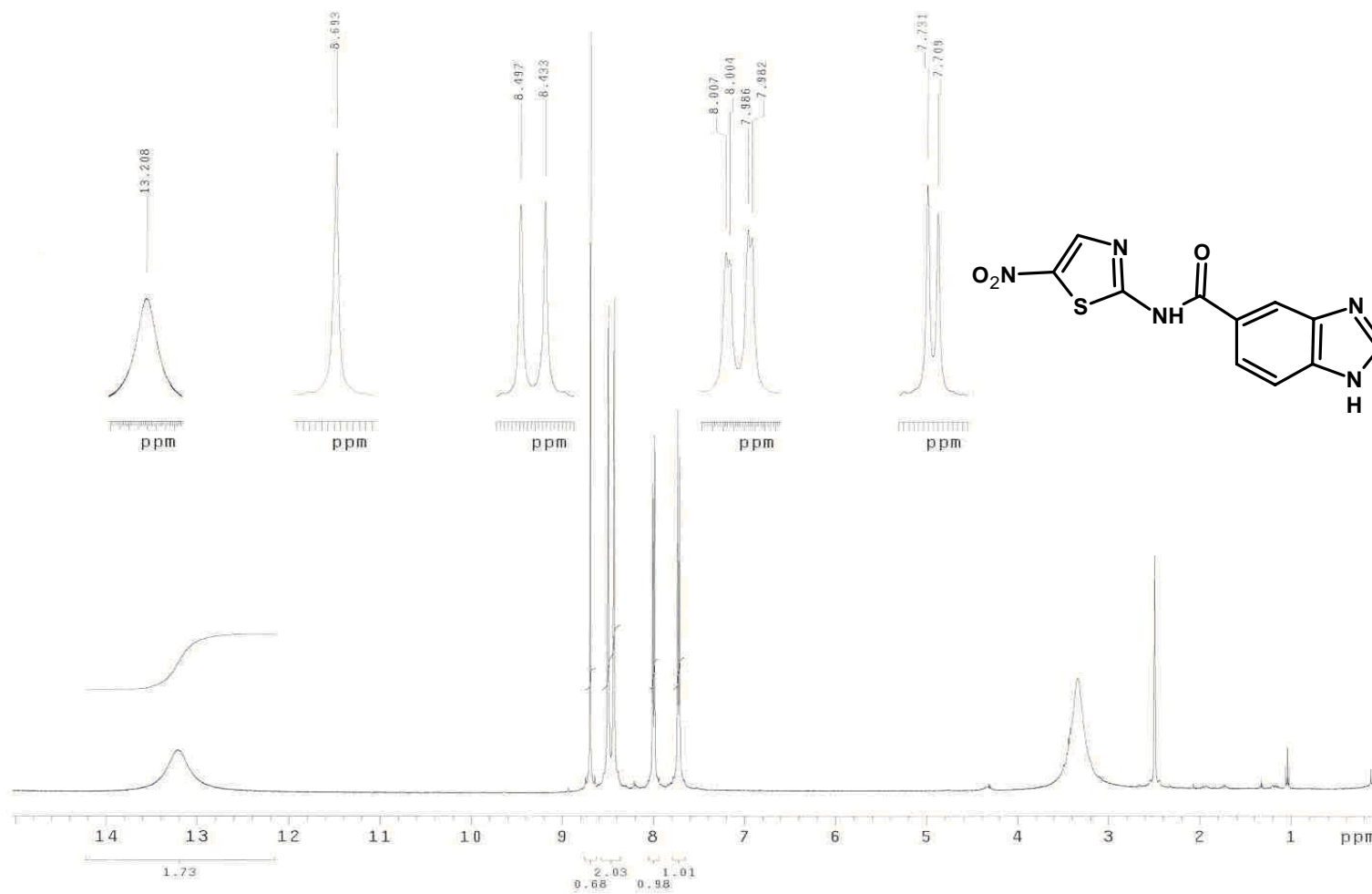
Int. : 399.38

1592253

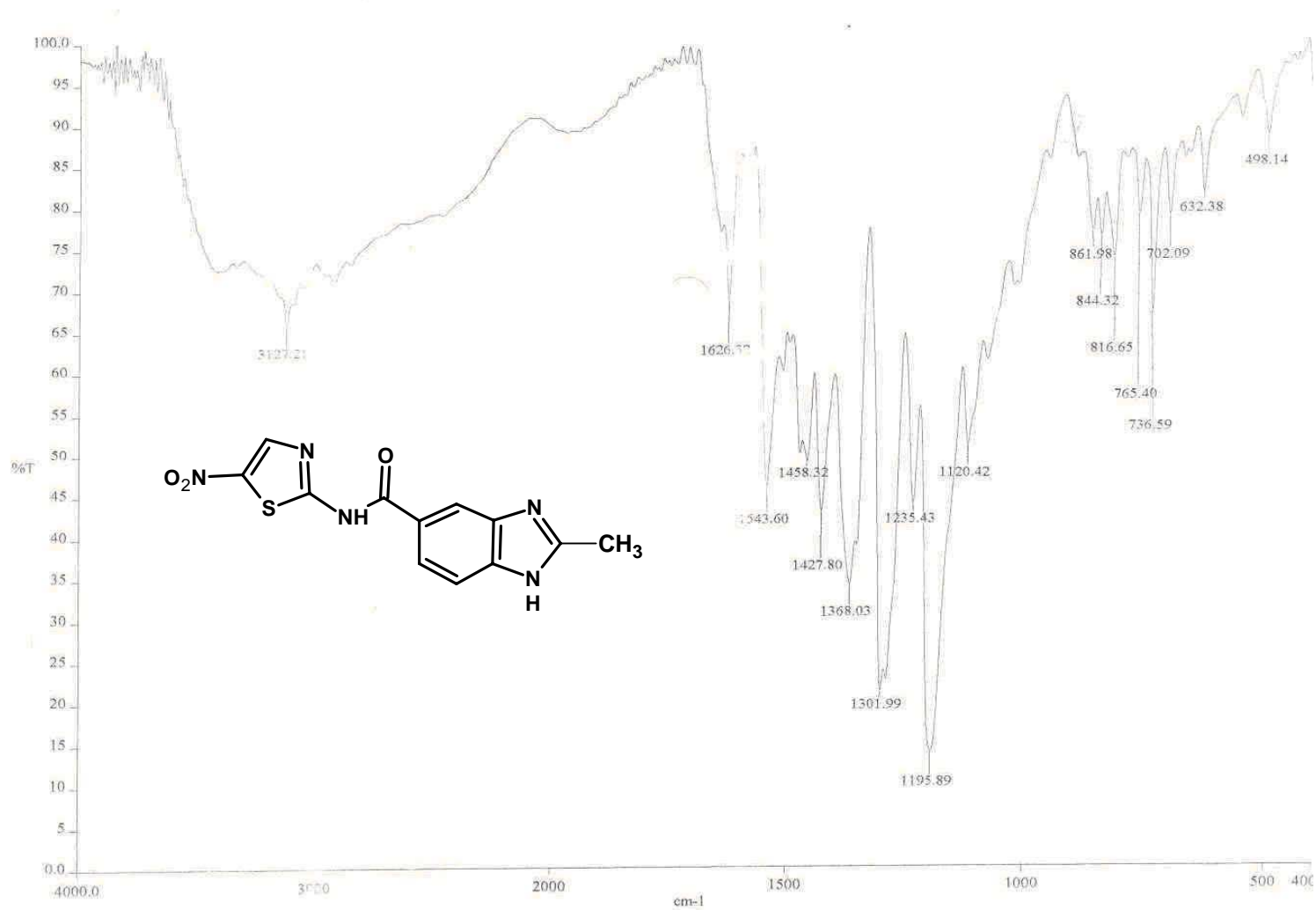


PM 289.271

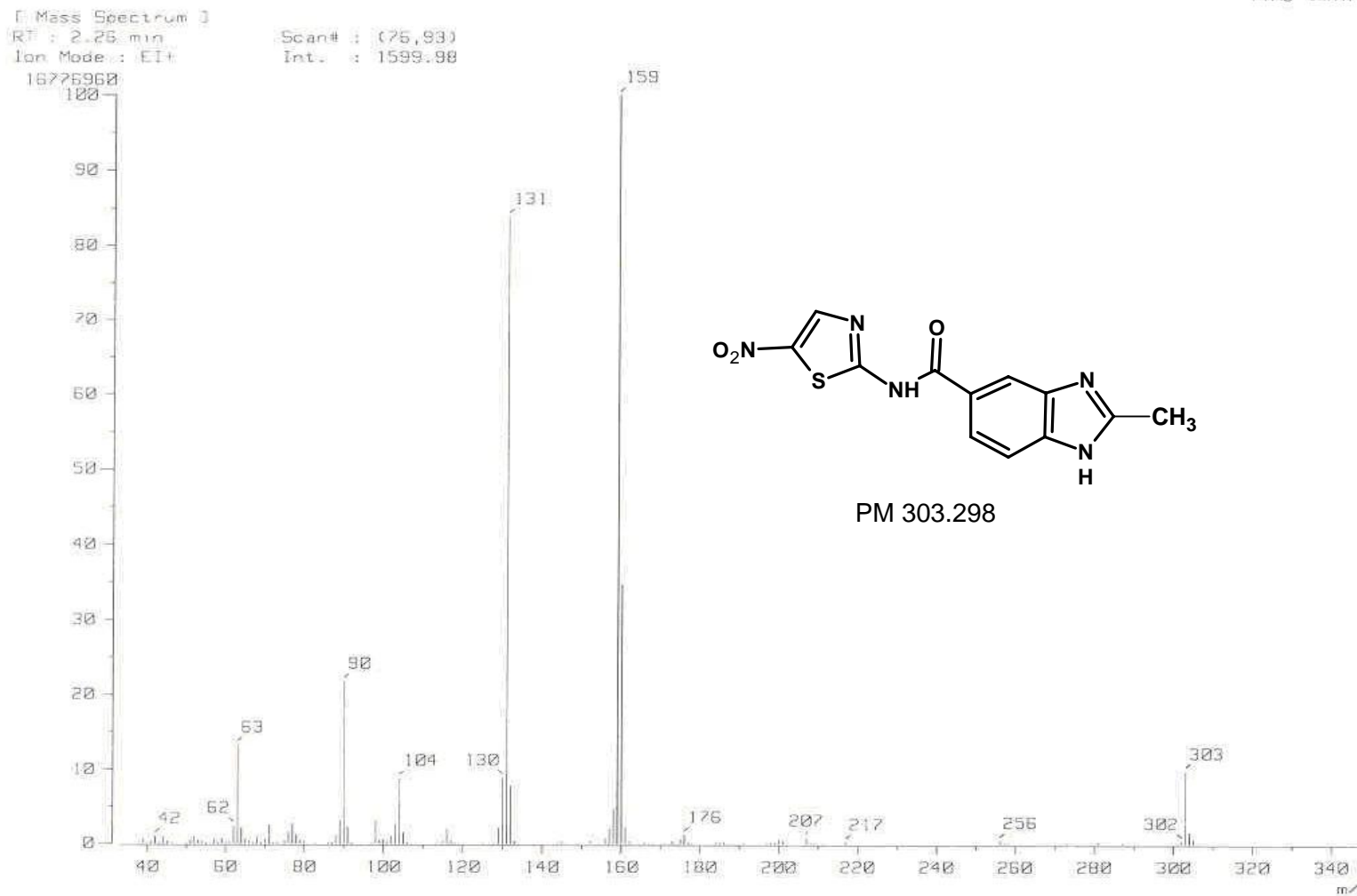
Espectro 2, EM N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



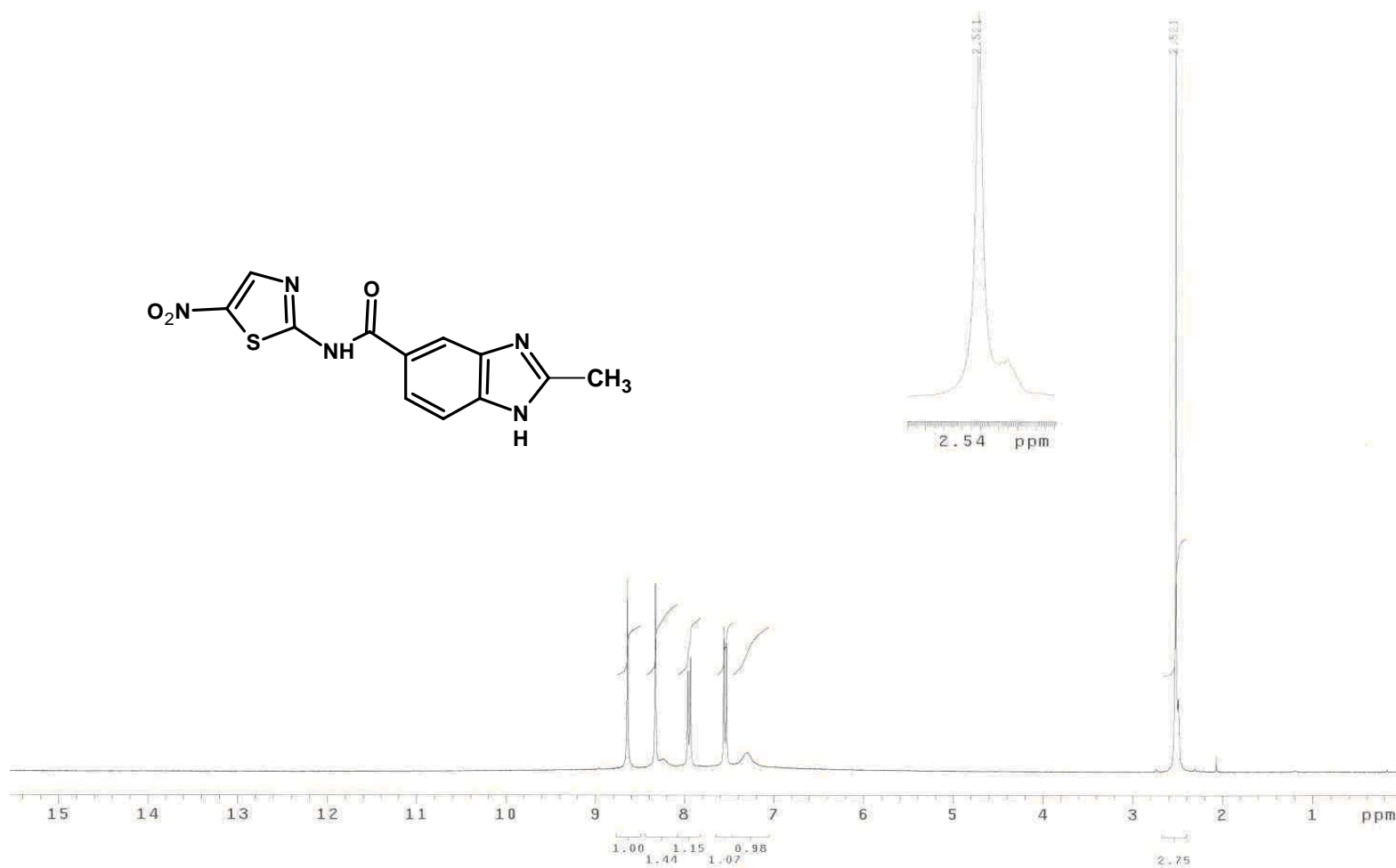
Espectro 3, RMN ^1H *N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida



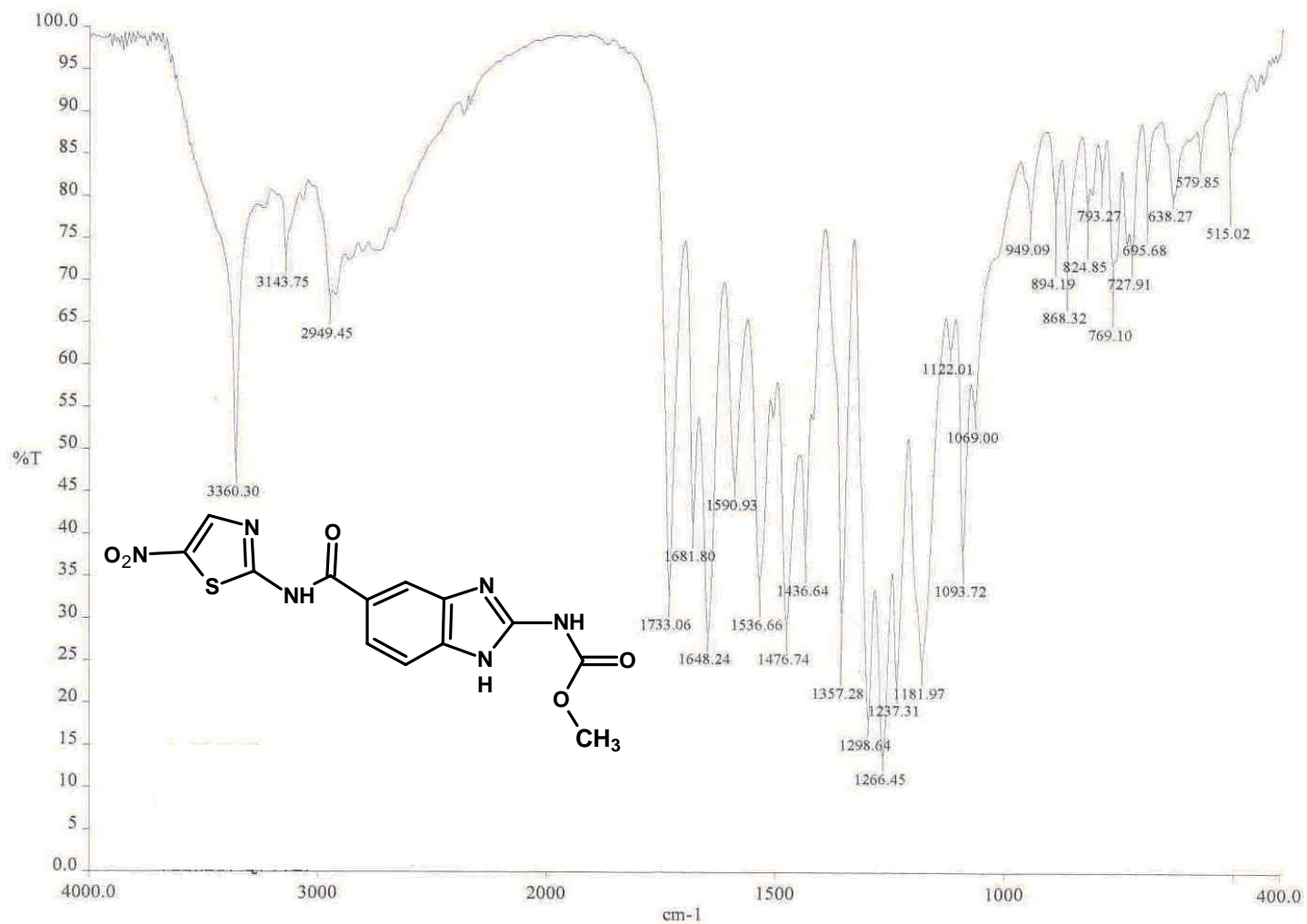
Espectro 4, IR 2-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



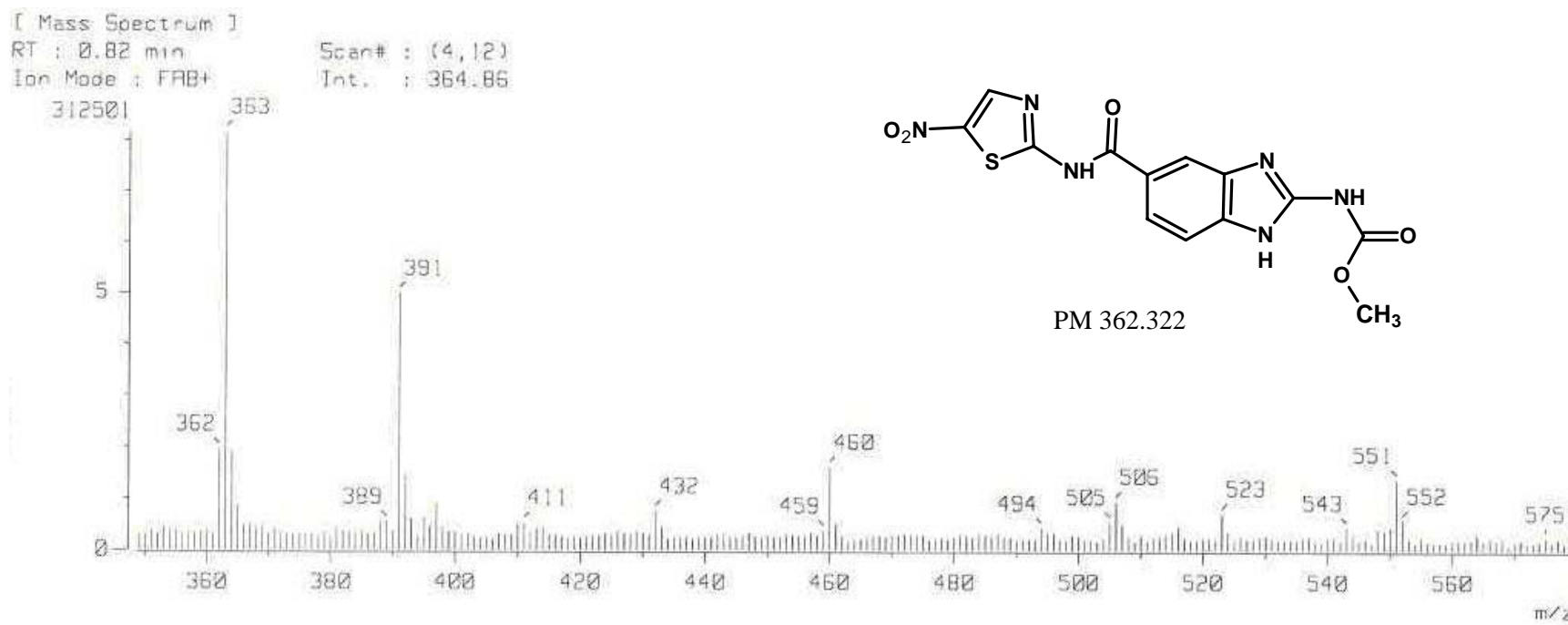
Espectro 5, EM 2-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



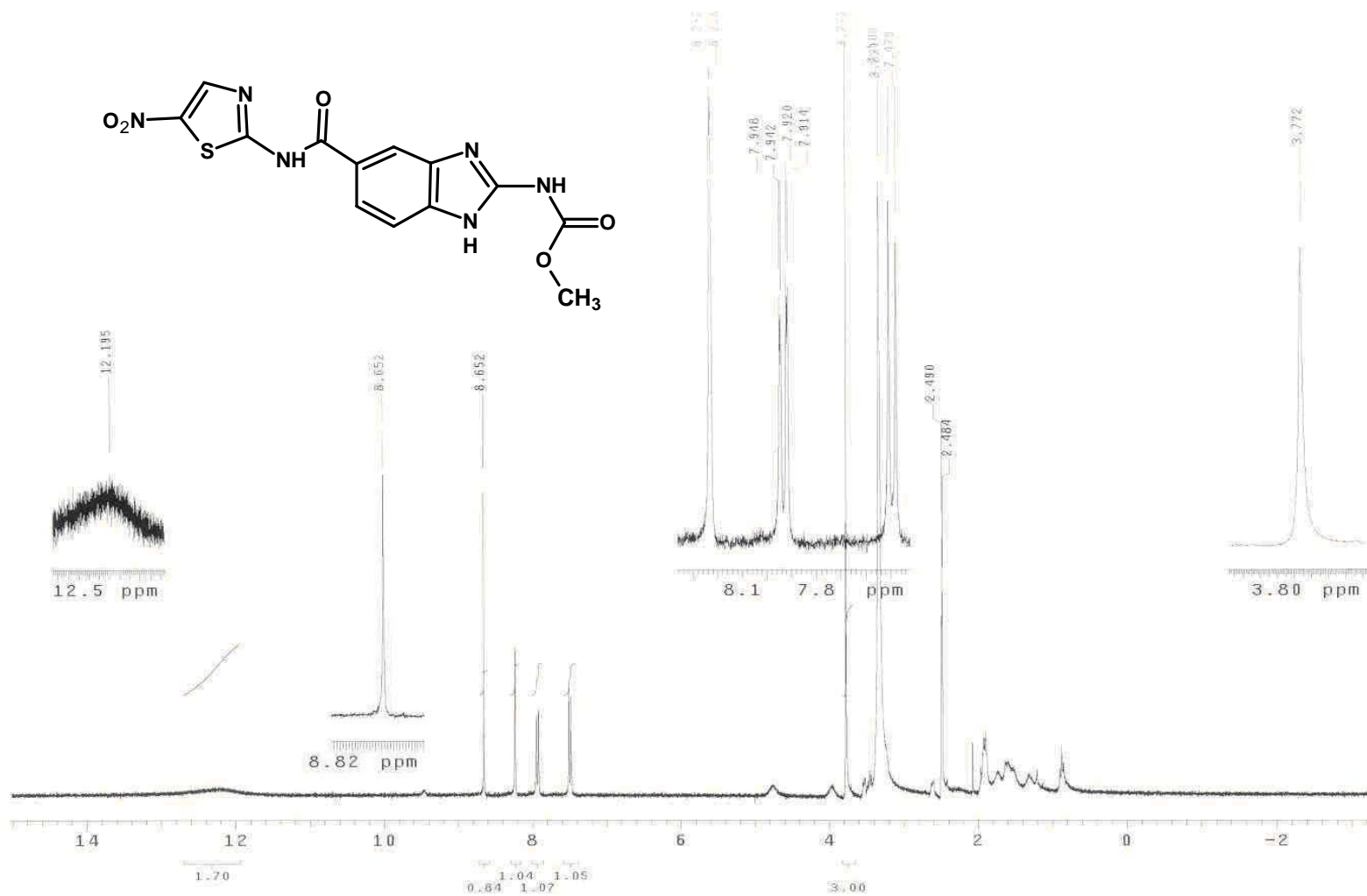
Espectro 6, RMN¹H 2-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



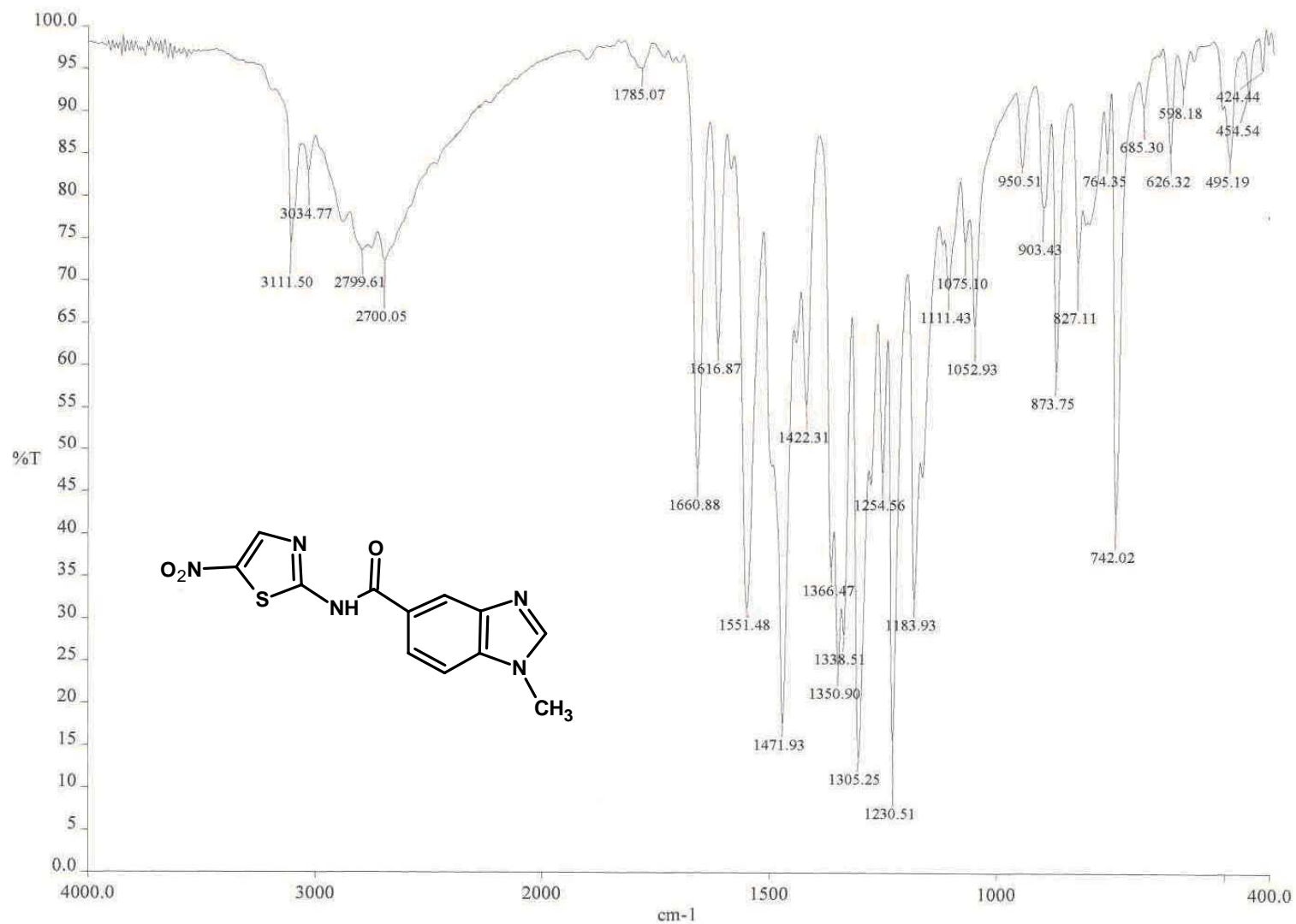
Espectro 7, IR 5-[[[(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-il]carbamato de Metilo



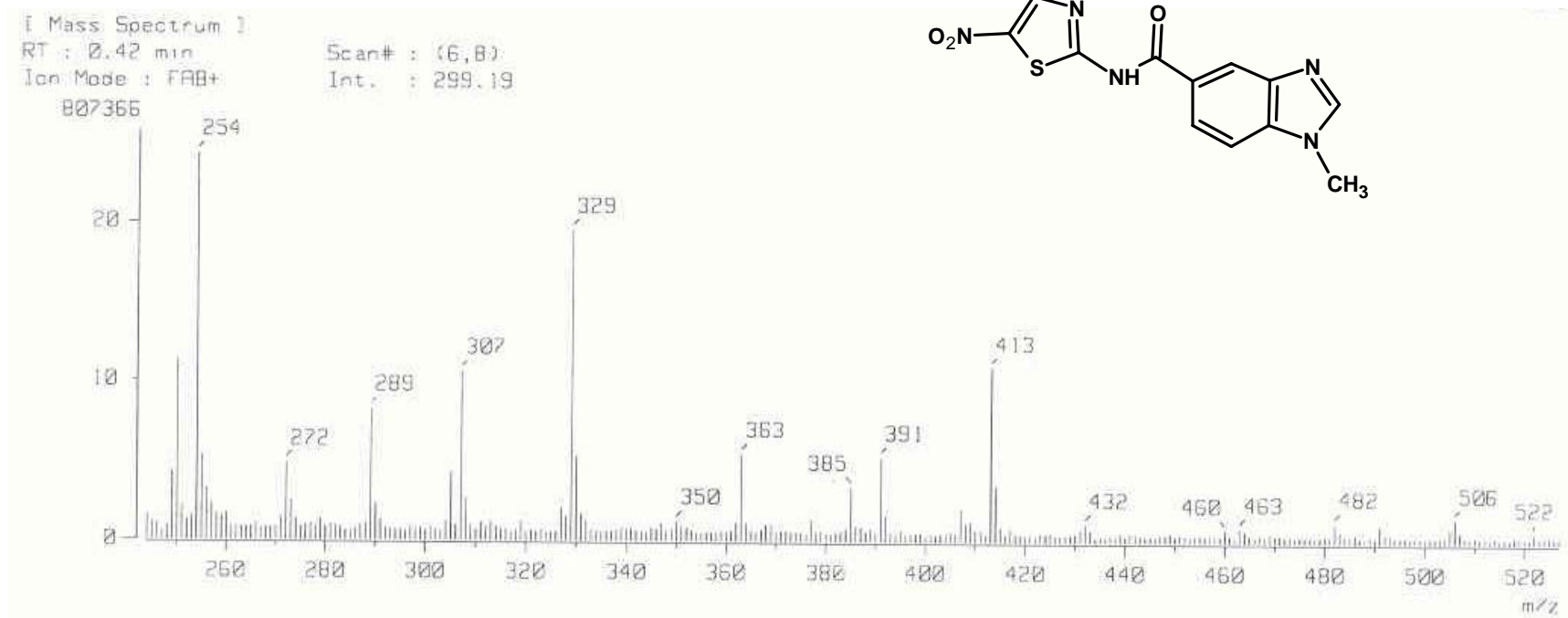
Espectro 8, EM 5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo



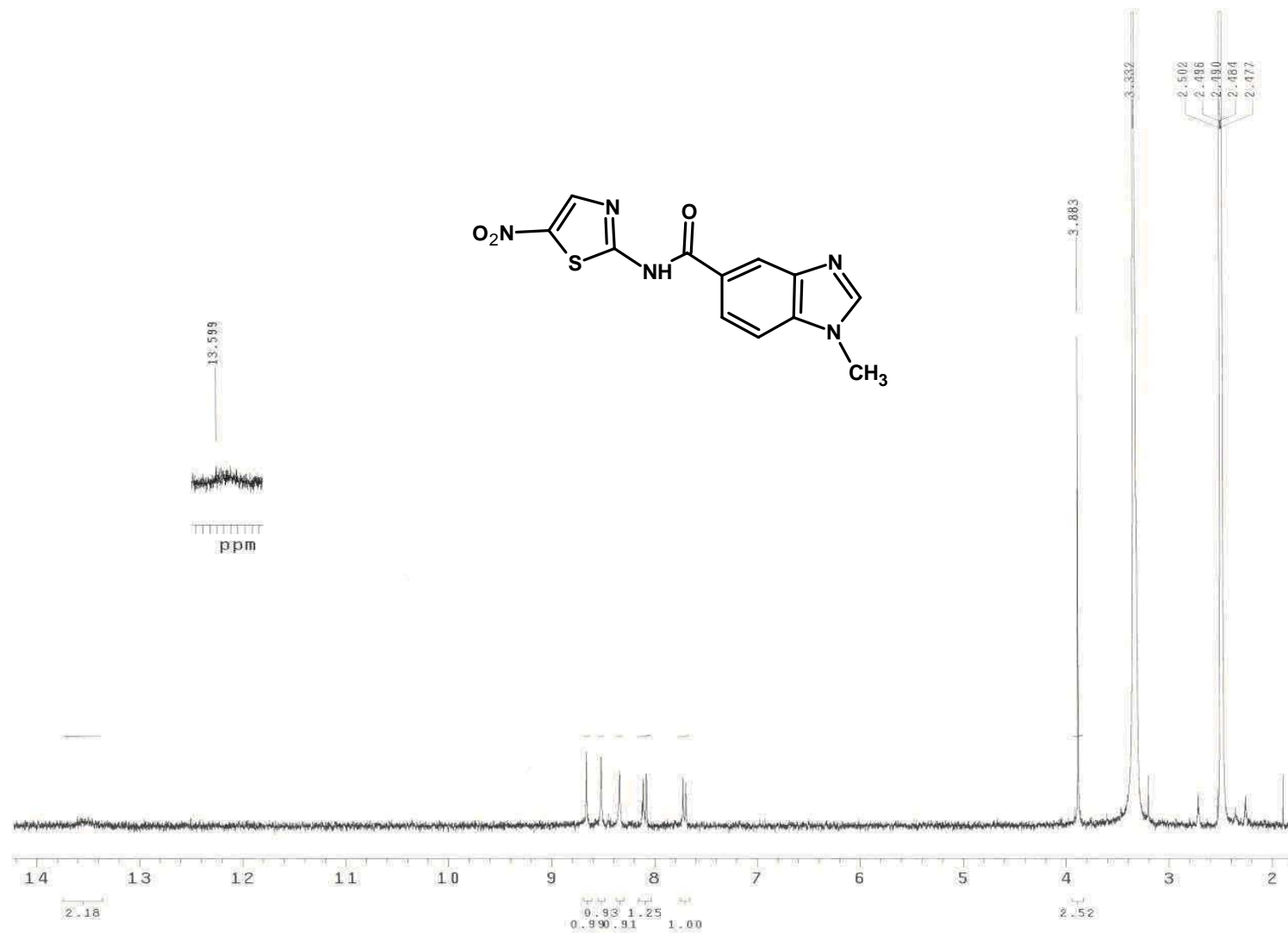
Espectro 9, RMN¹H 5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo



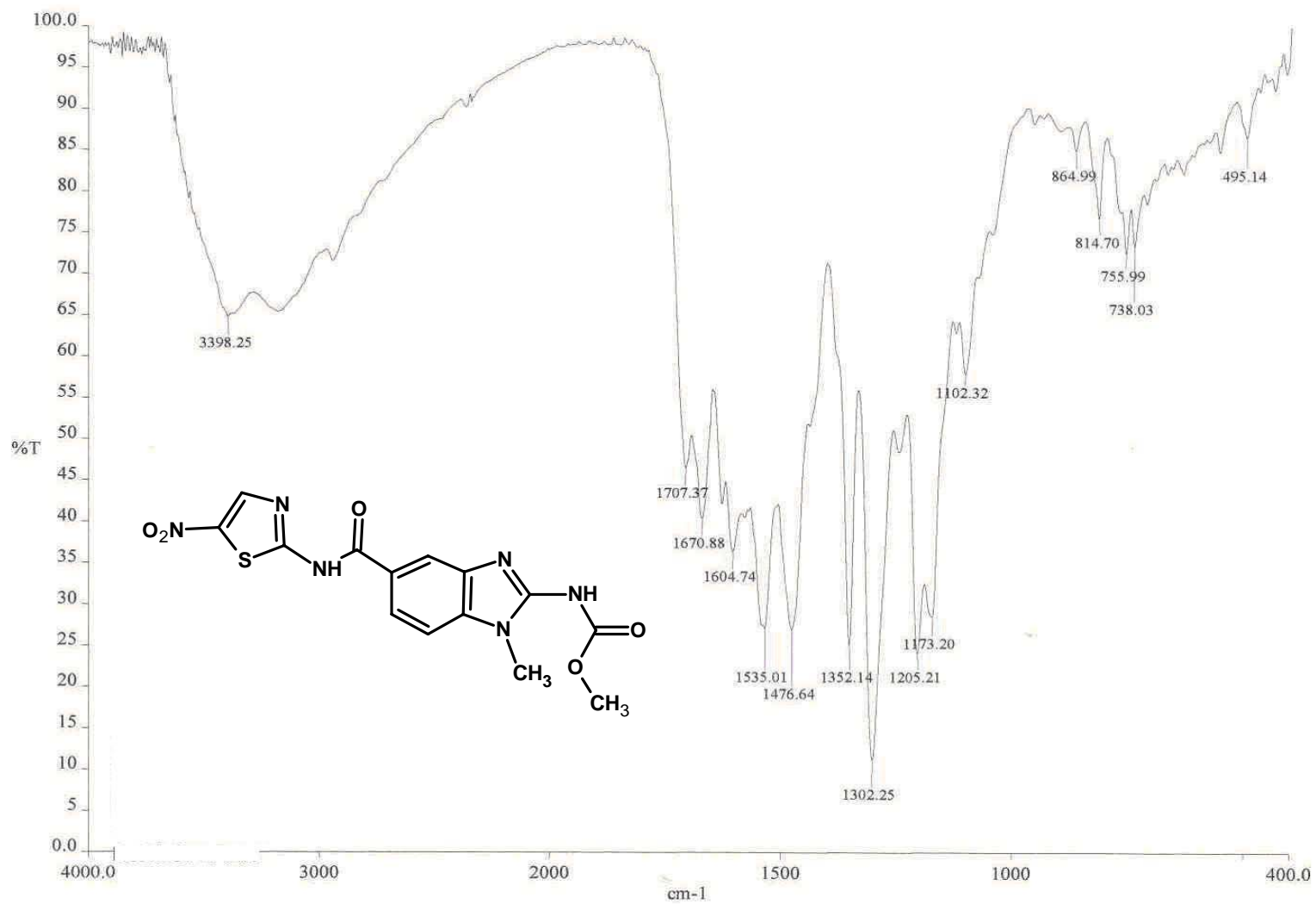
Espectro 10, IR 1-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



Espectro 11, EM 1-metil-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1H-bencimidazol-5-carboxamida



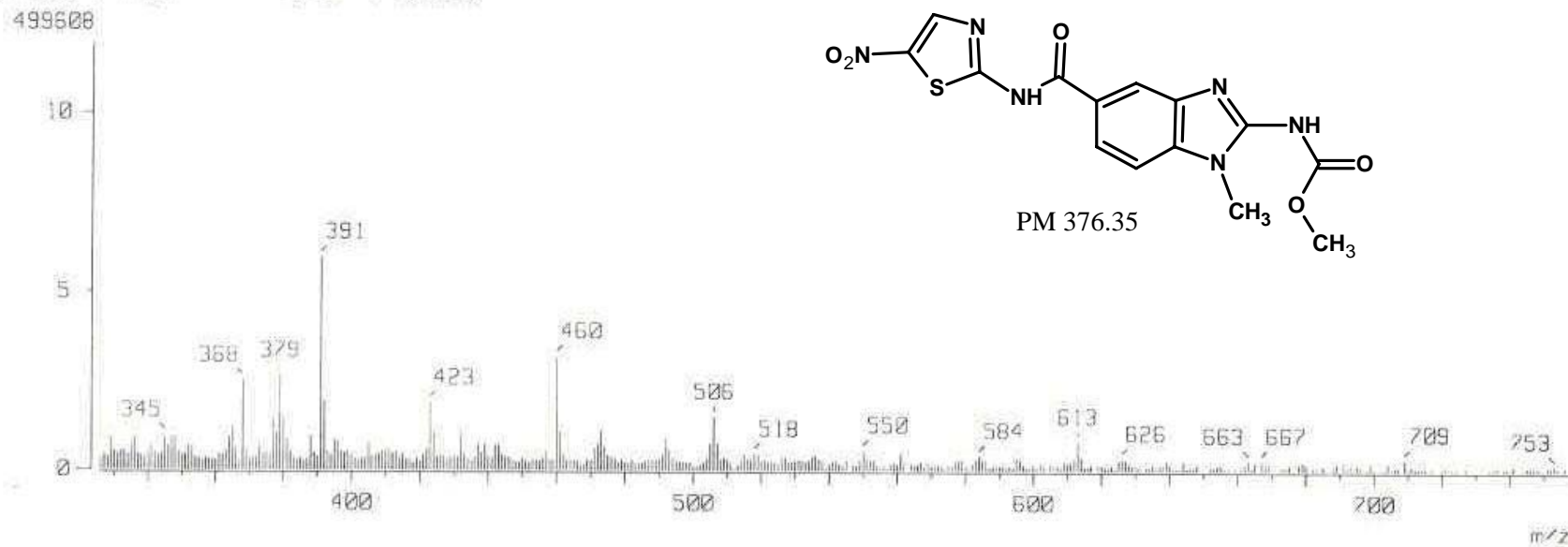
Espectro 12, RMN¹H 1-metil-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida



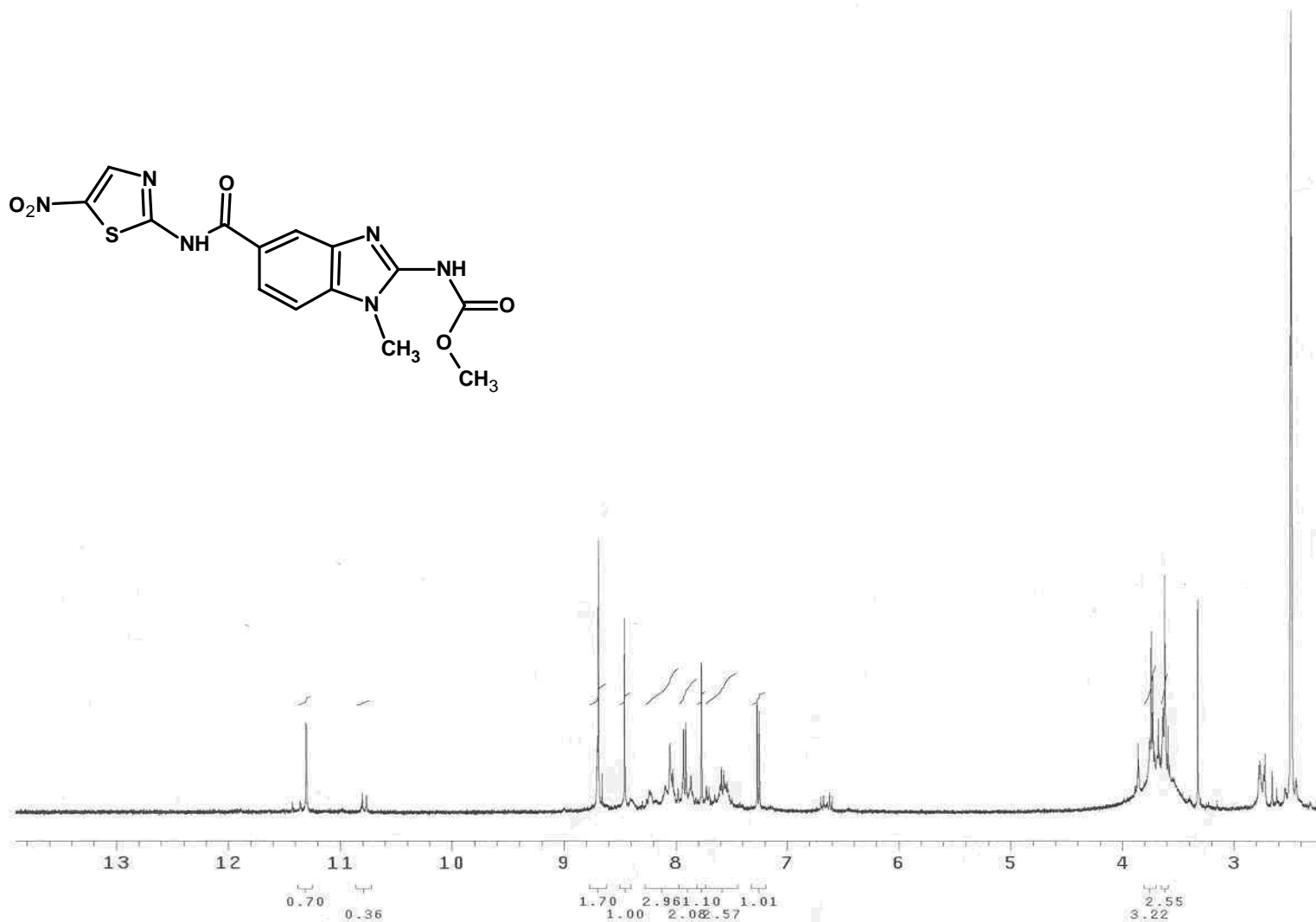
Espectro 13, IR 1-metil-5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il)amino]carbonil]-1H-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo

[Mass Spectrum]
 RT : 1.18 min
 Ion Mode : FAB+

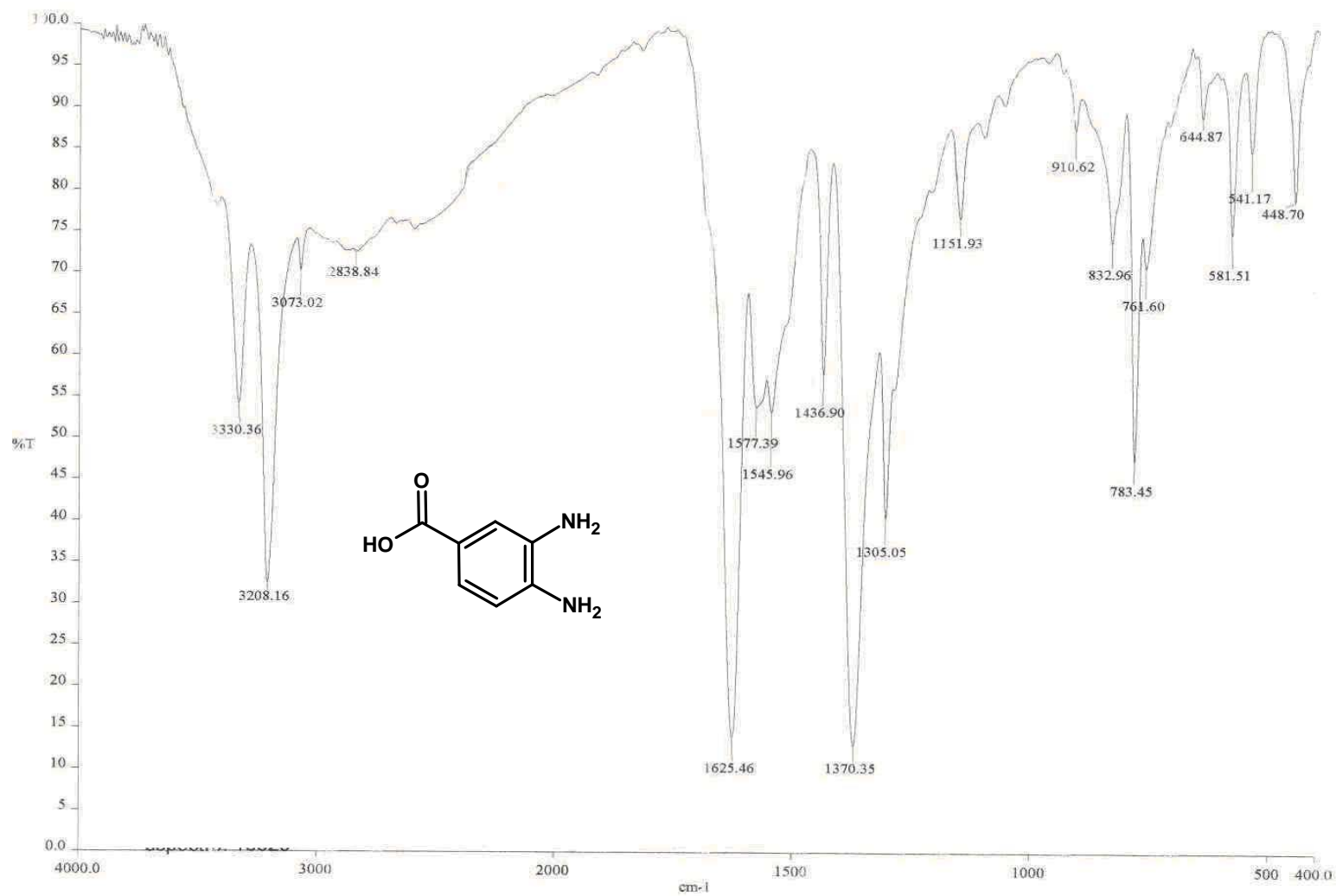
Scan# : (9,11)
 Int. : 399,99



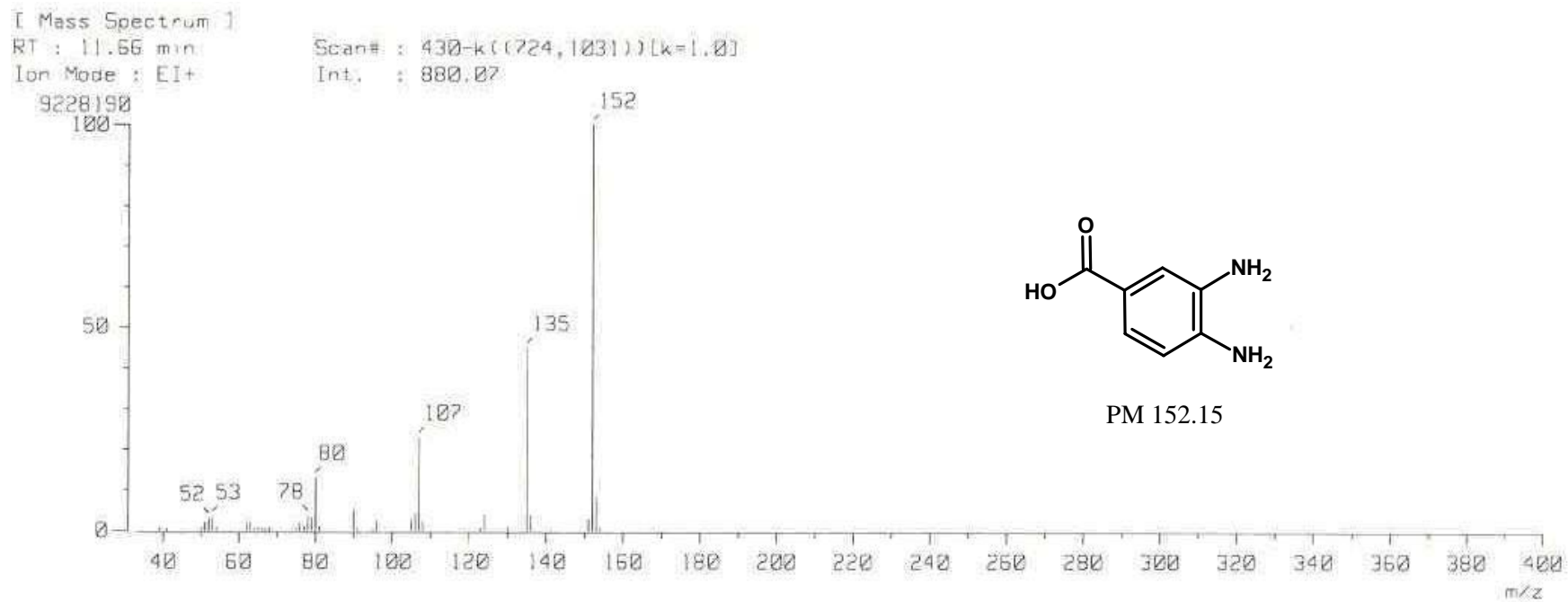
Espectro 14, EM 1-metil-5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il]amino]carbonil}-1*H*-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo

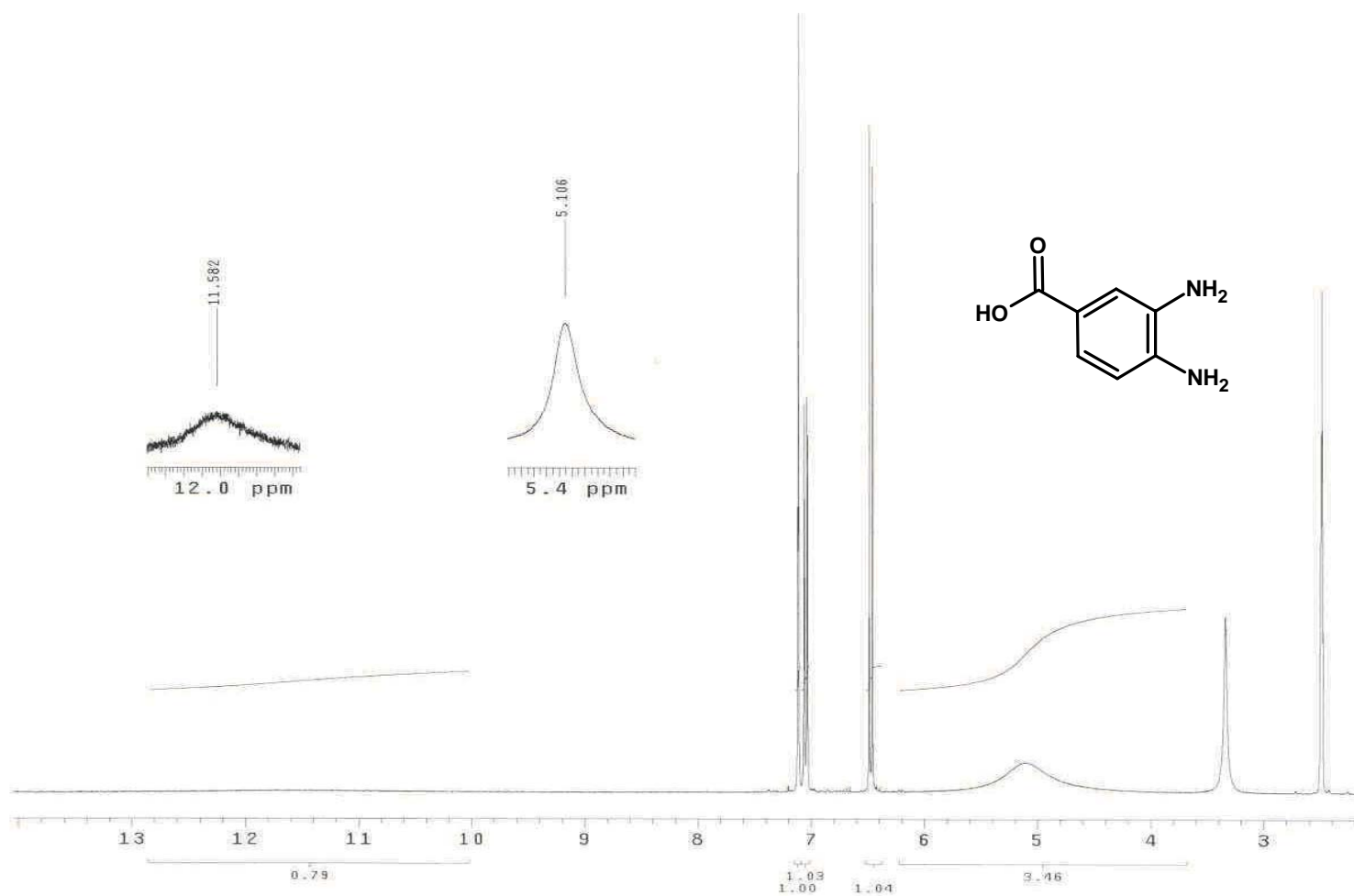


Espectro 15, RMN¹H 1-metil-5-[[5-nitro-1,3-tiazol-2-il]amino]carbonil-1H-bencimidazol-2-ilcarbamato de metilo

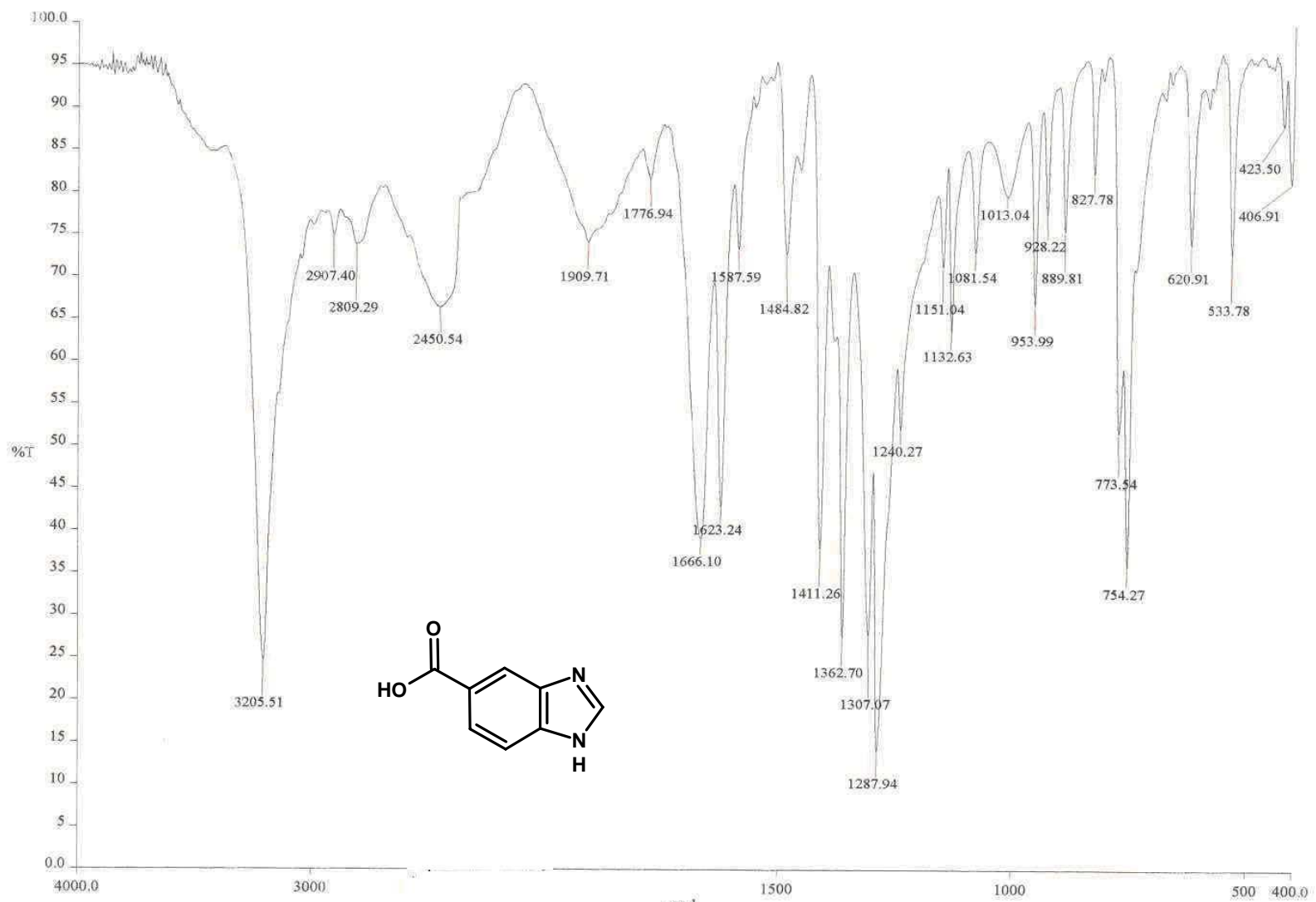


Espectro 16, IR ácido 3,4-diaminobenzóico

**Espectro 17, EM ácido 3,4-diaminobenzóico**



Espectro 18, RMN¹H ácido 3,4-diaminobenzóico



Espectro 19, IR ácido 1H-benzimidazol-5-carboxílico

[Mass Spectrum]

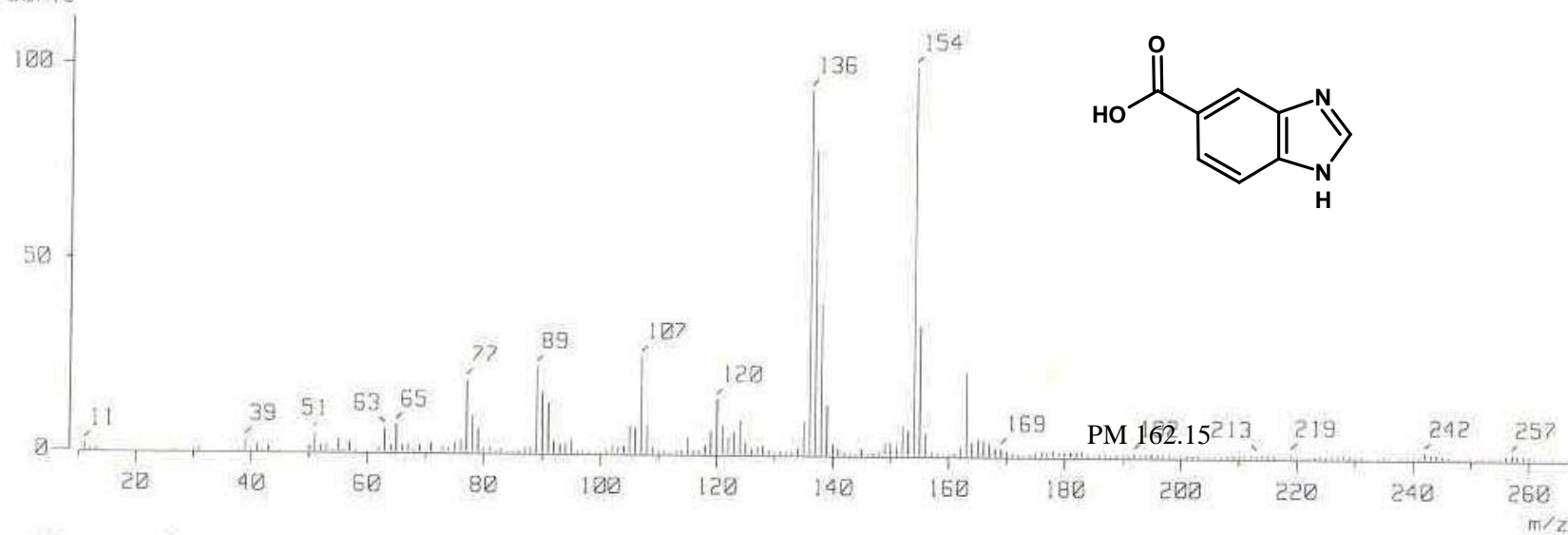
RT : 1.04 min

Ion Mode : FFB+

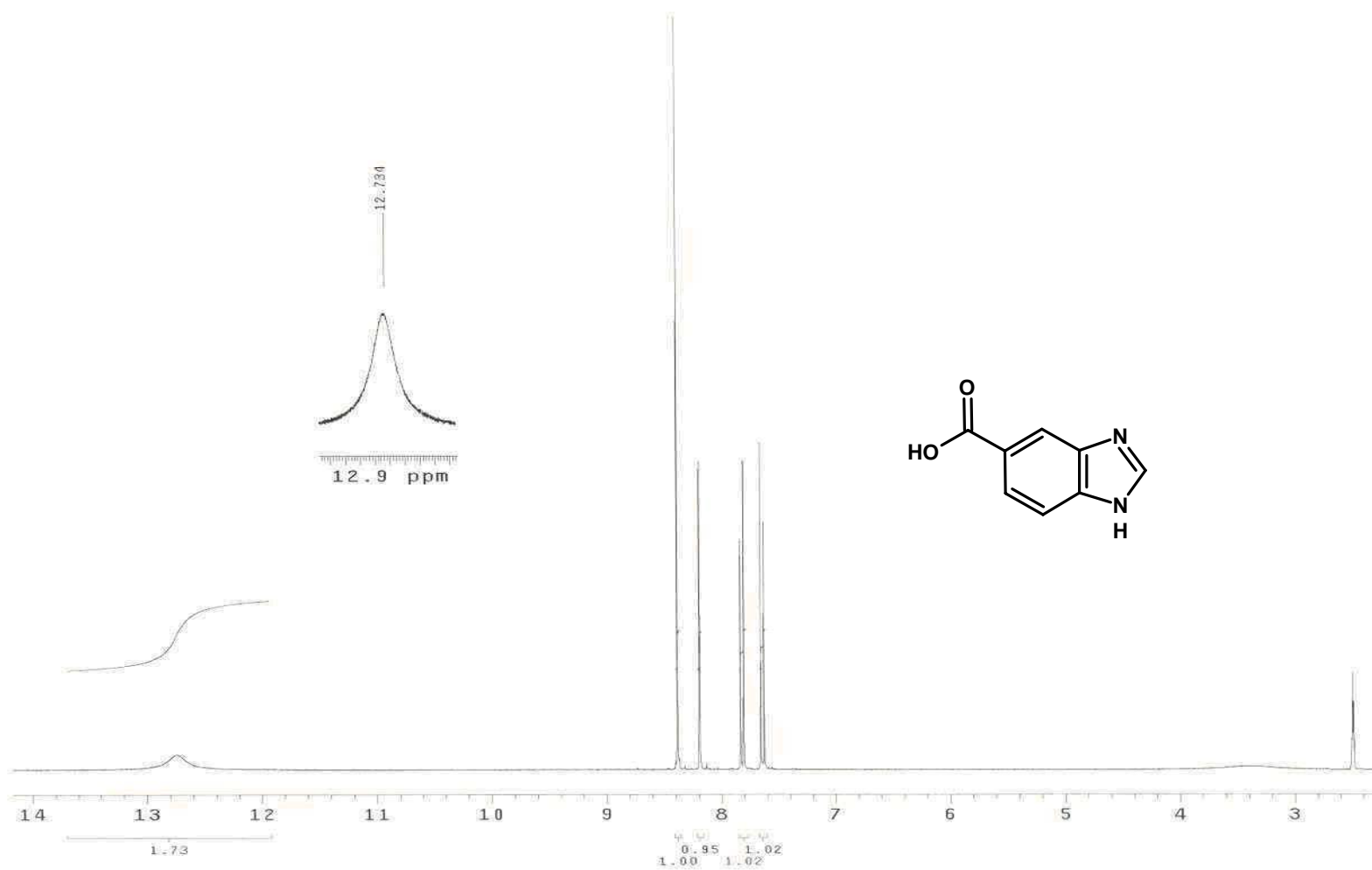
Scan# : (14,18)

Int. : 1599.98

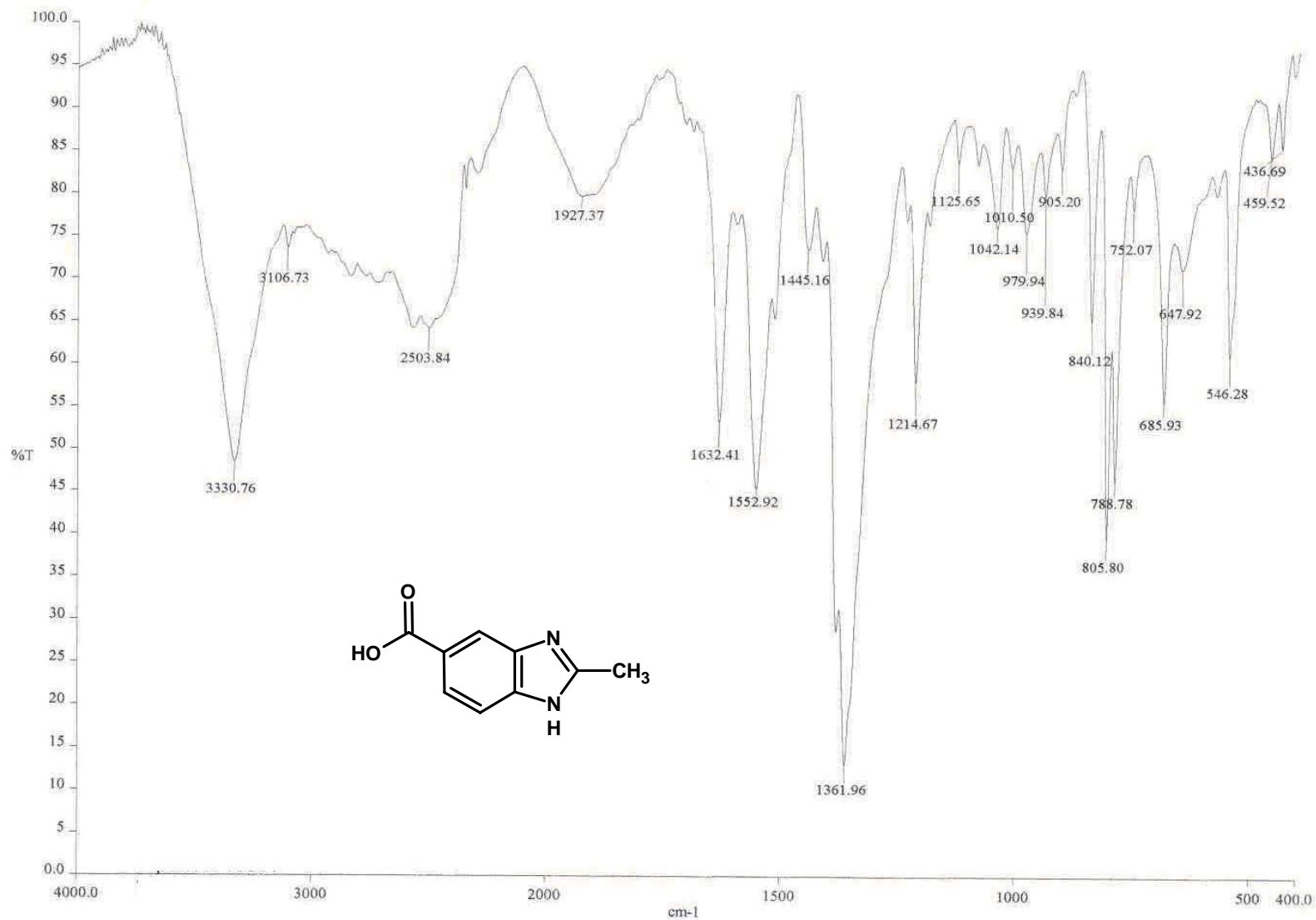
18750716



Espectro 20, EM ácido 1H-benzimidazol-5-carboxílico



Espectro 21, RMN ^1H ácido 1H-benzimidazol-5-carboxílico



Espectro 22, IR ácido 2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico

[Mass Spectrum]

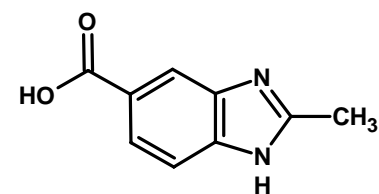
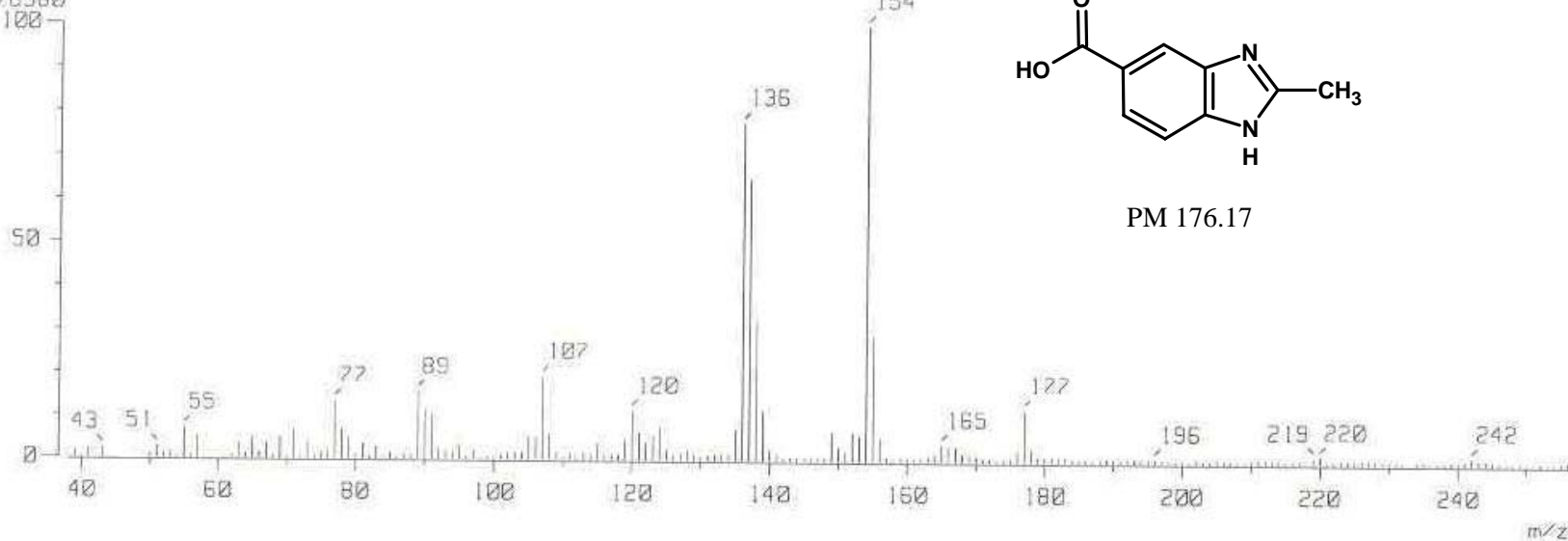
RT : 0.76 min

Ion Mode : FFB+

Scan# : (10,14)

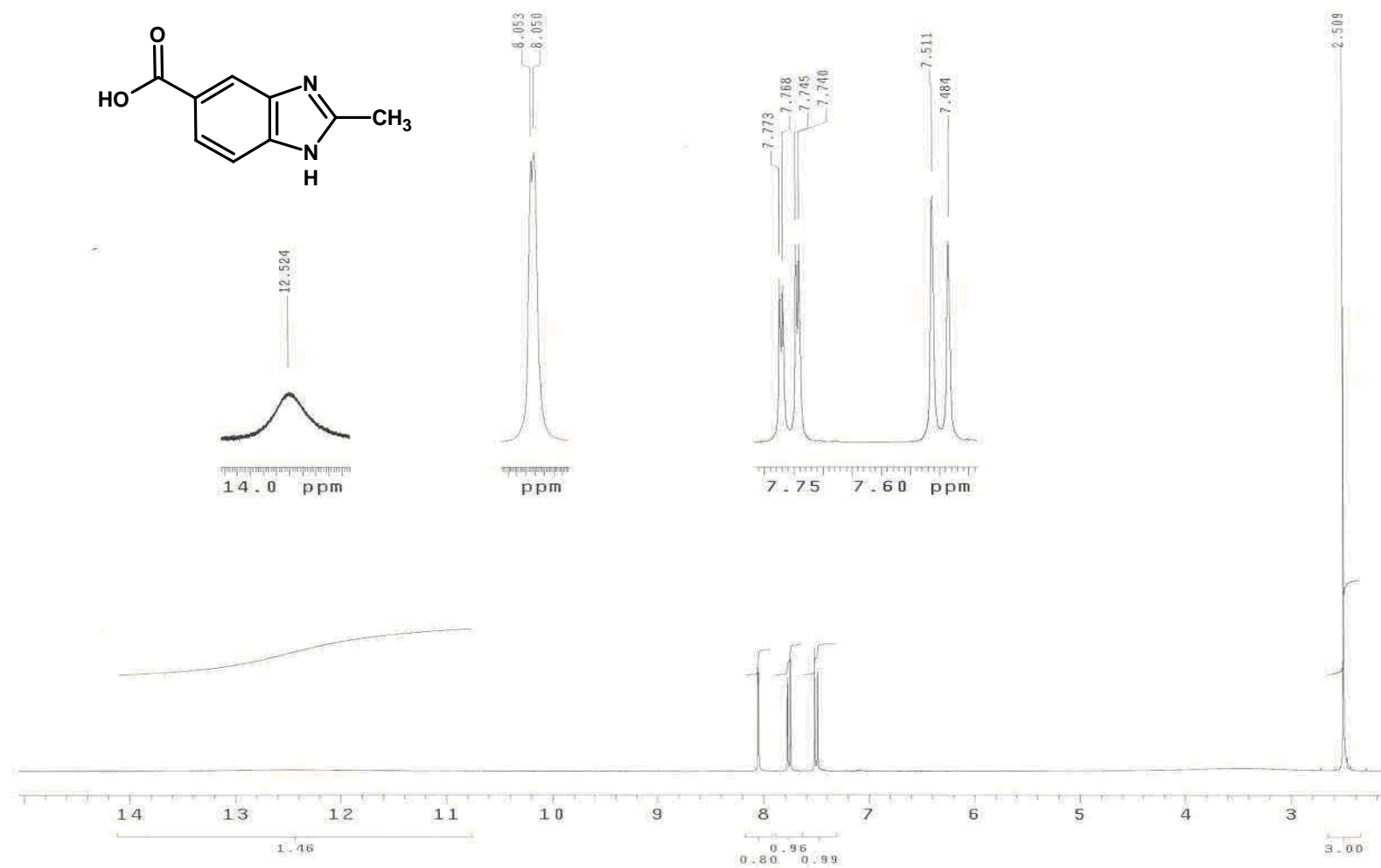
Int. : 1599.98

16776960

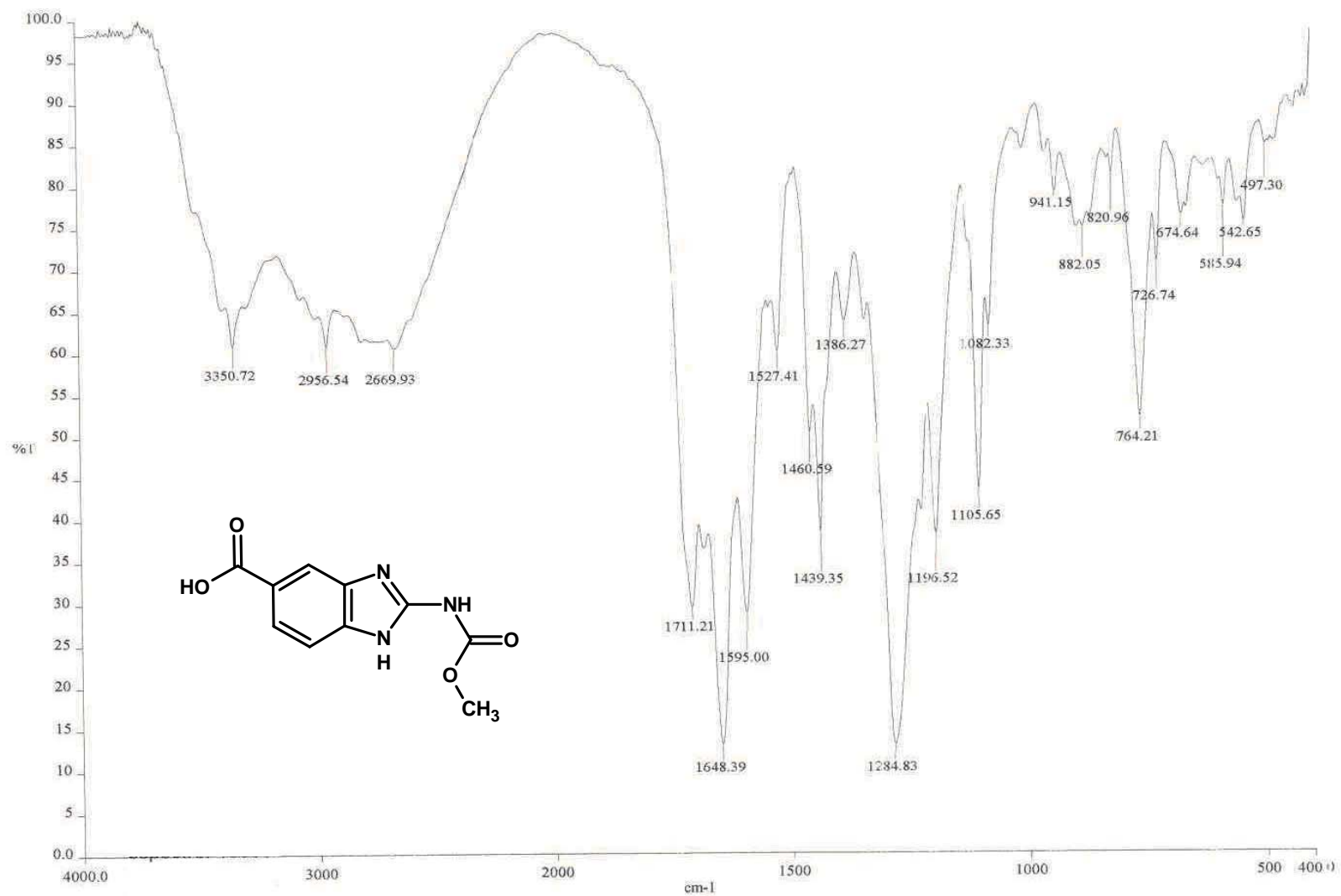


PM 176.17

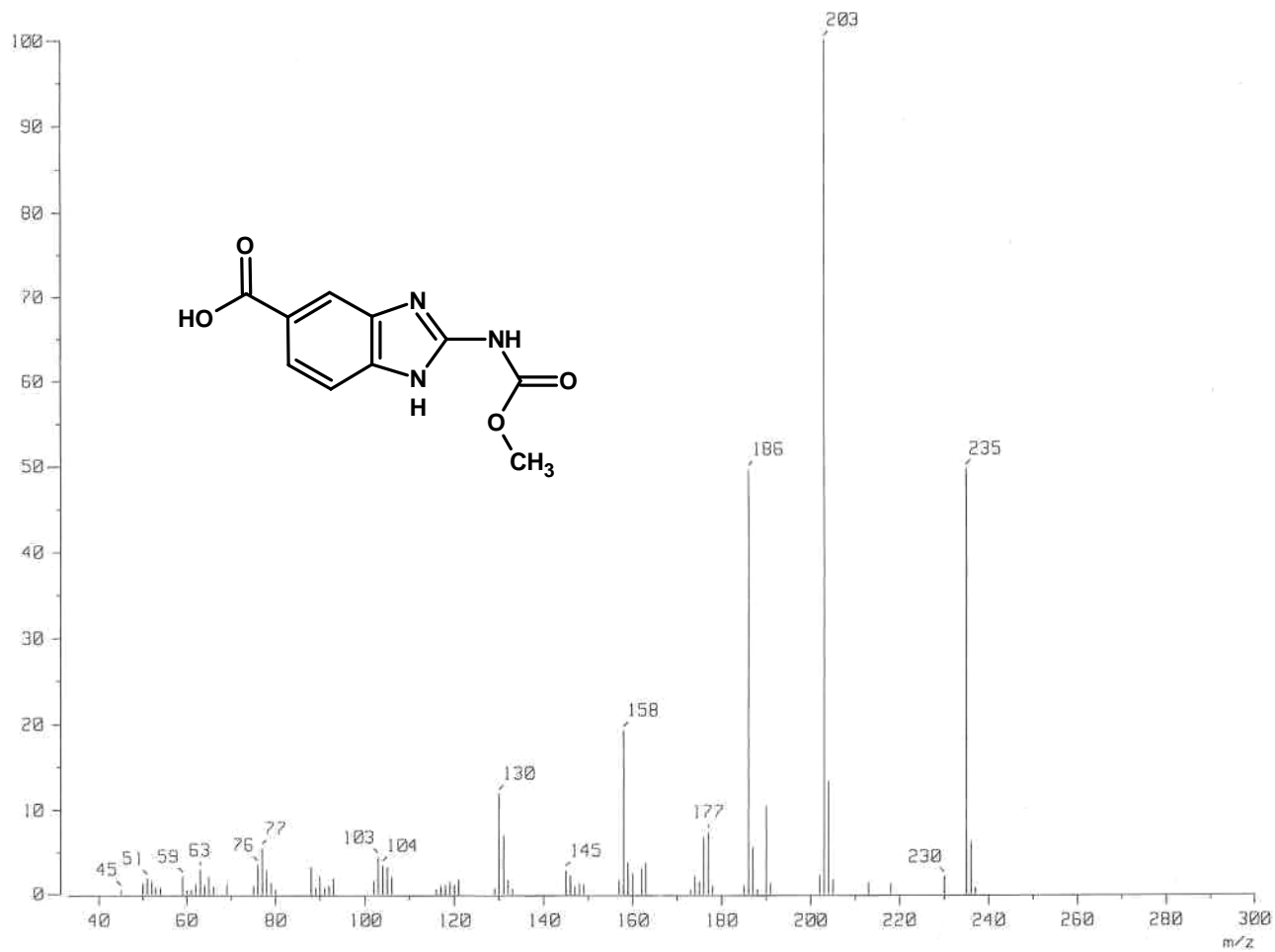
Espectro 23, EM ácido 2-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico



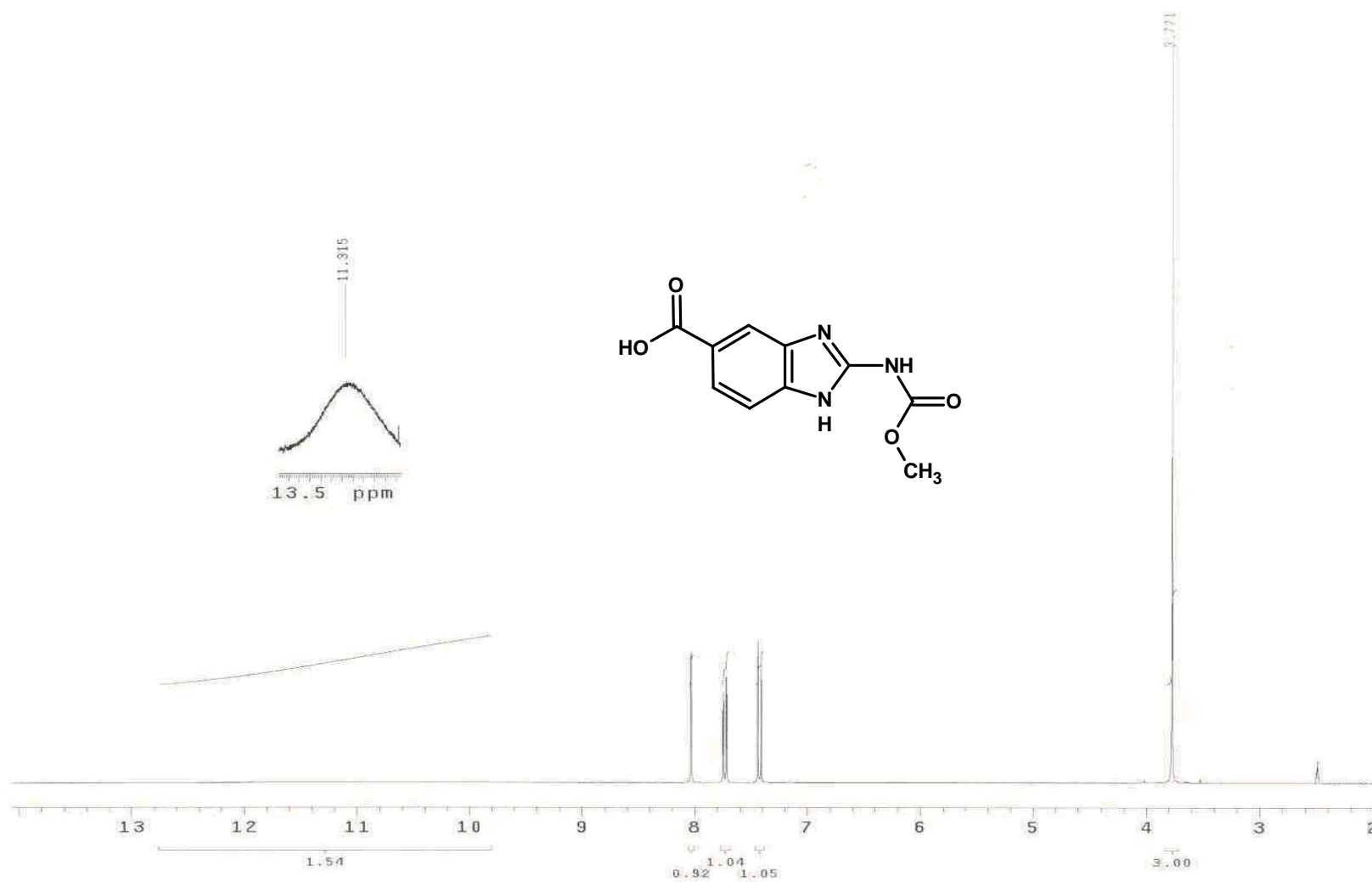
Espectro 24, RMN¹H ácido 2-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico



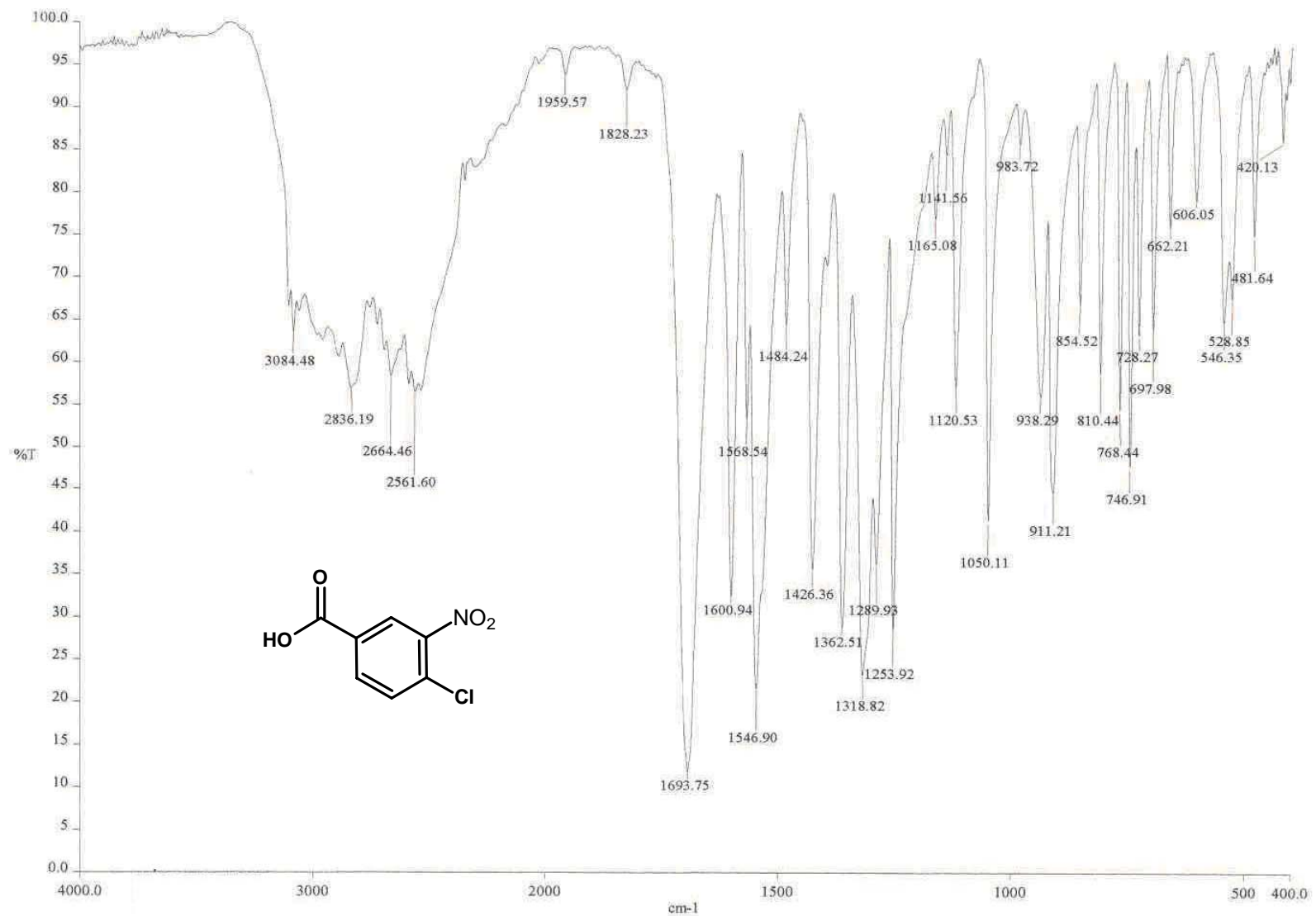
Espectro 25, IR ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxílico



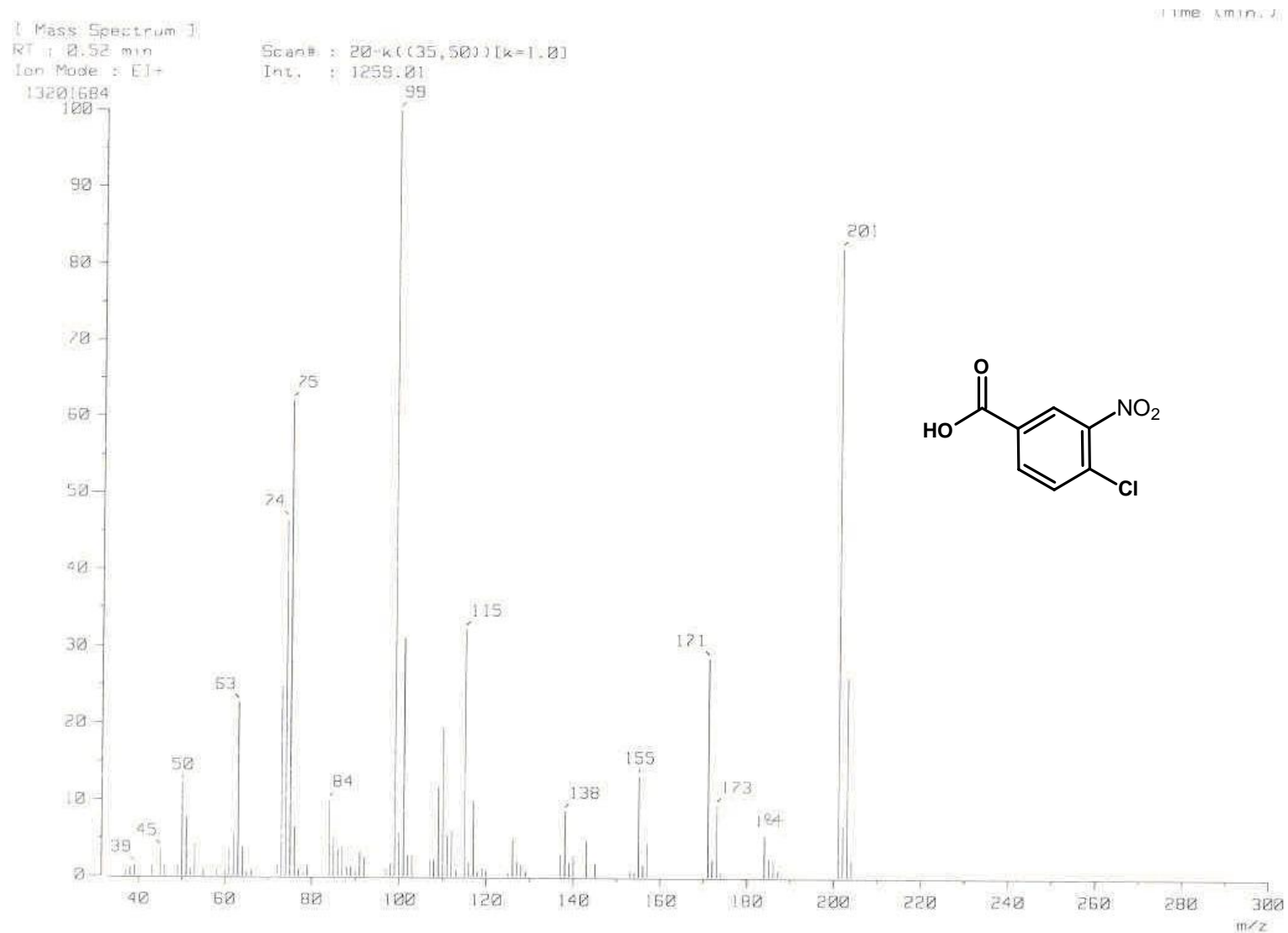
Espectro 26, EM ácido 2-[(metoxycarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxílico



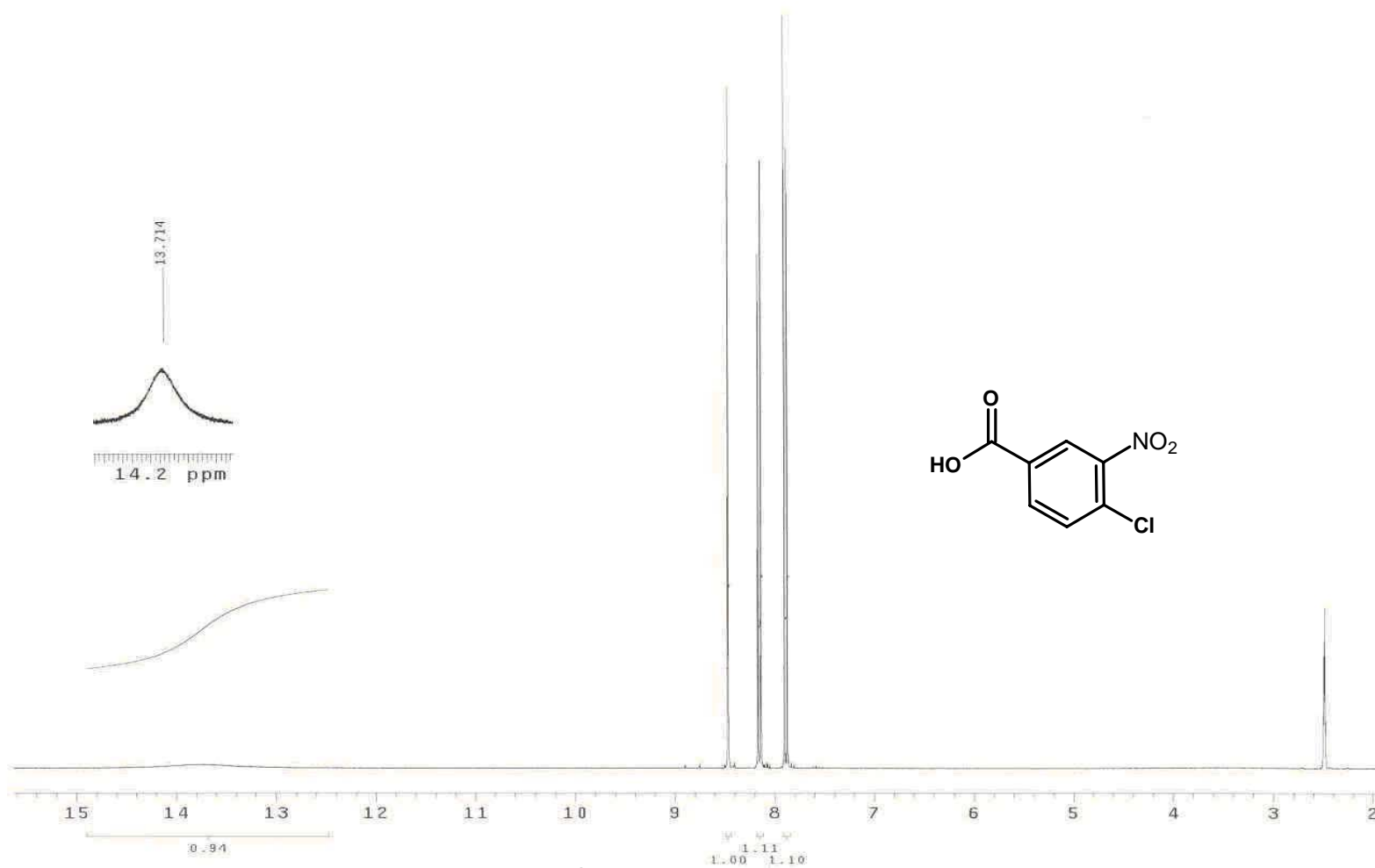
Espectro 27, RMN ^1H ácido 2-[(metoxycarbonil)amino]-1H-benzimidazol-5-carboxílico



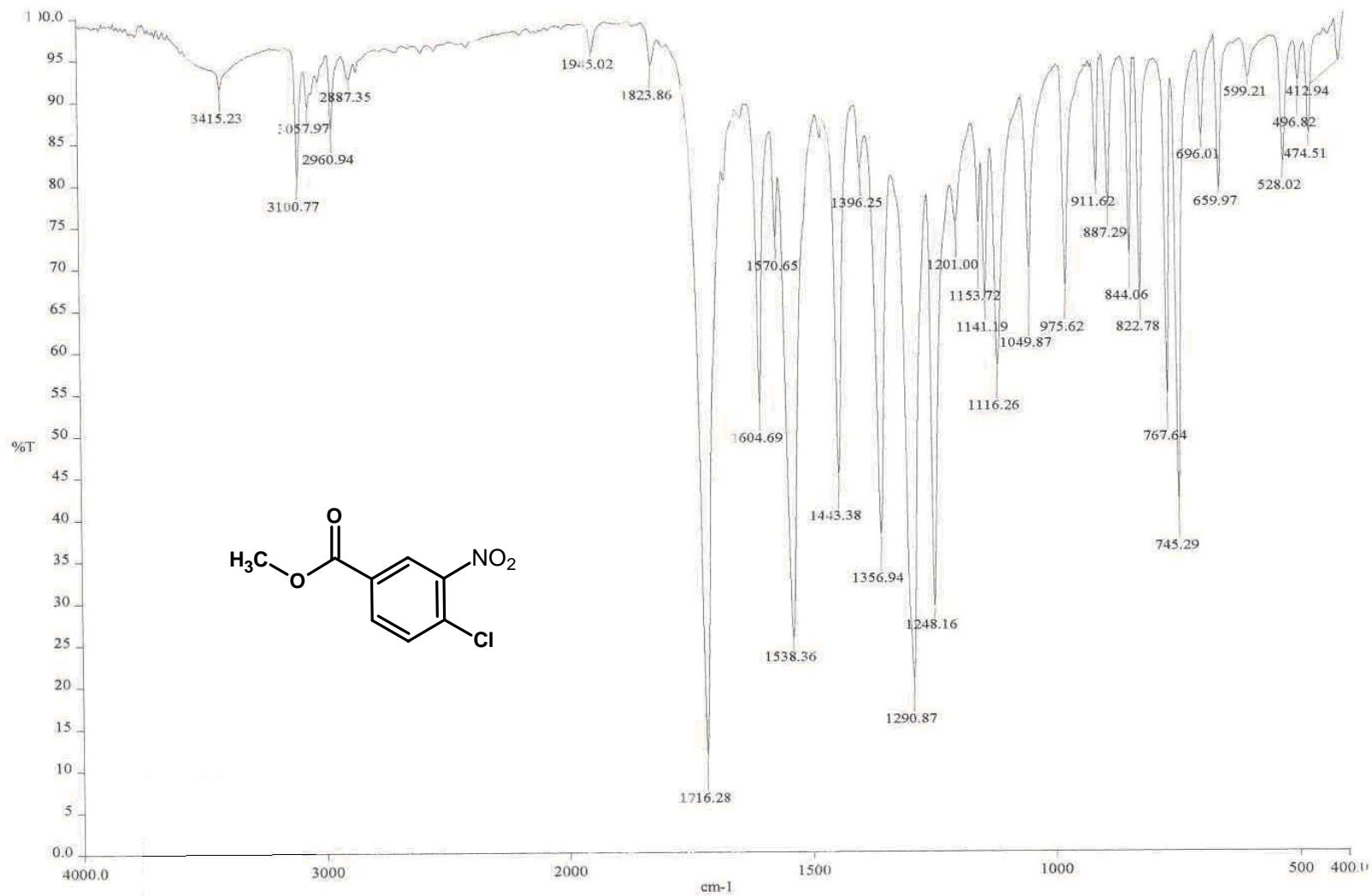
Espectro 28, IR ácido 4-cloro-3-nitrobenzónico



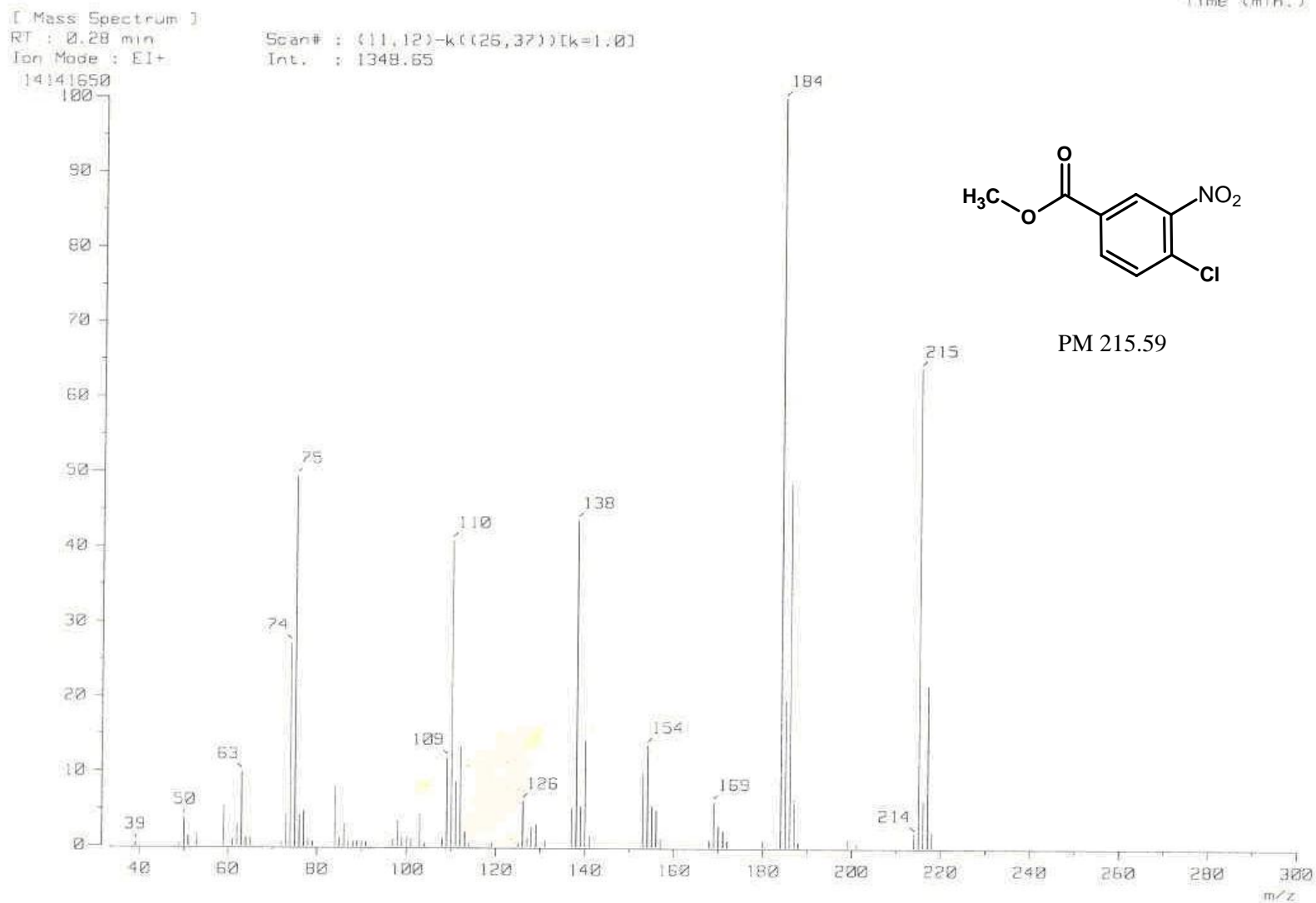
Espectro 29, EM ácido 4-cloro-3-nitrobenzónico



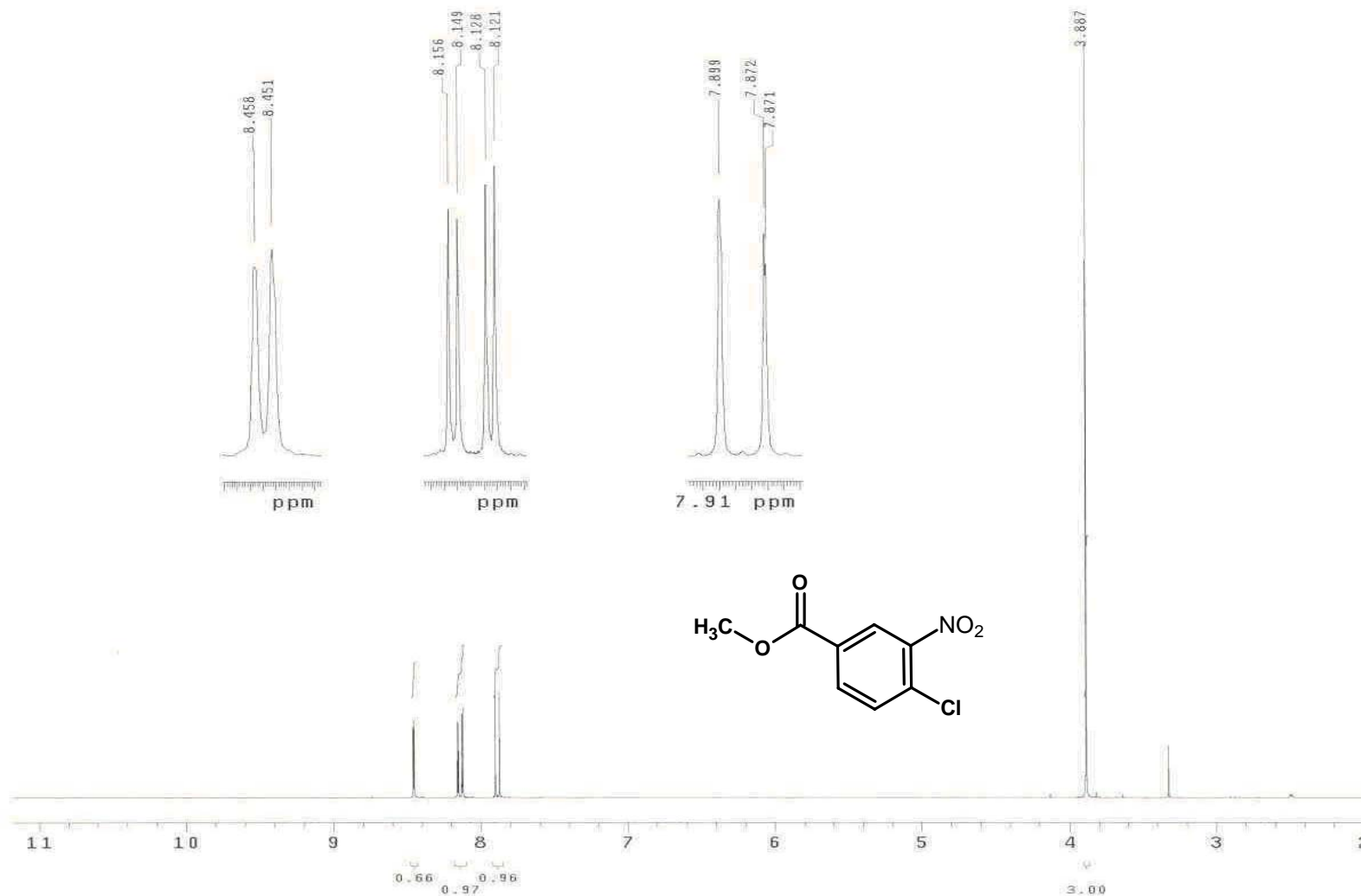
Espectro 30, RMN ^1H ácido 4-cloro-3-nitrobenzónico



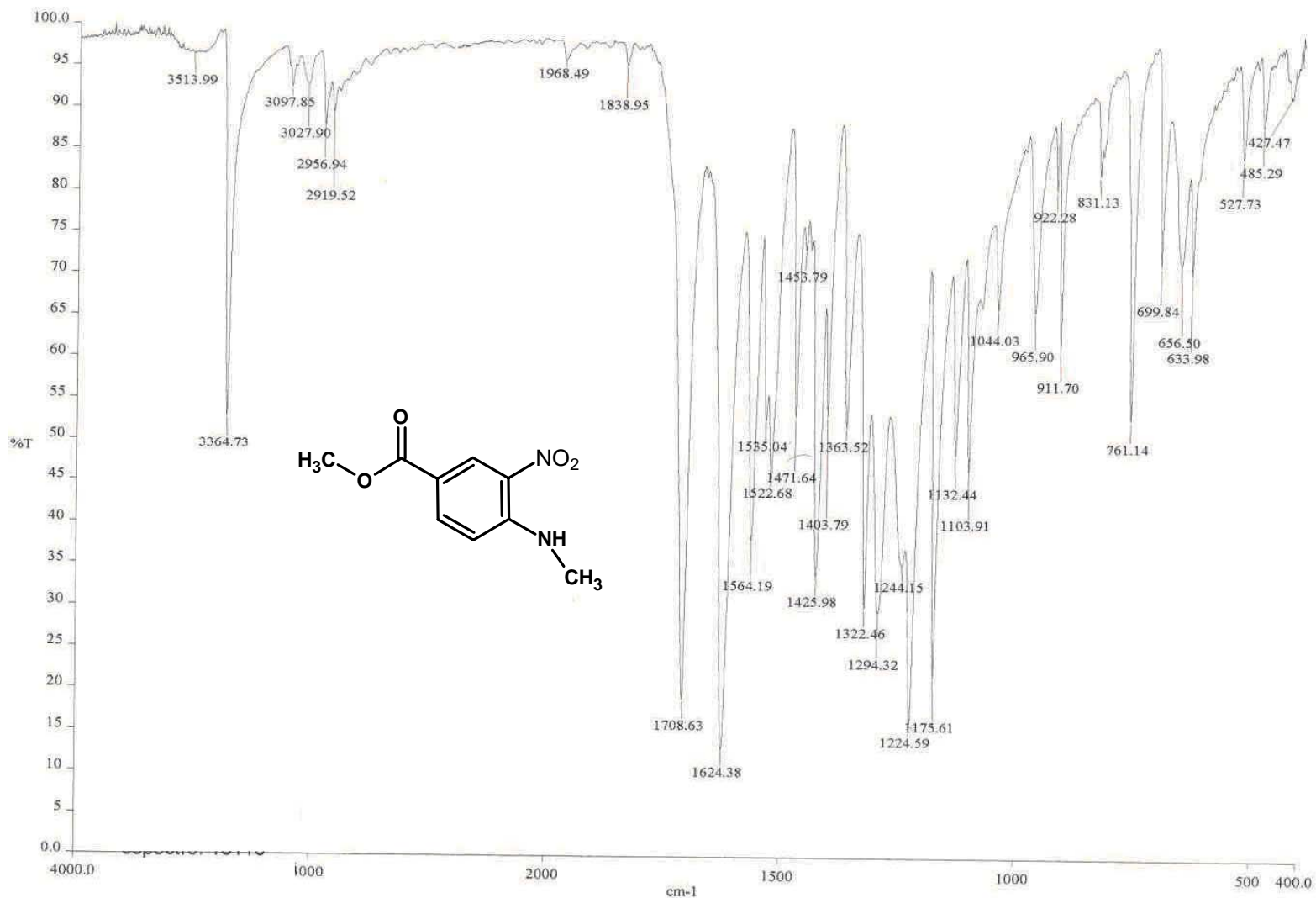
Espectro 31, IR 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo



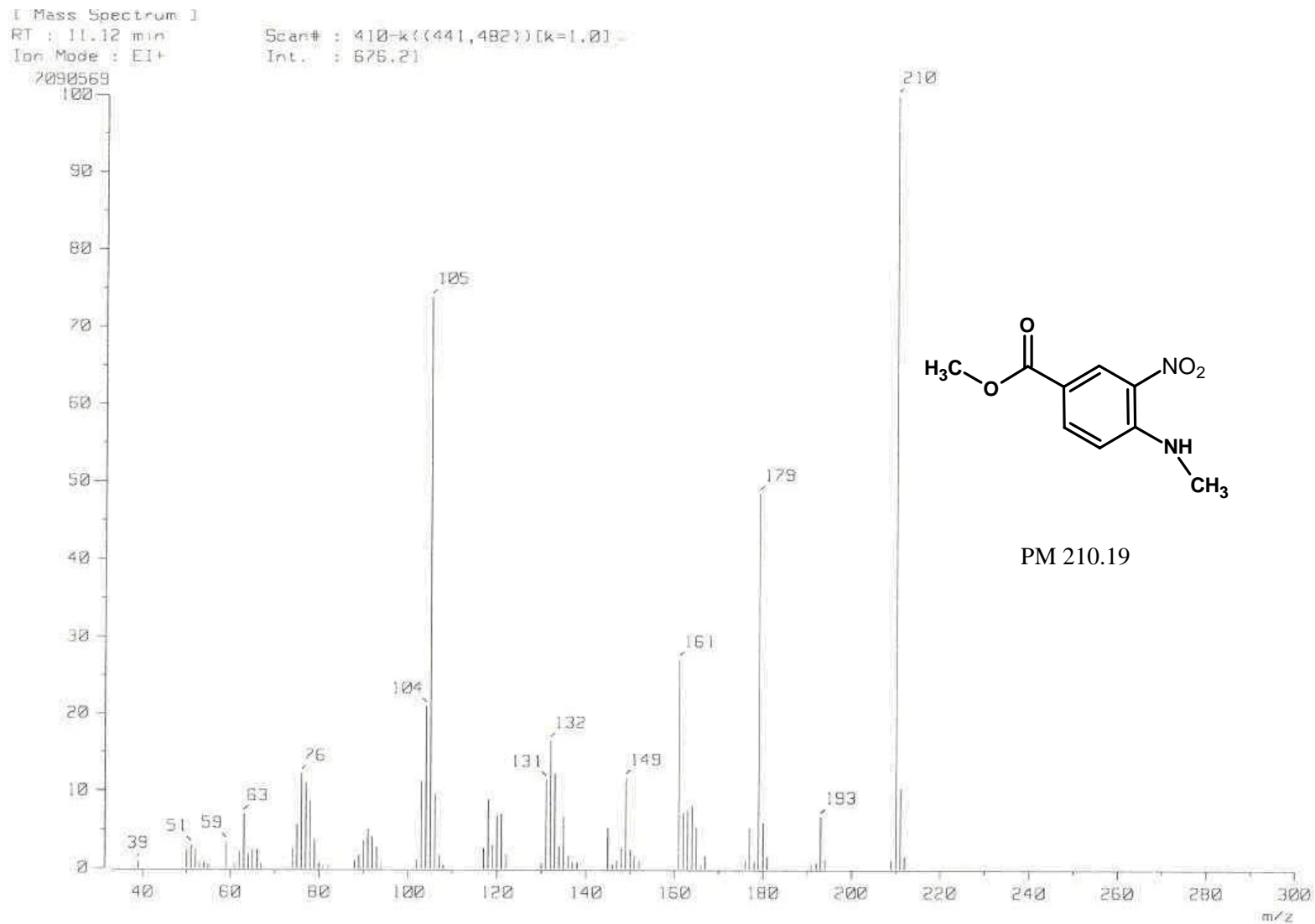
Espectro 32, EM 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo



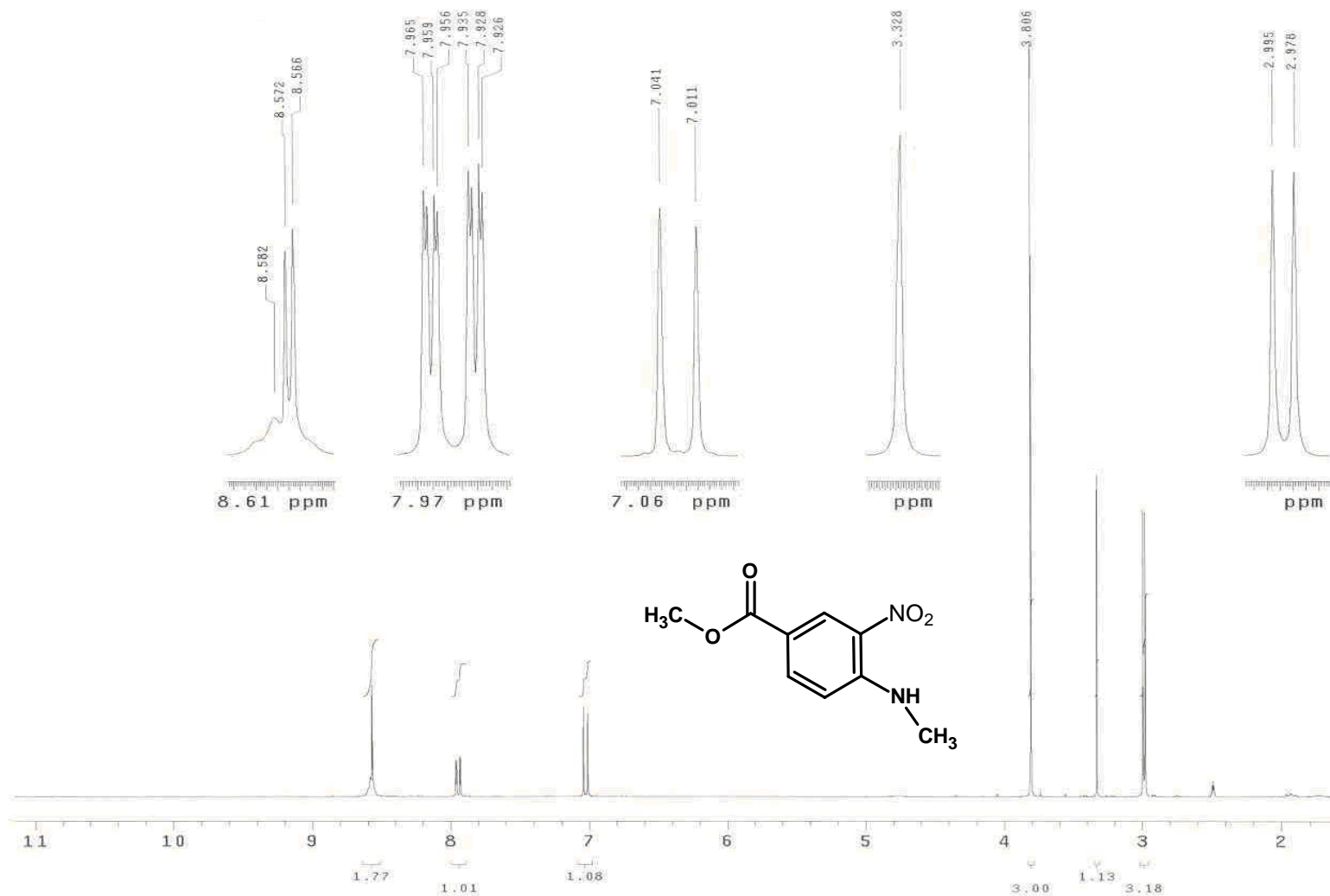
Espectro 33, RMN¹H 4-cloro-3-nitrobenzoato de metilo



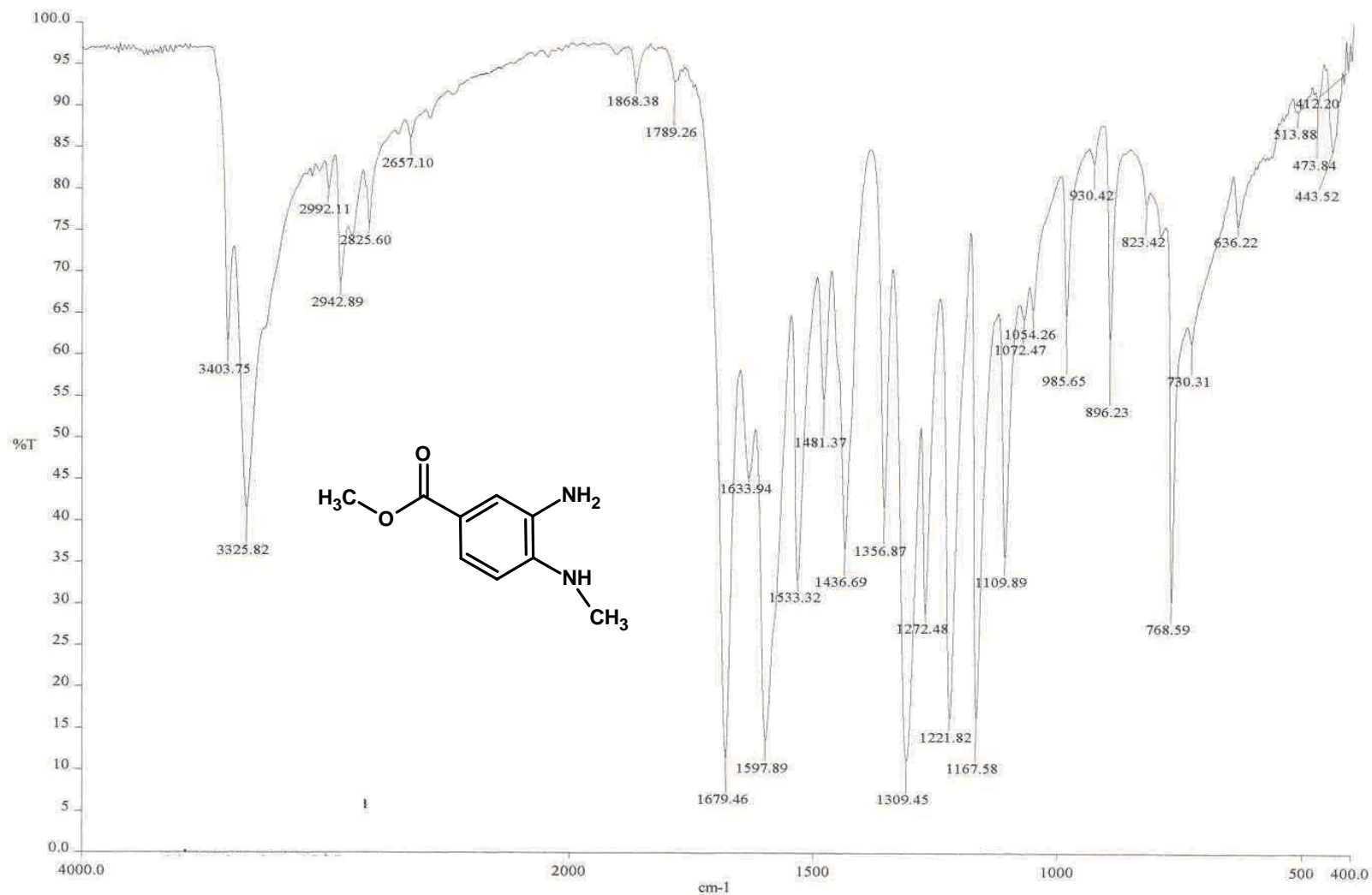
Espectro 34, IR 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo



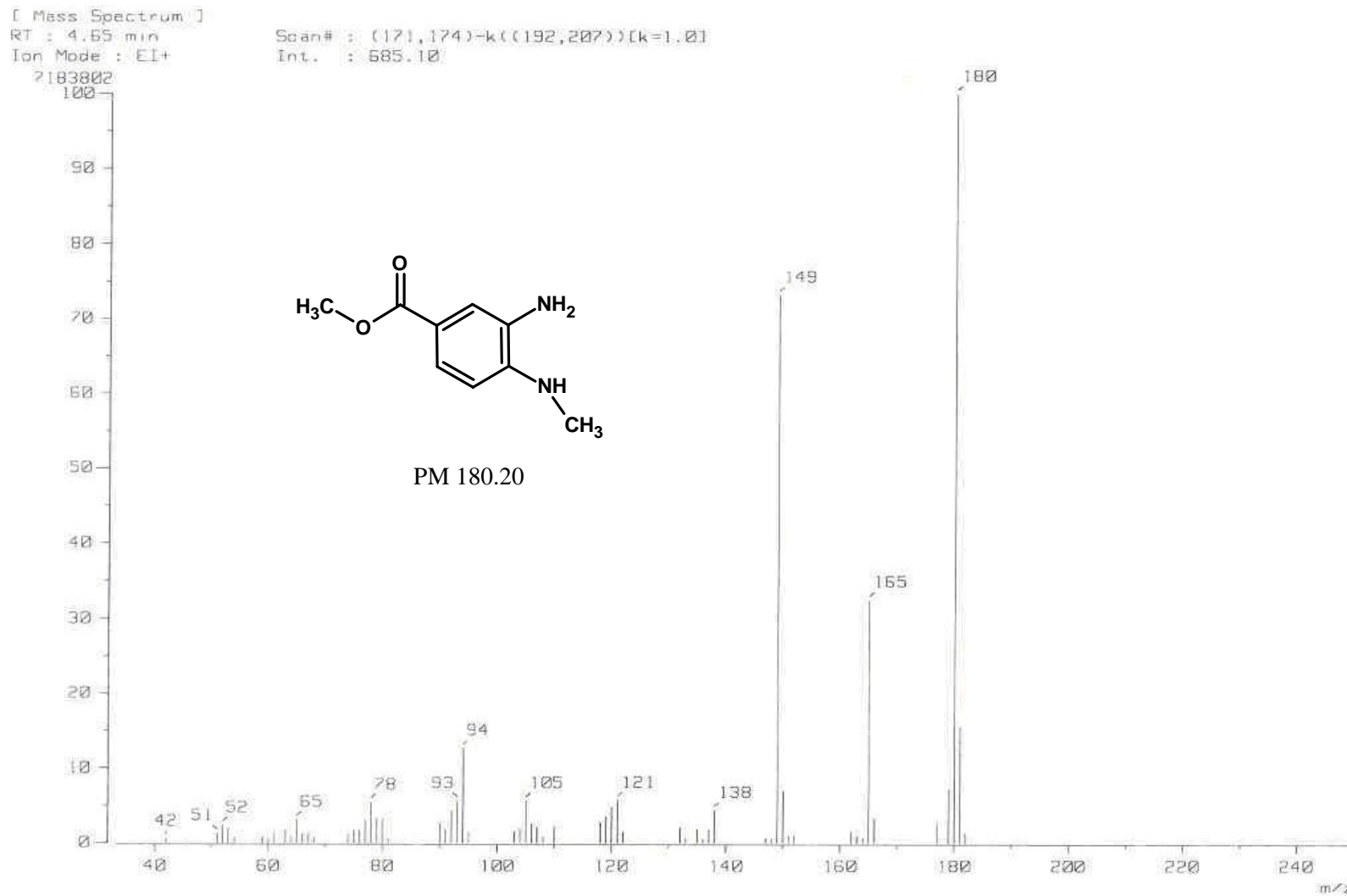
Espectro 35, EM 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo



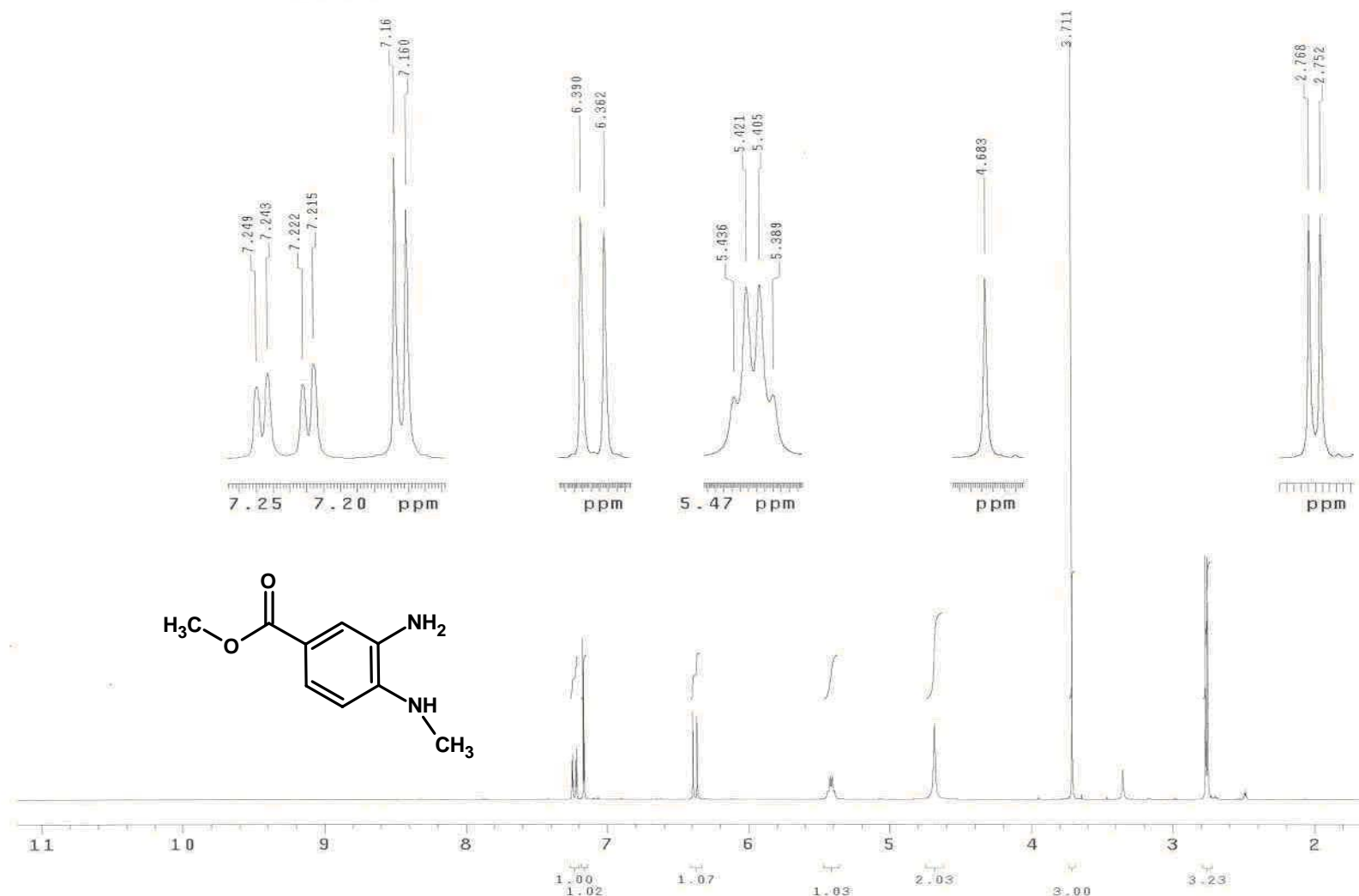
Espectro 36, RMN¹H 4-(metilamino)-3-nitrobenzoato de metilo



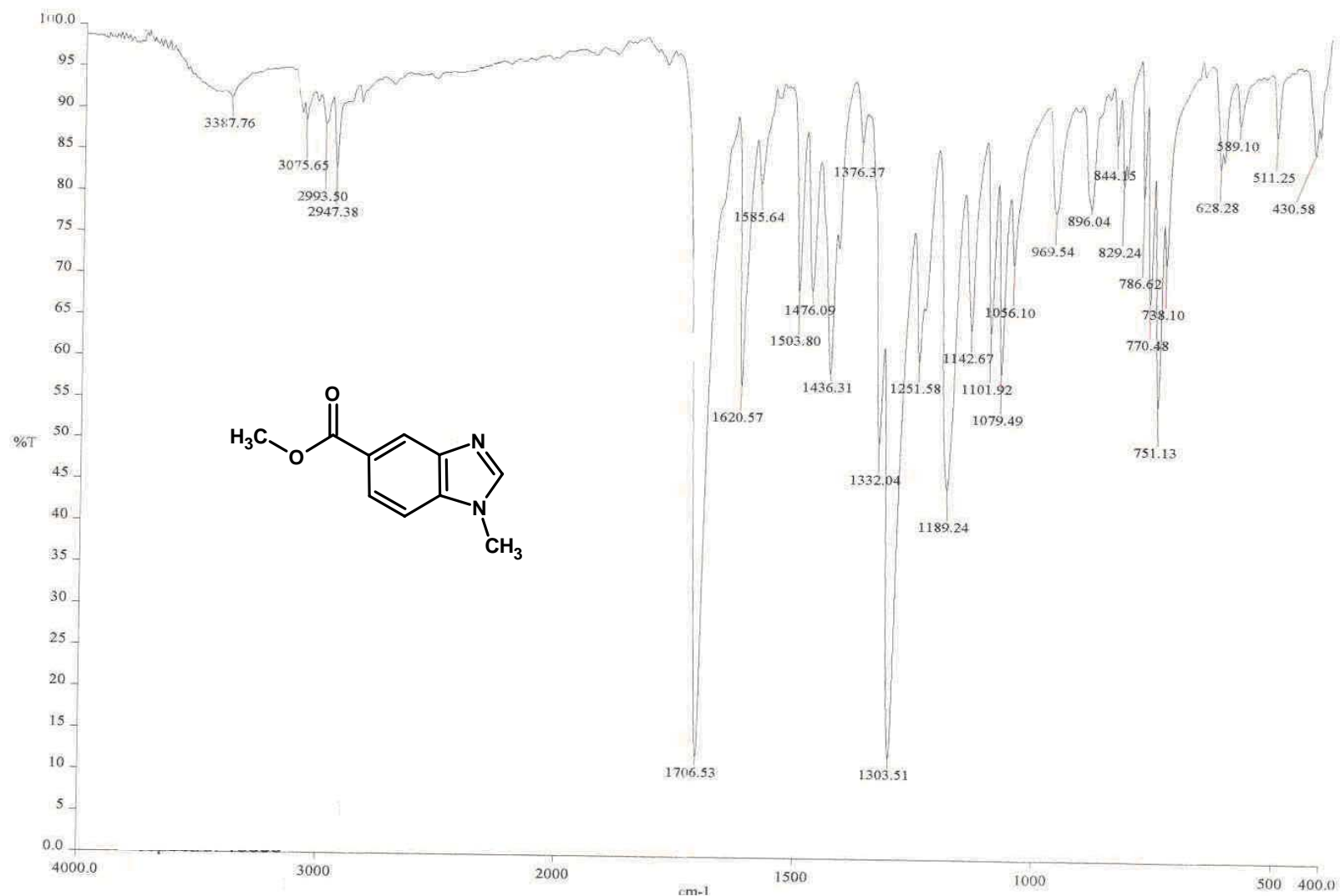
Espectro 37, IR 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo



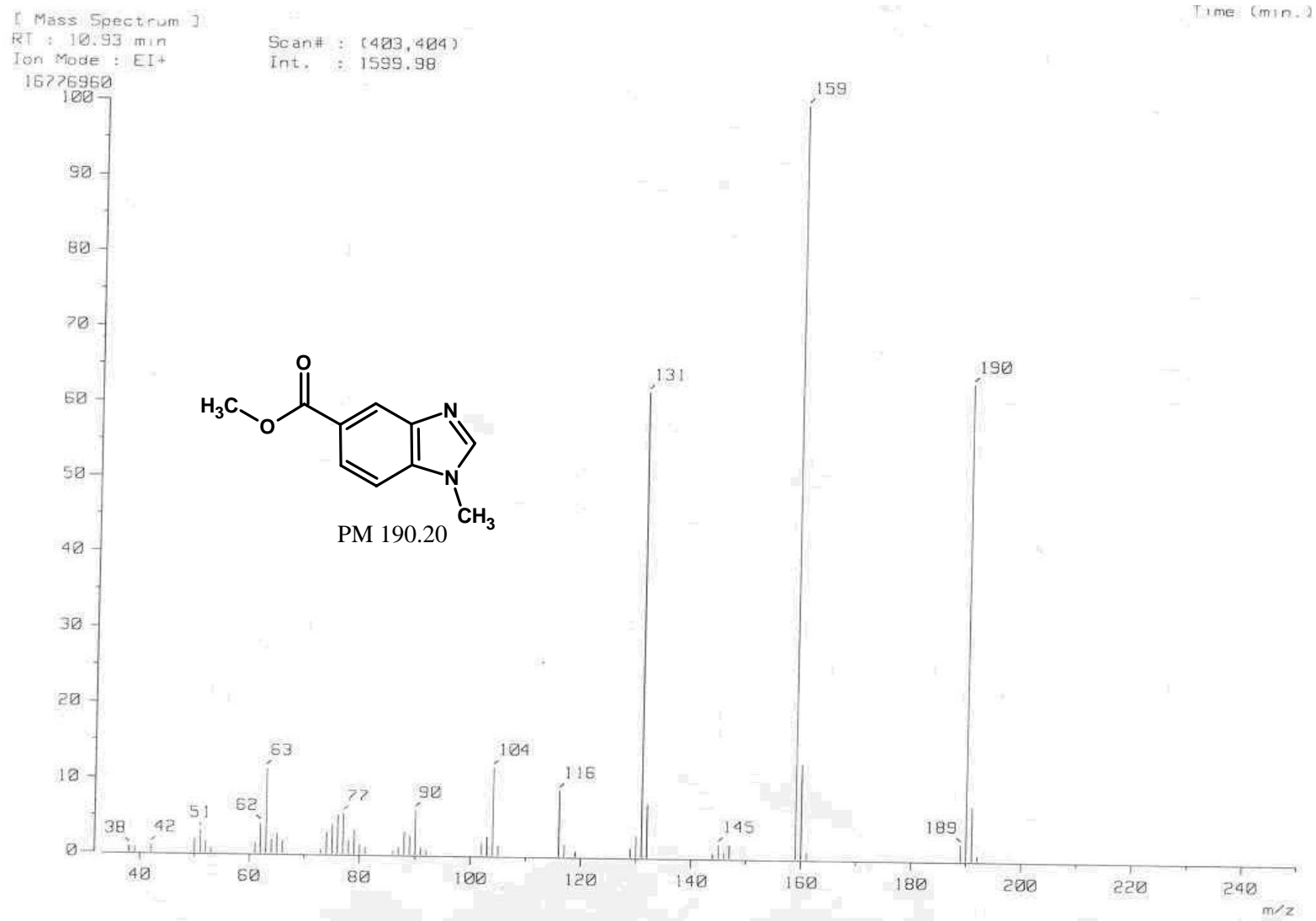
Espectro 38, EM 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo



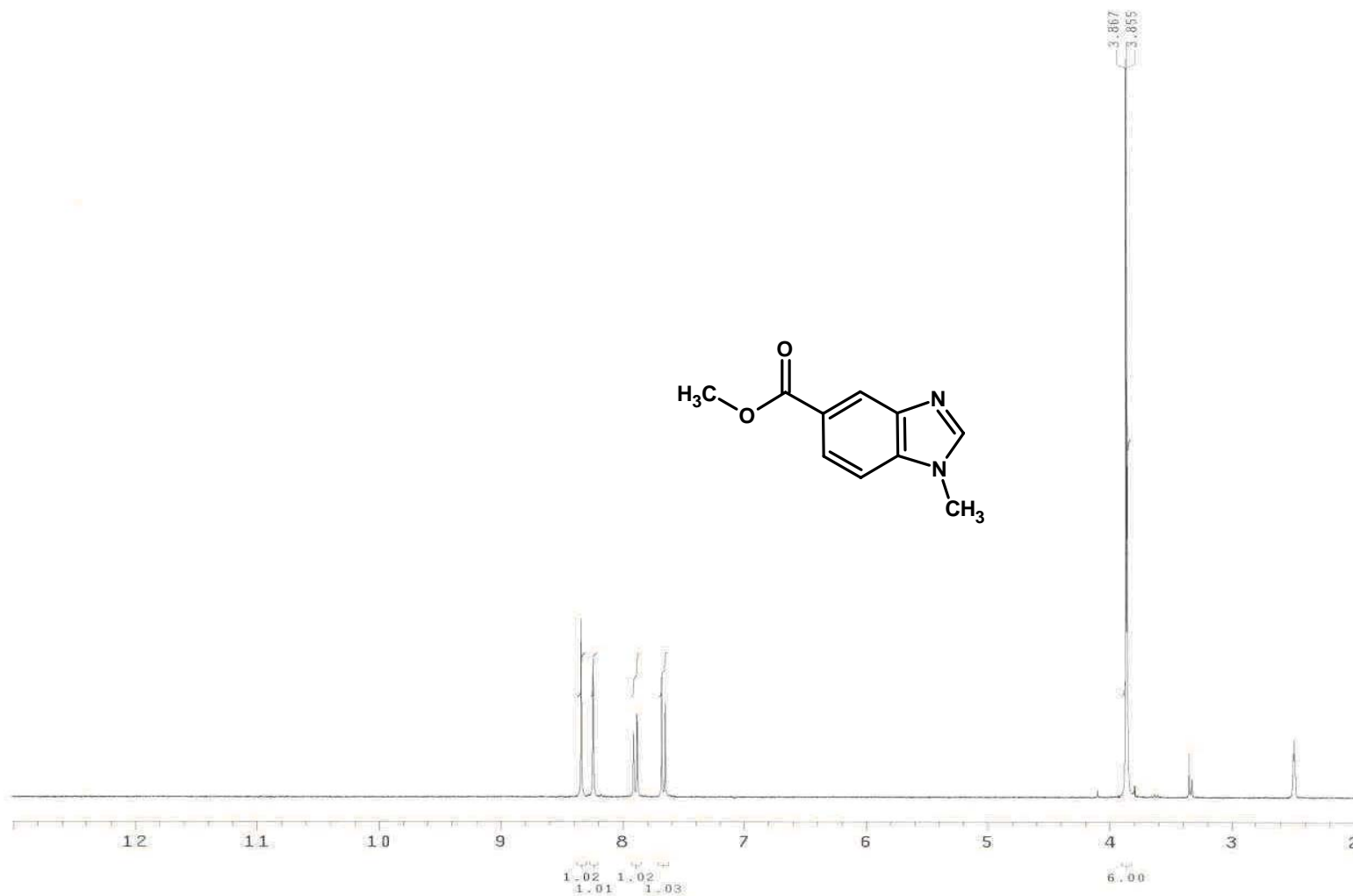
Espectro 39, RMN¹H 3-amino-4-(metilamino)benzoato de metilo



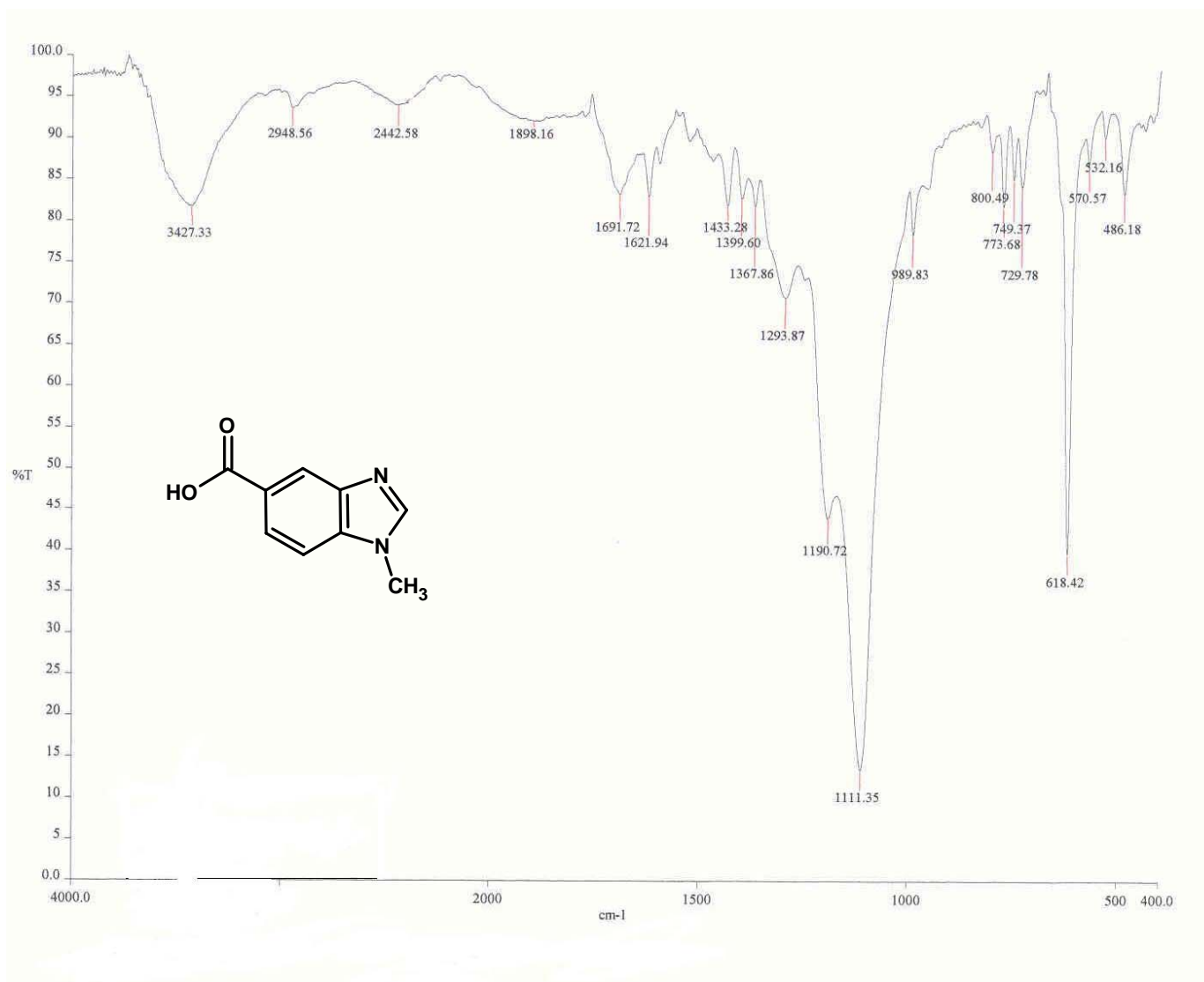
Espectro 40, IR 1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo



Espectro 41, EM 1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxilato de metilo



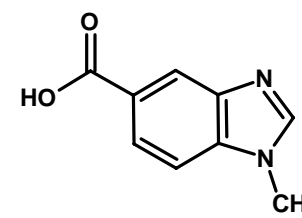
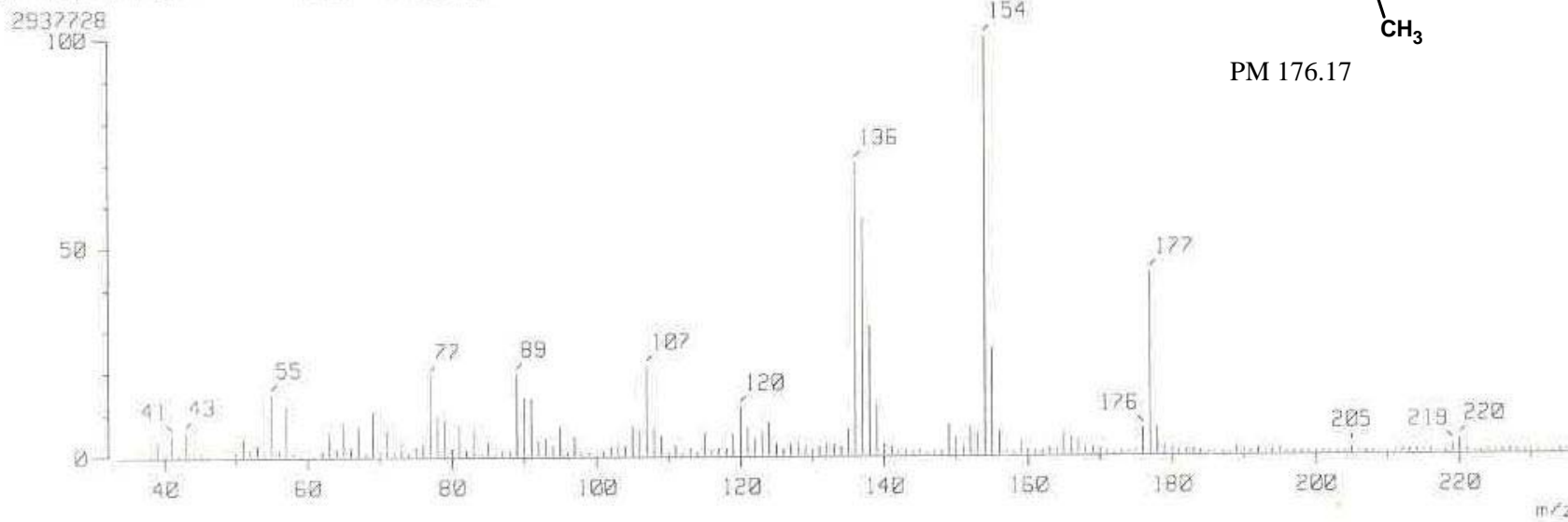
Espectro 42, RMN¹H 1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxilato de metilo



Espectro 43, IR ácido 1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico

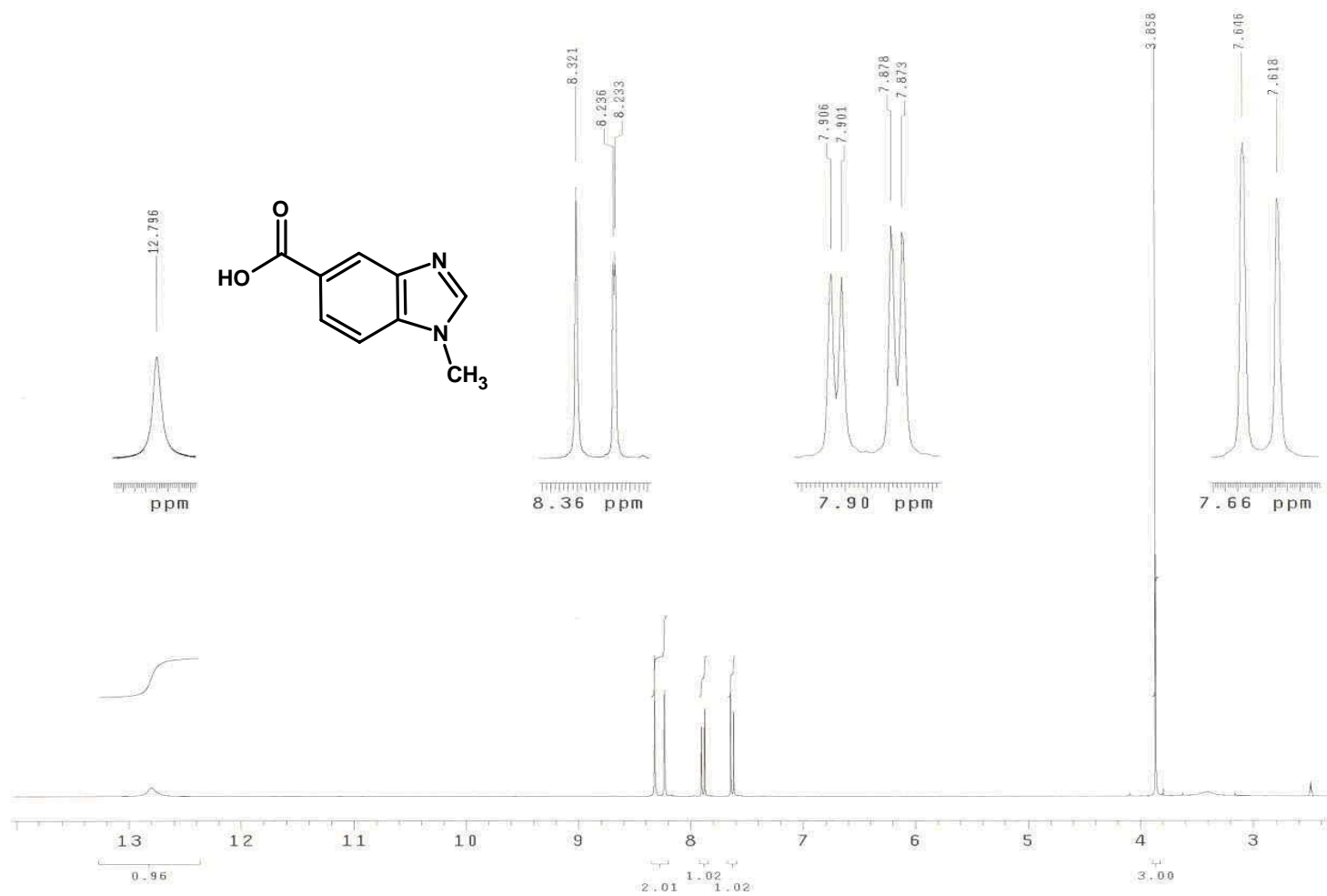
[Mass Spectrum]
 RT : 0.14 min
 Ion Mode : FFB+

Scan# : (3,4)
 Int. : 280.16

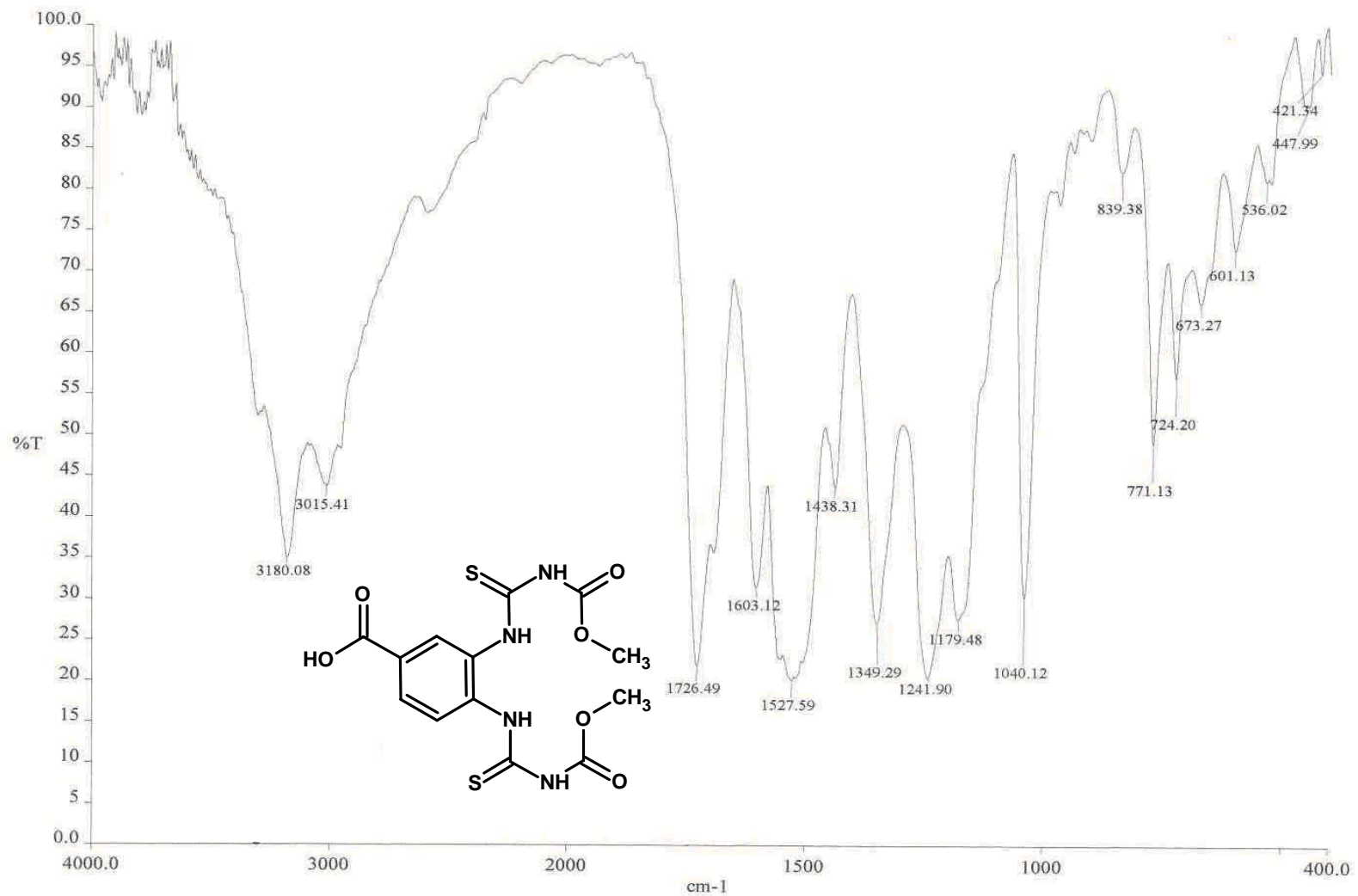


PM 176.17

Espectro 44, EM ácido 1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico



Espectro 45, RMN¹H ácido 1-metil-1*H*-bencimidazol-5-carboxílico

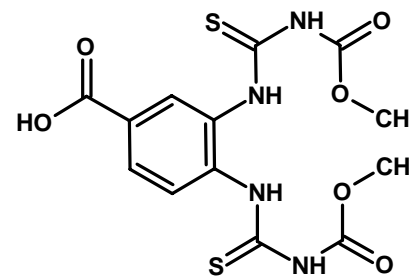
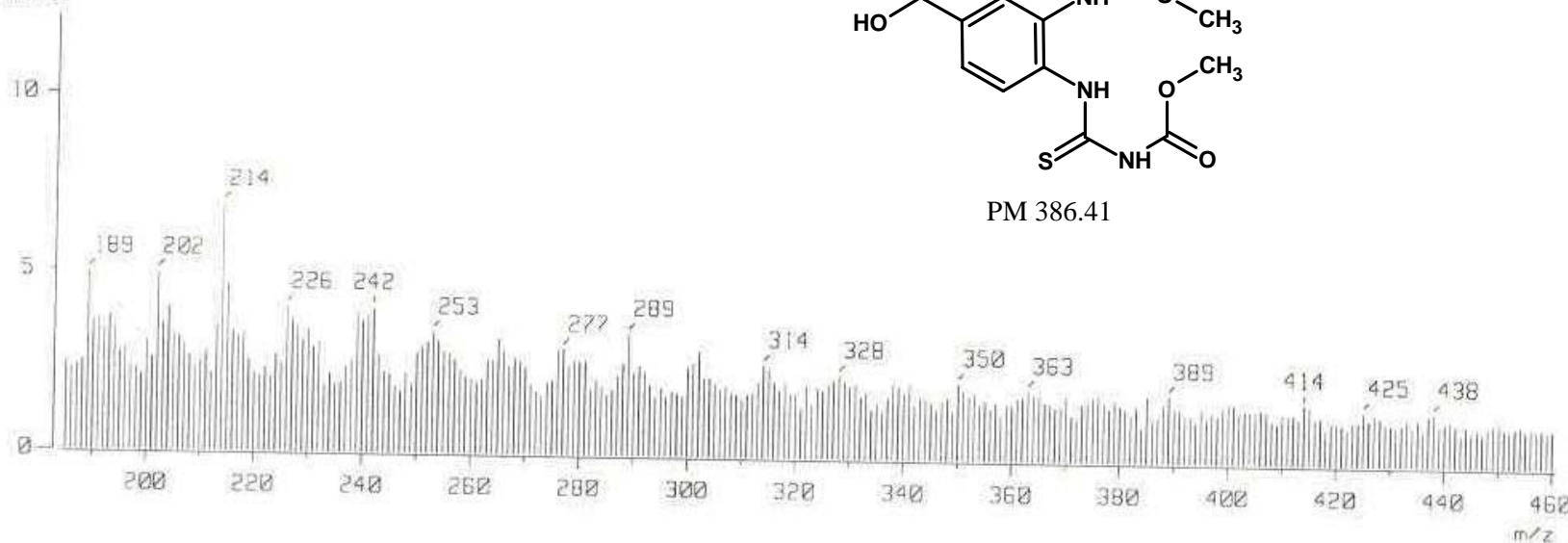


Espectro 46, IR ácido 3,4-bis[[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino]benzóico

[Mass Spectrum]
 RT : 1.18 min
 Ion Mode : FFB+

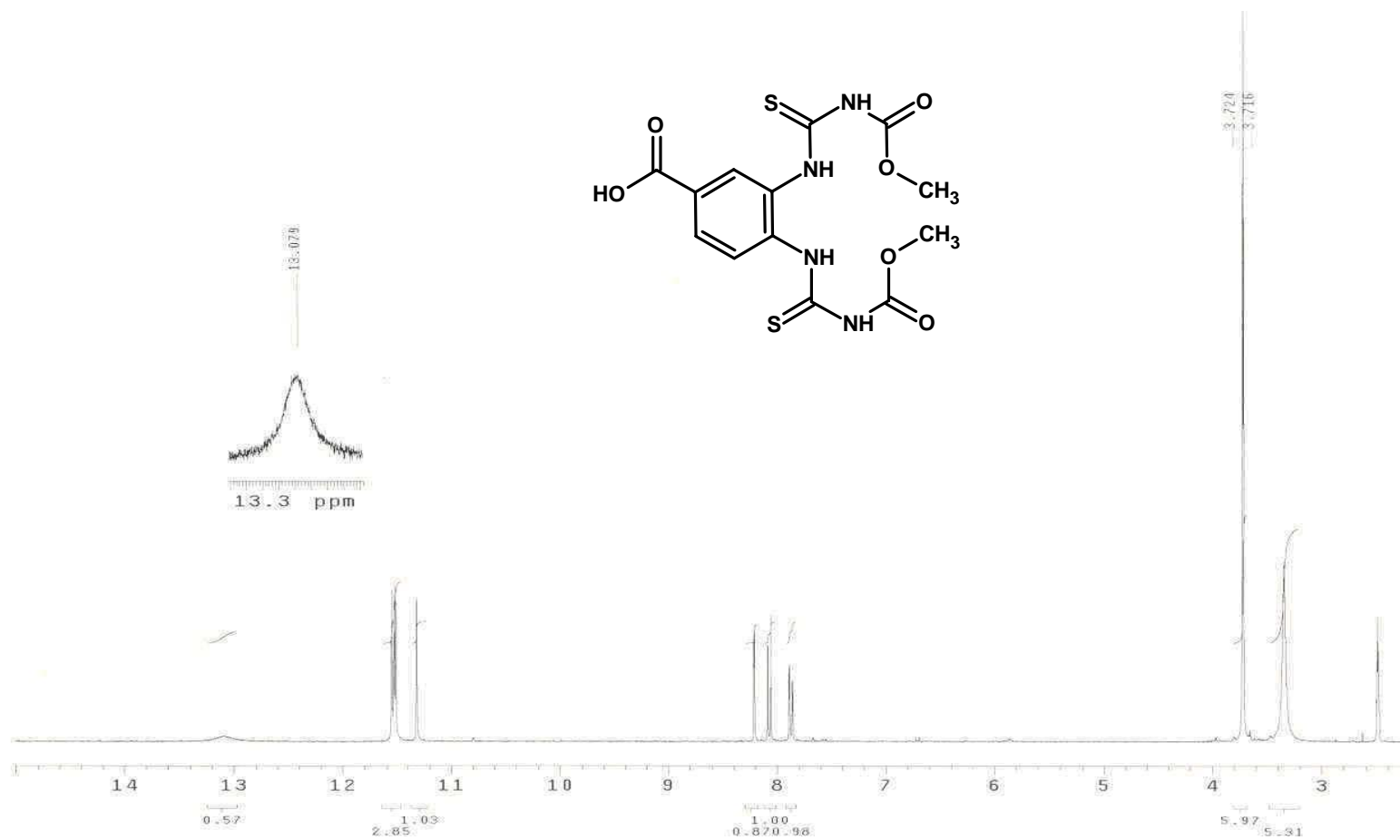
Scan# : (9,11)
 Int. : 195.24

248576

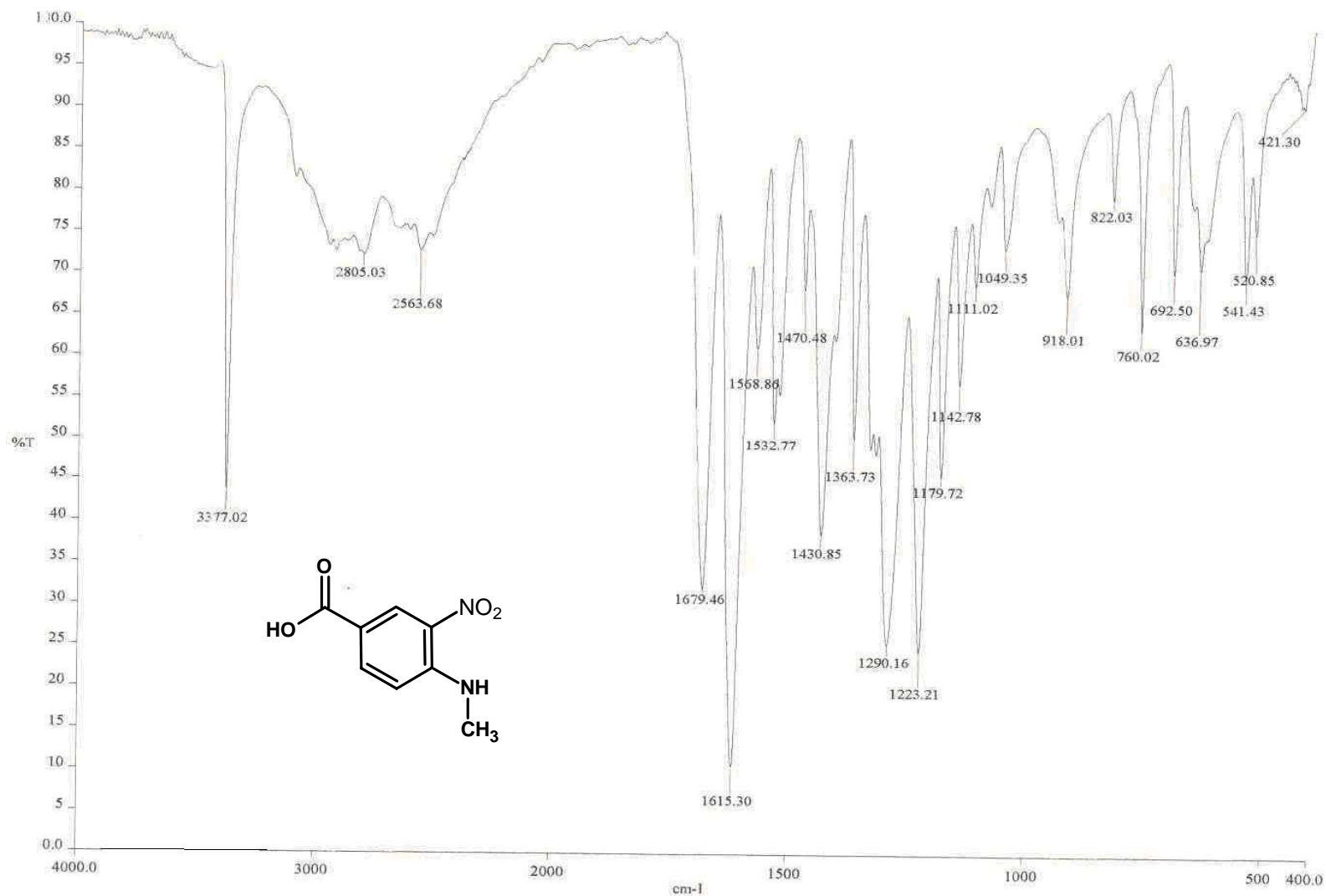


PM 386.41

Espectro 47, EM ácido 3,4bis{[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino}benzóico



Espectro 48, RMN¹H ácido 3,4-bis{[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino}benzóico



Espectro 49, IR ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzóico

[Mass Spectrum]

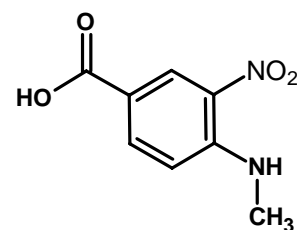
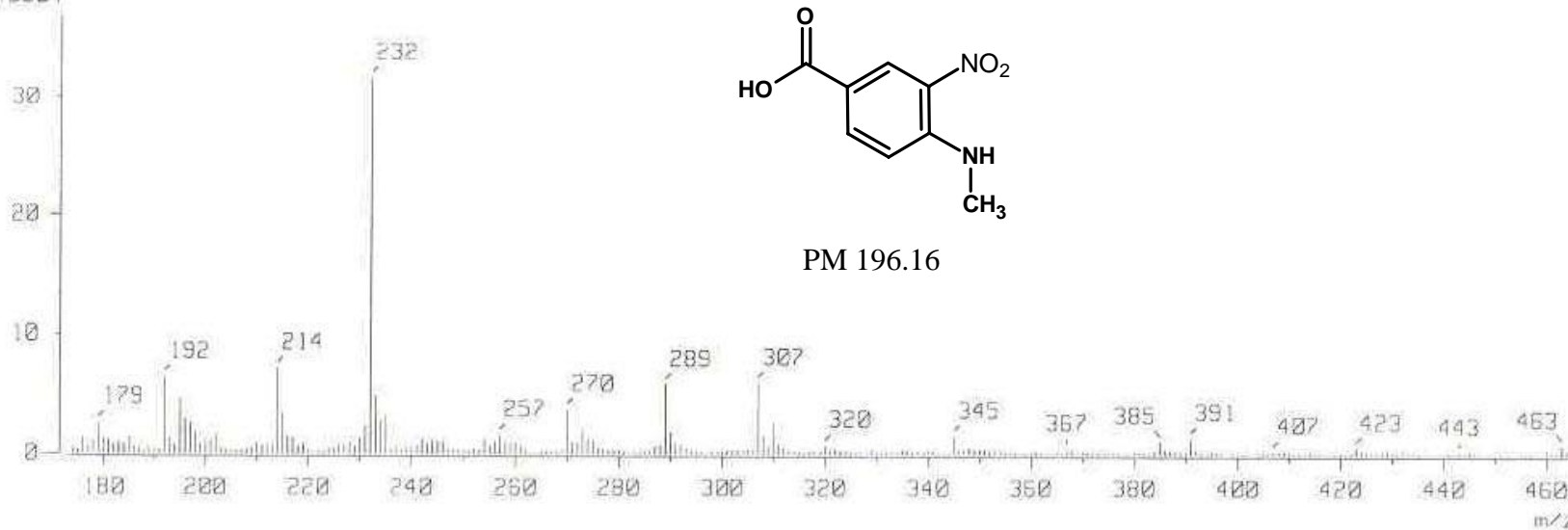
RT : 0.62 min

Ion Mode : FAB+

Scan# : (8,13)

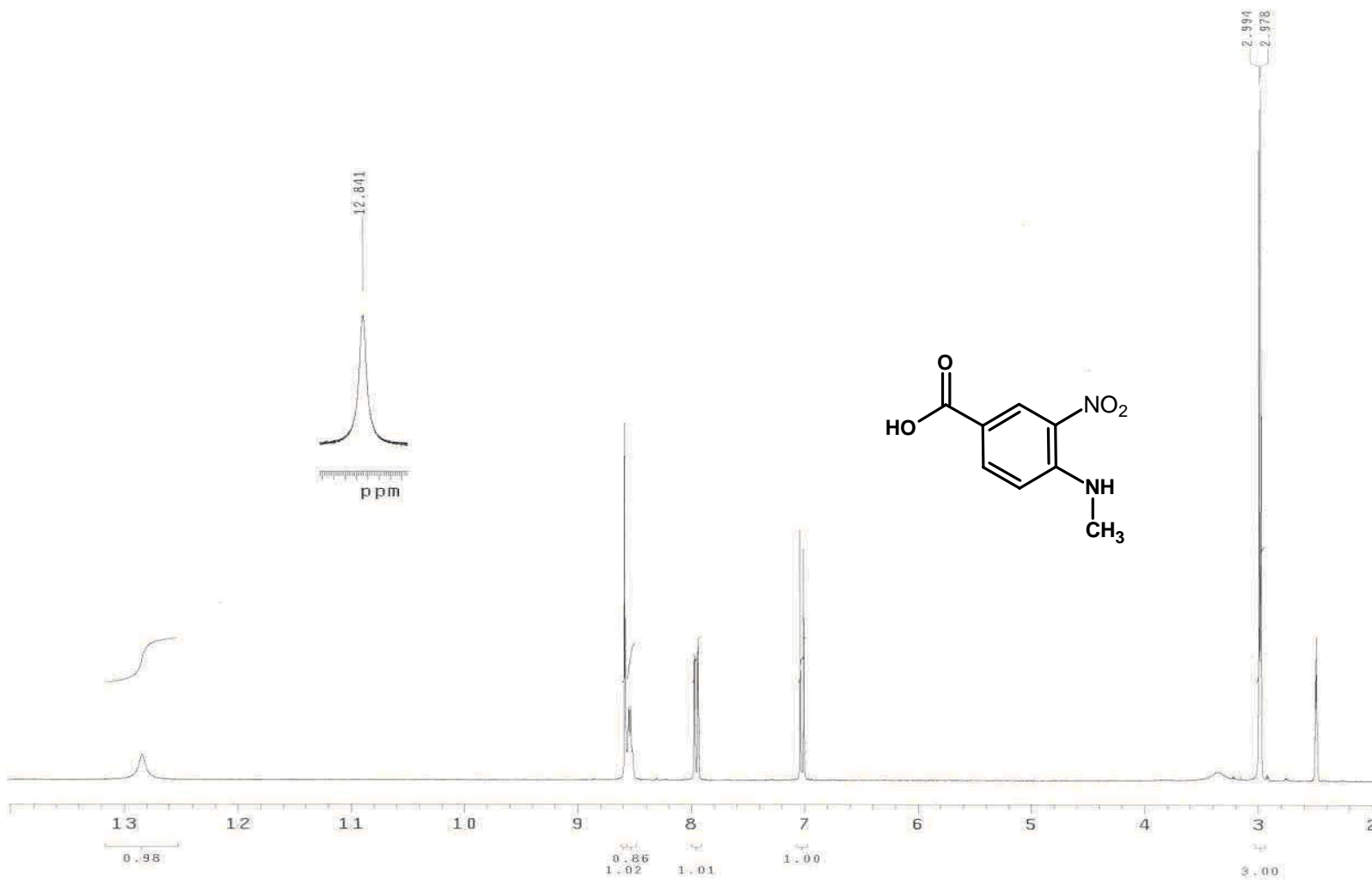
Int. : 399.99

1543504

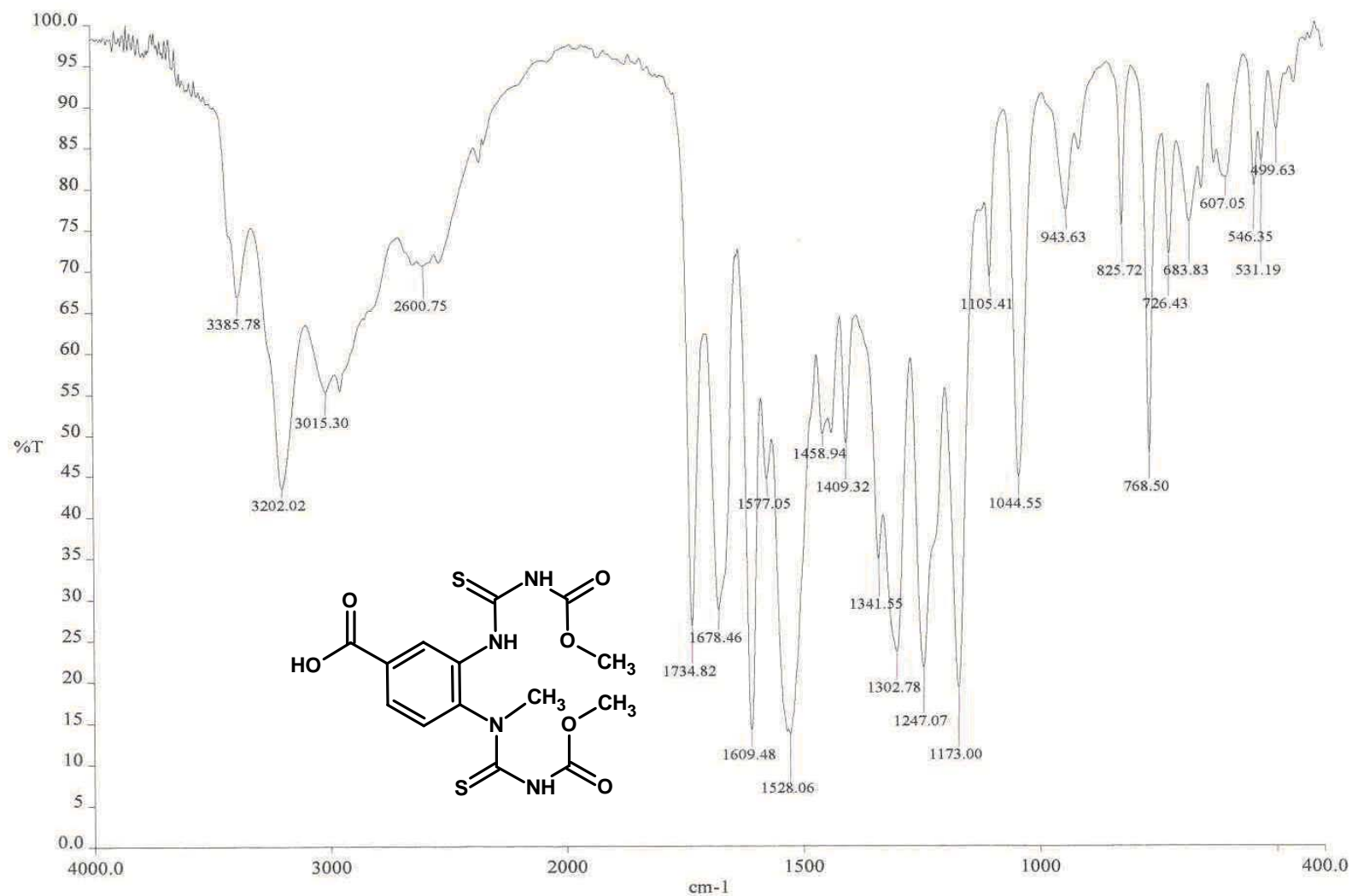


PM 196.16

Espectro 50, EM 4-(metilamino)-3-nitrobenzóico



Espectro 51, RMN¹H ácido 4-(metilamino)-3-nitrobenzónico

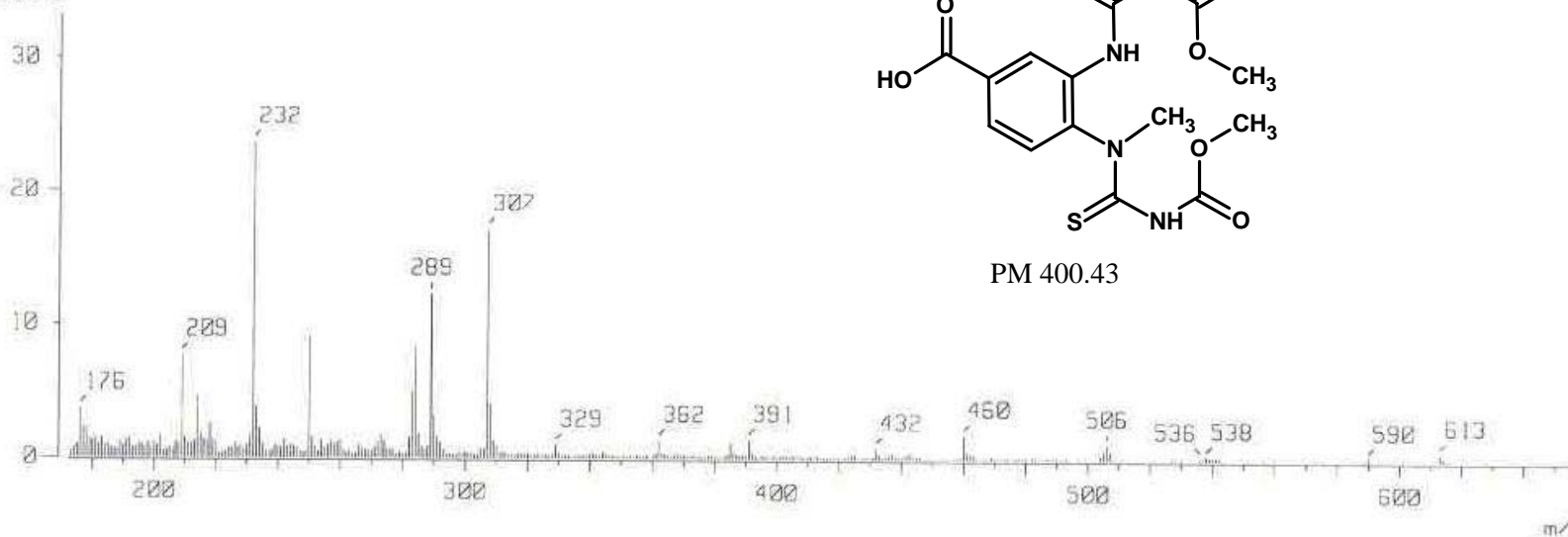


Espectro 52, IR ácido 3-[[[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino]-4-[[[(metoxicarbonil)carbamotioil](metil)amino]benzoyl]acético

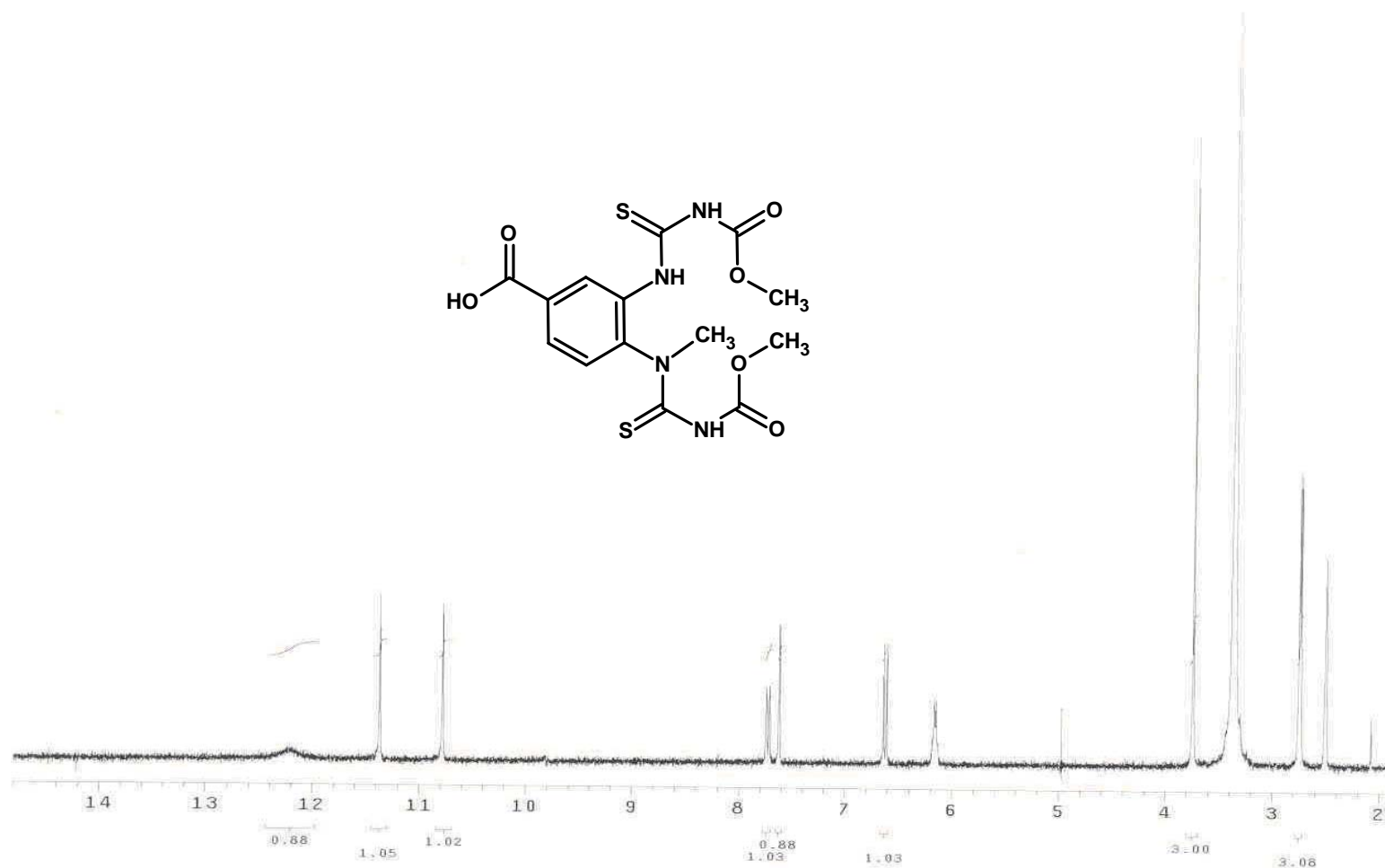
m/z

[Mass Spectrum]
 RT : 1.58 min
 Ion Mode : FAB+
 1393242

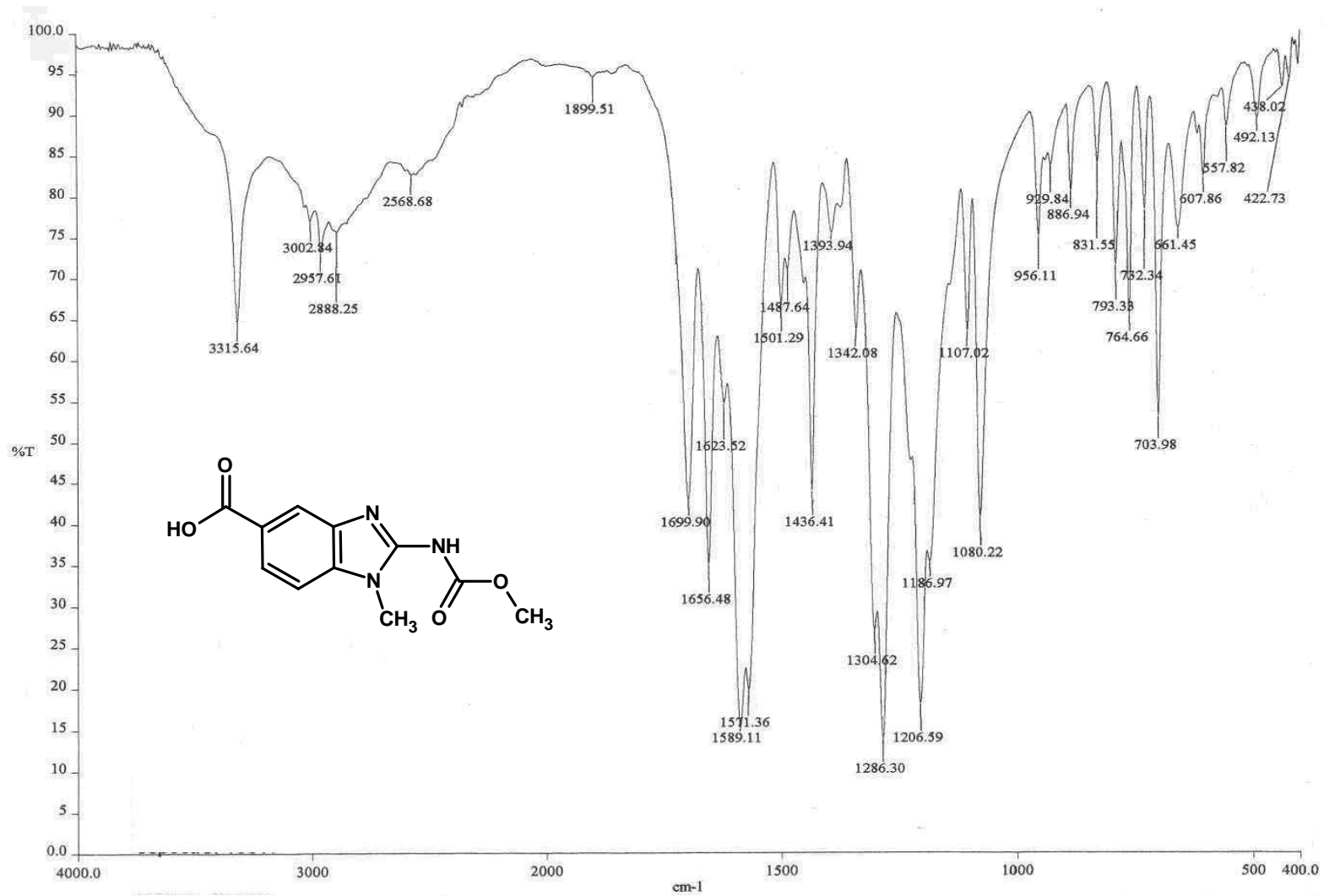
Scan# : (13,14)
 Int. : 399.99



Espectro 53, EM ácido 3-[[[(metoxicarbonil)carbamtioil]amino]-4-[[[(metoxicarbonil)carbamtioil](metil)amino]benzóico



Espectro 54, RMN¹H ácido 3-[[[(metoxicarbonil)carbamotioil]amino]-4-[[[(metoxicarbonil)carbamotioil](metil)amino]benzóico

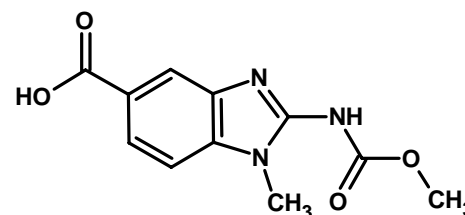
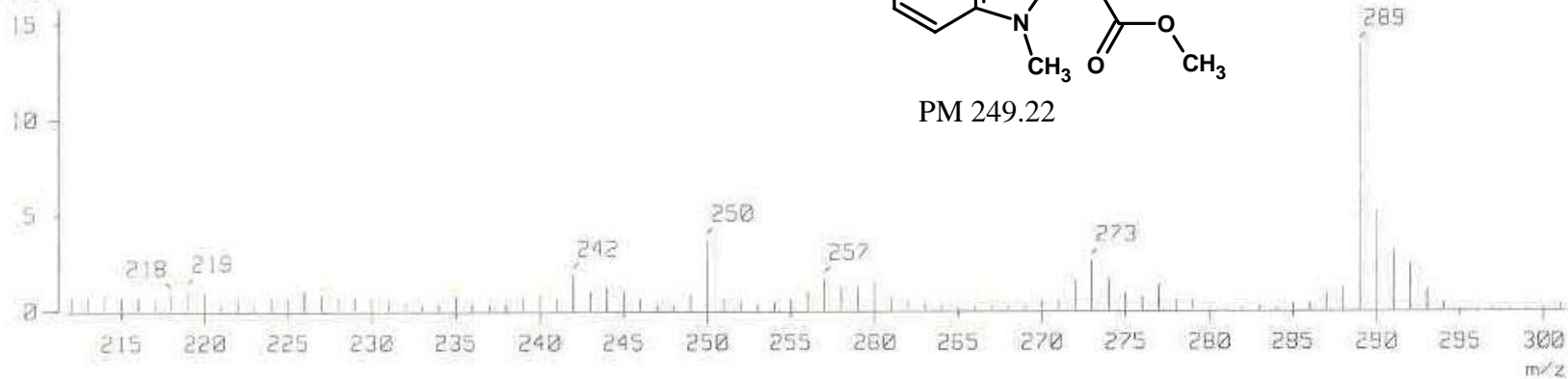


Espectro 55, IR ácido 2-[(metoxycarbonil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico

[Mass Spectrum]
 RT : 1.24 min
 Ion Mode : FBB+

Scan# : (15,18)
 Int. : 831.73

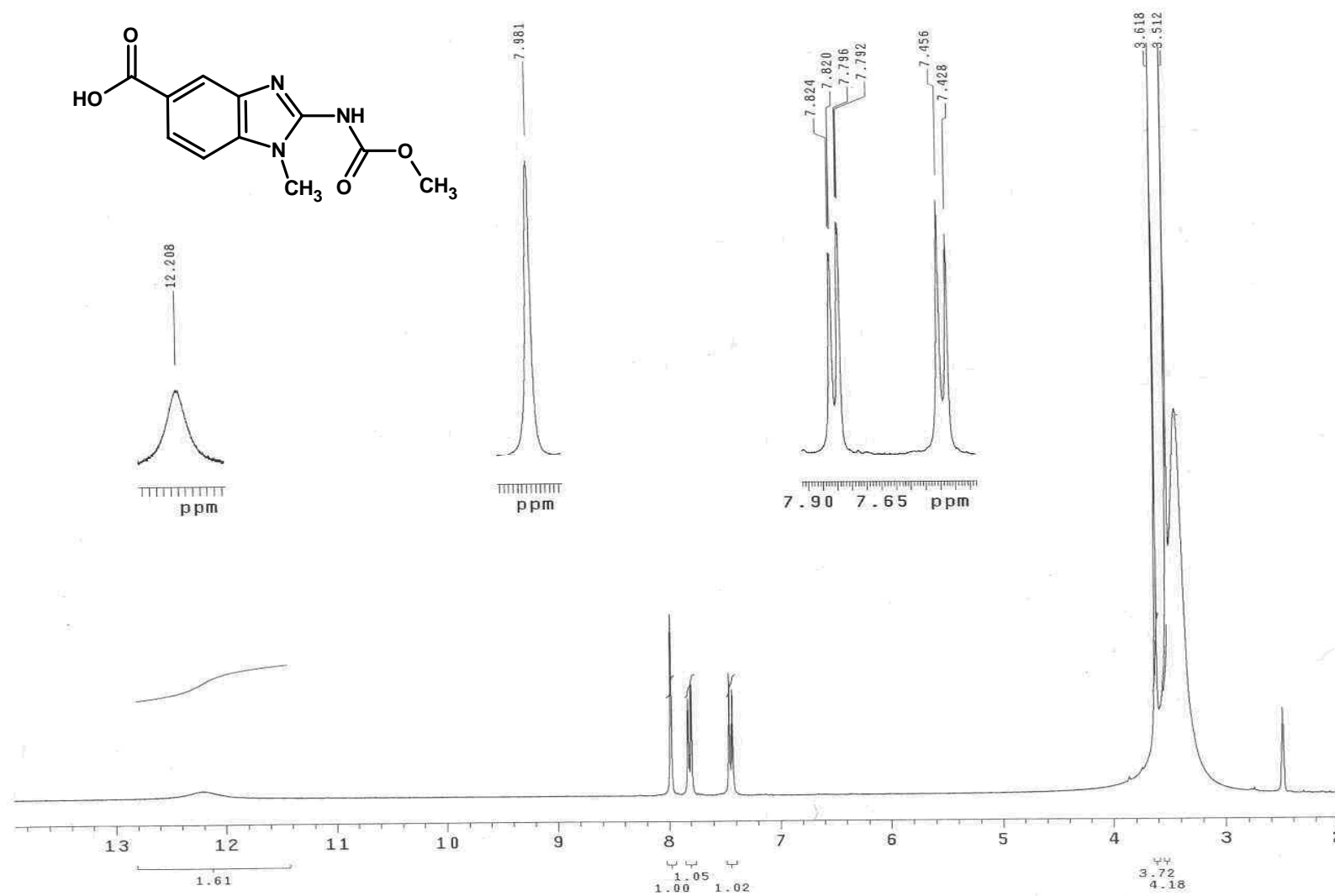
1378491



PM 249.22

[Mass Spectrum]

Espectro 56, EM ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1H-bencimidazol-5-carboxílico



Espectro 57, RMN¹H ácido 2-[(metoxicarbonil)amino]-1-metil-1H-benzimidazol-5-carboxílico