



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

"SINTESIS DE BIOPRECURSORES POTENCIALES
DEL FENBENDAZOL Y OXFENDAZOL"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ADRIAN MAXIMILIANO LOPEZ



MEXICO, D. F.

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Dr. Rafael Castillo Bocanegra
VOCAL	M.V.Z. Atonatiu E. Gómez Martínez
SECRETARIO	M. en C. Franciso Hernández Luis
1er. SUPLENTE	M. en C. Lino Joel Reyes Trejo
2do. SUPLENTE	M. en C. Hector Ríos Olivares

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

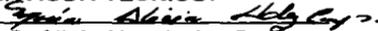
LABORATORIO 122; CONJUNTO "E" DEL DEPARTAMENTO DE FARMACIA. FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.

ASESOR DE TESIS:



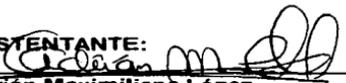
M. en C. Francisco Hernández Luis.

SUPERVISOR TECNICO:



M. en C. Alicia Hernández Campos.

SUSTENTANTE:



Adrián Maximiliano López.

DIOS:

**Tu me has dado la sabiduria y
la fuerza necesaria para llegar
hasta aqui. ¡Gracias señor por
estar conmigo en todo momento!**

A mis padres Jovita y J. Trinidad :
porque todos mis logros, son el fruto
de su apoyo, amor y comprensión.

**A mis hermanos y hermanas por sus
consejos y su apoyo incondicional sin
los cuales no hubiera logrado esta meta.**

A ti Blanca Estela :
En ti he encontrado el brazo que me
sostiene y me señala el camino que
debo de seguir. ¡Gracias mi amor !

Para ti AOV :
Eres la alegría en mi vida, y
el motivo que me vivir la vida
con optimismo.

AGRADECIMIENTOS :

Quisiera agradecer sinceramente al profesor Francisco Hernández Luis por haber depositado su confianza en la realización de este trabajo, pero sobre todo por su amistad.

De manera especial quiero agradecer al Dr. Rafael Castillo por todo su apoyo, orientación y motivación. Gracias Doc. por abrir las puertas del conocimiento.

A la maestra Alicia Hernández por sus consejos y sugerencias para la realización del trabajo experimental.

A Sergio por su amistad, apoyo y gran sentido de compañerismo.

A todos mis compañeros del laboratorio : Cecilia J., Ceci, Rosa J., Margarita, Mayra, Nora, Pilar, Laria, Peme, Carlos, Hugo, Gabriel, Daniel, Arón y todas las personas del departamento que me han brindado su amistad.

A Lalo, Lino y Saul por su gran amistad y todos los momentos que hemos compartidos juntos.

A toda la generación Q.F.B. 90 : Aida, Elizabeth, Sa, Olga, su gran compañerismo, Marisa, Marcela, Julia, Vero, Chintya, Guille, Nelly, Nancy, Adriana, Lidia, Alejandro, Zenón, Samuel, Alfredo, Francisco y todos los compañeros de la facultad con los cuales he compartido experiencias inolvidables.

A Tere Matias por su gran amistad y todos los gratos recuerdos de la facultad.

A mis amigos de siempre : Armando, Toño, Sergio y Evaristo porque donde quiera que este siempre cuento con su sincera amistad.

**A las Químicas : Maricela Gutierrez, Alejandrina Acosta,
Georgina Duarte y Graciela Chávez del Departamento de Química
Analítica de la facultad de Química, por el registro de los espectros de
J.P. R.M.N. y Masas.**

**Al personal del Instituto de Química, que colaboró para el registro de
los espectros de R.M.N. y masas de esta tesis.**

INDICE

	Pag.
RESUMEN.....	i
1. INTRODUCCION.....	1
2. GENERALIDADES.....	4
2.1. Bencimidazoles.....	4
2.2. Infecciones Micóticas.....	6
2.2.1. Los Hongos.....	6
2.2.2. Criptococosis.....	7
a) Definición.....	7
b) Distribución Geográfica y Habitat.....	7
c) Clasificación Clínica de la Criptococosis.....	8
d) Características de la enfermedad.....	8
e) Tratamiento.....	9
2.3. Profármacos.....	13
2.3.1. Definición de Profármaco.....	13
2.3.2. Clasificación.....	13
2.3.3. Probencimidazoles.....	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Planteamiento del Problema.....	16
3.2. Objetivo General.....	16
3.3. Objetivos Específicos.....	16
4. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO.....	18
4.1. Estructuras Propuestas.....	19
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	21
5.1. Síntesis de Bioprecursores 6 y 7.....	21
5.2. Síntesis de Bioprecursores 10 y 11.....	23
6. RESULTADOS.....	26
7. DISCUSION DE RESULTADOS.....	29
8. CONCLUSIONES.....	37
9. PARTE EXPERIMENTAL.....	39
9.1. Instrumentación.....	39
9.2. Cromatografía.....	39
9.3. Sistemas de Elución.....	40
9.4. 5-cloro-2-nitroacetanilida(2).....	40
9.5. 5-cloro-2-nitroanilina(3).....	41

9.6. 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina(4).....	41
9.7. N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)fenil]tiourea (6).....	42
9.8. 4-fenilsulfenil-1,2-o-fenilendiamina(5).....	42
9.9. [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno(7).....	43
9.1.0. 5-fenilsulfinil-2-nitroanilina(8).....	44
9.1.1. N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfinil-2-nitro)fenil]tiourea(10).....	44
9.1.2. 4-fenilsulfinil-1,2-o-fenilendiamina (9).....	45
9.1.3. [1,2-bis(metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfinil]benceno(11).....	45
10. ESPECTROS.....	47
11. BIBLIOGRAFIA.....	71

RESUMEN.

En el presente trabajo se describe la síntesis y caracterización espectroscópica de dos nuevos bioprecursores potenciales del fenbendazol y oxfendazol con el propósito de incrementar la solubilidad de estos principios activos en disolventes polares.

Los compuestos sintetizados son: N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)fenil]tiourea(6); [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno(7); N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)fenil]tiourea (10); y [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno(11). Los compuestos preparados se identificaron por puntos de fusión y datos espectroscópicos de IR, RMN y Masas, los cuales concuerdan con las estructuras esperadas.

ABSTRACT.

In this thesis is described the synthesis of two prodrugs of fenbendazole and two of oxfendazole with the purpose of increasing the solubility of these drugs in polar solvents. The compounds prepared are N-methoxycarbonyl-N'-[(5-phenylsulfenyl-2-nitro)-phenyl]thiourea(6); [1,2-bis(3-methoxycarbonyl-2-thioureido)-4-phenylsulfenyl]benzene(7); N-methoxycarbonyl-N'-[(5-phenylsulfenyl-2-nitro)phenyl]thiourea(10); and [1,2-bis(3-methoxycarbonyl-2-thioureido)phenylsulfenyl]benzene (11). Melting point and spectroscopic data (IR, RMN and Mass) have been determined.

1. INTRODUCCION.

En la actualidad es bien conocido que una gran parte de la población mundial, se ve afectada por enfermedades provocadas por parásitos, lo anterior se presenta principalmente en países de bajos recursos económicos entre los cuales se encuentra nuestro país. Existe una serie de factores que predisponen a este tipo de padecimientos, algunos de ellos son: ubicación geográfica, condiciones climatólogicas, grado de educación sanitaria y el bajo nivel nutricional de la población.

Con frecuencia estas enfermedades pasan inadvertidas, en cuyo caso se llega a establecer una relación entre el huésped y el parásito que puede durar años, sin que ello represente riesgo alguno para la salud del hospedador. Sin embargo, existen parasitosis que pueden afectar órganos diferentes al intestino, como son los pulmones, corazón o el sistema nervioso central (SNC) en donde el riesgo es mayor.

Actualmente se han logrado avances significativos en la quimioterapia de las afecciones provocadas por parásitos que infectan el tracto gastrointestinal, como los oxíuros, tricocéfalos o las amibas, entre otros; en donde se disponen de medicamentos de eficacia clínica. Sin embargo, no se puede decir lo mismo de aquellas enfermedades provocadas por parásitos que infectan otros órganos del cuerpo humano. Estos padecimientos se engloban bajo el calificativo de enfermedades parasitarias extraintestinales o sistémicas y son provocadas por algunos helmintos, hongos y protozoarios. Algunas de estas enfermedades son la criptococosis, la neurocisticercosis, la leishmaniasis, la enfermedad de chagas, la triquinosis muscular, la oncocercosis, y el paludismo.

El desarrollo de programas de investigación cuya finalidad sea la búsqueda de nuevas alternativas profilácticas y quimioterapéuticas para el tratamiento de este tipo de padecimientos representa una necesidad primordial para los grupos de investigación científica en el campo de las ciencias farmacéuticas y áreas químico biológicas.

Dentro de los compuestos con perspectivas para el tratamiento de enfermedades parasitarias extraintestinales se encuentran los bencimidazoles; este grupo de fármacos se desarrollaron y han sido aplicados como antihelmínticos en medicina veterinaria y humana. Recientemente se encontró que un grupo de compuestos clasificados como bencimidazol-2-carbamatos de metilo, entre los cuales se encuentran el fenbendazol, oxfendazol, albendazol, mebendazol, y flubendazol presentan actividad biológica, contra ciertas especies de hongos oportunistas, causantes de micosis sistémicas, que infectan al hombre y algunas especies de ganado.¹

Dentro del contexto de los padecimientos causados por hongos, particularmente aquellos que se conocen como micosis sistémicas o profundas, debido a lo complicado de su tratamiento, se encuentra la criptococosis; esta enfermedad afecta principalmente a individuos que se encuentran inmunodeprimidos,² los cuales la padecen crónicamente y con consecuencias mortales. Los agentes antimicóticos para el tratamiento de esta enfermedad son pocos. La anfotericina B, la 5-fluorocitosina y algunos azoles como el fluconazol y ketoconazol, son la única alternativa terapéutica para el tratamiento de la criptococosis en determinados casos clínicos.

El fenbendazol es un antihelmíntico de amplio espectro contra una serie de gusanos intestinales, principalmente en cerdos y caballos. En estudios recientes se ha demostrado que este fármaco posee actividad *in vitro* contra el hongo oportunista *Cryptococcus neoformans*, aún mayor que la anfotericina B, que es el fármaco más utilizado para el tratamiento de la criptococosis. La desventaja principal del fenbendazol como principio activo es que debido a su naturaleza estructural presenta muy baja solubilidad en disolventes polares, por lo que su absorción a través del organismo es muy pobre y los resultados clínicos presentan gran variabilidad biológica, en individuos que han sido tratados con este fármaco.

INTRODUCCION

El uso terapéutico potencial del fenbendazol y sus derivados como agentes antifúngicos contra micosis sistémicas como la criptococos, representa una alternativa que ofrece nuevas y mejores posibilidades de uso en este tipo de afecciones .

2. GENERALIDADES.

2.1. Bencimidazoles.

El bencimidazol es una molécula, cuyo núcleo ha sido reconocido como base para el diseño de compuestos, que poseen un amplio espectro de actividades biológicas, entre las cuales se encuentran las siguientes: antihelmíntica, antimicrobiana, y antifúngica. Aunque la actividad antihelmíntica es la que más se ha investigado, recientemente la actividad antifúngica de estos compuestos ha cobrado importancia como alternativa para investigaciones y aplicación en medicina veterinaria y humana.

Hoy en día, el bencimidazol representa un grupo reconocido por su versatilidad como heterociclo en la investigación químico-farmacéutica, y en consecuencia, éste ha sido sujeto a una gran variedad de modificaciones estructurales con el fin de diseñar fármacos usados contra helmintos intestinales. La simple utilización de materias primas accesibles ha hecho posible la síntesis de una gran variedad de derivados bencimidazólicos, los cuales, son compuestos efectivos para el tratamiento de helmintiasis causadas por parásitos como: nematodos, cestodos y trematodos, tanto en humanos como en animales domésticos. En la tabla 1 se muestran los principales antihelmínticos derivados del bencimidazol desarrollados hasta hoy.

Las bases estructurales mínimas, para que la molécula de bencimidazol posea actividad antihelmíntica, muestran que es esencial la presencia de un átomo de hidrógeno en la posición 1, un grupo metoxicarbonilamino en el átomo de carbono dos y un grupo alquil, cicloalquil, fenil, fenil sustituido o heteroaril (piridil, tienil, furanil, etc) unido al átomo de carbono de la posición 5 por medio de grupos como: -CO, -CHOH, -CONH, -S, -SO.³ La relación 1,3 que guardan los átomos de nitrógeno en la molécula de bencimidazol, es primordial para una actividad antihelmíntica debido a que si uno o los dos átomos de nitrógeno, se sustituyen por oxígeno o azufre, se pierde la actividad además, se sabe que si el

grupo metoxicarbonilamino de 2, se sustituye por otros grupos como etoxicarbonilamino, la actividad cambia considerablemente.

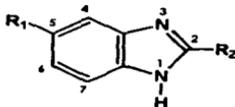


Tabla 1. Bencimidazoles con Actividad Antihelmintica.

NOMBRE GENERICO	R ₁	R ₂	DESARROLLO POR.
Tiabendazol	H	4-flazolil	Merck
Parbendazol	n-C ₄ H ₉	NHCOOCH ₃	S.K.F.
Mebendazol	COC ₂ H ₅	NHCOOCH ₃	Janssen
Flubendazol	COC ₂ H ₄ F	NHCOOCH ₃	Janssen
Ciclobendazol	COC ₃ H ₇	NHCOOCH ₃	Janssen
Fenbendazol	SC ₆ H ₅	NHCOOCH ₃	Hoeschl
Oxfendazol	SOC ₆ H ₅	NHCOOCH ₃	Syntex
Albendazol	SC ₇ H ₇	NHCOOCH ₃	S.K.F.
Oxibendazol	OC ₃ H ₇	NHCOOCH ₃	S.K.F.
Triclabendazol	OC ₆ H ₄ Cl ₂	SCH ₃	Ciba Geigy.

El mecanismo de acción de los bencimidazoles con actividad antihelmintica en general se puede resumir en tres categorías que son.

- 1) Inhibición de la enzima fumarato reductasa.
- 2) Inhibición del transporte de la glucosa.
- 3) Inhibición de la polimerización de la tubulina.

De dichos mecanismos, el fenbendazol y el oxfendazol, actúan principalmente por inhibición de la fumarato reductasa, probablemente mediante la interacción con una quinona endógena, bloqueando la formación de enlaces de alta energía(ATP), lo que provoca a una parálisis muscular y posterior muerte del parásito.⁴ El fenbendazol ha sido utilizado como antihelmintico de amplio

espectro, en medicina veterinaria; fue sintetizado y patentado por Farbwerke-Hoescht en 1971, presenta gran actividad contra las formas maduras e inmaduras en larvas de un gran número de nematodos gastrointestinales en gatos, borregos, cerdos y caballos además; el fármaco es activo contra el género *Monziencia spp* en borregos, a dosis de 5 a 25 mg/kg, y muestra excelente actividad contra nematodos y algunos cestodos.⁵ El fenbendazol está indicado para el tratamiento de infecciones por gusanos pulmonares en gatos, borregos, cerdos, vacas y aves de corral. Usualmente una dosis de 5 - 7.5 mg/kg es suficiente para remover *D. viviparus*, *D. filaria*, *Neostrongylus*, *Muellerius* y *Metastrongylus spp.*⁶

Por lo que respecta al oxfendazol, fué desarrollado y patentado por la compañía Syntex en el año de 1975 como un análogo del fenbendazol, y es activo contra algunos nematodos en varias especies animales, al igual que el fenbendazol es muy activo contra el género *Monziencia spp*; presenta actividad contra las formas maduras e inmaduras de importantes nematodos del tracto gastrointestinal y pulmones en borregos, vacas y caballos. La dosis usual de oxfendazol en vacas y borregos es de 4.5 - 5 mg/kg, respectivamente mientras que en caballos la dosis es de 10 mg/kg. El fármaco es bien tolerado y no muestra efectos teratogénicos, cuando se administra a especies en reproducción.⁶ La estructura de estos compuestos se puede ver en la tabla 1.

2.2. Infecciones Micóticas.

2.2.1. Los Hongos.

Los hongos son eucariotes no fotosintéticos, similares a las plantas; crecen en colonias de células aisladas (levaduras) y en forma de agregados multicelulares filamentosos (mohos).⁷ Algunas especies son parásitas de las plantas terrestres y pueden causar graves daños a los cultivos. Un número aun menor, es causa de enfermedades en el hombre y los animales. Las infecciones micóticas humanas se dividen en tres grupos:

- 1) Infecciones cutáneas contagiosas.
- 2) Infecciones sistémicas no contagiosas y de transmisión aérea.

3) Toxemias no contagiosas adquiridas a través de los alimentos.

Dentro de la clasificación anterior, las micosis sistémicas son las de más difícil tratamiento, pueden ser causadas tanto por levaduras y mohos. En algunos casos, el organismo se desarrolla en fase de levadura si la temperatura es de 37° C, y como moho si la temperatura es inferior. En su mayoría se trata de saprofitos que accidentalmente invaden a hospedadores humanos por inhalación de residuos del suelo. Un gran número de individuos, en determinadas zonas geográficas, se encuentran infectados por hongos de transmisión aérea, aunque son pocos los que desarrollan infecciones graves o mortales. Las personas susceptibles a este tipo de infecciones son aquellas que presentan una respuesta inmunitaria celular reducida, por razones genéticas o debilitada por tratamiento con inmunosupresores. Debido a la gran extensión y a la transmisión aérea de estos agentes, los métodos sanitarios no han conseguido la erradicación de las enfermedades provocadas por los hongos. Por consiguiente, la investigación de nuevos y mejores agentes antifúngicos es una necesidad de primer orden.

2.2.1. Criptococosis.

a) Definición.

Es una micosis sistémica cosmopolita, de carácter subagudo o crónico, causada por el hongo levaduriforme, oportunista *Cryptococcus neoformans*. La enfermedad se caracteriza por infectar primariamente los pulmones y posteriormente se disemina hacia la piel y vísceras con una clara predilección por el SNC.⁸ Típicamente se presenta como una meningitis y con menor frecuencia como neumonía.

b) Distribución Geográfica y Habitat.

C. neoformans es una especie de distribución universal, en 1894 Sanfelice lo aisló del jugo de durazno; también se le ha aislado de la leche y de los lugares relacionados con la ordeña, su desarrollo en la naturaleza está íntimamente relacionado con el excremento de palomas, pichones, gallinas, etc: de donde se

ha llegado a aislar hasta en un 69%,⁹ por lo que su hábitat más común es en edificios viejos de zonas urbanas, y lugares relacionados con este tipo de aves, como son iglesias, granjas, etc. Las palomas y otras aves son vectores indirectos que mantienen al microorganismo pero no adquieren la infección, lo cual se debe principalmente a su estado inmune, y a su temperatura corporal que es en promedio 40°, a la cual el hongo se reproduce, pero es poco virulento.⁹

c) Clasificación Clínica de la Criptococosis.

- 1.- pulmonar (25%)
- 2.- del sistema nervioso central (45%)
- 3.- cutánea (10 %)
- 4.- diseminada, visceral (15%)
- 5.- osea (5%).

d) Características de la Enfermedad.

La criptococosis del sistema nervioso central, es la variedad más frecuente; se origina a partir de una infección pulmonar, en particular se presenta como una meningitis, que es la variedad clínica más común(97% de los casos) y por lo regular se manifiesta en forma crónica y gradual. La enfermedad se inicia con la inhalación del hongo, el cual atraviesa las vías respiratorias y llega hasta los alveolos. *C. neoformans* prolifera fácilmente si no existe una buena defensa celular, particularmente en las células mononucleares (linfocitos, histocitos, etc). Si la infección no se detiene el microorganismo fácilmente se disemina por vía linfática y hematógena, con gran predilección por el SNC. Los primeros síntomas son cefalea intensa, dolor de las orbitas oculares, fiebre constante, vómito, rigidez y dolor de la nuca.

La meningitis criptocococica puede tomar un rumbo crónico, dependiendo de las condiciones del paciente. Cuando el padecimiento progresa rápidamente, el diagnóstico se torna grave, manifestándose principalmente con gran pérdida de peso, astenia(debilidad del SNC) y adinamia(debilidad muscular) del enfermo, dando paso al coma y por lo general el paciente muere por insuficiencia

respiratoria. Algunos factores que predisponen a la enfermedad son por lo general: la diabetes mellitus, desnutrición o bien personas deprimidas inmunológicamente con leucemias, linfomas, sarcomas, corticoterapia y el SIDA en donde la enfermedad juega un papel importante como micosis oportunista.¹⁰

Algunas especies animales también son susceptibles a la infección, un caso en particular es la criptococosis en el ganado lechero, la cual es una enfermedad conocida como mastitis bovina y su distribución es mundial. Según algunos reportes médicos, el microorganismo se disemina en la ubre del animal provocando una disminución en el volumen de la leche ordeñada, lo cual se refleja en pérdidas económicas notables.⁸ La presencia del hongo en la leche, no origina un foco de infección en el humano ya que a una temperatura de 45° el organismo muere, y el proceso de pasteurización de la leche es suficiente para erradicarlo.

e) Tratamiento.

En la actualidad no se dispone de vacunas o antisueros útiles clínicamente contra las micosis sistémicas; además, los agentes quimioterapéuticos contra estas enfermedades sistémicas son escasos y poco diversos estructuralmente.

Durante más de tres décadas el régimen terapéutico estándar, para el tratamiento de la criptococosis ha sido la anfotericina B, a dosis de 25 mg/kg; sin embargo, mucho se ha cuestionado el empleo de este fármaco como único tratamiento de la enfermedad, ya que se tiene bien demostrado que posee una elevada toxicidad, con efectos adversos frecuentes y a menudo severos, siendo la disfunción renal el más importante ya que se presenta en el 80% de los pacientes que han recibido el fármaco.¹¹ Otros efectos secundarios son escalofrío, vómito, edema pulmonar y anemia.¹²

La 5-fluorocitosina es un agente antimicótico oral, el cual es efectivo en determinados casos clínicos de criptococosis, a dosis de 150 mg/kg al día. En combinación con anfotericina B, este fármaco muestra buena actividad fungicida. Los efectos adversos más importantes que presenta la fluorocitosina son,

náuseas, vómito, diarrea y raramente enterocolitis, además se tiene bien reportado que el medicamento induce hepatitis. Varias de las reacciones adversas se presentan con mayor frecuencia cuando la concentración sérica del fármaco, excede los 100 µg/mL.¹³

El itraconazol y el ketoconazol son efectivos contra el hongo en algunos casos pulmonares sin embargo, no atraviesan la barrera meníngea, lo cual limita en gran medida su uso contra la criptococosis del SNC. El fluconazol, de reciente creación ha demostrado tener buena actividad contra el *Criptococcus neoformans* a dosis de 50 a 150 mg/kg al día, por vía oral.¹⁴

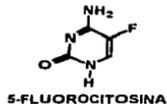
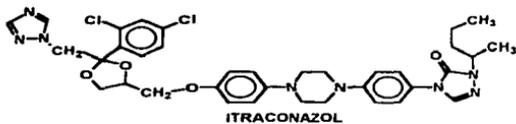
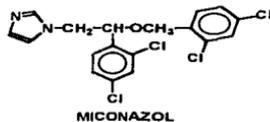
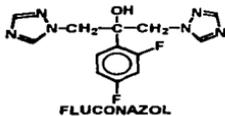
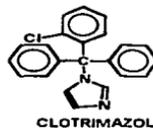
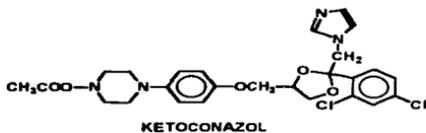
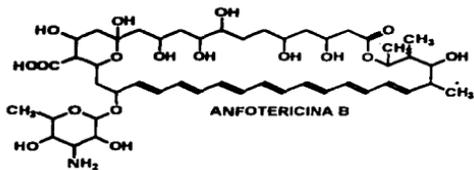
Recientemente, se ha reportado que los bencimidazol-2-carbamatos de metilo como el fenbendazol, oxfendazol, albendazol, mebendazol y tiabendazol muestran actividad contra varias especies de hongos, entre los cuales se encuentra *Criptococcus neoformans*. En estudios recientes el fenbendazol, demostró tener excelente actividad *in vitro* contra varias cepas del hongo, a concentraciones mucho menores que la anfotericina B.¹⁵

La relación estructura-actividad para que un compuesto antihelmíntico por naturaleza como lo es el fenbendazol, posea actividad antimicótica contra *C. neoformans* no se conoce con exactitud sin embargo, se cree que esta actividad reside primariamente en los componentes microtubulares del organismo. Estudios recientes demuestran, que algunos mutantes de este hongo, resistentes al benomyl y al tiabendazol muestran alteración en la β-tubulina, uno de los componentes principales de los microtúbulos.¹⁶

El uso potencial de los bencimidazol-2-carbamatos de metilo como nuevos agentes antimicóticos (caso específico el fenbendazol para el tratamiento de la criptococosis) ofrece nuevas perspectivas terapéuticas. Por otra parte, debido a que este grupo de compuestos se administran por vía oral, aventajan en este aspecto a la anfotericina B, ya que únicamente puede administrarse por vía intravenosa¹⁷ además, de que los compuestos antes mencionados presentan menos efectos secundarios adversos.

En la figura 1 se observa la estructura química de los principales fármacos utilizados en la actualidad como agentes antimicóticos en el tratamiento de la criptocosis.

FIGURA 1. DIFERENTES CLASES DE FARMACOS ANTIMICOTICOS.



2.3. PROFARMACOS.

La investigación y desarrollo de nuevas entidades químicas para el tratamiento de las enfermedades, es un proceso largo y complejo, que requiere de un costo económico elevado. Actualmente las estrategias de investigación de nuevos medicamentos se basa en la farmacología molecular, en la cual se utilizan modelos *in vitro*, como son preparaciones enzimáticas, membranas, cultivos de microorganismos, células u órganos con los fines antes mencionados.

La optimización para la eficacia y selectividad de un fármaco puede llevarse a cabo por medios biológicos, físicos y químicos. Los medios biológicos implican cambios en las vías de administración. Los medios físicos se refieren al diseño y cambio de formulaciones farmacéuticas. En los medios químicos se involucran modificaciones estructurales de un determinado compuesto, basado en un diseño racional, para generar una molécula nueva con mayor eficacia terapéutica, con propiedades farmacológicas similares o diferentes que pueden servir como modelo de nuevas investigaciones.

Existen tres tipos de diseños cualitativos bien establecidos que pueden ayudar a optimizar ciertas características farmacológicas deseables que presenten al fármaco en cuestión o a eliminar aquellas que no permitan su administración. Estas alternativas son: el diseño de profármacos, de fármacos suaves y fármacos duros.¹⁸

2.3.1. Definición de Profarmaco.

Es un derivado farmacológicamente inactivo de un principio activo, que requiere de una transformación espontánea y/o enzimática dentro del organismo, para poder liberar o generar al fármaco que ejerce la acción terapéutica.¹⁹⁻²⁰

2.3.2. Clasificación.

Los profármacos según su formación estructural se clasifican en dos grupos :

a) Derivados biorreversibles.

Son profármacos que en su estructura presentan al fármaco unido a una porción estructural denominada progrupo o acarreador, el cual modifica las propiedades físicoquímicas del primero. El derivado biorreversible libera al principio activo dentro del organismo mediante reacciones químicas intramoleculares o reacciones enzimáticas de hidrólisis, oxidación y/o reducción.

b) Bioprecursores.

Son profármacos que químicamente no presentan al fármaco en su estructura sino que al ser biotransformados enzimáticamente por medio de reacciones de oxidación/reducción generan al principio activo. Por ser estructuralmente distintos al principio activo, sus propiedades de solubilidad y lipofilia son totalmente diferentes al del fármaco que van a generar.

2.3.3. Probencimidazoles.

En un esfuerzo por incrementar la solubilidad de los bencimidazol-2-carbamatos de metilo, con el propósito de alcanzar altas concentraciones de fármaco en órganos extraintestinales, se han preparado algunos profármacos de bencimidazoles los cuales poseen baja o nula actividad antihelmintica por si mismos, y solo pueden experimentar varias reacciones enzimáticas y no enzimáticas para formar bencimidazoles activos en el sitio de acción. Un ejemplo de ello es el benomyl (12) que es un profármaco el cual se hidroliza *in vivo* para formar el carbendazim (13) que es la especie activa.



Del estudio antes mencionado, es importante considerar que el uso de profármacos de los bencimidazoles, es una alternativa terapéutica que promete tener un gran futuro en el tratamiento de las enfermedades parasitarias extraintestinales.

3. OBJETIVOS.

3.1. Planteamiento del Problema.

La criptococosis es una micosis sistémica de difícil tratamiento, dado que en la actualidad no se disponen de medicamentos específicos y efectivos para combatir este tipo de infección. El fenbendazol es un fármaco que constituye una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, por su naturaleza de bencimidazol-2-carbamato de metilo, presenta una escasa solubilidad acuosa, lo cual dificulta en gran medida su disolución y absorción en el organismo.

3.2. Objetivo General.

El presente trabajo tiene como propósito general la preparación de 2 bioprecusores potenciales del fenbendazol [5(6)-fenilsulfenil-1-H-bencimidazol-2-il carbamato de metilo], y del oxfendazol [5(6)-fenilsulfenil-1-H-bencimidazol-2 il-carbamato de metilo], con mejores características de solubilidad en disolventes polares que este principio activo.

3.3. Objetivos Específicos.

1. Llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre profármacos de los bencimidazol-2 carbamatos de metilo.
2. Preparación de los bioprecusores propuestos a través de rutas sintéticas con la menor cantidad de pasos posibles.
3. Llevar a cabo la preparación de los compuestos intermediarios y productos finales mediante técnicas que permitan alcanzar los mejores rendimientos posibles.
4. Purificar los compuestos intermediarios, así como de los bioprecusores preparados, mediante técnicas como son la recristalización, y determinar el grado de pureza, por métodos como el punto de fusión (p.f.) y R_f en cromatografía en capa fina (CCF).

5. Elucidar la estructura química de los compuestos intermediarios y de los bioprecusores mediante técnicas espectroscópicas (IR, ^1H RMN, ^{13}C RMN y Masas).

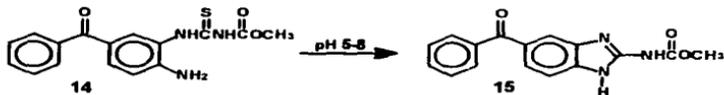
4. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO.

El propósito de incrementar la solubilidad del fenbendazol y oxfendazol en disolventes polares como el agua, nos lleva a pensar que con ello se incrementaría su velocidad de disolución y como consecuencia su absorción, a través de las membranas biológicas, sería más rápida. Otro aspecto importante es que con el hecho de tener compuestos con mejores propiedades de solubilidad en disolventes polares, puedan administrarse no solo por vía oral, sino también por vía parenteral, con lo cual se tendrían más alternativas en las formulaciones farmacéuticas.

El presente trabajo, en el cual se pretende sintetizar 2 bioprecusores del fenbendazol y oxfendazol, con mejores características de solubilidad, que una vez administrados en el organismo sean capaces de generar al principio activo correspondiente, se apoyó en una revisión bibliográfica, en la cual se encontraron dos trabajos donde se utilizan tioureas N,N disustituidas capaces de generar al anillo bencimidazol-2-carbamato de metilo.

En el primer caso, Dawson y Watson ²¹ sintetizaron un bioprecursor(14) potencial del mebendazol (15) con el propósito de estudiar que tan factible sería la generación de este principio activo *in vitro*, mediante una reacción intramolecular. Los resultados mostraron que la generación del principio activo (mebendazol) es mayor, a medida que el pH del medio se incrementaba de 5 a 10. En el segundo trabajo se sintetizó un bioprecursor (16) del 5-trifluorometil-1-H-bencimidazol-2-il carbamato de metilo (17). Para la generación del principio activo (17), el bioprecursor debería sufrir una reducción del grupo -NO₂ y luego la ciclación intramolecular, este trabajo se realizó *in vivo* en gerbos infectados en los pulmones con *Echinococcus multilocularis* sensibles al principio activo.²² Los resultados mostraron una regresión de la infección, que podría lograrse al convertirse el bioprecursor en el principio activo.

En el siguiente esquema se muestran las reacciones llevadas a cabo en los trabajos antes mencionados :



4.1. Estructuras propuestas

Los compuestos preparados en el presente trabajo se muestran en la tabla 2.

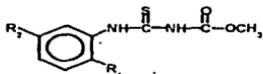


TABLA 2. Bioprecursores Potenciales Diseñados.

Compuesto	R ₁	R ₂
6	-NO ₂	-SC ₂ H ₅
7	-NHCSNHCOOCH ₃	-SC ₂ H ₅
10	-NO ₂	-SOC ₂ H ₅
11	-NHCSNHCOOCH ₃	-SOC ₂ H ₅

En estos compuestos se observa la presencia de un grupo N-metoxicarbonylurea en la posición 1 del anillo aromático, la presencia de un

grupo nitro en la posición 2 del anillo aromático en los compuestos 6 y 10; con ello queda abierta la posibilidad de llevar a cabo una reducción del grupo nitro de dichos compuestos por los sistemas enzimáticos del organismo, facilitando así la ciclación intramolecular y la generación del principio activo correspondiente. Los compuestos 7 y 11 pueden llevar a cabo la ciclación por cambios en el pH del medio *in vivo*.

Debido a que estos compuestos no presentan la estructura de bencimidazol 2 carbamatos de metilo, sus propiedades fisicoquímicas serán totalmente diferentes a las del fenbendazol y oxfendazol. Además se espera que estos compuestos tengan mejores características de solubilidad en disolventes polares.

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

5.1. Síntesis de Bioprecusores 6 y 7 .

Para la preparación de los compuestos 6 y 7 se siguió la ruta sintética del esquema 1.

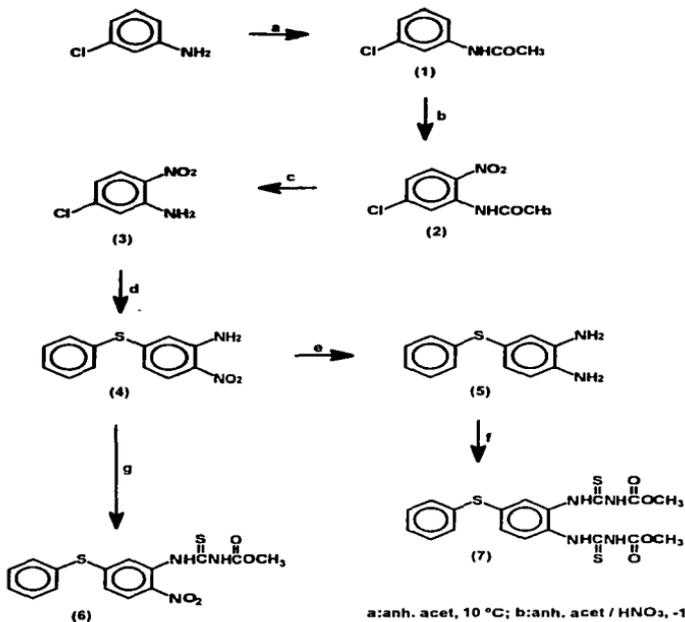
Se partió de la 3-cloroanilina comercial, este compuesto se acetiló con anhídrido acético a 10 °C, para formar la amida correspondiente (3-cloroacetanilida).

La nitración de la 3-cloroacetanilida (1), obtenida en la reacción anterior, se llevó a cabo con anhídrido acético y ácido nítrico concentrado a bajas temperaturas. Se obtuvo un polvo amarillo, que correspondió al producto principal, pero además se obtuvo un producto secundario, el compuesto nitrado en la posición 4. Esta mezcla de productos se separó por medio de una extracción con benceno quedando el producto principal (2) en la fase orgánica, el cual se purificó por recristalización de etanol, mostrando un Rf de 0.46 en el sistema 1, y un p.f. de 115 - 117 °C.

La 5-cloro-2-nitroacetanilida (2) se sometió a una hidrólisis ácida, con H₂SO₄ concentrado, el cual previamente se enfrió a 0 °C, la reacción fue rápida y se obtuvo un sólido amarillo intenso, el cual, mostró una sola mancha por cromatografía en capa fina (CCF). El p.f. de este compuesto fue concordante con el reportado en la literatura (Lit ²³ = 128 - 129 °C).

En el siguiente paso se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleofílica aromática, la cual se realizó, haciendo reaccionar 5-cloro-2-nitroanilina (3), con tiofenol y K₂CO₃, en DMF como disolvente, la reacción se llevó a cabo con un rendimiento del 90%. El producto de reacción fue un sólido naranja, con un olor desagradable a tiofenol, el cual mostró un punto de fusión de 118-119 °C que concuerda con lo reportado en la literatura. (Lit ²⁴ = 119 °C).

Esquema 1. Ruta sintética seguida para la preparación de 6 y 7.



a: anh. acet, 10 °C; b: anh. acet / HNO₃, -10 °C
 c: H₂SO₄, 60 °C / H₂O; d: tiófenol, K₂CO₃, ref. 72 hr.
 e: H₂ / Pd 5%, HCl, 40 °C; f: SCNCOOCH₃, ref. 24 hr
 g: SCNCOOCH₃, ref. 72 hr.

Para preparar el compuesto 6, se llevaron a cabo dos pasos de síntesis. Primero, se hizo reaccionar cloroformiato de metilo con tiocianato de potasio, usando acetona anhidra como disolvente; en esta reacción se formaron dos productos: el metoxicarbonilisotiociano y el metoxicarboniltiociano los cuales no se purificaron y se utilizó la mezcla para la siguiente reacción. En un segundo paso, esta mezcla se hizo reaccionar con 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina (4). La reacción tardó 3 días y al monitorear el curso de la misma por CCF, se observó que la materia prima no se consumió totalmente. Se obtuvo una mezcla de varios productos. Para la separación del producto principal, se realizaron varias recristalizaciones, hasta llegar a purificar 6, aunque con un rendimiento muy pobre (43%).

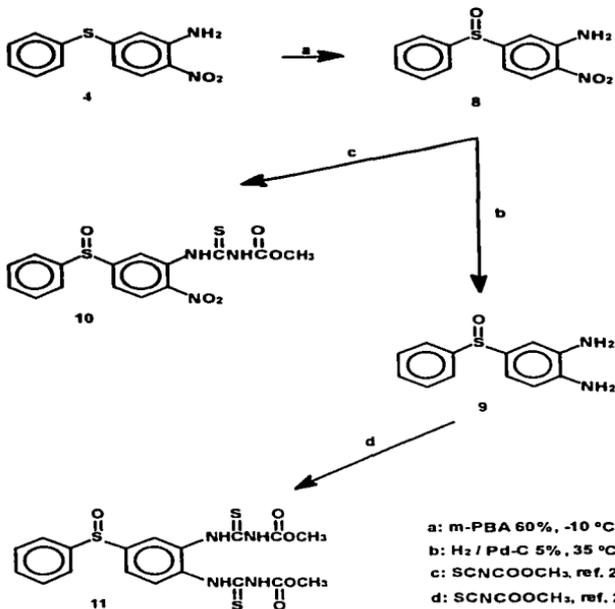
El compuesto 5, se obtuvo por medio de una hidrogenación catalítica del compuesto 4, en Pd/C al 5%, en esta reacción se utilizó ácido clorhídrico y calor. El producto de la reacción fue un líquido aceitoso color café oscuro, el cual no se purificó debido a su inestabilidad química al medio ambiente.

La síntesis del compuesto 7, al igual que en 6, se realizó en dos pasos; el primero fue el mismo que en 6, es decir, la formación del metoxicarbonilisotiociano. En un segundo paso, se hizo reaccionar la mezcla anterior con el producto 5, en acetona anhidra como disolvente, la reacción se llevo a cabo en 1 día y se obtuvo una mezcla de varios productos. Para purificar el producto 7 se hicieron recristalizaciones con MeOH/H₂O, hasta llegar al producto puro, con un rendimiento aproximado del 40%. Con esta reacción finalizó la ruta sintética correspondiente a la preparación de los compuestos 6 y 7.

5.2. Síntesis de Bioprecursores 10 y 11.

En la síntesis de los compuestos 10 y 11 se siguió la ruta sintética que se muestra en el esquema 2.

Esquema 2. Ruta sintética seguida para la preparación de 10 y 11.



La ruta se inició con la formación del compuesto 8 por medio de una oxidación de 4, con ácido m-cloroperbenzoico al 60%, a -10 °C esta reacción se llevó a cabo en 20 horas, y se obtuvo un sólido que mostró una sola mancha por CCF, y un p.f. de 141-143 °C el cual es concordante con el reportado en la literatura. (Lit²⁵ = 138 °C).

El compuesto 8 se hizo reaccionar con metoxicarbonilisotiociano a reflujo suave por un espacio de 24 hr, se obtuvo una mezcla de productos. La recristalización de 10, se llevó a cabo con MeOH, se obtuvieron agujas amarillas, con un punto de fusión experimental de 174-176 °C.

Para la obtención del compuesto 11, se partió del compuesto 8, el cual se sometió a una reducción catalítica con H₂ en Pd/C al 5% a 35°C. La reducción se llevó a cabo en 2 horas, obteniendo un sólido de color café claro, el cual se hizo reaccionar inmediatamente con metoxicarbonilisotiociano, preparado *in situ*. La reacción se dejó en reflujo suave, durante aproximadamente 20 hr, al final se formó un sólido naranja el cual mostró tener varias impurezas. El sólido anterior se trató con carbón activado y posteriormente recristalizó de 2-propanol y hexano frío para llegar al compuesto 11 el cual mostró una sola mancha por CCF, con un p.f. de 130°C con descomposición del producto.

Con esta reacción finalizó la ruta sintética, y con ello lo correspondiente al capítulo de métodos de preparación. Todos los compuestos se elucidaron estructuralmente por espectroscopia de IR, Masas y RMN.

6. RESULTADOS.

Se realizó la síntesis propuesta en los esquemas de reacción 1 y 2, los productos obtenidos, y sus propiedades se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Intermediarios y productos finales sintetizados.

No. comp.	Nombre	p.f. (°C)	R.I.	Sist.	Rend (%)
2	5-cloro-2-nitroacetanilida	115-117°	0.46	1	58%
3	5-cloro-2-nitroanilina	123-124°	0.28	2	98%
4	5-fenilsulfenil-2-nitroanilina	118-119°	0.58	3	90%
6	N-metoxicarbonil-N'-[2-nitro-5fenilsulfenil] fenil]tiourea	132-133°	0.33	1	84.5%
7	[1.2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno	178-179° ^{nr}	0.35	4.3	92.5%
8	5-fenilsulfenil-2-nitroanilina.	139°	0.26	5	86.4%
10	N-metoxicarbonil-N'-[5-fenilsulfenil-2-nitro] fenil]tiourea	174-176° ^{nr}	0.58	5	96.5%
11	[1.2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno.	130° ^{cd}	0.44	6°	98.2%

nr = no reportado en la literatura.

cd = con descomposición.

*nota.- la fase móvil debe ser nueva.

En la tabla 4 se muestran los resultados de una evaluación cualitativa de la solubilidad de los bioprecusores, en disolventes polares. Para realizar esta evaluación, se tomaron 10 mg de cada compuesto, y 1 mL de disolvente a 30 °C. Se considera soluble (+) cuando se forma una solución transparente.

Tabla 4. Solubilidad cualitativa de los bioprecusores.

COMPUESTO	MEOH	EtOH	DMSO	MEZCLA ^m
6	+	+	+	+
7	+/-	+/-	+	+
10	+	+	+	+
11	+/-	+/-	+	+

m = 0.3 mL de DMSO, 0.5 mL de Tween 80 y 5 mL de H₂O.

Tabla 5. Datos espectroscópicos de los compuestos sintetizados.

COMPUESTO	ESPECTROSCOPIA
5-cloro-2-nitroacetanilida	<p>IR (KBr) ν : 3330(NHCO); 1570(ArNO₂) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) δ : 2.1. (s, 3H, OCH₃); 7.4.(dd, J= 8 Hz, 1H, C-4 H); 7.8.(d, J= 2 Hz, 1H, C-6 H); 8.05(d, J= 8 Hz, 1H, C-3 H); 10.4[s amp. intercambiable con D₂O, 1H, NHCO] ppm.</p> <p>EM (I.E.) m/z : 219(M⁺, 10 %); 221(M⁺ + 2, 1%); 43(PB, 100 %).</p>
5-cloro-2-nitroanilina	<p>IR (KBr) ν : 3382, 3494 (NH₂); 1558,1492-1424 (Ar-NO₂) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) δ : 6.6(dd, J= 8 Hz, 1H, C-4 H); 7.15(d, J= 2Hz, 1H, C-6 H); 7.6[s amp.intercambiable con D₂O, 2H, NH₂]; 8.05(d, J= 8Hz, 1H, C-3 H) ppm.</p> <p>EM (I.E.) m/z : 172 (M⁺, 100 %); 174(M⁺ + 2, 32 %).</p>
5-fenilsulfenil-2-nitroanilina	<p>IR (KBr) ν : 3340, 3456 (NH₂); 1376, 1410, 1466, 1566 (Ar-NO₂) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) δ : 6.25(dd, J= 8 Hz, 1H, C-4 H); 6.64(d, J= 2 Hz, 1H, C-6 H); 7.35[s, intercambiable con D₂O, 2H, NH₂]; 7.45(s, 5H, C₆H₅); 7.8(d, J= 8 Hz, 1H, C-3 H) ppm.</p>
N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)fenil]iourea	<p>IR (KBr) ν : 1464 (CSNH), 3558 (NH); 1346, 1568 (Ar-NO₂) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-d₆) δ : 3.74(s, 3H, OCH₃); 7.17(dd, J= 12 Hz, C-4 H); 7.50-7.56(m, 5H, C₆H₅); 7.68(d, J= 3 Hz, 1H, C-6 H); 8.04(d, J= 12 Hz, 1H, C-3 H); 11.60 y 12.00[s, intercambiables con D₂O, 1H, NH CS NH] ppm.</p>

	<p>¹³C RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ : 53.13, 124.35, 125.911, 126.230, 129.37, 129.85, 130.26, 133.24, 134.40, 140.38, 145.427, 153.59, 179.68 ppm.</p>
[1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-lioureido)-4-fenilsulfenil]benceno	<p>IR (KBr) ν : 3382.1590 (Ar-NH); 664 (Ar-S-Ar); 1720 (COOCH₃); 3196, 1518 (CSNH) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ : 3.69(s, 3H, OCH₃); 3.707(s, 3H, OCH₃); 7.22(dd, J = 8 Hz, 1H, C-6 H);</p> <p>EM (I.E.) m/z : 450 (M⁺, 33 %), 299 (P.B., 100 %).</p>
5-fenilsulfenil-2-nitroanilina	<p>IR (KBr) ν : 3482, 3358 (Ar-NH₂); 1564, 1488(Ar-NO₂); 1406(Ar-SO-Ar) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ : 3.5 (s, amp. intercambiable con D₂O, 2H, NH₂); 6.8(dd, J = 9 Hz, 1H, C-4 H); 7.5-7.9(comp, 6H); 8.1(d, J = 9 Hz, 1H, C-3 H) ppm.</p> <p>EM (I.E.) m/z : 262 (M⁺, 89%), 78(P.B., 100%).</p>
N-metoxicarbonil-N'-[[5-fenilsulfenil-2-nitro]fenil]liourea	<p>IR (KBr) ν : 3164, 1502 (CSNH); 1576 (NH); 1348 (Ar-NO₂); 1728, 1176 (COOCH₃) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ : 3.8(s, 3H, OCH₃); 7.52 - 7.56 (m, 3H, Ar-H); 7.65 - 7.81(m, 3H, Ar-H) ppm.</p>
[1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-lioureido)-4-fenilsulfenil]benceno.	<p>IR (KBr) ν : 3014, 1590 (Ar-NH); 1040 (Ar-SO-Ar); 1722 (COOCH₃); 3184, 1530 (CSNH) cm⁻¹.</p> <p>¹H RMN (TMS, DMSO-<i>d</i>₆) δ : (TMS, DMSO-<i>d</i>₆); 3.8(s, 3H, OCH₃); 7.4 - 8.1(señal compleja, 8H, Ar-H).</p> <p>EM (I.E.) m/z : 466 (M⁺, 2 %), 44 (P.B., 100 %).</p>

7. DISCUSION DE RESULTADOS.

Obtención de 5-cloro-2-nitroacetanilida (2).

La preparación del compuesto 2 se realizó en dos pasos, el primero fue una reacción de sustitución nucleofílica sobre grupo carbonilo, entre la 3-cloroanilina, con anhídrido acético, en esta reacción el grupo amino de la 3-cloroanilina atacó a uno de los carbonilos del AcOEt, para formar la amida correspondiente. Esta reacción se realizó con la finalidad de proteger el amino, ya que de no hacerlo, éste se protonaría en el medio ácido necesario para llevar a cabo la nitración de (1), con lo cual éste se comportaría como una especie electroatrayente, y esto favorecería la nitración en la posición meta y no en la posición orto, del anillo aromático.

El segundo paso se llevó a cabo una nitración suave, con nitrato de acetilo, esta especie se preparó previamente haciendo reaccionar HNO_3 con anhídrido acético a baja temperatura. La nitración ocurrió en la posición 2 con respecto al grupo acetamido, que es un grupo orientador 2-4 a la sustitución electrofílica aromática (SEA), sin embargo, es factible la formación de otro producto, nitrado en posición 4 con respecto al acetamido, lo cual se vio reflejado en el rendimiento de la reacción (58%). Se obtuvo un sólido amarillo, con un p.f. de 115-117 °C, Rf. 0.46 (sistema 1).

El espectro IR (No. 1) mostró bandas en 3330 (NHCO), y 1570 (ArNO_2). En el espectro de ^1H RMN (No. 2), mostró las siguientes señales: 2.1 ppm (singulete), integra para 3 protones asignados al metoxilo; 7.4 ppm (doble de dobles), $J = 8$ Hz, integra para 1 protón asignado al H del C-6; 8.05 ppm (doblete), integra para 1 protón asignado al H del C-3; 10.4 (singulete amplio), integra para 1 protón asignado al H de NHCO. El espectro de masas I.E. (No. 3), presentó un M^+ de 219 (10% de abundancia), correspondiente al peso molecular esperado.

Preparación de 5-cloro-2-nitroanilina(3).

El compuesto 3 se generó por medio de una hidrólisis del compuesto 2, con H₂SO₄ concentrado, la reacción fue rápida, aunque el rendimiento no llegó a ser del 100%, debido a que la posición del cloro y el acetamido en el anillo favorecen la formación de dos subproductos, la 3-cloro-4-nitroanilina y la 3-cloro-2-nitroanilina. Se obtuvieron cristales amarillos, con un p.f. de 123-124 °C y un Rf. de 0.28 en el sistema 2, con un 98% de rendimiento.

El espectro de IR (No. 4), mostró bandas en 3382, 3494 (NH₂), y 1558, 1492 (Ar-NO₂). El espectro de ¹H RMN (No. 5), mostró las siguientes señales: 6.6 (doble de dobles), J= 8 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-4; 7.15 (doblete), J= 2 Hz, que integra para 1 protón, asignado al H del C-6; 7.6 (singulete amplio, intercambiable con agua deuterada), integra para 2 protones, asignado a 2 H del NH₂; 8.05 (doblete), J= 8 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-3. El espectro de masas I.E. (No. 6), presentó un M⁺ de 172 (100% de abundancia) que corresponde al peso molecular esperado.

Síntesis de 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina(4).

En la preparación de 4 se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleofílica aromática (SNA), la cual no es muy común debido a que se requieren ciertas condiciones específicas para que este tipo de reacción proceda. La primera condición es que la especie que se va a sustituir sea un buen grupo saliente, en este caso el grupo saliente es el cloro en la posición 5 de anillo, la segunda condición es que se tenga un sustituyente en la posición 2, o 4 que favorezca la sustitución. El grupo nitro en relación 1-4 al cloro, es de naturaleza electroatrayente, lo cual activa la posición 5 del anillo, por un efecto de resonancia en todo el anillo, y de esta forma favorece la SNA. La tercera condición necesaria para una sustitución nucleofílica, es tener un buen nucleófilo, en este caso el tiofenol cumple con esta característica. Por último, como es común en toda reacción SN, se requiere de disolvente aprótico, para

esta reacción se utilizó dimetilformamida (DMF). Se obtuvieron cristales de color naranja, p.f. de 119 °C y 90% de rendimiento.

El espectro de IR (No. 7), mostró bandas en 3340, 3456 (NH₂), 1376, 1410, 1466 (Ar-NO₂). El espectro de ¹H RMN (No. 8), mostró las siguientes señales: 6.25 (doble de dobles), J= 8 Hz, que integra para 1 protón, asignado al H del C-4; 6.64 (doblete), J= 2 Hz, integra para 1 protón, asignado al C-6; 7.35 (singulete intercambiable con D₂O), integra para 2 protones, asignados a los H de NH₂; 7.45 (singulete), integra para 5 protones asignados a los H del anillo aromático; 7.8 (doblete), J= 8 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-3.

Síntesis de N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)fenil]tiourea (6).

Para la preparación de 6 se realizaron dos pasos de síntesis, el primero fue la generación del metoxicarbonilisotiociano, por una reacción de sustitución nucleofílica sobre grupo carbonilo. En esta reacción el ion tiocianato actúa como nucleófilo, atacando al carbonilo del cloroformiato de metilo, y desplazando al ion cloruro, para formar el producto principal (metoxicarbonilisotiociano). El rendimiento de esta reacción fue bajo, debido a que es factible que el átomo de azufre del tiocianato pueda actuar como un nucleófilo, y atacar al carbonilo para formar como subproducto el metoxicarboniltiociano.

En un segundo paso, y con la finalidad de generar el compuesto 6, se realizó una reacción de adición nucleofílica entre el metoxicarbonilisotiociano (preparado *in situ*), con 4 en acetona anhidra, a reflujo. En esta reacción el grupo amino de 4 se adicionó al isotiocianato, para formar el correspondiente producto de adición 6. Se monitoreó el curso de la reacción por CCF, y se observó que 4, nunca se consumió en su totalidad, por lo cual fue necesario, adicionar un exceso de metoxicarbonilisotiociano, para purificar el compuesto 6 se requirió de repetidas recristalizaciones, motivo por el cual el rendimiento se vio mermado. Se obtuvieron agujas amarillo-claro, con p.f. de 132-133 °C, rendimiento: 84.1%.

El espectro de IR (No. 9), mostró bandas en 1464 (CSNH), 3558 (NH), 1346, 1568 (Ar-NO₂). El espectro de ¹H RMN (Nc. 10), mostró las siguientes señales: 3.74 (singulete), integra para 1 protón, asignado al H del metoxilo; 7.17 (doble de dobles), J= 12 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-4; 7.50-7.56 (multiplete), integra para 5 protón, asignado a los H del anillo aromático; 7.68 (doblete), J= 3 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-6; 8.04 (doblete), J= 12 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-3; 11.60 y 12.00 (singuletes intercambiables con D₂O), integran para 2 protones, asignados a los H del NHCSNH.

Síntesis de [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno (7).

Con el propósito de generar la diamina (5), se llevó a cabo una reducción catalítica con H₂ sobre Pd/C al 5%, en MeOH como medio de disolución. Al término de la reacción se obtuvo un líquido café, el cual se evaporó a sequedad hasta obtener un sólido resinoso, café (5); este compuesto se utilizó como materia prima del siguiente paso. Esta reacción presentó todo un reto, debido a que en la estructura del compuesto 4 el grupo nitro guarda una relación 1-4 con el sustituyente feniltio, que es una especie de naturaleza electrodonadora, lo cual hacía suponer que para que la reacción prosperara, se requerirían de condiciones muy drásticas, por ello fue necesario experimentar con ciertas condiciones, y no fue sino hasta adicionar HCl concentrado al 5% y calor, que se logró obtener el producto reducido (5).

El compuesto 7 se generó por medio de una reacción de adición nucleofílica del compuesto 5 con metoxicarbonilisotiociano, en acetona anhidra a reflujo. En esta síntesis cabe señalar que el compuesto 5, puede actuar como un doble nucleófilo ya que cualquiera de los dos grupos amino, puede adicionarse al tiocarbonilo del metoxicarbonilisotiociano, lo cual deja abierta la posibilidad de obtener 3 productos de reacción. El primero es el de adición del grupo amino en relación 1-3 al feniltio del anillo aromático, el segundo es el

adicionado del grupo amino 1-4, al feniltio. El tercer producto es una doble adición de los dos grupos aminos al metoxicarbonilisotiociano.

Se observó un rendimiento muy bajo en esta síntesis, debido a que se obtuvo una mezcla de productos, la cual fue necesario purificar, con repetidas recristalizaciones, usando varios disolventes como benceno, benceno/éter de petróleo, hexano, ciclohexano, metanol y metanol/agua, hasta llegar al producto 7. Al final de la síntesis, se obtuvo un sólido café-claro con p.f. de 178 °C, con 92.5% de rendimiento.

El espectro de IR (No. 12), mostró bandas en 3382, 1590 (ArNH₂), 664 (Ar-S-Ar), 1720 (COOCH₃), 3196, 1518 (CSNH). El espectro de ¹H RMN (No. 13), mostró las siguientes señales: 3.69 (singulete), integra para 3 protones, asignados a los H de uno de los metoxilos; 3.707 (singulete), integra para 3 protones, asignados a los H de otro de los metoxilos; 7.22 (doble de dobles), J= 8,2 Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-6. El espectro de masas (No. 15), presentó un M⁺ de 450 (33% de abundancia), que corresponde al peso molecular esperado.

Síntesis de 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina (8).

El compuesto 8 se generó mediante una reacción de oxidación del compuesto 4 con ácido metacloroperbenzoico (m-PBA) en cloroformo, a temperatura de -10 °C. En esta reacción el átomo de azufre del 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina, actúa como un nucleófilo frente a uno de los oxígenos del m-PBA, para formar el sulfóxido correspondiente y ácido metaclorobenzoico como productos. La reacción se llevó a cabo en 6 horas y al final se obtuvo un sólido de color amarillo claro el cual se sometió a un proceso de purificación, hasta obtener cristales amarillos, con un 86.4% de rendimiento, pf de 141-143 °C.

En esta síntesis la variable principal, para llegar al producto principal fue la temperatura, debido a que a medida que la temperatura se incrementa por arriba de los 0 °C, se forma un producto secundario de oxidación (sulfona), ya que el m-PBA es un agente oxidante muy fuerte capaz de llevar a cabo una

DISCUSION DE RESULTADOS

doble oxidación sobre el átomo de azufre, es por ello que se requirió controlar la temperatura de la reacción en un rango de -10 a -5 °C, para lo cual se usó un baño de hielo seco/isopropanol. Inicialmente esta síntesis fue muy complicada porque al realizar la reacción, se obtuvo una mezcla de dos productos, la cual no fue posible de purificar, y no fue sino al experimentar con la temperatura, que se logró encontrar las condiciones adecuadas para conseguir que la reacción se llevara a cabo y así obtener el producto principal (8), puro con un rendimiento favorable.

El espectro de IR (No. 16), mostró bandas en 3482, 3358 (ArNH_2), 1564, 1488 (ArNO_2), 1406 (Ar-SO-Ar). El espectro de ^1H RMN (No. 17), mostró las siguientes señales: 3.5 (singlete amplio intercambiable con D_2O), integra para 2 protones, asignados a los H del NH_2 ; 6.8 (doble de dobles), $J = 9$ Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-4; 7.5-7.9 (señal compleja), asignada a 6 H; 8.1 (doblete), $J = 9$ Hz, integra para 1 protón, asignado al H del C-3. El espectro de masas I.E. (No. 18), mostró un M^+ de 262 (89% de abundancia), correspondiente al peso molecular esperado.

Síntesis de N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfinil-2-nitro)fenil]tiourea (10).

El producto 10 se obtuvo por una reacción de adición nucleofílica entre el compuesto 8 con metoxicarbonilisotiociano preparado *in situ*, en acetona anhidra a reflujo suave durante 24 horas. Se obtuvieron agujas amarillas, con un 96.5% de rendimiento, p.f. $174-176^\circ\text{C}$, Rf 0.58 en el sistema $\text{CHCl}_3\text{-AcOEt}$ 90:10.

Esta síntesis fue muy similar a las que se realizaron para obtener los productos 6 y 7, la reacción fue muy favorable y no presentó mayor dificultad, la purificación del compuesto se realizó en MeOH, obteniendo el producto principal (10), con un alto grado de pureza y un rendimiento de 96.5%.

El espectro de IR (No. 19), mostró bandas en 3164, 1502 (CSNH); 1576 (NH); 1342 (ArNO_2); 1728, 1176 (COOCH_3) cm^{-1} . El espectro de ^1H RMN (No. 20) mostró las siguientes señales: 3.8 (singlete), integra para 3 protones,

asignados a los H del metoxilo; 7.52, 7.56 (multiplete), integra para 3 protones, asignados a los H aromáticos; 7.65, 7.81 (multiplete), integra para 3 protones, asignados a los H aromáticos.

Síntesis de [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfonil]benceno (11).

La obtención del producto 11, se realizó en dos etapas de síntesis, en la primera etapa, con la finalidad de generar el compuesto 8, en su forma reducida se preparó el 4-fenilsulfonil-1,2-fenilendiamina (9), por medio de una reducción catalítica con H₂, Pd/C al 5% usando MeOH como disolvente, esta reacción se llevó a cabo en 2 horas a 35 °C.

En la estructura del compuesto 8 se observa que el sulfóxido guarda una relación 1-4 con respecto al grupo nitro lo cual hacia suponer que debido al carácter electroatrayente del sulfóxido, la reducción del grupo nitro se vería muy favorecida, la reacción se llevó a cabo en 4 horas y no presentó mayor dificultad para llegar al producto 9.

En la segunda etapa de la síntesis se llevó a cabo una reacción de adición nucleofílica, entre el compuesto 9 y metoxicarbonilisotiociano, en acetonitrilo a reflujo suave por espacio de 20 horas aproximadamente. Se obtuvo un sólido de color café-claro con un pf de 130 °C, con descomposición y 98% de rendimiento.

En esta reacción se observa que el compuesto reducido 9, puede actuar como un doble nucleófilo frente al metoxicarbonilisotiociano, debido a que es muy factible que cualquiera de los dos grupos amino de 9 puedan adicionarse al isotiocianato, con lo cual queda abierta la posibilidad de obtener una mezcla de productos, y sólo por medio de espectroscopia de RMN y Masas se logró elucidar la estructura química del producto principal de la reacción, correspondiente al compuesto 11.

DISCUSION DE RESULTADOS

El espectro de IR (No. 22), mostró bandas en 3014, 1590 (ArNH); 1040 (ArSOAr); 1722 (COOCH₃); 3184, 1530 (CSNH) cm⁻¹. El espectro de ¹H RMN (No. 23), mostró las siguientes señales: 3.8 (singlete), integra para 3 protones asignados a los H del metoxilo; 7.4 - 8.1 (señal compleja), integra para 8 protones, asignados a los protones aromáticos. El espectro de masas I.E. (No. 24), mostró un M⁺ de 466 (2% de abundancia) correspondiente al peso molecular esperado.

Se realizó una evaluación cualitativa de la solubilidad de los compuestos sintetizados, en varios disolventes polares (MeOH, EtOH, y DMSO) además, también se utilizó una mezcla de 0.3 mL de DMSO, 0.5 mL de Tween 80 y 5 mL de H₂O. Los resultados demuestran que los compuestos 6 y 10, son solubles en todos los disolventes, y los compuestos 7 y 11 son poco solubles en EtOH y MeOH, y solubles en DMSO. Además todos los compuestos son solubles en la mezcla, que es la cual se utiliza para administrar fármacos por vía intravenosa.

Los resultados anteriores demuestran que las características cualitativas de solubilidad de los bioprecusores obtenidos, son mejores, en comparación con sus principios activos correspondientes (fenbendazol y oxfendazol).

8. CONCLUSIONES.

Al finalizar la parte experimental del presente trabajo se logró cumplir con los objetivos planteados, se obtuvieron los cuatro bioprecusores los cuales son productos nuevos.

En general los rendimientos de las reacciones involucradas en las rutas de síntesis fueron buenos (mayor al 80%), y sólo se presentó dificultad para purificar los compuestos 6, 8 y 11 en cuyo caso el rendimiento se quedó mermado, debido a la repetidas recristalizaciones llevadas a cabo para purificar estos compuestos.

Una vez obtenidos los compuestos de interés, se realizaron pruebas de solubilidad cualitativa, de lo cual se observó que estos compuestos son solubles en disolventes polares , como EtOH, MeOH y DMSO. La continuación del presente trabajo es realizar pruebas biológicas *in vitro* e *in vivo* , con estos compuestos, para evaluar su actividad potencial contra el hongo *Cryptococcus neoformans* causante de una micosis mortal en el humano, para lo cual se requiere de grupos de investigación especializados para llevar a cabo los experimentos.

Es importante señalar los siguientes puntos como conclusiones de esta tesis :

1. Con el presente trabajo se logró la síntesis de compuestos orgánicos de interés farmacéutico, en particular, los llamados bioprecusores, los cuales en la actualidad representan una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento de enfermedades como la criptococosis.
2. Las experiencias adquiridas en el campo de la química orgánica y de técnicas en el área de investigación de nuevas moléculas de interés farmacéutico, constituye una parte primordial de mi formación universitaria
3. Se obtuvieron los compuestos 6, 7, 10 y 11 que al ser sometidos a pruebas biológicas, ofrecerán una información muy valiosa acerca de su posible actividad antifúngica, y de los requerimientos estructurales para esta

CONCLUSIONES

actividad tomando como base que el fenbendazol y el oxfendazol son dos compuestos de naturaleza antihelmíntica.

4. Se lograron integrar conocimientos de química orgánica, en la posible solución de problemas de salud pública que afectan a un sector importante de la población mundial.

9. PARTE EXPERIMENTAL.

9.1. Instrumentación.

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer con transformada de Fourier modelo FT-IR-1600 en pastilla de bromuro de potasio, las señales se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética protonica (RMN) se determinaron en un equipo modelo Varian EM-390 usando tetrametilsilano como referencia interna, y cloroformo, dimetilsulfóxido deuterados como disolventes. Los desplazamientos químicos se dan en ppm (δ).

Los espectros de masas se determinaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) o por introducción directa de la muestra en un aparato marca Hewlett Packard 5988A. La simbología utilizada es M^+ = ión molecular y p.b. = pico base.

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato Buchi modelo 530 utilizando capilares de vidrio.

La concentración de las soluciones se realizó a presión reducida empleando un evaporador rotatorio marca Buchi RE-111, con condensador de hielo seco. La presión reducida se logró con una bomba FELISA modelo 1600 ajustada a 55 cm de Hg. Para llevar a cabo las reacciones de hidrogenación catalítica se utilizó un hidrogenador marca Parr modelo 3961-EG con 60 libras/ plg^2 y 60°C como capacidad máxima utilizando hidrogeno de tanque de la casa INFRA y como catalizador paladio sobre carbono al 5 y 10% de marca Aldrich.

9.2. Cromatografía.

Las reacciones y pureza de los compuestos se analizaron por cromatografía de capa fina (C.C.F.) utilizando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice 60 GF-254 Merck y placas de plástico recubiertas de gel de sílice con

indicador fluorescente de Kodak. Los compuestos orgánicos se revelaron con luz UV y por exposición a vapores de Yodo.

9.3. Sistemas de Elución.

Los sistemas de elución empleados fueron:

Tabla 6. Composición de los sistemas de elución empleados en CCF.

SISTEMA	COMPOSICION	PROPORCION
1	Hexano-Cloroformo-Acetato de Etilo.	50:35:15
2	Hexano-Acetato de Etilo.	95:5
3	Cloroformo-Metanol.	99:1
4	Hexano-Acetato de Etilo.	90:10
5	Cloroformo-Acetato de Etilo.	90:10
6	Cloroformo-Metanol.	97:3

9.4. 5-cloro-2-nitroacetanilida (2)

En un matraz bola de 500 mL con 3 bocas, adaptado con termómetro, agitación mecánica y embudo de adición de presiones igualadas con trampa anhidra, se colocaron 200 mL de anhídrido acético(Baker) y enfriaron a 0 °C por medio de un baño de isopropanol/hielo seco. Por abajo de esta temperatura (-5 a 0 °C) se adicionaron 78.7 g (50 mL, 1.25 mol) de HNO₃ fumante con goteo rápido y agitación, después se agitó por 15 a 30 min más. Por otro lado, se preparó una solución de 3-cloroacetanilida(Aldrich) mezclando en condiciones anhidras 63.785 g (52.8 mL, 0.5 mol) de 3-cloroanilina con 100 mL de anhídrido acético y enfriando con un baño de agua. Esta solución se goteó en un lapso de 45 min a la solución de nitrato de acetilo, a una temperatura de -10 °C. Después, se continuó con la agitación hasta que la temperatura llegase a 7 °C, se formó un sólido que se separó por filtración con succión al vacío y se lavó con agua. Este sólido amarillo pesó 43.5 g (40.5%) y mostró ser un solo compuesto por cromatografía en capa fina (c.c.f.), Rf = 0.46 sistema 1.

Una muestra recristalizada de etanol presentó p.f. = 115 a 117 °C. El filtrado se vertió sobre hielo con agitación, filtró y lavó con agua hasta pH neutro,

el producto seco pesó 47.1 g (43.9%). Este producto mostró ser una mezcla de dos compuestos por c.c.f. ($R_f = 0.46$ y $R_f = 0.06$ sistema 1) para la separación de esta mezcla, se extrajo con benceno (3x150 mL a 25 °C), los extractos se concentraron a presión reducida y el residuo se recristalizó de EtOH dando 18.5 g (17.24%) del compuesto con $R_f=0.46$ y p.f.=115-117 °C.

9.5. 5-cloro-2-nitroanilina (3)

En un vaso de precipitados de 500 mL, adaptado con termómetro y agitación magnética se colocaron 20 g (0.09 mol) de 5-cloro-2-nitroacetanilida (2). El matraz se colocó en un baño de agua y se adicionaron gota a gota 40 mL de H_2SO_4 (conc) el cual previamente se enfrió a 10 °C en baño de hielo. Después de la adición, se aplicó calor a la reacción, calentando en baño de agua a 60 °C y con agitación vigorosa. Se formó un sólido amarillo el cual se separó por filtración con succión al vacío y se lavó con solución saturada de carbonato de potasio hasta pH neutro. El producto seco pesó: 22.6 g (98%). Una placa por c.c.f. dió una sola mancha en el sistema 2, la placa se corrió 3 veces. Una muestra recristalizada de etanol dió agujas amarillas que en c.c.f. mostraron una sola mancha con un R_f de 0.28 en el sistema 2, y un p.f. de 123-124 °C.

9.6. 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina (4)

En un matraz bola de dos bocas (24/40) adaptado con termómetro, agitación magnética y llave con globo de nitrógeno se colocaron 7 g de 5-cloro-2-nitroanilina (0.04 mol), 4.1 mL de tiofenol (0.04 mol) y 8.28 g de K_2CO_3 en 40 mL de dimetilformamida (DMF). La mezcla se calentó a 100°C, bajo atmósfera de N_2 , por un tiempo aproximado de 3 hrs.

La mezcla de reacción fría, se vertió en 250 ml de salmuera y el precipitado obtenido se lavó con 300 mL, (2x150 mL) de agua; esta mezcla se filtró por succión con vacío, y se dejó secar al aire. El producto seco pesó 9.55 g. Este sólido mostró una sola mancha por c.c.f. en el sistema 3. Una muestra

recristalizada en 2-propanol (Merck), dio mayor pureza al compuesto. El rendimiento del producto crudo fue de 9.55 g (90%), con un p.f. de 118-119 °C.

9.7. N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfenil-2-nitro)-fenil]tiourea (6)

En un matraz bola de 250 mL, 24/40 de una boca y con trampa anhidra, se colocaron 2.1 g (0.022 mol) de tiocianato de potasio, y se disolvieron con agitación magnética en 100 mL de acetona anhidra (Merck). A continuación, se goteó con embudo de adición 1.7 mL (0.022 mol) de cloroformiato de metilo (Aldrich) disueltos en 15 mL de acetona anhidra. La adición se realizó lentamente y con agitación magnética constante. Terminada la adición, la reacción se dejó en agitación durante 2 horas más, a temperatura ambiente.

A la mezcla de reacción anterior, se adicionaron 1.35 g (0.011 mol) de 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina, y se colocó un refrigerante en posición de reflujo, el calentamiento se realizó con canasta de asbesto y con agitación magnética. La reacción se dejó a reflujo por 3 días. Al cabo de este tiempo, la mezcla de reacción fría se filtró por succión al vacío, el sólido separado se desechó y el líquido filtrado se concentró a sequedad en el rotaevaporador. El sólido obtenido pesó 3.28 g (84.1 %). Este sólido se trató con 100 mL de EtOH hirviendo y se calentó hasta disolución total, se formaron unos cristales de color amarillo claro, en forma de pequeñas agujas delgadas.

Se obtuvieron 1.67 g de este producto, el cual mostró ser una sola mancha por c.c.f. en el sistema 1. Este sólido mostró un punto de fusión de 132-133 °C.

9.8. 4-fenilsulfenil-1,2-fenilendiamina (5).

En un reactor de 500 mL se colocaron 2 g (0.008 mol) de 5-fenilsulfenil-2-nitroanilina (4) y se disolvieron con 200 mL de MeOH a continuación se adicionaron 0.2 g de Pd/C al 10%. El reactor se colocó en el hidrogenador marca Parr y se inició la inyección de hidrógeno. La reducción se llevó a cabo en 10 horas, con calentamiento a 40 °C y un 5% de HCl(conc), se gastaron 90 lb/plg² de hidrógeno.

La mezcla de reacción se filtró por succión al vacío en un embudo de vidrio poroso, el líquido filtrado se concentró a sequedad en el rotaevaporador, y al final se obtuvo un sólido café aceitoso el cual pesó 2 g, (95.4%) por diferencia de peso.

9.9. [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benceno (7).

En un matraz bola de 100 mL, 24/40 de una boca, con trampa anhidra se colocaron 1.47 g (0.014 mol) de tiocianato de potasio y se disolvieron en 50 mL de acetona anhidra con agitación magnética. A continuación se adicionaron lentamente 1.19 mL (0.014 mol) de cloroformiato de metilo en 5 mL de acetona anhidra. Terminada la adición se mantuvo la agitación por 2 horas más.

A la mezcla de reacción anterior, se adicionaron 2g (0,007 mol) de 4-fenilsulfenil-1,2-o-fenilendiamina disueltos en 50 mL de acetona anhidra con goteo constante, enseguida se adaptó un refrigerante en posición de reflujo, el calentamiento se realizó con canasta de asbesto. La reacción se mantuvo a reflujo suave por tiempo aproximado de 24 hrs.

Al final la mezcla de reacción fría se filtró por succión al vacío y el filtrado se concentró a sequedad en el rotaevaporador; se obtuvo un sólido chiclosa, el cual pesó 2.16 g (92.5%).

El sólido anterior se trató con 50 mL de MeOH caliente hasta disolución total, se dejó enfriar y en seguida se adicionaron 3 gotas de agua fría, se dejó reposar esta solución a temperatura ambiente. Se obtuvo un sólido de color café claro el cual peso 0.9 g (38.5%).

Al sólido anterior se le tomó una placa por c.c.f. mostrando una sola mancha la placa se corrió, primero en la fase móvil Hexano/AcOEt (90:10) y despues en: CHCl₃/MeOH (99:1), el R_f fue de 0.54 en esta última fase, y un p.f. de 178-179 °C.

9.1.0.. 5-fenilsulfinil-2-nitroanilina (8).

En un matraz bola de 250 mL de dos bocas (24/40), adaptado con termómetro de alcohol en la boca lateral, trampa anhidra y agitación magnética se colocaron 5 g (0.02 mol) de 5-fenilsulfinil-2-nitroanilina (4) disueltos en 50 mL de cloroformo. Esta solución se enfrió a -10°C por medio de un baño de hielo seco/isopropanol y adicionó lentamente, mediante un embudo de presiones igualadas, una solución de 4.141 g (0.04 mol) de ácido *m*-cloro-perbenzoico (Aldrich) al 60% en 20 mL de cloroformo. Terminada la adición, la mezcla de reacción se mantuvo con agitación constante en un rango de -5 a -10°C durante 6 horas.

La mezcla se lavó con una solución saturada de $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$ 3 veces en un embudo de extracción. La fase acuosa se desechó y la fase clorofórmica se secó con MgSO_4 anhidro. La solución se filtró por succión al vacío y el disolvente se evaporó totalmente en el rotavapor, se obtuvo un sólido amarillo el cual pesó 4.6 g (86.4%). Para la recristalización, el sólido se trató con MeOH caliente en la mínima cantidad y se calentó hasta disolución total, la solución se dejó reposar y se formaron unos cristales de color amarillo-naranja. Una muestra por c.c.f. mostró una sola mancha en el sistema 5. El punto de fusión determinado fue de $141-143^{\circ}\text{C}$.

9.1.1. N-metoxicarbonil-N'-[(5-fenilsulfinil-2-nitro)fenil]tiourea (10).

En un matraz bola de 250 mL de 1 boca (24/40), con trampa anhidra y agitación magnética se colocaron 1.442 g (0.015 mol) de tiocianato de potasio disueltos en 50 mL de acetona anhidra. A esta solución se adicionaron gota a gota, con embudo de adición de presiones igualadas, una solución de 1.16 mL (0.015 mol) de cloroformiato de metilo en 15 mL de acetona anhidra. Terminada la adición, la agitación se mantuvo por 2 horas más.

A la mezcla anterior, se adicionaron 1g (0.003 mol) de 5-fenilsulfinil-2-nitroanilina (8), y se colocó un refrigerante en posición de reflujo, con trampa anhidra. La reacción se dejó en reflujo suave por 24 hrs, el calentamiento se

realizó con canasta de asbesto. La mezcla de reacción se filtró por succión al vacío, el filtrado se concentró a sequedad en el rotavapor. Se obtuvo un sólido amarillo el cual pesó 1.10 g (96.5%).

El sólido anterior se trató con 30 mL de MeOH caliente hasta disolución total, este se dejó recristalizar, se formaron agujas de color amarillo claro. Una placa por c.c.f. mostró una sola mancha en el sistema 5 con un Rf de 0.58. El punto de fusión determinado fue de 174-176 °C.

9.1.2. 4-fenilsulfinil-1,2-fenilendiamina (9).

En un frasco Parr de 500 mL se colocaron 2.5 g (0.008 mol) de 5-fenilsulfinil-2-nitroaniilina, y se disolvieron en 200 mL de MeOH, enseguida se adicionaron 0.5 g de C-Pd al 5%. El frasco se adaptó al hidrogenador y se inició la inyección con hidrógeno, la reacción se llevó a cabo en 2 horas a 35 °C, gastándose 28 lb/plg² de hidrógeno.

La mezcla de reacción, se filtró con succión al vacío en un embudo de vidrio poroso, el filtrado se concentró a sequedad en el rotavapor. Al sólido obtenido se le adicionaron 60 mL de tolueno y se agitó con fuerza, el disolvente se evaporó totalmente y se obtuvo un sólido de color naranja/café, el cual pesó 1.83 g (99%)

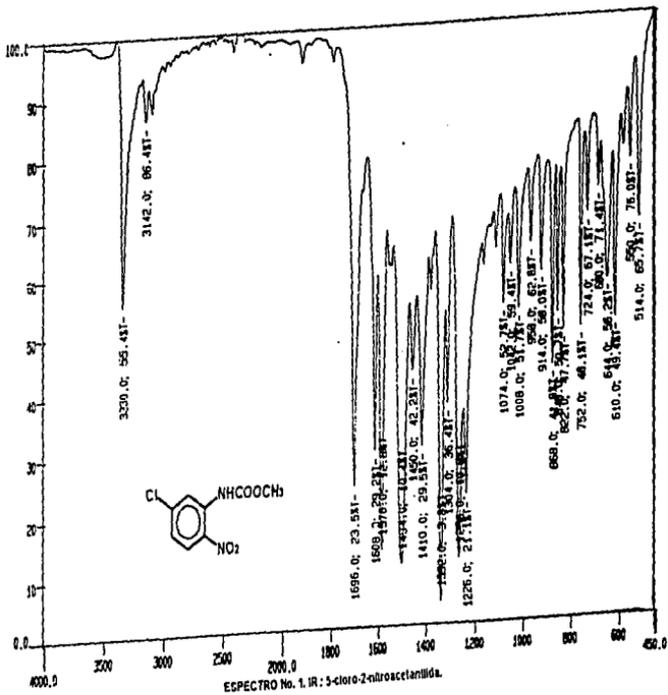
9.1.3. [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfinil]benceno (11).

En un matraz bola de 250 mL (24/40) de una boca, con trampa anhidra y agitación magnética se colocaron 1.45 g (0.015 mol) de tiocianato de potasio en 80 mL de acetonitrilo, a la suspensión anterior se goteó 1.17 mL (0.015 mol) de cloroformiato de metilo en 15 mL de acetonitrilo. La agitación se mantuvo por 2 horas más.

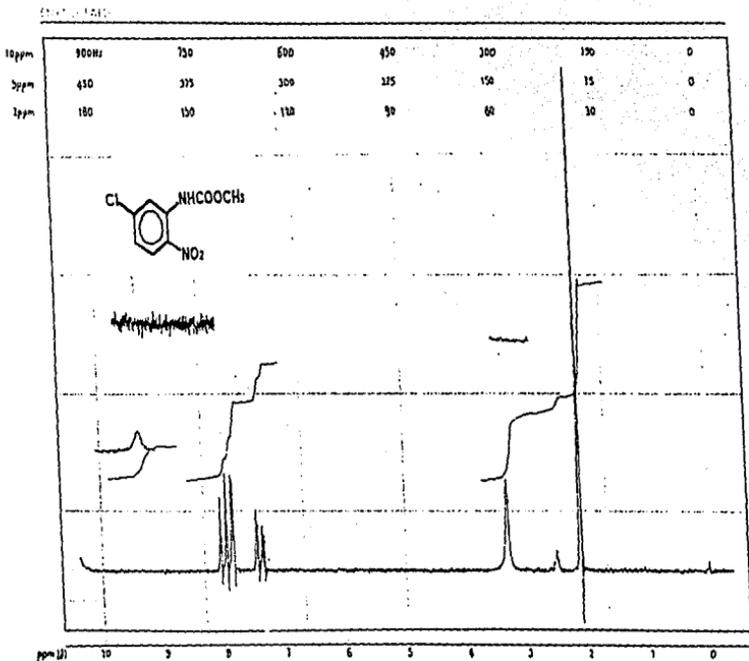
A la mezcla de reacción anterior, se adicionaron 1.83 g (0.0079 mol) de 4-fenilsulfinil-1,2-fenilendiamina (9), y se adaptó un refrigerante en posición de reflujo, y calentamiento con canasta de asbesto. La reacción se mantuvo a reflujo suave por espacio de 20 horas.

PARTE EXPERIMENTAL

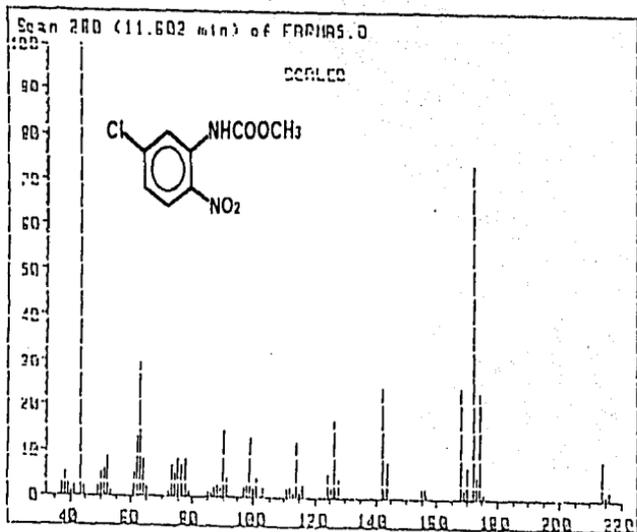
El contenido del matraz se separó por filtración al vacío y el filtrado se evaporó a sequedad. Se obtuvo un sólido café-naranja el cual pesó 2.71 g (98.2%). El sólido anterior se disolvió en 2-propanol caliente, a esta solución se le adicionó carbón activado al 5% p/p y se separó por filtración al vacío en un embudo de vidrio poroso. El filtrado se enfrió en hielo seco y se adicionaron gotas de hexano frío, se formó un sólido de color café claro, el cual se separó por filtración y se concentró al vacío. Una placa por c.c.f. del sólido anterior mostró una sola mancha en el sistema 6, y un p.f. de 130 °C, con descomposición del producto.



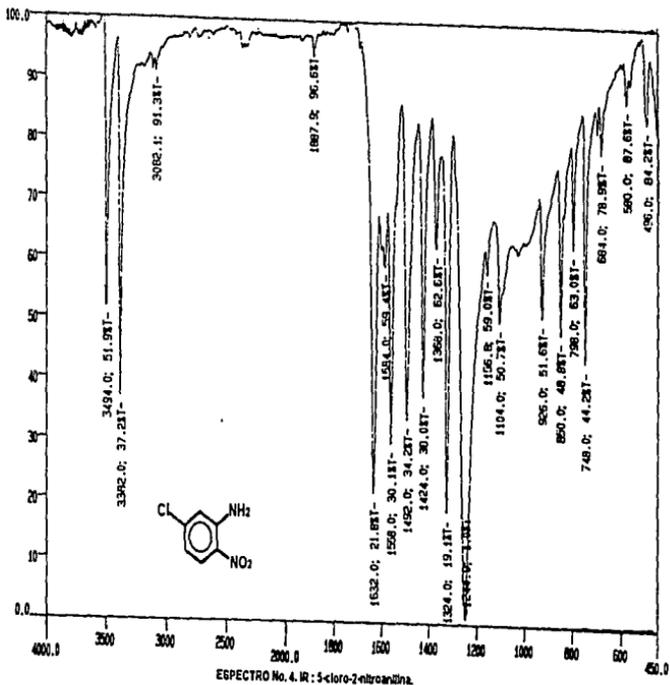
ESPECTROS



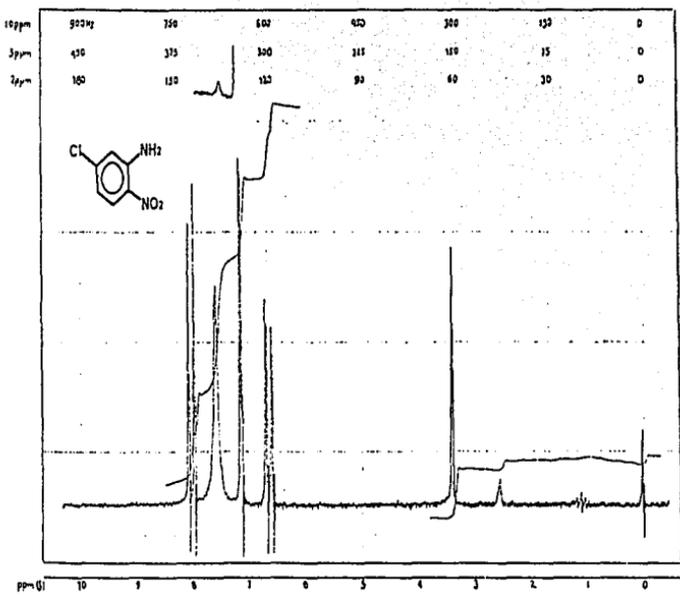
ESPECTRO No. 2. ¹H RMN: 5-cloro-2-nitroacetanilida.



ESPECTRO No. J. MASAS : 5-cloro-2-nitroacetanilida.

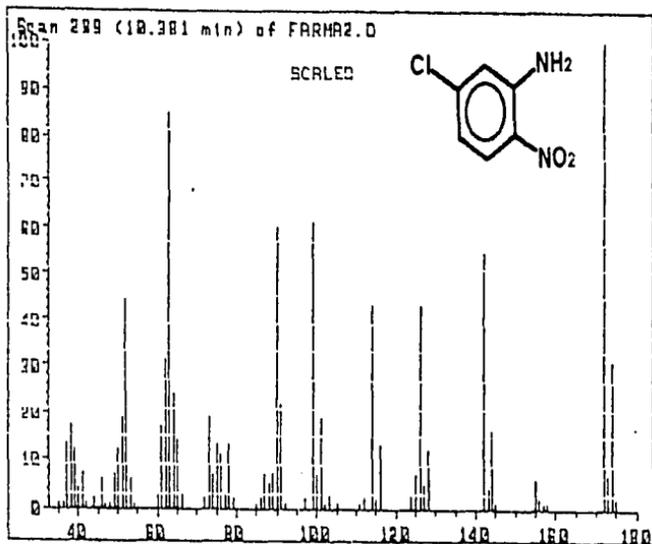


ESPECTROS

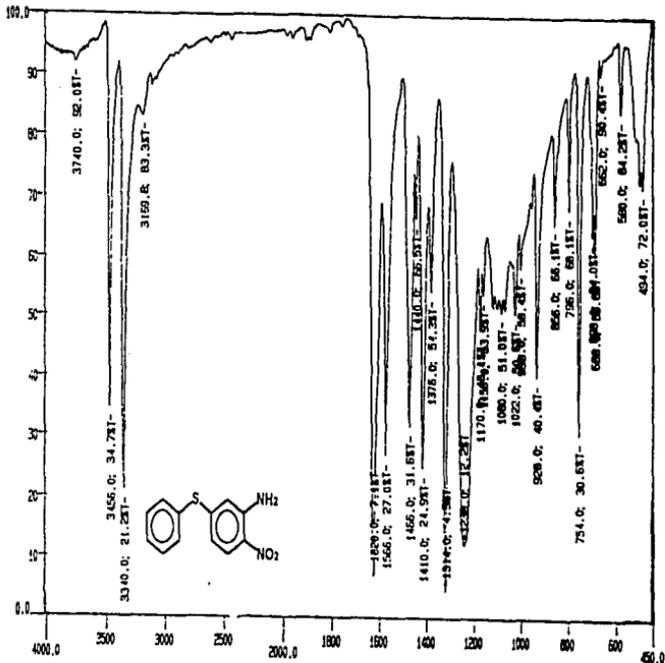


ESPECTRO No. 5. ¹H RMN : 5-cloro-2-nitroanilina.

ESPECTROS

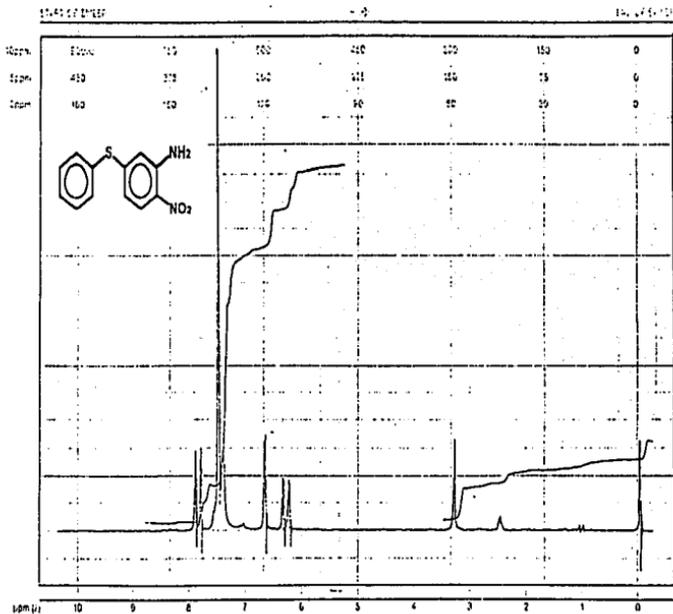


ESPECTRO No. 6. MASAS : 5-cloro-2-nitroanilina.

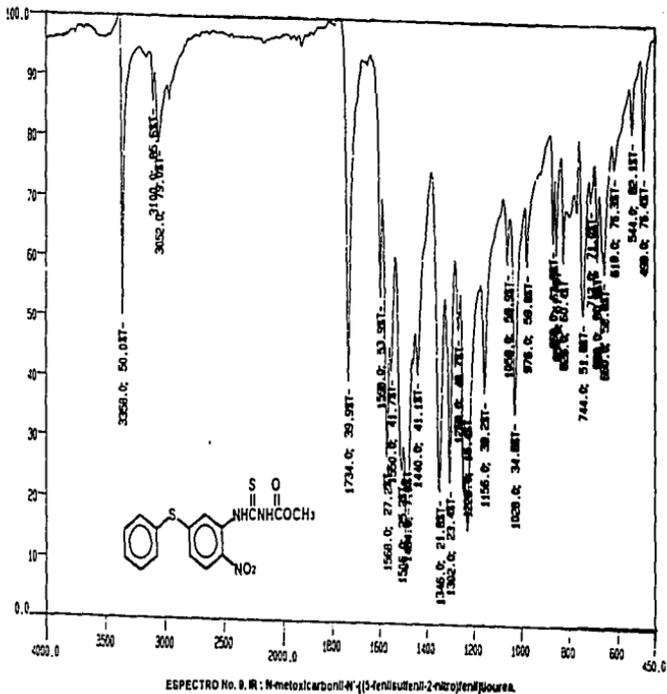


ESPECTRO No. 7. IR : 4-entilsulfenil-2-nitroanilina.

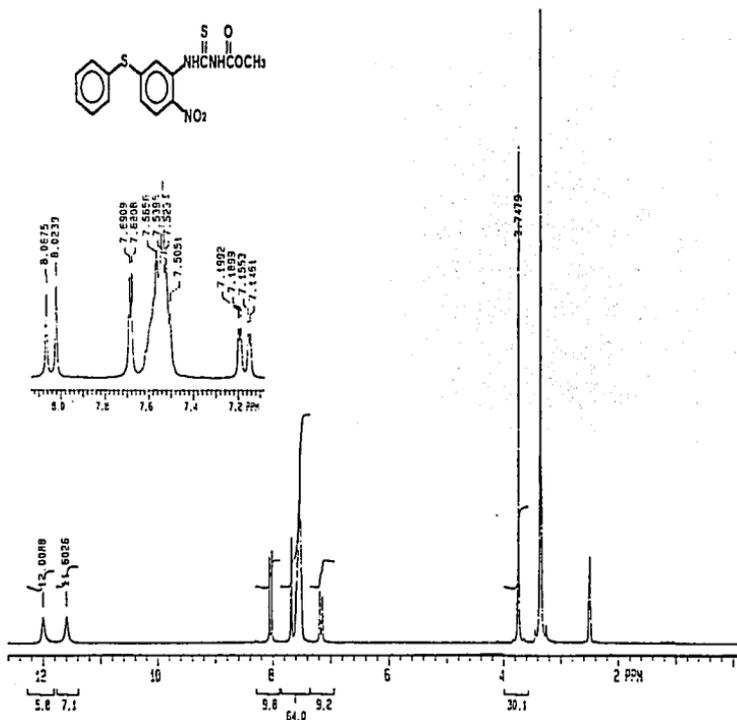
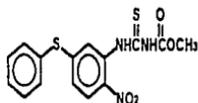
ESPECTROS



ESPECTRO No. 8. ¹H RMN : 5-tercilaufenil-2-nitroanilina.

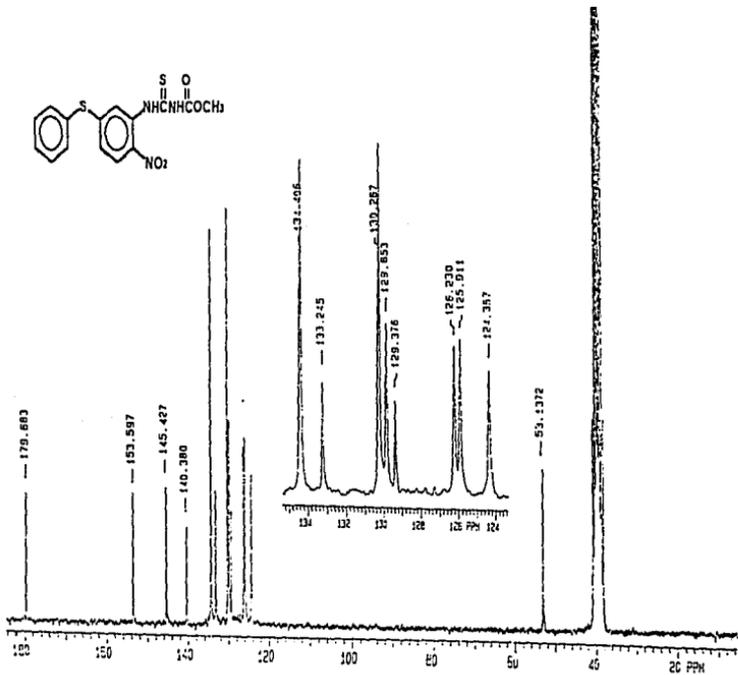
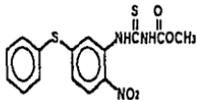


ESPECTROS



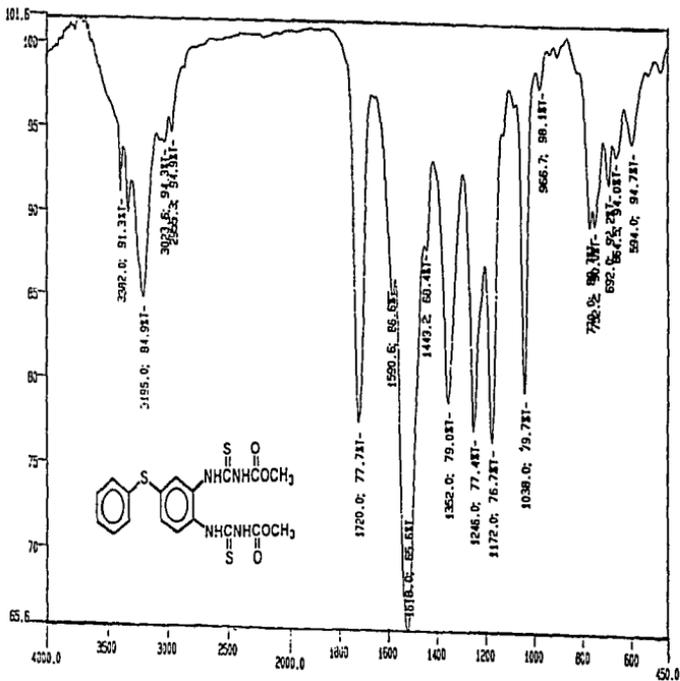
ESPECTRO No. 10. ¹H RMN: N-metoxicarbonil-N'-(5-nitrofenil)-2-tiropiridina.

ESPECTROS



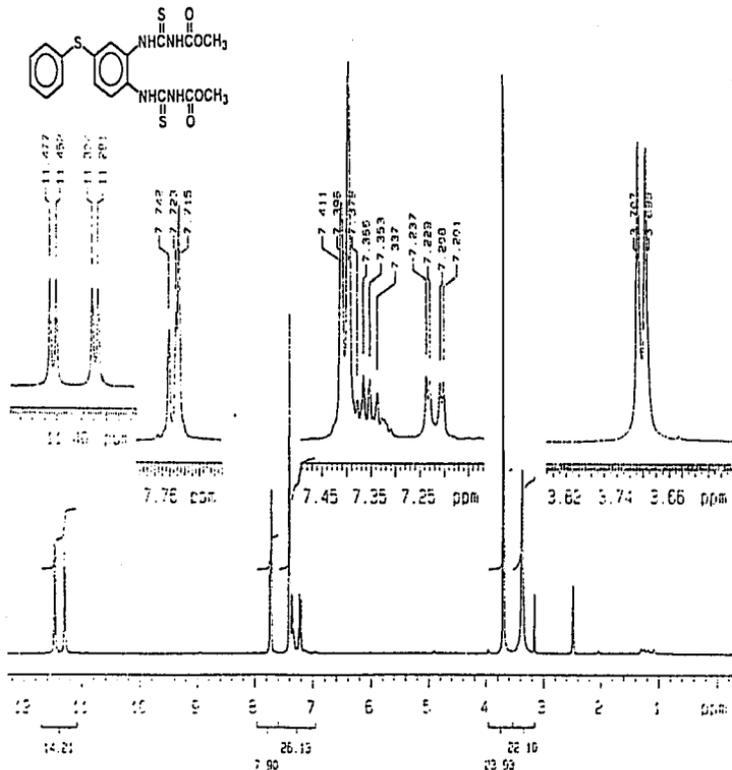
ESPECTRO No. 11. ^{13}C RMN: N-metoxicarbonil-N'-(3-nitrofenil)fenilfluorea.

ESPECTROS



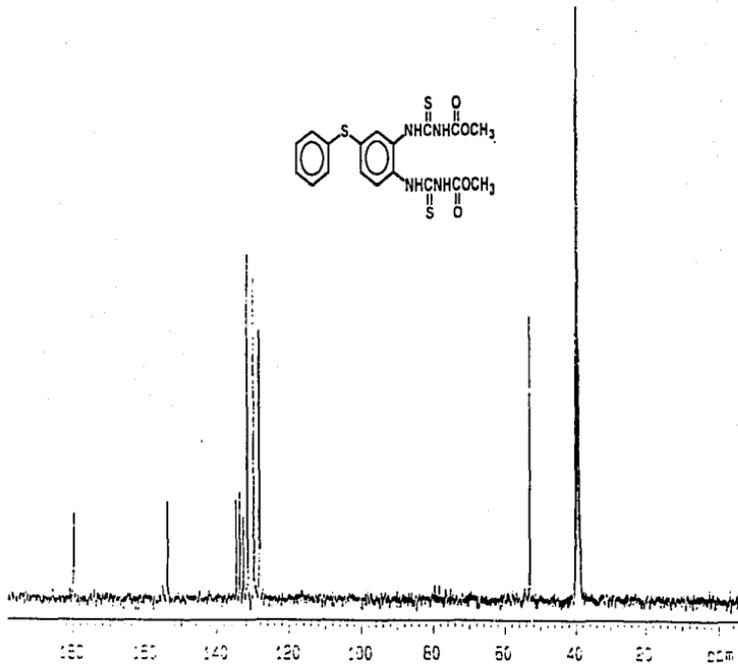
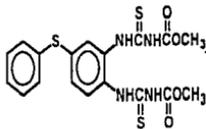
ESPECTRO No. 12. IR : [1,2-bis(3-metoxycarbonyl-2-foursido)-4-phenylsulfonyl]benzene.

ESPECTROS



ESPECTRO No. 13. ¹H RMN : [1,2-bis(2-metoxicarbonil-2-tioceido)-4-fenilsulfenil]benzene.

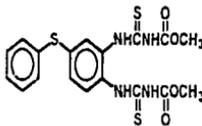
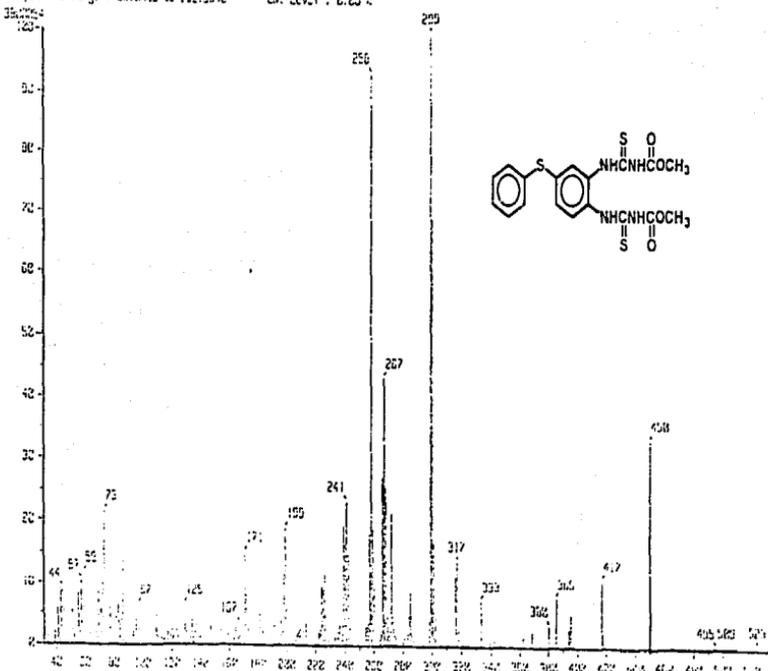
ESPECTROS



ESPECTRO No. 14. ^{13}C RMN : [1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tiourido)-4-fenilfenil]benzeno.

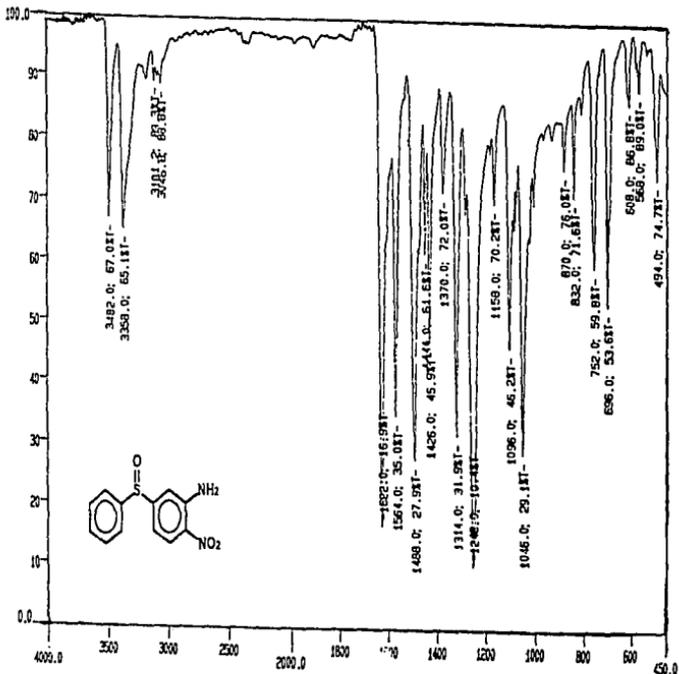
ESPECTROS

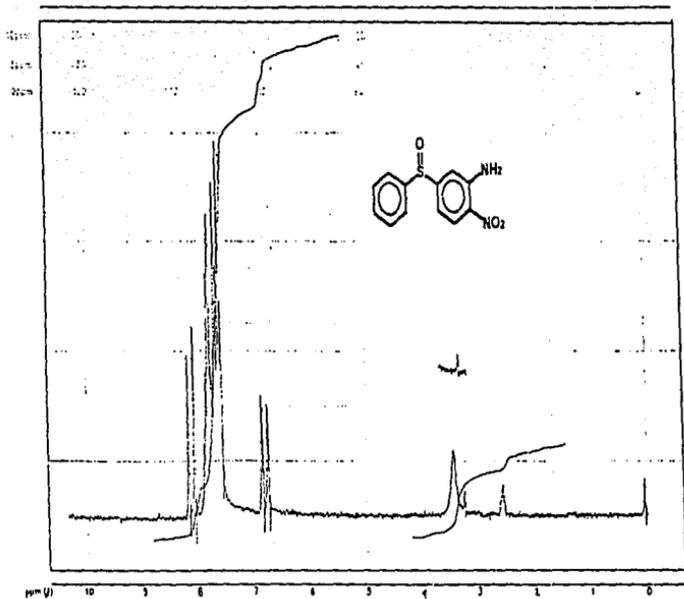
Name: MASAS
 Date: 07/04/97 11:52
 Sample: 1
 Note: De-Naturado-Cat: 10-9000
 Inlet: Resurv. Ion Mode: EI+
 Spectrum Type: Regular 1070 record
 RT: 2.48 min Scan: 187,100
 BP: m/z 250,000 Int.: 351,62
 Output m/z range: 40,0000 to 500,0000 Cat Level: 2,20 Hz



ESPECTRO No. 15. MASAS: [(1,2-bis(1-metoxiacetil)-2-tioureido)-4-fenilsulfenil]benzeno.

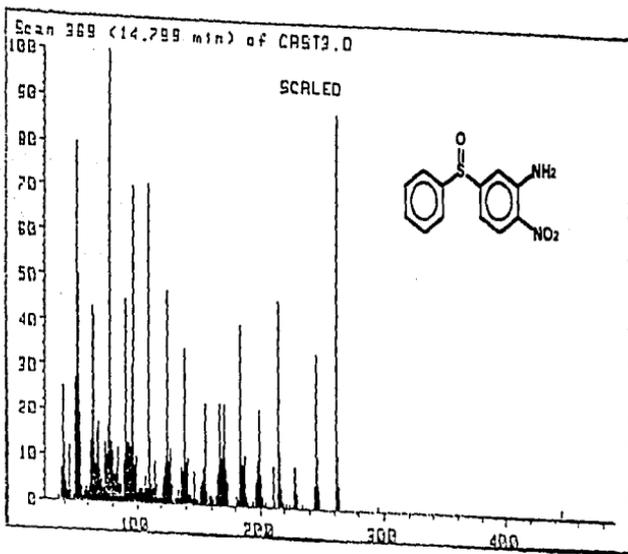
ESPECTROS



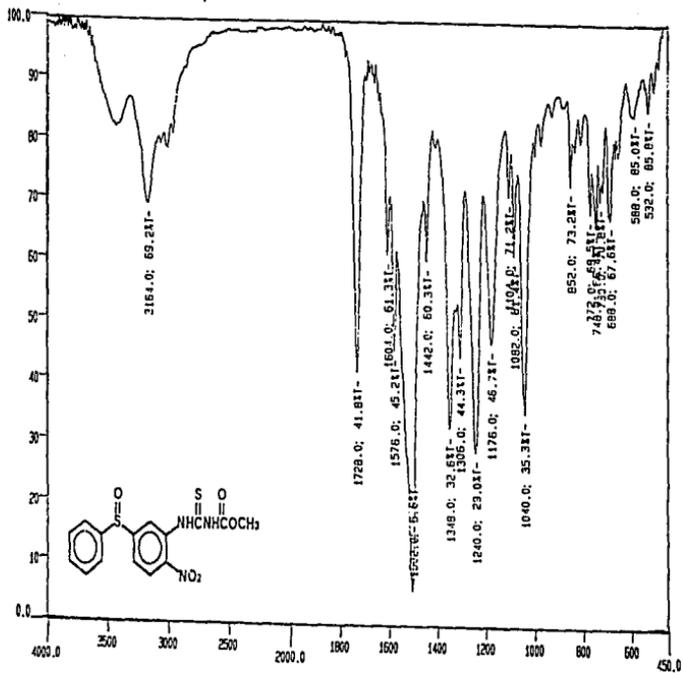


ESPECTRO No. 17. ¹H RMN : 3-fenilsulfonil-2-nitroanilina.

ESPECTROS

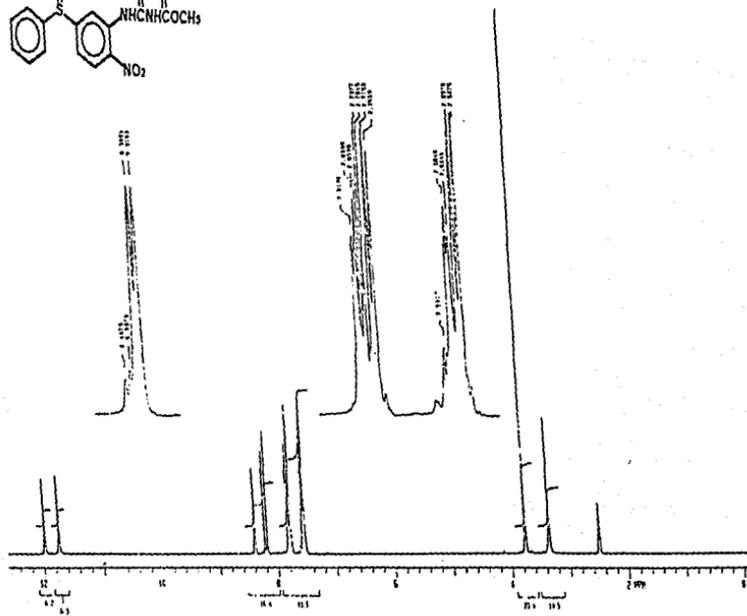
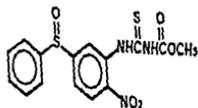


ESPECTRO No. 18. MASAS : 5-phenilsulfonil-2-nitroanilina.

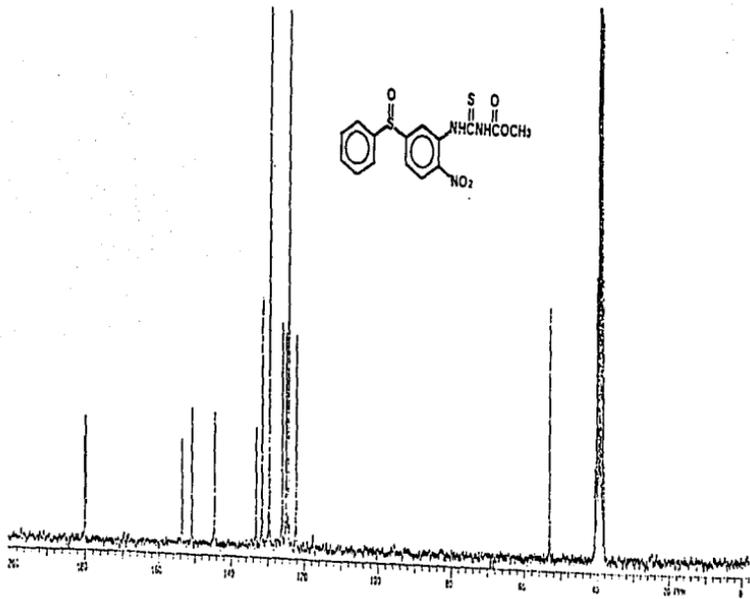


ESPECTRO No. 19. IR : N-metocarbonil-N'-(5-nitrosulfino-2-nitro)fenil]ourea.

ESPECTROS

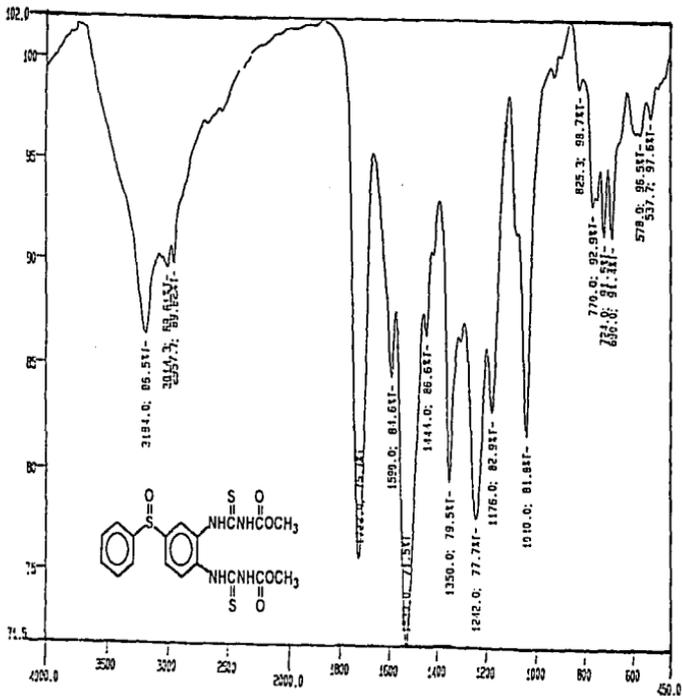


ESPECTRO No. 20. ¹H RMN : N-metilcarbonil-4'-(5-nitrofenil)-2-nitrofenilurea.



ESPECTRO No. 21. ^{13}C RMN: N-meloxicarbonil-N'-(5-nitrofenil)-2-nitrofenil]iourea.

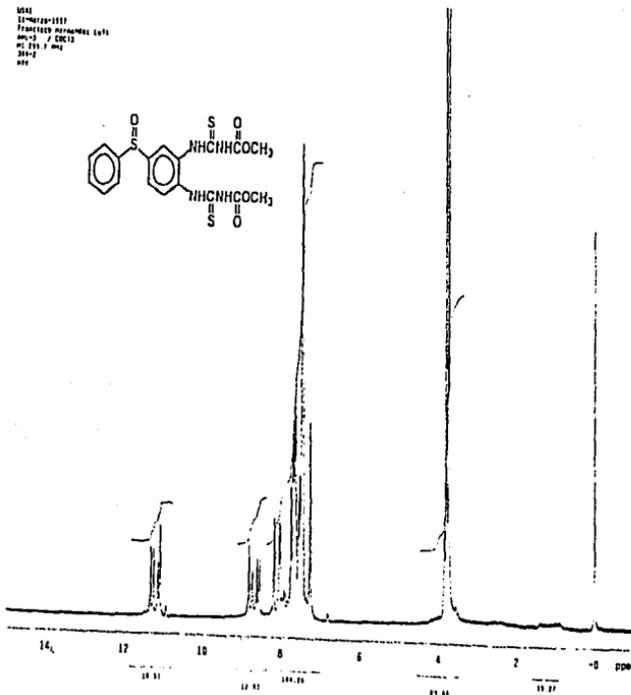
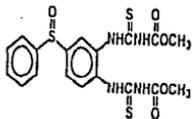
ESPECTROS



ESPECTRO No. 22. IR : [1,2-bis(3-metoxycarbonyl-2-tiooureido)-4-fenilsulfonil]benzene.

ESPECTROS

1958
 12-MAR-1958
 FRANCISCO MEXICANA S.A.
 100-12 / 20012
 42 711 7 000
 100-1
 100-1
 100-1



ESPECTRO No. 23. ¹H RMN : [1,2-bis[3-metoxycarbonil]-2-tioureido]-4-fenilsulfonil]benzene.

ESPECTROS

1 Mass Spectrum 1

Date : 21-Feb-97 22:48

Data : 191.3

Sample :

Instr : Du-Ruofei-Cast/110505

Inlet : Direct

Spectrum type : Regular (1F-Linear)

AP : 2.66 mm

Scan : (65,04)

DP : m/z 44.0000

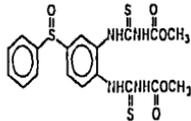
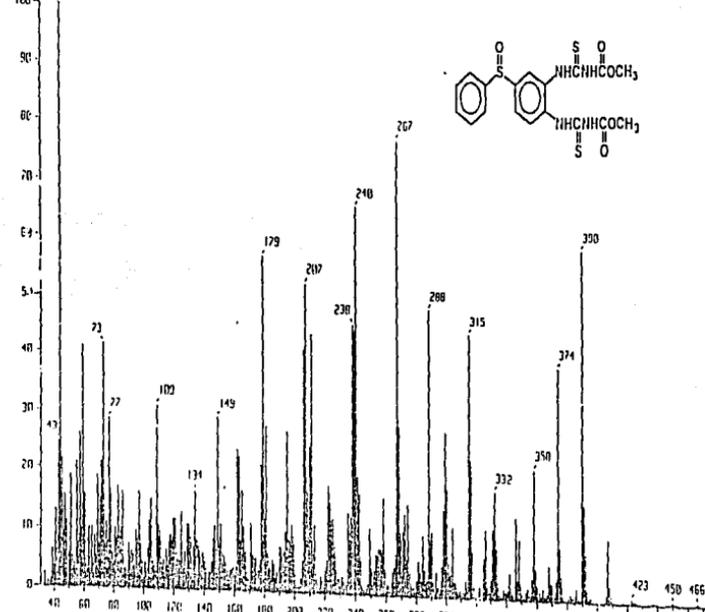
Int. : 94.96

Output range : 33.0000 to 473.7100

Ion Mode : (+)

Temp : 120.2 deg. C

99572



ESPECTRO No. 24. MASAS : (1,2-bis(3-metoxicarbonil-2-tioureido)-4-fenilsulfenil)benzene.

ESPECTROS

11. BIBLIOGRAFIA.

1. Maxwell, A. and G. Brody. "Antifungal activity of selected benzimidazole compounds". *Appl. Microbiol.* **21**, pp. 944-945. (1971).
2. Alan, M., et. al. "Overview: Treatment of Cryptococcal Meningitis". *Rev. of Infect. Dis.* **12**, pp. 5338-5348. (1990).
3. Lacey, E. "The role of the cytoskeletal protein tubulin in the mode of action and mechanism of resistance to benzimidazoles". *Int. J. Parasitol.* **18**, pp. 885-936. (1988).
4. Casimiro, G.A. Tesis de Licenciatura (QFB). Síntesis de Análogos del Triclabendazol con Actividad Antihelmíntica Potencial., México. 1994. Facultad de Química, UNAM. pp. 6.
5. Arundel, J.H. "Chemotherapy of Parasitic Diseases". (W.C. Campbell and R.S. Rew, eds), pp. 479-494. (1986)
6. Sharma, S. "Design of New Drugs for Helminth Diseases: Lead Optimization in Benzimidazoles". *Adv. in Drug Research.* **25**, pp. 103-172. (1994).
7. Foyce, W.O. *Principles of Medicinal Chemistry*, 3rd Ed. Lea & Febiger, pp. 731-738., USA. (1989).
8. Bonifaz, A. *Micología Médica Básica*, 1^a Ed. Mendez Cervantes; pp. 305-308. México, (1984).
9. Emmons, Ch. W. "Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*)" *Am. J. Hyg.* **62**, pp. 227-232. (1955).
10. Powdwerly, G.W. "Therapy for Cryptococcal meningitis in patients with AIDS". *Clin. Infect. Dis.* **14**, (Suppl 1), pp. 554-559. (1992).
11. Butler, W.T.; et al. "Nephrotoxicity of amphotericin B: early and late effects in 31 patients". *Ann. Intern. Med.* **61**, pp. 175-187. (1964).
12. Utz, J.P. "Amphotericin B toxicity". *Ann. Intern. Med.* **61**, pp. 334-354. (1964).
13. Kauffman, C.A.; et al. "Simple assay for 5-fluorocytosine in the presence of amphotericin B". *Antimicrob. Agents and Chemother.* **9**, pp. 381-383. (1976).

14. Perfect, J.R.; et al. "Comparison of itraconazole and fluconazole in treatment of cryptococcal meningitis and candida pyelonephritis in rabbits". *Antimicrob. Agents and Chemother.* **29**, 579-583. (1986).
15. Cruz, M.C.; et al. "In vitro susceptibility of the opportunistic fungus *Cryptococcus neoformans* to anthelmintic benzimidazoles". *Antimicrob. Agents and Chemother.* **29**, pp.579-583. (1994).
16. Jung, M.K.; et al. "Amino acid alterations in the ben A (beta tubulin) gene of *Aspergillus nidulans* that confer benomyl resistance". *Cell. Motil Cytoskeleton.* **22**, pp. 170-174. (1992).
17. Van Den Bossche, H.; et al. "Mebendazole and related anthelmintics". *Adv. Pharmacol. Chemother.* **19**, pp. 67-126. (1982).
18. Korolkovas, A. *Development of Drugs. Essential of Medicinal Chemistry.* 2nd. John Wiley and Sons; pp. 53-139. USA., (1988).
19. Vermuth, C.G. *Design Prodrugs and Bioprecursors.* En *Drug Design. Fact or Fantasy* Jolles G. edit. Academic Press. pp. 47., USA. (1984).
20. Riley Thomas N. "The Prodrug Concept and Drug, Design and Development". *J. of Med. Education.* pp.65, 947-953; (1988).
21. Dawson, M. Watson T.R. "4-Amino-3-(3'-metoxicarbonil-2'-tioureido)benzophenone, a prodrug of Mebendazole". *European J. of Drug Metabolism and Pharmacokinetics.* **8**, pp. 329-334. (1983).
22. Walchsoofer N., Delabre-Defayolle I., Paris J., Petavy A.F. "In Vivo Morphological Damage Induced by a New Benzimidazole Prodrug in *Echinococcus multilocularis* Metacystodes". *J. Pharm. Sci.* **79**, pp. 606-608. (1990).
23. Catalogo Aldrich., 1994-1995, pp. 340.
24. Eugene, A.A. et al., Kistner, T.P., Druge, J.H., Marvin, L.S., And Corwin R.M. "Metil-5(6).Phenyl-sulfinyl-2-benzimidazolecarbamate, a New Potent Anthelmintic". *J. Med. Chem.* **18**, pp. 1164-1166. (1975).
25. Burger, A., *Medicinal Chemistry.* 3rd Ed. Wiley and Sons. V. 1, pp. 583-600, New York. (1990).

26. Goodman, A.G., The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th Ed. Pergamon Press. Inc. Cap. 40, pp. 959-977. New York, (1990).
27. Bowman y Rand. Quimioterapia de Infecciones por Microorganismos Multicelulares. Farmacología: Bases Bioquímicas y Patológicas 2^o Ed. Interamericana; pp. 11.12, 16 y 37.2; México, (1984).
28. Robinson, H.J.; et al. "Thiabendazole: toxicological, pharmacological and antifungal properties". Tex. Rep. Biol. Med. 27, suppl. 2., pp. 537-560. (1969).
29. Rippon J.W. Tratado de Micología Médica. 3^a Ed. Interamericana-Mc.Graw-Hill; pp.629-659. México., (1990).
30. Bartlett, M.S.; et al. "Antimicrotubule Bencimidazoles inhibit in vitro growth of *Pneumocystis carinii*". Antimicrob. Agents Chemother. 36, pp. 799-782. (1992).
31. Hernandez Luis F., Castillo R. "Los Profarmacos: una alternativa en la investigación Químico Farmacéutica. Parte II". Rev. Mexicana de Ciencias Farmaceuticas. 24, pp. 32-39. México. (1992).