



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SINTESIS DE 5-CLORO-6-(1-NAFTILOXI)-2-  
(TRIFLUOROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL, CON  
POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIHELMINTICA.

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

IVAN VALENTIN CRUZ BARRERA



MEXICO, D.F.



2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA



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:** Rafael Castillo Bocanegra

**VOCAL:** Consuelo García Manrique

**SECRETARIO:** Rosa Luz Cornejo Rojas

**1 er. SUPLENTE:** María Elena Villatoro Méndez

**2 do. SUPLENTE:** Margarita Romero Avila

Sitio donde se desarrolló el tema:

Lab. 122, Edificio E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.  
Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (Laboratorio  
de Parasitología) del IMSS, CMN Siglo XXI

### ASESOR DE TESIS:

Dr. Rafael Castillo Bocanegra



### SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. María Alicia Hernández Campos



### SUSTENTANTE:

Iván Valentín Cruz Barrera



A mi hermosa esposa Martha Angélica y mi precioso hijo Iván Alejandro, porque sacrificamos tiempo en nuestras vidas para finalizar esta tesis, es un éxito que hemos alcanzado juntos. Gracias por todo el apoyo y cariño que me han dado, los amo.

A mis Padres y hermanos, que a través de toda la carrera y durante mi vida siempre influyeron en las decisiones que he tomado. Por estar a mi lado apoyándome en todo momento, les dedico esta tesis con un cariño muy especial.

A toda la gente que conocí durante 25 años de estudio, porque cada una de ellos forjó mi personalidad y me ayudaron a crecer junto con ellos. Especialmente al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, la M en C Alicia Hernández Campos y a cada uno de los integrantes del Laboratorio 122 con los que compartí momentos muy agradables.

Al programa de beca PAPIT IN 204998, le agradezco su apoyo económico durante la realización de esta tesis.

# ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	A
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1. Los Helmintos	5
2.1.1. <i>Trichinella spiralis</i>	6
2.2. Los bencimidazoles	7
2.2.1. Mecanismo de acción de los bencimidazoles	8
2.2.2. Bases para el diseño del análogo del triclabendazol	9
2.2.3. Generalidades sobre bencimidazoles	10
2.2.4. Síntesis de bencimidazoles	14
2.2.4.1. Síntesis del Triclabendazol	14
2.2.4.1.1. Síntesis del Triclabendazol según el método patentado por Gallay et al	14
2.2.4.1.2. Síntesis del Triclabendazol según el método de Iddon et al	16
2.2.4.2. Síntesis de 2-(trifluorometil)bencimidazoles	17
2.2.4.2.1. Por reacción de Phillips	17
2.2.4.2.2. Por hidrogenación catalítica de 2-nitro(trifluorometil)acetanilidas	18
3. OBJETIVOS	18
3.1. Planteamiento del problema	18
3.2. Objetivos	19
3.3. Hipótesis	19
4. PARTE EXPERIMENTAL	19
4.1. Instrumentación	19
4.2. Cromatografía	20
4.3. Material y métodos	22
4.3.1. Parte química	22
4.3.2. Parte biológica	22
3,4-Dicloroacetanilida (2)	24
4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3)	24
4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4)	25

4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5)	25
4-Cloro-5-(1-naftiloxi)- <i>o</i> -fenilendiamina (6)	25
5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-trifluorometil-1 <i>H</i> -bencimidazol (7)	26
Obtención del parásito <i>T. spiralis</i>	26
Obtención de las larvas musculares de <i>T. spiralis</i>	26
Ensayo <i>in vitro</i> (MTT/PMS) para evaluar el efecto del compuesto <b>7</b> sobre la larva muscular de <i>T. spiralis</i>	27
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>28</b>
5.1. Selección de la ruta de síntesis	28
5.2. Síntesis de 3,4-Dicloroacetanilida (2)	28
5.3. Síntesis de 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3)	29
5.4. Síntesis de 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4)	29
5.5. Síntesis de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5)	30
5.6. Síntesis de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)- <i>o</i> -fenilendiamina (6)	30
5.7. Síntesis de 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-trifluorometil-1 <i>H</i> -bencimidazol (7)	31
5.8. Efecto del compuesto <b>7</b> sobre la larva muscular de <i>T. spiralis</i>	34
<b>6. CONCLUSIONES Y EXPECTATIVAS</b>	<b>35</b>
<b>7. ESPECTROS</b>	<b>38</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>47</b>

## RESUMEN.

En esta tesis se describe el trabajo realizado en la síntesis de 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol, un análogo del fasciolicida Triclabendazol y la evaluación biológica de este compuesto sobre larvas musculares de *Trichinella spiralis*.

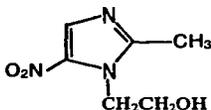
El proceso sintético inició a partir de la 3,4-Dicloroanilina comercial (1), la cuál se suspendió en ácido acético y se trató con anhídrido acético para dar la 3,4-Dicloroacetanilida (2). La nitración de ésta con mezcla sulfonítrica en frío llevó a la obtención de la 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3); la cual, por hidrólisis con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. en caliente, permitió obtener la 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4). Posteriormente, 4 se sometió a una reacción de sustitución nucleofílica aromática en presencia de  $\alpha$ -Naftol, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y Dimetilformamida a 115°C. El producto de reacción, la 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5), se redujo con SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O en etanol absoluto caliente y dio la 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-1,2-fenilendiamina (6), ésta se ciclocondensó con ácido trifluoroacético en diglima caliente para obtener el 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (7). Todos los compuestos preparados se obtuvieron con buenos rendimientos y pureza. Para la caracterización, cada compuesto se purificó por recristalización. Los datos espectroscópicos de IR y RMN <sup>1</sup>H, al igual que los espectrométricos fueron concordantes con las estructuras de los compuestos obtenidos.

Para la evaluación biológica se obtuvieron larvas musculares de *Trichinella spiralis*, en las cuales se realizó el ensayo *in vitro* (MTT/PMS) para evaluar el efecto del 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (7) sobre la viabilidad de estos organismos cuando se incuban a diferentes concentraciones del compuesto 7, empleando un ensayo colorimétrico con la sal de tetrazolio MTT. El compuesto 7 resultó ser un potente antihelmíntico contra las larvas musculares de *Trichinella spiralis*, equiparable al albendazol.

# 1. INTRODUCCIÓN

Tanto en nuestro país, como en otras partes del mundo, existe un considerable número de personas que padecen enfermedades causadas por parásitos, como los protozoarios y helmintos. Las infecciones por estos parásitos ocupan uno de los primeros lugares como causa de morbilidad, afectando principalmente a la población infantil.<sup>1</sup> Por este motivo, en muchos laboratorios del mundo se han dado a la tarea de desarrollar nuevos compuestos, que puedan mejorar a los ya existentes en el tratamiento de estas enfermedades.

Los protozoarios son organismos unicelulares que desempeñan todas las funciones de un organismo vivo. Estos organismos se encuentran incluidos dentro del reino protista, es decir que son organismos que están dotados de un núcleo verdadero. Las protozoosis de mayor importancia a causa de su morbilidad son las entamoebiasis (*Entamoeba histolytica*), giardiasis (*Giardia lamblia*) y cryptosporidiasis (*Cryptosporidium sp*) que se relacionan con diarreas agudas y crónicas e incluso con enfermedades invasivas.<sup>1-3</sup> Para el tratamiento de parasitosis como la giardiasis, el fármaco de elección es el metronidazol (ver figura), cuya molécula tiene como núcleo un imidazol. Este fármaco puede ser utilizado también como amebicida y tricomonocida.<sup>4</sup>



Metronidazol

Los helmintos, a diferencia de los protozoarios, son organismos pluricelulares, se reproducen sexualmente, y su morfología es muy variada dependiendo del grupo al que pertenecen. Entre las helmintiasis del hombre que causan mayores estragos en salud pública se encuentran la fascioliasis (*Fasciola hepatica*), cisticercosis (*Taenia solium*) y la trichinellosis (*Trichinella spiralis*), las cuales provocan en el hombre enfermedades que pueden llegar a ser graves e incluso fatales.<sup>5</sup>

Por otro lado, los compuestos que tienen como núcleo al bencimidazol han mostrado tener actividad como herbicidas, insecticidas, fungicidas, agentes bacteriostáticos, agentes anticancerígenos, antihelmínticos y recientemente se ha demostrado *in vitro* la actividad antiprotozoaria.<sup>6-8</sup>

El uso más común de los bencimidazoles en la medicina, desde la década de los sesentas, es como agentes antihelmínticos.<sup>9-11</sup> Estos compuestos han demostrado una amplia eficacia y potencia en infecciones gastrointestinales, pero su baja solubilidad en agua reduce en gran medida la capacidad de absorberse y por tanto su ineficacia en infecciones de tipo sistémicas.

Con respecto al mecanismo de acción de los bencimidazoles como antihelmínticos, se tiene evidencia que estos compuestos interfieren en la actividad de diversas enzimas implicadas en la captación de glucosa y metabolismo de la misma, causando interferencias en el sistema mitocondrial, afectando así la síntesis de ATP. La teoría más reciente del mecanismo de acción de los bencimidazoles está basada en la gran afinidad selectiva hacia la tubulina de los helmintos.<sup>12,13</sup> Estos compuestos se unen a la tubulina impidiendo su polimerización a microtúbulos, los cuales son esenciales para la replicación celular.

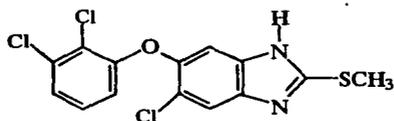
Estudios recientes sobre la actividad antiparasitaria de los bencimidazoles muestran que el albendazol, flubendazol, febendazol, al igual que el metronidazol, inhiben el crecimiento *in vitro* de *Trichomonas vaginales*<sup>14</sup> y *Giardia lamblia*.<sup>15-17</sup>

La *Fasciola hepatica* persiste todavía como el helminto parásito más importante en la ganadería en muchos países del mundo, aunque no iguala la significancia colectiva de los nematodos.<sup>18</sup> Su contraparte en los países tropicales es la *Fasciola gigantica*.

La enfermedad originada por estos trematodos, la fasciolosis, es causante de grandes pérdidas económicas en la cría de ganado vacuno, ovino y caprino.<sup>19-21</sup> Las pérdidas se deben a casos de muerte; en disminución de producción de carne, leche y lana; en hígados contaminados que no se pueden consumir; y en efectos secundarios sobre la fertilidad, entre otros.

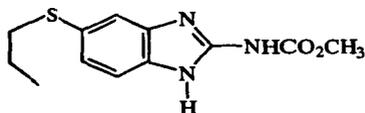
La fasciolosis, causada tanto por *Fasciola hepatica* como por *Fasciola gigantica*, también puede darse en humanos,<sup>22</sup> ocasionalmente causando epidemias que involucran cientos de personas.<sup>23</sup> Una estrategia efectiva para el control de la fasciolosis se basa en el uso de fármacos (fasciolicidas),<sup>18,24,25</sup> los cuales son efectivos para ambas especies de fasciola.<sup>26</sup>

Por seguridad y eficacia, el fármaco de elección para el tratamiento de la fasciolosis en humanos es el Triclabendazol, sin embargo, la eficacia depende en parte de la susceptibilidad del organismo a la naturaleza del fármaco.<sup>1,27-29</sup> El Triclabendazol es un derivado del bencimidazol creado por Gallay y colaboradores en el año de 1978 para la compañía Suiza Ciba-Geigy.<sup>30</sup>



Triclabendazol

Estructuralmente, este compuesto difiere de los bencimidazol carbamatos, como el Albendazol, por ser un bencimidazol trisustituido; con un grupo metiltio en la posición 2, un grupo 2,3-diclorofenoxi en la posición 5 (6) y un grupo cloro en la posición 6 (5).



Albendazol, un bencimidazol carbamato

Este patrón de sustitución del Triclabendazol le confiere a la molécula mayor liposolubilidad que los bencimidazol carbamatos, de tal manera que el Triclabendazol se absorbe bien, y al igual que el Albendazol, el Triclabendazol se oxida a sulfóxido una vez absorbido.<sup>31,32</sup>

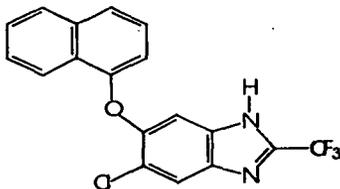
El Triclabendazol es efectivo contra los estadios inmaduros y adultos de la fasciola.<sup>33-35</sup> A dosis de 5 mg/Kg de peso, el Triclabendazol tiene una eficacia de 92-98% para remover fasciolas de 4 a 8 semanas de edad y de 100% para fasciolas de 12 semanas en adelante. Aumentando la dosis a 10 mg/Kg de peso la eficacia es de 93 a 98% contra fasciolas de una semana de edad, de 99-100% cuando las fasciolas tienen de 2 a 4 semanas y de 99 a 100% contra aquellas de 6 o más semanas. La dosis máxima tolerada es de 200 mg/Kg de peso.<sup>18,36,37</sup>

A pesar de la eficacia del Triclabendazol, su espectro de actividad es estrecho, siendo inefectivo contra otros helmintos intra y extraintestinales.<sup>38</sup> Se cree que su espectro tan reducido se debe a que su metabolito activo, el sulfóxido, le cambia drásticamente la conformación a una estructura diferente a la del Triclabendazol y a la de los bencimidazol carbamatos.<sup>39</sup> La resistencia al fármaco se supone que no es un problema; nada que se acerque a los niveles serios que existen en muchas partes del mundo con los fármacos antinemátodos, aunque lo primero podría ser una suposición engañosa.<sup>18</sup>

Estudios sobre la síntesis y actividad fasciolicida de análogos del Triclabendazol con diferentes sustituyentes en la posición 2, todavía no se han reportado. Tampoco se han registrado nuevos fasciolicidas desde los años 80's, y no hay en desarrollo nuevos fasciolicidas. Por consiguiente, se dependerá de los fármacos existentes por algún tiempo, se tendrá que hacer el mejor uso de ellos y enfrentar, inevitablemente, el desarrollo de problemas de resistencia.<sup>18</sup>

Considerando las características del Triclabendazol, la carencia de nuevos fasciolicidas, y a la posibilidad de desarrollo de resistencia, es importante la creación de nuevos compuestos fasciolicidas como fármacos alternos.

El trabajo presentado en esta tesis pretende contribuir a la solución de la problemática de la helmintiasis, a través de la creación de un análogo del Triclabendazol, el 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (7), y a la formación de personal en el área de la Química Farmacéutica, principalmente en síntesis.



5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol, compuesto 7

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Los Helmintos.

Los helmintos son organismos pluricelulares que se reproducen sexualmente por medio de huevos. Su morfología es muy variada, dependiendo del grupo al que pertenecen. Entre los helmintos parásitos del hombre existen dos *phyla*: *Plathyhelminthes* a la que pertenecen dos clases: Cestoda y Trematoda, y *Aschelminthes* a la que pertenecen las clases Adenophorea (Aphasmidia) y Sercermentea (Phamidia). Los organismos de las dos primeras clases son gusanos planos, mientras que los dos últimas son cilíndricos.

Clase Cestoda. Gusanos planos, hermafroditas y polizoicos; los aparatos más evolucionados de estos parásitos son el reproductor masculino y femenino. Tienen una porción cefálica que se denomina escólex que varía de una especie a otra y el resto del cuerpo es una cadena de proglótidos los cuales forman el estróbilo o cadena estróbililar.

Clase Trematoda. Gusanos planos y hermafroditas, más evolucionados que los cestodos.

Aparato digestivo incompleto, sistema excretor más desarrollado. En general casi todos los trematodos que parasitan al humano tienen forma de hoja. Parte del ciclo vital tienen lugar en el agua y los hay que requieren dos o tres huéspedes para completarlo.

Clase Adenophorea y Sescermentea. La primera conocida como Aphasmidia por la ausencia de quimiorreceptores caudales o fásmidas. La segunda Phasmidia por presentarlos, a los que pertenecen casi todos los nematodos de importancia. Conocidos como gusanos cilíndricos. Reproducción por huevos. Los asquelmintos, por ser más evolucionados tienen aparato digestivo completo, sistema excretor, nervioso y sexual en diferentes individuos.

### **2.1.1 *Trichinella spiralis*.**

*Trichinella spiralis* es un nemátodo perteneciente a la familia *Trichuridae*. Los adultos machos y hembras habitan en el lumen intestinal mientras maduran sexualmente y se aparean. Después de la fecundación, los machos se eliminan en las heces y las hembras penetran la pared intestinal. Las larvas se localizan en músculo esquelético, diafragma y lengua.

Las larvas enquistadas de estos nematodos son hialinas, se encuentran enrolladas en espiral en el quiste. Tienen una vaina elipsoidal que las cubre; su eje longitudinal es paralelo a las fibras musculares.

Los adultos son gusanos pequeños, delgados, con un tono blanco cremoso. El macho mide de 1.4 a 1.6 mm de longitud. Sus extremidades anterior y posterior son muy delgadas; en la cauda, donde se encuentra la cloaca, tienen dos papilas genitales, tienen un solo testículo, por lo que son monórquicos. La hembra mide de 3 a 3.6 mm de largo. La porción anterior termina en punta y la posterior es más ancha, la vulva se abre a un cuarto de distancia del extremo anterior, en la porción ventral; la vagina se extiende en la parte posterior hasta el útero, que contiene en su porción anterior larvas y huevos; en la región posterior, atrás del útero y cerca de la abertura anal, se encuentra el ovario, es opistodelfa, por presentar sus genitales en la parte posterior del cuerpo.

## 2.2 Los bencimidazoles.

El descubrimiento de los bencimidazoles sustituidos como fármacos de amplio espectro asociados con actividad antihelmíntica es un punto importante en la quimioterapéutica de enfermedades parasitarias. Ahora el bencimidazol es reconocido como un heterociclo versátil en la investigación Químico-Farmacéutica y está sujeto a una gran variedad de modificaciones estructurales que generen nuevos fármacos para el tratamiento de helmintiasis intestinales y extraintestinales.

La primera molécula de bencimidazol utilizada con fines de tratamiento contra parásitos fue el Tiabendazol, descubierto por el grupo Merck en 1961.<sup>40</sup> Inicialmente su utilización se enfocó al área veterinaria para después pasar al uso en humanos. Aunque el tiabendazol muestra un amplio espectro en contra de diferentes helmintos en humanos y animales, tiene la limitante de ser metabolizado para dar el compuesto inactivo 5-hidroxtiabendazol.<sup>41</sup>

Posteriormente apareció una nueva generación de bencimidazoles sustituidos en posición 5, para evitar su metabolismo y en la posición 2 un grupo carbamato de metilo, para aumentar la vida media de los nuevos antihelmínticos, con la desventaja de ser pobremente absorbidos, lo que impide su acción a nivel sistémico. Ejemplos de estos compuestos son el mebendazol, albendazol y flubendazol. Entre los bencimidazol carbamatos, el albendazol tiene una mejor absorción a nivel intestinal, aunque sólo un 5% de la dosis se absorbe. Se ha sugerido que la acción del albendazol se debe principalmente a su metabolito, el sulfóxido de albendazol, el cual tiene una mejor absorción.<sup>42</sup>

Por otro lado, se han sintetizado diferentes compuestos derivados del bencimidazol y se han probado en el tratamiento de diferentes infecciones por helmintos, entre ellas la trichinellosis.<sup>43-48</sup> Sin embargo, la aplicación de algunos de ellos, como luxabendazol, durante la fase muscular de la *T. spiralis*, puede ocasionar reacciones adversas graves debido a la muerte masiva de los parásitos.<sup>48</sup>

Estudios de estructura-actividad realizados a derivados del bencimidazol indican que la

introducción de un sustituyente en la posición 5 no necesariamente incrementa la potencia,<sup>49</sup> los grupos en dicha posición previenen la inactivación metabólica. El anillo de bencimidazol ha sido objeto de modificaciones estructurales con el propósito de tener moléculas más activas y potentes. Las modificaciones han sido principalmente en las posiciones 2 y 5 del anillo del bencimidazol.

### **2.2.1 Mecanismo de acción de los bencimidazoles.**

Los posibles mecanismos de acción que se han postulado hasta este momento para los bencimidazoles como antihelmínticos son:

- Inhibición de la fosforilación mitocondrial realizada por el complejo succinato deshidrogenasa-fumarato reductasa.
- Decremento en la secreción de acetilcolinesterasa.
- Disminución de la incorporación de glucosa, alterando el uso de las reservas de glucógeno y actividad glucolítica enzimática.
- Interferencia del ensamble citoplasmático de la tubulina, por inhibición de la polimerización de la tubulina.
- Disminución del metabolismo de lípidos a cargo de las enzimas glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH), malato deshidrogenasa (MDH), y triacilglicerol lipasa (Tg-lipasa).

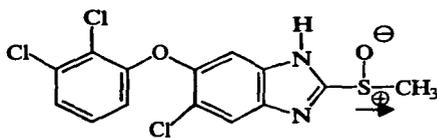
Se ha establecido en algunas hipótesis acerca de la causa de la secreción de la acetilcolinesterasa por parte del parásito que incluyen: modulación del peristaltismo intestinal, acción anticoagulante por inactivación del factor activante de plaquetas, destrucción de antihelmínticos, proveerse de precursores para su metabolismo (colina y acetato) y modulación de la respuesta inmune del hospedero.<sup>50</sup>

Algunos autores piensan que la acción antihelmíntica de los bencimidazoles es debida principalmente al efecto que tienen sobre la función de los microtúbulos por unión directa de la molécula de bencimidazol a los monómeros de tubulina; esta alteración del equilibrio

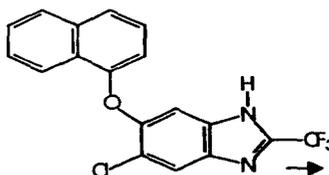
microtúbulos-tubulina es visto como el inicio de una cascada de cambios fisiológicos y/o bioquímicos (incluyendo efectos inhibitorios en la incorporación de la glucosa y el sistema mitocondrial fumarato reductasa) que llevan a una pérdida de la homeostasis celular y por tanto a la muerte del parásito.

### 2.2.2 Bases para el diseño del análogo del Triclabendazol.

Considerando que el Triclabendazol se transforma a su sulfóxido una vez que se absorbe, se podría considerar que la especie activa es el sulfóxido de Triclabendazol.<sup>31,32</sup> Analizando la estructura de este metabolito vemos que la posición 2 está deficiente de carga por el efecto electroatrayente del grupo metilsulfenil en esa posición. Este razonamiento permite suponer que si se coloca otro grupo electroatrayente en esta posición, como el CF<sub>3</sub> en el compuesto 7, se podría tener un compuesto análogo, posiblemente con una alta actividad fasciolicida, ya que no tiene que biotransformarse para generar la especie activa.

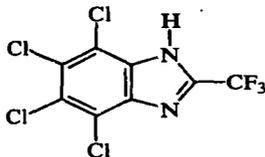


Sulfóxido de Triclabendazol



Compuesto 7

Un aspecto interesante sobre el grupo CF<sub>3</sub> es su potencial farmacofórico, ya que el 4, 5, 6, 7-Tetracloro-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol mostró actividad contra los nematodos *Ancylostoma caninum*, *Haemonchus contortus* y *Ascaris suum*, y el trematodo *Fasciola hepatica*, en bovinos, perros y ratas.<sup>51</sup>

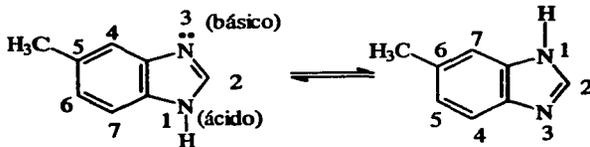


4, 5, 6, 7-Tetracloro-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol

### 2.2.3 Generalidades sobre benzimidazoles.

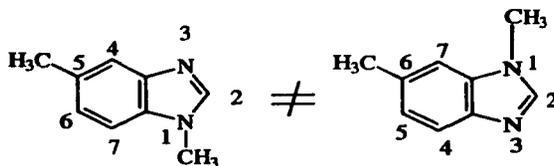
El benzimidazol es un sistema anular bicíclico en el cual el benceno se encuentra fusionado a la posición 4 y 5 del imidazol. Los derivados benzimidazólicos son compuestos cristalinos, con puntos de fusión relativamente altos y muy insolubles en agua.

Los compuestos no sustituidos en cualquiera de los nitrógenos del imidazol poseen características ácidas y básicas.<sup>52</sup>



5 (6)-Metilbenzimidazol

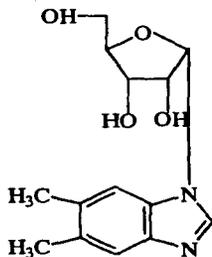
La numeración sistemática del anillo de benzimidazol empieza en el nitrógeno que tiene el hidrógeno. Debido al rápido intercambio del protón entre los átomos de nitrógeno  $\text{-NH-}$  y  $\text{=N-}$  se puede tener dos tautómeros para la molécula del benzimidazol. Cuando el anillo tiene un sustituyente en un nitrógeno, éste tiene la numeración 1 y ya no es posible la tautomería, por lo que se puede tener un par de isómeros.<sup>52</sup>



1,5-Dimetilbenzimidazol

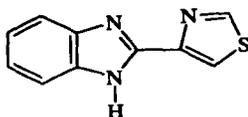
1,6-Dimetilbenzimidazol

El interés por el sistema anular del benzimidazol, como núcleo para desarrollar agentes terapéuticos potenciales, se estableció en los años 50's cuando se encontró que el 5,6-Dimetil-1-(alfa-D-ribofuranosil)benzimidazol (DMRB) era parte integral de la vitamina B<sub>12</sub>.<sup>52</sup>



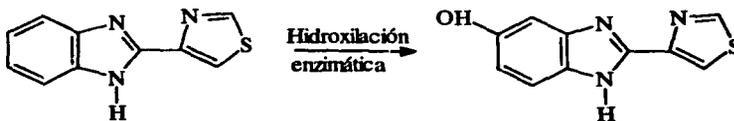
DMRB

Este descubrimiento llevó a Brown et al., a la síntesis del Tiabendazol en el año de 1961.<sup>53</sup>



Tiabendazol

El Tiabendazol resultó ser un antihelmíntico de amplio espectro contra parásitos gastrointestinales. Sin embargo, posteriormente se encontró que el Tiabendazol sufre de hidroxilación enzimática en la posición 5 y forma el 5-Hidroxitiabendazol lo que inactiva a la molécula y por consiguiente limita su efectividad.<sup>54</sup>



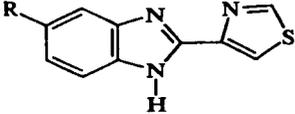
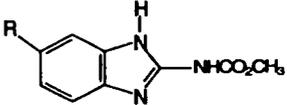
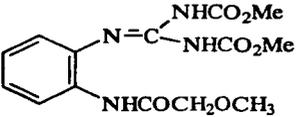
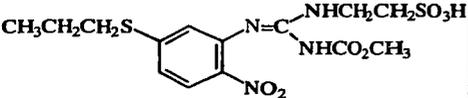
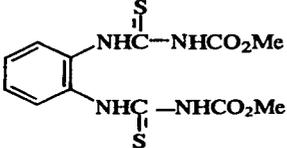
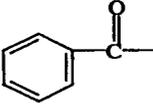
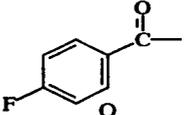
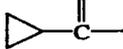
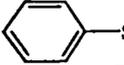
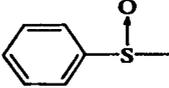
Tiabendazol

5-Hidroxitiabendazol

El descubrimiento del Tiabendazol como antihelmíntico de amplio espectro marcó el inicio de una nueva era en el tratamiento de las enfermedades parasitarias. Tomando como guía a la

molécula del Tiabendazol y al hecho de que se hidroxila metabólicamente en la posición 5, surgieron cientos de bencimidazoles sustituidos en las posiciones 2 y 5, de las cuales menos de veinte han llegado al mercado.<sup>52</sup> También se han preparado profármacos bencimidazólicos y, recientemente, el Triclabendazol. Un resumen de las estructuras de los bencimidazoles más importantes se muestra en el siguiente cuadro.

**Cuadro No. 1. Estructura química de algunos bencimidazoles antihelminticos.**

BENCIMIDAZOLES	BENCIMIDAZOL CARBAMATOS
 <p>R=H Tiabendazol R=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHOCONH- Cambendazol</p>	 <p>R</p>
<p><b>PROFARMACOS</b></p>  <p>Febantel.</p>  <p>Netobimina</p>  <p>Metiltiofenato.</p>	 <p>Mebendazol</p>  <p>Flubendazol</p>  <p>Ciclobendazol</p> <p>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S— Albendazol</p> <p>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O— Oxibendazol</p>  <p>Fenbendazol</p>  <p>Oxfendazol</p> <p>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>— Parbendazol</p>

## 2.2.4 Síntesis de bencimidazoles.

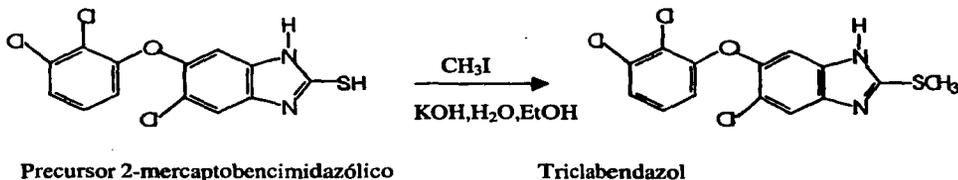
La síntesis de los bencimidazoles se encuentra ampliamente reportada en artículos de revisión.<sup>52,55-57</sup> El camino sintético que lleva a los diversos bencimidazoles generalmente procede a través de dos pasos. Primeramente, se construye un anillo de benceno con los sustituyentes deseados y una agrupación 1,2-diamina, en seguida se lleva a cabo la ciclación del derivado 1,2-diamino bencénico (*o*-fenilendiamina) para construir el anillo del imidazol. En la mayoría de los casos, la ciclación es el paso final en la síntesis del bencimidazol deseado. Sin embargo, en otros casos se obtienen derivados del anillo bencimidazólico formado, o bien, de sus sustituyentes. De interés para el presente trabajo de tesis es la síntesis del Triclabendazol y de los 2-(trifluorometil)bencimidazoles.

### 2.2.4.1 Síntesis del Triclabendazol.

Existen dos métodos reportados para la síntesis del triclabendazol. El primero de ellos se describe en la patente de Gallay y colaboradores.<sup>30</sup> El segundo método es el descrito por Iddon et al en el año de 1992.<sup>58</sup> A continuación se describe cada uno de estos procedimientos.

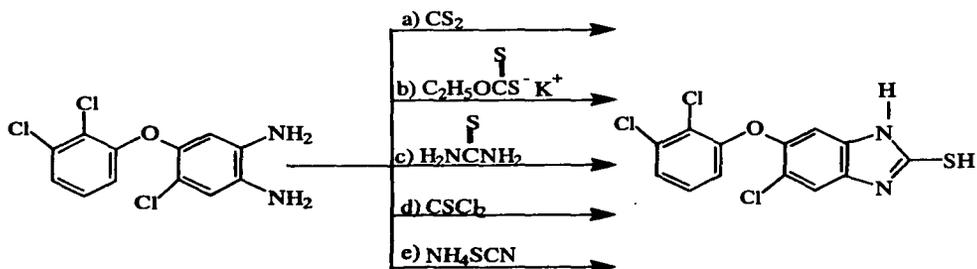
#### 2.2.4.1.1 Síntesis del Triclabendazol según el método patentado por Gallay et al.<sup>30</sup>

Aunque la patente no incluye el método de preparación, ni las constantes físicas del Triclabendazol, el método es general para la síntesis de este tipo de compuestos. Esencialmente, sólo trata de la metilación de los 2-mercaptobencimidazoles y la oxidación de éstos a sulfóxidos y sulfonas. La reacción para la obtención del Triclabendazol se presenta a continuación.



Esquema 1. Síntesis del Triclabendazol según Gallay et al.<sup>30</sup>

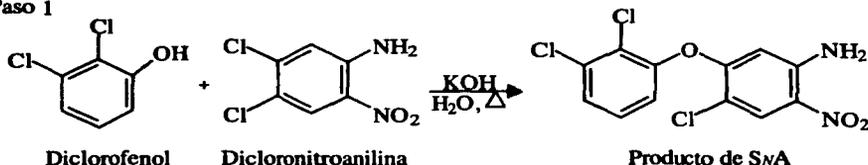
Para la síntesis del precursor 2-mercaptobencimidazólico, estos autores se basan en los siguientes procedimientos, reportados en la literatura.<sup>59-63</sup>



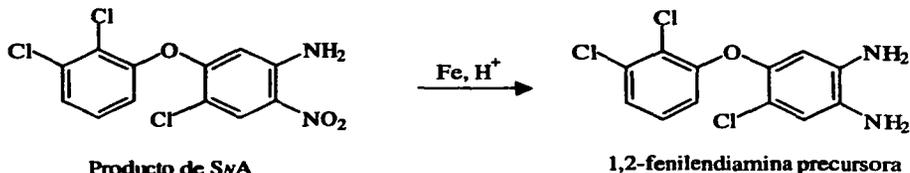
**Esquema 2.** Procedimientos conocidos para la síntesis de 2-mercaptobenzimidazoles.

La síntesis de la *o*-fenilendiamina precursora del triclabendazol se basa también en un proceso patentado en el cual tampoco se ejemplifica la técnica, ni se reportan las constantes.<sup>64</sup> El procedimiento se interpreta como la serie de reacciones que se muestra en el **Esquema 3**.

Paso 1



Paso 2

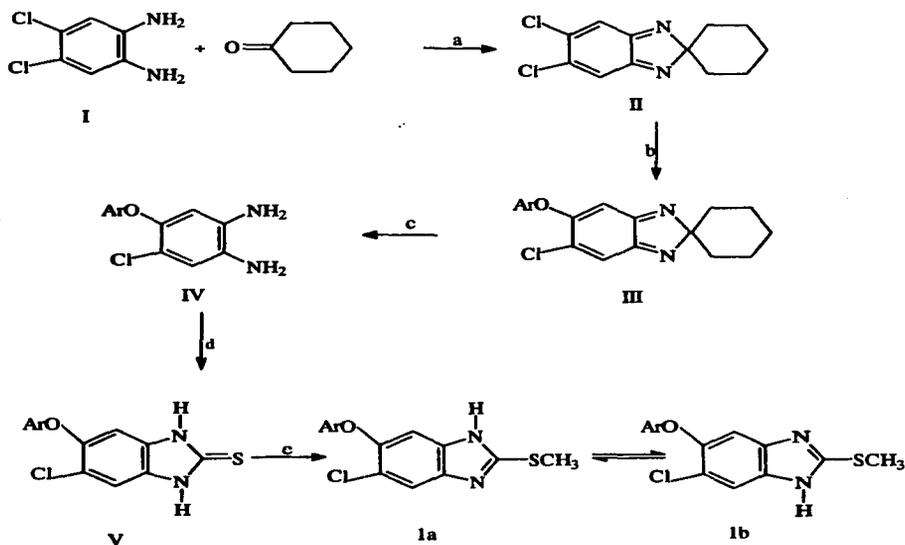


**Esquema 3.** Síntesis de la *o*-fenilendiamina precursora del Triclabendazol, según la patente suiza.

En el paso 1 se lleva a cabo una reacción de sustitución nucleofílica aromática entre el 2,3-diclorofenol y la 4,5-dicloro-2-nitroanilina. Esta reacción se realiza fundiendo el fenol y a éste se le incorpora la cloronitroanilina, después se adiciona una solución concentrada de potasa en agua y se calienta hasta destilar el agua. El proceso dura un día y se reporta alrededor de un 70% de rendimiento. En el paso 2 se lleva a cabo la reducción del grupo nitro. Para esto, el nitro compuesto se incorpora poco a poco a una mezcla caliente de polvo de hierro, agua y ácido acético, después se lleva al reflujo y mantiene así por 18 horas. Este proceso también es largo. El rendimiento de producto puro es de 75.5%.

#### 2.2.4.1.2 Síntesis del Triclabendazol según el método de Iddon et al.<sup>58</sup>

Este método novedoso de síntesis del Triclabendazol se basa en la serie de reacciones que se muestra en el Esquema 4 de reacción.



(a) MnO<sub>2</sub>, calor; (b) 2,3-Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O Na; (c) Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; (d) CS<sub>2</sub>; (e) MeI, Me<sub>2</sub>CO, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**Esquema 4.** Síntesis de Triclabendazol, según Iddon et al.<sup>58</sup>

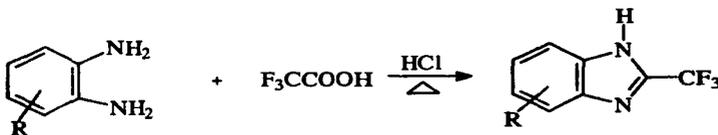
El dicloro-2*H*-bencimidazol (II) se obtuvo con buenos rendimientos a partir de la 4,5-dicloro-*o*-fenilendiamina (I) y ciclohexanona, seguido de oxidación con MnO<sub>2</sub>. El tratamiento de II con 1.5 equivalentes del 2,3-diclorofenol en medio básico metanólico llevó al producto de sustitución nucleofílica III con un 62% de rendimiento. Junto con el producto de monosustitución se obtuvo un 29% del producto de disustitución y otros subproductos. Luego se llevó a cabo la apertura reductiva del anillo con ditionita de sodio en etanol acuoso para dar la *o*-fenilendiamina IV en un 85% de rendimiento. El tratamiento de ésta con CS<sub>2</sub> en DMF llevó a la tiona V en un 90%, la cual por metilación con yoduro de metilo en acetona, en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dio una mezcla de tres productos. Los productos minoritarios correspondieron a los isómeros 1-metilados del Triclabendazol (16%); el producto principal fue el Triclabendazol (65%). Cuando la metilación se hizo en etanol acuoso, en presencia de hidróxido de sodio, el producto fue el Triclabendazol (92%), sin sus isómeros.

#### 2.2.4.2 Síntesis de 2-(trifluorometil)bencimidazoles.

Existen diversos métodos para la síntesis de los 2-(trifluorometil)bencimidazoles. Entre los más comunes se encuentran los siguientes:

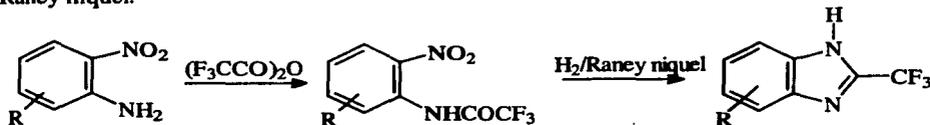
##### 2.2.4.2.1 Por reacción de Phillips.

La reacción de Phillips es un método general para la síntesis de 2-alkil o 2-aril bencimidazoles.<sup>65</sup> En este procedimiento se lleva a reflujo una mezcla de la *o*-fenilendiamina con un exceso del ácido carboxílico en presencia de HCl 4*N*. Por neutralización se obtiene el derivado bencimidazólico sustituido en la posición 2. Aplicando este método se han preparado diversos bencimidazoles: 2-(trifluorometil),<sup>66</sup> 2,4-bis(trifluorometil),<sup>67</sup> 5-nitro-2-(trifluorometil),<sup>67</sup> 5-cloro-2-(trifluorometil).<sup>67</sup>



#### 2.2.4.2.2 Por hidrogenación catalítica de 2-nitro(trifluorometil)acetanilidas.

En este procedimiento, primeramente se trata la 2-Nitroanilina con anhídrido trifluoroacético, y la 2-Nitro(trifluorometil)acetanilida formada se reduce con  $H_2$  en presencia de Raney níquel.<sup>67</sup>



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Planteamiento del problema.

Considerando la importancia de la helmintiasis en animales y humanos, y a la necesidad de contar con nuevos agentes antihelmínticos, los grupos de investigación del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ambas de la UNAM, se han unido y han estructurado un proyecto amplio de investigación denominado "SINTESIS Y EVALUACION ANTIHELMINTICA DE NUEVOS BENCIMIDAZOLES". El propósito amplio de este proyecto es contar con información básica sobre los requerimientos estructurales de los compuestos farmacológicos con la actividad antihelmíntica. Se pretende mejorar la biodisponibilidad y la eficacia de los bencimidazoles, y contribuir de este modo a la obtención de compuestos activos, fáciles de preparar en nuestro país y económicos; para su uso en terapia veterinaria y humana. Parte de los resultados logrados ya han sido publicados.<sup>68</sup> En esta tesis se contribuye al proyecto anterior a través de la síntesis de un análogo del Triclabendazol, el compuesto 7.

## **3.2 Objetivos.**

1. Síntesis del 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (**7**), para someterlo posteriormente a pruebas de actividad antihelmínticas.
2. Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas de **7** y sus intermediarios de síntesis.
3. Mediante la realización de este trabajo experimental, adquirir conocimientos y experiencia en la obtención de nuevas moléculas de interés farmacéutico.

## **3.3 Hipótesis**

Se puede lograr la síntesis del compuesto **7**, así como la de sus intermediarios, adaptando procesos químicos conocidos para la síntesis de compuestos semejantes.

Dada la similitud estructural y electrónica del compuesto **7**, éste se comportará como un bioisómero del Triclabendazol cuando se determine la actividad biológica contra *Trichinella spiralis*.

# **4. PARTE EXPERIMENTAL**

## **4.1 Instrumentación**

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Büchi Modelo 530 y no están corregidos.

Para concentrar las soluciones se empleó un evaporador rotatorio marca Büchi Modelo RE111, con vacío generado por una bomba Felisa 1600 ajustada a 55 cm de Hg y condensador de hielo seco.

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer de transformadas de Fourier Modelo FT-IR-1600, en pastilla de bromuro de potasio; las señales se reportan en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de masas se determinaron por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC:MS) o por introducción directa de la muestra en un aparato marca JEOL-JMS-AX505-HA. La simbología utilizada es  $M^+$  = ion molecular y Pb = pico base.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN  $^1\text{H}$ ) se determinaron en un espectrofotómetro Varian Modelo EM-390, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y deuterocloroformo ( $\text{CDCl}_3$ ) o dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-D}_6$ ) como disolventes. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en ppm. Los símbolos de las señales son: s = simple, d = doble, t = triple, dd = doble de doble y m = multiple.

## 4.2 Cromatografía

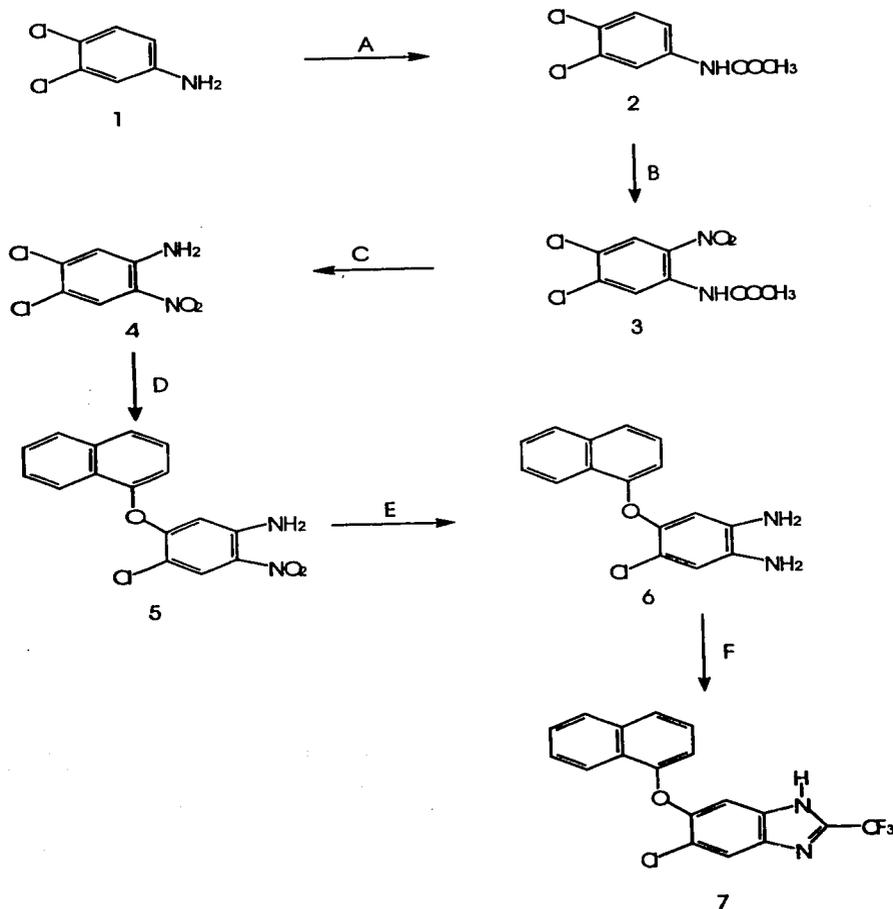
Para la cromatografía en capa fina (ccf) se usaron placas de vidrio recubiertas con gel de sílice GF 254 de la casa Merck. Los compuestos orgánicos se visualizaron con luz ultravioleta y por exposición a vapores de yodo.

Sistemas de elución.

La composición de los sistemas de elución fueron las siguientes:

SISTEMA	COMPOSICION	PROPORCION
I	Hexano- $\text{CHCl}_3$ -AcOEt	50/35/15
II	Cloroformo-Metanol*	90/10
III	Cloroformo-Metanol*	98/2
IV	Cloroformo-Metanol*	80/20

\*8 mL de la mezcla +2 gotas de hidróxido de amonio.



(A)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; (B)  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; (C)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , calor; (D)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\alpha$ -naftol, DMF, calor; (E)  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , etanol, calor; (F) Ácido trifluoroacético, diglima, calor.

**Esquema 5.** Secuencia sintética para la obtención del 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (7).

### 4.3. Material y Métodos.

#### 4.3.1 Parte química.

Para obtener el 5-Cloro-6-(naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (7) se siguió la secuencia sintética que se muestra en el Esquema 5. Se partió de la 3,4-Dicloroanilina comercial (1, Aldrich), la cual se acetiló con anhídrido acético en ácido acético y se obtuvo la 3,4-Dicloroacetanilida (2). Esta se trató con mezcla sulfonítrica en frío para dar la 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3). La hidrólisis de 3 en ácido acético y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. caliente permitió la obtención de la 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4). El siguiente paso fue una reacción de sustitución nucleofílica aromática entre 4 y  $\alpha$ -naftol en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y DMF en caliente.

El compuesto obtenido, la 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5), se sometió a una reducción del grupo nitro con SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O en etanol absoluto caliente y dio la 4-Cloro-5-(naftiloxi)-*o*-fenilendiamina (6). Por último, el tratamiento de 6 con ácido trifluoroacético y diglima en caliente llevó a la obtención del compuesto esperado, el 5-Cloro-6-(naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (7). Cada uno de los compuestos obtenidos se purificó para determinar sus constantes físicas. En el caso de los compuestos conocidos (2-4), sólo se reportan los puntos de fusión. Los compuestos no descritos anteriormente (5-7) se identificaron por sus datos espectroscópicos y espectrométricos; los cuales fueron concordantes con las estructuras esperadas. En la Tabla 1 se muestran los datos de constantes físicas y rendimientos obtenidos de todos los compuestos, y en la Tabla 2, los datos espectroscópicos y espectrométricos.

#### 4.3.2 Parte biológica.

Para la evaluación biológica se eligió el parásito *Trichinella spiralis* como modelo de helminto, debido a que en éste se puede evaluar tanto la fase intestinal como la parenteral. Las larvas musculares se obtuvieron siguiendo lo recomendado por Dennis y cols.,<sup>69</sup> y posteriormente mediante un ensayo *in vitro*, se evaluó la viabilidad de los organismos a diferentes

concentraciones del fármaco por un método colorimétrico basado en la reducción de la sal de tetrazolio MTT a formazán de acuerdo a lo descrito por Townson y cols.,<sup>70</sup> con algunas modificaciones.<sup>71</sup>

A continuación se describe cada uno de los pasos seguidos para preparar el compuesto 7.

**3,4-Dicloroacetanilida (2).** En un vaso de precipitados de 4 L, acondicionado con termómetro y varilla de agitación, se colocaron 996.3 g (6.149 mol) de 3,4-Dicloroanilina (1) y 700 mL de ácido acético. La mezcla anterior se enfrió por medio de un baño de hielo-agua y agitó con la varilla mientras se incorporaron 700 mL (7.41 mol) de anhídrido acético. La adición se realizó lentamente, de tal manera que la temperatura de la reacción no pasara de 70°C. Al final de la adición se formó una masa de color violáceo, se retiró del baño de hielo, se agitó hasta homogenización de la mezcla y se dejó en reposo 30 minutos. Después de comprobar la total conversión de la materia prima por ccf, se adicionaron 3 L de agua fría, se agitó bien y se filtró con succión. El sólido café se trituró en un mortero, se suspendió en 3 L agua y volvió a filtrarse, lavando repetidas veces con agua hasta pH neutro. El residuo bien drenado se secó al aire, obteniéndose 1237.30 g (98.61 %) de 2 como un sólido blanco. Este sólido mostró ser un solo compuesto por ccf, Rf 0.31 (Sistema I) y como tal se empleó en la siguiente reacción de nitración. Una muestra se recrystalizó de etanol dando cristales blancos con pf 122.0-123.0 °C (Lit.<sup>41</sup>120.5°C).

**4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3).** En un vaso de precipitados de 4 L, acondicionado con termómetro, agitación magnética y enfriamiento de baño hielo-sal, se disolvieron 972.3 g (4.765 mol) de 3,4-Dicloroacetanilida (2) pulverizada, en 2 L de ácido sulfúrico concentrado. La incorporación de 2 se hizo poco a poco, a 10-15°C, con agitación suave. Después agregó, gota a gota, 400 mL de mezcla sulfonítrica (1:1) fría, manteniendo la temperatura a 10°C por espacio de 4 horas. Terminada la adición se retiró el baño de hielo y agitó por 15 minutos más. Se comprobó el consumo total de la materia prima por ccf y la mezcla se vertió cuidadosamente sobre 15 Kg de hielo-agua. El sólido formado se separó por filtración, se lavó con agua repetidas veces hasta un pH = 4, luego se suspendió en 10 L de agua y neutralizó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sólido. Se filtró y lavó con agua. El residuo se suspendió en 2 L de metanol y agitó en frío durante 30 min. Se filtró con succión y lavó con metanol frío. El sólido amarillo residual, 958.6 g (80.77 %) mostró por ccf un compuesto principal con Rf 0.65 (sistema I). Una muestra se recrystalizó de metanol-agua y dio cristales amarillo-pálido del compuesto 3 con pf 123-124°C (Lit.<sup>42</sup> 123-124°C).

**4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4).** En un matraz bola de 5 L con tres bocas, acondicionado con agitación mecánica y termómetro, se colocaron 23 mL de ácido sulfúrico concentrado, 1.5 L de ácido acético y agitaron suavemente mientras se incorporaron 761.90 g ( 3.059 mol ) de la 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3) obtenida con anterioridad. La mezcla se calentó a 80-90°C durante 30 min, comprobándose por ccf la hidrólisis total de la materia prima. Se dejó enfriar y vertió sobre 600 mL de agua caliente, se filtró con succión y el residuo se lavó con un litro de ácido acético: agua (1:1). El sólido anaranjado formado se separó por filtración al vacío y dejó secar al aire. Se obtuvieron 463.7 g ( 73.22 % ) de un polvo anaranjado, una mancha por ccf con Rf 0.42 (Sistema I). Una parte de este sólido se recristalizó de ácido acético-agua, obteniéndose cristales rojizo-anaranjado de 4 con p.f. 174-176°C (Lit.<sup>43</sup> 177-179°C).

**4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5).** En un matraz de fondo redondo de 5 L con tres bocas, acondicionado con agitación magnética, termómetro y un condensador de aire con un globo con N<sub>2</sub> en el extremo y en posición de reflujo, se colocaron 374.7 g (1.810 mol) de 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4), 260.94 g (1.809 mol) de  $\alpha$ -naftol, 300.17 g (2.171 mol) de carbonato de potasio y 1850 mL de dimetilformamida. La mezcla se calentó por medio de un baño de aceite hasta llegar a 115°C y mantuvo así durante 5 h. Posteriormente, se adicionaron 50 g de carbón activado y agitó otra hora más. Se filtró por succión y el residuo de sales inorgánicas se lavó primero con 500 mL de dimetilformamida y después con 250 mL de metanol frío. El filtrado se vertió sobre 10 L de hielo-agua y se formó un sólido resinoso. Se decantó el sobrenadante y volvió a lavar con agua hasta que se formó un sólido color café. El sólido resultante pesó 385.6 g (67.71 %) y presentó una sola mancha en ccf con Rf 0.59 en el Sistema I. Una muestra de 5g se recristalizó de benceno-etanol, obteniéndose 3.5 g de 5 como cristales anaranjados con pf 149-150°C.

**4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-*o*-fenilendiamina (6).** En un matraz de 125 mL con 3 bocas, provisto con agitación magnética, termómetro y condensador de agua en posición de reflujo, se mezclaron 20 g (0.063 mol) de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina, 82.29g (0.378 mol, 6 eq) de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O y 40 mL de etanol absoluto. Se calentó a reflujo suave (72-74°C) durante 2 horas bajo atmósfera de Nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó en reposo toda la noche, concentró en el rotaevaporador y diluyó con agua hasta precipitación total. El sólido separado se trató con

NaOH y lavó con agua. Se obtuvieron 13.6 g (78.85 %) de un sólido café claro, mostrando una sola mancha por ccf con un Rf 0.22 (Sistema II). Una muestra de 1 g se recrystalizó de etanol obteniéndose 0.6 g de cristales amarillos, con p.f. 101-102°C.

**5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7).** En un matraz bola de 100 ml, provisto con agitación magnética y condensador de agua en posición de reflujo, se disolvieron 5 g ( 0.017 mol) de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-o-fenilendiamina (6) en 10 mL de diglima, se adicionó 1.4 mL ( 0.019 mol) de ácido trifluoroacético y se calentó a 110°C durante dos horas. La reacción se dejó enfriar y neutralizó con solución de bicarbonato de sodio. Se obtuvo un producto semisólido de color café y consistencia viscosa el cual se disolvió en 50 mL de metanol, luego se calentó a reflujo suave por 2 horas adicionando carbón activado. Después se filtró y concentró a sequedad. Este proceso se repitió 2 veces. Se obtuvo un semisólido blanco de consistencia viscosa el cual se disolvió en caliente en 100 mL de Ciclohexano, a reflujo, en atmósfera de Nitrógeno, durante 2 horas. Al término del calentamiento se dejó enfriar y el sólido formado se separó por filtración con succión lavando con ciclohexano frío. Se obtuvieron 4.2 g (41.37 %) de unos cristales blancos mostrando una sola mancha por ccf con Rf 0.40 (Sistema II) y con pf de 102-103 °C

Para la parte biológica se siguieron los siguientes pasos.

**Obtención del parásito *Trichinella spiralis*.** Se empleó una cepa de *T. spiralis* que fue aislada de cerdo por el Dr. Martínez-Marañón del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas (INDRE). Con el objeto de mantener el ciclo de vida de este parásito, ratas de la cepa Sprague-Dawley de 2 a 3 meses de edad fueron infectadas con 3000 larvas musculares resuspendidas en Bacto agar al 0.02%. La infección se realizó por vía intragástrica con cánula y jeringa.

**Obtención de las larvas musculares de *T. spiralis*.** Ratas de la cepa Sprague-Dawley se infectaron con 3000 larvas musculares de *T. spiralis*. A los 28 días postinfección, los animales fueron sacrificados y el músculo esquelético fue macerado y digerido artificialmente con una solución de pepsina-HCl al 1% durante 3 horas a 37°C con agitación constante. Posteriormente,

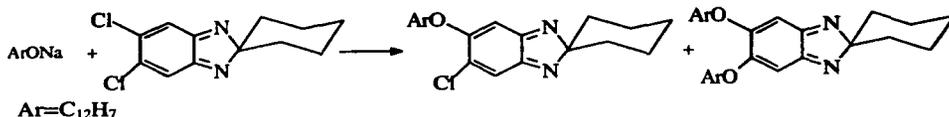
la solución se pasó por un tamiz, dejando que las larvas se sedimentaran por 15 minutos. Las larvas así obtenidas se lavaron con PBS hasta que no quedaran restos de carne y se incubaron por 12 horas a 37°C con medio RPMI 1640 al cual se le adicionaron 500 U/ml de penicilina, 500 µg/ml de estreptomicina y 1.25 µg/ml de amfoterecina B. Una vez realizado lo anterior, las larvas se lavaron con PBS y se resuspendieron en Bacto agar para contar el número de larvas.

**Ensayo *in vitro* (MTT/PMS) para evaluar el efecto del 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7) sobre la larva muscular de *T. spiralis*.** Las larvas musculares de *T. spiralis* se obtuvieron de acuerdo a lo descrito anteriormente y se colocaron 1000 larvas por pozo en cajas de cultivo de 24 pozos (Nunclon) en medio RPMI 1640 conteniendo el compuesto **7** a una concentración de 1.5, 1.0 y 10 µg/ml. Los parásitos se incubaron por 3 días a 37°C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%, con cambio diario de medio más compuesto **7**. Como control positivo se incluyeron parásitos en presencia de albendazol y como control negativo se incluyeron larvas musculares sin tratamiento. Después de la incubación se determinó la viabilidad de las larvas musculares mediante el método de MTT/PMS descrito previamente.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 Selección de la ruta de síntesis.

Para la síntesis del compuesto 7 se tenían dos rutas de síntesis. La primera, basada en la síntesis patentada por Gallay et al del Triclabendazol,<sup>30,64</sup> llevaría hasta el compuesto 6 (Esquemas 2 y 3) el cual, por tratamiento con  $\text{CF}_3\text{COOH}$  daría el compuesto esperado 7. La otra ruta posible, la de Iddon et al,<sup>58</sup> también llevaría al compuesto 6 por otro camino (Esquema 4). Se decidió por la primera opción, ya que la segunda es de mayor número de pasos y tiene como desventaja la doble sustitución nucleofílica.



Aunque la 4,5-dicloro-2-nitroanilina (4) está disponible comercialmente (Aldrich), su precio es elevado. Esta sustancia (4) es materia prima para la síntesis de otros derivados que forman parte de este proyecto amplio de investigación, y se requieren grandes cantidades, por lo que resulta más económico prepararla en el laboratorio. Por otro lado, al preparar este compuesto se gana experiencia en el trabajo de laboratorio, lo cual es parte de los objetivos perseguidos en esta tesis.

### 5.2 Síntesis de 3,4-Dicloroacetanilida (2).

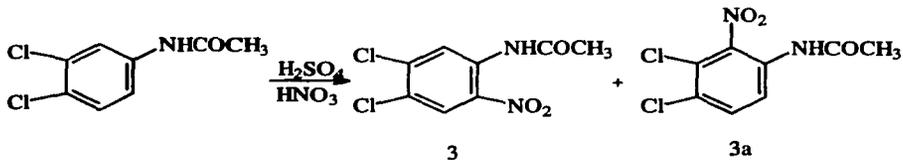
Se partió de la 3,4-dicloroanilina comercial (1), la cual se pulverizó y suspendió en ácido acético para homogeneizar el medio de reacción, luego se adicionó un exceso de anhídrido acético. La experiencia que se tiene en el grupo de trabajo sobre la acetilación de anilinas, de manera económica, simple y rápida, es la siguiente: a) si la anilina tiene grupos nitro, ésta se trata con 1.2 a 1.5 equivalentes de anhídrido acético, se agita a temperatura ambiente, y a la suspensión se le adicionan unas gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. Enseguida se inicia la reacción con un

ligero aumento de la temperatura, se forma una solución y al enfriar cristaliza la acetanilida; b) Si la anilina es sólida o líquida y tiene grupos cloro, la reacción de acetilación es instantánea, no requiere  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc. como catalizador. En estos casos la reacción es más exotérmica que la anterior; para controlar la reacción, la anilina se dispersa en ácido acético y se enfría externamente con baño de hielo-agua. En ambos casos, al final de la reacción, casi instantánea, se emplea agua para precipitar el producto y lavarlo.

En esta primera reacción se obtuvo la 3,4-Dicloroacetanilida (2) con rendimiento prácticamente cuantitativo (98.6%) y una sola mancha por ccf. Para su identificación, una muestra se recrystalizó de etanol y dio cristales blancos con p.f. de  $122\text{-}123^\circ\text{C}$ , semejante al reportado.<sup>72</sup>

### 5.3 Síntesis de 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3).

Para la nitración de 3,4-Dicloroacetanilida (2), ésta se pulverizó previamente e incorporó a  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado en frío. Después, la solución formada se trató con mezcla sulfonítrica en frío y esto llevó a dos productos de nitración: el producto esperado 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3) y en menor cantidad, el isómero 3,4-dicloro-2-nitroacetanilida (3a).



Para la separación de 3, la mezcla cruda lavada con agua y neutralizada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  hasta pH neutro, se suspendió en metanol frío y agitó durante 30 minutos, luego se filtró con succión. De esta forma se obtuvo un 80.77% de un polvo amarillo de alta pureza. Una muestra recrystalizada de metanol-agua dio cristales con p.f. de  $123\text{-}124^\circ\text{C}$ , semejante al reportado.<sup>73</sup>

### 5.4 Síntesis de 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4).

La hidrólisis de la 4,5-Dicloro-2-nitroacetanilida (3) se realizó con ácido acético y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en caliente. Este método llevó a un 73.22% de producto crudo, la 4,5-Dicloro-2-nitroanilina (4), con la suficiente pureza para utilizarla en la siguiente reacción. Una muestra recristalizada de ácido acético-agua dio cristales rojizo-anaranjado con p.f. de 174-176°C semejante al reportado.<sup>74-75</sup>

### 5.5 Síntesis de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5).

Para la reacción de sustitución nucleofílica aromática se adaptó el método de Averkin et al. para la síntesis del Fenbendazol.<sup>76</sup> En este método se emplea K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y DMF como base y disolvente respectivamente, para tener un mejor control de la reacción. El tiempo de reacción se reduce considerablemente a unas pocas horas a 100-115°C y el producto de reacción, la 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5) se purifica con facilidad. El crudo de la reacción recristalizado de benceno-etanol dio cristales anaranjados puros. La identificación de este compuesto se basó en los datos espectroscópicos y espectrométricos obtenidos. En el espectro de IR (No.1) se aprecia dos bandas de amina primaria a 3462 y 3338 cm<sup>-1</sup>; además, también se ve la banda del enlace C-O-C a 1232 cm<sup>-1</sup> y la banda debida al enlace de NO<sub>2</sub> a 1560 cm<sup>-1</sup>. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (No. 2) aparecen dos señales simples que integran para un hidrógeno cada una a 8.18 por el hidrógeno en C3 y a 6.26 por el hidrógeno en C6. Adicionalmente, los hidrógenos en C2' y C4' dan las señales esperadas como doble doble, doble doble a 7.36 y 7.91 respectivamente, se aprecia una señal simple a 7.47 que corresponde al NH<sub>2</sub>, ya que intercambia hidrógeno con D<sub>2</sub>O. Se observan los hidrógenos de los carbonos C5' y C8' que dan señales doble doble, doble doble a 7.83 y 8.04 respectivamente, por último, los hidrógenos en C3', C6' y C7' dan señales para un multiplete a 7.55 - 7.62. El espectro de masas (No. 3) muestra un M<sup>+</sup> de m/z igual a 314 (100%) que corresponde a la masa exacta calculada del compuesto 5; se aprecia el pico debido a la pérdida del cloro (M<sup>+</sup>-35) con m/z 279 (75%) y por último se observa un pico debido a la pérdida del cloro (M<sup>+</sup>-35) y el grupo nitro (M<sup>+</sup>-46) m/z 233 (85%).

### 5.6 Síntesis de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-o-fenilendiamina (6).

Para reducir el grupo nitro  $\text{NO}_2$  en el compuesto 5 se seleccionó la reacción con  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en etanol caliente como medio de reacción. El método es limpio, rápido y fácil de trabajar. El compuesto 6, obtenido con buen rendimiento (78.85%), mostró una pureza alta por cromatografía en capa fina, de tal manera que crudo se utilizó para la siguiente reacción. Una muestra recristalizada de etanol dio cristales puros que se emplearon para la determinación de los espectros y su identificación. En el espectro de IR (No. 4) se aprecia las bandas de amina primaria a  $3461$  y  $3345 \text{ cm}^{-1}$  y se conserva la banda de enlace C-O-C a  $1227 \text{ cm}^{-1}$ . En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (No. 5) se tiene el mismo patrón de señales del espectro anterior (No. 2); esto es, los dos hidrógenos en C6 y C3 aparecen como dos señales simples a  $6.50$  y  $7.35 \text{ ppm}$ , ambas desplazadas por la reducción del grupo  $\text{NO}_2$ . Los hidrógenos en C2', C3' y C4' dan señales doble doble, triple y doble doble a  $6.92$ ,  $7.47$  y  $7.73 \text{ ppm}$  respectivamente, también se aprecia la señal del  $\text{NH}_2$  a  $3.80 \text{ ppm}$  que intercambia hidrógenos con  $\text{D}_2\text{O}$ . Se observan los hidrógenos de los carbonos C5' y C8' que aparecen como un multiplete que integra para dos hidrógenos a  $7.95 - 8.02$  y por último, los hidrógenos en C6' y C7' dan señales para un multiplete a  $7.52 - 7.61$ . El espectro de masas (No. 6) da un pico base de  $\text{M}^+$   $m/z$  284 (100%) coincidente con la masa exacta calculada para el compuesto 6; se aprecia un pico relevante a  $m/z$  248 (90%) correspondiente a la pérdida del cloro ( $\text{M}^+ - 35$ ), adicionalmente se observa un pico debido a la pérdida del cloro ( $\text{M}^+ - 35$ ) con la pérdida de un grupo amino ( $\text{M}^+ - 16$ ) con  $m/z$  232 (63%).

### 5.7 Síntesis de 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7).

El último paso de la secuencia sintética fue la síntesis del compuesto 7. De las diversas opciones para sintetizar el 2-(trifluorometil)bencimidazol se probó el tratamiento de 6 con ácido trifluoroacético en diglima como disolvente y se calentó. Se logró obtener el compuesto deseado con muchas impurezas por lo que se realizaron varias pruebas para poder optimizar el proceso de purificación quedando al final decolorar el producto con carbón activado dos veces y calentarlo a reflujo en ciclohexano. Al final de este tratamiento se obtuvieron unos cristales de color blanco con alta pureza. La identificación se logró por los datos de los espectros. En el espectro de IR (No. 7) se aprecia una sola banda para el NH a  $2924 \text{ cm}^{-1}$ ; también la banda del C-O-C a  $1191$  y una banda  $1151$  correspondiente al enlace C-F. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (No. 8) se aprecian las señales de los dos hidrógenos del anillo bencenoide a  $7.26$  y  $7.53 \text{ ppm}$  para C7 y C4

respectivamente, también se observa la señal del NH<sub>2</sub> a 7.93 ppm que intercambia hidrógenos con D<sub>2</sub>O. Se aprecia el patrón de multiplicidades doble, triple y doble para los hidrógenos en C2', C3' y C4', los cuales aparecen a 6.85, 7.37 y 7.65 respectivamente, adicionalmente el patrón de multiplicidades doble para los hidrogenos en C5' y C8' los cuales aparecen a 7.88 y 8.20 respectivamente y un multiplete a 7.48 – 7.56 corespondiente a los hidrógenos en C6' y C7'. El espectro de masas (No. 9) confirma la estructura del compuesto ya que presenta el M<sup>+</sup> (m/z) de 362 (100%) que es la masa exacta calculada para el compuesto 7, se aprecia el pico que resulta de la pérdida de un cloro (M<sup>+</sup>-35) con m/z 327 (93%).

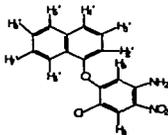
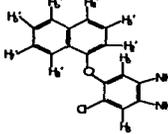
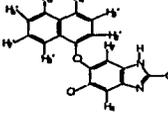
A manera de resumen, en la Tabla 1 se conjuntan los datos de constantes físicas y rendimientos obtenidos para todos los compuestos.

**Tabla 1.** Constantes físicas y rendimientos de los compuestos sintetizados (2-7).

No	FM	PM	Rend. (%)	Disolvente Recrist.	Estado físico	Rf. (Sistema)	Punto de fusión (°C)		Ref
							Encontrado	Reportado	
2	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> NO	204.05	98.61	Etolol	Cristales blancos	0.31 (I)	122-123	120.5	41
3	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	249.05	80.77	MeOH-H <sub>2</sub> O	Cristales amarillo pálido.	0.65 (I)	123-124	123-124	42
4	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	207.01	73.22	AcOH-H <sub>2</sub> O	Cristales rojizo anaranjado.	0.42 (I)	174-176	177-179	43
5	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	314.72	67.69	Benceno-EtOH	Cristales amarillo naranja.	0.59 (I)	149-150		
6	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O	284.74	78.85	EtOH	Cristales amarillos.	0.22 (II)	101-102		
7	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	362.73	41.37	Ciclohexano	Cristales blancos.	0.40 (II)	102 - 103		

Por otro lado, en la Tabla 2 se recopilan los datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos novedosos 5, 6 y 7.

**Tabla 2.** Datos espectroscópicos y espectrométricos obtenidos de los compuestos novedosos 5, 6, y 7.

<p style="text-align: center;">5</p> 	<p><b>IR (No.1)</b> (KBr) <math>\nu</math>: 3462 y 3338 (NH<sub>2</sub>); 1560 (NO<sub>2</sub>); 1232 (C-O-C).</p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H (No.2)</b> (TMS) <math>\delta</math>: 6.26 (1H, s, H en C6), 7.36 (1H, dd, <math>J_1 = 7.5</math> Hz, <math>J_2 = 1.0</math> Hz, H en C2'), 7.47 (2H, br, NH<sub>2</sub>, intercambia con D<sub>2</sub>O), 7.55 – 7.62 (3H, m, H en C3', C'6 y C'7), 7.83 (1H, dd, <math>J_1 = 8.0</math> Hz, <math>J_2 = 2.4</math> Hz, H en C5'), 7.91 (1H, dd, <math>J = 8.4</math> Hz, H en C4'), 8.04 (1H, dd, <math>J_1 = 7.2</math> Hz, <math>J_2 = 1.8</math> Hz, H en C8'), 8.18 (1H, s, H en C3).</p> <p><b>CG-EM (No.3)</b> <math>m/z</math>: M<sup>+</sup> = PB 314 (100%), (M<sup>+</sup>-35) = 279 (75%), (M<sup>+</sup>-81) = 233 (85%).</p>
<p style="text-align: center;">6</p> 	<p><b>IR (No.4)</b> (KBr) <math>\nu</math>: 3461 y 3345 (NH<sub>2</sub>); 1227 (C-O-C).</p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H (No.5)</b> (TMS) <math>\delta</math>: 3.80 (4H, br, NH<sub>2</sub>, intercambia con D<sub>2</sub>O), 6.50 (1H, s, H en C6), 6.92 (1H, dd, <math>J_1 = 7.6</math> Hz, <math>J_2 = 0.9</math> Hz, H en C2'), 7.35 (1H, s, H en C3), 7.47 (1H, t, <math>J_1 = 8.1</math> Hz, <math>J_2 = 7.8</math>, H en C3'), 7.52 – 7.61 (2H, m, H en C'6 y H en C'7), 7.73 (1H, dd, <math>J_1 = 8.4</math> Hz, H en C4'), 7.95 – 8.02 (2H, m, H en C5' y H en C8').</p> <p><b>CG-EM (No.6)</b> <math>m/z</math>: M<sup>+</sup> = PB 284 (100%), (M<sup>+</sup>-35) 248 (90%), (M<sup>+</sup>-51) 232 (63%).</p>
<p style="text-align: center;">7</p> 	<p><b>IR (No.7)</b> (KBr) <math>\nu</math>: 2924 (NH), 1191 (C-O-C), 1151 (C-F).</p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H (No 8)</b> (TMS) <math>\delta</math>: 6.85 (1H, d, <math>J_1 = 7.65</math> Hz, H en C2'), 7.26 (1H, s, H en C7), 7.37 (1H, t, <math>J_1 = 7.8</math> Hz, <math>J_2 = 8.1</math> Hz, H en C3'), 7.48 – 7.56 (2H, m, H en C'6 y H en C'7), 7.53 (1H, s, H en C4), 7.65 (1H, d, <math>J_1 = 8.4</math> Hz, H en C4'), 7.88 (1H, d, <math>J_1 = 6.6</math> Hz, H en C5'), 7.93 (2H, br, NH<sub>2</sub>, intercambia con D<sub>2</sub>O), 8.20 (1H, d, <math>J_1 = 8.5</math> Hz, H en C8').</p> <p><b>CG-EM (No.9)</b> <math>m/z</math>: M<sup>+</sup> = PB 362 (100%), (M<sup>+</sup>-35)=327 (93%).</p>

### 5.8 Efecto del 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7) sobre la larva de *T. spiralis*.

La evaluación de la actividad biológica "in vitro" sobre la larva muscular de *T. spiralis*, mediante el método MTT, fueron realizados por José González A. en la unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (Laboratorio de Parasitología), CMN Siglo XXI, bajo la dirección de la Dra. Lilián Yépez Mulia.

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Concentración		% Reducción de la viabilidad (media $\pm$ desviación estándar)	
$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{mol/ml}$	Albendazol *	Compuesto 7 **
0.01	$3.7 \times 10^{-5}$	$31 \pm 4$	$37 \pm 5$
0.1	$3.7 \times 10^{-4}$	$35 \pm 5$	$43 \pm 3$
0.5	$1.8 \times 10^{-3}$	$44 \pm 3$	$50 \pm 2$
1	$3.7 \times 10^{-3}$	$48 \pm 2$	$56 \pm 3$
1.5	$5.5 \times 10^{-3}$	N.D.	$63 \pm 3$

\* Valores reportados de 8 ensayos realizados.

\*\* Valores reportados de 4 ensayos reportados.

N.D. No se determinó.

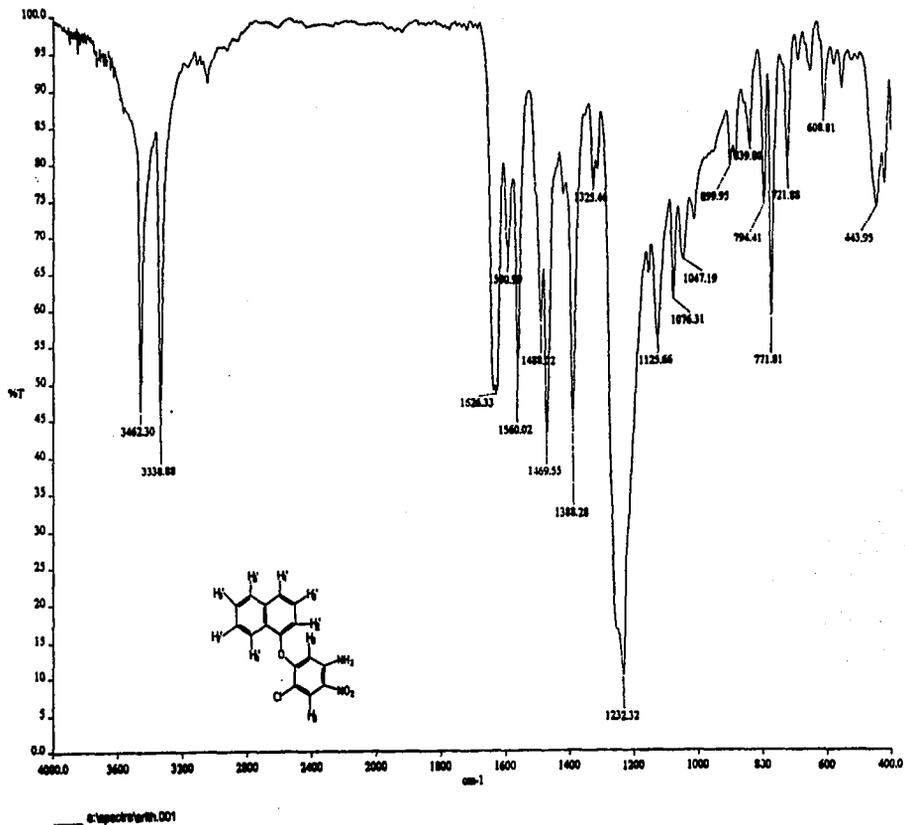
## 6. CONCLUSIONES Y EXPECTATIVAS

Después de haber realizado la síntesis del compuesto 7 y evaluado su efecto antihelmíntico, se puede decir que la ruta sintética y el ensayo biológico seguido fueron adecuados. Las conclusiones a las que se puede llegar y las recomendaciones para futuras actividades relacionadas con esta parte del proyecto son :

1. Sobre la reacción de acetilación. Esta reacción se llevó a cabo sin ninguna dificultad, dio el compuesto esperado (2) con rendimiento prácticamente cuantitativo. Se debe tener precaución cuando se adiciona el anhídrido acético, ya que la reacción es exotérmica. Si no se controla con baño frío y que la temperatura no exceda de 70-80°C, se forman productos secundarios que obligan a purificar el producto crudo. Un mejor control de la reacción y que probablemente sea más económico, podría ser la adición de la 3,4-dicloroanilina (1) pulverizada, y bien seca, sobre el exceso de anhídrido acético. De esta manera se evitaría el uso de ácido acético y se controlaría mejor la temperatura.
2. La reacción de nitración también se realizó sin dificultades. El éxito de esta reacción radica en que la materia prima 2 este bien seca y pulverizada para que se disuelva en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. y no se hidrolice. El control de la temperatura es importante ya que en este estudio por debajo de 15°C no se consumió la materia prima totalmente y por arriba de 22°C se obtuvieron productos secundarios de dinitración e hidrólisis. Sin embargo, sería conveniente realizar un estudio de nitración a menor temperatura ( 0-5°C) y usar mayor cantidad de mezcla sulfonítrica si es necesario; también conviene estudiar más el tiempo de adición de la mezcla nitrante y el tiempo de reacción. La purificación por maceración en metanol conviene hacerla en frío dos veces al menos, de esta manera se obtiene un producto con la pureza suficiente para que en la siguiente reacción de hidrólisis se obtenga un producto crudo casi puro.
3. La manera más simple de purificar el producto de hidrólisis (4) es por recristalización de ácido acético-agua. Se obtienen agujas rojizas de alta pureza. Por este proceso resulta más económico la obtención de 4 que comprarla. Se podría estudiar más sobre la hidrólisis empleando un medio alcalino en disolventes orgánicos.

4. La reacción de sustitución nucleofílica aromática dio buenos resultados empleando DMF como disolvente. Sin embargo, este disolvente es difícil de eliminar. Para recuperar el producto de reacción se tiene que verter sobre agua y se pierde el disolvente. La recomendación que se tiene es eliminar el disolvente por destilación a presión reducida o bien cambiar a otro disolvente, de preferencia polar aprótico, con menor punto de ebullición como el dimetoxietano (glima). Otra opción a estudiar es el empleo de otra base más fuerte como el KOH o NaOH.
5. La reacción de reducción tampoco dio dificultades. Es un método limpio y rápido para obtener el compuesto 6. Alternativas por estudiar son la reducción con ácidos y limaduras de hierro o polvo de zinc.
6. Las dificultades se presentaron en la reacción de ciclación con el anhídrido trifluoroacético. Esta reacción requiere de más estudio hasta lograr la optimización. Las alternativas probables son vía reducción de la correspondiente 2-nitro(trifluorometil)acetanilida, y vía  $\text{CF}_3\text{COOH}$  y HCl 4N.
7. Se logró identificar cada uno de los compuestos preparados. Los tres primeros (2, 3 y 4) por sus constantes de pf, los cuales fueron concordantes con los reportados. Los compuestos no descritos anteriormente (5, 6 y 7) se pudieron identificar por sus datos de IR, RMN  $^1\text{H}$  y Masas.
8. Se adquirió experiencia en trabajo de laboratorio durante el proceso de síntesis de los compuestos. Entre las técnicas más importantes aprendidas están la cromatografía en capa fina y columna, la hidrogenación catalítica, la realización de reacciones en condiciones anhidras, el manejo de reacciones a nivel de 100 g o más, las técnicas de purificación, por recristalización entre otras.
9. De gran importancia es la preparación del compuesto 7 a mayor escala y la determinación de la actividad antihelmíntica en estudios *in vivo* para evaluar su efectividad. Esta tesis

comprendió el estudio preliminar de síntesis. Con la experiencia adquirida se puede optimizar el proceso.

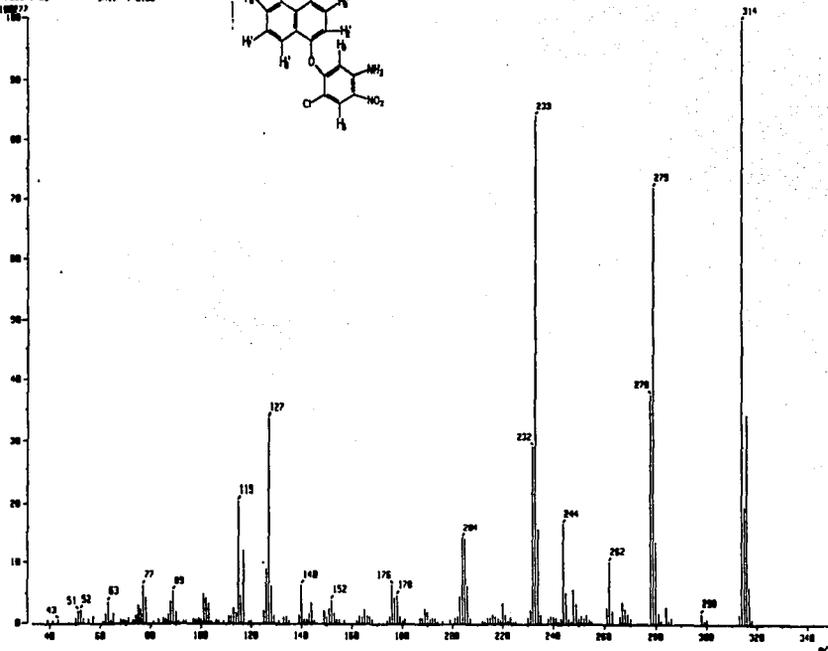
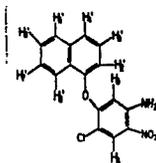


**ESPECTRO No. 1** Espectro de IR de 4-Cloro-5-(1-naftiloxy)-2-nitroanilina (5).

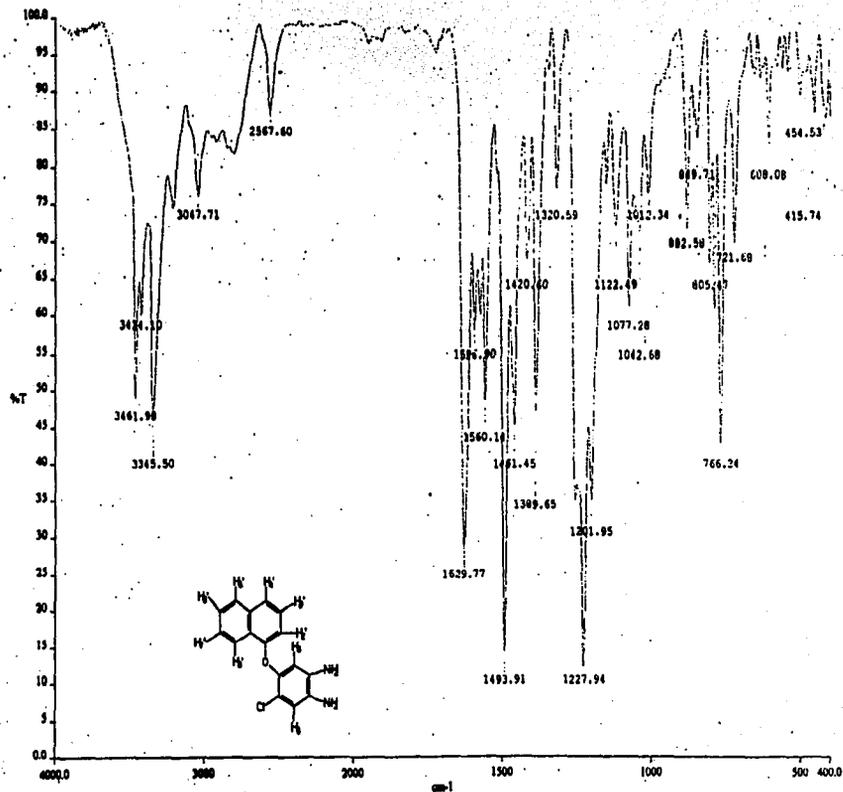


( Mass Spectrum )  
RT : 8.66 min  
Ion Mode : EI+

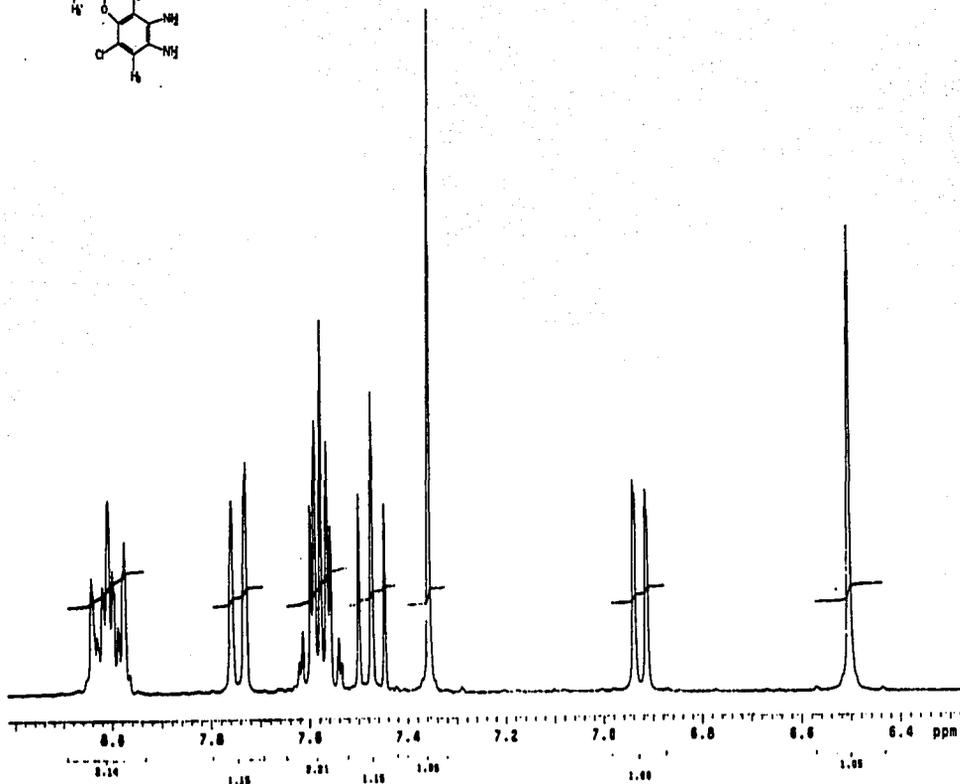
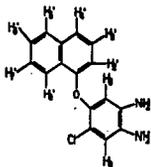
Scan# : 25-(82,82)  
Int. : 9.58



ESPECTRO No. 3 · Espectro de masas de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-2-nitroanilina (5).

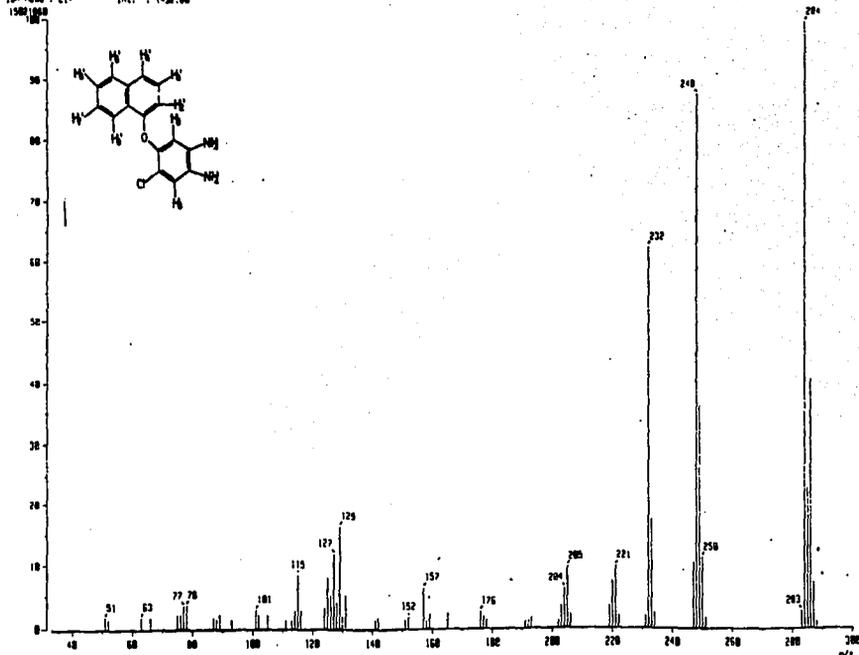


ESPECTRO No. 4 Espectro de IR de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-*o*-fenilendiamina (6).

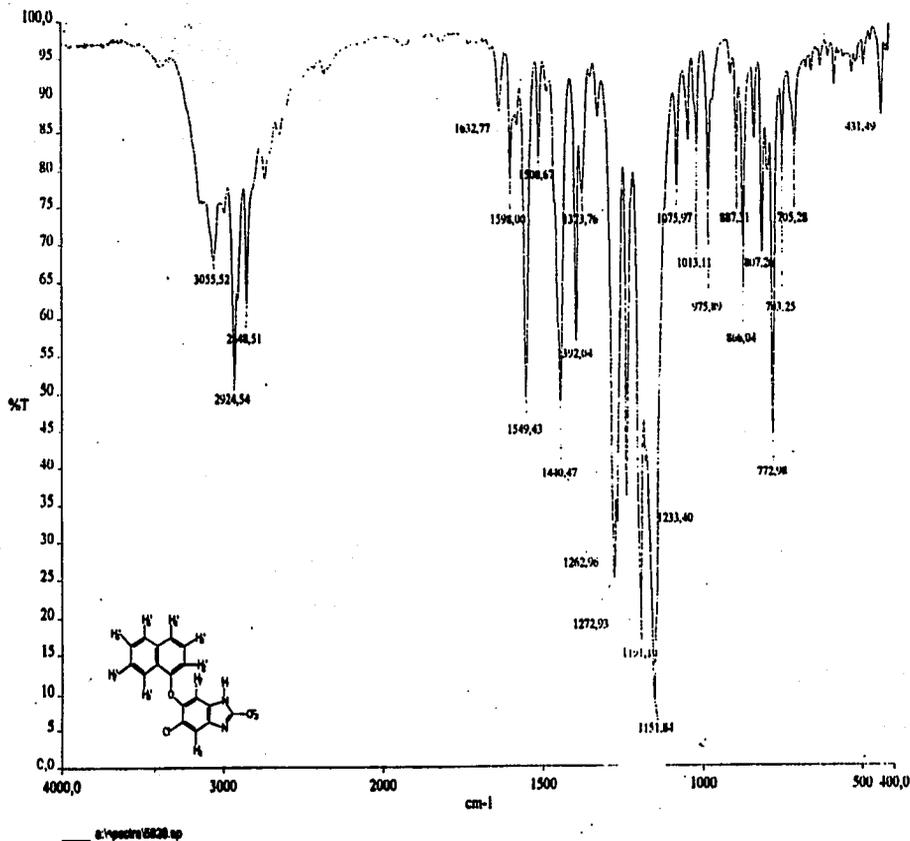


**ESPECTRO No. 5** Espectro de RMN <sup>1</sup>H de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-*o*-fenilendiamina (6).

1. Mass Spectrum 2  
 RT : 1.30 min  
 Ion Mode : CI+  
 Scan : (45,62)-(4,13)-(124,244) Temp : 120.4 deg.C  
 Int. : (432,66)



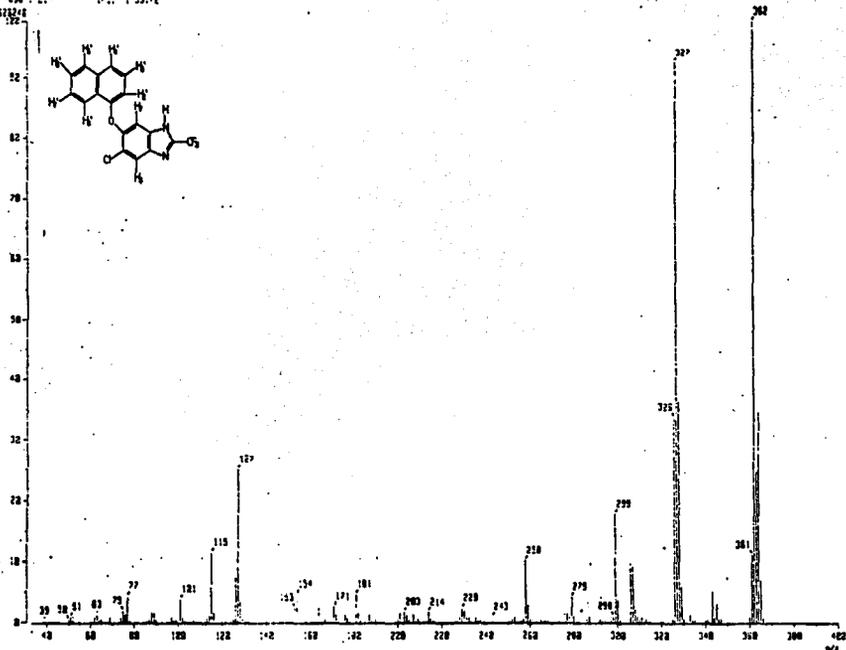
**ESPECTRO No. 6** Espectro de masas de 4-Cloro-5-(1-naftiloxi)-*o*-fenilendiamina (6).



ESPECTRO No. 7 Espectro de IR de 5-Cloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7).



Mass Spectrum:  
 31 - 2.72 min Scan: (26.291-188.291)-19.181 Time: 29.2 seg.:  
 1st %e: 1.1 2nd %e: 53.78



**ESPECTRO No. 9** Espectro de masa de 5-Chloro-6-(1-naftiloxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (7)

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Cedillo-Rivera, R. Parasitosis Intestinales. En: Kumate J, Gutiérrez G., Muñoz O., Santos J I. (Eds) Manual de Infectología, 12 edición, Ed. Francisco Mèndez Cervantes, México, D.F., 1990, 99-109.
2. Cedillo- Rivera, R. ¿Es la giardiasis un problema real? *Epidemiología (México)* 1989; 4:1-6.
3. Gutiérrez, G, Muñoz, O. Epidemiology of amoebiasis. En: Kretschmer RD. (De): Amebiasis infection and disease by *Entamoeba histolytica*. CRC Press Inc, Florida USA, 1190:173.
4. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, 37ª. edición, Editorial P.M.L., S.A. de C.V., 1991, pp. 318, 358, 701, 784, 656, 926, 117, 1134, 1656.
5. Kumate, J; Gutiérrez, G; Muñoz, O. Santos JI. (Eds). Manual de Infectología Clínica, 14ª. edición, Mendez Editores. México, D.F. 1994.
6. Cedillo-Rivera, R. Muñoz, O. In vitro susceptibility of *Giardia lamblia* to albendazole, mebendazole and other chemiotherapeutic agents. *J Med. Microbiol*, 1992; 37: 221-224.
7. Chávez, B; Cedillo, Rivera, R; Martínez-Palomo, A. *Giardia lamblia*: Ultraestructural study of the in vitro effect of benzimidazoles. *J Protozool*, 1992; 39: 510-515.
8. Fears, S.D; O'Hare, J. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to fifty antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 32: 144-146.
9. Sharman, S. Design of New Drugs for Helminth Diseases. *Advances in Drugs Research*, 1994; 25: 103-172.
10. Taylor, M. Bovine Anthelmintics : a overview of current thinking, *Veterinary Practice*, Feb. 1996, pp 7-8.
11. Sharman, S; Abuzar, S. The Benzimidazole Anthelhelmitics-Chemistry and Biological Activity. *Prog Drug Res*, 1983; 27: 85-161.
12. Friedman, P.A; Plazer, E.G. Internation of Anthelmintic Benzimidazoles with *Ascaris suum* and *Embryonic Tubulin*. *Biochim Biophys Acta*, 1980; 630: 271-278.
13. Lacey, E; Watson, T.R. Structure- Activity Relationship of Benzimidazoles Carbamates as Inhibitors of *Mammalian Tubulin*, in vitro. *Biochem Pharmacol*, 1985; 34: 1073-1077.
14. Juliano, C; Martinotti M. G; y Cappuccinelli P. In vitro effect of microtubule inhibitors on *Trichomonas vaginalis*. *Microbiological*, 1985, 8: 31-42.

15. Edlin, T.D; Hang T.L; y Chakraborty P. R. Activity of the anthelmintic benzimidazoles against *Giardia lamblia* in vitro. *J Infect dis*, 169: 1408-1411.
16. Meloni, B. P.; Thompson, R. C; Reynoldson, J. A; y Seville, P. Albendazol: a more effective anti-giardiasis agent in vitro than metronidazole and tidadole. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1990; 84: 375-379.
17. Morgan, U. M; Reynoldson, J. A; y Thompson, R.C.A. Activity of severals bencimidazoles and tubulin inhibitors against *Giardia sp.* in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 328-331.
18. Fairweather, J.; Boray, J. C. Faciolicides: efficacy, actions, resistance and its management. *Vet. J* 1999, 158 (2), 81-112.
19. Soulsby, E. J. L. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 7ª. Ed. México (DF): Nueva Editorial Interamericana, 1987.
20. Urquhart, G. M.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A. M.; Jennings, F. W. *Veterinary Parasitology*. 5th ed. London, Longmans Scientific & Technical, 1992.
21. Encinas-García, R.; Quiroz-Romero, H.; Guerrero-Molina, C.; Ochoa-Galván, P. Frecuencia de fasciolosis hepática e impacto económico en bovinos sacrificados en Ferrería, México, D.F., *Vet. Mex.* 1989, 20, 423-426.
22. Chen, M. G. ; Mott, K. E. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection. *Trop. Dis. Bull.* 1990, 87, R1-R37.
23. Massoud, J. Fasciolosis outbreak of man and drug test (triclabendazole) in Caspian Littoral, northern part of Iran. En *Proceedings of the seventh International Congress of Parasitology, Paris 1990. Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 1989, 8 (suppl. 1), 438.
24. Boray, J. C. Chemotherapy of infections with Fasciolicidae. En *Immunology, Pathobiology and Control of Fasciolosis*, ed. J. C. Boray, pp. 83-97. Rahway, New Jersey: MSD AGVET. 1997.
25. Malone, J. B. The landscape epidemiology of fasciolosis: geographic determinants of disease risk. In *Immunology, Pathobiology and Control of Fasciolosis*, ed. J. C. Boray, pp. 65-81. Rahway New Jersey: MSD AGVET. 1997.
26. Boray, J. C. Trematode infections of domestic animals. En *Chemotherapy of Parasitic Diseases*, ed. W. C. Campbell & R. S. Rew, pp. 401-425. New York: Plenum Press. 1986.

27. Apt, W.; Aguilera, X.; Vega, F.; Miranda, C.; Zulantay, I.; Perez, C.; Gabor, M., Apt. P. Treatment of human chronic fascioliasis with triclabendazol: drug efficacy and serologic response. *Am. J. Trop. Med. H y g.* 1995, 52(6), 532-535.
28. Arjona, R.; Riancho, J. A.; Aguado, J. M.; Salesa, R.; González-Macías, J. Fascioliasis in developed countries: a review of classic and aberrant forms of the disease. *Medicine (Baltimore)*. 1995, 74 (1), 13-23.
29. El-Karaksy, H.; Hassanein, B.; Okasha, S.; Behairy, B.; Gadallah, I. Human fascioliasis in Egyptian children: succesful treatment with triclabendazol. *J. Trop. Pediatr.* 1999, 45(3), 135-138.
30. Gallay, J. J.; Kuhne, M.; Meyer, A.; Rechsteiner, O.; Schellenbaum, M. 2-Alkyl-, 2-Alkylsulphinyl- and 2-Alkylsulfonyl-6-Phenylbenzimidazoles as Anthelmintic agents. Patente Belga cedida a Ciba Geigy No. 865870 (1978); correspondiente a la patente US No. 4, 197, 307 (1980).
31. Mohammed Ali, N. A. K.; Bogan, J.A.; Marriner, S.E.; Richards, R.J. Pharmacokinetics of triclabendazole alone or in combination with fenbendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1986, 9, 442-445.
32. Henessy, D. R. ; Lacey, E.; Steel, J. W.; Prichard, R. K. The Kinetics of triclabendazole disposition in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1987, 10, 64-72.
33. Quiroz-Romero, H.; Ibarra-Velarde, F.; Vera-Montenegro, Y. Eficacia del triclabendazol contra formas inmaduras de *Fasciola hepatica* y la ganancia de peso en bovinos. *Vet. Mex.* 1988, 19, 29-33.
34. Boray, J. C.; Crowtoot, P.D.; Strong, M.B.; Allison, J. R.; Schellenbarinm, M.; Von Orelli, M.; Sarasin, G. Treatment of inmature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Vet. Rec.* 1983, 113. 315-317.
35. Bennett, J.L.; Kohler, P.; *Fasciola hepatica*: Action in vitro of triclabendazole on inmature and adult stages. *Experimental Parasitology*. 1987. 63, 49-57.
36. Craig, T. M.; Huey, R. L. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in naturally infected calves. *Am. J. Vet. Res.* 1984, 45(8), 1644-1645.
37. Wolff, K.; Eckert, J.; Schneiter, G.; Lutz, H. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goats. *Vet. Parasitol.* 1983, 13, 145-150.

38. Boray, J.C. Trematode infections of domestic animals. En Chemotherapy of parasitic diseases. W.C. Campbell and R.S. Rew (eds.). Plenum Press, New York, 1986, p. 401-425.
39. Lipkowitz, K. B.; McCracken, R.O. A molecular modeling approach to in vivo efficacy of triclabendazole. J. of Parasitol. 1991, 77, 998-1005.
40. Brown, H.D; Matzuk, A. R; Ilves, I. R; Peterson, L.H; Harris, S. A; Sarret, L. H; Egerton, J. R; Yakstis, J. J; Campbell, W. C; Cuckler, A.C. Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-thiazolyl)-bencimidazole, A New Anthelmintic. J Am Chem Soc, 1961; 83: 1764-1765.
41. Tocco, D.J. The Metabolic Fate of Thiabendazole in Sheep. J Med Chem 1964; 7: 399-405.
42. Jung, H; Sánchez, M; Medina, M. T; Hurtado, M; Sotero. Pharmacokinetics of Albendazole in Patients with Brain Cisticercosis, J Clin Pharmacol, 1992; 32: 28-31.
43. Karanurakaran, C. S; Denham, D. A. A Comparison of the anthelmintics effects of oxfendazole and oxibendazole on *Trichinella spiralis* in mice. J Parasitol, 1980; 66 (6): 929-932.
44. Delatour P, Cure M C, Benoit E. Garnier F. Netobimin (TatobinSch): Preliminary Investigations on Metabolism and Pharmacology. J Vet Pharmacol Ther, 1986; 9: 230-234.
45. Wallchshofer, N; Delabre-Defayolle, I; Paris, J; Petavy, A. F. In vivo Morfological Damage Induced by New Benzimidazole Prodrugs in *Echinococcus multilocularis* Metacestodes. J Pharm Sci, 1989; 79: 606-608.
46. Grzwiniski, I; Karmanska, K. Efficacy of luxabendazole against different stages of *Trichinella spiralis*. Proceedings of the 7th. International Conference in Trichinelosis. Edited by Tanner Ch, Martínez-Fernández A. Bolás-Fernández F. Consejo superior de investigaciones científicas Press, Madrid, Spain, 1988; p. 490-496.
47. Gutiérrez- Palomono, P; Hernández-Rodríguez, S. Muscular Phase of *Trichinella spiralis* treated with Oxfendazole. Proceedings of the 7th. International Conference in Trichinellosis. Edited by Tanner Ch, Martínez-Fernández F. Consejo Superior de Investigación Científicas Press, Madrid, Spain.
48. Novak, N; Blackburn, B. J. Anthelmintic Activity of Several Sustituted Benzimidazolyl Carbamates Against *Hymenolepis nana* Cysticercoid. Experientia, 1981; 37: 250-251.
49. Korolkobas, Andrejus. Essentials of medicinal chemistry. 2ª. Edición, ed. Wile-Interscience Publication, 1988; pp 599-628.

50. Pritchard, D.I. Why Do Some Parasitic Nematodes Secrete Acetylcholinesterase (AChE)? *Inter J Parasitol*, 1993; 23 (5):549-550.
51. Buechel, K. H.; Flucke, W. Anthelmintic 4, 5, 6, 7-tetrachloro-2-(trifluorometil)benzimidazole. *Chem. Abs.* 1972, 76, 116.
52. Townesnd, L. B.; Wise, D. S. The synthesis and chemistry of certain anthelmintic benzimidazoles. *Parasitol. Today*. 1990, 6, 107-112.
53. Brown, H.D.; Matzuk, A. R.; Ilves, I.R.; Peterson, L.H.; Harris, S.A.; Sarret, L.H., Egerton, J. R.; Yaktis, J.J.; Campbell, W.C.; Cuckler, A.C. Antiparasitic Drugs. IV. 2-(4'-thiazolyl)-benzimidazole, A new Anthelmintic. *J. Am. Chem Soc.* 1961, 83, 1764-1765.
54. Tocco, D.J. The Metabolic Fate of Thiabendazole in sheep. *J. Med. Chem.* 1964, 7, 399-405.
55. Sharma, S. Design of new drugs for helminth diseases: lead optimization in benzimidazoles. *Adv. Drug Res.* 1994, 25, 103-172.
56. Sharma, S.; Abuzar, S. The benzimidazole anthelmintics. Chemistry and biological activity. *Prog. Drug Res.* 1983, 27, 85-161.
57. Sharma, S. Benzimidazoles. En: *Approaches to design and synthesis of antiparasitic drugs.* (Edited by Anand, N.), pp. 195-238. Else Vier Science B. V. The Netherlands, Amsterdam, 1997.
58. Iddon, B.; Kutschy, P.; Robinson, A.G.; Suschitzky, H.; Kramer, W.; Neugebauer, F.A. 2H-Benzimidazoles (isobenzimidazoles). Part 7. A new route to triclabendazole (5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-2-methylthio-1-H-benzimidazole) and congeneric benzimidazoles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1992, 1, 3129-3134.
59. *J. Chem. Soc.* 1950, 1, 515-519.
60. Van Allan, J.A. Deacon, B. D. 2-Mercaptobenzimidazol. *Org. Synth. Coll. Vol. IV.* 1963, 569-570.
61. *J. Prakt. Chemie.* 1907, 75, 323-327.
62. *Chem. Ver.* 1887, 20, 228-232.
63. *Ann.* 1883, 221, 1-34; 1885, 228, 243-247.
64. Frick, W.; Weiss, A. Verfahren zur herstellung von halogenierten nitranilinen. *Patente Suiza No.* 462, 847, 1968.

65. Phillips, M. A. The formation of 2-substituted benzimidazoles. *J. Chem. Soc.* 1928, 2393-2399.
66. Holan, G.; Samuel, E.L.; Ennis, B.C.; Hinde, R.W. 2-Trihalogenomethylbenzazoles. Part I. Formation. *J. Chem. Soc. (c)*, 1967, 20-25.
67. Bishop, B.C.; Jones, A.S.; Tatlow, J.C.; The synthesis of some perfluoroalkylbenzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, 1964, 3076-3080.
68. Ibarra, V.F.; Montenegro, C.N.; Flores, C.J.; Hernández, C.A., Castillo, B.R. Evaluación de cuatro vehículos para formular un fasciolicida experimental. *Vet. Méx.*, 2000, 31(1), 47-51 y referencias que ahí se citan.
69. Dennis DT, Despommier DD. Davis N. Infectivity of the newborn larvae of *Trichinella spiralis* in the rat. *J Parasitol*, 1970; 56(5): 974-977.
70. Townson DH, Morris DL. *Echinococcus granulosus*: *in vitro* maintenance of whole cysts and the assessment of effects of albendazole sulphoxide and praziquantel on the germinal layer. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1989; 83: 664-669.
71. Cedillo-Rivera R, Ramírez A, Muñoz O. A rapid colorimetric assay with the tetrazolium salt MTT and phenazine methosulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*. *Arch Med Res* 1992; 23: 59-61 (Special issue).
72. (a) Belstein Organische Chemie, Band XIII, 626; (b) Roberts et al. *J. Org. Chem.* 1959, 24, 654-659.
73. Belstein Organische Chemie, Band XII, 734.
74. Acheson, R.M.; Taylor, G.A.; Muriel, L.T. The synthesis of some benzimidazoles. *J. Chem. Soc.* 1958, 3750-3752.
75. Manual de Productos Químicos Finos y equipo de Laboratorio Aldrich, México-USA. 1998-1999, Compuesto D6, 800-2, p.548.
76. Averkin, E.A.; Beard, C.C.; Dvorak, C.A.; Edwards, J.A.; Fried, J.H.; Kilian, J.G.; Schiltz, R.A. Methyl 5(6)-phenylsulfinyl-2-benzimidazolecarbamate, a new, potent anthelmintic. *J. Med. Chem.* 1975, 18, 1164-1166.